

**MERSİN BÖLGESİNDE YETİŞEN *HYPERICUM PERFORATUM* L.
(KANTARON), *URTICA DIOICA* L. (ISIRGAN OTU) ve
LAVANDULA OFFICINALIS (LAVANTA) BİTKİLERİNDEN
SÜPERKRİTİK EKSTRAKSİYON YÖNTEMİYLE ELDE EDİLEN
ÖZÜTLERİN ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇİĞDEM GÜL

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
HAZİRAN 2019**

**MERSİN BÖLGESİNDE YETİŞEN *HYPERICUM PERFORATUM* L.
(KANTARON), *URTICA DIOICA* L. (ISIRGAN OTU) ve
LAVANDULA OFFICINALIS (LAVANTA) BİTKİLERİNDEN
SÜPERKRİTİK EKSTRAKSİYON YÖNTEMİYLE ELDE EDİLEN
ÖZÜTLERİN ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇİĞDEM GÜL

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA
ANABİLİM DALI**

**Danışman
Doç.Dr. Göktürk Avşar**

**MERSİN
HAZİRAN 2019**

ONAY

Çiğdem GÜL tarafından Doç.Dr. Göktürk AVŞAR danışmanlığında hazırlanan 'Mersin Bölgesinde Yetişen, *Hypericum perforatum* L. (Kantaron), *Urtica dioica* L. (Isırgan otu) ve *Lavandula officinalis* (Lavanta) Bitkilerinden Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyon Yöntemiyle Elde Edilen Özütlerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi' başlıklı çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından 26 Haziran 2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavı sonucunda oy birliği/çokluğu ile Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Ünvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Prof.Dr. Fatih Mehmet EMEN	
Üye	Dr.Öğr.Üyesi Pelin EROĞLU	
Üye	Doç.Dr. Göktürk AVŞAR	

Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 20./08/2019 tarih ve 2019.22/1257 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
- Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi

beyan ederim.

ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

26.06./2019

İmza / Signature

Çiğdem GÜL

ÖZET

MERSİN BÖLGESİNDE YETİŞEN *HYPERICUM PERFORATUM* L. (KANTARON), *URTICA DIOICA* L. (ISIRGAN OTU) ve *LAVANDULA OFFICINALIS* (LAVANTA) BİTKİLERİNDEN SÜPERKRİTİK EKSTRAKSİYON YÖNTEMİYLE ELDE EDİLEN ÖZÜTLERİN ANTIÖKSİDAN VE ANTIMİKROBİYAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Yapılan bu çalışmada Mersin bölgemiz coğrafyasında yetişen ve ticari önemi olan *Hypericum Perforatum* L. (Kantaron), *Urtica Dioica* L. (Isırgan Otu) ve *Lavandula Officinalis* (Lavanta) bitiklerinin özütleri süperkritik karbondioksit ekstraksiyon (T= 40 °C, P= 150 bar) yöntemiyle elde edilmiştir. Antioksidan aktivite tayini için DPPH serbest radikal giderim yöntemi kullanılarak % inhibisyon değerleri hesaplanmış olup, pozitif kontrol olarak bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre *Hypericum Perforatum* L. (Kantaron), *Urtica Dioica* L. (Isırgan Otu) ve *Lavandula Officinalis* (Lavanta) bitkilerinin konsantrasyon arttıkça % inhibisyon değerlerinin arttığı ve en yüksek konsantrasyonda *Hypericum Perforatum* L. (Kantaron) bitki özütünün % inhibisyon değeri 88,46 olarak hesaplanmıştır. Bitki özütlerinin antimikrobiyal aktivite çalışmaları için *Streptococcus pneumonia*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* bakterileri olmak üzere 6 çeşit bakteri kullanılmıştır. Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi için kuyu difüzyon metodu kullanılmıştır. Zon çapları karşılaştırıldığında *Lavandula officinalis* (Lavanta) bitki özütünün bütün bakterilerde antimikrobiyal aktivitesinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Uygulamalı olarak *Hypericum Perforatum* L. (Kantaron) ve *Lavandula Officinalis* (Lavanta) bitki özütlerinin kozmetik el kremlerinde koruyucu yerine kullanılabilirliği test edilmiştir. Standart el kremi formülasyonuna göre kullanılan kimyasal koruyucu yerine belirlenen oranlarında bitki özütleri kullanılmıştır. Karşılaştırma yapmak üzere ise koruyucu içeren ve koruyucu içermeyen krem numuneleri hazırlanmıştır. Krem numuneleri altı ay boyunca günlük kullanıma uygun olarak her gün el ile temas edilerek steril olmayan koşullarda alınmıştır. Alınan örneklerin besiyerlerde oluşturdukları bakteri kolonilerinin sayılması esasına bağlı antimikrobiyal etkinlik testleri yapılmıştır. Altıncı ay sonunda elde edilen sonuçlara göre koruyucu madde içeren ve içermeyen krem numunelerinde her iki besiyerinde bakteri oluşumu gözlenirken, *Hypericum Perforatum* L. (Kantaron) ve *Lavandula Officinalis* (Lavanta) bitki özütü içeren kremlerde bakteri oluşumuna rastlanmamıştır.

Anahtar kelimeler: antioksidan, antimikrobiyal, süperkritik ekstraksiyon, hypericum perforatum, lavandula officinalis, urtica dioica

Danışman: Doç.Dr. Göktürk AVŞAR, Mersin Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

OBTAINING EXTRACTS OF *HYPERICUM PERFORATUM* L. (CENTAURY), *URTICA DIOICA* L. (STTINGING NETTLE) AND *LAVANDULA OFFICINALIS* (LAVENDER) PLANTS GROWN IN MERSIN REGION VIA SUPERCRITICAL EXTRACTION METHOD AND INVESTIGATING THEIR ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL EFFECTS

In this study, the extracts of *Hypericum Perforatum* L. (Centaury), *Urtica Dioica* L. (Stinging Nettle) and *Lavandula Officinalis* (Lavender) plants grown in region were obtained via supercritical fluid technique (T= 40 °C, P= 150 bars). DPPH free radical elimination method was used for to investigate the antioxidant activity and inhibition values were calculated as %. Butylated hydroxytoluen (BHT) was used as positive control. The results indicated that as the concentration of *Hypericum Perforatum* L. (Centaury), *Urtica Dioica* L. (Stinging Nettle) and *Lavandula Officinalis* (Lavender) plant extracts increased % inhibition values increased and the % inhibition value of *Hypericum Perforatum* L. (Centaury) plant extract at the highest concentration was calculated to be 88,46. The antimicrobial activity study of the plant extracts was carried out against six different bacteria namely *Streptococcus pneumonia*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtili*. Well diffusion method is used for determining the antimicrobial effect of the plant extracts. When the zone diameters were compared with each other, it was observed that the antimicrobial activity of the extract of *Lavandula officinalis* (Lavender) plant was high against all bacteria. The possibility of using the extracts of *Hypericum Perforatum* L. (Centaury) and *Lavandula Officinalis* (Lavender) plants in cosmetic handcreams instead of preservatives was tested. Instead of the chemical preservatives used in accordance with the standard handcream formulations plant extracts were used at predetermined ratios. For to make comparison, handcream samples with and without preservatives were prepared. The cream samples were sampled under non-sterile conditions by daily contacting it with hands for six months. Antimicrobial activity of the samples taken was determined by counting the bacteria colonies in the broth used. According to the results obtained at the end of the sixth month it was observed that although bacteria growth was observed in the broth containing cream samples both with and without preservatives in creams containing *Hypericum Perforatum* L. (Centaury) and *Lavandula Officinalis* (Lavender) plant extracts bacteria did not grow.

Keywords: antioxidant, antimicrobial, supercritical extraction, hypericum perforatum, lavandula officinalis, urtica dioica

Advisor: Assoc.Prof.Dr. Göktürk AVŞAR, Department of Chemistry, University of Mersin, Mersin.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca beni yönlendiren, bilgi ve tecrübesi ile bana yol gösteren değerli danışman hocam Doç. Dr. Gökürk AVŞAR'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Deneyisel çalışmalarım için gerekli laboratuvar imkânı sağlayan, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Pelin EROĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Ali Osman ADIGÜZEL'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam da uygulama olarak kullandığım kozmetik krem formülasyonunu ve gerekli malzemeleri temin edip katkıda bulunan IVA NATURA marka kurucusu Sn. Levent KAHRIMAN'a teşekkürlerimi sunarım.

2016-2-TP2-1950 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Deneyisel çalışmalarım sırasında ve tez yazım aşamasında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen laboratuvar arkadaşım Derya YÜKSEL'e desteği için teşekkür ederim.

Son olarak hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemyen, bana güvenip bugünlere gelmemi sağlayan aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	ii
ONAY	iii
ETİK BEYAN	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	4
2.1. Serbest Radikaller	4
2.2. Antioksidanlar	5
2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması	5
2.3.1. Doğal Antioksidanlar	6
2.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	6
2.3.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	9
2.3.1.2.1. Endojen Antioksidanlar	9
2.3.1.2.2. Eksojen Antioksidanlar	13
2.3.2. Sentetik Antioksidanlar	24
2.4. Antioksidan Tayin Yöntemleri	27
2.5. Antimikrobiyal Aktivite	27
2.6. <i>Hypericum perforatum</i> L. (Kantarón)	28
2.7. <i>Urtica Dioica</i> L. (Isırgan Otu)	29
2.8. <i>Lavandula Officinalis</i> (Lavanta)	30
2.9. Bitkilerden Özütleme (Ekstraksiyon) Yöntemleri	31
2.9.1. Soxhlet Ekstraksiyonu	32
2.9.2. Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon	32
2.9.3. Mikrodalgı Destekli Ekstraksiyon	33
2.9.4. Süperkritik Akışkan Ekstaksiyon	33
2.10. Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu	36
2.11. Literatür Araştırması	37
3. MATERYAL ve YÖNTEM	40
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	40
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	40
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	40
3.2. Kullanılan Yöntemler	41
3.2.1. Bitkilerin Kurutulması ve Bitki Ekstratlarının Hazırlanışı	41
3.2.2. Çözeltilerin Hazırlanması	41
3.2.3. DPPH• Radikal Süpürücü Aktivite Testi	41
3.2.4. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	42
3.2.4.1. Kuyu Difüzyon Yöntemi	43
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	44
4.1. Antioksidan Aktivite Bulguları	44
4.2. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları	49
4.3. <i>Hypericum perforatum</i> L., <i>Urtica dioica</i> L. ve <i>Lavandula officinalis</i> Bitki Özütlelerinin Koruyucu Olarak Kozmetik El Kremlerinde Uygulanması	50
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	66

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Sık karşılaşılan bazı serbest radikaller ve radikal üreten türlerin özellikleri	4
Tablo 2.2. Antioksidanların sınıflandırılması	6
Tablo 2.3. Polifenollerin sınıflandırılması	17
Tablo 2.4. Süperkritik akışkan olarak kullanılan bazı maddelerin kritik sıcaklık ve basınçları	35
Tablo 4.1. Bitki özütlerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesinin absorbans değerleri	44
Tablo 4.2. Bitki özütlerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesinin % inhibisyon değerleri.	45
Tablo 4.3. <i>Hypericum perforatum</i> L., <i>Urtica dioica</i> L. ve <i>Lavandula officinalis</i> bitki özütlerinin bakteriler üzerindeki zon çapları	49
Tablo 4.4. Standart el kremi formülasyonlarında kullanılan bileşenlerin yüzdesi.	51
Tablo 4.5. <i>Hypericum perforatum</i> L. ve <i>Lavandula officinalis</i> bitki özütlü kremlerin ve koruyucuları olan ve olmayan kremlerin farklı zaman ve konsantrasyonlardaki sayılan bakteri kolonileri	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa	
Şekil 2.1.	Süperoksit dismutas (SOD) katalizörlüğündeki kimyasal reaksiyon	7
Şekil 2.2.	Katalaz (CAT) katalizörlüğündeki kimyasal reaksiyon	7
Şekil 2.3.	Sitokrom oksidaz katalizörlüğündeki kimyasal reaksiyon	7
Şekil 2.4.	Glutasyon peroksidaz (GSH-P _x) katalizörlüğündeki kimyasal reaksiyonlar	8
Şekil 2.5.	Glutasyon redüktaz (GR) katalizörlüğündeki kimyasal reaksiyon	8
Şekil 2.6.	Glutasyon molekül yapısı	9
Şekil 2.7.	Melatonin molekül yapısı	10
Şekil 2.8.	Ürik asit molekül yapısı	10
Şekil 2.9.	Fenton reaksiyonu	11
Şekil 2.10.	Koenzim Q ₁₀ (CoQ ₁₀) molekül yapısı	12
Şekil 2.11.	α-Lipoik Asit molekül yapısı	12
Şekil 2.12.	α-Tokoferol (Vitamin E) molekül yapısı	14
Şekil 2.13.	Vitamin E'nin lipid peroksidasyon zincir reaksiyonları	14
Şekil 2.14.	Askorbik asit (Vitamin C) molekül yapısı	15
Şekil 2.15.	Folik asit (Vitamin B9) molekül yapısı	16
Şekil 2.16.	β -Karoten, likopen ve lutein'in molekül yapıları	17
Şekil 2.17.	Hidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asit ve protokateşuik asit bileşiklerinin molekül yapısı	18
Şekil 2.18.	Hidroksisinnamik asit, sinamik asit, p-kumarik asit, kaffeik asit, ferulik asit, 5 hidroksiferulik asit, sinapik asit bileşiklerinin molekül yapısı	19
Şekil 2.19.	Tanen bileşiğinin molekül yapısı	19
Şekil 2.20.	Flavonoidlerin genel molekül yapısı	20
Şekil 2.21.	Flavonollerin genel yapısı	21
Şekil 2.22.	Kuersetin, rutin, kamferol ve mirisetin bileşiklerinin molekül yapıları	21
Şekil 2.23.	Apigenin, luteolin ve krisin bileşiklerinin molekül yapıları	22
Şekil 2.24.	Kateşin, epikateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin gallat bileşiklerinin molekül yapıları	22
Şekil 2.25.	Naringin, naringenin, hesperidin, hesperetin bileşiklerinin molekül yapıları	23
Şekil 2.26.	Daidzein ve genistein bileşiklerinin kimyasal yapıları	23
Şekil 2.27.	Siyanidin, malvinidin, apigenidin ve delfinidin bileşiklerinin molekül yapısı	24
Şekil 2.28.	Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) bileşiğinin molekül yapısı	25
Şekil 2.29.	Bütillenmiş hidroksianisol (BHA) bileşiğinin molekül yapısı	25
Şekil 2.30.	Etoksikuin bileşiğinin molekül yapısı	26
Şekil 2.31.	Propil gallat bileşiğinin molekül yapısı	26
Şekil 2.32.	Troloks bileşiğinin molekül yapısı	26
Şekil 2.33.	<i>Hypericum Perforatum</i> L. (Kantaron) genel görünüşü	29
Şekil 2.34.	<i>Urtica dioica</i> L. (Isırgan Otu) genel görünüşü	30
Şekil 2.35.	<i>Lavandula officinalis</i> genel görünüşü	31
Şekil 2.36.	Soxhlet düzeneği	32
Şekil 2.37.	Dinamik ses dalgaları-destekli ekstraksiyonun şematik gösterimi	33
Şekil 2.38.	Saf bir maddenin süperkritik faz diyagramı	34
Şekil 2.39.	Tipik bir süperkritik akışkan sisteminin ana bileşenleri	35
Şekil 2.40.	CO ₂ ' ye ait P-T diyagramı	36
Şekil 2.41.	Süperkritik karbondioksitin iki fazlı sistemden homojen tek fazlı sisteme geçişi	36
Şekil 2.42.	Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu akım şeması	37
Şekil 3.1.	Bir antiradikal (AH) _n tarafından DPPH radikallerinin giderilmesi	42

	Sayfa
Şekil 4.1. Bitki özütlerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi absorban- konsantrasyon grafiği	45
Şekil 4.2. BHT standartının DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği	46
Şekil 4.3. <i>Hypericum perforatum</i> L. özütünün DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği	47
Şekil 4.4. <i>Urtica dioica</i> L. özütünün DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği	47
Şekil 4.5. <i>Lavandula officinalis</i> özütünün DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği	48
Şekil 4.6. <i>Hypericum perforatum</i> L., <i>Urtica dioica</i> L. ve <i>Lavandula officinalis</i> bitkilerinden hazırlanan etanollü özütlerin DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri	48
Şekil 4.7. Bitki özütlerinin <i>Streptococcus pneumonia</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ve <i>Bacillus subtilis</i> bakterilerine ait zon çapları görüntüleri	50
Şekil 4.8. Nutriet Agar (NA) besiyerine %4 konsantrasyonda ekilen örneklerin altı ay (t ₂) sonunda oluşan görüntüler	52
Şekil 4.9. Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose (EMB) Agar besiyerine %4 konsantrasyonda ekilen örneklerin altı ay (t ₂) sonunda oluşan görüntüler	52

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simge	Tanım
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
CFC	Kloroflorokarbon
H·	Hidrojen radikali
O ₂ ·	Süperoksit radikali
OH·	Hidroksil radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
¹ O ₂	Singlet oksijen
HO ₂ ·	Perhidroksil radikali
ROO·	Peroksil radikali
ROOH	Organik hidroperoksitleri
CCl ₃ ·	Triklorometil radikali
RS·	Tiyil radikali
RO·	Alkoksil radikali
LOO·	Lipid peroksit radikali
NO·	Azot monoksit
SOD	Süperoksit dismutaz
CAT	Katalaz
GSH-P _x	Glutatyon Peroksidaz
GR	Glutatyon Redüktaz
GSH	Glutatyon
O ₂	Moleküler oksijen
Cu	Bakır
Zn	Çinko
Fe	Demir
Mn SOD	Manganez içeren süperoksit dismutaz
Cu/Zn SOD	Bakır ve çinko içeren süperoksit dismutaz
H ₂ O	Su
GSSG	Glutatyon disülfid
NADPH	β-nikotinamid dinükleotid fosfat
MDA	Malonaldehit
ROS	Reaktif oksijen türleri
Fe(II)	Demir (II) iyonu
Cu(II)	Bakır (II) iyonu
LA	α-Lipoik asit
Fe ⁺³	Demir (III) iyonu
Fe ²⁺	Demir (II) iyonu, Ferröz iyon
Se	Selenyum
HT	Hidrolize olabilen tanenler
PA	Proantosiyanidin
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
DPPH	2,2-difenil 1-pikrilhidrazil
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit)
CUPRAC	Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
FRAP	Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü
TRAP	Toplam Radikal Tutma Parametresi
ORAC	Oksijen Radikalini Absorplama Kapasitesi
°C	Santigrat derece
T _c	Kritik sıcaklık
P _c	Kritik basınç

Kısaltma/Simge	Tanım
K	Kelvin
MPa	Megapascal
CO ₂	Karbondiyoksit
P-T	Basınç-Sıcaklık
mg	Miligram
mL	Mililitre
g	Gram
MHA	Mueller-Hinton Agar
NA	Nutrient Agar
EMB	Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose Agar
µL	Mikrolitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre



1.GİRİŞ

Bitkiler insanlığın varoluşundan bugüne kadar hayatın temel kaynaklarından biridir. İlkçağlardan beri insanlar, hem besin kaynağı olarak hem de sağlık problemlerini tedavi etmek için bitkilerden faydalanmıştır. Bitkilerin ürettiği doğal ürünler endüstrinin en temel ürünleri olan primer ve sekonder metabolitlerdir. Bitkiler topraktan aldıkları su, mineral ve bazı bileşenleri kendi metabolizmalarında insan vücudunun özümseyebileceği bileşiklere dönüştürürler. Bunlar bitki metabolizmasında bulunan etken maddelerdir. Bitki özütlerinin zengin etken maddeler içeriğine bağlı olarak biyolojik sistemlere oldukça uyumlu olması araştırmacıları bu alanda çalışmaya yönlendirmiştir [1].

Dünya Sağlık Örgütüncü (WHO) hazırlanan raporda, tüm dünyada tıbbi amaçlı olarak kullanılan yaklaşık 20.000 çeşit bitkinin olduğu belirtilmiştir. 1990'lı yıllardan sonra bitkisel ürünlere talebin artmasıyla birlikte bitkilerin kullanım hacmi her geçen gün artmaktadır [1].

Türkiye'nin tarımsal potansiyeli, coğrafi yapısı, hava şartları, bitki örtüsü ve bitki çeşitliliği gibi birçok etkenden dolayı bitki ticaretinde önemli ülkeler arasındadır. Türkiye'nin bu önemi; bitkisel ilaç, gıda, kozmetik ve parfümeri sanayilerinin hammaddelerini oluşturan bitkilerin ülkemiz florasında bulunmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca endemik (sadece belli bir bölgede doğal olarak yetişen) bitki türleri bakımından da ülkemiz dünyada ilk sıralarda yer almaktadır [2].

"Flora of Turkey and The East Aegean Islands" göre, Türkiye 174 familyaya ait 1251 cins ve 12.000'den fazla tür ve tür altı taksonu (alt tür ve varyete) ile oldukça zengin bir floraya sahiptir [1, 3]. Bu taksonların 234'ü yabancı kaynaklı ve kültür bitkisidir. Geriye kalan diğer türler ise yurdumuzda doğal yayılış gösteren bitkilerdir [1]. Tüm Avrupa kıtasının yaklaşık 12.000 kadar bitki taksonuna sahip olduğu düşünüldüğünde yurdumuzun bitki örtüsü bakımından nedenli zengin olduğu görülmektedir [4].

Akdeniz Bölgesinde bulunan Mersin ilinin iklim, bitki örtüsü ve toprak yapısı bitki yetiştiriciliği açısından büyük önem taşımaktadır. İklim özellikleri yazları sıcak ve kurak, kışları ise ılıman ve yağışlıdır. Maki bitki örtüsüne sahip olması ve zengin toprak yapısından dolayı oldukça fazla çeşit bitki türleri (keçiboynuzu, defne, kantaron, lavanta, menengiç, böğürtlen, kekik vb.) yetiştirilmektedir [5].

Bitkileri değerli kılan en önemli etken içerdikleri kimyasal bileşiklerdir. Bu bileşikler en genel anlamda iki ana bileşen içerir. Bunlar primer metabolitler olan, karbonhidrat, protein, yağ, vb., sekonder metabolitler olan alkaloidler, tanenler, flavonoidler, fenoller, terpenoidler, vb. bileşiklerdir. Bu bileşiklerden özellikle sekonder metabolitler antioksidan özellik göstermektedir. Gün boyu soluduğumuz kirli hava, zararlı güneş ışınları, sağlıksız beslenme gibi etkenler vücutta oksidasyona neden olan serbest radikalleri oluşturmaktadır. Vücuttaki serbest

radikallerin etkisini en aza indiren veya yok eden, bağışıklık sisteminden erken yaşlanmaya sebep olabilecek reaksiyonları önleyen moleküllere “antioksidan” denir. Vücudumuz, bu reaksiyonlara antioksidan’larla cevap vermektedir. Antioksidan moleküller, kanser, diyabet, kalp rahatsızlıkları gibi birçok hastalığı tetikleyen serbest radikallere karşı vücudu koruma görevi üstlenen maddelerdir [2].

İlkçağlardan beri bitkilerin çeşitli hastalıkların tedavisinde tıbbi amaçlı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bitkilerin sahip oldukları uçucu yağlar, farklı bileşen içeren karışımlar olduklarından, biyolojik etkileri yönünden de farklılık gösterirler. Etken maddelere göre etkileri değişmekle birlikte pek çok uçucu yağ; antimikrobiyal, karminatif, koloretik, sedatif, diüretik, antispazmodik gibi etkilere sahiptir [1, 6].

Bitkisel hammadde üretiminde istenen kalite ve verimin yakalanabilmesi için alternatif üretim yöntemlerinin kullanılması bir ihtiyaç haline gelmiştir. Bilindiği üzere bitkilerden geleneksel yöntemlerle özütleme yapmak amacıyla farklı çözücüler kullanılmaktadır. Kullanılan tüm kimyasal çözücüler az veya çok toksik etkiye sahiptir. Ayrıca ne kadar iyi saflaştırma işlemi yapılsa da, ürünlerden çözücülerin tamamen uzaklaştırılması oldukça zordur. Diğer yandan çözücü olarak, toksik etkiye sahip olmadığı düşünülen su kullanıldığında ise, ilk andan itibaren bakteri oluşumu başlamaktadır. Bu sebeple elde edilen ürünlere koruyucu bileşikler katılmaktadır. Bütün bu etkiler göz önünde bulundurulduğunda hiçbir toksik etkiye sahip olmayan, yüksek çözme gücüne sahip Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon yöntemi, çeşitli endüstriyel ve analitik işlemlerde ‘yeşil’ bir kimyasal alternatif olarak ortaya çıkmaktadır [2, 7].

Organik çözücülerin endüstride geniş ölçekli kullanımı çevresel tehdit oluşturmaktadır. 1985 yılında Antartika’da ozon deliğinin tespit edilmesi ile hükümetler, Kloroflorokarbon (CFC)’ların ve bazı halonların üretimini ve tüketimini azaltacak katı önlemlere ihtiyaç duyulduğunu düşünmüştür. Bu kapsamda ozon tabakasına zarar veren çözücülerin kullanımını kısıtlamak veya ortadan kaldırmak için 1987’de Montreal Protokolü kabul edilmiştir. 196 ülkenin taraf olduğu Montreal Protokolü, çevre konusunda oluşturulmuş en başarılı çok taraflı anlaşma olarak tanımlanmaktadır. Türkiye; Protokole 19 Aralık 1991 tarihinde taraf olmuştur ve tüm değişikliklerini kabul etmiş olup Montreal Protokolünün uygulanmasında en başarılı ülkeler arasında yer almaktadır [8].

Hızla artan sanayileşme ile dünya çapında çevreye zarar veren ve organik çözücü kullanımını gerektirmeyen yeni sürdürülebilir kaynaklara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu kapsamda süperkritik akışkan olan karbondioksit, en yaygın olarak kullanılan organik çözücülerin kullanılmasını tamamen veya kısmen ortadan kaldıran önemli bir potansiyel taşımaktadır [9].

Süperkritik akışkanlar, solvent özellikleri ile 80’li yılların başında Avrupa, Amerika ve Japonya’ da faaliyet gösteren fabrikalar tarafından yapılan kahve ve çayın dekafeinizasyonu, bira yapımında kullanılan şerbetçiotu aromasının ekstraksiyonu ve baharatlardan aroma

ekstraksiyonu uygulamalarında 20 yıl kadar önce teknik ve endüstriyel alana giriş yapmıştır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonlarının çoğunda ekstraksiyon ajanı olarak karbondioksit (CO₂) uygun kritik özellikleri, inert olması ve çevre açısından zararsız olması nedeniyle oldukça sık tercih edilmektedir [10].

Bu bilgiler ışığında yapılan tez çalışmasında, Mersin bölgesinde yetişen *Hypericum perforatum* L., *Urtica dioica* L. ve *Lavandula officinalis* bitkilerinin süperkritik karbondioksit yöntemiyle özütleri elde edilmiştir. Antioksidan aktivite tayini için DPPH serbest radikal giderim yöntemi kullanılarak % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları için *Streptococcus pneumonia*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* bakterileri olmak üzere 6 çeşit bakteri kullanılmıştır. Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi için kuyu difüzyon metodu kullanılmıştır. Daha sonra *Hypericum Perforatum* L. (Kantaron) ve *Lavandula Officinalis* (Lavanta) bitki özütlerinin uygulamalı olarak kozmetik el kremlerinde koruyucu yerine kullanılabilirliği incelenmiştir. Krem numuneleri altı ay boyunca günlük kullanıma uygun olarak her gün el ile temas edilip steril olmayan koşullarda antimikrobiyal etkinlik testleri yapılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron bulunduran atom ya da moleküllerdir. Serbest radikaller küçük moleküllerdir. Düşük aktivasyon enerjisine sahip olmalarının yanı sıra ömürleri kısadır. Küçük boyutlu olması hücre membranlarından kolaylıkla geçmelerine yol açar [11]. Serbest radikaller oldukça reaktiftirler, bu yüzden diğer atom ya da moleküllerle kolayca reaksiyona girerler. Çünkü eşleşmemiş elektronların bir başka radikalin elektronu ile eşleşmek ya da bir elektron transferi ile kararlı hale gelme eğilimleri vardır. Bu sebeple serbest radikaller, elektron alıcı (yükseltgen) ya da elektron verici (indirgen) özellik gösterirler [12].

Radikaller, metabolizmanın normal işleyişi sırasında sürekli olarak üretilmektedir. Radikaller etkin reaktifler olduklarından tüm organlarda kontrol edilemeyen hasarlara yol açabilirler [13]. Serbest radikaller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de toksik maddelerin etkisiyle oluşabilirler [14]. İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal oluşumu vardır. Hücresel koşullarda da oldukça fazla miktar ve çeşitlilikte radikaller üretilmektedir [15].

Tablo 2.1. Sık karşılaşılan bazı serbest radikaller ve radikal üreten türlerin özellikleri [16, 17].

Adı	Simgesi	Özellikleri
Hidrojen radikali	$H\cdot$	Sık karşılaşılan en temel radikaldir.
Süperoksit radikali	$O_2\cdot$	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünüdür ve dismutasyon reaksiyonu ile hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturur [18]
Hidroksil radikali	$OH\cdot$	Toksik bir metabolittir.
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Tepkimeye girme potansiyeli düşük ancak hidroksil radikali ($OH\cdot$) oluşturma potansiyeli çok yüksektir [18]
Triklorometil radikali	$CCl_3\cdot$	CCl_4 metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikaldir.
Azot monoksit	$NO\cdot$	L - argininden <i>in vivo</i> üretilen radikaldir.
Singlet oksijen	1O_2	Oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerjiyle kendi yörüngesinin tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi sonucuyla oluşabilir [19]. Yarılanma ömrü kısa ve güçlü oksidatif formdadır.

Tablo 2.1. (devamı) Sık karşılaşılan bazı serbest radikaller ve radikal üreten türlerin özellikleri [16, 17].

Adı	Simgesi	Özellikleri
Perhidroksil radikali	$HO_2\cdot$	Süperoksit radikalinin düşük pH'da (pKa 4,8) protonlanmasıyla oluşur ve kuvvetli bir oksidandır [19]. Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır.
Peroksil radikali	$ROO\cdot$	Perhidroksile radikale oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olma yeteneği vardır.
Tiyil radikali	$RS\cdot$	Kükürtlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil radikali	$RO\cdot$	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti

2.2. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için antioksidanlar sistemleri vardır. Antioksidanlar, kendi elektronlarını vererek, serbest radikalleri nötralize ederler. Genellikle fenolik ve konjuge yapıda bulunan antioksidan molekülü üzerine aldığı radikalik yükü, delokalize ederek radikal etkinliğini azaltır [17, 20].

Antioksidanlar, serbest radikalleri başlıca dört yolla etkisiz hale getirirler:

Süpürme (Scavenging) etkisi: Serbest radikalleri daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir.

Söndürme (Quenching) etkisi: Bir hidrojen transferi ile oksidan maddeler inaktive edilir.

Zincir reaksiyonlarını kırma (Chain Breaking) etkisi: Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır metaller serbest radikalleri kendilerine bağlar ve inaktive eder.

Onarma (Repairing) etkisi: Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar.

2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar Tablo 2.2' de görüldüğü gibi doğal ve sentetik antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar. Doğal antioksidanlar enzimatik etki gösteren ve enzimatik etki göstermeyen antioksidanlar olarak ikiye ayrılırken, enzimatik etki göstermeyen antioksidanlar ise kendi aralarında endojen ve ekzojen antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar [20].

Tablo 2.2. Antioksidanların sınıflandırılması.

Antioksidanlar		
Doğal Antioksidanlar		Sentetik Antioksidanlar
Enzimatik	Enzimatik Olmayan	
	Endojen	Eksojen
Süperoksit dismutas (SOD)	Glutatyon (GSH)	Tokoferol (Vitamin E)
Katalaz (CAT)	Melatonin	Askorbik asit (Vitamin C)
Sitokrom Oksidaz	Ürik asit	Folik asit (Vitamin B9)
Glutatyon Peroksidaz (GSH-P _x)	Bilurubin	Karotenoidler
Glutatyon Redüktaz (GR)	Albumin	Fenolik Bileşikler
	Koenzim Q ₁₀	
	α-Lipoik Asit	
	Seruloplazmin	
	Transferrin	
	Selenyum	
	Çinko	

2.3.1. Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar hayvan ve bitki dokularında bulunan maddelerdir [21]. Organizmanın doğal antioksidan üretiminin yaş ilerledikçe ve çevresel etkenlerden dolayı azalmasından, yapılan çalışmalar bitkisel antioksidan araştırmalarını arttırmıştır [22]. Günümüzde sentetik antioksidanların zararlı etkileri göz önünde bulundurulduğunda doğal antioksidanların önemi giderek artmaktadır.

2.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$), H_2O_2 ve O_2 'ye katalizleyen, enzimatik bir antioksidandır (Şekil 2.1).

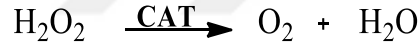


Şekil 2.1. Süperoksit dismutas (SOD) katalizörlüğündeki kimyasal reaksiyon.

Prokaryotik olmayan hücrelerin serbest radikallere karşı geliştirmiş oldukları korunma mekanizmaları arasında ilk SOD enzimi gelmektedir. İnsanlarda SOD'un üç izomeri bulunur. Bunlardan bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren süperoksit dismutas (Cu/Zn SOD) sitozolde, manganez içeren süperoksit dismutaz (Mn SOD) mitokondride ve ekstrasellüler süperoksit dismutas (EC SOD) hücre dışı sıvılarda bulunur. Genel olarak hücrede en çok bulunan izomer Cu/Zn SOD'dır [20]. Cu-Zn SOD'ın spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelere ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur. SOD'ın fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının ($\text{O}_2^{\cdot-}$) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışıyla artar [23].

Katalaz (CAT)

Katalaz (E.C.1.11.1.6) (CAT) enzimi hidrojen peroksiti (H_2O_2), oksijen (O_2) ve suya (H_2O) parçalayan reaksiyonu katalizler (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Katalaz (CAT) katalizörlüğündeki kimyasal reaksiyon.

Katalaz, aktif kısmında hem-bağlı demir içeren, hemen hemen tüm hayvansal ve bitkisel dokularda bulunan hemoprotein özelliğini taşıyan enzimdir [24]. Katalaz enzimi hayvanlarda bulunan aerobik hücrelerde, özellikler karaciğer ve eritrositlerde yoğun olarak bulunur. Beyin, kalp, iskelet kaslarında ise düşük miktarlarda katalaz enzimi içerir [19].

Sitokrom Oksidaz

Sitokrom oksidaz mitokondride yer alan ve solunum zincirinin en son basamağında bulunan bir enzimdir. Solunum zincirindeki görevini sürdürürken, süperoksit radikalının ($\text{O}_2^{\cdot-}$) suya dönüşümünü sağlar [25].

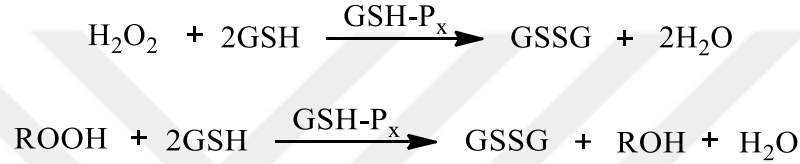


Şekil 2.3. Sitokrom oksidaz katalizörlüğündeki kimyasal reaksiyon.

Glutasyon Peroksidaz (GSH-P_x)

Glutasyon peroksidaz (EC 1.11.1.9) (GSH-P_x), hücrelerin sitoplazmasında bulunup, hücre içi hidroperoksitlerin indirgenmesinde görev alır.

Glutasyon peroksidaz (GSH-P_x), tetramer yapıda olup dört protein alt biriminden oluşur. Her protein birimine dört selenyum (Se) atomu bağlandığından, seleno-sistein bileşiği sınıfına girer ve bu özelliğinden dolayı katalitik aktiflik gösterir [19]. GSH-P_x elektron kaynağı olarak glutasyonu (GSH) kullanarak, hidrojen peroksiti (H₂O₂) ve organik hidroperoksitleri (ROOH) katalizleyen enzimdir [20]. GSH-P_x, glutasyonu (GSH) okside ederek (GSSG) hidrojen peroksiti (H₂O₂) suya (H₂O) indirger. Organik hidroperoksitleri (ROOH) katalizleyerek ise alkole (ROH) dönüştürür (Şekil2.3) [26, 27].



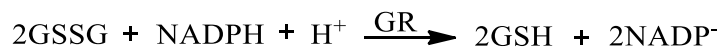
Şekil 2.4. Glutasyon peroksidaz (GSH-P_x) katalizörlüğündeki kimyasal reaksiyonlar.

Glutasyon peroksidaz lipid peroksidasyonundan ortaya çıkan hidroperoksitleri parçalayarak yeni radikal üretimini engellemektedir. Kanda bulunan eritrositleri hemoglobin oksidasyonuna karşı korumaktadır. Ayrıca aşırı hidrojen peroksit varlığında glutasyonun (GSH) okside glutasyona (GSSG, glutasyon disülfid) oksidasyonunu katalize eder [24].

Yapılan bir çalışmada glutasyon peroksidazın, tavuk yemlerinde protein ve kalsiyum değerlerini artırdığını ve LDL kolesterolü düşürdüğü tespit edilmiştir. Ayrıca lipid peroksidasyonunu büyük ölçüde azalttığını ve glutasyon peroksidaz aktivitesini artırdığını belirlemişlerdir [28].

Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz (E.C.1.8.1.7), GSH-P_x vasıtasıyla hidroperoksitlerin (H₂O₂) indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutasyona (GSH) dönüşümünü katalize eder.



Şekil 2.5. Glutasyon redüktaz (GR) katalizörlüğündeki kimyasal reaksiyon.

Glutasyon redüktaz (GR) hücre içi glutasyon (GSH) seviyelerini korunmasına yardımcı olarak hücre içinde serbest radikal oluşumunun engellenmesinde önemli rol oynar [29]. Bir flavoprotein olan GR hidrojen donör olarak β -nikotinamid dinükleotid fosfat (NADPH) kullanarak okside glutasyonu(GSSG) indirgenmiş glutatyona(GSH) katalizler. Bu sayede yüksek antioksidan etkisine sahip olan glutasyon muhafaza edilir [20].

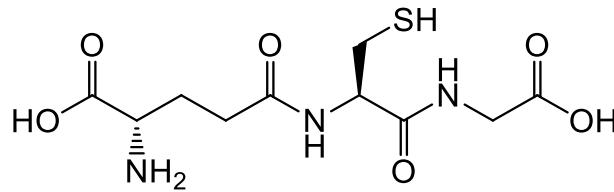
2.3.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Enzim yapısında olmayan doğal antioksidanlar, çoğunlukla tüm bitkilerde, mikroorganizmalarda ve bazı hayvansal dokularda bulunurlar. Enzimatik olmayan antioksidanlar endojen (organizmanın sentezlediği) ve eksojen (dışarıdan besinlerle alınan) olarak ikiye ayrılabilir.

2.3.1.2.1. Endojen Antioksidanlar

Glutasyon(GSH)

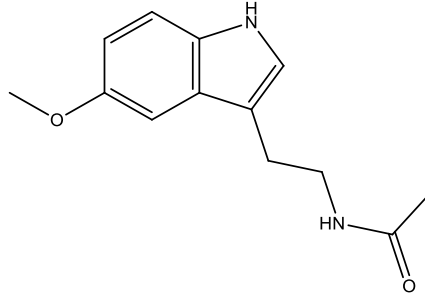
Glutasyon hemen hemen bütün ökaryotik hücrelerde sentezlenir. Glutasyon glutamat, sistein ve glisinden sentezlenebilen bir tripeptittir [27]. GSH serbest oksijen radikallerini nötralize ederek reaktif oksijen türlerine karşı vücudu korur ve plazma membranından aminoasit transportunu sağlar [30]. Bağışıklık sisteminin normal çalışması için lenfositleri aktive ederek bağışıklık sistemini güçlendirir. Vitamin E ve vitamin C, GSH tarafından düzenlenir. Karaciğer, böbrek veya bağırsak gibi ksenobiyotiklere maruz kalan organlarda yüksek konsantrasyonlar da bulunur [20, 22, 29].



Şekil 2.6. Glutasyon molekül yapısı.

Melatonin

Melatonin, memeli beyinde serebral yarıküreler arasındaki pineal bezden ve ayrıca lenf ve kemik iliği hücreleri ile safra ve gastrointestinal sistemden sentezlenip salgılanan, uyku, üreme gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur [31].

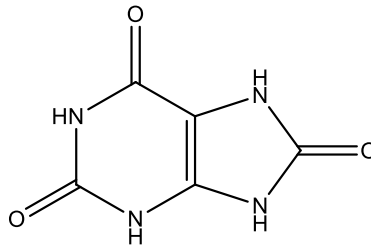


Şekil 2.7. Melatonin molekül yapısı.

Melatonin, hidroksil serbest radikali (OH•) ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil kation radikaline dönüşür ve bu da ortamdaki süperoksit radikalini (O₂•⁻) tutarak antioksidan aktivite gösterir. Ayrıca süper oksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutasyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini stimüle ederek dokularda lipid peroksidasyon sonucu oluşan oksidatif hasarı önler. Melatoninin antioksidan olarak diğer bir özelliği ise lipofilik olmasıdır. Hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabilir ve böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatonin kanserin ilerleme ve gelişme safhalarını geciktirir. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi de azalır. Dolayısıyla yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıklarda önemli bir rol oynar [31, 32].

Ürik Asit

Ürik asit plazma konsantrasyonlarında antioksidan özellik gösteren moleküldür. Singlet oksijen (¹O₂), hidroksil (OH•), süperoksit (O₂•⁻) ve peroksil radikalleri (ROO•) gibi reaktif oksijen türlerini (ROS) temizler. Lipit radikalleri üzerinde etkisi olmamakla birlikte demir (Fe⁺²) ve bakır (Cu⁺²) gibi iyonları şelatlayarak etkisizleştirir [33].



Şekil 2.8. Ürik asit molekül yapısı.

Ürik asit insanda pürin katabolizmasının son oksidasyon ürünüdür. Hipoksantin ürik asite dönüştüğü son metabolik adımın parçası olarak reaktif oksijen türleri (ROS) üretilmektedir. Ksantin oksidoredüktazın en önemli kaynakları karaciğer ve ince bağırsaklardır [34].

Albumin

Albumin yapısında 585 aminoasit bulunduran proteindir. Albumin, vücut içerisindeki sıvı dağılımında metallerin, yağ asitlerinin, kolesterolün, safra pigmentlerinin ve ilaçların taşınımını sağlar. Ozmotik basıncın düzenlenmesinde ve sıvının farklı bölmeler arasında dağılımında kilit bir proteindir [35].

Albumin, insan plazmasında 35-50 mg/mL arasında bulunur. Normal şartlarda yarı ömrü 20 gündür ve plazma konsantrasyonu sadece karaciğer ve katabolizması ile sentezi arasında değil, aynı zamanda transkapiller kaçışında da bir dengeyi temsil eder [36].

Katyonik ligandlar arasında geçiş metalleri olan Fe(II) ve Cu(II) iyonları, reaktif oksijen türlerini oluşturmada oldukça etkindir. Serbest Fe(II) ve Cu(II) iyonları Fenton reaksiyonları sonucu hidroksil radikallerin oluşumuna yol açan hidrojen peroksit (H₂O₂) ile etkileşime girebilir. Albümin yapısındaki serbest sülfidril grupları sayesinde sistein, homosistein ya da glutatyon (GSH) gibi bileşikler ile disülfid oluşturur. Bu durum Fenton reaksiyonundan salınan hidroksil radikallerini (OH[·]) büyük ölçüde engeller [35].



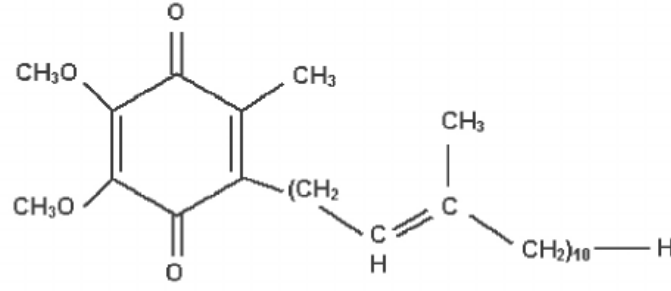
Şekil 2.9. Fenton reaksiyonu.

Bilirubin

Bilirubin, ömrünü dolduran eritrositlerin parçalanmasıyla eritrositlerin içerisinde bulunan hem-protein gruplarının yıkımı sonucunda meydana gelmektedir. Genellikle biyolojik dokularda anormal derecede yüksek konsantrasyonlarda biriktiğinde toksik bir bileşik olarak kabul edilir. Dolaşım esnasında karaciğer tarafından alınır, biyotransformasyona uğratarak safra veya idrarla atılır. Bilirubin, peroksil radikallerine (ROO[·]) zincir kırıcı etki göstermesinden dolayı oldukça etkili bir antioksidandır [20, 37]

Koenzim Q₁₀ (CoQ₁₀)

Koenzim Q₁₀ vücuttaki kimyasal reaksiyonlara enerji sağlanmasında önemli rol oynayan, mikrozom ve mitokondri gibi çeşitli organelleri ve hücreleri çevreleyen lipofilik bir antioksidandır. Koenzim Q₁₀ iyi bir antioksidan olarak mitokondriyal iç membranındaki solunum zincirinin elektron ve proton transportuna katılır ve hücre ve dokularda serbest radikal oksidasyonunu önler [38].

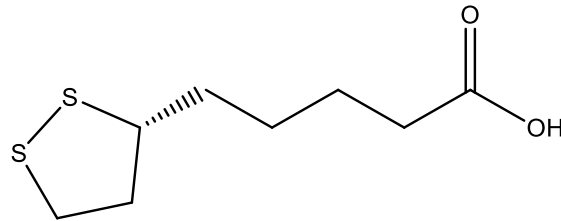


Şekil 2.10. Koenzim Q₁₀ (CoQ₁₀) molekül yapısı [39].

Koenzim Q₁₀, ubikinonlar olarak bilinen bileşiklerin ailesidir. Antioksidan olarak lipid ve protein peroksidasyonunu baskılar. İndirgenmiş formu, ubikinol (CoQH₂), bir lipofilik antioksidan olarak hareket eder ve elektron taşıma sistemine katılır. Ubikinol, oksidanları nötralize etmek için elektron verir ve bu sayede güçlü bir antioksidan aktivitesi gösterir. Böylece Koenzim Q₁₀ hidrojen peroksit (H₂O₂) ve süperoksit (O₂⁻) gibi toksik reaktif oksijensistemlerine karşı etkin bir koruma sağlar [38].

α-Lipoik Asit

α-Lipoik asit (LA) ve α-Lipoik asitin indirgenmiş formu dihidrolipoik asit (DHLA) güçlü antioksidanlardandır. α-lipoik asit, yağda ve suda çözünebilmesi özelliğiyle antioksidanlar arasında tektir. Süperoksit radikalleri, hidroksil radikalleri, peroksil radikalleri ve singlet oksijen gibi reaktif oksijen bileşikleriyle reaktif olur. α-Lipoik asit aynı zamanda vitamin E'yi rejenere eden vitamin C ve glutatyon ile birbirlerini etkileyerek membranları korur [40, 41].



Şekil 2.11. α-Lipoik Asit molekül yapısı.

α-Lipoik asit (LA) mitokondriyal yapıya sahip olan hayvan ve bitki dokularında bol miktarda bulunur. Bitkiler içinde en fazla α-lipoik asit içerenler sırasıyla ıspanak, brokoli ve domatestir. Hayvan dokuları içerisinde en fazla α-lipoik asit böbrek, kalp ve karaciğerde bulunur [41].

Seruloplazmin

Seruloplazmin beyin dahil olmak üzere bir çok dokuda sentezlenen ve protein yapıda olan antioksidandır. Temel görevi ise kandaki bakırın (Cu) % 95'ini taşımaktır. Seruloplazmin Cu'ya geri dönüşümlü bağlanarak Cu metabolizmasında önemli bir etkiye sahiptir. Ayrıca süperoksit dismutas (SOD) gibi hareket eder ve eritrosit zarlarında bulunan doymamış yağ asitlerini aktif oksijen radikallerine karşı korur [42].

Transferrin

Transferrin yüksek oranda serumda bulunur. Önemli işlevi ise kandaki demirin (Fe^{+3}) taşınmasıdır. Dolayısıyla hücrelerin gelişmesi ve büyümesi için önemli bir faktör olarak rol oynar. Demir (Fe) iyonları Fenton reaksiyonlarına neden olan hidrojen peroksidin (H_2O_2) yüksek oksidan aktivitesi gösteren hidroksil radikallerine ($OH\cdot$) dönüşümünü katalizleyerek oksidatif strese neden olur (Şekil 2.9). Transferrin ise serbest ferröz iyon (Fe^{2+}) konsantrasyonunu azaltarak antioksidan aktivite gösterir [22, 42].

Selenyum (Se)

Selenyum, antioksidan ve bağışıklık sistemini düzenleyici fonksiyona sahip olmasından dolayı önemli bir elementtir. Selenyum, selenoprotein işlevi için hayati olan selenosistein denilen amino asidi sentezlemek için kullanılır. İnsan vücudunda en az 25 selenoprotein bulunur ve bunlar antioksidan enzimlere (glutatyon peroksidaz ($GSH-P_x$)), antioksidan proteinlere (selenoprotein P ve W) ve diğer metabolik enzimlerin (tioredoksin redüktaz ve iyot deiodinaz) aktivitesine göre sınıflandırılır. Selenyum $GSH-P_x$ aktivitesini arttırarak reaktif oksijen radikallerini baskılar [43].

Çinko (Zn)

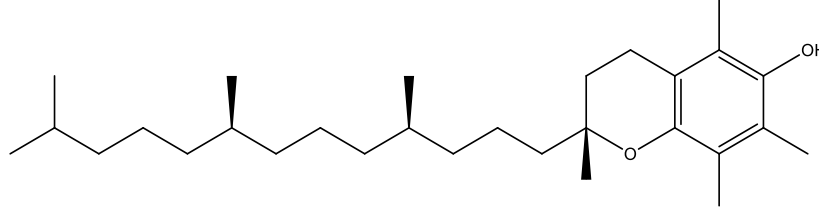
Çinkonun serbest radikal oluşumu durdurucu rolü vardır. Redoks stabil olan çinko, kritik selüler ve ekstraselüler bölgelerde bakır ve demir gibi redoks reaktif olan metallerin yerine geçer. Çinko antioksidan etkili bir enzim olan süperoksit dismutazın (SOD) ve dokuları serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyan metalloproteinlerin yapısında yer alır [44, 45].

2.3.1.2.2. Eksojen Antioksidanlar

Tokoferoller (Vitamin E)

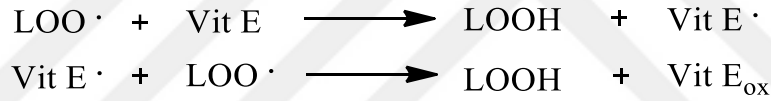
Vitamin E, yüksek antioksidan aktivite potansiyeli olan ve yağda çözünen bir vitamindir. Bu vitamin sekiz stereoisomeri olan asimetric bileşiktir. Asimetric formlar α -, β -, δ -,

γ - tokoferoller ve α -, β -, δ -, γ - tokotrienollerini olarak sınıflandırılır. Tokoferollerin antioksidan aktivitesi en yüksek formu α -tokoferoldür [46]. Yapısındaki (Şekil 2.12) fenolik hidroksil grubundaki aromatik halka moleküle antioksidan özelliği sağlar [47].



Şekil 2.12. α -Tokoferol (Vitamin E) molekül yapısı.

Vitamin E, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikallerini (OH^{\cdot}), singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini (LOO^{\cdot}) ve diğer radikalleri indirger. Vitamin E zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu (Şekil 2.13), vitamin E'nin oksidasyonu vasıtasıyla sonlandırılabilir [48].



Şekil 2.13. Vitamin E'nin lipid peroksidasyon zincir reaksiyonları.

Vitamin E okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir. Yaşlı kişilere Vitamin E ve C takviyesinin ortalama kan lipid peroksit konsantrasyonlarında bir azalma sağladığı saptanmıştır [49]. Glutatyon peroksidaz ile vitamin E, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Buna bağlı olarak glutatyon peroksidaz, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken vitamin E peroksitlerin sentezini engeller.

Vitamin E selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. Vitamin E selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır [50].

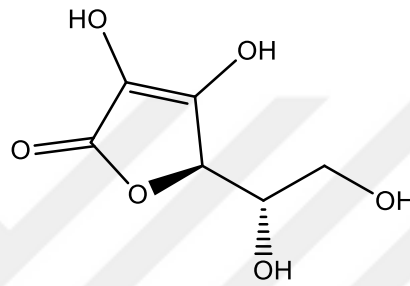
Vitamin E; kolon, prostat ve göğüs kanseri, bazı kardiyovasküler hastalıklar, katarakt ve nörolojik bozulukluklara karşı koruma etkisinin olduğu bilinmektedir [46].

Askorbik asit (Vitamin C)

Askorbik asit (Vitamin E) insanlarda sentezlenmeyen, bitkiler tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir ve antioksidan özellik gösterir. C vitamini insanda hastalıklara yol açabilecek potansiyele sahip birçok türü inaktif edebilmektedir. Bu türler oksijen radikalleri

(süperoksit, hidroksil radikali, peroksil radikaller), sülfür radikalleri ve nitrojen-oksijen radikalleri ve hipokloröz asit, nitrozaminler, nitroz asit bileşikleri, ozon gibi radikal olmayan reaktif bileşikleri olarak sayılabilir. Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapan vitamin C, kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir [51, 52].

Birçok memeli türü karaciğerindeki glikozdan C Vitamini (askorbik asit) sentezlenme yeteneğine sahip olmasına rağmen insanlar için bu durum mümkün değildir. Bunun nedeni insanlarda askorbik asit sentezi için esansiyel olan gulonolakton oksidaz enziminin olmayışıdır [22, 53].



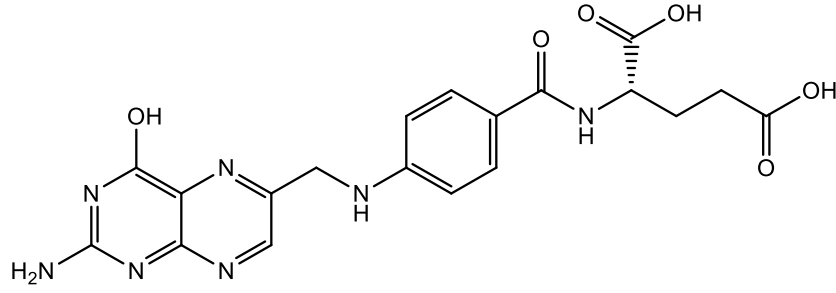
Şekil 2.14. Askorbik asit (Vitamin C) molekül yapısı.

Askorbik asit, bitkilerin yapraklarında ve kloroplastın özellikle stomasında yoğunlaşmış olarak askorbat halinde redükte formda bulunur. Kloroplastlarda fazla uyarılmış enerjiyi etkisizleştiren violaksantin-de-epoksidaz enziminin kofaktörü olarak davranır [54].

Vitamin C lipitlerde çözünen radikallerin temizlenmesi yoluyla üretilen α -tokoferoksil radikallerinden α -tokoferolü yeniden oluşturarak bir koantioksidan olarak hareket edebilir. Bunun yanı sıra vitamin C, Fenton reaksiyonlarında Fe^{3+} , Fe^{2+} 'ye dönüştürerek oksidan özellik de gösterir [55].

Folik Asit (Vitamin B9)

Folik asit (vitamin B9) suda çözünebilir bir vitamin B üyesidir. Folik asit, DNA sentezi ve kırmızı kan hücreleri açısından oldukça önemlidir. Gebelik ve çocukluk gibi büyüme periyotlarında ve hücre bölünmesi sırasında aktif görev alır. Folik asit erkeklerde spermatogenez için de gerekli olduğu bilinmektedir [56].

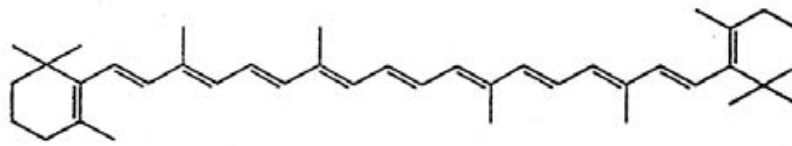


Şekil 2.15. Folik asit (Vitamin B9) molekül yapısı.

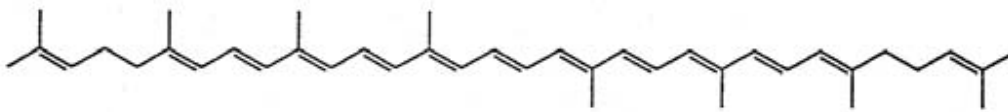
Folik asit reaktif oksijen türlerini temizleyen çok güçlü bir antioksidandır. Hem tek başına hem de diğer B vitaminleri ile birlikte plazma homosistein seviyesini düşürmede etkilidir. Ayrıca folik asit, vitamin C ve vitamin E gibi antioksidan vitaminler oksidatif vasküler hasarını engellemede büyük rol oynar [57, 58].

Karotenoidler

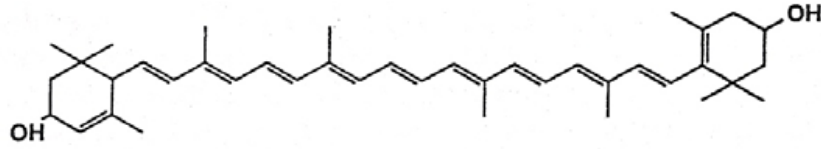
Karotenoidler lipofilik özelliklere sahip bitkilerde ve çoğu mikroorganizmalarda sentezlenen doğal bileşiklerdir. Doğal kaynaklardan 500'den fazla çeşit karotenoid izole edilmiştir. Çoğu karotenoid, antioksidan aktivitelerinden sorumlu olan genişletilmiş bir konjüge çift bağ sistemine sahiptir [59, 60]. Karotenoidler, iki ana sınıftan oluşmaktadır. Bunlar (Şekil 2.16); 40 karbon atomlu çoklu doymamış hidrokarbonlar (karotenler) sınıfında yer alan likopen, β -Karoten, α -karoten olarak, doymamış hidrokarbonların oksijenli türevleri (ksantofiller) sınıfında yer alan β -kriptoksantin, lutein, zeaksantin olarak adlandırılırlar [61]. Karoten sınıfında yer alan β -Karoten, provitamin olarak kabul edilen karotenoidlerin yağda çözünen bir üyesidir, çünkü aktif vitamin A'ya dönüştürülebilirler. β -Karoten, görme için gerekli olan retinole dönüştürülür. Karotenoidler yapılarındaki konjüge bağlar sayesinde oldukça güçlü antioksidanlardır ve singlet oksijenin en iyi söndürücüleridir [46].



β -Karoten



Likopen



Lutein

Şekil 2.16. β -Karoten, likopen ve lutein bileşiklerinin molekül yapıları.

Fenolik Bileşikler

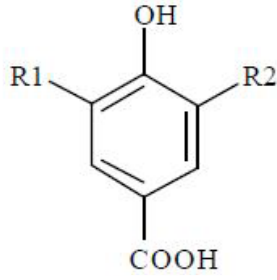
Polifenoller birçok bitkide bulunan, fitokimyasal bileşiklerin en geniş kısmını oluşturan ve insan vücudu için oldukça gerekli bileşiklerdir. Besin polifenolleri; fenolik asitler, fenolik polimerler (tanenler) ve flavonoidler olarak 3 ana grupta sınıflandırılabilir (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Polifenollerin sınıflandırılması.

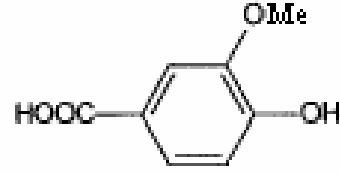
Polifenoller		
Fenolik Asitler	Fenolik Polimerler (Tanenler)	Flavonoidler
Hidroksibenzoik asit	Hidrolize olabilen tanenler (HT)	Flavonoller
Hidroksinamik asit	Proantosiyanidin (PA)	Flavonlar
		Flavanol
		Flavanonlar
		İzoflavonlar
		Antosiyonin

Fenolik asitler; bitkilerde yüksek miktarda bulunan fenolik asitler hidroksibenzoik ve hidroksinamik asitleri içeren iki gruptan oluşur.

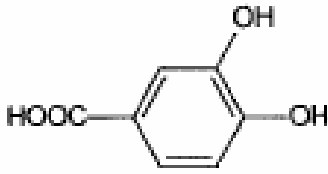
Hidroksibenzoik asitler; Hidroksibenzoik asitler C₆-C₁ fenilmetan yapısında olup, bitkisel gıdalarda genelde 10 ppm miktarında bulunurlar [62, 63]. Yapılarındaki hidroksi ve metoksi gruplarının yerleşimi ve sayılarına göre çeşitlenirler. Bunlardan birkaçı; gallik, vanilik ve protokateşuik asittir (Şekil 2.17). Monohidroksibenzoatlar etkili hidroksil radikal süpürücülerdir çünkü hidroksillenmeye ve hidroksil radikallerine yüksek reaktivite göstermeye eğilimlidir [64].



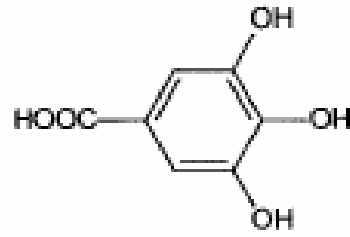
Hidroksibenzoik asit



Protokateşuik Asit



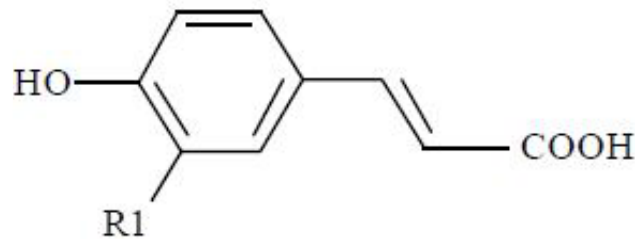
Vanilik Asit



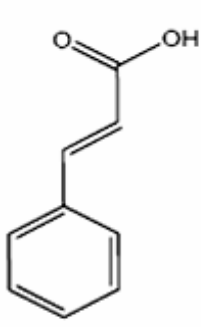
Gallik asit

Şekil 2.17. Hidroksibenzoik asit ve bunlardan birkaçının molekül yapısı.

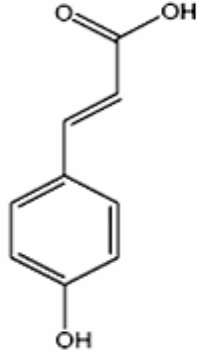
Hidroksinamik asit: Hidroksinamik asitler C6-C3 fenilpropan yapısında bulunan, fenilpropan halkasına bağlanan -OH grubunun konumu ve yapısına göre farklı özellik gösteren bileşiklerdir. En yaygın çeşitleri; sinamik asit, p-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, 5-hidroksiferulik asit, sinapik asit [63, 65]. Yapısı ferulik aside çok benzeyen kafeik asit kafeinden ayrı bir maddedir ve en çok kahvede bulunur. Kahve dışında; kekik, adaçayı, nane, anason, kırmızı şarap, elma, kayısı, erik, kuru erik gibi bitkiler başlıca kaynaklarıdır [62].



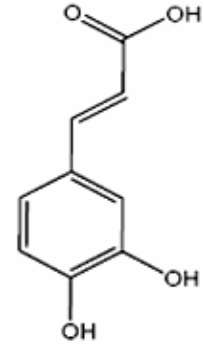
hidroksinamik asit



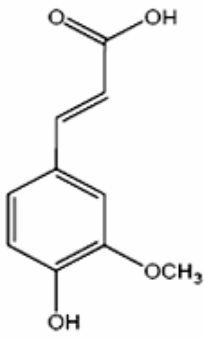
sinamik asit



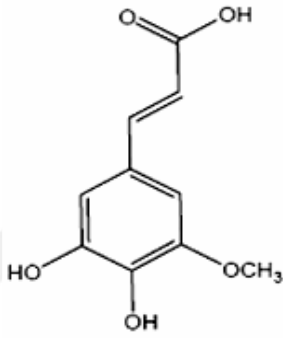
p-kumarik asit



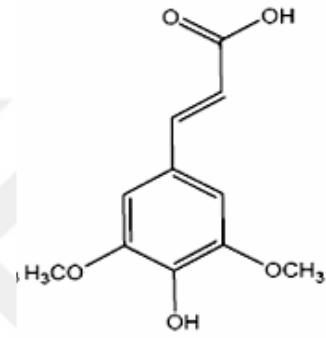
kaffeik asit



ferulik asit



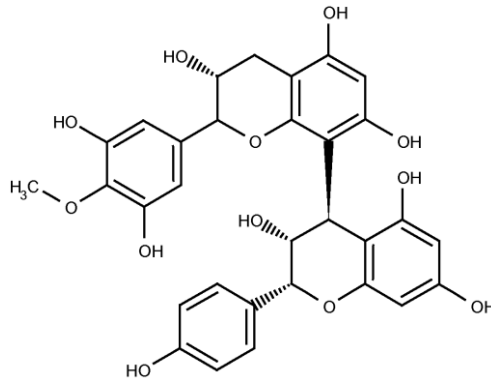
5-hidroksiferulik asit



sinapik asit

Şekil 2.18. Hidroksisinnamik asit ve en yaygın olarak bilinen çeşitlerinin molekül yapısı (Kalaycı, 2017).

Fenolik Polimerler (Tanenler); Molekül ağırlığı yüksek bileşiklerdir (Şekil 2.19). Polifenolik yapıda olan tanenler, bitkilerin çeşitli dokularında ve bu dokuların gelişmesinde görev alırlar [66].



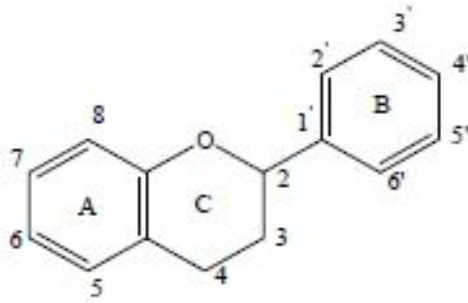
Şekil 2.19. Tanen bileşiğinin molekül yapısı.

Tanenler; moleküler yapılarına göre hidrolize olabilen ve hidrolize olmayan tanenler olmak üzere iki gruba ayrılırlar [67].

Hidrolize tanenler (HT); Hidrolize tanenler karbonhidrat ve hidroksil grupları içerirler. Zayıf asitler, zayıf bazlar, sıcak su veya tannaz gibi enzimler tarafından hidrolize edilmeleri sonucu karbonhidrat ve fenolik asite ayrılırlar [66, 68].

Proantosiyanidinler (PA); Kimyasal yapılarından dolayı genellikle kondanse tanenler (KT) olarak da bilinen PA'ler yem bitkisi olarak kullanılan ağaç ve çalılarda en yaygın olarak bulunan tanen grubudur [69]. Proantosiyanidin terimi asidik alkol çözeltilerinde PA'lerin ısıtılmasıyla kırmızı antosiyanidin oluşumuna neden olan oksidasyon reaksiyonunu katalize eden asitten kaynaklanmaktadır. Üretilen antosiyanidinlerden en çok bilinenleri siyanidin ve delfinidin'dir. Antosiyanidin pigmentleri çiçeklere, yapraklara, meyvelere ve şaraplara pembe, kırmızı, mavi ve menekşe rengi; meyvelere ve şaraplara astrenjan etki oluşturan buruk tat verirler [61, 66].

Flavonoidler; bitki fenollerinin en yaygın grubunu oluştururlar. Flavonoidler, C₆-C₃-C₆ konfigürasyonda düzenlenmiş 15 karbon atomunu kapsayan, düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. 6 karbonlu A, B ve 3 C'lu C halkalarından oluşan heterosiklik bileşikler, hetero halkanın yükseltgenme derecesine göre farklılaşırlar. Aromatik halkalar A ve B, hetero halka ise C olarak ifade edilir. Karbon atomları C halkasındaki oksijenden başlayarak, B halkasındaki karbon atomları ise üssü (') rakamlarla numaralandırılır (Şekil 2.20).



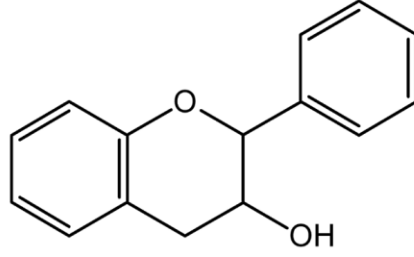
Şekil 2.20. Flavonoidlerin genel molekül yapısı [63].

Doğada, birçoğu yaprak, çiçek ve kökte bulunan 4000'den fazla flavonoid çeşidi vardır. Meyve, sebze, şarap, kakao ve çayda bol miktarda bulunurlar. Antioksidan aktivitelerini belirleyen ve aromatik halkalara bağlı olan birçok fenolik hidroksil grubu içerirler [61].

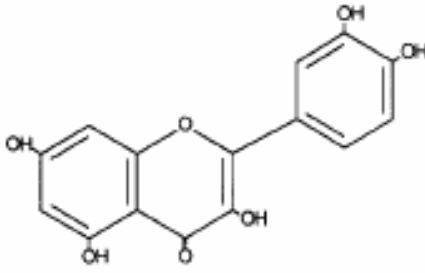
Değişik flavonoidler arasındaki farklar; bağlanan hidroksil gruplarının sayısından, doymamışlık derecesinden ve üçlü karbon segmentinin oksidasyon düzeyinden

kaynaklanmaktadır. Flavanoidler; flavonoller, flavonlar, flavanonlar, flavanoller (veya kateşinler), izoflavon ve antosiyanidinler olarak ana bileşik gruplarına ayrılabilir [70, 71].

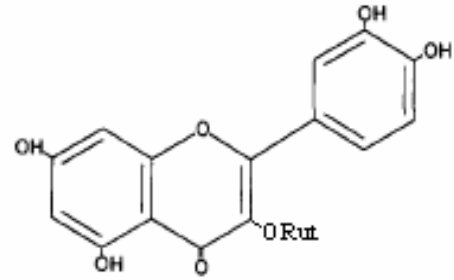
Flavonoller: flavonun 3 no'lu C atomuna bağlı bir hidroksil grubu taşırlar (Şekil 2.21). Flavonoidlerin bitkilerde en yaygın olarak bulunan sınıfıdır. En önemli flavonoller; kuersetin, glikozitlenmiş kuersetin (rutin), kamferol ve mirisetindir (Şekil 2.22). Flavonollerin başlıca kaynakları karnabahar, brokoli, yaban mersini, elma, üzüm, soğan ve sarımsaktır [72].



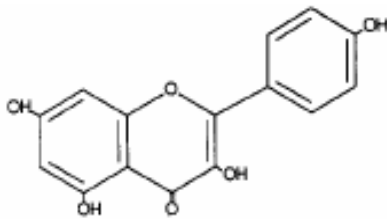
Şekil 2.21. Flavonollerin genel yapısı [73].



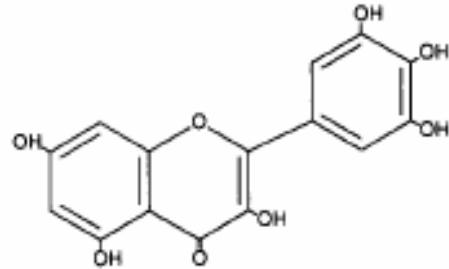
Kuersetin



Rutin



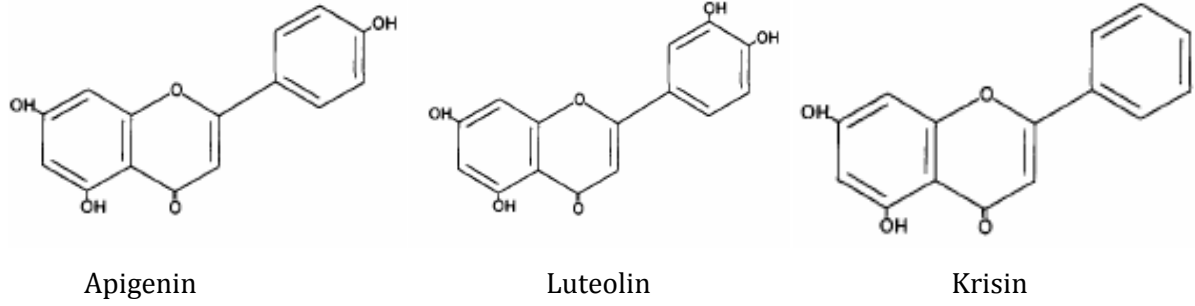
Kamferol



Mirisetin

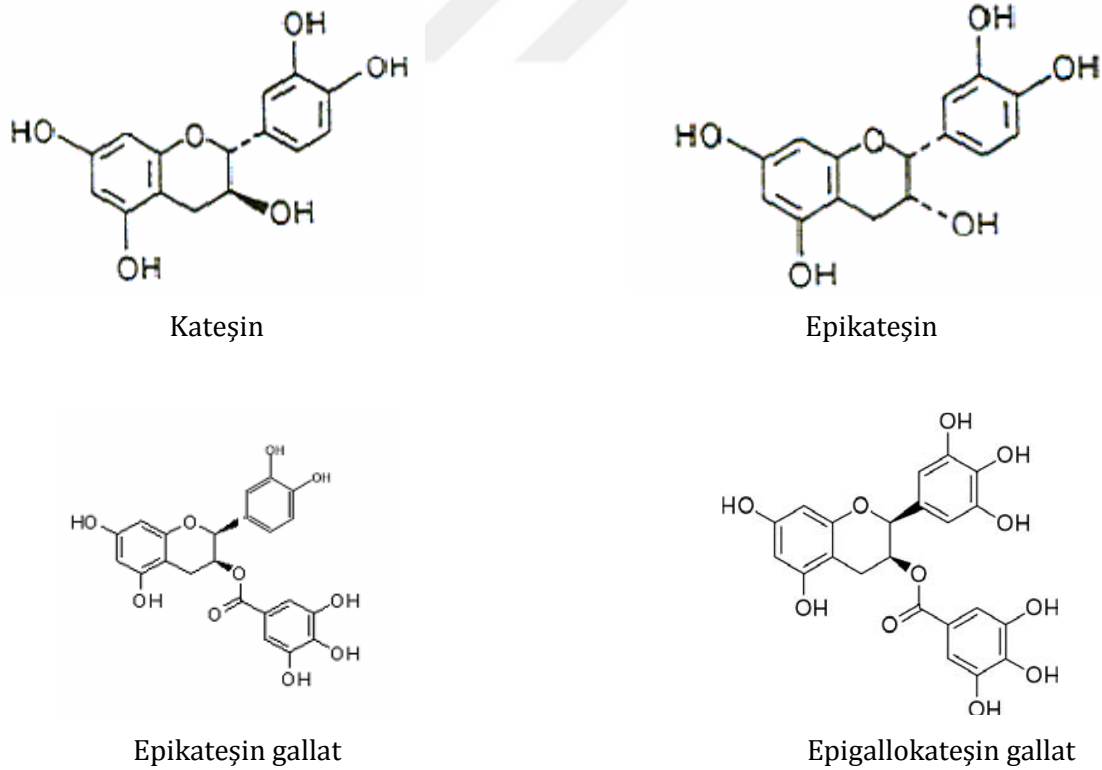
Şekil 2.22. Flavanoller sınıfında bulunan bazı bileşiklerin molekül yapıları.

Flavonlar; sınıfına ait temel bileşikler apigenin, luteolin ve krisindir. Maydanoz, kereviz ve zeytinde bol miktarda bulunmaktadır [74].



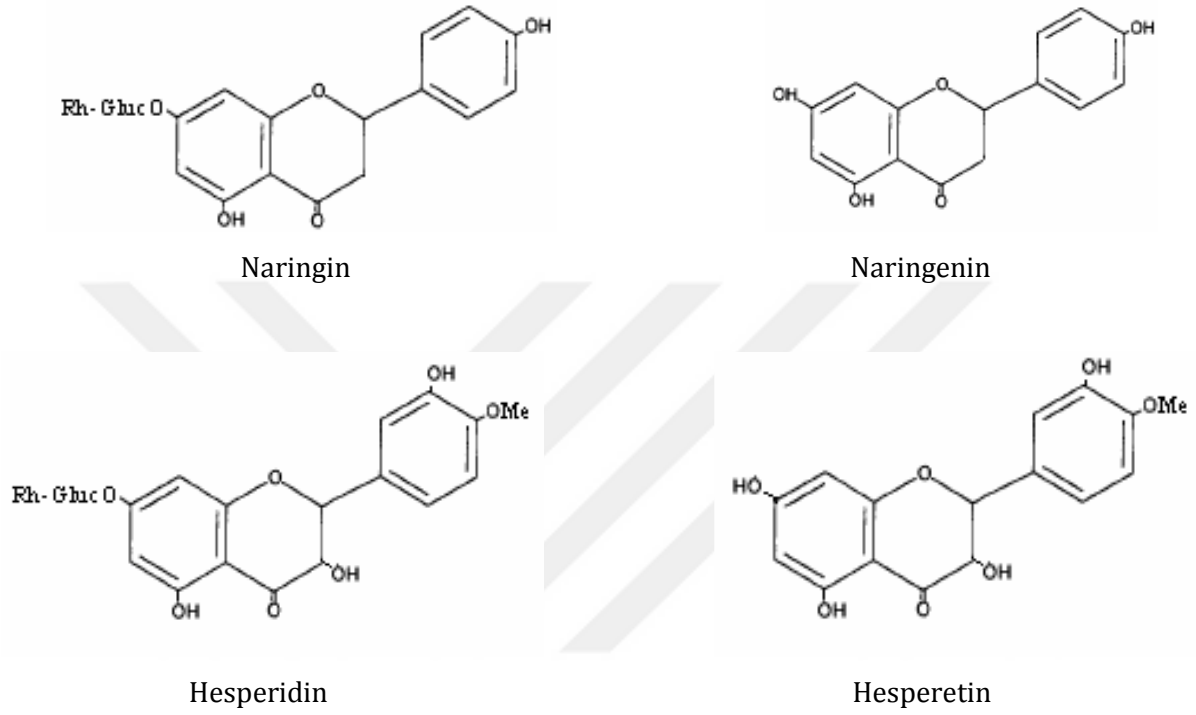
Şekil 2.23. Apigenin, luteolin ve krisin bileşiklerinin molekül yapıları.

Flavanoller, flavonların indirgenmiş türevleridir. En önemlileri kateşin ve epikateşin'dir. Kateşin ve epikateşinin gallik asitle kombinasyonları sonucu kateşin ve epikateşin gallatları meydana gelir. Bu bileşikler çoğunlukla yeşil ve siyah çayda, kırmızı ve beyaz şarapta, şeftalide ve elmada yüksek miktarda bulunur [61, 64].



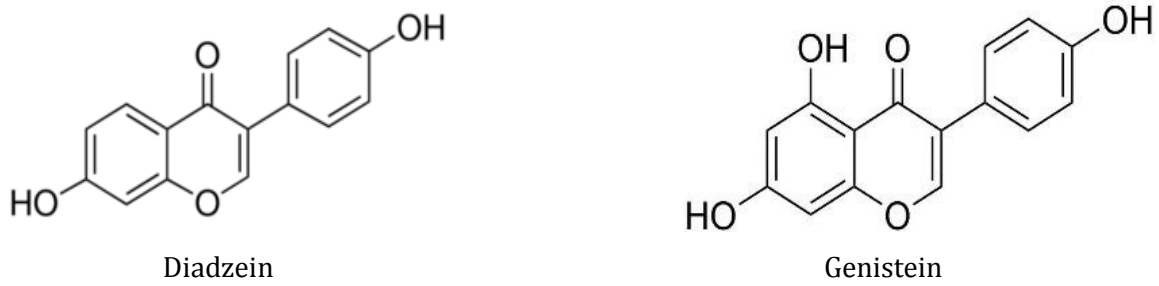
Şekil 2.24. Kateşin, epikateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin gallat bileşiklerinin molekül yapıları.

Flavonun dihidro türevleri ise *flavanonlardır*. En önemlileri naringenin, naringin, hesperidin ve hesperetindir. Naringenin 3'-hidroksi flavanondur. Greyfurtun karakteristik acılığını veren bileşik naringenin glikoziti naringindir. Naringenin aglikonu olan naringenin ise acı değildir. Hesperidin ve hesperetin limon ve portakalda yüksek miktarda bulunur. Hesperidin, hesperetin glikozitidir [75].



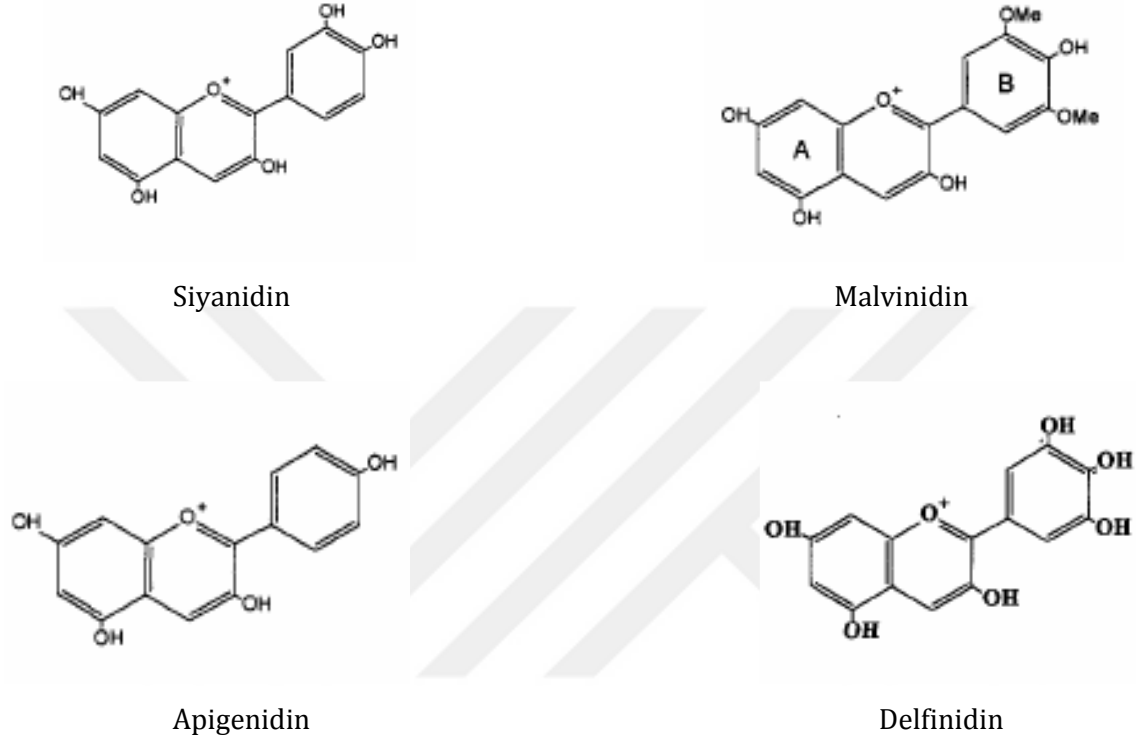
Şekil 2.25. Naringin, naringenin, hesperidin, hesperetin bileşiklerinin molekül yapıları.

Flavonların izomeri olan *izoflavonların* en temel bileşikleri genistein ve daidzein molekülleri olup baklagil ve soya fasulyesinde yüksek miktarda bulunmaktadır [61].



Şekil 2.26. Daidzein ve genistein bileşiklerinin kimyasal yapıları.

Antosiyaninler, suda çözünen, çiçeklere pembe ve turuncudan mavi ve mora değişen meyvelere ise kırmızı ve mor renk veren pigmentlerdir. Aglikonları antosiyanidinlerdir. Renkleri büyük ölçüde pH'a bağlıdır. En önemlileri; apigenidin, siyanidin, malvinidin ve delfinidin'dir. Siyanidin galaktozit elmada bulunan antosiyanidinlerdendir [76].

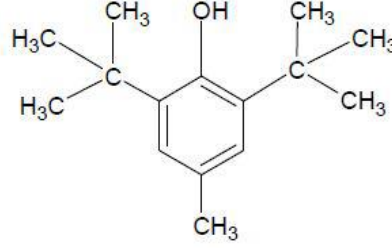


Şekil 2.27. Siyanidin, malvinidin, apigenidin ve delfinidin bileşiklerinin molekül yapısı.

2.3.2. Sentetik Antioksidanlar

Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)

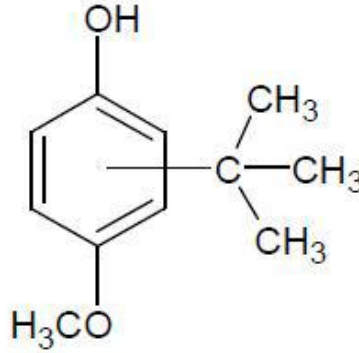
Bütillenmiş hidroksitoluen (2,6 di-tert-butil-4 metil fenol) en yaygın kullanılan sentetik antioksidanlardandır. Yağda çözünen bütillenmiş hidroksitoluen beyaz kristal görünümündedir. Peroksi radikaliyle iki aşamada etkileşerek çok daha az reaktif ürünlere dönüştüren BHT önemli sentetik antioksidandır. Bu antioksidanın fazla tüketimi, vücutta aşırı hassasiyete ve alerjiye yol açabildiği bilinmektedir [63].



Şekil 2.28. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) bileşiğinin molekül yapısı.

Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)

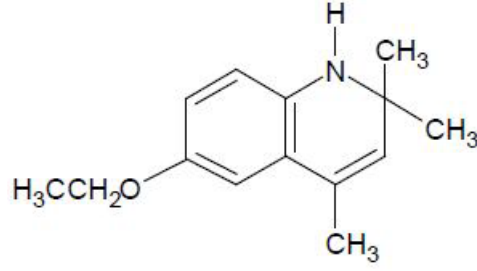
Bütillenmiş hidroksianisol, 3-tersiyer bütül-4-hidroksianisol ve 2-tersiyer bütül-4-hidroksianisol iki izomerin karışımı olup beyaz mumsu parçacıklar halindedir. BHT gibi yağda çözünür fakat suda çözünmez. BHA özellikle uçucu yağların renk, tat ve kokularının korunmasında, yağ asitlerinin oksidasyonunu kontrol etmenin yanı sıra tahıl ve şekerli ürünlerde kullanılır [63].



Şekil 2.29. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA) bileşiğinin molekül yapısı.

Etoksikuin

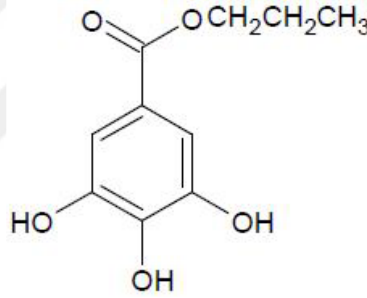
Etoksikuin (1,2-dihidro-6-etoksi-2,2,4-trimetilkuinolin; C₁₄H₁₉NO) lipid peroksil radikallerini süpürme özelliği taşır. Bu sayede katı yağlar ve hayvan gıdalarında stabilize edici olarak kullanılırlar. Bu sentetik antioksidan bileşiğin kimyasal faktörlerin neden olduğu kansere karşı koruma sağlamasına rağmen, hayvanlarda ve insanlarda yan etkilere de yol açtığı tespit edilmiştir [77].



Şekil 2.30. Etoksikuin bileşiğinin molekül yapısı.

Propil Gallat

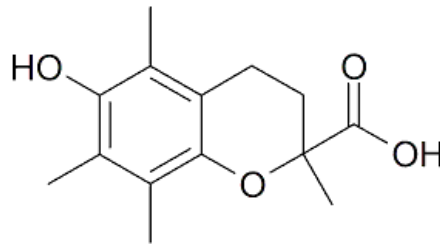
Propil gallat (propil 3,4,5-trihidroksibenzoat; C₁₀H₁₂O₅) beyaz ve kokusuz toz halde bulunan bir maddedir. Yiyeceklerin tazeliğini, besin değerini, aromasını ve rengini korumak için kullanılan bir antioksidandır. Etanolde yüksek oranda çözünürken, suda az çözünür. Yapılan çalışmalar sonucu propil gallatın mide-bağırsak yolunda absorplandığı belirlenmiştir [78].



Şekil 2.31. Propil gallat bileşiğinin molekül yapısı.

Troloks

Troloks [6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit], E vitamininin suda çözünür eşdeğeridir. Troloks canlı sistemlerde doğal olarak bulunan bir bileşik olmamakla birlikte pek çok antioksidan aktivite tayin yönteminde standart olarak kullanılır [17].



Şekil 2.32. Troloks bileşiğinin molekül yapısı.

2.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidanların kimyasal aktivitelerinin serbest radikal giderici olarak göstermiş oldukları potansiyel ile indirgeme potansiyeller ölçümüne dayalı olarak ifade edilmektedir. Antioksidan tayin etmede kullanılan yöntemler;

- Fenol Reaktifile Toplam Fenolik Miktar Tayini Yöntemi
- β -Karoten Renk Açılım Yöntemi
- DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi
- ABTS Yöntemi
- CUPRAC Yöntemi (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi)
- FRAP Yöntemi (Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü)
- Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi
- Ferrisiyanür İndirgeme Gücü Yöntemi
- TRAP Yöntemi (Toplam Radikal Tutma Parametresi)
- Luminol Yöntemi (Kemilüminesans)
- Diklorofloresin-Diasetat Yöntemi
- ORAC Yöntemi (Oksijen Radikalini Absorplama Kapasitesi)
- Siklik Voltametri Yöntemi olarak bilinmektedir.

2.5. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal madde, mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen veya öldüren, doğal veya sentetik yolla elde edilen bileşikler olarak tanımlanır. Bitkilerin mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyici ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1900'lü yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. Böylece sentetik üretilen ilaçların yanında seçenek olarak antimikrobiyal özellik gösteren bitkilerin kullanılabileceği bilim insanları tarafından belirtilmiştir [79, 80]. Bitkiler yapılarında bulunan bazı kimyasal maddeler sayesinde antimikrobiyal aktivite göstermektedirler. Antimikrobiyal aktivite gösteren bazı biyoaktif bileşikler kimyasal yapılarına göre sınıflandırıldığında; fenolikler, basit fenoller, fenolik asitler, flavonoidler, terpenoidler, yağlar, alkaloidler, lektinler ve polipeptitler, poliasetlenler şeklinde sıralanabilir [81].

Günümüzde enfeksiyon hastalıkları, enfeksiyon etkeninin duyarlı bulunduğu en uygun antimikrobiyal madde ile tedavi edilir. Bunun için de, o hastalıkta etken mikroorganizmanın antimikrobiyal maddeye karşı gösterdiği duyarlılık deneyi sonuçlarından faydalanılır. Mikroorganizmaların antimikrobiyal madde duyarlılığı, temelde dilüzyon ve difüzyon olmak üzere iki farklı tayin yöntemi ile belirlenebilir [82-84].

Dilüsyon Yöntemi;

Dilüsyon yöntemi; antimikrobiyal maddenin sıvı veya katı besiyerlerinde (agarlarda) bir seri halinde seyreltilmesi ve her bir seyreltme ortamına, duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli sayıda hücre içeren süspansiyonundan eşit miktarda eklenmesi esasına dayanır. Deney serileri uygun sıcaklıkta (35-37 °C'de) ve bakterinin üremesi için uygun süre (16-20 saat) inkübe edilir [82]. Antimikrobiyal madde konsantrasyonunun, inhibitör konsantrasyonunun altında olduğu tüplerde süspansiyon bulanıktır. Antimikrobiyal madde konsantrasyonunun inhibitör düzeye eşit veya daha yüksek olduğu tüplerde ise berraktır. Üremeyi engelleyen en düşük madde konsantrasyonu MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) olarak kabul edilir. Sıvı besiyerinde sulandırma yöntemleri tüpte uygulanıyorsa, makro (tüp dilüsyon), mikrotitrasyon plaklarında küçük hacim kullanılarak uygulanıyorsa, mikrodilüsyon olarak adlandırılır.

Difüzyon Yöntemi;

Difüzyon yönteminin prensibi, test materyalinin agarda difüze olmasına ve difüze olduğu mesafe kadar test mikroorganizmalarını inhibe etme esasına dayanır. Bu yöntemin birbirinin yerine geçebilir tarzda kullanılan, disk difüzyon ve çukur agar difüzyon yöntemleri olarak adlandırılan iki alt grubu vardır [85].

Disk difüzyon yönteminde; belirli bir miktar antimikrobiyal ajan içeren kâğıt diskler ya da açılan kuyular, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakların yüzeyine yerleştirilir. Böylece, diskteki ya da kuyu içerisine aktarılan antimikrobiyal madde besiyeri içerisine yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller. Bunun sonucunda, disk ya da kuyu bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı (inhibisyon zonu) oluşur. İnhibisyon zonunun çapı, bakterinin duyarlılığı ile direkt olarak ilişkilidir. Bu alanın çapı ölçülerek her antimikrobiyal madde için farklı olabilen duyarlılık sınırı değerleriyle karşılaştırılır. İnhibisyon alanının büyüklüğüne göre duyarlı, orta veya dirençli şeklinde duyarlılık kategorisi belirlenir [84].

2.6. *Hypericum Perforatum* L. (Kantaron)

Hypericum cinsi özellikle Akdeniz Havzası gibi ılıman iklimlerin hakim olduğu alanlarda yayılış göstermektedir. Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Kuzey Amerika'da doğal olarak yetişmektedir [86].

Hypericum perforatum L., *Hypericaceae* ailesine ait olan ve sarı kantaron, kanotu, kuzukıran, kılıçotu, yaraotu, mayasilotu gibi değişik adlarla anılan bir bitkidir. *Hypericum* cinsinin Türkiye'de 70, dünyada ise 350-400 farklı türü vardır. Dünyanın iklimi ılıman ve

tropikal bölgeleri boyunca, çoğunlukla çimenli nehir kıyılarında, yol kenarlarında, yazın kurak, kışın nemli olan bölgelerde ve bakımsız tarlalarda yaygın olarak görülür. Hafif asidik-nötr topraklarda en iyi yetişir [87, 88].



Şekil 2.33. *Hypericum Perforatum* L. (Kantaron) genel görünüşü [89].

Eskiden beri yaraları tedavi etmede kullanılan sarı kantaron, son zamanlarda klinik deneyler sonucunda antidepresan aktivitesi kanıtlanan ve dünyada kullanımı yaygın hale gelen tıbbi bir bitkidir [90, 91]. Kanser, şeker hastalığı, kronik romatizma, mide ülseri, mide bağırsak hastalıkları, karaciğer-safra rahatsızlıkları, sarılık, bronşit, diyare ve dizanterinin yanı sıra boğaz enfeksiyonları, soğuk algınlıkları, antiseptik olarak da kullanıldığı bilinmektedir [92, 93].

2.7. *Urtica dioica* L. (Isırgan Otu)

Isırgan otu (*Urtica dioica* L.), Urticaceae (nettle) ailesinden uzun ömürlü bir ottur. Yaprakları ve gövdesi yakıcı tüylerle kaplanmış, tohumlu, çoğunda sütsü öz bulunmayan, basit yapraklı ve yabancı tozlaşma gösteren, küçük çiçekli, ılıman bölgelerde yetişen yabani bir bitkidir. Aynı bitki üzerinde yaprak koltuklarında meydana gelen çiçekler ya erkek ya da dişidir. Kök ve tohumdan çoğalır, yavaş yayılır ve yıl boyunca sürekli olarak bulunur [25, 94]. *Urtica*, –yakmak anlamına gelen Latince –urere kelimesinden gelmektedir. Isırgan otunun yakıcı tüyelerine dokunulduğunda asetilkolin, histamin ve 5-hidroksitriptamin (serotonin) salmasından dolayı [95] yakıcı etki gösterir ve adı da buradan gelmektedir [96].



Şekil 2.34. *Urtica dioica* L. (Isırgan Otu) genel görünüşü [97].

Isırgan otunun idrar artırıcı, ödem çözücü, kan temizleyici, kan yaptırıcı, iltihap giderici, demir eksikliğini giderici ve organizmayı uyarıcı nitelikleri sıralanabilir. Bu temel niteliklerden yola çıkılarak, ısırgan otunun şu hastalıklara karşı başarıyla kullanılabileceğini belirtmek gerekir: Romatizma ve gut, romatizmal eklem deformasyonları, böbrek ve idrar yolları iltihabı, prostat büyümesi, mide ve bağırsak ülseri, böbrek ve safrakesesi taşı, alerjik rahatsızlıklar, egzama, ergenlik sivilceleri. Ayrıca, yalnız kök veya yaprakla birlikte hazırlanan kaynama suyuyla baş yıkandığında, saç dökülmesi durur, saçlar yoğunluk ve parlaklık kazanır, kepeklenme engellenir [94, 98, 99].

2.8. *Lavandula officinalis* (Lavanta)

Çok yıllık ve yarı çalimsı formda olan lavanta, Akdeniz Bölgesi'nde yetişen çok önemli bir uçucu yağ bitkisidir. Lavanta kazık kök yapısına sahip olup, yaklaşık 90 cm kadar toprak altında bulunabilir. Sap yapısı tüylü ya da çıplak görünümde, rengi grimsi yeşildir. Yapraklar sivri uçlu, kenarları düz, içe doğru kıvrık, şerit şeklinde ve 2-6 cm uzunluğunda boğumlarda karşılıklı olarak bulunur. Lavanta çiçekleri saplarının uç kısmında yaklaşık 15 cm uzunluğuna sahip olmakla birlikte, başaklarında 10'a yakın çiçek kümesi bulunmaktadır. Bulunan çiçek kümelerinde çevre faktörlerine bağlı olarak 6-14 adet arasında değişen çiçek başakçığı bulunmaktadır. Çiçekle;, içi düz, dışı tüylü 5 mm kadar uzunlukta gri-mavi renkli ve boyuna çizgili 4 adet çanak yaprak tarafından korunur [100, 101].

Lavanta bünyesinde β -pinen, terpineol, kafur, borneol, sineol gibi bileşikler taşır [102]. Lavanta yağının en önemli iki uçucu yağ bileşeni olan linalil asetatın ve linalolün yatıştırıcı etkisi olduğu bilinmektedir [103].



Şekil 2.35. *Lavandula officinalis* (Lavanta) genel görünüşü [104].

Lavanta yağının, kozmetik sektöründe, parfüm ve kolonya sanayisinde kullanımının yanı sıra sabun yapımında kullanıldığı bilinmektedir [101]. Bunun yanı sıra, mide ve sinir ilaçlarında kullanıldığı, migren, hafıza kaybı, görme bozukluğu, antimikrobiyal, antiseptik, lokal anestezi ve anti inflamatuvar gibi semptomlara iyi geldiği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır [105-107].

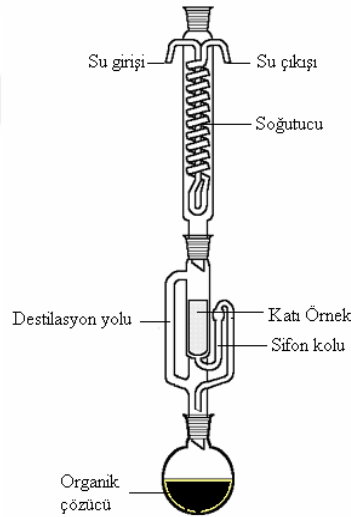
2.9. Bitkilerden Özütleme (Ekstraksiyon) Yöntemleri

Bitkiler belirli oranlarda bioaktif bileşikler içerdiklerinden dolayı birçok alanda geniş çaplı kullanılmaktadır. Bununla birlikte bitki özütlerinin elde edilmiş yöntemleri her geçen gün gelişmekte olup yeni yöntemler araştırılmaktadır. Ticari açıdan uygun ekstraksiyon yönteminin düşük maliyetli, pratik ve kolay olmalıdır. Aynı zamanda çevre dostu yöntemler tercih edilmelidir. Özütlenen maddelerde kayıp ve bozunma gibi verim düşürücü koşullar en aza indirgenmeli, ekstra bir saflştırma ve atık çözücü içermemelidir. Çözücü ekstraksiyon yöntemleri genellikle bu şartları sağlamakta olup bir takım dezavantajlar içermektedir. Bu dezavantajların en önemlileri yüksek ısı ve çözücü tüketimidir. Kullanılan çözücü ve uygulanan ısı ürünün kalitesini etkiler, bundan dolayı ısıl bozunmayla hassas maddelerin ekstraksiyonu için pek uygun bir yöntem değildir. Bu sebeplerden dolayı alternatif ekstraksiyon yöntemlerine ihtiyaç duyulmuştur. Bu teknikler;

- Soxhlet Ekstraksiyonu
- Ultrason Destekli Ekstraksiyon
- Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon
- Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu olarak belirtilebilir.

2.9.1. Soxhlet Ekstraksiyonu

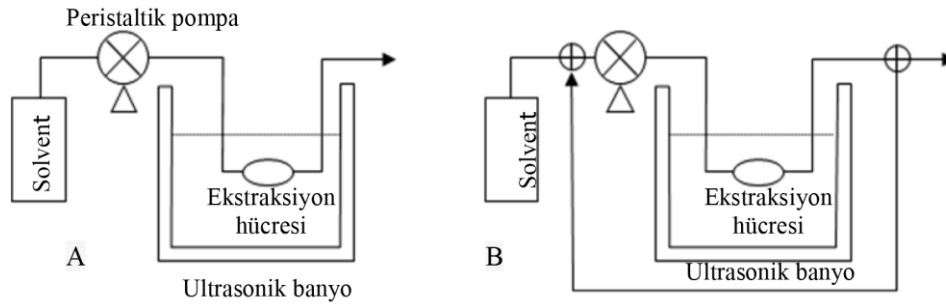
Soxhlet ekstraktörü 1879 yılında Franz von Soxhlet tarafından katı bir deney numunesinden yağ özütü elde etmek amacıyla icat edilen bir cihazdır. Çalışma yöntemi, deney numunesi ekstraksiyon tüpüne filtre kağıdı içerisinde yerleştirilir (Şekil 2.36). Çözücü içeren şilifli bir balon ve geri soğutucu takılır. Çözücü ısıtılmaya başlandıkça buharlaşan çözücü buharı yoğunlaşır numune üzerine damlayarak düşer. Numuneyi içeren ekstraksiyon tüpüne biriken çözücü bypass kolunun seviyesine ulaşır ve sifon oluşarak çözücü tekrar cam balona boşalır. Bu buharlaşma, yoğunlaşma, yükselme ve sifon döngüsü reflux olarak tanımlanır ve sürekli tekrar edilir. Her döngü sırasında, numunenin içerdiği bir miktar yağ çözücüde çözünür. Ancak çözücünün ısıtılan cam balonuna ulaştığında orada kalarak döngüye katılmaz. Bu durum bu yöntemin en önemli avantajıdır. Yani, sadece saf çözücü numuneyi özütlemek için buharlaşıp yoğunlaşarak döngüye katılır. Bu da verimi büyük ölçüde artırır. Ekstraksiyon sonunda kalan çözücü uzaklaştırılarak özüt elde edilir [108].



Şekil 2.36. Soxhlet düzeneği.

2.9.2. Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon

Dinamik ses dalgaları-destekli ekstraksiyonu olarak da bilinen bu yöntemde örneğe 20 kHz üstündeki frekanslarla akustik titreşimler uygulanır. Bu titreşimler sıvının içinden geçtiğinde kavitasyon (boşluk oluşumu) meydana gelir. Ultrasonik enerjinin neden olduğu kavitasyon olarak bilinen bu etki sıvı ortamda çok sayıda kabarcık üretir ve katıların mekanik olarak sarsılmasına neden olarak partiküllerin kopmasını sağlar. Ses dalgaları genellikle analitin iyi geri kazanımıyla sonuçlanan katı ve solvent arasında etkin bir temas sağlar [109].



Şekil 2.37. Dinamik ses dalgaları-destekli ekstraksiyonun şematik gösterimi

A) Açık sistem B) Kapalı sistem [109].

Ses dalgaları gıda sanayiinde, oksidasyonun hızlandırılmasında, enzim aktivitesinin inhibisyonunda, emülsiyon, ekstraksiyon, kristalizasyon, fermantasyon, kurutma, dondurulmuş gıdalarda filtrasyon ve gaz çıkarma işlemlerinin yapılmasında kullanılır [110]. Ayrıca ultrason destekli ekstraksiyon esansiyel yağ eldesinde, antioksidan maddelerin ekstraksiyonunda, şifalı otlardan biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda da kullanılmaktadır [111-114].

2.9.3. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

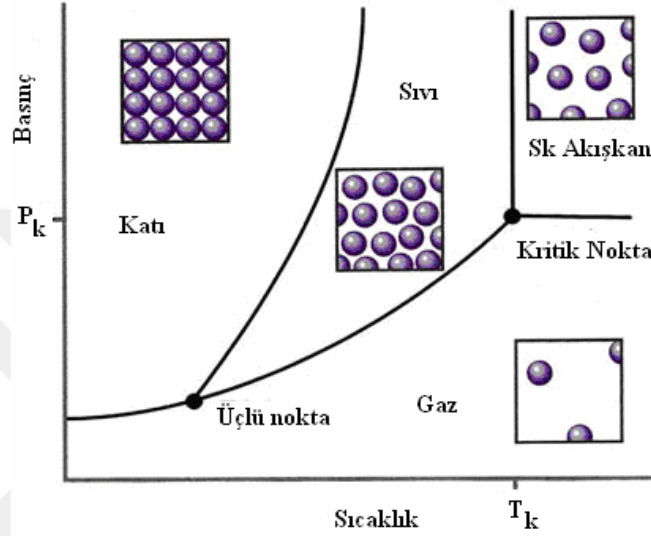
Mikrodalgalar yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalardır (300-300000 MHz). Mikrodalga enerji kullanılarak ısıtmanın prensibi, iyonların iletimi ve dipol rotasyonu (dönme) yoluyla molekül üzerine mikrodalga'nın direkt etkisi temeline dayanır. Çoğu uygulamalarda bu iki mekanizma eş zamanlı meydana gelir. İyonik iletim, bir manyetik alan uygulandığında iyonların elektroforetik göçüdür. Çözeltinin bu iyon akışına direnci friksiyon (sürtünme) ile sonuçlanır ve böylece çözelti ısınır [109, 114]. Mikrodalga destekli çözücü ekstraksiyonunda; mikrodalga ışıması, ekstraksiyon çözücüsünü ve örneği ısıtmak için kullanılır. Bu yöntemin en önemli avantajı ekstraksiyon işleminin kısa sürede olmasıdır [115].

Mikrodalga destekli çözücsüz ekstraksiyon tekniğinde taze bitki matriksinde solvent ya da su eklenmeden mikrodalga enerjisiyle kuru distilasyon gerçekleştirilir [115].

2.9.4. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon

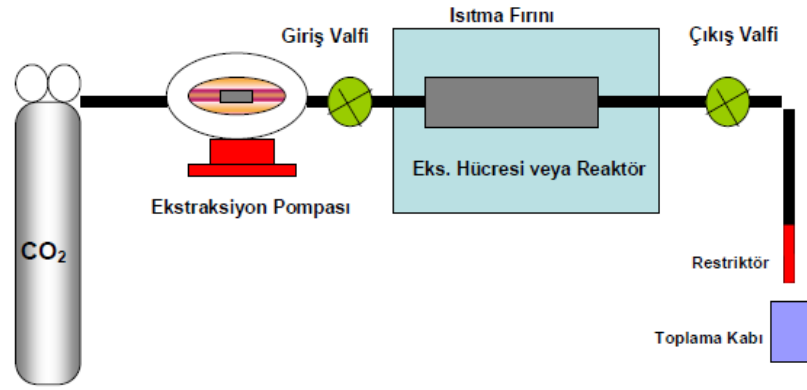
Birçok kimyasal atığın neden olduğu çevresel kirlenme, "yeşil kimya" diye bir kavramın doğmasına yol açmıştır. Kimyacılar artık kimyasal ve çözücü kullanımında çok daha dikkatli davranmaya ve çevre dostu çözümler geliştirmeye başlamışlardır. Değişik kaynaklardan doğal ürünlerin ekstraksiyonu ve izolasyonunda yüksek miktarlarda atık organik çözücü oluşmaktadır. Bu nedenle Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE), doğal ürünlerin ekstraksiyonunda bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır [116].

Bu yöntemin temel prensibi süperkritik çözücülerin akışkan formda kullanılmasıdır. Bir madde sahip olduğu kritik sıcaklık ve basınç değerinin üzerine getirilirse bu madde süper kritik akışkan olarak adlandırılır (Şekil 2.3) Bu durumdaki madde ne sıvıdır ne de gazdır. Yüksek sıcaklık ve düşük basınçta akışkanın yoğunluğu düşük olacağından gaz gibi davranacakken, düşük sıcaklık ve yüksek basınçta akışkanın yoğunluğu artacak ve sıvı gibi davranacaktır [113, 117].



Şekil 2.38. Saf bir maddenin süperkritik faz diyagramı [118].

Bir süperkritik akışkan sistemi (Şekil 2.39) iki ayrı kullanım modundan birine göre çalışabilir. “Dinamik ekstraksiyon modunda”, ekstraksiyon hücresi ile ayar çıkışı arasındaki musluk hep açıktır ve numuneye sürekli olarak süperkritik akışkan ulaşırken, analitin süperkritik ortamdaki çözeltisi yine sürekli şekilde, basıncın düşürüldüğü toplama kabına akar. “Statik ekstraksiyon modunda” ise, ekstraksiyon hücresi ile akış ayar çıkışı arasındaki musluk kapalıdır ve ekstraksiyon hücresi, statik şartlarda istenen basınca getirilir. Uygun bir süre beklendikten sonra, bu musluk açılır ve ekstraksiyon hücresindeki süperkritik çözelti akışı ayar çıkışından, pompanın sağladığı dinamik akışkan yardımı ile toplama kabına gider. Dinamik mod genellikle statik moda göre daha yaygındır [119].



Şekil 2.39. Tipik bir süperkritik akışkan sisteminin ana bileşenleri [119].

Süperkritik akışkan olarak kullanılan bazı maddelerin kritik özellikleri Tablo 2.4' de verilmiştir.

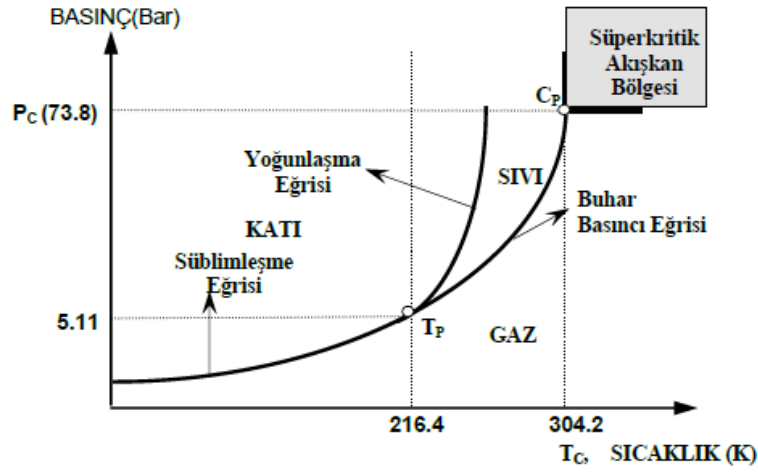
Tablo 2.4. Süperkritik akışkan olarak kullanılan bazı maddelerin kritik sıcaklık ve basınçları [120].

Çözücü	T_c (K)	P_c (MPa)
Etilen	282,4	5,04
Karbon dioksit	304,1	7,38
Amonyak	405,6	11,3
n-hekzan	507,5	3,01
Aseton	508,1	4,7
Metanol	512,6	9,09
Toluen	591,8	41,1
Su	647,3	22,1

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda kullanılan çözücülerin inert olması, bu şartlarda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde hidroliz, oksidasyon veya degradasyon tepkimelerinin önüne geçmektedir. Klasik çözücü ekstraksiyonu uygulamalarında harcanan çözücü miktarına göre süperkritik şartlarda minimum düzeyde çözücü kullanılması açısından oldukça ilgi çekici proses oluşturmaktadır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile ekstraksiyon sonunda, basıncın düşürülmesi akışkan ve çözünen madde birbirinden ayrılması sağlar. Buna bağlı olarak elde edilen maddede çözücü tamamen ayrılır. Bu sayede elde edilen maddeye tekrar bir saflaştırma işlemi yapmaya gerek kalmaz [121].

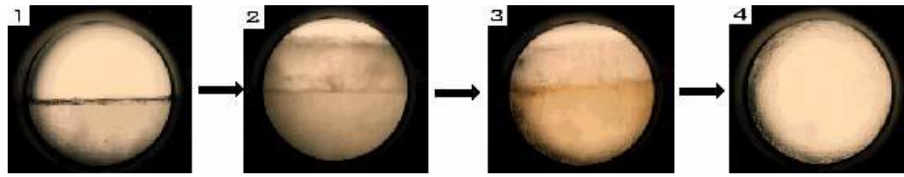
2.10. Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu

Süperkritik karbondioksit düşük kritik sıcaklık ve basınç değerlerine sahip olması (Şekil 2.40) ($T_c = 31,06 \text{ }^\circ\text{C}$ ve $P_c = 73,8 \text{ bar}$), toksik, korozif ve yanıcı olmaması, ucuz ve inert olması nedeniyle en çok kullanılan süperkritik akışkandır. Kritik sıcaklık değeri diğer akışkanlara göre düşük olduğu için, ısıya karşı dayanıksız bileşiklerin ekstraksiyonu termal bozunma olmadan gerçekleştirilebilir [119].



Şekil 2.40. CO₂ 'ye ait P-T diyagramı [118].

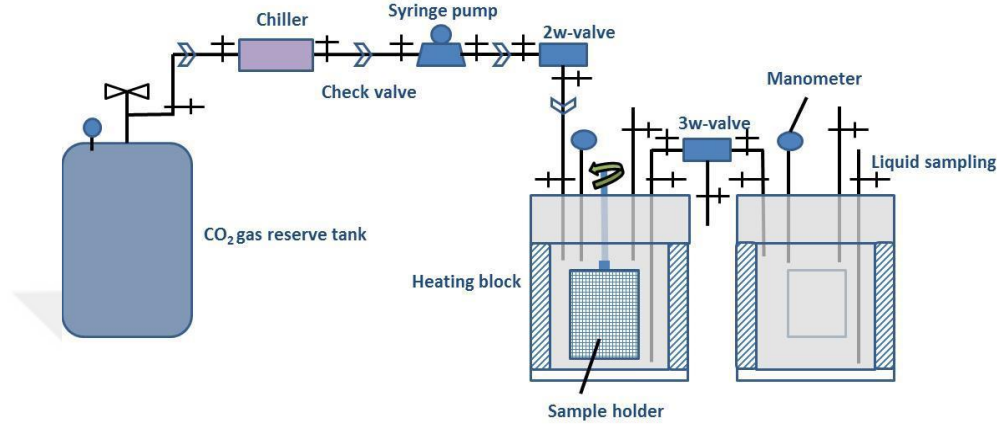
Oda sıcaklığında sıvı halde bulunan süperkritik karbondioksit, kritik basınç ve sıcaklığına getirildiğinde iki fazlı sistemden tek fazlı sisteme geçmektedir (Şekil 2.41).



Şekil 2.41. Süperkritik karbondioksitin iki fazlı sistemden homojen tek fazlı sisteme geçişi [118].

Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonunda (Şekil 2.42) sıvı karbondioksit pompa yardımıyla istenen basınçta ayarlanılarak iletilir. Cihaz ya ısıtma ceketini ile ısıtılır veya akışkan sisteme verilirken bir ısı değiştirici plaka vasıtasıyla istenilen çalışma sıcaklığına ulaşır. Cihazda bulunan materyal ile etkileşime girer, çalışma parametrelerine bağlı şekilde özütleyebileceği bütün bileşikleri bünyesine toplar. CO₂ içeren özüt bir basınç düşürme valfinden geçerek

separatöre gönderilir. Karışım separatöre ulaştıncaya bu bölümde çözme gücünü yitiren akışkan kalıntısız bir biçimde sistemden ayrılır [10, 122]. Separatördeki özüt saf durumdadır, kalıntı içermediğinden ve yüksek sıcaklıkta işlem görüp bozunmadığından doğrudan başka işlemler için kullanılabilir. Bu sayede ayrıştırılmak istenilen bileşik bir seferde ve saflaştırma gerektirmeksizin özütlenebilir [122].



Şekil 2.42. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu akım şeması [123].

Doğal ürün özütlerindeki belirgin koku esansiyel yağlardan kaynaklanmaktadır ve esansiyel yağların bileşiminde, monoterpen, seskuiterpen ve aromatik bileşikler gibi ısıya duyarlı maddeler vardır. Geçtiğimiz on yıl zarfında doğal esansiyel yağ ekstraksiyonu için kullanılan öncelikli metot, ısıya duyarlı bileşik kaybını en aza indiren Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu olmuştur. Özellikle gıda, eczacılık ve kozmetik sektörlerinde uçucu yağ bileşenlerinin ekstraksiyonu için son yıllarda süperkritik akışkan tercih edilmesinin en önemli nedenleri çevre dostu ve ucuz olmalarıdır.

2.11. Literatür Araştırması

Son yıllarda bitkisel ürünlere taleplerin artmasıyla birlikte çevreci ekstraksiyon yöntemleri ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça artmaktadır.

Tahri ve ark. [123] yaptığı bir çalışmada *Urtica dioica L.* bitki özütleri anestezi altında kontrollü dozlarla sıçanlara enjekte edilmekte ve kardiyovasküler sistem üzerinde doğrudan bir etkiye işaret eden *Urtica dioica L.* akut hipotansif etkisini göstermektedir. Ayrıca, böbrek fonksiyonunda bir etki olduğunu düşündüren diüretik ve natriüretik etkiler de gözlenmiştir.

Schempp ve ark. [124] yüzeysel yara ve yanıkların tedavisinde kullanıldığı bilinen *Hypericum perforatum L.*, bitkisinde bulunan Hypericin maddesinin cilde uygulanması sonucu güneş simülasyonuna karşı radyasyonu cilt hassasiyetine duyarlılık gösterdiği gözlenmiştir.

Konrad ve ark. [125] yaptığı *in vitro* bir çalışmada *Urtica dioica L.* bitki özütlerinin, prostat kanser hücrelerinin gelişmesini durdurduğu gösterilmiştir.

Bnouham ve ark. [126] sıçanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada glukoz yüklenmesinden 30 dakika sonra *Urtica dioica L.* bitkisinin sulu özütlerinin tatbik edildiğinde güçlü bir glikoz düşürücü etki gösterdiği gözlenmiştir.

Pinelli ve ark. [127] tarafından yapılan bir çalışmada *Urtica dioica L.* bitkisinin içerdiği flavanoidler ve lifleri analiz edip, bunların tekstil, kozmetik, gıda gibi uygulamalarda kullanılabileceğini gösterilmiştir.

Barnes ve Greeson ark. [128] yaptığı derlemelerde, *Hypericum perforatum L.* bitkisinin flavanoidler ve diğer fenolik bileşenler içeriğiyle farmakolojik çalışmalar başta olmak üzere, antidepresan aktivite, antimikrobiyal ve antiviral gibi birçok alanda kullanıldığını belirtmiştir.

Ghelardini ve ark. [105] yaptığı çalışmada *Lavandula agnustifolia* bitkisinin içerdiği linalyl acetat ve linalol etken maddelerinin tavşanlarda *in vivo* refleks testini ve sıçanlarda *in vitro* frenik sinir hemidiafram testlerinde aldıkları sonuca göre *Lavandula agnustifolia* bitkisinin lokal anestezi özellik gösterdiği gözlenmiştir.

Vakilian ve ark. [129] yaptığı bir çalışmada *Lavandula officinalis* bitki yağı uygulanmasıyla doğum sırasındaki epizyotomi ve doğum sonrasında oluşabilecek alerjik septomları azalttığını gözlemişlerdir.

Rabiei ve ark. [130] sıçanlar üzerinde yaptıkları bir araştırmada *Lavandula officinalis* bitkisinin etanollü özütleri ile yapılan tedavide, ön bellek ve öğrenme üzerine çalışmıştır. Farklı sıçan gurplarına farklı dozlarla uygulanan sulu ve etanollü özütlerin hafızayı ve öğrenmeyi geliştirdiğini ve bu hastalıkları olan hastalarda, özellikle de ağrı çeken hastalarda yararlı olabileceğini göstermişlerdir.

Aprotosoae ve ark. [131] hazırladıkları derlemede *Lavandula* familyasına ait türlerin, ekonomik değeri olan tıbbi aromatik bitki olarak kullanıldığını ve gıda, kozmetik, farmakolojik, parfüm endüstrisi ve aromaterapi gibi bir çok alanda kullanıldığını belirtmiştir.

Özkal ve ark. [132] tarafından yapılan çalışmada fındık yağı elde etmek için süperkritik karbondioksit ekstraksiyon yöntemini kullanarak farklı sıcaklık ve basınç uygulanarak yapılan denemelerde elde edilen yağ verimini arttırdıkları gözlenmiştir.

Hu ve ark. [133] yaptıkları bir çalışmada *aloe vera* bitki özütünü süperkritik karbondioksit ekstraksiyon yöntemi ve solvent ekstraksiyon yöntemiyle karşılaştırmışlardır. Süperkritik CO₂ yöntemini optimize etmek için bir dizi çalışma sonucu 50 °C sıcaklık ve 35 bar basınçta %1.47 verimle, solvent ekstraksiyonu sonucu ise %20 verimle özüt elde etmişlerdir. Ancak elde edilen özütün antioksidan kapasitesi incelendiğinde süperkritik CO₂ yöntemiyle elde edilen özütün radikal süpürücü etkisi %33.5, solvent ekstraksiyonu ile elde edilen özütün radikal süpürücü etkisi %14.2 olduğu gözlenmiştir.

Eller ve ark. [134] yaptıkları bir çalışmada sedir ağacı bitkisinin yağını elde etmek için Süperkritik CO₂ yöntemi ve su buharı destilasyonu yöntemini kıyaslamışlardır. Elde ettikleri sonuca göre su buharı destilasyonu yöntemiyle elde ettikleri yağ verimi % 1.3 iken, sperkritik CO₂ yönteminde 1500 psi basınçla 70 ve 100 °C sıcaklıkta çalıştıklarında elde ettikleri yağ verimi %4.4 'tür.

Simandi ve ark. yaptıkları bir çalışmada rezene tohumundan yağ elde etmek için süperkritik CO₂, buhar destilasyon yöntemi ve hekzan ekstraksiyonu yöntemini kullanmışlardır. Rezene tohumlarının süperkritik CO₂ ekstraksiyon yöntemiyle 80-84 bar basınçta ve 31-35 °C sıcaklıkta verim %10, buhar destilasyonu yöntemiyle elde ettikleri verim %3, hekzan ekstraksiyonu ile elde ettikleri verim ise %10.6 'dır.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- **Etanol (C₂H₆O)**

Soxhlet ekstraksiyonunda çözücü olarak kullanılmıştır. Merck ®firmasından % 99 saflıkta (CAS- NO: 64-17-5), temin edilmiştir.

- **DPPH (1,1-Difenil 2-pikrilhidrazil)**

Antioksidan aktivite ölçümleri için kullanılmıştır. Sigma-Aldrich marka (CAS- NO:1898-66-4) kullanılmıştır.

- **BHT (2,6-ditertbütül-4-metil fenol)**

Doğal antioksidan olarak kullanılmıştır. Sigma-Aldrich marka (Cas-NO:489-01-0) kullanılmıştır.

- **Karbondioksit (CO₂)**

Süperkritik ekstraksiyon yöntemi için, Linde marka kullanılmıştır.

- **Mueller-Hinton Agar (MHA)**

Bakterilerin antibiyotik duyarlılığı çalışmasında kullanılmıştır (Merck, Product no: 1.053437.0500).

- **Nurtient Agar (NA)**

Bakterilerin antibiyotik duyarlılığı çalışmasında kullanılmıştır (Merck, Product no: 1.05450.0500).

- **Eosin Methylene-Blue Lactose Sucrose (EMB)**

Bakterilerin antibiyotik duyarlılığı çalışmasında kullanılmıştır (Merck, Product no: 1.01347.0500).

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

- **Reaktör**

100 mL'lik paslanmaz çelik bir ekstraktör ve iki separatör kullanılmıştır.

- **Pompa**

ISCO Model 260D Syringe pump pompa kullanılmıştır.

- **Hassas Terazi**

Bitkinin tartım işlemleri RADVAG AS/220/C/2 marka terazi ile yapılmıştır.

- **Shimadzu cihazı**
- Antioksidan aktivite tayini için Shimadzu marka spektrofotometre kullanılmıştır.
- **Mikro pipetler**

Özütlerin hacimlerini ölçmek için, Eppendorf research plus marka kullanıldı.

- **Mantolu ısıtıcıları**

Sokshlet ekstraksiyonu işleminde ısıtıcı olarak, ISOTEX marka kullanılmıştır.

3.2. KULLANILAN YÖNTEMLER

3.2.1. Bitkinin Kurutulması ve Bitki Özütlerinin Hazırlanması

Toplanan *Hypericum perforatum* L., *Urtica dioica* L. ve *Lavandula officinalis* bitkileri doğrudan güneş ışığı almayan serin bir ortamda kurutuldu. Kurutulan bitkiler öğütülerek toz haline getirildi. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu için alınan 10'ar gram bitkiler reaktöre yerleştirilip, reaktör özel tork anahtarı ile sıkıştırılmıştır. Sisteme şırınga tipi (ISCO Model 260D Syringe pump) pompalar ile sabit basınç modunda kesiksiz olarak sıvı CO₂ basılmak suretiyle sistem basınçlandırılırken sistem sıcaklığı da ısıtıcı ceketler ile 40°C sabit tutulmaya çalışılmıştır. Sistem basıncı 150 bar'a ulaştığında reaktörün altındaki vana açılarak, özütlenen ürünler bu vananın çıkışına toplama kabına toplanmıştır. Sistem basıncı sürekli çalışan çift pompa sistemi sayesinde ekstraksiyon boyunca sabit tutulmuştur. Süperkritik CO₂'nin atmosferik basınca dönüşüyle oluşan soğuma ve hatlardaki donma, restriktörün ısı kontrölü ile engellenmiştir. Ekstraksiyon işlemi artık özüt gelmeyinceye kadar devam ettirilmiştir. Bu andan itibaren reaktöre beslenen CO₂ durdurulmuş ve reaktör basıncı, atmosferik basınca kadar indirilmiştir. Elde edilen özütlerin rengi, kokusu ve görünüşü itibari ile yağimsı bir yapıya olduğu belirlenmiştir.

3.2.2. Çözeltilerin Hazırlanması

Beklemeye bırakılan *Hypericum perforatum* L., *Urtica dioica* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütlerinden ayrı ayrı 0,5 gr alındı. 50 ml etanolde çözeltileri hazırlandı. Bitki çözeltilerinden farklı konsantrasyonlarda (1-10 mg/mL oranında) seyreltmeler yapıldı.

3.2.3. DPPH• Radikal Süpürücü Aktivite Testi

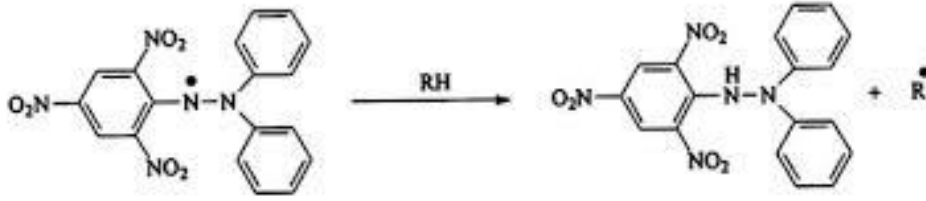
Bu çalışmada, radikal süpürücü etki tayini için 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH) radikali (Şekil 3.1) kullanılmıştır. Bunun için 6×10^{-5} mol/litre DPPH çözeltisi etanolde çözülerek

hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden 2,9 mL alınarak üzerine farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bitki ekstralarının her birinden 0,1 mL ilave edilmiş ve 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Ardından UV₅₁₅ nm’de absorbanslar ölçüldü. DPPH çözeltilisi kontrol (A₀) olarak kullanılmıştır. Radikal süpürücü etki, % inhibisyon olarak aşağıdaki formülden hesaplanmıştır.

$$\text{DPPH}\bullet \text{ süpürücü etki (\%)} = (A_0 - A_1) \setminus A_0 \times 100$$

A₀ = Kontrolün (DPPH çözeltilisi) absorbansı

A₁ = Numune varlığında ölçülen absorbansı



Şekil 3.1. Bir antiradikal (AH)n tarafından DPPH radikallerinin giderilmesi [(AH)n: Antiradikal, DPPH: indirgenmiş DPPH• formu].

Elde edilen % inhibisyon değerleri, mg/mL olarak belirlenen özüt konsantrasyonlarına karşı grafiğe geçirilmiştir.

3.2.4. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Bu araştırmada *Streptococcus pneumonia*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* bakterileri kullanıldı. Kullanılan standart bakteri türleri Mersin Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarı’ndan temin edildi.

Seçilen bakteri türlerinin genel özellikleri [136, 137]:

- *Streptococcus pneumonia* türü bakteriler, boğaz enfeksiyonu, menenjit, zature ve orta kulak gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir
- *Escherichia coli* türü bakteriler, organizmaların bağırsaklarında bulunan ve insan için önemi olan fırsatçı patojendir. Enteropatojenik suşlarla meydana gelen ishaller, üropatojenik suşlarla oluşan idrar yolu enfeksiyonları (İYE), neonatal menenjit, sepsis, karın içi enfeksiyonları, yara yeri ve akciğer enfeksiyonları *E. coli*’lerin meydana getirdiği başlıca hastalıklardır.
- *Staphylococcus aureus* türü bakteriler, en fazla boğaz ve burun boşluğunu örten mukozada yer alır ve buradan pek çok yere yayılır. Deride en çok yüzde, ellerde ve

kollarda bulunur. İnsan ve hayvanların dışkısında, apseli yaralarda, çıban ve sivilcelerde yoğun olarak bulunmaktadır.

- *Klebsiella pneumonia* türü bakteriler, İnsanlarda üst solunum yolu ve dışkı florasında bulunan bir bakteri olduğu için patojenliği uygunsuz koşullar karşısında fırsatçı patojen olarak açığa çıkar. Bu nedenle hastane enfeksiyonlarından sorumlu bir bakteridir
- *Pseudomonas aeruginosa* türü bakteriler Bağışıklık yetersizliği olan hastalarda solunum ve idrar yollarının, yanıkların ve açık yaraların fırsatçı patojenidir aynı zamanda kanda da enfeksiyonlar yapabilir.
- *Bacillus subtilis* türü bakteriler, doğada sıklıkla rastlanan bakteri türüdür. Toz, toprak, hayvanlar, süt ve sulara bulunan bu bakteriler, besinlerin bozulmasına neden olur. Özellikle doku ve özellikle göz içerisine girmesi sonucunda panoftalmi, tridosiklit gibi göz yangıları oluşturur.

3.2.4.1. Kuyu Difüzyon Yöntemi

Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi için kuyu difüzyon metodu kullanılmıştır. Test edilecek maddenin agarda difüze olduğu alanda mikroorganizmaların gelişiminin engellenmesine dayanan bu metotta besiyeri olarak Mueller –Hinton Agar (MHA) kullanılmıştır. MHA besiyeri 2 g et infüzyonu, 17,5 g kazein hidrolizati, 1,5 g nişasta ve 17 g agarın 1000 ml distile su içerisinde çözündürülmesiyle hazırlanmıştır (pH=7,2). Hazırlanan besiyeri 121 °C ve 1 atm basınçta 15 dk süresince bekletilerek otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilizasyon sonrasında besiyerleri 45-50 °C'ye soğutulup her bir steril petri kutusuna (90 mm) 15-20 mL olacak şekilde dökülmüş ve kullanmadan önce oda ortamında katılaşması beklenmiştir.

Test öncesinde NA'da 18-24 saat inkübe edilmiş kültürlerdeki koloniler fizyolojik tuzlu su kullanılarak 0,5 McFarland standart çözeltisi ile eşit bulanıklıkta çözündürülmüştür. Daha sonra, hazırlanan çözelti yaklaşık $1-5 \times 10^6$ bakteri içerecek şekilde seyreltilerek inokulum olarak kullanılmıştır.

Hazırlanan inokulumdan 100 µl alınarak MHA yüzeyine aktarılarak yayılmış ve hemen sonrasında besiyerinde 10 mm boyutlarında delikler açılmıştır. Bitki özütlerinden (50 mg/mL) 200 µl deliklere aktarıldıktan sonra petriler 24-48 saat süresince 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bitki özütlerinin aktarıldığı delikler etrafında meydana gelen açık zon (mikroorganizmanın gelişemediği alan) oluşumu gözlemlenmiştir. Oluşan zon çapları mm olarak ölçülmüştür. Tüm testler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilerek zon çaplarının standart sapması hesaplanmıştır.

4.BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Antioksidan Aktivite Bulguları

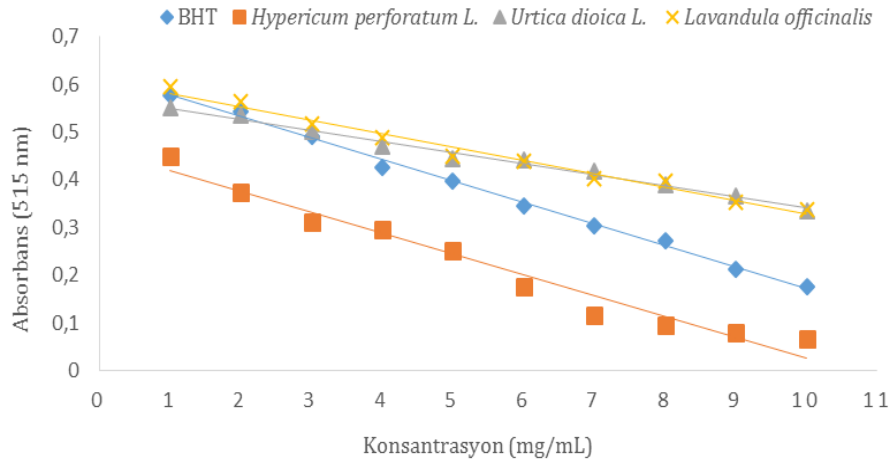
Hypericum perforatum L., *Urtica dioica* L. ve *Lavandula officinalis* bitkilerinden elde edilen özütlerden antioksidan aktivite tayinleri DPPH radikali giderim yöntemi ile belirlendi. Bu çalışmada, Mersin ilinde yayılış gösteren *Hypericum perforatum* L., *Urtica dioica* L. ve *Lavandula officinalis* bitkilerinden elde edilen özütlerinin etanollü çözeltilerinin konsantrasyonuna bağlı DPPH serbest radikal giderim aktivitesi artan konsantrasyonlarda (1-10 mg/mL) tayin edilmiştir.

Özütlerin etanollü çözeltileri ve pozitif kontrolünün (BHT), 1-10 mg/mL konsantrasyonlarında 515 nm'de çalışılarak absorbans değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir ve absorbans-konsantrasyon grafiği Şekil 4.1' de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Bitki özütlerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesinin absorbans değerleri.

Numune	BHT	<i>Hypericum perforatum</i> L.	<i>Urtica dioica</i> L.	<i>Lavandula officinalis</i>
1	0,578	0,450	0,550	0,594
2	0,542	0,374	0,534	0,565
3	0,491	0,310	0,501	0,517
4	0,425	0,296	0,469	0,488
5	0,397	0,252	0,444	0,450
6	0,344	0,176	0,441	0,440
7	0,303	0,116	0,419	0,401
8	0,271	0,094	0,389	0,398
9	0,212	0,079	0,367	0,352
10	0,176	0,067	0,335	0,338

Tablo 4.1 incelendiğinde kullanılan bitki özütlerinin ve standart antioksidan olan BHT'nin konsantrasyonları arttıkça absorbans değerlerinin düştüğü görülmektedir. Ancak *Hypericum perforatum* L., bitki özütünün en yüksek konsantrasyonda en düşük absorbans değerinin ölçüldüğü görülmektedir.



Şekil 4.1. Bitki özütlerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi absorbans-konsantrasyon grafiği.

Bitki özütlerinin absorbans değerlerinden faydalanarak % inhibisyon değerleri elde edilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Bitki özütlerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesinin % inhibisyon değerleri.

Numune	BHT	<i>Hypericum perforatum L.</i>	<i>Urtica dioica L.</i>	<i>Lavandula officinalis</i>
Konsantrasyon (mg/mL)				
1	18,7	22,54	22,64	19,69
2	23,76	35,62	24,89	20,53
3	30,94	46,64	29,53	27,28
4	40,22	49,05	34,03	31,36
5	44,16	56,62	37,55	36,7
6	51,61	69,7	37,97	38,11
7	57,38	80,03	41,06	43,6
8	61,88	83,82	45,28	44,02
9	70,18	86,4	48,38	50,49
10	75,24	88,46	52,88	52,46

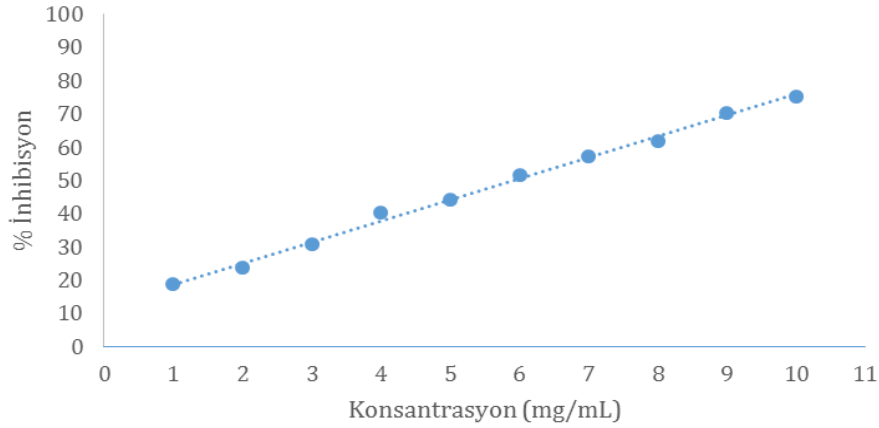
Tablo 4.2’de elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, 1 mg/mL konsantrasyonunda DPPH serbest radikal giderim aktivitesi en yüksek oranda *Urtica dioica L.* özütünde (% 22,64) saptanmıştır. Aynı konsantrasyonda DPPH serbest radikal giderim aktivitesi en düşük oranda *Lavandula officinalis* özütünde (% 16,69) elde edilmiştir. 1 mg/mL konsantrasyonu dışında

kalan diğer konsantrasyonlarda DPPH serbest radikal giderim aktivitesi en yüksek *Hypericum perforatum* L., en düşük ise *Lavandula officinalis* özütünde tespit edilmiştir.

Standart antioksidanların yan etkilere sahip olması sebebiyle, standart antioksidanlardan daha yüksek değerde bulunan *Hypericum perforatum* L., doğal antioksidan kaynağı olarak tercih edilebilir. Bitki özütlerinin aktiviteleri BHT standartıyla karşılaştırıldığında daha etkili sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

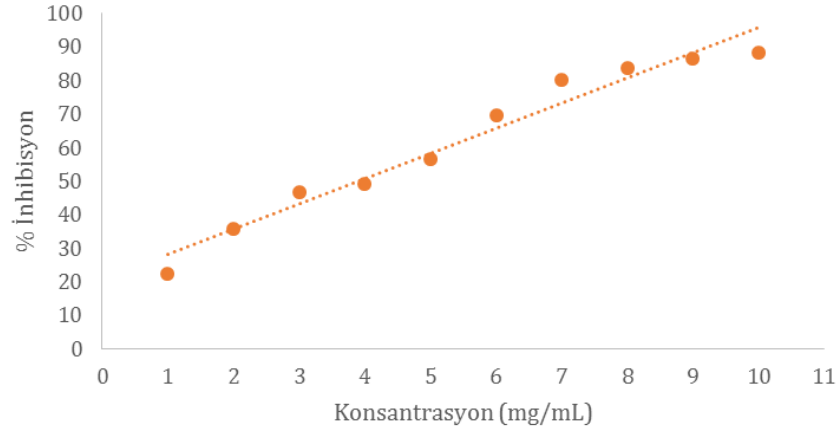
Bu tez çalışmasında, *Hypericum perforatum* L., *Urtica dioica* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütlerinin etanollü çözeltilerinde DPPH süpürme aktiviteleri 10 mg/mL konsantrasyonunda standart olan BHT (% 75,24)'ye karşı elde edilen en yüksek aktivite değerleri sırasıyla *Hypericum perforatum* L., için % 88,46, *Urtica dioica* L. için % 52,88, *Lavandula officinalis* için % 52,46 olarak bulunmuştur (Tablo 4.2). Bitkilerin özütlerindeki konsantrasyon artışı ile birlikte % inhibisyon oranlarında da artış gözlenmektedir. Tablo 4.2'de görüldüğü üzere bu çalışmada kullanılan bitki özütlerinin antiradikal aktivitelerinin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir.

Hypericum perforatum L., *Urtica dioica* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütlerinin % inhibisyon grafikleri Şekil 4.2-4.5'te gösterilmektedir.



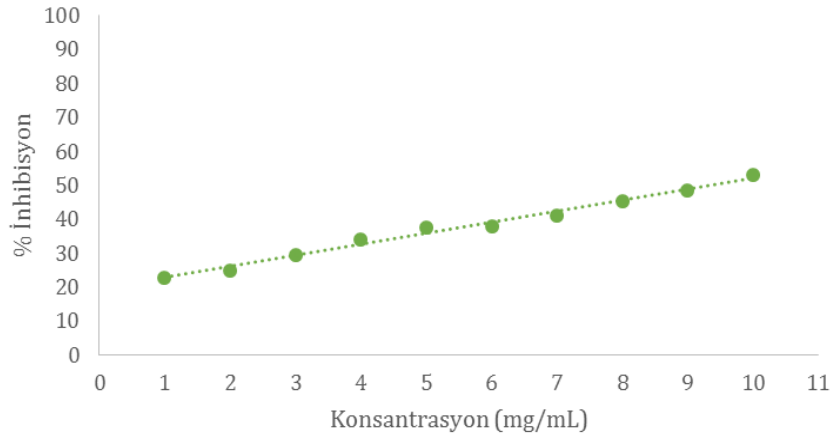
Şekil 4.2. BHT standartının DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği.

Şekil 4.2'de verilen grafiğe göre, konsantrasyon arttıkça BHT standartının % inhibisyon değerinin arttığı görülmektedir. BHT standartının 1 mg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değeri 18,7 iken 10 mg/mL konsantrasyonda 75,24'tür (Tablo 4.2).



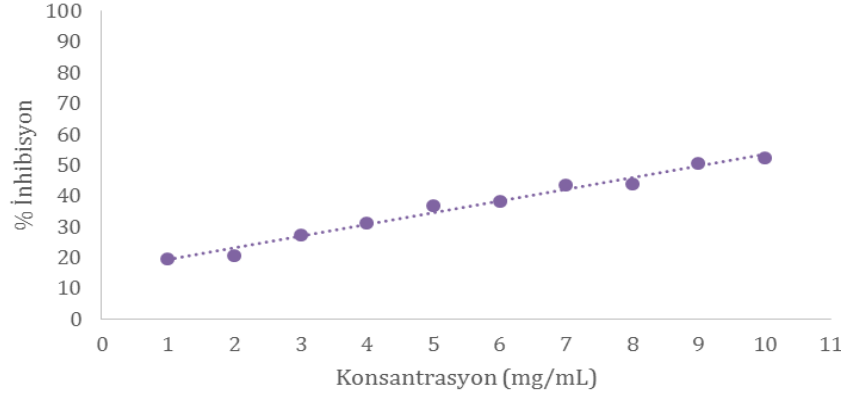
Şekil 4.3. *Hypericum perforatum* L. özütünün DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği.

Şekil 4.3'de verilen grafiğe göre *Hypericum perforatum* L. özütünün DPPH serbest radikal giderim aktivitesi konsantrasyona bağlı olarak artış göstermiştir. Buna göre, 1 mg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değeri 22,54 iken 10 mg/mL konsantrasyonda 88,46 değerleri görülmektedir (Tablo 4.2).



Şekil 4.4. *Urtica dioica* L. özütünün DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği.

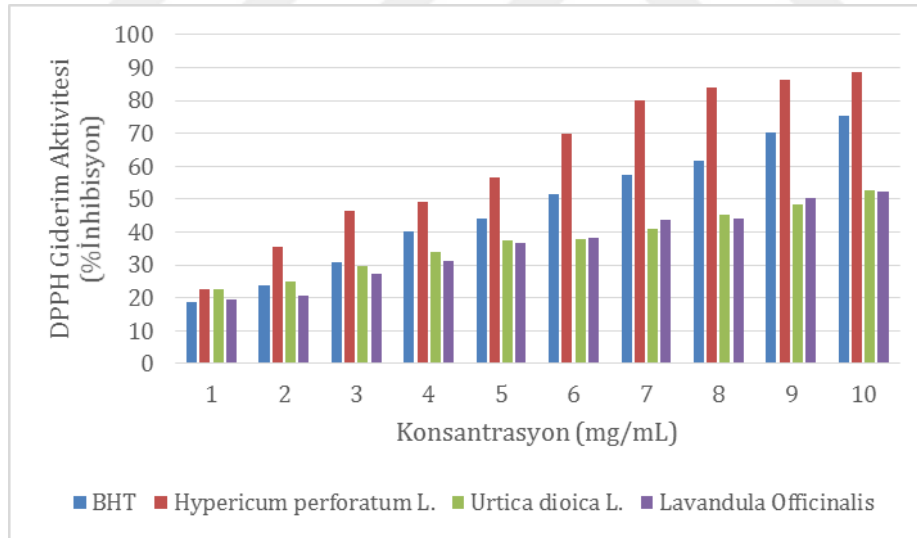
Şekil 4.4'de verilen grafik incelendiğinde *Urtica dioica* L. özütünün DPPH serbest radikal giderim aktivitesi konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmektedir. Buna göre, 1 mg/mL konsantrasyonda ve aynı konsantrasyondaki *Hypericum perforatum* L. bitki özütüne yakın olan % inhibisyon değeri 22,64 iken 10 mg/mL konsantrasyonda 52,88 değerleri görülmektedir (Tablo 4.2).



Şekil 4.5. *Lavandula officinalis* özütünün DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği.

Şekil 4.5'de verilen grafil incelendiğinde diğer grafiklerde de olduğu gibi *Lavandula officinalis* özütünün konsantrasyon artışına bağlı olarak özütünün DPPH serbest radikal giderim aktivitesinin de arttığı görülmektedir. Buna göre, 1 mg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değeri 16,69 iken 10 mg/mL konsantrasyonda 52,46 olduğu görülmektedir (Tablo 4.2).

Bitki özütlerinin ve BHT standartının DPPH serbest radikalini süpürücü etkisinin, konsantrasyon değerlerine karşı % inhibisyon değerleri aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4.6. *Hypericum perforatum L.*, *Urtica dioica L.* ve *Lavandula officinalis* bitkilerinden hazırlanan etanollü özütlerin DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.

Tablo 4.2'de elde edilen sonuçlar ve Şekil 4.6'deki grafik sonuçları değerlendirildiğinde, konsantrasyonun artmasıyla birlikte DPPH radikal giderim aktivitesinin de paralel olarak arttığı gözlemlenmiştir. Ancak BHT standardına karşı en yüksek DPPH radikal giderim aktivitesi *Hypericum perforatum L.* bitkisinde görülmektedir. En düşük DPPH radikal giderim aktivitesi gösteren bitki ise *Lavandula officinalis* bitkisi olduğu görülmektedir.

4.2. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları

Antimikrobiyal çalışmaları için kullanılan *Streptococcus pneumonia*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* bakterileri olmak üzere 6 çeşit bakteri kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda *Hypericum perforatum* L., *Urtica dioica* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütlerinin aktarılan delikler etrafında meydana gelen zon (bakterilerin oluşmadığı alan) çapları mm olarak Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.3. *Hypericum perforatum* L., *Urtica dioica* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütlerinin bakteriler üzerindeki zon çapları.

Bitkiler	<i>Hypericum perforatum</i> L. (mm)	<i>Urtica dioica</i> L. (mm)	<i>Lavandula officinalis</i> (mm)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> *	12,0 ± 1,0	16,3 ± 1,2	32,7 ± 2,5
<i>Escherichia coli</i> **	10,7 ± 0,6	11,3 ± 0,6	24,7 ± 0,6
<i>Staphylococcus aureus</i> *	10,7 ± 0,6	24,0 ± 2,6	37,0 ± 1,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i> **	10,3 ± 0,6	14,3 ± 0,6	25,7 ± 1,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> **	11,0 ± 1,0	15,3 ± 0,6	18,7 ± 1,2
<i>Bacillus subtilis</i> *	14,3 ± 1,5	20,0 ± 1,7	31,3 ± 1,2

*gram (+), **gram(-)

Kuyu difüzyon metoduyla açılan delik boyutları 10 mm olduğundan, elde edilen zon çaplarının değerlendirilmesi bu ölçüme göre yapılmaktadır. Tablo 4.3'de verilen zon çapları karşılaştırıldığında;

Lavandula officinalis bitki özütünün bütün bakterilerde en yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği görülmektedir.

Urtica dioica L. bitki özütünün en etkili olduğu bakteri türü *Staphylococcus aureus* bakterileridir.

Hypericum perforatum L. bitki özütünün ise en etkili olduğu bakteri türü *Bacillus subtilis* bakterileridir.

Bitki özütlerine ait bakterilerin zon çaplarının görüntüleri ise Şekil 4.7 ' de verilmiştir.



Şekil 4.7. Bitki özütlerinin *Streptococcus pneumonia*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* bakterilerine ait zon çapları görüntüleri: 1) *Lavandula officinalis*, 2) *Hypericum perforatum* L., 3) *Urtica dioica* L.

Tablo 4.3 ve Şekil 4.7 incelendiğinde *Lavandula officinalis* bitki özütünün bütün bakterilerde antimikrobiyal aktivitesinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. *Hypericum perforatum* L. bitki özütünün en etkili olduğu bakteri türü gram (+) olan *Bacillus subtilis* bakterisidir. *Urtica dioica* L. bitki özütünün en etkili olduğu bakteri türü sırasıyla gram (+) olan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Streptococcus pneumonia* bakterileridir. En yüksek antimikrobiyal etki gösteren *Lavandula officinalis* bitki özütünün ise etkili olduğu bakteri türleri sırasıyla gram pozitif (+) olan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia* ve *Bacillus subtilis* bakterileridir.

4.3. *Hypericum perforatum* L. ve *Lavandula officinalis* Bitki Özütlerinin Koruyucu Olarak Kozmetik El Kremlerinde Uygulanması

Kozmetik sektöründe oldukça geniş kullanım alanına sahip olan el kremleri günlük yaşamımızda sıkça tercih ettiğimiz ürünler arasındadır. Kozmetik kremlerde meydana gelebilecek mikrobiyal kontaminasyonu önlemek amacıyla alerjik ve toksik etki yaratmayan kimyasal koruyucular kullanıldığı bilinmektedir. Kozmetik sektöründe koruyucu amaçlı kullanılan kimyasalların % 30 oranlarında paraben içeren maddelerden oluştuğu bilinmektedir [138]. Ancak yapılan araştırmalar geliştirildikçe kimyasal koruyucu yerine alternatif olarak bitki özütlerin de kullanılabileceğinin yapılan araştırmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

Yapılan tez çalışmasında kullanılan *Hypericum perforatum* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütlerinin kozmetik el kremi formülasyonunda koruyucu yerine kullanıldığında gösterdiği etkiler uygulamalı olarak çalışılmıştır.

Yapılan bu uygulamada *Hypericum perforatum* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütleri, Tablo 4.4'de verilen standart el kremi formülasyonuna göre belirlenen % 2, % 3 ve % 4 oranlarında doğrudan karıştırılarak elde edilmiştir. Karşılaştırma yapmak amacıyla aynı oranlarda 'Carbomer' içeren ve içermeyen krem numuneleri hazırlanmıştır.

Tablo 4.4. Standart el kremi formülasyonlarında kullanılan bileşenlerin yüzdesi.

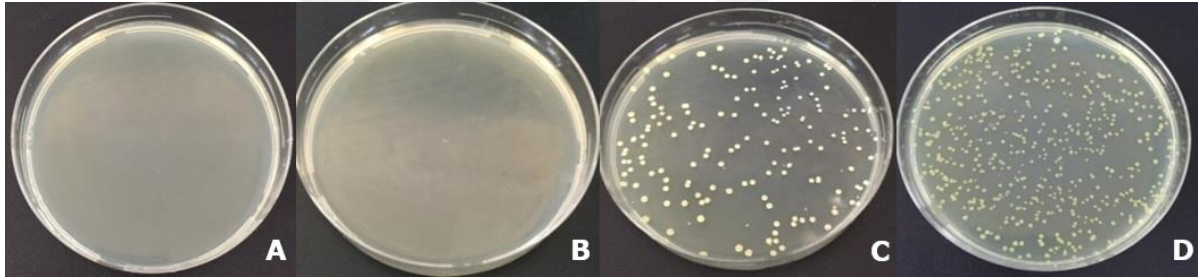
Kullanılan Maddeler	Yüzdesi (%)
Saf su	71 - 73
Allontoin	0.1
EDTA	0.01
Carbomer	2 - 4
Gliserilmonostereat	2,3
Cetaryl alchol	6
Cetearth-25	2
Dimeticone	0,9
Caprictrigliserid	4
Parafin	9

Hazırlanan kremlerden bakteri sayısının ölçümü için birinci ayda (t_0), üçüncü ayda (t_1) ve altıncı ayda (t_2) örnekler alınmıştır. Alınan örnekler olası bakteri oluşumunun engellenmesi amacıyla -4 °C'de dondurularak saklanmış olup, antimikrobiyal etkinlik testleri aynı anda yapılmıştır. Alınan örnekler Nutrient Agar (NA) ve Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose (EMB) Agar besiyerilerine eküvyon çubuk ile çizgi ekimi yapıp, belirlenen süreler sonunda oluşan bakteri kolonileri sayılmıştır. Sayılan koloniler Tablo 4.5 'de, altıncı ayda (t_2) ve % 4 konsantrasyon örneklerindeki kolonilere ait görüntüleri ise Şekil 4.8 ve Şekil. 4.9' da görülmektedir.

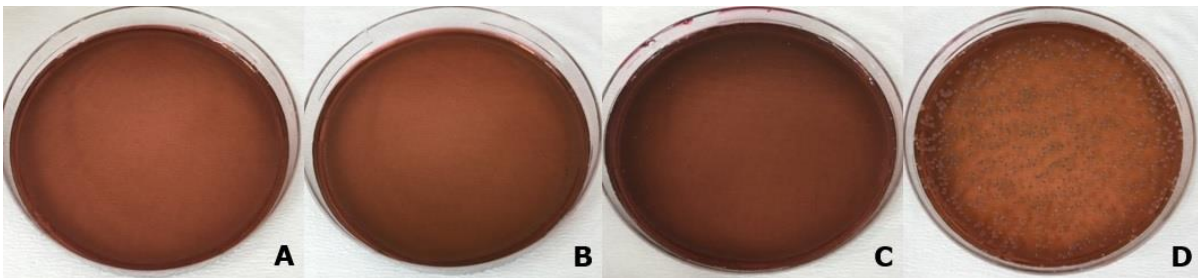
Tablo 4.5. *Hypericum perforatum* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütü kremlerin ve koruyucuları olan ve olmayan kremlerin farklı zaman ve konsantrasyonlardaki sayılan bakteri kolonileri.

		<i>Lavandula officinalis</i> özütü içeren krem			<i>Hypericum perforatum</i> L. özütü içeren krem			Koruyucu madde içeren krem			Koruyucu madde içermeyen krem	
		Konsantrasyon			Konsantrasyon			Konsantrasyon				
		2%	3%	4%	2%	3%	4%	2%	3%	4%		
Nutrient Agar (NA)	Zaman	t ₀	10	6	1	7	3	0	0	0	0	0
		t ₁	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4
		t ₂	0	0	0	0	0	0	1	0	185	944
EMB Agar	Zaman	t ₀	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		t ₁	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
		t ₂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	896

t₀: birinci ay, t₁: üçüncü ay, t₂: altıncı ay



Şekil 4.8 Nutrient Agar (NA) besiyerine %4 konsantrasyonda ekilen örneklerin altı ay (t₂) sonunda oluşan görüntüler. **A;** *Lavandula officinalis* özütü içeren krem, **B;** *Hypericum perforatum* L. özütü içeren krem, **C;** Koruyucu madde içeren krem, **D;** Koruyucu madde içermeyen krem



Şekil 4.9 Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose (EMB) Agar besiyerine %4 konsantrasyonda ekilen örneklerin altı ay (t₂) sonunda oluşan görüntüler. **A;** *Lavandula officinalis* özütü içeren krem, **B;** *Hypericum perforatum* L. özütü içeren krem, **C;** Koruyucu madde içeren krem, **D;** Koruyucu madde içermeyen krem

Nutrient Agar (NA) besiyerinde genellikle insan sağlığı açısından tehlikeli olmayan, günlük hemen hemen maruz kaldığımızı bakteri türlerinin gelişmesi için gerekli ortamdır. NA besiyerinde elde edilen sonuçlara göre (Tablo 4.5), *Hypericum perforatum* L. bitki özütü içeren kremlerde yalnızca birinci ayda (t_0) alınan numunelerde % 2, % 3 ve % 4 konsantrasyonlarda sırasıyla 10, 6 ve 1 koloni oluşumu gözlenmiştir. Üçüncü ayda (t_1) ve altıncı ayda (t_2) numunelerde ise bakteri oluşumu gözlenmemiştir. Aynı şekilde *Lavandula officinalis* bitki özütü içeren kremlerde yalnızca birinci ayda (t_0) alınan numunelerde % 2 ve % 3 konsantrasyonlarda sırasıyla 7 ve 3 koloni oluşumu gözlenmiştir. Üçüncü ayda (t_1) ve altıncı ayda (t_2) numunelerde ise bakteri oluşumuna rastlanmamıştır.

NA besiyerinde koruyucu madde içeren kremlerde birinci ayda (t_0) alınan örneklerde bakteri oluşumuna rastlanmamıştır (Tablo 4.5). Ancak üçüncü ayda (t_1) ve altıncı ayda (t_2) alınan numunelerde % 4 konsantrasyonda sırasıyla 1 ve 185 koloni oluşumu gözlenmiştir. Koruyucu madde içermeyen kremlerde birinci ayda (t_0) koloni oluşumu gözlenmezken, üçüncü ayda (t_1) 4 koloni ve altıncı ayda (t_2) 944 koloni oluştuğu görülmektedir (Tablo 4.5).

Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose (EMB) Agar besiyeri ise patojenik bakterilerin üremesini sağlayan besiyeridir. EMB besiyerinde elde edilen sonuçlara göre (Tablo 4.5) *Hypericum perforatum* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütleri içeren kremlerde ve koruyucu madde içeren kremlerde altıncı ayın sonuna kadar bakteri oluşumuna rastlanmamıştır. Ancak koruyucu madde içermeyen kremlerde birinci ayda (t_0) koloni oluşumu gözlenmezken, üçüncü ayda (t_1) 10 koloni ve altıncı ayda (t_2) 896 koloni oluştuğu görülmektedir (Tablo 4.5).

Şekil 4.8'de ve Şekil 4.9'da görüldüğü gibi koruyucu yerine konulan *Hypericum perforatum* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütleri altıncı ay sonunda her iki besiyerinde bakteri üremesini engellemiştir. Koruyucu içeren krem örneklerinde NA besiyerinde ve koruyucu içermeyen krem örneklerinde ise her iki besiyerinde de yaygın bakteri kolonileri oluştuğu gözlenmektedir

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan bu tez çalışmasında *Hypericum perforatum L.*, *Urtica dioica L.* ve *Lavandula officinalis* bitkilerinden süperkritik ekstraksiyon yöntemiyle 40 °C sıcaklıkta ve 150 bar basınçta özütleri elde edilmiştir. Elde edilen özütlerin antikosidan aktivitesini belirlemek için DPPH• radikal süpürücü aktivite tayin metodu kullanılarak farklı konsantrasyonlarda (1-10 mg/mL) etanollü çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerden DPPH serbest radikal giderim aktivitesinin % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır.

Antioksidan aktivite bulgularından elde edilen sonuçlara göre; *Hypericum perforatum L.*, *Urtica dioica L.* ve *Lavandula officinalis* bitki özütlerinin artan konsantrasyona göre % inhibisyon değerlerinin arttığı görülmektedir (Tablo 4.2). En yüksek % inhibisyon değeri 10 mg/mL konsantrasyonda % 88,46 ile *Hypericum perforatum L.* en yüksek aktiviteyi göstermiştir. *Urtica dioica L.* ve *Lavandula officinalis* bitki özütlerinde ise % inhibisyon değeri 10 mg/mL konsantrasyonda sırasıyla % 52,88 ve % 52,46 değerleri ile aktivite göstermiştir.

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları *Streptococcus pneumonia*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* bakterileri olmak üzere 6 çeşit bakteri üzerinde incelenmiştir. Antimikrobiyal etkinlik testleri kuyu difüzyon metoduyla yapılmıştır. Bitki özütlerinin aktarılan delikler (kuyu) etrafında meydana gelen zon (bakterilerin oluşmadığı alan) çapları belirlenmiştir.

Antimikrobiyal aktivite bulgularından elde edilen sonuçlara göre (Tablo 4.3) tüm bakteri türlerinde en yüksek zon çapı oluşturan bitki *Lavandula officinalis* bitkisidir. *Lavandula officinalis* bitkisinin en yüksek zon çapı oluşturduğu bakteri türleri sırasıyla; zon çapı 37,0 mm olan *Staphylococcus aureus*, zon çapı 32,7 mm olan *Streptococcus pneumonia* ve zon çapı 31,3 mm olan *Bacillus subtilis* bakterileridir. *Hypericum perforatum L.*, bitkisinin etkin olduğu bakteri türü zon çapı 14,3 mm olan *Bacillus subtilis* bakteri türüdür. *Urtica dioica L.* bitkisinin etkin olduğu bakteri türü zon çapı 24,0 mm olan *Staphylococcus aureus* bakteri türüdür. *Urtica dioica L.* bitkisinin etkin olduğu diğer bakteri türü ise zon çapı 20,0 mm olan *Bacillus subtilis* bakterisidir.

Elde edilen sonuçlara göre antibakteriyel özellik gösteren *Hypericum perforatum L.* ve *Lavandula officinalis* bitki özütlerinin kozmetik el kremi formülasyonunda koruyucu yerine kullanıldığında gösterdiği etkiler uygulamalı olarak çalışılmıştır. Yapılan bu uygulamada standark krem formülasyonlarına % 2, % 3 ve % 4 oranlarında sentetik koruyucu yerine *Hypericum perforatum L.* ve *Lavandula officinalis* bitki özütleri kullanılmıştır. Karşılaştırma amaçlı aynı oranlarda sentetik koruyucu içeren ve içermeyen krem örnekleri hazırlanmıştır. Hazırlanan kremlerden bakteri sayısının ölçümü için birinci ayda (t0), üçüncü ayda (t1) ve altıncı ayda (t2) örnekler alındı. Örnekler günlük kullanıma uygun olarak krem numunelerinin

kapağı her gün açılıp, el yardımıyla sürülmek üzere alınıp kapatıldıktan sonra altı ay boyunca bu şekilde muhafaza edilmiştir. Alınan örneklerin Nutrient Agar (NA) ve Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose (EMB) Agar besiyerlerdeki oluşan bakteri kolonileri sayılması esasına bağlı antimikrobiyal etkinlik testleri yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre (Tablo 4.4 ve Şekil 4.8) altıncı ayın sonunda Nutrient Agar (NA) besiyerinde *Hypericum perforatum* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütü içeren el kremlerinde bakteri oluşumunu engellediği görülmüştür. Koruyucu madde içeren örneklerde altıncı ayın sonunda % 4 konsantrasyonda 185 koloni oluşumu gözlenirken, koruyucu madde içermeyen krem örneğinde 944 koloni oluşumuna rastlanmıştır. Patojenik mikroorganizmaların üremesini sağlayan Eosin Methylen-blue Lactose Sucrose (EMB) Agar besiyerinde *Hypericum perforatum* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütü içeren kremlerin bakteri oluşumunu engellediği görülürken koruyucu içermeyen krem örneklerinde 896 koloni oluşumuna rastlanmıştır.

Kozmetik ürünlerde mikroorganizmaların üremesine bağlı olarak meydana gelen kontaminasyonlar ürünlerde bozulmaya neden olur. Bu nedenle kozmetik ürünler raflara gelene kadar belirli testlerin onayıyla kullanıma hazır hale gelmektedir. Ancak kozmetik ürünler steril olması gerekmeyen ürünler arasında olmasına rağmen belirli mikroorganizma limitleri dahilinde olmalıdır. Sağlık Bakanlığı Kozmetik Yönetmeliğinde belirlenen kozmetik ürünlerdeki mikroorganizma limiti 1×10^3 değerini aşmamalıdır.

Bu bilgiler ışığında *Hypericum perforatum* L. ve *Lavandula officinalis* bitki özütleri izin verilen mikroorganizma limiti değerini aşmayan, bu nedenle de kozmetik el kremlerinde sentetik koruyucu yerine kullanılabilmesi görülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1]. Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M.S. (2011). Geçmisten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1), 52 – 67.
- [2]. Avşar, G. (2016). Bitkisel hammaddeler ve özütlemeye alternatif teknoloji: Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu. *Cosmilife*, 1 (3), 14-15.
- [3]. Davis, P.H. (1985). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 1-9. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- [4]. Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N. (2000). *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Ankara (Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler)*. Red Data Book Of Turkish Plants (Pteridophyta And Spermatophyta), Ankara.
- [5]. Günel, N. (2013). Türkiye’de iklimin doğal bitki örtüsü üzerindeki etkileri. *Çevrimiçi Tematik Türkoloji Dergisi*, 5 (3), 1-22.
- [6]. Maksimovic, Z.A., Dordevic, S., Mraovic, M. (2005). Antimicrobial activity of chenopodium botrys essential oil. *Fitoterapia*, 76, 112-114.
- [7]. Black, H. (1996). Supercritical carbon dioxide: the ‘greener’ solvent. *Environmental Science&Technology*, 30 (3), 124A-127A.
- [8]. T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı. (2019). Montreal Protokolü, 19 Şubat 2019 tarihinde <https://iklim.csb.gov.tr/montreal-protokolu-i-4364> adresinden erişildi.
- [9]. Ramsey, E., Sun, Q., Zhang, Z., Zhang, C., Gou, W. (2009). Mini-Review: Green sustainable processes using supercritical fluid carbondioxide. *Journal of Environmental Sciences*, 21, 720-726.
- [10]. Çolak, N., Tülek, Y. (2003). Süperkritik akışkan ekstraksiyonu. *Gıda*, 28 (3), 313-320.
- [11]. Jensen, S.J.K. (2003). Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, 666-667, 387-392.
- [12]. Storz, G., Imlay, J.A. (1999). Oxidative stress. *Current Opinion in Microbiology*, 2, 188-194.
- [13]. Dündar, Y., Aslan, R. (2000). Antioxdative stress. *Eastern Journal of Medicine*, 5 (2), 45-47.
- [14]. Cross, M.D., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.L., McCord, J.M., Harman, D. (1987). Oxygen radicals and human disease. *Annals of Internal Medicine*, 107, 526-545.
- [15]. Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve dna yapıları üzerine etkileri, *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3), 331-336.
- [16]. Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, 52 (8), 253-265.

- [17]. Çetinyürek, F. (2012). *Buğday ruşeymi ve buğday ruşeym yağının antioksidan parametrelerinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.
- [18]. Sohal, R.S. (2002). Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. *Free Radical Biology & Medicine*, 33 (1), 37-44.
- [19]. Çaylak, E. (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9 (1), 73-83.
- [20]. Karabulut, H., Gülay, M.Ş. (2016). Antioksidanlar, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 1 (1), 65-75.
- [21]. Ögüt, S. (2014). Doğal antioksidanların önemi. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2014, 11(1): 25-30.
- [22]. Kasnak, C., Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3 (5), 226-234.
- [23]. Fridovich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem.*, 64, 97-112.
- [24]. Usta, B., Yılmaz-Ersan, L. (2013). Sütün antioksidan enzimleri ve biyolojik etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27 (2), 123-130.
- [25]. Yalçın, A.S. (1998). Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*, 11, 342-346.
- [26]. Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G., Siest, G. (199). Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin. Chem.*, 37 (11), 1932-1937.
- [27]. Cnubben, H.P.N., Rietjens, M.C.M.I., Wortelboer, H., Zanden, J.V., Bladeren, P.J.V. (2001). The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10, 141-152.
- [28]. İmik, H., Yıldırım, A.K., Polat, H., Gümüş, R. (2009). Yumurta tavuklarında rasyona farklı oranlarda katılan sorgumun (*sorghum vulgare*) serum glikoz, lipid protein, glutatyon peroksidaz ve malondialdehit üzerine etkisi, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15 (3), 417-422.
- [29]. Meister, A. (1994). Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *The Journal of Biological Chemistry*, 269 (13), 9397-9400.
- [30]. Avsian-Kretchmer, O., Eshdat, Y., Gueta-Dahan, Y., Ben-Hayyim, G. (1999). Regulation of stress-induced phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase expression in citrus. *Planta*, 209, 469-477.
- [31]. Mayo, J.C., Sainz, R.M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V., Rodriguez, C. (2002). Melatonin regulation of antioxidant enzyme gene expression. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59, 1706-1713.

- [31]. Hevia, D., Mayo, J.C., Tan, D.X., Rodriguez-Garcia, A., Sainz, R.M. (2014). Melatonin enhances photo-oxidation of 2',7'-dichlorodihydrofluorescein by an antioxidant reaction that renders N1-Acetyl-N2-Formyl-5-Methoxykynuramine (AFMK), *Plos One*, 9 (10), 1-10.
- [32]. Tan, D., Reiter, R.J., Manchester, L.C., Yan, M., El-Sawi, M., Sainz, R.M., Mayo, J.C., Kohen, R., Allegra, M., Hardeland, R. (2002). Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2, 181-197.
- [33]. Sinha, S., Singh, S.N., Ray, U.S. (2009). Total antioxidant status at high altitude in lowlanders and native highlanders: role of uric acid. *High Altitude Medicine & Biology*, 10 (3), 269-274.
- [34]. Ilesiu, A., Campeanu, A., Dusceac, D. (2010). Serum uric acid and cardiovascular disease. *A Journal of Clinical Medicine*, 5 (3), 186-192.
- [35]. Roche, M., Rondeau, P., Singh, N.R., Tarnus, E., Bourdon, E. (2008). The antioxidant properties of serum albumin, *FEBS Letters*, 582, 1783-1787.
- [36]. Bourdon, E., Blache, D. (2001). The importance of proteins in defense against oxidation. *Antioxidants & Redox Signaling*, 3 (2), 293-311.
- [37]. Stocker, R., Yamamoto, Y., McDonagh, A.F., Glazer, A.N., Ames, B.N. (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 235, 1043-1046.
- [38]. Gürkan, A.S., Bozdağ-Dündar, O. (2005). Koenzim Q10, *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 34 (2), 129-154.
- [39]. Choi, C.H., Kim, S.H., Shanmugam, S., Baskaran, R., Park, J.S., Yong, C.S., Choi, H.G., Yoo, B.K., Han, K. (2010). Relative bioavailability of Coenzyme Q10 in emulsion and liposome formulations, *Biomolecules & Therapeutics*, 18 (1), 99-105.
- [40]. Packer, L., Kraemer, K., Rimbach, G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications, *Nutrition*, 17 (10), 888-895.
- [41]. Karaca, E.G. (2008). Lipoik asit: evrensel antioksidan, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2008, 8(1): 231-246.
- [42]. Chauhan, A., Chauhan, V., Brown, W.T., Cohen, I. (2004). Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin - the antioxidant proteins. *Life Sciences*, 75, 2539-2549.
- [43]. Kim, Y., Kim, D.C., Cho, E.S., Ko, S.O., Kwon, W.Y., Suh, G.J., Shin, H.K. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *Journal of Inflammation*, 11 (36), 1-8.
- [44]. Belgemen, T., Akar, N. (2004). Çinkonun yaşamsal fonksiyonları ve çinko metabolizması ile ilişkili genler, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 57 (3), 161-166.

- [45]. Rostan, E.F., DeBuys, H.V., Madey, D.L., Pinnell, S.R. (2002). Evidence supporting zinc as an important antioxidant for skin. *International Journal of Dermatology*, 41, 606-611.
- [46]. Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health, *International Journal of Biomedical Science*, 4 (2), 89-96.
- [47]. Yalçın, B. (2011). *Isırgan otundaki (urtica dioica) bazı fenolik bileşiklerin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.
- [48]. Tappel, A.L. (1972). Vitamin e and free radical peroxidation of lipids, *Annals New York Academy of Sciences*, 12-28.
- [49]. Suleiman, S.A., Ali, M.E., Zaki, M.S., El-Malik, E.M.A., Nasr, M.A. (1996). Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E, *Journal of Andrology*, 17 (5), 530-537.
- [50]. Altner, A., Atalay, H., Bilal, T. (2017). Bir antioksidan olarak E vitamini. *Bahkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6 (3), 149-157.
- [51]. Neuzil, J., Thomas, S.R., Stocker, R. (1997). Requirement for, promotion, or inhibition by α -tocopherol of radical-induced initiation of plasma lipoprotein lipid peroxidation. *Free Radical Biology & Medicine*, 22 (1/2), 57-71.
- [52]. Naidu, K.A. (2003). Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal*, 2 (7), 1-10.
- [53]. Nishikimi, M., Fukuyama, R., Minoshima, S., Shimizu, N., Yagi, K., cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonolactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. *The Journal of Biological Chemistry*, 269 (8), 13685-13688.
- [54]. Mehlhorn, H., Lelanais, M., Korth, H.G., Foyer, C.H. (1996). Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidase. *FEBS Letters*, 378, 203-206.
- [55]. Carr, A.C., Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr*, 69, 1086-1107.
- [56]. Hussein, H.K., Elnaggar, M.N., Al-Zahrani, N.K. (2012). Antioxidant role of folic acid against reproductive toxicity of cyhalothrin in male mice, *Global Advanced Research Journal of Environmental Science and Toxicology*, 1 (4), 066-071.
- [57]. Ebaid, H., Bashandy, S.AE., Alhazza, İ.M., Rady, A., El-Shery, S. (2013). Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. *Nutrition & Metabolism*, 10, 20.
- [58]. Title, L.M., Cummings, P.M., Giddens, K., Genest, J.J., Nassar, B.A. (2000). Effect of folic acid and antioxidant vitamins on endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 36 (3), 758-765.
- [59]. Sies, H., Stahl, W. (1995). Vitamins E and β -caroten and other carotenoids as antioxidants, *Am. J. Clin. Nutr.*, 62, 1315S-1321S.

- [60]. Küçükçoban, Ç. (2009). *Türkiye’de yetiştirilen bazı erik çeşitlerinin toplam antioksidan kapasitelerinin ve başlıca antioksidan bileşenlerinin karşılaştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- [61]. Karaman, Ş. (2008). *Türkiye’de yetiştirilen bazı elma çeşitlerinin toplam antioksidan kapasitelerinin ve antioksidan özellik gösteren başlıca bileşenlerinin karşılaştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- [62]. Kolaç, T., Gürbüz, P., Yetiş, G. (2017). Doğal ürünlerin fenolik içeriği ve antioksidan özellikleri, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 5 (1), 1-17.
- [63]. Yavaşer, R. (2011). *Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.
- [64]. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20 (7), 933-956.
- [65]. Kalaycı, G. (2017). *Altın otu bitkisinden (helichrysum arenarium) tanen ve kumarinin kimyasal kompozisyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya.
- [66]. Aydın, S.A., Üstün, F. (2007). Tanenler 1 kimyasal yapıları, farmakolojik etkileri, analiz yöntemleri, *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 33 (1), 21-31.
- [67]. Kamalak, A., Canbolat, Ö., Gürbüz, Y., Özay, O., Erer, M., Özkan, Ç.Ö. (2005). Kondense taninin rumimant hayvanlar üzerindeki etkileri hakkında bir inceleme, *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8 (1), 132-137.
- [68]. Bhat, T.K., Singh, B., Sharma, O.P. (1998). Microbial degradation of tannins – A current perspective. *Biodegradation*, 9, 343–357.
- [69]. Hagerman, A.E., Robbins, C.T., Weerasuriya, Y., Wilson, T.C., Mcarthur, C. (1992). Tannin chemistry in relation to digestion. *J. Range Manage.*, 45, 57-62.
- [70]. D’Archivio, M., Filesi, C., Benedetto, R.D., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità*, 43 (4), 348-361.
- [71]. Çimen, M.B.Y. (1999) Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *T. Klin. Tıp Bilimleri*, 19, 296-304.
- [72]. Muhsiroğlu, Ö. (2017). Flavonoller, kardiyovasküler/serebrovasküler hastalıklar ve kanser, *Bes. Diy. Derg.*, 45 (2), 178-184.
- [73]. Aron, M.P., Kenneddy, J.A. (2008). Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity, *Mol. Nutr. Food Res.*, 52, 79-104.
- [74]. Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572–584.

- [75]. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B. (1995). The Relative Antioxidant Activities of Plant-Derived Polyphenolic Flavonoids, *Frer. Rud. Res.*, 22 (4), 375-383.
- [76]. Clifford, M.N. (2000). Review - Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden, *J Sci Food Agric.*, 80, 1063-1072.
- [77]. Bohne, V.J.B., Lundebye, A.K., Hamre, K. (2008). Accumulation and depuration of the synthetic antioxidant ethoxyquin in the muscle of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*), *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1834–1843
- [78]. Zurita, J.L., Jos, A., del Peso, A., Salguero, M., Lopez-Artiguez, M., Repetto, G. (2007). Ecotoxicological effects of the antioxidant additive propyl gallate in five aquatic systems, *Water Research*, 41, 2599 – 2611.
- [79]. Tekerlek, P. (2013). *Bazı bryofit türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi, Niğde.
- [80]. Çalışkan, H. (2018). *Trakya bölgesinde yetişen cirsium italicum (savi) dc. (asteraceae) bitkisinin fitokimyasal incelenmesi, antibakteriyel ve antifungal aktivitesinin tayini*. Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ.
- [81]. Altuner, E.M. (2008). Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- [82]. Burnaz, N.A. (2007). *Viburnum opulus ve V. Orientale bitki ekstraktlarının kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri*. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- [83]. Akyüz, E. (2007). *Polygonum bistorta ssp. Carneum bitki ekstraktlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri*. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- [84]. Öztürk, H. (2009). *Jurinea consanguinea'nın antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne.
- [85]. Şen, C. (2011). *Hibiscus sabdariffa l. Bitkisinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne.
- [86]. Martonfi, P., Repcak, M., Zanvit, P. (2006). Secondary metabolites variation in *Hypericum maculatum* and its relatives. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 56-59.
- [87]. Çakmak, E.H., Bayram, E. (2003). Muğla orijinli sarı kantaron (*hypericum perforatum l.*) Populasyonlarının bazı agronomik ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40 (1), 57-64.
- [88]. Erol, G. (2017). *Hypericum (kantaron) türlerinden elde edilen uçucu yağların herbisidal etkilerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- [89]. <https://www.kantaron.gen.tr/sari-kantaron.html> Erişim Tarihi: 14.04.2009

- [90]. Ekren, S., Sönmez, Ç., Bayram, E. (2010). Sarı kantaron (*hypericum perforatum* l.) Klonlarında bazı tarımsal ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 16, 225-234.
- [91]. Peşin, İ. (2007). *Hypericum perforatum* L. Ve *hypericum scabrum* L. Bitkilerinin yara iyileştirici ve antiinflamatuar aktiviteleri üzerinde çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- [92]. Deveci, A. (2014). *Hypericum perforatum* l. (sarı kantaron) (hypericaceae) bitkisinin morfolojik, kimyasal (uçucu yağ ve flavonoid) varyasyonlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- [93]. Couldwell, W.T., Gapolakrishna, R., Hinton, D.R., He, S., Weiss, M.H., Apuzzo, M.L.J. (1994) Hypericin: a potential antiglioma therapy special report. *Neurosurgery*, 35, 705-710.
- [94]. Taylor, K. (2009). Biological flora of the british isles: *urtica dioica* l., *Journal of Ecology*, 97, 1436-1458.
- [95]. Fu, Y.H., Chen, S.J., Chen, R.F., Ding, W.H., Kuo-Huang, L.L., Huang, R.N. (2006). Identification of oxalic acid and tartaric acid as major persistent pain-inducing toxins in the stinging hairs of the nettle, *Urtica thunbergiana*, *Annals of Botany*, 98, 57-65.
- [96]. Ayan, A.K., Çalışkan, Ö., Çırak, C. (2006). Isırganotu (*urtica* spp.)'Nun ekonomik önemi ve tarımı, *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 21 (3), 357-363.
- [97]. <http://www.bitkicenter.com/isirgan-otunun-faydalari/> Erişim Tarihi: 14.04.2009.
- [98]. Güder, A. (2008). *Urtica Dioica* L. Ve *Malva Neglecta* Wallr. Bitkilerinin ve Karışımlarının Antioksidant Aktivitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun.
- [99]. Hoşbaş, S. (2008). *Urtica Dioica* L. Bitkisi Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- [100]. Kuru, A. (2016). *Entansif tarımda kullanılan jojoba ve lavanta bitkilerinin allelopatik potansiyellerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli.
- [101]. Erbil, A.B. (2001). Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda bir tasarım çalışması. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- [102]. Baydar, H., Kara, N. (2011). Türkiye'de lavanta üretim merkezi olan ısparta ili kuyucak yöresi lavantalarının (*lavandula x intermedia emeric ex loisel.*) uçucu yağ özellikleri. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 25 (4), 42-46.
- [103]. Baser, K.H.C. (1993). Essential oils of anatolian labiate: a profile. *Acta Horticulture*, 333, 217-238.
- [104]. <https://baharat.com.tr/urun/lavanta-cicegi/> Erişim Tarihi: 14.04.2009.
- [105]. Ghelardini, C., Galeotti, N., Salvatore, G., Mazzanti, G. (1999). Local anaesthetic activity of the essential oil of *lavandula angustifolia*, *Planta Medica*, 1999, 65, 700-703.

- [106]. Algieri, F., Rodriguez-Nogales, A., Vezza, T., Garrido-Mesa, J., Garrido-Mesa, N., Utrilla, M.P., González-Tejero, M.R., Casares-Porcel, M., ve diğerleri. (2016). Anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts of *Lavandula dentata* L. and *Lavandula stoechas* L., *Journal of Ethnopharmacology*, 190, 142–158.
- [107]. Hanamanthagouda, M.S., Kakkalameleli, S.B., Naik, P.M., Nagella, P., Seetharamareddy, H.R., Murthy, H.N. (2010). Essential oils of *Lavandula bipinnata* and their antimicrobial activities, *Food Chemistry*, 118, 836–839.
- [108]. Wang, L., Weller, C.L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends in Food Science & Technology*, 17, 300–312.
- [109]. Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri I, *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32 (2), 209-242.
- [110]. Ercan, S.Ş., Soysal, Ç. (2011). Ultrasonun gıdalarda ve enzimlerin inaktivasyonunda kullanılması, *Gıda*, 36 (4), 225-231.
- [111]. Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S., Akkaya, Z. (2009). Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *Gıda*, 34 (3), 175-182.
- [112]. Şeran, E.B. (2011). *Yağlı tohumlara uygulanan ultrasonik destekli ön işlem ile soğuk pres yağlarında verim ve kalitenin artırılması*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- [113]. Kuleaşan, Ş., Yaman, T. (2016). Uçucu yağ elde etmede gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1, 78-83.
- [114]. Yağcıoğlu, P. (2015). Farklı ekstraksiyon metotları ile adaçayı (*salvia officinalis* l.) Bitkisinden antioksidan ekstraksiyonunun optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- [115]. Dülger, Ç.G., Geçgel, Ü., Culpan, E. (2018). Mikrodalga ekstraksiyon yöntemiyle uçucu yağ eldesi, *Proceedins Book of International Eurasian Congress on Natural Nutrition Healthy Life*, 525-530.
- [116]. Ceylan, M.A. (2008). *İzmir kekiği (origanum onites l.) uçucu yağının destilasyon ve süperkritik karbondioksit (scCO₂) ile ekstraksiyonu ve bileşenlerinin gaz kromatografisi/kütle spektrofotometresi (GC/MS) ile analizi*. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.
- [117]. Aymonier, C., Erriguible, A., Marre, S., Serani, A., Cansell, F. (2007). Processes Using Supercritical Fluids: A Sustainable Approach for the Design of Functional Nanomaterials, *Processes Using Supercritical Fluids*, 5, A77, 1-10.
- [118]. Avşar, G. (2008). *Orijinal nitelikte florlanmış fosfin ve rodyum(I) komplekslerinin sentezi ve süperkritik karbon dioksit ortamında hidrojenasyon reaksiyonlarında kullanımı*. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.

- [119]. Atanur, O.M. (2008). *Ganoderma lucidum* mantarlarından konvansiyonel ve süperkritik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların bileşenlerinin tanımlanması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- [120]. Seyitoğlu-Kocabaş, N. (2008). Süperkritik karbondioksit (CO₂) ortamında üçlü faz diyagramlarının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gebze İleri teknoloji Enstitüsü, Kocaeli.
- [121]. Demir, A. (2015). *Onosma halophila*'nın farklı ekstraksiyon yöntemleri ile ekstraksiyonu ve ekstraksiyon verimlerinin karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Mersin.
- [122]. Sür, A. (2017). Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile ekstrakte edilen menengiç (*pistacia terebinthus* l.) Ekstraktının ve yağının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- [123]. Avşar, G., Yüksel, D., Emen, F.M., Demirdöğen, R.E., Yeşilkaynak, T., Kahrıman, L. (2019). Supercritical Carbondioxide Extraction of *Lavandula Officinalis* (Lavender) and *Hypericum Perforatum* (Centaury) Plants Grown in Mersin Region: Investigation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Extracts and Usage as Cosmetic Preservatives in Creams, *JOTCSA*, 5 (3), 1215-1220.
- [124]. Schempp, C.M., Lüdtke, R., Winghofer, B., Simon, J.C. (2000). Effect of topical application of *Hypericum perforatum* extract (St. John's wort) on skin sensitivity to solar simulated radiation, *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 16, 125-128.
- [125]. Konrad, L., Müller, H.H., Lenz, C., Laubinger, H., Aumüller, G., Lichius, J.J. (2000). Antiproliferative effect on human prostate cancer cells by a stinging nettle root (*Urtica dioica*) Extract, *Planta Medica*, 66, 44-47.
- [126]. Bnouham, M., Merhfour, F.Z., Ziyat, A., Mekhfi, H., Aziz, M., Legssyer, A. (2003). Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*, *Fitoterapia*, 74, 677-681.
- [127]. Pinelli, P., Irei, F., Vignolini, P., Bacci, L., Baronti, S., Romani, A. (2008). Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in leaves, stalks, and textile fibers of *urtica dioica* L., *J. Agric. Food Chem.*, 56, 9127-9132.
- [128]. Barnes, J., Anderson, L.A., Phillipson, D. (2011). St John's wort (*Hypericum perforatum* L.) : a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 583-600.
- [129]. Vakilian, K., Atarha, M., Bekhradi, R., Chaman, R. (2011). Healing advantages of lavender essential oil during episiotomy recovery: A clinical trial, *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 17, 50-53.
- [130]. Rabiei, Z., Rafieian-Kopaei, M., Mokhtari, S., Alibabaei, Z, (2014). The effect of pretreatment with different doses of *Lavandula officinalis* ethanolic extract on memory, learning and nociception, *Biomedicine & Aging Pathology*, 4, 71-76.

- [131]. Aprotosoai, A.C., Gille, E., Trifan, A., Luca, V.S., Miron, A. (2017). Essential oils of *Lavandula* genus: a systematic review of their chemistry, *Phytochem Rev.*, 16, 761-769.
- [132]. Özkal, S.G., Salgın, U., Yener, M.E. (2005). Supercritical carbon dioxide extraction of hazelnut oil, *Journal of Food Engineering*, 69, 217-223.
- [133]. Hu, Q., Hu, Y., Xu, J. (2005). Free radical-scavenging activity of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts by supercritical carbon dioxide extraction, *Food Chemistry*, 91, 85-90.
- [134]. Eller, F.J., King, J.W. (2000). Supercritical carbon dioxide extraction of cedarwood oil: a study of extraction parameters and oil characteristics. *Phytochemical Analysis*, 11, 226-231.
- [135]. Simandi, B., Deak, A., Ronyai, E. (1999). Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of fennel oil, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1635-1640.
- [136]. Gültekin, S. (2018). *Pseudevernia furfuracea* (L.) zopf liken türünün antibakteriyel aktivitesi ve antioksidan kapasitesinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul.
- [137]. Mammadova, V. (2018). *Paeonia mascula* (L.) Mill. Subsp. *Mascula* ve *paeonia tenuifolia* L. Bitkilerinin antibakteriyel aktivitesinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya.
- [138]. Koçoğlu, T. (2016). Kozmetik ürünlerinde kullanılan bazı koruyucuların uçucu yağlar ile kombinasyonlarının antimikrobiyel ve mutajenik etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Çiğdem GÜL

Doğum Tarihi : 03.02.1992

E-mail : cigdemmgull@hotmail.com

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Kimya	Çukurova Üniversitesi	2010-2014
Yüksek Lisans	Kimya	Mersin Üniversitesi	2015-2019

ESERLER (Bildiriler)

- Gül, Ç.,** Yüksel, D., Adıgüzel, A.O., Kaşdan, A., Avşar, G., Emen, F.M., Demirdöğen, R.E., Kılıç, D., Yıldırım, Z., Tunçer, M., *Kantaron (Hypericum perforatum), Isırgan Otu (Urtica Dioica) Ve Lavanta (Lavandula Officinalis) Bitkilerin Ekstraksiyonu ve Kremler Üzerinde Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi*, 1. Uluslararası Katılımlı Kozmetik Kongresi, Antalya, 26-28 Ekim 2017, ss, 48.
- Avşar, G., Adıgüzel, A.O., Eroğlu, P., Emen, F.M., Yüksel, D., **Gül, Ç.,** Demirdöğen, R.E., Yeşilkaynak, T., *Extraction of Lavender (Lavandula Officinalis), Gentian (Hypericum Perforatum) and Stinging Nettle (Urtica Dioica) Plants Grown in Mersin Region and Investigation of the Antioxidant and Antibacterial Activity of Their Extracts*, International Congress on Medicinal and Aromatic Plants, 10-12 Mayıs 2017, Konya, ss, 1598.