



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**SAĞLIĞA FAYDALI İDDİALARI İLE SATILAN
HARNUP PEKMEZLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

ERGUN MURAT SULAK

FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI

EKİM 2019



**SAĞLIĞA FAYDALI İDDİALARI İLE SATILAN HARNUP
PEKMEZLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ergun Murat SULAK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
FİTOTERAPİ PROGRAMI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

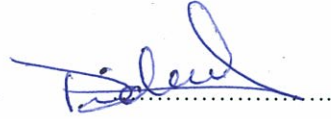
EKİM 2019

Ergun Murat SULAK tarafından hazırlanan “SAĞLIĞA FAYDALI İDDİALARI İLE SATILAN HARNUP PEKMEZLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı Fitoterapi Programı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Başkan: Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye: Doç. Dr. İpek SÜNTAR

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye: Doç. Dr. Alper GÖKBULUT

Farmakognozi Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 22/10/2019

Jüri üyeleri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim kurulu kararı ile onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Ergun Murat Sulak

22/10/2019

SAĞLIĞA FAYDALI İDDİALARI İLE SATILAN HARNUP PEKMEZLERİNİN
ANTİMİKROBİYAL VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Ergun Murat SULAK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ekim 2019

ÖZET

Bu çalışmada, eczanelerde, aktarlarda, yöresel ürün dükkânları, doğal ve organik ürün satan dükkânlarda sağlığa faydalı iddiaları ile satılan ve pek çok firma tarafından üretilen keçiboynuzu özü veya pekmez örneklerinin antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan aktiviteleri çalışılmıştır. Örneklerin kimyasal içerikleri total fenol miktar tayini yöntemi ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi tekniği ile tespit edilmiştir. Çalışmanın sonuçları, test edilen 10 örneğin güçlü antimikrobiyal ve antifungal etkiler göstermediğini, bunun yanında total antioksidan kapasitelerinin yüksek olduğunu göstermiştir. Kalitatif ve kantitatif analizler ise tüm örneklerin total fenol içeriklerinin yüksek olmadığını, gallik asit, vanilik asit ve rutin içerdiğini göstermiştir. Sonuç olarak, keçiboynuzu özü ve pekmezlerinin özellikle solunum yolu enfeksiyonlarından korunma gibi sağlık iddialarının temelinde kuvvetli bir antimikrobiyal aktivite göstermediği ama tespit edilen total antioksidan aktivitenin bu etkiden sorumlu olabileceği söylenebilir.

Bilim Kodu : 1017

Anahtar Kelimeler : Antimikrobiyal, Antioksidan, *Ceratonia siliqua*, Harnup Pekmezi

Sayfa Adedi : 73

Danışman : Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT EFFECTS OF HARNUP
MOLASSES SOLD WITH HEALTH CLAIMS

(M.Sc. Thesis)

Ergun Murat SULAK

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

October 2019

ABSTRACT

In this study, antimicrobial, antifungal and antioxidant activities of carob extract or molasses samples, which are sold by pharmacies, aktars, local product stores, natural and organic product stores with the claims of beneficial to health and produced by many companies, were studied. The chemical content of the samples were determined by total phenol quantification method and High Performance Liquid Chromatography technique. The results of the study showed that the 10 samples tested did not show strong antimicrobial and antifungal effects, but their total antioxidant capacity was high. Qualitative and quantitative analyzes showed that the total phenol contents of all samples were not high, they contain gallic acid, vanillic acid and rutin. As a result, it can be said that carob extract or molasses do not have strong antimicrobial activity on the basis of health claims such as protection from respiratory infections, but total antioxidant activity may be responsible for this effect.

Science Code : 1017

Key Words : Antimicrobial, Antioxidant, *Ceratonia siliqua*, Carob Molasses

Page Number : 73

Advisor : Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi, birikim ve tecrübeleriyle yol gösterici, sadece tez için değil her konuda desteğini ve zamanını hiçbir şekilde esirgemeyen kıymetli hocam Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Berrin ÖZÇELİK'e ve Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Uzm. Ecz. İsmet KUTLUK'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmalarım sırasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Farmakognozi Anabilim Dalı Arş. Gör. Dr. Hasya Nazlı EKİN'e, Arş. Gör. Sultan PEKACAR'a ve Ecz. Burçin ÖZÜPEK'e ve diğer Farmakognozi Anabilim Dalı araştırma görevlilerine teşekkürlerimi sunarım.

Manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim Ablalarım ve Annem Emine SULAK'a başarımdaki manevi katkıları çok büyük olan, bana her zaman güvenen, her koşulda ve her kararında beni destekleyen ve yanımda olup hayatımı kolaylaştıran Eşim Görkem SULAK'a teşekkür ederim.

Son olarak da eğitimim boyunca benden sevgi ve oyun bekleyen ancak sabırla çalışmamın bitmesini bekleyen çocuklarım Nil SULAK ve Nehir SULAK'a bu çalışmayı armağan ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Botanik Bölüm	3
2.1.1. <i>Ceratonia siliqua</i> L. türünün taksonomik yeri.....	3
2.1.2. Fabaceae (Leguminosae) Familyası.....	5
2.1.3. <i>Ceratonia</i> L.....	7
2.1.4. <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	7
2.1.5. Habitat.....	8
2.1.6. <i>C. siliqua</i> 'nın Dünyadaki yayılışı	8
2.1.7. <i>C. siliqua</i> 'nın Türkiye'deki yayılışı.....	9
2.1.8. <i>C. siliqua</i> 'ya verilen isimler ve sinonimleri.....	10
2.1.9. Tarihçe	11
2.1.10. Kayıtlı olduğu Farmakope ve Monograflar	14
2.2. <i>Ceratonia siliqua</i> 'nın Kimyasal İçeriği	14
2.2.1. Meyve	14
2.2.2. Tohum.....	16

	Sayfa
2.2.3. Yaprak.....	16
2.3. <i>C. siliqua</i> 'nın Kullanım Alanları.....	17
2.3.1. Gıda endüstrisinde kullanımı.....	17
2.3.2. Kozmetik endüstrisinde kullanımı.....	18
2.3.3. İlaç endüstrisinde kullanımı.....	19
2.3.4. Sigara endüstrisinde kullanımı.....	19
2.3.5. Diğer kullanım alanları.....	19
2.4. Keçiboynuzu Pekmezi.....	19
2.4.1. Keçiboynuzu Pekmezinin özellikleri.....	20
2.4.2. Keçiboynuzu Pekmezinin kimyasal içeriği.....	20
2.4.3. Keçiboynuzu Pekmezi üretimi.....	22
2.4.4. Keçiboynuzu Pekmezinin stabilite ve depolanma koşulları.....	23
2.5. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	23
2.5.1. <i>İn vitro</i> çalışmalar.....	24
2.5.2. <i>İn vivo</i> çalışmalar.....	26
2.5.3. Klinik çalışmalar.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Gereç.....	31
3.2. Fitokimyasal Analiz Yöntemleri.....	33
3.2.1. Total fenol miktarı.....	33
3.2.2. YPSK yöntemi ile fenolik maddelerin analizleri.....	33
3.3. Aktivite Yöntemleri.....	35
3.3.1. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri.....	35
3.3.2. Antimikrobiyal aktivite tayin yöntemi.....	36
3.4. İstatiksel Analiz.....	40

	Sayfa
4. BULGULAR	41
4.1. Total Fenol Miktar Tayini	41
4.2. YPSK Tekniği ile Epikateşin, Kateşin, Umbelliferon, Fenolik Asit ve Flavonoit Yapısındaki Maddelerin Analizi.....	42
4.3. Total Antioksidan Kapasite (Fosfomolibden Yöntemi).....	48
4.4. ABTS Radikali Süpürücü Aktivite.....	49
4.5. Metal Bağlama Kapasitesi.....	50
4.6. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	51
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	61
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	73

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Keçiboynuzu meyvesinin içeriği	14
Çizelge 2.2. <i>C. siliqua</i> bitkisinin kimyasal bileşimi	17
Çizelge 2.3. Tunus'ta üretilen ev tipi pekmez (ETP), ticari tip pekmez (TTP) ve keçiboynuzu meyvelerinin (KM) kimyasal bileşimi	21
Çizelge 3.1. YPSK tekniği ile kateşin grubu maddelerin analizi için kullanılan mobil faz	34
Çizelge 3.2. YPSK tekniği ile fenolik asit, umbelliferon ve flavonoid yapısındaki maddelerin analizi için kullanılan mobil faz	35
Çizelge 4.1. Keçiboynuzu özü numunelerine ait total fenol miktarları	41
Çizelge 4.2. Tüm numunelerdeki fenolik maddelerin kalitatif analiz sonuçları	44
Çizelge 4.3. 320 nm'de tüm numunelerdeki fenolik maddelerin kalitatif analiz sonuçları	46
Çizelge 4.4. Keçiboynuzu özü numunelerine ait total antioksidan kapasite sonuçları ...	48
Çizelge 4.5. Keçiboynuzu özü numunelerine ait ABTS radikali süpürücü aktivite sonuçları	49
Çizelge 4.6. Keçiboynuzu özü numunelerine ait metal bağlama kapasite sonuçları	50
Çizelge 4.7. Gram pozitif, gram negatif bakterilerde ve funguslarda denenen keçiboynuzu örneklerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK ve Minimal Bakterisidal/Fungisidal konsantrasyonları (MBC/MFC, mg/ml); referans antibiyotik/antifungallerin MİK değerleri (µg/ml).....	55
Çizelge 6.1. Keçiboynuzunun aktif bileşikleri ve biyolojik aktiviteleri.....	65

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>C.siliqua</i> çiçek durumu.....	5
Şekil 2.2. <i>C. siliqua</i> 'nın dünyadaki yayılışı.....	9
Şekil 2.3. TÜBİVES'de <i>C.siliqua</i> 'nın vilayetlere göre yayılışı (Osmaniye, İstanbul, Antalya, İçel, Muğla).....	9
Şekil 2.4. TÜBİVES'de <i>C. siliqua</i> 'nın Flora of Turkey and East Aegean Islands'daki kare sistemine göre yayılışı (A2, C2, C3, C4, C6).....	10
Şekil 2.5. Keçiboynuzu tohum ve meyvesinde bulunan kimyasal bileşikler (A).....	16

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>C. siliqua</i> meyveleri.....	4
Resim 2.2. <i>C.siliqua</i> çiçek durumu.....	4
Resim 2.3. <i>C. siliqua</i> yaprakları.....	7
Resim 2.4. <i>C. siliqua</i> tohumları	8
Resim 2.5. Keçiboynuzu ağacının doğadaki görünümü	11
Resim 3.1. Numune olarak satın alınan Keçiboynuzu özleri	31
Resim 3.2. Numune olarak satın alınan Keçiboynuzu özleri.....	32
Resim 3.3. Numune olarak satın alınan Keçiboynuzu özleri.....	32
Resim 3.4. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları	39
Resim 4.1. Keçiboynuzu özü numunelerinin total fenol miktar deneyinin ELISA plak görünümleri	42
Resim 4.2. Standart fenolik madde karışımının 265 nm dalga boyundaki kromatogramı	43
Resim 4.3. 7 no'lu numunenin 265 nm dalga boyundaki kromatogramı	43
Resim 4.4. 7 no'lu numunenin DAD kromatogramı (272 nm).....	43
Resim 4.5. 7 no'lu numunenin gallik asit pikine ait spektrum ile standart gallik asit spektrumunun karşılaştırılmış kromatogramı.....	43
Resim 4.6. Standart fenolik madde karışımının 320 nm dalga boyundaki kromatogramı	45
Resim 4.7. 7 numaralı numunenin standart fenolik madde karışımı ile karşılaştırılmış kromatogramı (320 nm)	45
Resim 4.8. Standart epikateşin kromatogramı (Rt:13,972 dk., 278 nm)	46
Resim 4.9. Standart kateşin kromatogramı (Rt: 12,933 dk., 278 nm)	46
Resim 4.10. 7 numaralı numunenin standart kateşin ve epikateşin karışımı ile karşılaştırılmış kromatogramı (378 nm)	47
Resim 4.11. Keçiboynuzu özü numunelerinin total antioksidan kapasite deneyinin ELISA plak görünümleri	48
Resim 4.12. Keçiboynuzu özü numunelerinin ABTS radikali süpürücü aktivite deneyinin ELISA plak görünümleri	49

Resim	Sayfa
Resim 4.13. Keçiboynuzu özü numunelerinin ABTS radikali süpürücü aktivite deneyinin ELISA plak görüntümleri	51
Resim 4.14. <i>Enterococcus faecalis</i> 'e karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	51
Resim 4.15. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'a karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal	52
Resim 4.16. <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal	52
Resim 4.17. <i>Candida krusei</i> 'ye karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite.....	53
Resim 4.18. <i>Candida albicans</i> 'a karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite sonuçları	53
Resim 4.19. <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'a karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	54
Resim 4.20. <i>Escherichia coli</i> 'ye karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite sonuçları	54
Resim 4. 21. Antimikrobiyal aktivite deneylerinde değerlendirilen kontrol plağı	55
Resim 6.1. 7 Numaralı numunenin standart fenolik madde karışımı ile çakıştırılmış kromatogramı (265 nm)	63
Resim 6.2. Üzüm pekmezi örneğinde fenolik maddelerin YPSK ile analizi	63

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
°C	Santigrat derece
5-HMF	5-Hidroksi Metil Furfural
C18	Karbon18
dk	Dakika
Fe ⁺²	Ferroz
FeCl ₂	Demir (II) Klorür
g	Gram
g/kg	Gram/kilogram
h/h	Hacim/Hacim
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HP	Hewlet Packard
kg/m ²	Kilogram/metrekare
L1210	Fare lenfositik lösemi hücre hattı
LC	Liquid Chromatography
mg	Miligram
mg/kg	Miligram/kilogram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
pH	Potansiyel Hidrojen
Rt	Retention Time (Alıkonma Zamanı)

Kısaltmalar**Açıklamalar**

AAE	Askorbik Asit Eşdeğeri
ABTS	2,2- Azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
ATCC	AmericanType Culture Collection
BKİ	Beden Kitle İndeksi
CBG	Keçiboynuzu zamkı
CLSI	Clinical Laboratory Standard Institute
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ETP	Ev Tipi Pekmez
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
HDL	High Density Lipoprotein (Yüksek Dansiteli Lipoprotein)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
İ.p.	İntraperinotal
KM	Keçiboynuzu Meyvesi
LDL	Low Density Lipoprotein (Düşük Dansiteli Lipoprotein)
M.Ö.	Milattan önce
M.S.	Milattan sonra
MBC	Minimal Bakterisidal Konsantrasyonu
MDA	Malondialdehit
MFC	Minimal Fungisidal Konsantrasyon
MFS	Minimal Fungustatik Konsantrasyon
MHA	Müller Hinton Agar
MHB	Müller Hinton Broth
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
PBS	Fosfat Tamponu
SD	Standart Hata
SDA	Saboraud Dextrose Agar
SDLM	Saboraud Dextrose Sıvı Besiyeri
TTP	Ticari Tip Pekmez
UV	Ultraviyole
YPSK	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

1. GİRİŞ

Eczanelerde, aktarlarda, yöresel ürün dükkânları, doğal ve organik ürün satan dükkânlarda sağlığa faydalı iddiaları ile satılan ve pek çok firma tarafından üretilen keçiboynuzu özü veya pekmezi; geleneksel olarak Fabaceae familyasından *Ceratonia siliqua* L. bitkisinin olgun ve kahverengi meyveleri yıkanıp, parçalanıp, suyla yoğun bir kıvama gelene kadar kaynatılmasıyla elde edilen bir sıvı özüttür. Şu anda piyasada soğuk sıkma yöntemi kullanılarak elde edildiği söylenen Keçiboynuzu infüzyonu; meyvelerin haşlanarak demleme sonrasında buharlı ve vakumlu kazanlarda yoğunlaştırma işlemi uygulanarak, hazırlanan çok özel bir üründür. 60°C'yi geçmeyen buharlı ve vakumlu ortamdaki düşük ısının ürünün içindeki vitamin ve mineral değerlerini koruduğu belirtilmektedir [1].

C. siliqua'nın, Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde ekonomik ve çevresel nedenlerle önemli bir bitki olarak kabul edilip doğal olarak yetişmesi yanı sıra kültürü de yaygın olarak yapılmaktadır [2]. Anadolu'da “Keçiboynuzu, Ballıbaba (Denizli), Ballıboynuz (Denizli), Hannıp, Harnıp, Harnup, Harrup, Kaluş, Melük” [3], gibi isimlerle bilinen bitkinin meyveleri gıda olarak tüketilmesinin yanı sıra halk arasında ağız içi yaraları iyileştirmek için, nefes darlığında nefes yollarını rahatlatıcı olarak, bronşit hastalığının semptomatik tedavisinde ve öksürük kesici gibi etkilerinden dolayı oldukça yaygın kullanılmaktadır. Meyveden elde edilen un özellikle teobramin, kafein ve çok miktarda şeker içermediğinden gıda sanayinde kakao yerine de kullanılmaya başlanmıştır [2]. Bitkinin tohumlarında bulunan endospermadan elde edilen galaktomannan yapısındaki “Keçiboynuzu gamı veya keçiboynuzu sakızı”, gıda sanayinde E410 kodu ile kıvam arttırıcı, stabilizör ve emülgatör özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır [4].

Yaptığımız literatür tarama çalışmaları, keçiboynuzu pekmezi veya özü ile ilgili yapılmış aktivite ve fenolik madde analiz çalışmalarının çok az olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, eczanelerde sağlık faydaları ile pazarlanan ve profilaktik olarak da özellikle çocuklarda üst solunum yolu enfeksiyonları için kullanılan keçiboynuzu özünün antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilecektir. Ayrıca kimyasal bileşimi spektroskopik bir yöntem olan total fenol miktar tayini ile fenolik madde analizleri ise Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK) yöntemi ile değerlendirilecektir. Elde edilen bulgular, sağlık faydası iddiaları ile satılan keçiboynuzu özleri veya pekmezlerinin antioksidan,

antimikrobiyal etkileri ve kimyasal bileşimleri ile ilgili olarak piyasadaki durumun tespitini sağlayacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

Keçiboynuzu özü veya pekmezi ile ilgili yapılmış bilimsel çalışmalar; bilimsel veri tabanları ve dergilerden taranarak derlenmiştir. Bu amaçla, bitkinin taksonomisi, botanik özellikleri (taksonomik yeri, Fabaceae familyası, *Ceratonia* L. genusu, *C. siliqua*'nın botanik özellikleri), Türkiye'deki ve dünyadaki yayılışı, tarihçesi, sinonimleri, kimyasal içeriği (meyve, tohum, pekmez), kullanım alanları ve biyolojik aktiviteleri (yaprak, meyve, pekmez) hakkında bilgiler verilmiştir.

2.1. Botanik Bölüm

2.1.1. *Ceratonia siliqua* L. türünün taksonomik yeri

Alem	: Plantae
Alt Alem	: Tracheobionta
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Alt sınıf	: Rosidae
Takım	: Fabales
Familya	: Fabaceae
Cins	: <i>Ceratonia</i>
Tür	: <i>Ceratonia siliqua</i> L. [3]



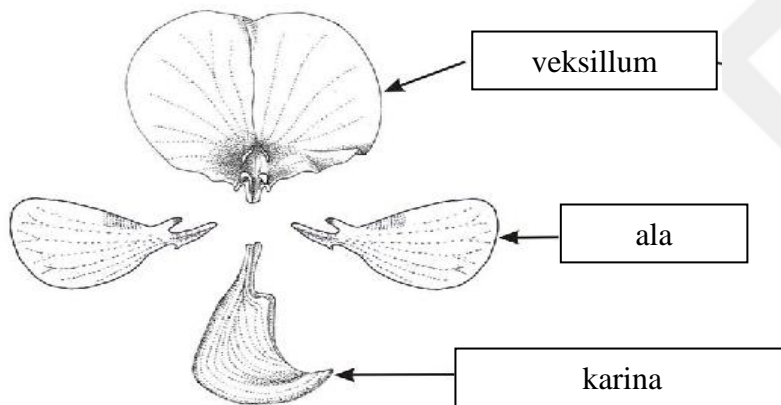
Resim 2. 1. *C. siliqua* meyveleri [5]



Resim 2.2. *C.siliqua* çiçek durumu [6]

2.1.2. Fabaceae (Leguminosae) Familyası

Fabaceae familyası halk arasında ‘‘Baklagiller’’ olarak bilinmektedir. Fabales takımı içinde bulunan Fabaceae familyası çoğunlukla otsu bitkilerden oluşan çalı ve ağaç türlerini de içeren büyük bir familyadır. 400 cins ve 10.000 dolayında tür bulundurur. Ülkemizde 61 cins ve 900’den fazla türü bulunmaktadır [7, 8]. Bu nedenle bir ordo gibi kabul edilir ve 3 alt familyaya sahiptir: Mimosoidae, Caesalpinioidea ve Papillionoidae. Genel olarak familya bitkilerinde yapraklar birleşik, stipulalı, bazen stipulasız ve alternan dizilişlidir [7, 8]. Familya yelerinin hepsinde çiçekler 5 ta yapraklıdır. Ta yaprakların iki kenarında birer kanatçık bulunur. st petal genellikle büyüktür. Veksillum (bayrakık) bayrak şeklinindedir. Yandaki 2 petal kanat şeklinindedir (ala). Alttaki 2 petal ise birleşmiş olup, karina (kayıkçık) adını alır. iek tomurcuk halindeyken alalar karinayı, veksillum da alaları örter [9].



şekil 2.1. *C.siliqua* iek durumu [10]

iek durumu çoğunlukla dik veya sarkık rasemustur. Korolla aktinomorf veya zigomorftur. Kaliks genellikle gamosepal dizilişlidir [7, 8]. Stamenler 4 veya daha fazla olup, çoğunlukla 10 adettir. Hepsi bir tp teşkil edecek şekilde bitişik (monodelf), en üstteki stamen serbest (diadelf) veya stamenlerin hepsi serbesttir. 10 Stamen (erkek organ) ayrı ya da birleşik gruplar meydana getirirler. Pistilin (dişi organ) basit, tek bir stigması (tepecik) bulunur. st durumlu ovaryum tek karpellidir [11, 12]. Tohumda embriyo düz veya eğridir. Tohum bir veya çok sayıda olabilir. Sert kabuklu, genellikle böbrek şeklinde veya yuvarlak yapıdadır. Meyve legmen veya lomentumdur [7, 8].

Kökleri kazık köktür. *Rhizobium* denilen bakteriler köklerinde yaşayarak azot döngüsünde bu bitkilere yardımcı olur [11]–[13].

Bu familya çiçek durumlarına göre 3 alt familyaya ayrılır:

1. Çiçekler aktinomorf

Anatrop tohum taslaklı stamenler serbest, çok sayıda fakat diplostemon bir androkeumdan meydana gelir, besi doku mevcut ise; Mimosoidae

2. Çiçekler zigomorf anatrop tohum taslaklı, embriyo düz, 10 stamen (veya daha az) serbest durumda, besi doku mevcut ise; Caesalpinoidea

3. Kampilotrop tohum taslaklı embriyo eğri; 10 stamen ya hepsi bileşik veya 9'u bileşik biri serbest ya da hepsi de serbest ise; Papillionoidae olarak adlandırılır [7].

Mimosoidae Alt Familyası

Genellikle ağaç şeklinde, çiçekler aktinomorf, oldukça indirgenmiş bir korolla. Çiçek parçaları birbirini örtmeden kenarlarından birleşmiştir. Stamenler genellikle serbesttir. Tohum genellikle besi dokuludur [7].

Bu familya bitkileri sıcak bölgelere yayılmıştır. Ağaççıklar genellikle dikenli; bazıları sarılıcı. Yıllık bitkilerde mevcut veya çok yıllıkta olabilirler. Başlıca cinsler: *Mimosa*, *Prosopis*, *Albizzia*, *Acacia* [7].

Papillionoidae Alt Familyası

Otsu veya odunlu bitkilerdir. Çiçekler zigomorftur. Bileşik, 10 adet stamen. Tohum besi dokusuz. Çok zengin bir alt familyadır. Türkiye florasının büyük bir kısmını oluşturur; bazı cinsler tür bakımından çok zengindir. Örneğin; *Astragalus*, *Indigofera*, *Lupinus*, *Vicia*, *Lathyrus*, *Trifolium* türleri [7, 8].

Caesalpinioidea Alt Familyası

Genellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde gelişen ağaç formundaki bitkilerdir. Yapraklar stipulalı, tam ve loblu veya pennattır. Çiçekleri zigomorf olan ağaçlardır. 3 ve 5 nolu petaller bileşik olup karina şeklindedir. Stamenler genellikle serbest, 10 adet veya daha azdır. Tohum genellikle besi dokuludur. Başlıca cinsler: *Ceratonia*, *Cassia*, *Cercis* [7, 8].

2.1.3. *Ceratonia* L.

Her zaman yeşil olan çalılar veya ağaçlardır. Sıklıkla monoiktir. Yapraklar imparipennat. Stipulalar çok küçük ve düşücü. Çiçek durumu sık çiçeklidir. Yaşlı dallarda pek çok çiçekli salkım durumu görülür. Kaliks düşücü, petal 0, stamen 5, serbest. Meyve yandan yasılmıştır, açılmaz ve çok tohumludur [14].

2.1.4. *Ceratonia siliqua* L.

C. siliqua L., Sp. Pl. 1026 (1753). Ic: Fiori, Ic. Fl. Ital. F. 1859 (1899) Ağaç veya çalı. 3-10 m. Yaprakçıklar 3-5 çift, 30-50 x 30-40 mm, eliptik-dairesi, derimsi, üst tarafı koyu parlak yeşil, alt tarafı soluk yeşil renklidir. Çiçekler tek eşeyli veya hermafrodit, yeşil. Çiçek durumu yaklaşık 50 çiçekli. Meyve 10-20 x 1,5-2 cm., koyu kahverengi, sarkık, 9-11. aylarda çiçeklenme dönemi [14].



Resim 2.3. *C. siliqua* yaprakları [15]



Resim 2.4. *C. siliqua* tohumları [16]

2.1.5. Habitat

Keçiboynuzu ağaçları, hafif kumlu topraklardan ve kayalık yamaçlardan derin zeminli çökellere kadar çok çeşitli toprak türlerine uyum sağlayabilir, ancak kök sistemi genellikle derin olmasına rağmen su basmasına dayanamaz. Sığ kayalık zeminli alanlarda, ağaç ebadı ve verimlilik azalır. En iyi topraklar, kumları iyi drene edilmiş kumullar, makilik alanlar ve yüksek kireç içerikli topraklardır [17].

2.1.6. *C. siliqua*'nın Dünyadaki yayılışı

Dünyada keçiboynuzu genellikle Akdeniz ikliminin görüldüğü İspanya, İtalya, Fas, Portekiz, Yunanistan, Kıbrıs ve Türkiye gibi ülkelerde yetişmektedir. Çeşitli kaynaklarda keçiboynuzunun anavatanı olarak; Mısır, İsrail, Orta Doğu, Arap Yarımadası ve Anadolu gibi farklı bölgeler gösterilmiştir. Önceleri Anadolu'nun güney kıyılarında yabani olarak yetişen keçiboynuzunun daha sonraları Yunanlıların, Yunanistan ve İtalya'ya götürdükleri sanılmaktadır. Ancak ağaç, onu Fas ve İspanya'ya götürerek üretmeye başlayan Araplar tarafından daha çok rağbet görmüştür. Bunun yanında *C. siliqua* ağacı yaprak dökmeyen bir Akdeniz bitkisi olmasına rağmen doğal olarak Kuzey ve güney Amerika'da, Avustralya'da yetişmektedir. Keçiboynuzu üreticileri arasında en büyük üretici İspanya'dır. İspanya, ortalama 135.000 ton/yıl üretim yapan lider keçiboynuzu üreticisidir (MAPA 1994). Ardından İtalya, Portekiz, Fas, Yunanistan, Kıbrıs, Türkiye, Cezayir ve bazı diğer ülkeler

ana keçiboynuzu üreten ülkeler sıralamasında yer almaktadır. Bugün dünya üzerinde başta İspanya, Portekiz, İtalya olmak üzere Yunanistan, Fas, Tunus, Cezayir, Kıbrıs, Türkiye ve İsrail gibi Akdeniz lkeleri dışında ABD, Avustralya ve Güney ve Kuzey Afrika'da da yaygın olarak keçiboynuzu yetiştiriciliği yapılmaktadır [11, 18].

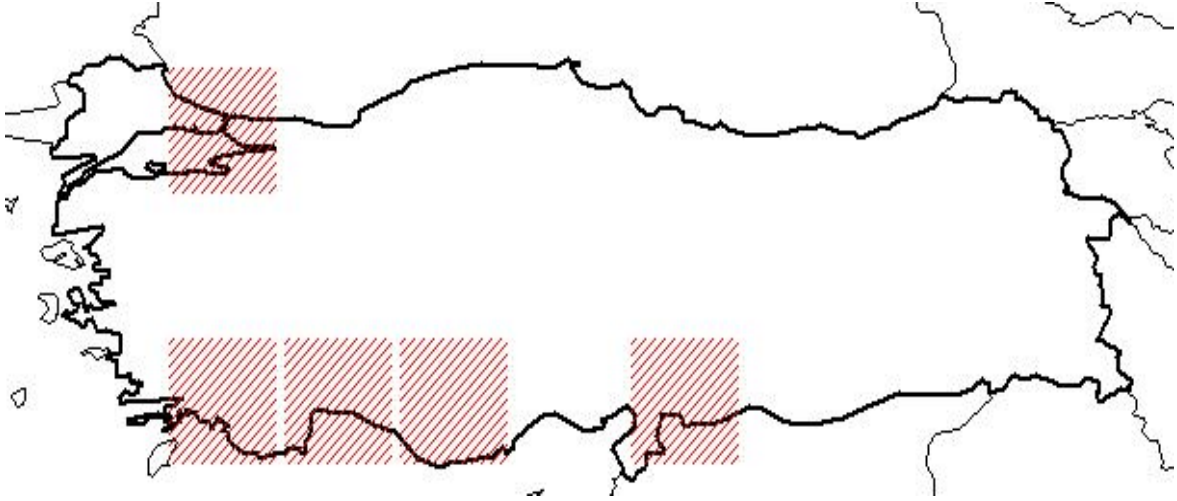


şekil 2.2. *C. siliqua*'nın dünyadaki yayılışı [11]

2.1.7. *C. siliqua*'nın Türkiye'deki yayılışı



şekil 2.3. TÜBİVES'de *C.siliqua*'nın vilayetlere göre yayılışı (Osmaniye, İstanbul, Antalya, İçel, Muğla) [3]



Şekil 2.4. TÜBİVES’de *C. siliqua*’nın Flora of Turkey and East Aegean Islands’daki kare sistemine göre yayılışı (A2, C2, C3, C4, C6) [3]

2.1.8. *C. siliqua*’ya verilen isimler ve sinonimleri

Keçiboynuzu ağacının bilimsel adı *Ceratonia siliqua*’dır. Latince “siliqua”, kapsülün sertliği ve şeklini ifade eder. Dünyada kabul edilen ortak adı “carob”, Arapça “kharrubun”dan türetilmiş olan İbranice “kharuv”dan gelmektedir. İspanyolca’da algarrobo veya garrofero, İtalyanca’da carrubo, Fransızca’da caroubier, Almanca Karubenbaum, Portekizce alfarrobeira, Yunanca charaoupi gibi isimlerle bilinmektedir. Asya’da ise chiao-tou-shu (Çin), gelenggang (Malezya) ve chumhettai (Tayland) gibi isimler kullanılmaktadır. Besleyici özelliği sebebiyle keçiboynuzunun adı “St. John's Bread” yani “Aziz John’un ekmeği” olarak da bilinmektedir [19]. Ayrıca Anadolu’da bitkiye “ballı boynuz, ballıbaba, harnup, hannıp, harnıp, harrup, kaluş, keçiboynuzu, melük” gibi isimler de verilmektedir [20].



Resim 2.5. Keçiboynuzu ağacının doğadaki görünümü [21]

2.1.9. Tarihçe

Dünya tarihi göz önüne alındığında çok eski çağlardan beri birçok bitkinin tıbbi amaçlarla kullanıldığı bilinmektedir. Tıbbi ve aromatik bir bitki olarak keçiboynuzu, yetiştiği coğrafya nedeniyle yeryüzünün en eski bitkilerinden birisi olarak kabul edilmektedir. İlk olarak M.Ö. 4000 yıllarında Mısır'da ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. Tarihte tıbbi bitkiler ve onların kullanımları ile ilgili en eski bilgiler çoğunlukla Çin, Mısır ve Yunan tarihinden kalma olup, Anadolu'da da Hititler döneminde bazı drogların hazırlanıp kullanıldığı bilinmektedir. Keçiboynuzu ağacının kökeni ve evcilleştirilmesi konusunda yetersiz bilgi bulunmaktadır. Ancak Antik çağlardan günümüze meyvenin verimi, içeriği, evcilleştirilebilmesi ve kültürünün yapılabilmesi, sağlık amacıyla kullanımları gibi birçok neden keçiboynuzunun tarihte önemli bir yere kavuşmasında etken olmuştur. Son yıllarda keçiboynuzu meyvesinden farklı ürünlerin türetilmesiyle bu bitkinin yetiştiriciliği kültür altına alınmaya başlamıştır [22].

Keçiboynuzu antik çağlardan bugüne var olan, her zaman yeşil kalabilen ve Akdeniz iklim özelliği taşıyan bölgelerde genellikle kültüre alınmadan ve yetiştirme esnasında hiçbir suni katkıya ihtiyaç duymadan bol miktarda yetişen, çevresel ve ekonomik olarak önem taşıyan bir bitkidir [23]. Keçiboynuzu ağacının fasulye tipi boynuz şeklindeki uzun kahverengi

meyveleri, zengin karbonhidrat içeriği nedeniyle yüzyıllar boyunca her yaştan insanın severek tükettiği bir meyve olmuştur. Keçiboynuzu meyvelerinin çekirdekleri 6-8 yılda standart büyüklüğe ulaşır. Doğada ne kadar açıkta kalırsa kalsın, ağırlığını hiçbir zaman kaybetmemektedir. Tohum kabuğunun su geçirmemesinden ötürü insanlar yüzyıllar boyunca elmas, yakut ve zümrüt gibi mücevherleri tartmak için kullanmıştır. Bugün de bu özelliği onların kırat (karat) ölçü birimi olarak kullanılmasını sağlamıştır [19,22].

Uzun yıllar boyunca *Ceratonia* cinsi, Akdeniz'in kıyı bölgelerinde bulunan *C. siliqua* türü ile temsil edilmiştir. Ancak, Umman ve Somali'nin kuzeyiyle sınırlı olan ikinci bir tür olan *C. oreoethauma*'nın tanımlanmasından sonra bu cinsin ikinci bir tür ile daha da temsil edildiği ortaya konmuştur [24].

Akdeniz'deki mevcut iklim koşulları göz önüne alındığında ağacın termofilik özelliğinin ağır bastığı görülmüştür. İspanya'daki keçiboynuzu ağaçlarının popülasyonu, 1789'da Valensiya'da ve 1956'da Katalonya'da soğuk geçen şubat ayından sonra büyük zarar görmüştür. Akdeniz'e sınırı olan her ülkenin tarihinde keçiboynuzunun izlerine rastlamak mümkündür. Her ülke milyonlarca yıllık süre içinde keçiboynuzunun kendi ülkelerine özgü bir ağaç olduğuna inanabilecekleri sebeplerle karşı karşıya kalmışlardır. Örneğin; İsrail'de *Olea* ve *Ceratonia*'nın “doğal” olarak nitelendirildiği Oleo-Ceratonion bitki sosyolojik oluşumunun ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Bu oluşuma göre bitki, serotropik bir floranın kalıntısıdır. Böylelikle antik çağlardan beri var olduğu kanıtlanmıştır [22, 24, 25].

Palaeobotanik kanıtlar incelendiğinde 19. yüzyıldan beri *Ceratonia* cinsine atıfta bulunan birkaç fosil bulunmuştur [26]. Bununla birlikte, iklim değişiklikleri *C. siliqua*'nın yayılımını büyük ölçüde azaltmıştır. *C. Siliqua* ile ilgili olduğu düşünülen polenler, Hule havzasında ve Hayonim Terası'nda sırasıyla M.Ö. 43 ve M.Ö. 10.000 yıllarına ait birikintilerde bulunmuştur. Buzul sonrası zamanlarda, iklim koşullarındaki sert değişikliklerden de büyük ölçüde etkilenmiştir [22, 26].

Arkeolojik kazılarda belgelenen ilk kalıntılar, İsrail'de bulunan, M.Ö. 8000–6000 yıllarına ait birikintilerde bulunan keçiboynuzu odunu ve M.Ö. 4000 yılında kuzey çölünde bir mağarada bulunan kalkolitik döneme ait iki kuru meyve parçasıdır. Aynı mağarada ayrıca zeytin ve nar meyvesi parçaları da bulunmuştur. Arkeoloji, ağacın Roma döneminde İtalya'nın Campania kentinde de ekildiğini göstermiştir. Çünkü M.S. 79'da patlayan Vezüv

Yanardağı yakınlarındaki Herculaneum'da, 50 kadar iyi korunmuş tortulaşmış keçiboynuzu kalıntısı bulunmuştur. Keçiboynuzu, Roma Mağarası (3. yüzyıl) tortularında, Havuz Mağarası, Musevi Çölü, İsrail ve Erken Arap (7. yüzyıl) dönemine ait Avrona'da da bulunmuştur. Antonius (6. yüzyıl), Jericho'da keçiboynuzu ağaçlarından bahsetmiştir. Rus Piskoposu Daniel (12. yüzyıl) Kudüs çevresinde, Hebron yamaçlarında, Tabor Dağı'nda ve Nablus'ta bu türle ilgili kayıtlar tutmuştur. Arap gezgin El-Idrisi (12. yüzyılda), Jericho'daki Jacques de Vitry'de (13. yüzyılda) olduğu gibi Şam'dan Tire'ye kadar kuzey kıyılarında keçiboynuzunu gördüğünü yazmıştır [22].

Keçiboynuzu ağacı, Klasik Yunanca *Ceratonia* olarak ya da meyvenin adı olarak biliniyordu. Aslında bu isimler öküzün boynuzuna atıfta bulunarak da verilmiştir. Theophrastus, Babil'de M.Ö. 310 yıllarında yaptığı araştırmasında İyonyalılar tarafından adlandırılan ve meyveleri olan bir ağaçtan bahseder. İtalya'da hala “suscella” olarak bilinen keçiboynuzu yukarıda açıklandığı gibi öküz boynuzu anlamına gelen kelimelerden oluşmuştur. İbraniler de kendilerince isimlendirerek çok uzun zaman önce keçiboynuzu ağacını tanımlamışlardır. Keçiboynuzu ağacı genellikle Latince olarak siliqua, graeca veya syriaca olarak bilinmektedir. Ağaç bugün Fas'ta slighwa - yani siliqua – olarak bilinir [22].

Keçiboynuzu ağacının kökeni incelendiğinde; Güney Arabistan ve Afrika orjinli olduğu düşünülmektedir. Ancak bu yerler keçiboynuzu ağacının kökeni olsaydı, ağacın Orta Doğu'ya nasıl ulaştığını açıklamak gerekirdi. Bu durum Arabistan'ın güneybatı kesimlerinde yabani olarak yetişen *Mimusops laurifolia* (Sapotaceae) ve *Ficus sycomorus* (Moraceae) gibi aynı bölgeye özgü bazı diğer ağaçların tarihçesiyle karıştırılabilir. Yarımada ve kuzey Etiyopya'da, Mısırlı seyyahların bu bitkileri yanlarında Arabistan'dan getirdiğine inanılmaktadır. Galileo'a göre keçiboynuzu eski Mısırlı'lar döneminde, Nil vadisi çevresindeki meyve bahçelerinde yetişen firavun incirine benzeyen türlerden biriydi. Milyonlarca yıllık iklim ve doğa şartlarının değişimini göz önünde bulundurarak; kökeninin her ne kadar tartışmalara yol açsada Arabistan yarımadası, İsrail, Mısır, Güney Anadolu, Kıbrıs, Kuzey Afrika veya Akdeniz'e sınırı olan yerlerden biri olduğu açıktır [22].

2.1.10. Kayıtlı olduğu farmakope ve monograflar

C. siliqua: FFD Monografları (Bitkiler ve Etkileri), PDR for Herbal Medicines [27]

Carob Bean Gum: Residue Monograph repared by the meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 82nd meeting 2016 Carob Bean Gum (Clarified) [28]

Locust bean gum: Biritish Pharmacopoeia, Codex Alimentarius [29], Martindale [30]

2.2. *C. siliqua*'nın Kimyasal içeriği

2.2.1. Meyve

Taze meyvenin ağırlık olarak %90'u etli kısımdan %10'u çekirdekten oluşmaktadır. Keçiboynuzu meyvesinin kimyasal içeriği yetiştiği bölgeye ve hasat zamanına bağlı olarak değişim göstermektedir [31, 32].

Çizelge 2.1. Keçiboynuzu meyvesinin içeriği [33]

İçerik	Miktarları (% a/a)
Sakkaroz	46,35
Toplam lif	32,22
İndirgen şekerler	2,14
Protein	8,11
Pektin	0,80
Yağ	0,77
Toplam çözüner polifenoller	0,82

Meyvede tanımlanan başlıca şekerler, sakkaroz, glikoz ve früktozdur. Keçiboynuzu meyvesi pulpunda ayrıca C vitamini, nikotinik asit ve kalsiyum pentotamat bulunduğu da bildirilmiştir [13].

Keçiboynuzu meyvesinde kafeinin saptanmadığı ve bu meyvenin A, B, B2, B3 ve D vitaminleri ile yüksek miktarlarda kalsiyum, fosfor, potasyum ve magnezyum minerallerini içerdiği bildirilmiştir. Keçiboynuzu mineral maddelerce zengin olup içeriğinde en fazla potasyum içermektedir. İçeriğinde mevcut olan mineral miktarları: Potasyum (827 mg/100

g), kalsiyum (348 mg/100 g), magnezyum (54 mg/100 g), fosfor (79 mg/ 100 g), sodyum (35 mg/100 g), selenyum (5 mg/100 g), demir (2,9 mg/100 g) ve bakır (0,6 mg/100 g). Meyvenin etkili kısımları süttten 3 kat fazla kalsiyum içermektedir [4, 31].

Bir başka çalışmada, çekirdekleri çıkartılmış keçiboynuzu meyvelerinden elde edilen tozdan hazırlanan metanol ekstresinin HPLC ile analizinde; gallik asit (10,21 ppm), pirogallol (4970,18 ppm), protokateşik asit (79,47 ppm), klorojenik asit (101,09 ppm), kateşin (27,97 ppm), kateşol (164,67 ppm), sinnamik asit (7,78 ppm), kafein (48,23 ppm), vanillik asit (13,92 ppm) ve ferulik asit (10,17 ppm) isimli bileşiklerin kalitatif ve kantitatif analizleri yapılmıştır. Ayrıca bu tozda, yağda çözünen vitaminlerden A (1,407 µg/100 g), E (5,377 µg/100 g) ve D (4,9 µg/100 g) vitaminleri; suda çözünen vitaminlerden de C (830,08 mg/100 g), B₂ (0,38 mg/100 g), niasin (185,68 mg/100 g), B₆ (23,80 mg/100 g), folik asit (41,97 mg/100 g) ve B₁₂ (1,30 mg/100 g) vitaminleri; minerallerden de mangan (10,24 mg/kg), çinko (24,71 mg/kg), demir (381,80 mg/kg), bakır (4,84 mg/kg), selenyum (9,79 mg/kg), kalsiyum (2123,00 mg/kg), sodyum (505,97 mg/kg), potasyum (8637,64 mg/kg), fosfor (2255,21 mg/kg) ve kükürt (17577,80 mg/kg) minerallerinin varlığı tespit edilmiştir [34].

Minerallerce zengin olmanın yanı sıra keçiboynuzunda 24 çeşit fenolik bileşik bulunmaktadır. Fenolik maddelerce zengin keçiboynuzunda miktarca en fazla bulunan fenolik madde gallik asittir. Bitkilerde bulunan doğal bir fenolik madde olan gallik asit, etkili bir antioksidan olup özellikle yağların oksidasyonunu yavaşlatmada çok etkilidir. Keçiboynuzu meyvesinin, biyoaktif bileşen olan D-pinitolün önemli kaynaklarından biri olduğu bilinmektedir [2, 11, 35].

Çekirdekleri çıkartılmış meyve tozunda yapılan Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi analizleri ile laurik asit (C₁₂:0, %0,75), miristik asit (C₁₄:0, %1,11), palmitik asit (C₁₆:0, %11,01), palmitoleik asit (C₁₆:1, %0,65), heptadekanoik asit (C₁₇:1, %0,15), stearik asit (C₁₈:0, %3,08), oleik asit (C₁₈:1, %40,45), linoleik asit (C₁₈:2, %23,19), linolenik asit (C₁₈:3, %2,47), araşidik asit (C₂₀:0, %1,51), gadoleik asit (C₂₀:1, %2,68) ve behenik asitlerin (C₂₄:0, %0,43) bulunduğu rapor edilmiştir [34].

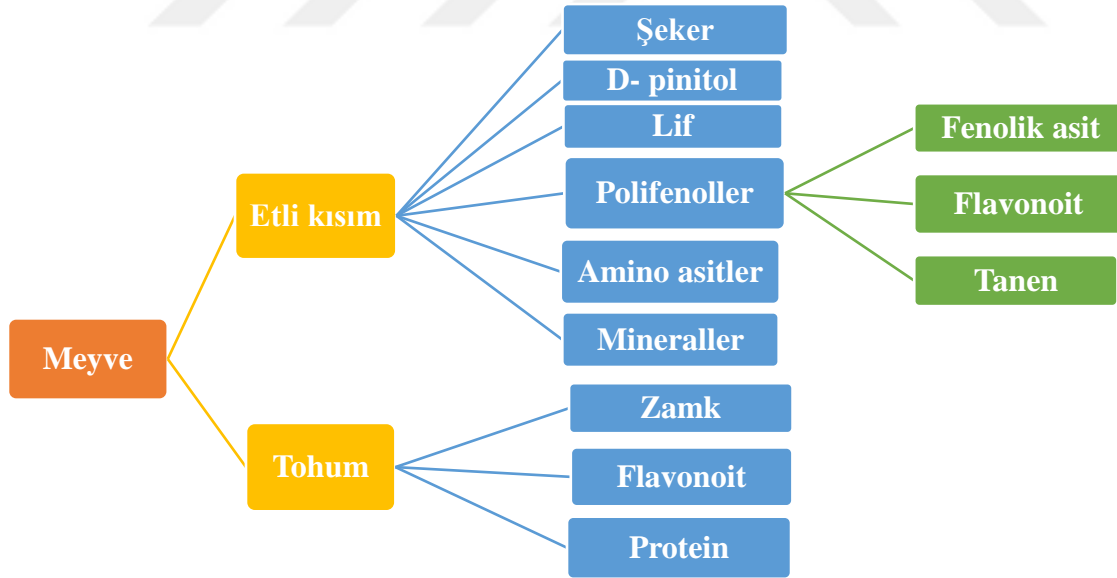
2.2.2. Tohum

Keçiboynuzu tohum kabukları %6,1 oranında polifenol, tohumları ise aspartik asit, glutamik asit, arjinin, serin, glisin, alanin, prolin, histidin, treonin, valin, izolösin, lösin, lizin, triptofan, fenilalanin, tirozin, metionin ve sistein aminoasitlerini taşımaktadır [36, 37].

2.2.3. Yaprak

Bitkinin yapraklarının etil asetat ekstresinde, yüksek performanslı sıvı kromatografisi- kütle spektrometresi tekniği (C18 column, Zorbax, 2,6 250 mm, 3,5 µm. partikül büyüklüğü, mobil faz: su, asetonitril, %0,1 formik asit, gradient sistem) ile 1,6-di-galloil-glukoz, 1,2,6-tri-galloil-glukoz, mirsetin glukozit, 1,2,3,6-tetra-galloil-glukoz, mirsetin ramnozid ve siringik asitlerin varlığı tespit edilmiştir [38].

Sonuç olarak;



Şekil 2.5. Keçiboynuzu tohum ve meyvesinde bulunan kimyasal bileşikler [2]

Çizelge 2.2. *C. siliqua* bitkisinin kimyasal bileşimi [2]

Polifenol	Bitki kısmı
(epi)gallokateşin	Lif
(epi)gallokateşingallat	Lif
Apigenin	Lif, etli meyve
Kateşin	Tohum, etli meyve
Krizoeriyol	Lif, etli meyve
Eridiktiyol	Etili meyve
Genistein	Etili meyve
İzoramnetin	Lif, etli meyve
Kemferol	Lif, etli meyve
Kemferolramnozit	Lif
Kemferol-dezoksihekzozit ve -dihekzozit	Etili meyve
Luteolin	Lif, etli meyve
Mirsetin	Tohum
Mirsetinramnozit ve -dezoksihekzozit	Lif
Mirsetinhekzozit	Lif, etli meyve
Naringenin	Lif, etli meyve
Kersetin	Lif, tohum
Kersetinarabinozot	Lif
Kersetin-dezoksihekzozit ve -hekzozit	Lif, etli meyve
Kersetinramnozit	Etili meyve
Tristin 3'5' dimetil eter	Lif, etli meyve
(epi)gallokateşin + 4 gallik asit ünitesi	Lif
Hekzoz + 2 veya 3 veya 4 veya 5 gallik asit ünitesi	Lif
Pentozlar + 2 gallik asit ünitesi	Lif
Prodelfinidindimer ve trimer	Lif

2.3. *C. siliqua*'nın Kullanım Alanları

Avrupa ve Türkiye'nin Akdeniz bölgelerinde yaşayan insanlar için keçiboynuzunun hem büyük mağazalarda hem de yerel piyasalarda satılan meyveleri ve ürünleri, diyetlerine güçlü katkıda bulunan ve içeriği dolayısıyla çok çeşitli faydaları olan bir gıdadır. Ülkemizde keçiboynuzu; pekmez ve meyve olarak tüketildiği kadar yaygın olarak besleyici özellikleri ve yüksek enerji değerinden dolayı kullanılmaktadır. Keçiboynuzu, gıda sanayi, kozmetik sanayi, ilaç sanayi, sigara sanayi ve diğer birçok alanda kullanımı olan bir bitkidir [4, 39].

2.3.1. Gıda endüstrisinde kullanımı

Keçiboynuzu meyvesinden elde edilen pekmez, yüksek doğal şeker içeriğinden dolayı dondurma veya keklerde doğal bir tatlandırıcı ve renklendirici olarak kullanılabilir [40, 41].

Keçiboynuzu ununun ticari olarak üretimi ve bunun üzerine yapılan çalışmalar, faydalarının gün geçtikçe ortaya çıkmasıyla artmaktadır. Düşük yağ, düşük kalori, yüksek lif içeriğinin yanı sıra az miktardaki kafein içeriği sebebiyle çekirdeklerinden ayrılmış keçiboynuzu meyvelerinden öğütülerek elde edilen keçiboynuzu unu, kakao yerine tercih edilmektedir. Koku ve tadı da son derece iyi tolere edilebilir ölçüdedir [4, 42].

Günümüzde keçiboynuzu tohumları, gıda müstahzarlarında koyulaştırma ajanı olarak kullanılan keçiboynuzu zamkını (CBG) elde etmek için yaygın olarak değerlendirilmektedir. Özellikle gıda endüstrisi için kullanılan keçiboynuzu zamkı, galaktomannan yapısında bir polisakkarittir. Gıda endüstrisinde E410 kodu ile koyulaştırıcı, dengeleyici, emülgatör ve jelleştirici olarak kullanılır. Keçiboynuzu çekirdeklerinin endospermelerinden elde edilen bu zamksı madde, başta dondurma olmak üzere yoğurt, puding, eritme ve krem peyniri, su bazlı jöleler, şekerlemeler, balık ürünleri, içecekler, ketçap, mayonez, salça, unlu mamüller ve dondurulmuş gıda gibi birçok ürünün en önemli bileşenlerinden biridir [31, 39, 43].

Pekmez, Türkiye'deki geleneksel bir gıda ürünüdür. Üzüm, dut, kayısı ve keçiboynuzu gibi şeker açısından zengin meyvelerden elde edilir. Bu meyvelerin suyu, %70-80 çözünebilir kuru madde içeriğine kadar konsantre edilir. Pekmez, karbonhidratlar, mineraller, organik asitler, proteinler, flavonoidler ve fenolik bileşikler içerir ve bu sebeple beslenmede çok yararlı bir üründür. Şu an Harnup pekmezi olarak da bilinen keçiboynuzu pekmezinin son yıllarda tüketimi daha da çok yaygınlaşmıştır [44].

Keçiboynuzu meyveleri, gıda endüstrisinde sakız, şeker ve alkol gibi birçok ürünün kaynağı olarak da kullanılmaktadır [39].

Ayrıca, Çölyak hastalarının glutensiz diyet uygulama aşamasında da diğer unlarla birlikte keçiboynuzu unu özellikle önerilmektedir [45].

2.3.2. Kozmetik endüstrisinde kullanımı

Farklı fizikokimyasal özelliklere sahip olan CBG, birçok uygulamada kullanılan çok yönlü bir ham maddedir. Emülsiyonların mükemmel sağlamaştırıcı ve stabilize edici maddelerindedir. Toksik olmadığından kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır [2]. CBG

cilt bakım kremlerinde, emülsiyon dengeleyici ve formülün viskozitesini kontrol etmek amacı ile ilave edilmektedir [2].

2.3.3. İlaç endüstrisinde kullanımı

Gıda endüstrisindeki kullanımının yanında, keçiboynuzunun mide üzerindeki olumlu etkileri de düşünüldüğünde keçiboynuzu zamkı ilaç endüstrisinde de kullanılmaktadır. İlaç endüstrisinde tek başına veya diğer taşıyıcı moleküller ile kombine olarak ilaçların kontrollü salınımı için bir taşıyıcı ajan olarak kullanılmaktadır [46].

Keçiboynuzunun meyve kabukları yüksek karbonhidrat içerdiğinden dolayı şurup üretimi için de kullanılabilir [18]. Keçiboynuzundan, D-pinitol ekstre edilerek bu maddeyi içeren çeşitli gıda takviyeleri ve ilaçlar üretilmektedir [47].

2.3.4. Sigara endüstrisinde kullanımı

Keçiboynuzu pekmezi ve zamkının tatlandırıcı bir madde olarak kullanıldığı bilinmektedir. Ticari sigaralarda duman tadını zenginleştiren pekmez veya sakız ya filtreye ya da tütüne uygulanır. Bir sigarada toplam tütün ağırlığının %0,2'si kadar kullanılabilir [48].

2.3.5. Diğer kullanım alanları

Keçiboynuzunun işlenmesi ile elde edilen her türlü artık, tarımda küspe olarak kullanılmaktadır. Keçiboynuzu pekmezi potansiyel olarak organik gübre şeklinde kullanıma uygun olduğu bilimsel çalışmalarla ispatlanmıştır. Bu pekmezin toprağı besleyerek ürün kalitesini artıran besleyici özelliklere sahip olduğu görülmüştür [49]. Ayrıca, Keçiboynuzu meyvesi ve odunlu kısımları, tekstil sanayinde ve odun kaynağı olarak da kullanılabilir [2].

2.4. Keçiboynuzu Pekmezi

Literatürde Keçiboynuzu pekmezi olarak; Carobmolases, Carobextract, Harnup özü, Harnup pekmezi, Keçiboynuzu özü, Keçiboynuzu ekstresi isimleriyle de karşılaşılabilmektedir [20].

Türkiye’de Keçiboynuzu pekmezi, *C. siliqua* meyvelerinden elde edilen ve insanların beslenmesi amacıyla uzun yıllardır kullanılan geleneksel bir üründür. Keçiboynuzunun olgun ve kahverengi meyveleri yıkanıp, parçalanıp, suyla yoğun bir kıvama gelene kadar kaynatılır ve bu şekilde pekmez elde edilir. Pekmez, yüksek oranda şeker içeren bir ürün olması sebebiyle depolama süresince enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarına maruz kalmakta, özellikle indirgen şekerler ile azotlu maddeler arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonu sonucu ürünün besin değeri, tat, koku ve renginde olumsuz değişimler meydana gelmektedir. Ayrıca bu reaksiyon sonucu; önemli bir kalite kriteri olarak değerlendirilen 5-hidroksimetil furfural (5-HMF) oluşumu söz konusu olmaktadır [50]. Keçiboynuzu pekmezinin de kalitesini 5-HMF içeriği belirler. İnsan metabolizması üzerine mutajenik etkilere sebep olabilmesi nedeniyle pekmezlerde bu bileşiğin konsantrasyonunun yüksek olması istenmemektedir. Yapılan bir çalışmada, Keçiboynuzu pekmezinin 5-HMF konsantrasyonunun, yüksek şeker içeriğine (62,80 g/100 g) rağmen Türk Gıda Kodeksinde belirlenen değerden daha düşük bir değer olan 12,25 mg/kg olduğu rapor edilmiştir. 5-HMF miktarındaki bu düşüklüğe pekmezin düşük asit içeriğinin neden olduğu belirtilmiştir [1,51].

2.4.1. Keçiboynuzu pekmezinin özellikleri

Türkiye’de Keçiboynuzu özü veya pekmezi içeren ve satışı yapılan yaklaşık 40’ın üzerinde ürün bulunmaktadır. Kahverengi, viskoz yapıda, yüksek şeker içerikli, keçiboynuzu meyvesinin karakteristik kokusu ve tadına sahiptir. Keçiboynuzu pekmezi, soğuk infüzyon yöntemiyle; buharlı vakum altında üretilir. İçerdiği yüksek şeker oranına rağmen glisemik indeksi düşük olan bu ürünün geleneksel birçok kullanımı olduğu bilinmektedir. Oda sıcaklığında stabilitesini korur [38].

2.4.2. Keçiboynuzu pekmezinin kimyasal içeriği

Pekmezin, suda çözünür kuru madde miktarı ortalama %71,2-72,3 ve toplam kuru madde miktarı ise ortalama %74,48-75,75 arasında değişiklik göstermektedir. pH değeri 5,31-4,0, titrasyon asitliği değeri ise %0,55-0,66 civarındadır [52].

Keçiboynuzu pekmezi ile ilgili yapılmış çalışmalara bakıldığında; total fenolik madde miktarı 1,62 mg gallik asit eşdeğeri/g kuru ağırlık, 5-HMF 1,53 mg/kg, total şeker 62,80

g/100 g, invert şeker 17,05 g/100 g ve sakkaroz miktarı 45 g/100 g olarak rapor edilmiştir [1].

Keçiboynuzu pekmezi içerdiği zengin şeker içeriğinin yanında potasyum (1057, 3 mg/100 g), fosfor (77,8 mg/100 g), magnezyum (55,6 mg/100 g) ve kalsiyum (314,9 mg/100 g) gibi mineraller ve A, B, C ve D vitaminlerini de içermektedir [37, 52]. Keçiboynuzu pekmezinde alkaloid, flavanoid, tanen, ve saponinler gibi sekonder metabolitler de bulunmaktadır [53, 54].

Türkiye’de Malatya yöresinde elde edilmiş Keçiboynuzu pekmez örneklerinde yapılan analizlerde; sodyum (1775 ± 247 mg/kg), potasyum (1039 ± 126 mg/kg), kalsiyum (157 ± 14 mg/kg), demir ($0,7 \pm 0,1$ mg/kg), mangan ($0,20 \pm 0,01$ mg/kg), nikel ($1,60 \pm 0,07$ mg/kg), çinko ($2,3 \pm 0,9$ mg/kg), bakır ($4,05 \pm 0,90$ mg/kg) ve fosfor ($48,0 \pm 7,0$ mg/kg) mineralleri tespit edilmiştir. Ayrıca bu pekmezin total fenol içeriği 200 mg polifenol/g örnek olarak hesaplanmıştır [55].

Çizelge 2.3. Tunus'ta üretilen ev tipi pekmez (ETP), ticari tip pekmez (TTP) ve keçiboynuzu meyvelerinin (KM) kimyasal bileşimi [56]

Bileşik	%		
	ETP	TTP	KM
Yağ asitleri	34,79	1,48	65,51
Oleik asit	2,65	-	26,54
Palmitik asit	16,08	1,48	23,67
Linoleik asit	0,93	-	5,34
Stearik asit	6,56	-	4,48
Kaproik asit	8,57	-	2,9
Palmitoleik asit	-	-	1,03
Miristik asit	-	-	0,73
Margarik asit	-	-	0,38
Kaprik asit	-	-	0,28
Pentadekanoik asit	-	-	0,16
Hidrokarbonlar	0,00	0,00	1,94
Tetrakosan	-	-	0,49
1,13-Tetradekadien	-	-	0,46
Trikosan	-	-	0,33
Pentakosan	-	-	0,31
Eikosan	-	-	0,20
Heptakosan	-	-	0,15
Terpenler	23,54	28,36	3,88
Mentol	5,67	14,14	2,37
Karvon	12,62	14,22	1,37
Skualen	-	-	0,14
Limonen	3,71	-	-
Menton	1,54	-	-
Siloksanlar	4,00	22,37	5,02
Tetradekametil-sikloheptasiloksan	1,15	4,61	3,08
Eikosametil-siklodekasiloksan	1,32	7,64	1,76
Hekzadekametil-heptasiloksan	-	0,90	0,18
Hekzadekametil-siklooktasiloksan	1,53	9,22	-
Karboksilik asitler	3,80	0,00	0,00
Fitalik asit	1,96	-	-
8-Oktadekenoik asit	1,84	-	-
Diğerleri	2,66	8,30	5,06
Sitosterol	-	-	1,49
4-(3,4-dimetoksibenziliden)-1-(4-nitrofenil)-3-fenil-2-pirazolin-5-on	2,66	5,86	3,57
Demir, monokarbonil-(1,3-butadien-1,4-dikarbonik asit, dietilester) a,a'-dipiridil	-	2,44	-

2.4.3. Keçiboynuzu pekmezi üretimi

Keçiboynuzu İnfüzyonu; Kahverengi olgunlaşmış keçiboynuzu meyvelerinin yıkanıp kurutularak, parçalanıp, öğütülmesi sonucunda haşlayarak demlemeden oluşan, sonrasında buharlı ve vakumlu kazanlarda yoğunlaştırma işlemi ile yapılan, çok özel bir üründür. 60°C'yi geçmeyen buharlı ve vakumlu ortamdaki düşük ısı ile üretim ürünün içindeki

vitamin ve mineral değerlerini koruyarak uçucu bileşikleri içinde tutmasını sağlar. Keçiboynuzu pekmezinin geleneksel üretimi esas olarak ekstraksiyon, arıtma ve yoğunlaştırma aşamalarından oluşur.

Ticari üretiminde ise, elek çapları 5-7 mm olan eleklerden geçirilen parçalanmış Keçiboynuzu meyve parçaları 85°C'de sıcak suyla ekstraksiyona tabi tutulur. Keçiboynuzu meyveleri daha sonra yaklaşık 3 saat boyunca ters akış yöntemi ile ekstre edilir. Ekstraksiyon işleminden sonra, ekstrakt perlit veya bentonit gibi filtreler yardımı ile süzülerek berraklaştırılır ve 50-60°C arasındaki sıcaklıklarda bir vakumlu buharlaştırıcı kullanılarak konsantre edilir. Berrak pekmez, 65-70°C'ye kadar çıkarılan sıcaklıklarda iyice yoğunlaştırılır. Mikrobiyal kontaminasyonu ve bozulmayı önlemek için 85°C'de pastörize edilir. Keçiboynuzu pekmez hermetik olarak cam kavanozlara doldurulur [1, 44].

2.4.4. Keçiboynuzu pekmezinin stabilite ve depolanma koşulları

Serin, kuru ortamda; ışıktan korunarak renkli cam şişelerde, şişe kapağını açmadan raf ömrüne kadar saklanabilir. Şişe kapağını açtıktan sonra en geç 2 ay içinde tüketilmelidir [1, 44].

2.5. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Doğal ürünler, tarih boyunca, kanser ve şeker hastalığı da dahil olmak üzere çok çeşitli hastalıklara karşı faydalı birçok sekonder metabolit grubunu içermişlerdir. Bilimsel gelişmeler ışığında doğal kaynaklardan elde edilen ürünlerin etkinliği ve güvenilirliği gün geçtikçe daha da artmaktadır. Keçiboynuzunun insan sağlığına ilişkin kimyasal bileşimi ve ilişkili biyolojik etkisi hakkında bilgiler derlenerek özetlenmiştir. Bununla birlikte *in vitro*, *in vivo* ve klinik çalışmaların sonucuna da yer verilmiştir.

Keçiboynuzu serbest radikalleri bağlayarak antioksidan olarak, antimikrobiyal, bağışıklık sistemini güçlendirici, sindirim sistemi bozukluklarında (diyare-kabızlık), gastritte, karaciğer ve böbrek koruyucu olarak, üst solunum yolları enfeksiyonunda, probiyotik üretiminde besi yeri olarak, kardiyovasküler sistem hastalığı riski olan hastalarda düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düşürücü olarak, diş ve diş eti rahatsızlıklarında, şeker

hastalığında, antikanserojenik olarak, kas gelişiminde ve yüksek enerji potansiyeli nedeniyle doğal uyarıcı olarak kullanılabilirdiği bu bölümde özetlenmiştir.

2.5.1. *İn vitro* çalışmalar

Antimikrobiyal aktivite

Yapılan bir çalışmada, Keçiboynuzu yapraklarının *n*-hekzan, metanol, etanol, etil asetat ve sulu ekstralarının disk difüzyon yöntemi ile *Escherichia coli* ATCC 29998, *Escherichia coli* ATCC25922, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Salmonella thyphimurium* CCM 5445, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve mantar olarak *Candida albicans* ATCC 10239 mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Antimikrobiyal aktiviteleri bilinen seftazidim ve nistatin maddeleri standart olarak, DMSO ise kontrol amacı ile kullanılmıştır. Etanol ile hazırlanan ekstre 10 bakteriden 5'ine karşı aktif bulunmuştur. *Escherichia coli* ATCC 29998, *Escherichia coli* ATCC 25922 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 veya *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2785'ne karşı antimikrobiyal etkinliği bulunamamıştır. Etil asetat ve *n*-hekzan ekstralarının, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'e karşı seftazidimden daha aktif olduğu ancak metanol, etanol ve sulu ekstralarının *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'e karşı hiç antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Tüm ekstralar *Escherichia coli* ATCC 25922'e karşı etki gösterirken metanol ekstresi *Escherichia coli* ATCC 29998'e karşı etkili bulunmuştur. Seftadizin, *C. albicans* dışındaki tüm mikroorganizmalara karşı aktifken, nistatin *C. Albicans* ATCC 10239'a karşı antifungal aktivite göstermiştir. Etanol, metanol ve sulu ekstralar; *C. Albicans* ATCC 10239, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228'e karşı antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir [57].

Yapılan bir çalışmada, Keçiboynuzunun yapraklı gövde ve çiçeklerinin metanol ve sulu ekstralarının, metanol ekstresinden elde edilen petrol eteri fraksiyonu, kloroform fraksiyonu, metanol fraksiyonu ve %50 metanol fraksiyonlarının agar dilüsyon yöntemi ile *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkileri ampisilin, gentamisin, amikasin,

klindamisin antibiyotikleri ile mukayese edilerek test edilmiştir. Ekstre, fraksiyon ve antibiyotiklerin MİK değerlerinin 0,0625 µg/ml ve 516 µg/ml arasında değiştiği tespit edilmiştir. Petrol eteri fraksiyonu *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'ye (15,29 13,45 µg/ml, sırasıyla), çiçeklerden hazırlanmış olan metanol ekstresi ise *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı (24,745 µg/ml) etkili bulunmuştur. Bitkinin içeriğindeki naringin, apigenin ve rutin, antimikrobiyal etkiden sorumlu olduğu bilinen flavonoidlerdir [58].

Antioksidan aktivite

Bu bölümde Keçiboynuzunda bulunan polifenolik antioksidanların aktivitelerine ait literatür çalışmalarını derledik.

Antioksidan maddeler; vücuttaki tüm hücreleri etkileyerek, kardiyovasküler ve pulmoner sistem hastalıkları, kanser, katarakt, yaşlanma gibi süreç ve hastalıklarda rolü olduğu bilinen serbest radikallerin, sağlık üzerindeki zararlı etkilerini azaltan maddelerdir. Bu etkilerini; serbest radikal reaksiyonlarını durdurarak, oksijeni ve metalleri bağlayarak oksidasyonun sebep olduğu zararları engellemek, LDL oksidasyonunu önlemek yoluyla gösterebilirler [41, 47].

Yapılan bir çalışmada Keçiboynuzu pekmezi, gelişmiş işleme özelliklerine sahip bir toz elde etmek üzere maltodekstrin ilavesiyle püskürtülerek kurutulmuştur. Pekmez ve kurutulmuş tozun antioksidan aktivitesi, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Keçiboynuzu pekmezinin besin değerini kaybetmemesi, raf ömrü ve stabilite gibi özelliklerini iyileştirmek için yapılan bu kurutma işlemi sonucunda elde edilen örneklerin, total fenol ve antioksidan aktivitelerinin işlem görmemiş ham Keçiboynuzu pekmezine göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir [41].

Yapılan bir çalışmada, Keçiboynuzu kuru meyveleri soğuk su ile iki kez ardından sıcak su ile ekstre edilip şeker içeriğinden arındırılan ham polifenolik fraksiyonun antioksidan aktivitesi, DPPH radikali süpürücü aktivite, β-karoten ağartma yöntemleri kullanılarak antioksidan aktivitesi olduğu bilinen gallik asit, kateşin, proantosiyanidin, kersetin, epigallokateşin, epikateşingibi maddelerin antioksidan aktivitesi ile kıyaslanmıştır. β-karoten ağartma yöntemine göre elde edilen ekstrenin 10 µg/ml konsantrasyonda epikateşingallat ve kersetin (10 µg/ml) kadar etkili olduğu görülmüştür. DPPH radikali

süpürücü aktivite sonuçları ise ekstrenin 25 µg/ml konsantrasyonda, prosiyanidin B1 ve epikateşin kadar etkili olduğunu göstermiştir [52].

Yapılan bir çalışmada, Keçiboynuzu yapraklarının (dişi, erkek, çift eşeyli ağaçlar) etil asetat ve metanol ekstraları DPPH yöntemi kullanılarak antioksidan etkileri yönünden değerlendirilmiştir. Erkek bitkiden toplanan yaprakların hem en yüksek antioksidan aktiviteye hem de total fenol içeriğine sahip olduğu görülmüştür [53, 54].

Yapılan bir çalışmada, Keçiboynuzu yapraklarından hazırlanan sulu ekstrenin ve total oligomer flavonoid zengin fraksiyonun antioksidan aktivitesi mikrozomal lipid peroksidasyon inhibisyonu ve hücrel antioksidan aktivite yöntemleri ile incelenmiştir. Her iki örnekte L1210 hücrelerinde lipid peroksidasyon üzerinde herhangi bir etki göstermezken; H₂O₂ nedenli lipid peroksidasyonda koruyucu etkiler oluşturduğu tespit edilmiştir. Diğer yandan yine her iki örnek hücrel antioksidan aktivite yönteminde doz bağımlı olarak intraselüler reaktif oksijen türlerinin birikiminin azaltılması üzerinde etkili oldukları görülmüştür [59].

Başka bir çalışmada, tohumları çıkartılmış ve toz edilmiş keçiboynuzu meyvelerinden hazırlanan ekstraların (etil asetat, metanol, %80 metanol, %80 aseton, %80 asetonitril) antiradikal aktiviteleri ve demir indirgeme gücü etkileri antioksidan aktivitesi iyi bilinen 5 adet antioksidan etkili (gallik, kafeik, tannik asit kateşin ve kersetin) bileşik ile karşılaştırılmıştır. %80'lik aseton ile hazırlanan ekstrenin; kırmızı şarap ve tannik asitten daha güçlü, kateşin ile karşılaştırılabilir, gallik, kafeik asit ve kersetinden daha az antiradikal aktivite gösterdiği görülmüştür. Aynı ekstre demir indirgeme gücü yönünden değerlendirildiğinde; kırmızı şarap ve kateşinden 4 kez daha etkili, gallik asit ve kafeik asit kadar da etkili olduğu tespit edilmiştir [60].

2.5.2. *In vivo* çalışmalar

Sperm kalitesi üzerine etki

Yapılan bir çalışmada, 64 erişkin fare üzerinde kuru Keçiboynuzu meyve tozundan hazırlanmış olan sulu ekstrenin sperm kalitesi araştırılmıştır. Hayvanlar rastgele 8 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna herhangi bir şey verilmemiştir. Busulfan grubuna tek bir doz

intraperitoneal (ip.) olarak 10 mg/kg busulfan enjekte edilmiştir. Test gruplarına 800, 400, 200, 100 and 50 mg/kg dozlarda ekstre, 10 mg/kg busulfan ile birlikte 35 gün (farelerdeki spermatogenez sebebiyle) boyunca uygulanmıştır. Farelerden alınan kan örneklerinde, Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) testi ile uygulanarak testosteron seviyeleri ölçülmüştür. Ayrıca malondialdehit ve süperoksitdismutaz enzimi seviyeleri de değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, 800 mg/kg keçiboynuzu ekstresinin kısır farelerde hareket edebilen sperm yüzdesi ve spermilerin hareket etme şekli (sperm motilitesi) parametreleri ve diğer kan değerleri üzerinde en etkili ekstre olduğu görülmüştür [61].

Antidiyabetik aktivite

Yapılan bir çalışmada, D-pinitolün diyabetik hastalarda etkisi fareler üzerinde araştırılmıştır. Kullanılan fareler gruplandırılmış, içlerinde obezite ve diyabetik olanlarda D-pinitolün verildiği farelerde kan şekeri seviyelerinde iyileşme gözlemlenmiştir. Araştırma sonucunda, farelerde D-pinitol akut ve kronik olarak insülin gibi davrandığı ve plazmadaki glikoz miktarını düşürdüğü görülmüştür [4, 62].

Kemoprotektif aktivite

Harnup özünün bir kanser ilacı olan siklofosfodamid'e karşı kanserli fareler üzerinde yapılan çalışmalar neticesinde, bağışıklık sisteminin en hassas bileşenleri olan dalak ve lenfatik dokulardaki olumsuz CYP etkisine karşı etkinliği değerlendirilmiş olup, tüm Keçiboynuzu ile tedavi edilen gruplarda restore edilen hematolojik ölçümlerde anlamlı düşüğe neden olduğu doğrulanmıştır. Bu çalışma neticesinde kanser ilaçlarının advers etkisini azaltıcı özelliği gösterilmiştir [63].

Hepatoprotektif aktivite

Yapılan bir çalışmada, Keçiboynuzunun meyvelerinin etli kısımları (%90) ve tohumlarının (%10) karışımları sulu ekstresinin, sıçanlarda etanol nedenli oksidatif strese karşı hepatoprotektif etkisini değerlendirmişlerdir. Keçiboynuzu, kontrol, etanol ve etanol+ Keçiboynuzu olarak dört grup oluşturulmuştur. İp. olarak uygulanan 6 g/kg dozdaki etanol, karaciğerde aspartatamino transferaz ve alanin transferaz artışına sebep olarak hepatoksisiteye neden olmuştur. Ayrıca, karaciğer ve plazma hidrojen peroksit ve serbest

demir seviyelerinin arttığı da tespit edilmiştir. Kontrol ve Keçiboynuzu grubuna etanol verilmemiştir. Etanol grubu ve etanol+Keçiboynuzu grubuna 6 g/kg etanol ve 600 mg/kg Keçiboynuzu meyvelerinin sulu ekstresi ip. yoldan uygulanmıştır. Keçiboynuzu sulu ekstresi 7 gün boyunca uygulanmış, sonrasında yapılan biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirmeler sonucunda etanol-nedenli oksidatif strese etanolün neden olduğu olumsuz tabloda iyileşmeler olduğu rapor edilmiştir [64].

Nefroprotektif aktivite

Yapılan bir çalışmada, farelerde sisplatin nedenli (10 mg/kg, ip.) nefrotoksisite modelinde, Keçiboynuzu meyve ve yapraklarından %70'lik etanol ile perkolasyon yöntemi ile hazırlanmış ekstraların (100 mg/kg ve 200 mg/kg, oral) nefroprotektif etkileri değerlendirilmiştir. Sentetik bir antikanser ilaç olan sisplatin, oluşumuna neden olduğu reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller ile nefrotoksisiteye sebep olur. Sonuçlar, sisplatin uygulamasının tüm farelerde anormal böbrek fonksiyonlarına neden olduğunu göstermiştir. Serum üre ve kreatinin seviyeleri, sisplatin verilen kontrol grubunda normal gruba göre önemli miktarda yükseliş göstermiştir. Kontrol grubuna göre Keçiboynuzu meyvelerinin sulu etanollü ekstresinin (200 mg/kg) uygulandığı grup hayvanlarında, serum kreatinin ve üre seviyelerinin sırasıyla %57,5 ve %51,5 oranında düştüğü tespit edilmiştir. Ayrıca, sisplatinin neden olduğu süperoksitdismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi böbrek antioksidan enzim seviyelerindeki azalma, Keçiboynuzu meyve ve yapraklarının sulu etanollü ekstralarının test edilen tüm dozları (100 ve 200 mg/kg) ile önemli ölçüde inhibe edilmiştir. Keçiboynuzunun hem meyve hem yaprak sulu etanol ekstraları (100 ve 200 mg/kg) lizozomal enzimlerin aktivitesini de sağlıklı grup seviyesine düşürmüştür. Sonuçlar, Keçiboynuzu ekstralarının böbrekleri oksidatif hasardan koruyarak nefroprotektif etkiler gösterdiğini kanıtlamıştır [65].

2.5.3. Klinik çalışmalar

Hiperlipidemide kullanımı

Keçiboynuzundan elde edilmiş liften zengin diyetle beslenmenin, 22-66 yaş aralığındaki hiperlipidemi hastalarında serum lipit seviyeleri üzerindeki etkisinin araştırıldığı plasebo kontrollü bir klinik çalışmada, 4 hafta boyunca bir gruba sadece günlük 8 g Exxenterol®

(%84 çözünmeyen polifenol içeren keçiyoynuzu lifi) verilmiştir. Plasebo grubu 8 g maltodekstroz kullanmıştır. Exxenterol® grubundaki hastaların serum lipid düzeyindeki düşüş 257,9 mg/dl'den 211,4 mg/dl'ye (%17,8); serum LDL seviyesi 207,9 mg/dl'den 159,7 mg/dl (%22,5) seviyelerine düşmüştür. Plasebodaki düşüş Exxenterol® kullanan hastalara göre çok daha düşük bulunmuştur. Keçiyoynuzu diyet lifinin kolesterol ve kan lipid seviyelerini düşürdüğü kardiyovasküler ve damar sağlığı açısından önemli bir besin olduğu ortaya konmuştur [66].

Türkiye'de yapılan bir çalışmada, erişkinlerde Keçiyoynuzu ununun kan lipid profiline etkisini belirlemek amacıyla; sigara içmeyen, belirli gıda takviyelerinden uzak, gebe olmayan, bir yıldır ilaç kullanmayan hastalardan, trigliserit düzeyi 360 mg/dl'den ve/veya toplam kolesterol düzeyi 200 mg/dl'den, beden kitle indeksi (BKİ) ise 25 kg/m²'den yüksek 20 gönüllü erişkin (35-60 yaş, 10 erkek ve 10 kadın) belirlenmiştir. Kişilerin 2 ay süre ile her gün 10 g Keçiyoynuzu unu ile beslenmeleri sağlanmıştır. Araştırmanın sonucu hafta içi ve hafta sonu beslenme kayıtları tutularak, 1. ve 2. aylarda kan sonuçları ölçülerek değerlendirilmiştir. Keçiyoynuzu unu ile beslenmeye başladıktan sonra bireylerin toplam kolesterol düzeyinde 1. ayda %7,89±13,03, 2. ayda ise %13,72±13,36 azalma görülmüştür. Toplam lipid düzeyinde ise başlangıca göre %14,89±16,09 düşüş saptanmıştır. Erkeklerdeki trigliserit değeri düşerken kadınlarda trigliserit seviyelerinde pek bir değişim gözlemlenmemiştir. LDL kolesterol seviyesinde önemli bir düşüş (her iki cinsiyet için: 1. ay: %8,90±23,25; 2. ay: 13,09±14,77; Erkek:%13,27±17,34; Kadın:%12,90±12,63) belirlenmiştir. Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)/LDL seviyelerinin oranlarında önemli bir değişim gözlemlenmemiştir. Sonuç olarak Keçiyoynuzu unu kan lipid seviyelerinin düşürmede etkin bir yöntem olarak kayda geçirilmiştir [67].

Gastro-özefajial reflü üzerine etkisi

Gastro özefajial refü üzerine Keçiyoynuzu zambının etkisinin değerlendirilmesi için 1 ve 6 aylık 56 bebek üzerinde yapılan bir çalışmada, bebekler üç gruba ayrılmıştır. A grubu; 0,33 g/100 ml soğukta çözünen Keçiyoynuzu zambını galaktomannanları içeren mama, B grubu; 0,45 g/100 ml soğukta çözünen Keçiyoynuzu zambını galaktomannanları içeren mama, C grubu: 0,45 g/100 ml sıcakta çözünen Keçiyoynuzu zambını galaktomannanları içeren mama kullanmışlardır. Değerlendirmeler, reflü nedenli özefajial asit maruziyetini azaltma ve

günlük reflü sayısındaki değişimler üzerinden yapılmıştır. Özellikle A grubu bebeklerde bu parametrelerde olumlu değişimler tespit edilmiştir [68].

Randomize klinik bir çalışmada, ortalama bir buçuk aylık erkek bebeklere 8 hafta süresince, Keçiboynuzu zankı içeren mama (tedavi grubu: 82 bebek, Ticari isim: Humana AR 1) ve keçiboynuzu içermeyen mama (kontrol grubu: 84 bebek, Ticari isim: Humana Plus) verilmiştir. Sonuçlar, tüm bebeklerde hem dördüncü hem de sekizinci hafta sonunda kusma sayısında önemli bir düşüş olduğunu göstermiştir. Ayrıca, sekiz haftalık tedaviden sonra, bebeklerin yaklaşık üçte ikisi ya asemptomatikti ya da semptomları düzelmişti. Asemptomatik bebek sayısı, tedavi grubunda (%34) kontrol grubuna (%14) kıyasla daha fazla bulunmuştur. Bununla birlikte, tedavi grubundaki 82 bebekten 14'ünde, ishal ataklarının artması nedeniyle ilk 2 hafta içinde Keçiboynuzu zankı içeren mamanın verilmesi durdurulmuştur. 14 bebeğin sonuçların analizinin dışında tutulması durumunda, Keçiboynuzu zankı içeren mamanın diğer mamaya göre daha etkili olduğu söylenmiştir. Çalışma, Keçiboynuzu zankı içeren formülün kullanılmasının asemptomatik bebek sayısını artırma kabiliyetine sahip olduğu sonucuna varmıştır, ancak aynı zamanda diyare yol açabileceği, böylece gastro özefajial problemin çözömlenmesinde bir yöntem olarak potansiyel faydasını azalttığı sonucuna varılmıştır [69].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Ankara'daki eczanelerden, aktarlardan ve kozmetik satışı yapılan yerlerden 2019 yılında satın alınmış olan 10 Keçiboynuzu özü üzerinde çalışmalar tamamlanmıştır. Çalışılan örneklerin kodları sırasıyla verilmiştir;

1. CSAS
2. CSMİ
3. CSHÜ
4. CSDOL
5. CSDOĞ
6. CSBO
7. CSKE
8. CSCA
9. CSDR
10. CSOR



Resim 3.1. Numune olarak satın alınan Keçiboynuzu özleri



Resim 3.2. Numune olarak satın alınan Keçiboynuzu özleri



Resim 3.3. Numune olarak satın alınan Keçiboynuzu özleri

3.2. Fitokimyasal Analiz Yöntemleri

3.2.1. Total fenol miktarı

Numuneler 1 mg/ml konsantrasyonlarda çalışıldı. ELISA plaklarındaki kuyucuklara 100 µl %10'luk Folin Ciocalteu çözeltisi ve 20 µl numune çözeltisi Eppendorff pipeti ile konuldu ve 5 dk. oda ısısında inkübe edildi. Süre sonunda %7,5'luk sodyum karbonat çözeltisi ilave edildi ve 30 dk. oda sıcaklığında, karanlıkta inkübe edildi. Ardından oluşan renk şiddeti, 735 nm'de ELISA cihazında (Versa Max ELISA Microplate Reader) ölçüldü. Her bir örnek için 3 kez ölçüm yapılmıştır ve sonuçlar mg gallik asit (GAE) eşdeğeri/g ekstre olarak ifade edilmiştir. Standart gallik asitten (Sigma-Aldrich, CAS Number: 5995-86-8) 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,05 mg/ml, 0,01 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanmış çözeltilerden bir kalibrasyon grafiği elde edilmiştir.

Kalibrasyon grafiği: $y=4,0103x-0,0413$, $R^2=0,9989$.

3.2.2. YPSK Yöntemi ile fenolik maddelerin analizleri

Epikateşin ve Kateşin Yapısındaki Maddelerin Analizi

Örnek hazırlanması

Numuneler, 4'te 1 oranında %25'lik asetonitril (HPLC grade) çözeltisi ile seyreltilmiş ve 0,42 µm por büyüklüğündeki filtrelerden süzülerek viallere aktarılmıştır.

Analiz Şartları

Analizi yapılan maddeler: Epikateşin (Sigma Aldrich, 68097), kateşin (Sigma Aldrich, C1251)

Cihaz: HP Agilent 1260 series LC Sistemi

Pompa: HP Agilent 1260 series 4 (quaternary pump) LC pompa

Kolon: ACE 5 C18 (5 µm, 150 mm x 4,6 mm)

Kolon Sıcaklığı: 25°C

Dedektör: UV dedektör (278 nm)

Enjeksiyon Ünitesi: HP Agilent 1260 series Autosampler

Akış Hızı: 0,8 ml/dk

Enjeksiyon Miktarı: 20 µl

Analiz Süresi: 24 dk. (2 dk. içinde başlangıç koşullarına geri dönmüştür).

Çizelge 3.1. YPSK tekniği ile kateşin grubu maddelerin analizi için kullanılan mobil faz

Zaman (dk.)	% A Asetonitril: su: formik asit (80:20:0,1)	% B Su:formik asit (100:0,1)
0	5	95
5	15	85
18	50	50
21	100	0
24	100	0

Fenolik asit, Umbelliferon ve Flavonoit yapısındaki maddelerin analizi

Örnek hazırlanması

Numuneler, 4'te 1 oranında %25'lik asetonitril (HPLC grade) çözeltisi ile seyreltilmiş ve 0,42 µm por büyüklüğündeki filtrelerden süzülerek viallere aktarılmıştır.

Analiz Şartları

Analizi yapılan maddeler: Ferulik asit (Sigma Aldrich, 1270311), gallik asit (Sigma Aldrich, G7384), 2-hidroksisinnamik asit (Sigma Aldrich, H22809), kafeik asit (Sigma Aldrich, C0625), klorojenik asit (Sigma Aldrich, C3878), *p*-kumarik asit (Sigma Aldrich, C9008), prokateşik asit (Sigma Aldrich, 03930590), rutin (Sigma Aldrich, PHL89270), sinapikasit (Sigma Aldrich, D7927), siringik asit (Sigma Aldrich, S6881), umbelliferon (Sigma Aldrich, 54826), vanilik asit (Sigma Aldrich, 94770)

Cihaz: HP Agilent 1260 series LC Sistemi

Pompa: HP Agilent 1260 series 4 (quaternary pump) LC pompa

Kolon: ACE 5 C18 (5 µm, 150 mm x 4,6 mm)

Kolon Sıcaklığı: 25°C

Dedektör: UV dedektör (320 ve 265nm)

Enjeksiyon Ünitesi: HP Agilent 1260 series Autosampler

Akış Hızı: 0,8 ml/dk

Enjeksiyon Miktarı: 20 µl

Analiz Süresi: 43 dk. (2 dk. içinde başlangıç koşullarına geri dönmüştür).

Çizelge 3.2. YPSK tekniği ile fenolik asit, umbelliferon ve flavonoit yapısındaki maddelerin analizi için kullanılan mobil faz

Zaman (Dk.)	% A Asetonitril: su: formik asit (80:20:0,1)	% B Su: formik asit (100:0,1)
0	5	95
10	15	85
17	15	85
22	20	80
32	30	70
35	100	0
43	100	0

3.3. Aktivite Yöntemleri

3.3.1. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri

Total antioksidan kapasite (Fosfomolibden yöntemi)

Numune çözeltilerinden 100 µl Eppendorff tüplerine koyuldu. Ardından Eppendorff pipeti ile 1 ml molibdat çözeltisi ilave edildi. Vorteksleme işlemi sonrasında 90°C’de 90 dk. inkübe edildi. Süre sonunda tüpler hemen soğutulup, renk şiddeti 695 nm’de ölçüldü. Sonuçlar askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak hesaplanmıştır [70].

ABTS radikali süpürücü aktivite

2,2-Azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit (ABTS) 7 mM konsantrasyonda distile su içerisinde hazırlandı. Potasyum persülfat ilavesi ile final konsantrasyonu 2,45 mM’a getirilerek ABTS katyonu oluşumu sağlandı. Radikal oluşumu için 12-16 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi. Çözeltinin absorbansı $0,70 \pm 0,02$ olacak şekilde etanol ile seyreltildi. 1 ml dilüe ABTS çözeltisi 10 µl örnek çözeltisi ile karıştırıldı. 6 dk. sonra karışımın absorbansı 734 nm’de ölçüldü. Gallik asit referans madde olarak kullanıldı. Deneyler 3 kez tekrarlandı [71]. Kör olarak ketanol kullanıldı.

% inhibisyon aşağıdaki formülle hesaplandı;

% inhibisyon= $[(AC - AS)/AC] \times 100$, Ac: Kör çözeltisinin absorpsiyonu, As: Numune çözeltisinin absorpsiyonu

Metal bağlama kapasitesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan numune çözeltilerinden 96 kuyucuklu ELISA plaklarına 100 µl örnek ve 10 µl 2 Mm FeCl₂ çözeltisi eklendi. 5 dk. oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra 20 µl 5 mM ferrozin (3,2-(piridil)-5,6-bis(4-fenilsülfonik asit)-1,2,4-tirazin) eklenerek tekrar karıştırıldı ve 10 dk sonra oluşan Fe⁺²-ferrozin kompleksinin absorpsiyonu 562 nm'de ölçüldü. Referans olarak kullanılan Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) çözeltisi 1; 0,5; 0,25 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlandı. 10 dk. oda ısısında bekledikten sonra renk şiddeti 562 nm'de 25°C sıcaklığa getirilmiş ELISA cihazında ölçüldü. Deneyler 3 kere tekrarlandı. Örneklerin Fe⁺² ile şelat yapma kapasitesi aşağıdaki denklem ile hesaplandı [70].

% Şelat yapma aktivitesi = $[1 - (\text{örnek absorpsiyonu}/\text{kontrolün absorpsiyonu})] \times 100$

3.3.2. Antimikrobiyal aktivite tayin yöntemi

Araştırmada kullanılan mikroorganizmalar

Gram pozitif bakterilerden; *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), Gram negatif bakterilerden; *Escherichia coli* (RSKK 95085), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 1069), mayalardan: *Candida albicans* (ATCC 10231) ve *Candida krusei* (ATCC 6258) araştırmada kullanılmıştır.

Deneyde kullanılan malzemeler

Steril Kabin (Chemocell LRCCX-UV, Class II)

Ultrasonik Banyo (Kotterman, 3165)

Otoklav (Nüve, OT4060)

Hassas terazi (Shimadzu, AW320)

Su banyosu (Kotterman, 3165)

Pastör fırını (NEL, Heraeus, NR900)

Kurutma fırını (Heraeus, FB420)

Vortex (Firlabo, V3000F)

İnkübatör (Jouan, EB115)

Karbondioksitli inkübatör (Nüve, EC160)

Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (BIOSAN, MSH300)

pH metre (Hanna, HI5522-02)

Derin dondurucu (Uğur, UDD 200 BKYS)

Buzdolabı (İndesit No Frost)

Kullanılan besiyerleri

Araştırmada Saboraud Dextrose Agar (SDA), Saboraud Liquid Medium, RPMI 1640 Medium; Müller Hinton Agar (MHA) ve Müller Hinton Broth (MHB) kullanılmıştır.

Standart antimikrobiyal maddelerin hazırlanması

Referans antimikrobiyaller (Sigma-Aldrich), su (gentamisin, flukonazol), fosfat tamponu (PBS) (ampisilin) ve DMSO (amfoterisin B) ile hazırlanıp denenmiştir. Stok solüsyonlar (128 µg/ml), Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) kriterlerine göre hazırlanmıştır. Hesaplamalar inkübasyon sırasında kuyucuklardaki en yüksek antimikrobiyal standart konsantrasyonu 64 µg/ml olacak şekilde yapılmıştır. Suda çözünen standartlar steril tüplerde steril spatüller ile 12,8'er mg tartılıp 10'ar ml besiyeri ile çözülerek 1280 µg/ml'lik stok çözeltiden 1 ml alınıp besiyeri ile 10 ml'ye tamamlanarak katlı dilüsyon (on katlı dilüsyon) ile çalışma solüsyonları hazırlanmıştır. Bu solüsyonların besiyeriyle çift katlı seri dilüsyonları yapılarak kuyucuklarda çalışma konsantrasyonlarına (0,5–64 µg/ml) ulaşılmıştır. Suda çözünmeyen amfoterisin B ise CLSI M27-A2'ye göre aynı miktarda (12,8 mg) tartıldıktan sonra su yerine 10 ml DMSO'da çözülmüş, ardından DMSO ile çift katlı

seri dilüsyonları hazırlanmıştır (10X). Bu çözeltiler kuyucuklarda besiyeri ile 1:10 oranında seyreltilerek (1X) çalışma konsantrasyonlarına (0,5–64 µg/ml) ulaşılmıştır [72].

Örneklerin hazırlanması

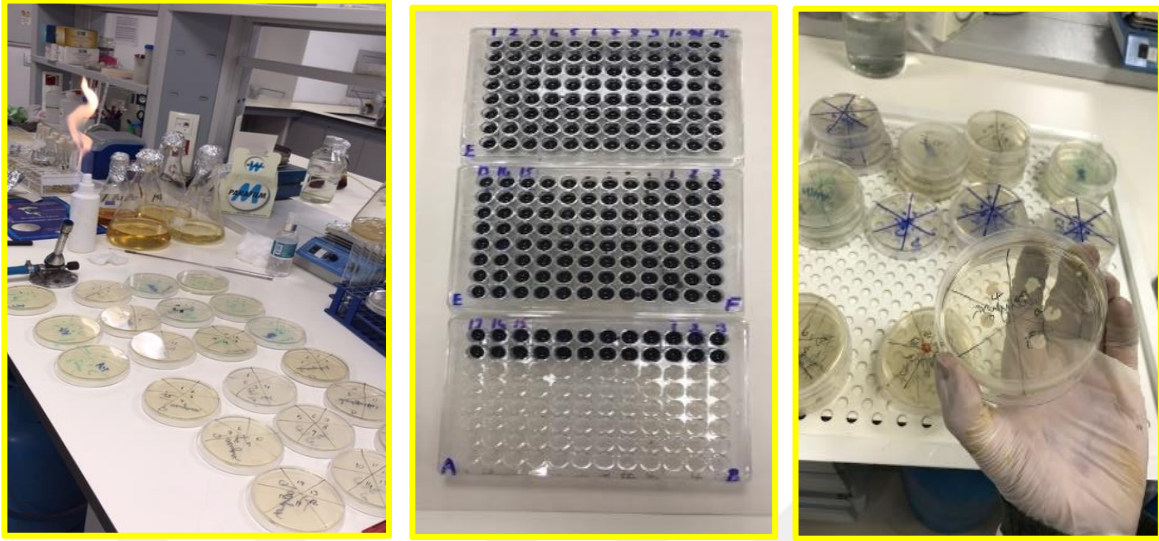
Hesaplamalar inkübasyon sırasında kuyucuklardaki en yüksek numune konsantrasyonu 400'er mg/ml olacak şekilde yapılmıştır. Steril spatüller yardımıyla steril mezürlerde 8'er g ekstre tartılmıştır. Ardından vortekslenerek azar azar steril distile su ilavesiyle 10 ml'ye tamamlanmıştır [72].

Minimal İnhibisyon Konsantrasyon (MİK), Minimal Bakterisidal Konsantrasyon (MBC) ve Minimal Fungisidal Konsantrasyon (MFC) test numunelerinin hazırlanması ve değerlendirilmesi

Çift katlı mikrodilüsyon yöntemiyle 96 kuyucuklu plaklarda standart ve numunelerin sıvı besiyerinde (bakteriler için Mülller Hinton Broth, mayalar için RPMI 1640) seri dilüsyonları (400-3,13 mg/ml) hazırlanmıştır. Antibakteriyel standart (ampisilin, gentamisin) ve antifungal (flukonazol ve amfoterisin B) standartları teste dahil edilmiştir [72].

Mikroorganizmalar ve inokulumların hazırlanması

MHA'da tek koloni olarak çoğaltılan bakteri kültürleri MHB sıvı besi yerine pasajlanmış, 37°C'de 18 saatlik inkübasyon sonrası Mac Farland 0,5 yoğunluğa ayarlanmıştır. İnokülasyon sonrası her kuyucukta 5×10^5 Cfu/ml bakteri olacak şekilde besi yeriyle dilüe edilmiştir (CLSI M07-A9, 2012). Maya kültürleri, SDA'da saf olarak elde edildikten sonra Saboraud Dextrose sıvı besiyerinde (SDLM) 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Mac Farland 0,5 yoğunluğa ayarlanan süspansiyon, inokülasyon sonrası her kuyucukta 103 hücre/ml şekilde RPMI 1640 besiyeri ile dilüe edilmiştir [72].



Resim 3.4. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları

Numune ve antimikrobiyal standartları içeren kuyucukların yanı sıra, bu maddeleri içermeyen pozitif kontrol kuyucukları da üremenin değerlendirilmesi amacıyla inoküle edilmiştir. İnokülasyon işlemi çok kanallı otomatik pipet yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmada çözücü ve besiyeri içeren pozitif ve negatif kontrol kuyucuklarına standart veya numune eklenmemiştir. Sterilite kontrolü amacıyla negatif kontrol kuyucuklarına mikroorganizma eklenmemiştir.

İnkübasyon ve MİK değerlerinin belirlenmesi

Bakteri içeren plaklar 37°C'de 18 saat, maya içeren plaklar ise 35°C'de 48 saatlik inkübasyonun ardından değerlendirilmiştir. Kuyucuklardaki üreme standartlarla ve numune içermeyen kontrol gruplarıyla karşılaştırılmış ve her madde için üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenmiştir.

Bakterisidal/bakteriyostatik ve fungisidal/fungistatik aktivitelerin belirlenmesi

İnkübasyon ve MİK değerlerinin belirlenmesinin ardından MİK ve üzeri dilüsyonlardan katı besiyerlerine ekim yapılmıştır. Bu plakların inkübasyonu sonucunda, üremenin olduğu konsantrasyonlarda bakteriyostatik/fungistatik; üremenin olmadığı konsantrasyonlarda ise bakterisidal/fungisidal aktivite olarak değerlendirilmiştir.

3.4. İstatiksel Analiz

Deney sonuçları değerlendirilirken Excel programında IC₅₀ hesaplaması kullanılmıştır. Bütün değerler ortalama \pm SD (standart hata) olarak verilmiştir.



4. BULGULAR

10 farklı Keçiboynuzu numunesi üzerinde yapılan tayinler sonucunda elde edilen bulgular bu bölümde verilmiştir.

Çalışmamızda elde edilen bulgular aşağıdaki sıra ile sunulmuştur.

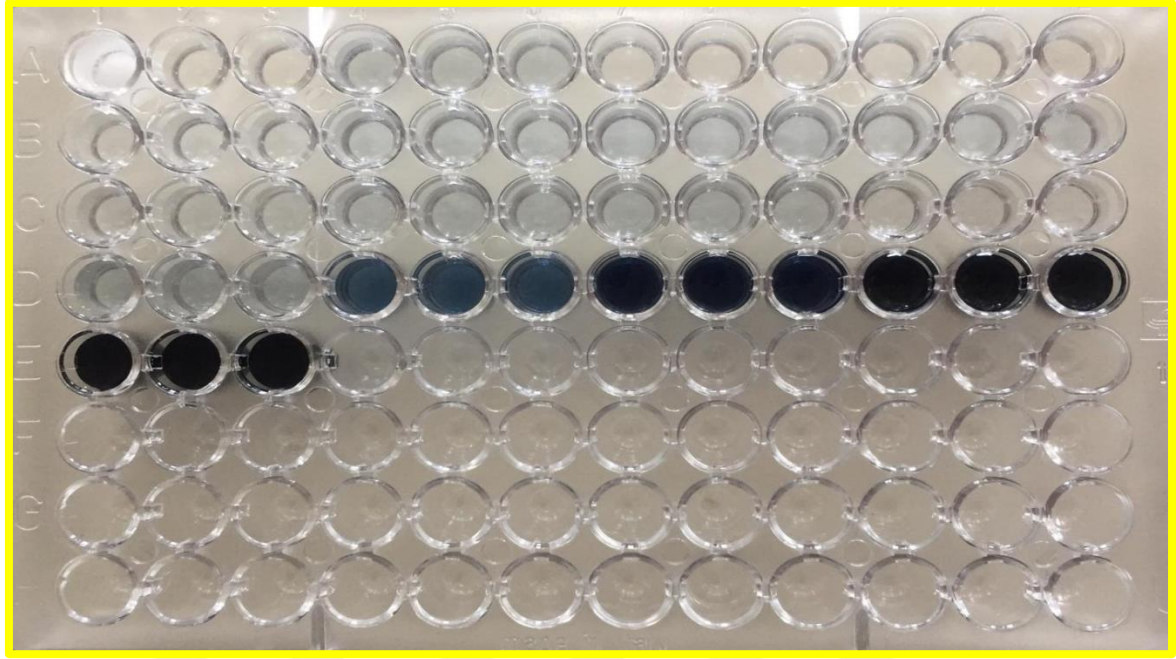
1. Total fenol miktar tayini
2. YPSK tekniği ile epikateşin, kateşin, umbelliferon, fenolik asit ve flavonoit yapısındaki maddelerin analizi
3. Total antioksidan kapasite (Fosfomolibden yöntemi)
4. ABTS radikali süpürücü aktivite
5. Metal bağlama kapasitesi
6. Antimikrobiyal aktivite

4.1. Total Fenol Miktar Tayini

Çizelge 4.1. Keçiboynuzu özü numunelerine ait total fenol miktarları

Numune kodu	Total Fenol Miktarı \pm SD (mg GAE eşdeğeri/g ekstre)
1	16,04 \pm 1,02
2	38,24 \pm 0,51
3	32,67 \pm 1,06
4	15,21 \pm 0,41
5	28,76 \pm 0,51
6	13,80 \pm 0,31
7	32,34 \pm 1,12
8	41,81 \pm 3,09
9	22,28 \pm 0,12
10	28,51 \pm 0,82

SD: Standart sapma



Resim 4.1. Keçiboynuzu özü numunelerinin total fenol miktar deneyinin ELISA plak görünümleri

4.2. YPSK Tekniği ile Epikateşin, Kateşin, Umbelliferon, Fenolik Asit ve Flavonoit Yapısındaki Maddelerin Analizi

Fenolik maddelerin 265 nm'deki retansiyon zamanları (Rt)

Rt: 6,027 dk. Gallik asit

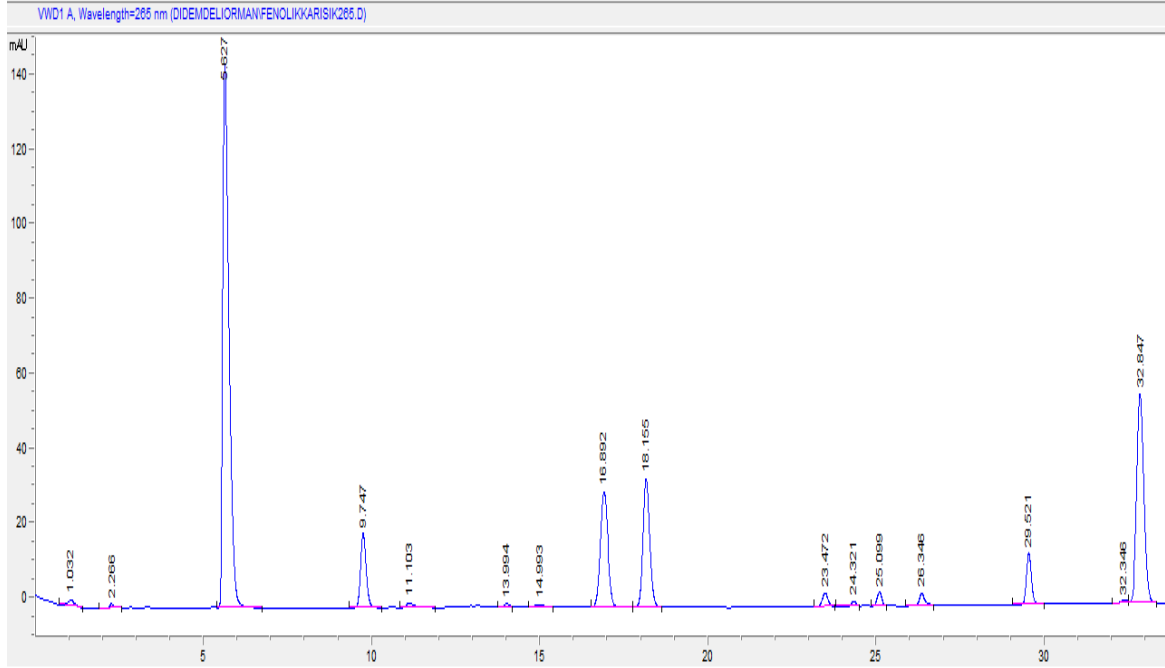
Rt: 9,747 dk. Prokateşik asit

Rt: 16,892 dk. Vanilik asit

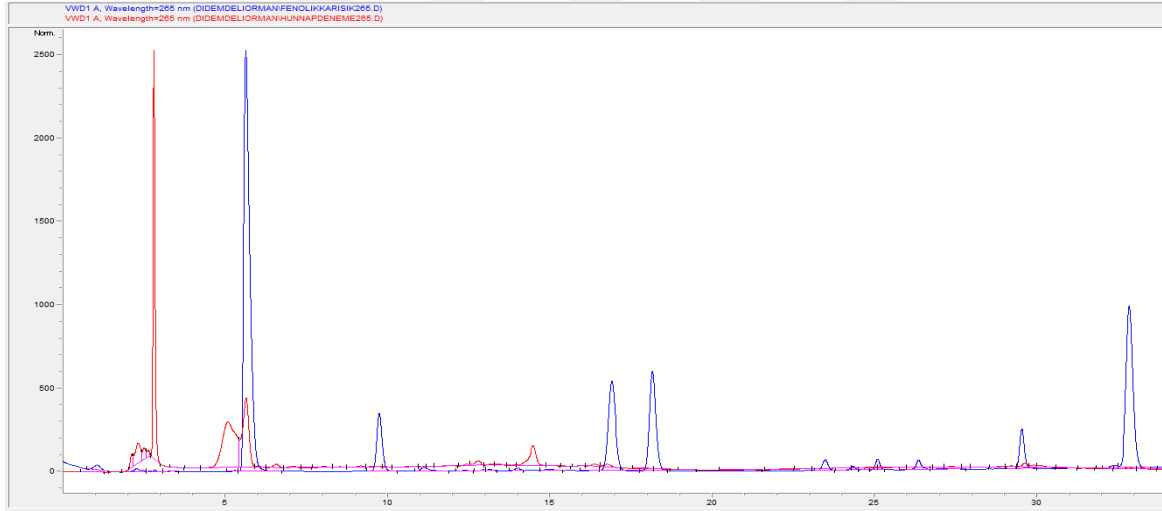
Rt: 18,155 dk. Siringik asit

Rt: 29,521 dk. Rutin

Rt: 32,847 dk. 2-Hidroksisinnamik asit

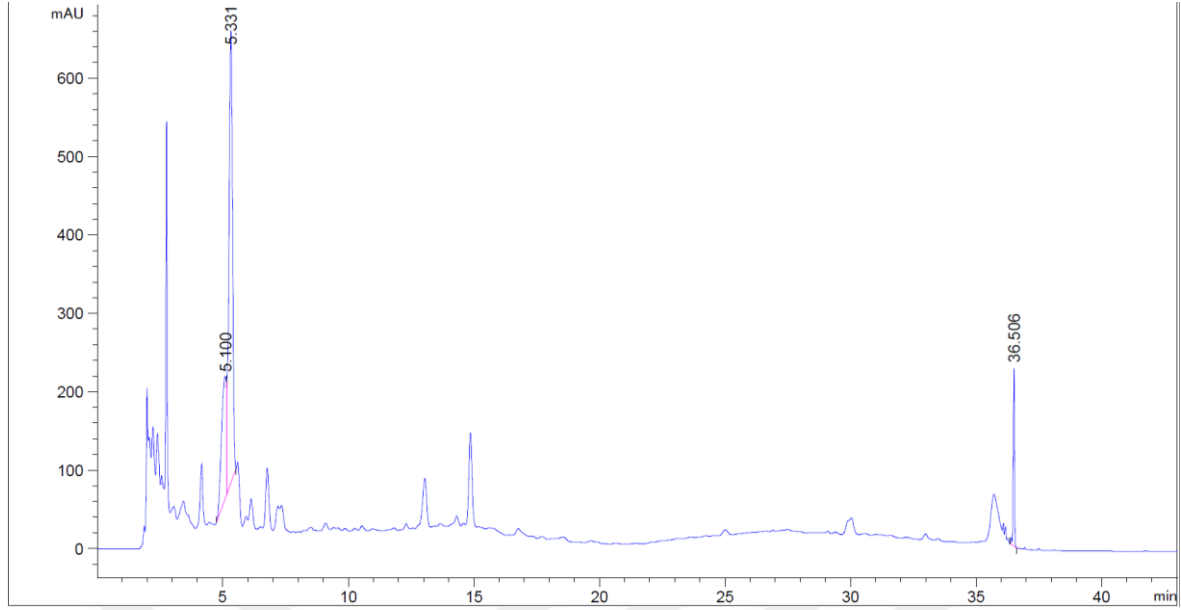


Resim 4.2. Standart fenolik madde karışımının kromatogramı (265 nm)

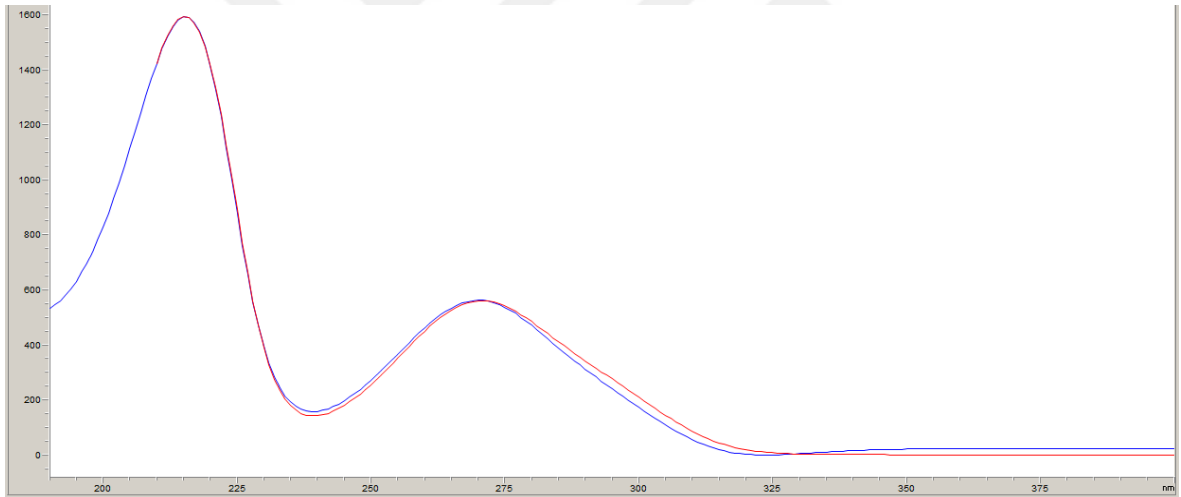


Resim 4.3. 7 no'lu numunenin standart fenolik madde karışımı ile karşılaştırılmış kromatogramı (265 nm)

Gallik asit konusunda düşmüş olduğumuz çelişkienden dolayı Anabilim dalımıza savunma sınavı sonrasında gelen Diod Array Dedektör kullanılarak 272 nm.de yapılan analiz sonucunda pekmez numunelerinde gallik asit varlığı tespit edilmiştir. DAD dedektöründe pekmez numunesi ve gallik asit standartlarına ait spektrumlar üst üste karşılaştırılarak pikin gallik asite ait olduğu doğrulanmıştır. Daha ileriki çalışmalarda pekmezlerde bulunan gallik asitin miktar tayininin gerçekleştirilmesi planlanmaktadır (Resim 4.3 ve 4.4).



Resim 4.4. 7 no'lu numunenin DAD kromatogramı (272 nm)



Resim 4.5. 7 no'lu numunenin gallik asit pikine ait spektrum ile standart gallik asit spektrumunun karşılaştırılmış kromatogramı

Çizelge 4.2. Tüm numunelerdeki fenolik maddelerin kalitatif analiz sonuçları

Fenolik Bileşik	Sonuç
Gallik asit	Tespit edildi.
Prokateşik asit	Tespit edilmedi
Vanilik asit	Ölçülemedi*
Siringik asit	Tespit edilmedi
Rutin	Ölçülemedi*
2-hidroksisinnamik asit	Tespit edilmedi

*Miktarın çok düşük olması sebebiyle kalitatif olarak tayini yapılmış ama miktar tayini gerçekleştirilememiştir.

Fenolik maddelerin 320 nm'deki retansiyon zamanları (Rt)

Rt: 15,673 dk. Klorojenik asit

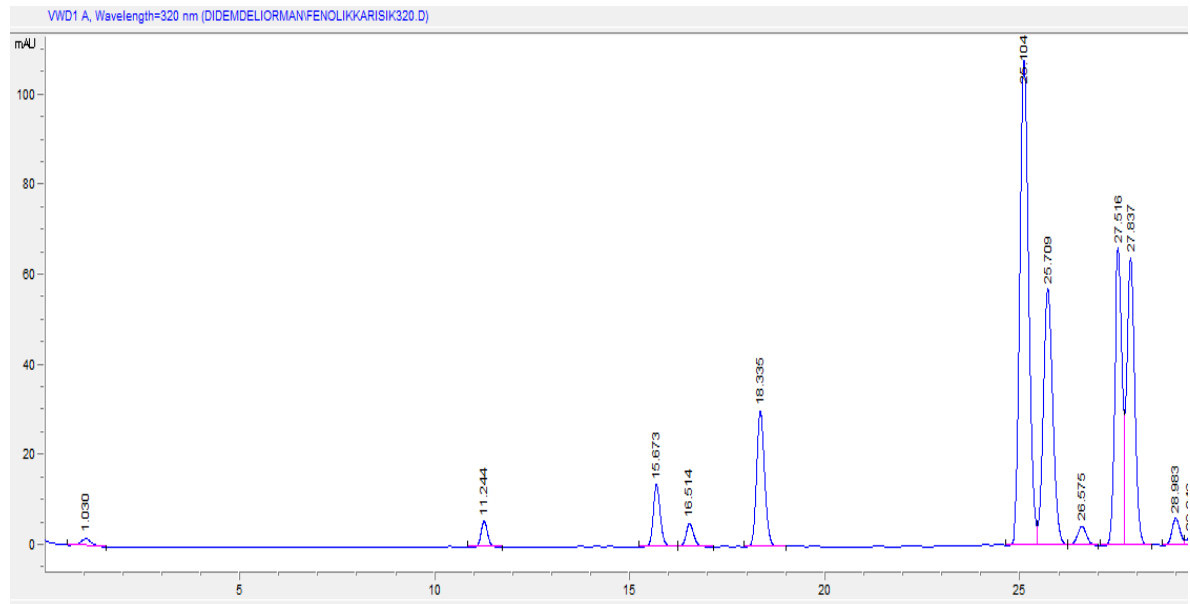
Rt: 18,335 dk. Kafeik asit

Rt: 25,104 dk. *p*-kumarik asit

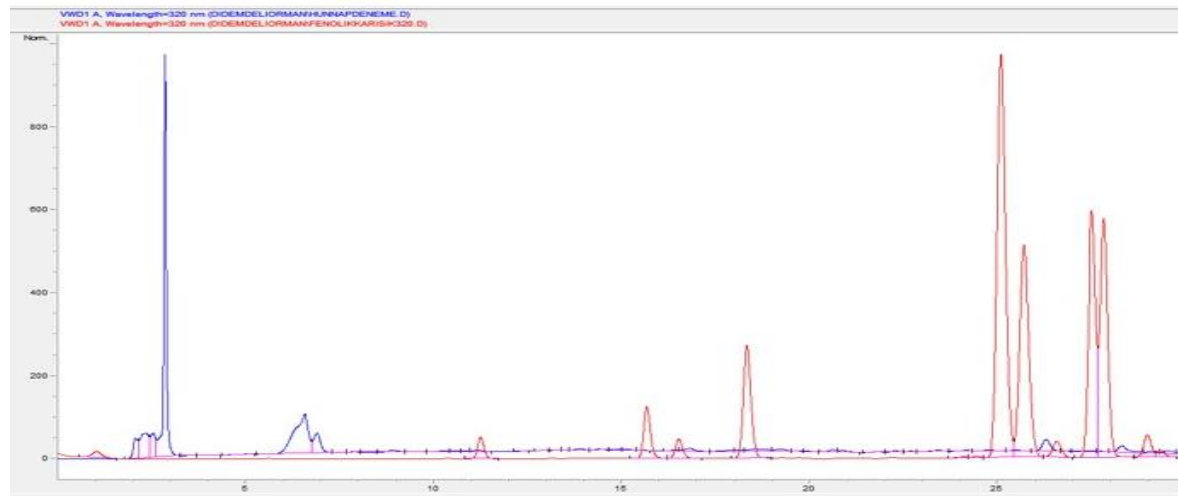
Rt: 25,709 dk. Umbelliferon

Rt: 27,516 dk. Ferulik asit

Rt: 27,837 dk. Sinapik asit



Resim 4.6. Standart fenolik madde karışımının kromatogramı (320 nm)



Resim 4.7. 7 no'lu numunenin standart fenolik madde karışımı ile karşılaştırılmış kromatogramı (320 nm)

Çizelge 4.3. 320 nm’de tüm numunelerdeki fenolik maddelerin kalitatif analiz sonuçları

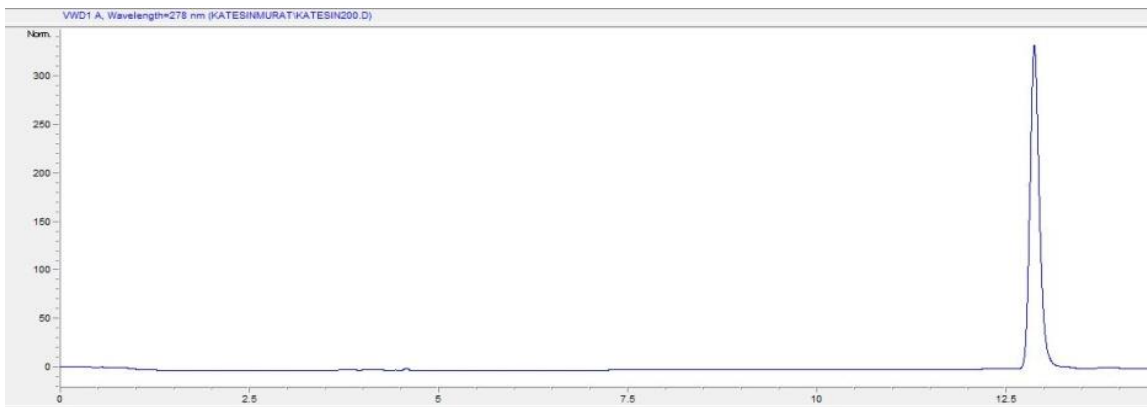
Fenolik Bileşik	Sonuç
Klorojenik asit	Tespit edilmedi
Kafeik asit	Tespit edilmedi
<i>p</i> -kumarik asit	Tespit edilmedi
Umbelliferon	Tespit edilmedi
Ferulik asit	Tespit edilmedi
Sinapik asit	Tespit edilmedi

Epikateşin ve kateşin’in 278 nm’deki retansiyon zamanları (Rt)

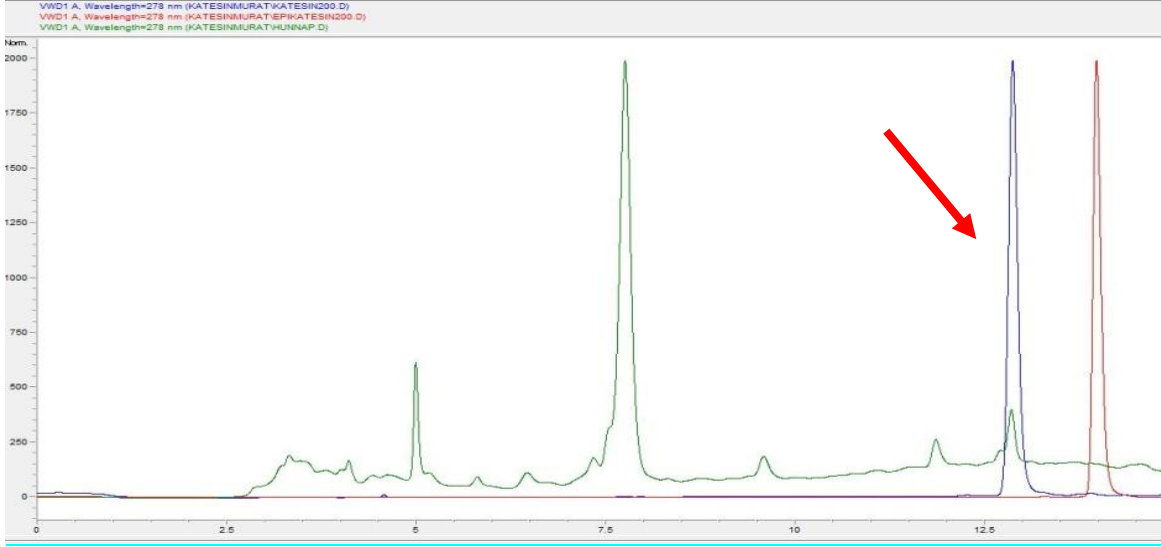
Diğer fenolik maddelerde olduğu gibi hiçbir numunede epikateşin veya kateşin’in varlığı tespit edilememiştir.



Resim 4.8. Standart epikateşin kromatogramı (Rt:13,972 dk., 278 nm)



Resim 4.9. Standart kateşin kromatogramı (Rt: 12,933 dk., 278 nm)



Resim 4.10. 7 no'lu numunenin standart kateşin ve epikateşin karışımı ile karşılaştırılmış kromatogramı (378 nm)

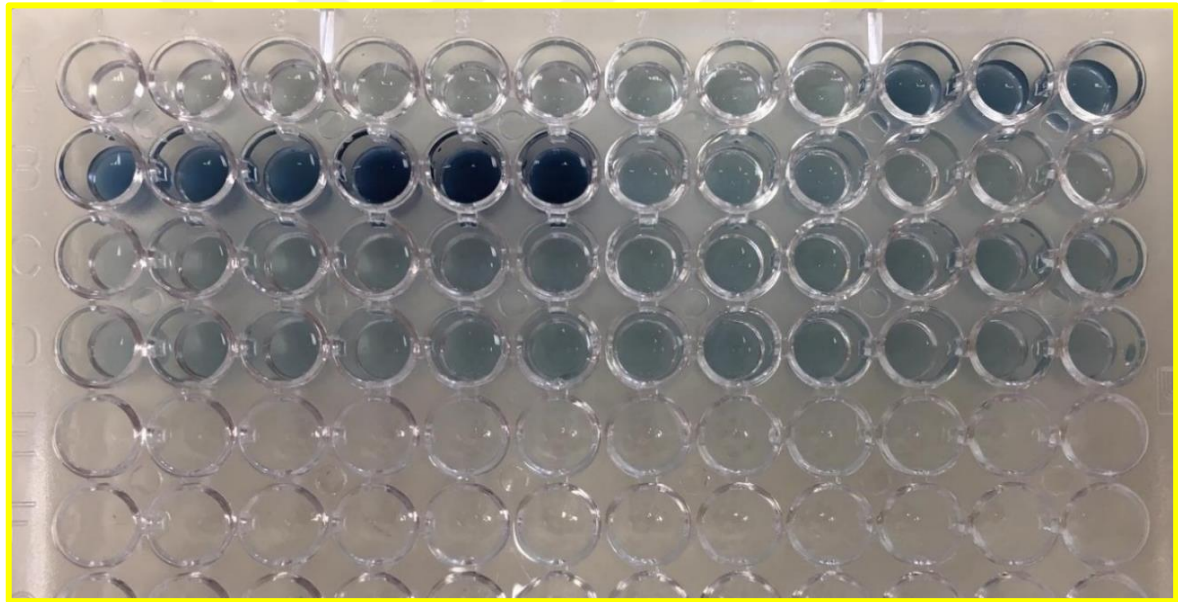
Resim 4.10.'da görüldüğü üzere standart kateşin ve epikateşin karışımı ile karşılaştırılmış kromatogramda okla gösterilen yerde çıkan pikin kateşine ait olduğu düşünülmüştür. Cihazın fotodiyod array dedektörü olmaması sebebiyle, numunenin içine kateşin eklendiğinde numunede kateşin diye düşünülen pik yüksekliğinde herhangi bir artış görülmemiş, aynı yerde 2 tane ayrı pik ortaya çıkmıştır.

4.3. Total Antioksidan Kapasite (Fosfomolibden Yöntemi)

Çizelge 4.4. Keçiboynuzu özü numunelerine ait total antioksidan kapasite sonuçları

Numune kodu	Total Antioksidan Kapasite (AAE) \pm SD
1	57,99 \pm 7,45
2	93,86 \pm 8,46
3	75,30 \pm 7,40
4	41,22 \pm 5,30
5	68,34 \pm 6,25
6	39,26 \pm 4,79
7	60,31 \pm 9,17
8	85,30 \pm 7,94
9	69,24 \pm 6,06

AAE: Askorbik Asit Eşdeğeri, SD: Standart Sapma



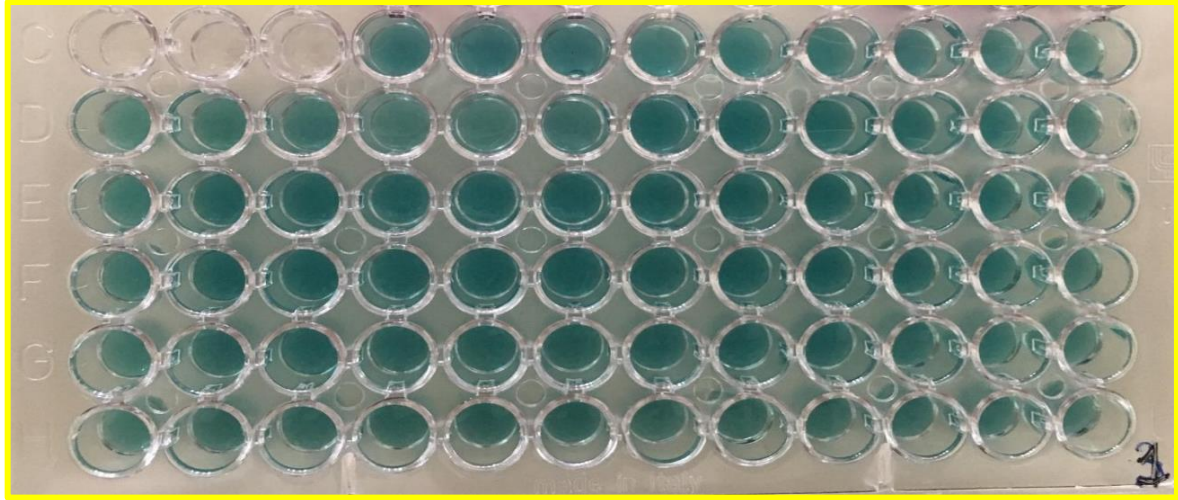
Resim 4.11. Keçiboynuzu özü numunelerinin total antioksidan kapasite deneyinin ELISA plak görünüşleri

4.4. ABTS Radikali Süpürücü Aktivite

Çizelge 4.5. Keçiboynuzu özü numunelerine ait ABTS radikali süpürücü aktivite sonuçları

Numune kodu/konsantrasyon	% ABTS Radikal Süpürücü Etki±SD	
1	0,5 mg/ml	8,22 ± 5,50
	1,0 mg/ml	9,10 ± 0,21
	2,0 mg/ml	9,86 ± 2,81
2	0,5 mg/ml	15,63 ± 1,10
	1,0 mg/ml	8,64 ± 1,03
	2,0 mg/ml	14,03 ± 2,44
3	0,5 mg/ml	14,75 ± 0,86
	1,0 mg/ml	14,29 ± 0,31
	2,0 mg/ml	19,38 ± 3,32
4	0,5 mg/ml	4,97 ± 2,81
	1,0 mg/ml	4,68 ± 3,42
	2,0 mg/ml	11,29 ± 1,08
5	0,5 mg/ml	1,38 ± 2,26
	1,0 mg/ml	0,14 ± 0,58
	2,0 mg/ml	7,76 ± 2,09
6	0,5 mg/ml	40,88 ± 3,43
	1,0 mg/ml	4,85 ± 4,49
	2,0 mg/ml	-
7	0,5 mg/ml	12,68 ± 1,76
	1,0 mg/ml	9,99 ± 0,72
	2,0 mg/ml	12,9 ± 1,75
8	0,5 mg/ml	12,81 ± 2,65
	1,0 mg/ml	16,90 ± 1,70
	2,0 mg/ml	21,32 ± 0,99
9	0,5 mg/ml	9,82 ± 2,84
	1,0 mg/ml	1,70 ± 2,60
	2,0 mg/ml	5,74 ± 3,83
10	0,5 mg/ml	2,62 ± 0,49
	1,0 mg/ml	3,03 ± 2,08
	2,0 mg/ml	11,8 ± 1,41
Gallik Asit	0,25 mg/ml	53,72 ± 3,39
	0,50 mg/ml	99,86 ± 0,19
	1,00 mg/ml	98,62 ± 0,68
	2,00 mg/ml	98,85 ± 0,17

-: Etki yok, SD: Standart Sapma



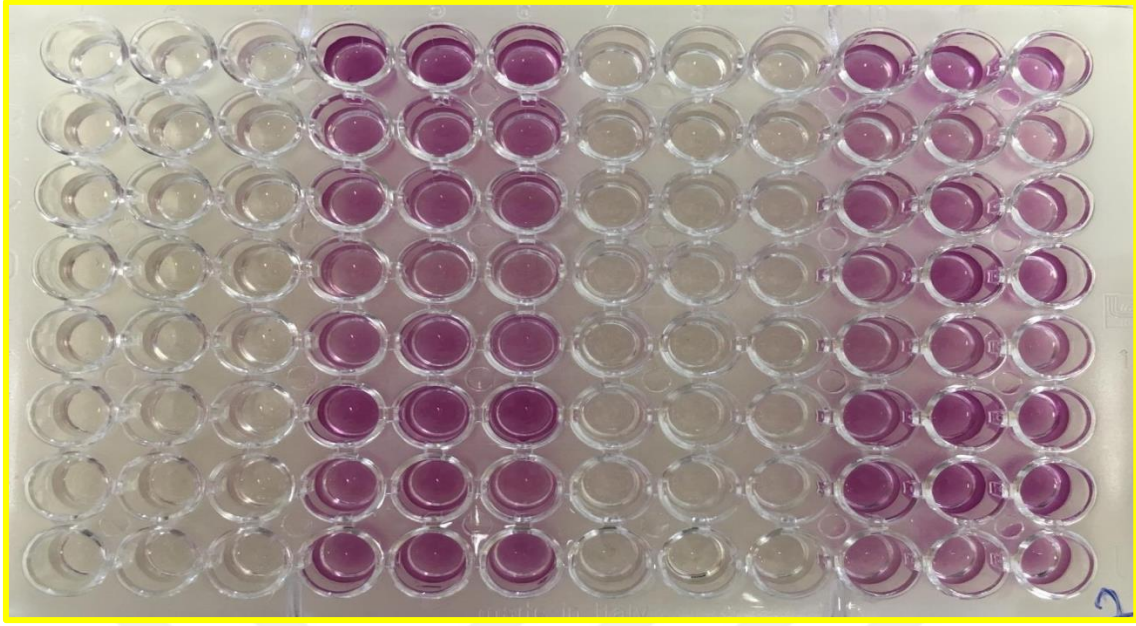
Resim 4.12. Keçiboynuzu özü numunelerinin ABTS radikali süpürücü aktivite deneyinin ELISA plak görünümüleri

4.5. Metal Bağlama Kapasitesi

Çizelge 4.6. Keçiboynuzu özü numunelerine ait metal bağlama kapasite sonuçları

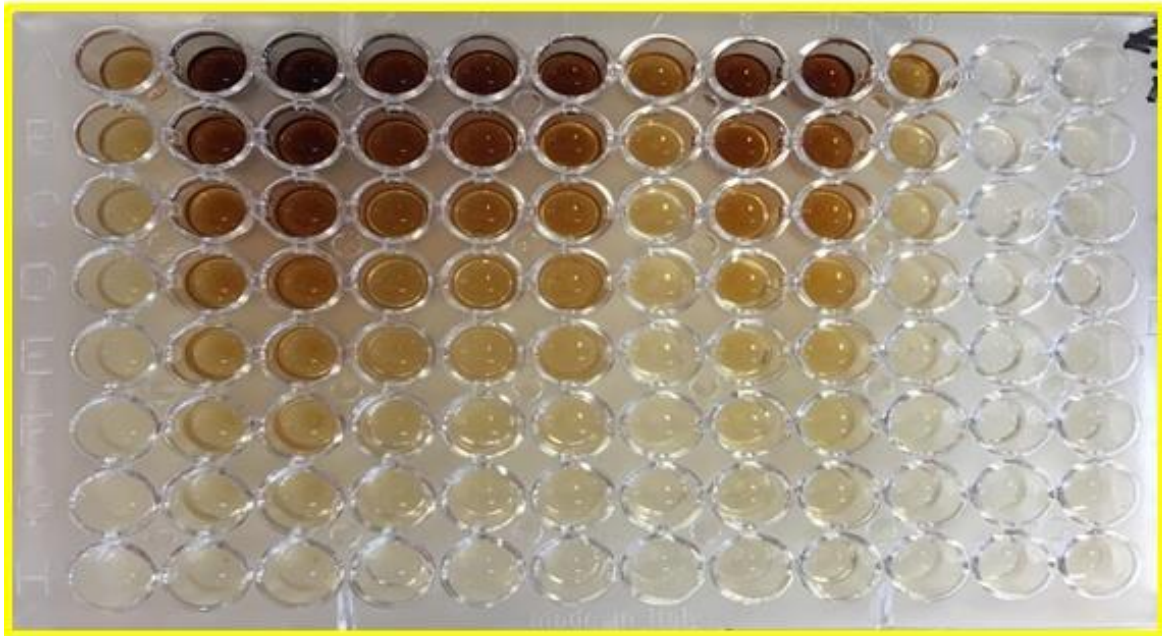
Numune kodu/konsantrasyon	% Metal Bağlama Kapasitesi \pm SD
1 0,5 mg/ml 1,0 mg/ml 2,0 mg/ml	-
	-
	5,20 \pm 13,89
2 0,5 mg/ml 1,0 mg/ml 2,0 mg/ml	35,16 \pm 2,98
	35,48 \pm 2,16
	56,99 \pm 1,91
3 0,5 mg/ml 1,0 mg/ml 2,0 mg/ml	25,16 \pm 16,27
	36,94 \pm 6,57
	50,59 \pm 0,73
4 0,5 mg/ml 1,0 mg/ml 2,0 mg/ml	-
	-
	-
5 0,5 mg/ml 1,0 mg/ml 2,0 mg/ml	4,05 \pm 3,24
	21,81 \pm 4,95
	35,14 \pm 3,99
6 0,5 mg/ml 1,0 mg/ml 2,0 mg/ml	-
	-
	-
7 0,5 mg/ml 1,0 mg/ml 2,0 mg/ml	8,80 \pm 3,09
	31,10 \pm 0,30
	48,63 \pm 9,00
8 0,5 mg/ml 1,0 mg/ml 2,0 mg/ml	10,83 \pm 2,14
	25,49 \pm 3,63
	51,03 \pm 1,69
9 0,5 mg/ml 1,0 mg/ml 2,0 mg/ml	14,11 \pm 8,89
	21,74 \pm 5,45
	35,07 \pm 5,73
10 0,5 mg/ml 1,0 mg/ml 2,0 mg/ml	12,23 \pm 3,07
	25,84 \pm 1,39
	49,59 \pm 6,30
EDTA 0,5 mg/ml 1,0 mg/ml 2,0 mg/ml	86,13 \pm 5,09
	103,43 \pm 1,2
	92,79 \pm 2,58

-: Etki yok, SD: Standart Sapma

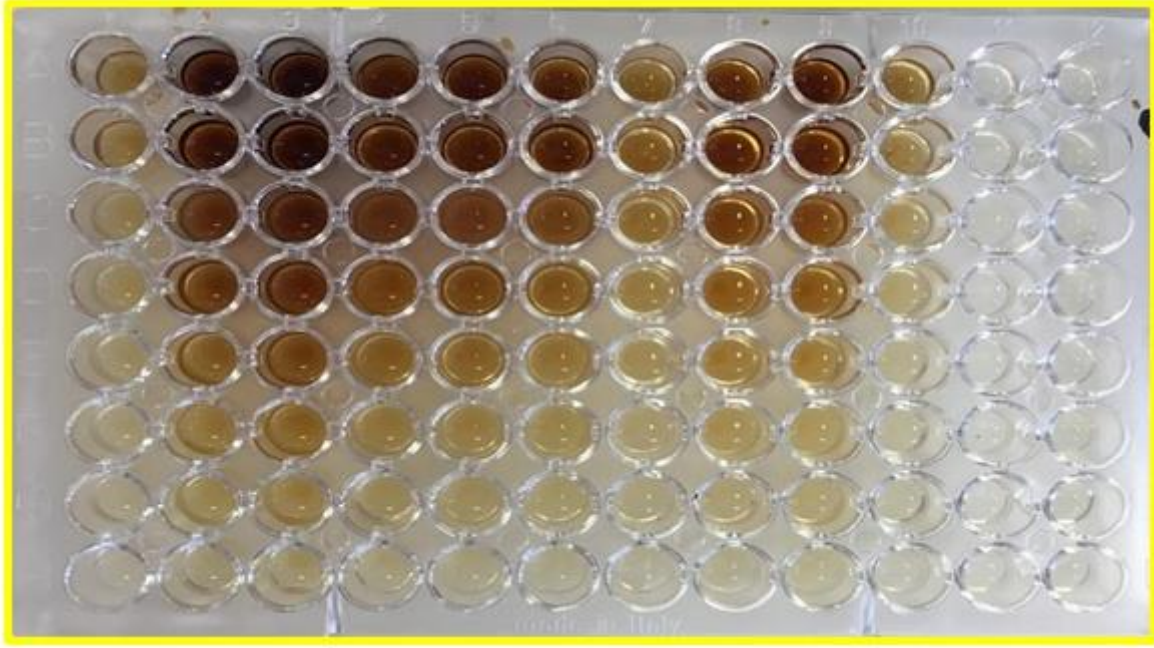


Resim 4.13. Keçiyoynuzu özü numunelerinin ABTS radikali süpürücü aktivite deneyinin ELISA plak görünümüleri

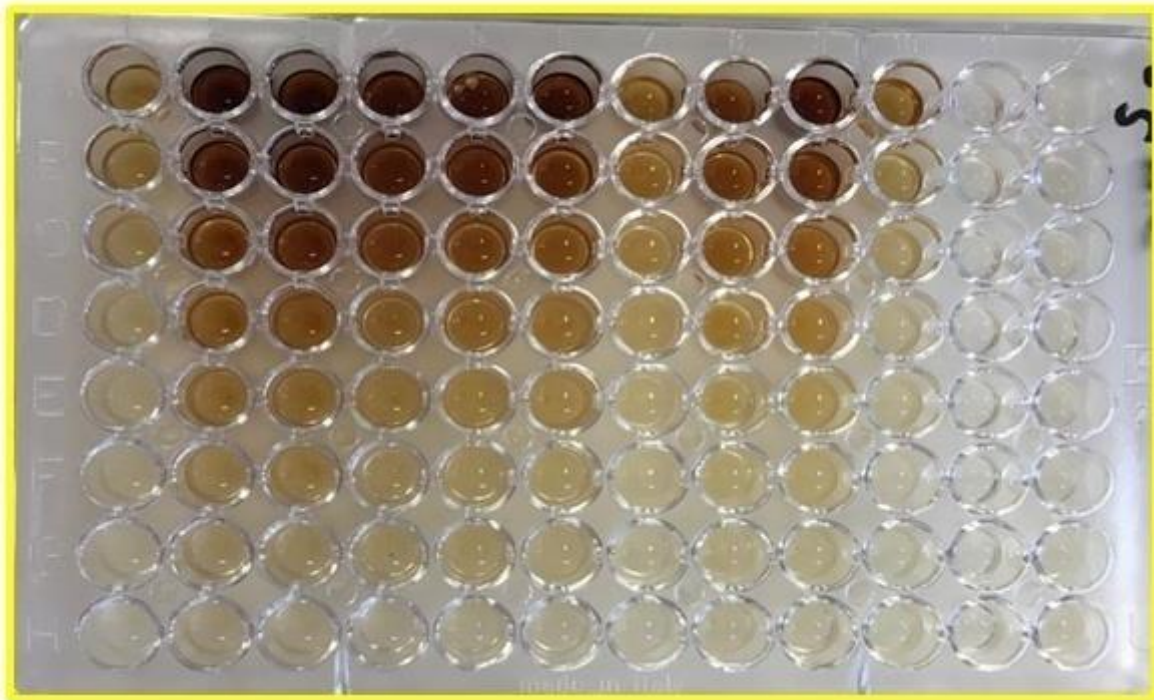
4.6. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları



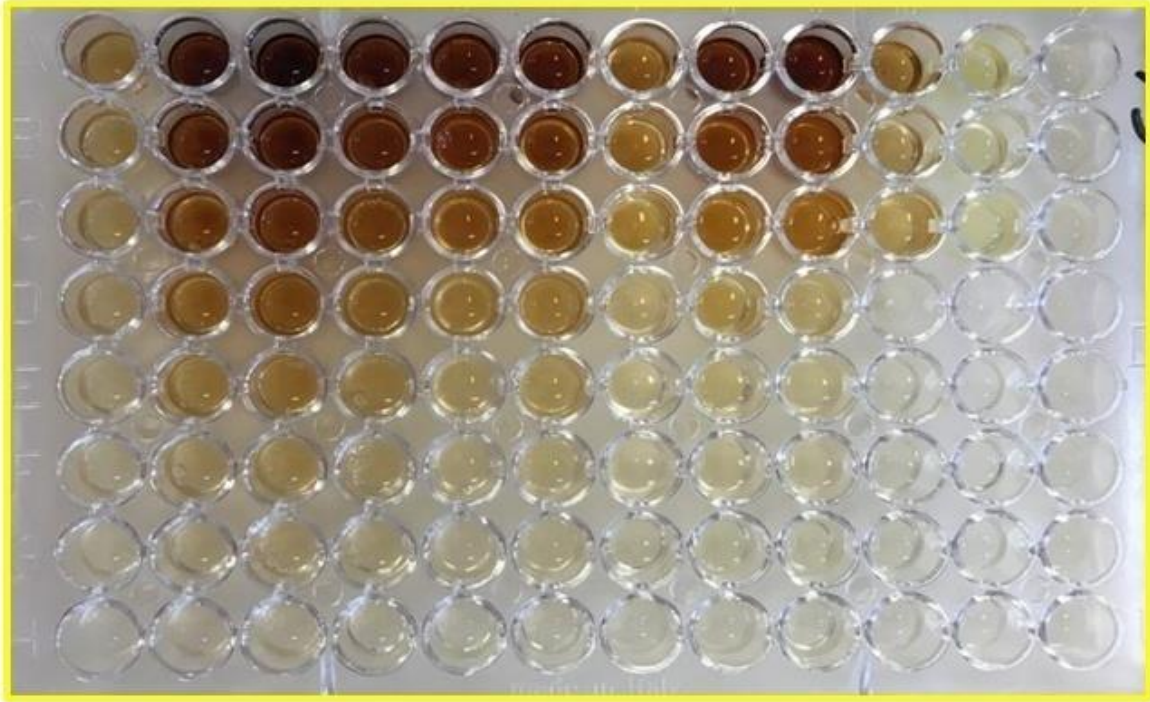
Resim 4.14. *Enterococcus faecalis*'e karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite sonuçları



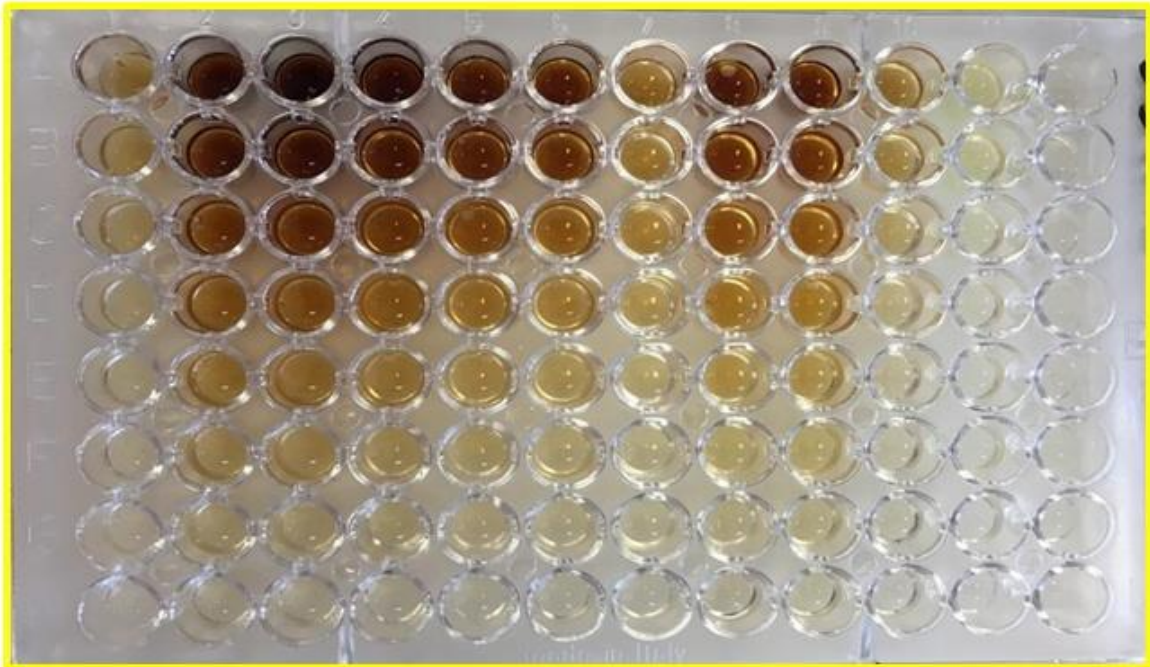
Resim 4.15. *Pseudomonas aeruginosa*'a karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite sonuçları



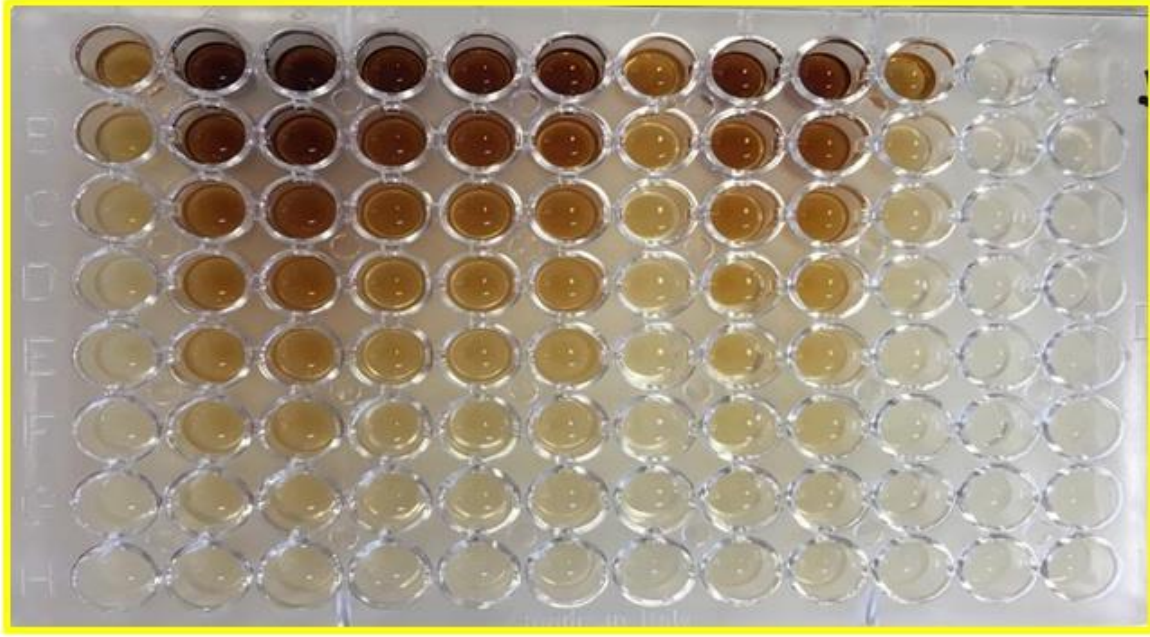
Resim 4.16. *Staphylococcus aureus*'a karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite sonuçları



Resim 4.17. *Candida krusei*'ye karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite sonuçları



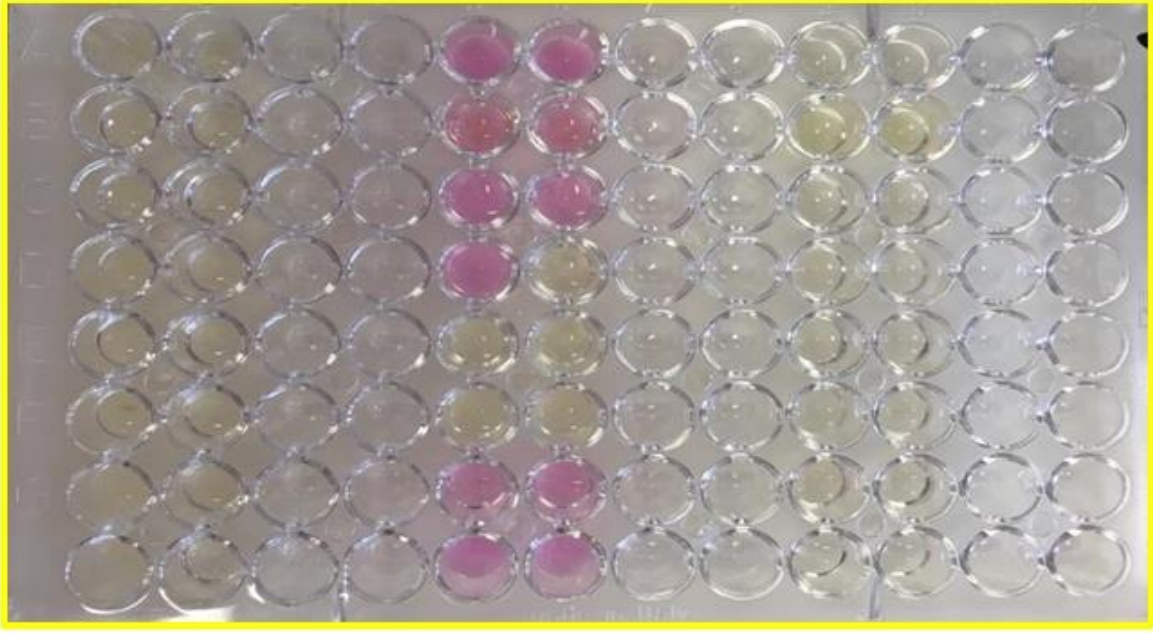
Resim 4.18. *Candida albicans*'a karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite sonuçları



Resim 4.19. *Klebsiella pneumoniae*'a karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite sonuçları



Resim 4.20. *Escherichia coli*'ye karşı numunelerin ELISA plağındaki antimikrobiyal aktivite sonuçları



Resim 4.21. Antimikrobiyal aktivite deneylerinde değerlendirilen kontrol plağı

Çizelge 4.7. Gram pozitif, Gram negatif bakterilerde ve funguslarda denenen keçi boynuzu örneklerinin sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK ve Minimal Bakterisidal/Fungisidal konsantrasyonları (MBC/MFC, mg/ml); referans antibiyotik/antifungallerin MİK değerleri (µg/ml).

Örnekler	<i>S. aureus</i> ATCC 6538		<i>E. faecalis</i> ATCC 29212		<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603		<i>E. coli</i> RSKK 95085		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 1069		<i>C. albicans</i> ATCC 10231		<i>C. krusei</i> ATCC 6258	
	MİK	MBC/MBS	MİK	MBC/MBS	MİK	MBC/MBS	MİK	MBC/MBS	MİK	MBC/MBS	MİK	MFC/MFS	MİK	MFC/MFS
1	400	-/>400	200	-/>200	400	-/400	400	-/>400	200	-/200	100	400/-	>400	-/>400
2	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400
3	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400
4	400	-/400	400	-/400	400	-/400	200	-/200	200	-/200	400	-/400	>400	-/>400
5	400	-/400	>400	-/>400	400	-/400	400	-/400	200	-/200	>400	-/>400	>400	-/>400
6	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/400	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400	>400	-/>400
7	400	-/>400	200	-/>200	400	-/400	400	-/400	200	-/200	200	-/200	200	-/200
8	200	200/-	200	-/>200	>400	-/400	400	-/400	400	-/400	400	-/400	>400	-/>400
9	>400	-/>400	>400	-	>400	-/400	400	-/400	400	400/-	>400	-/>400	>400	-/>400
10	400	-/400	400	-/400	400	-/400	200	-/200	200	-/200	400	-/400	400	-/400
Ampisilin	0,5		4		64		16		64		-		-	
Gentamisin	2		64		32		4		1		-		-	
Amfoterisin B	-		-		-		-		-		2		0,5	
Flukonazol	-		-		-		-		-		1		32	

S. aureus: *Staphylococcus aureus*, *E. faecalis*: *Enterococcus faecalis*, *K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*, *C. albicans*: *Candida albicans*, *C. krusei*: *Candida krusei*, MİK: Minimal İnhibitör Konsantrasyon, MBC: Minimal Bakterisidal Konsantrasyon, MBS: Minimal Bakteriyostatik Konsantrasyon, MFC: Minimal Fungisidal Konsantrasyon, MFS: Minimal Fungistatik Konsantrasyon, ATCC: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu

5. TARTIŞMA

Çalışmada incelenen Keçiboynuzu özü veya pekmezlerinin kimyasal bileşimlerini analiz etmek için; total fenol miktar tayini ve YPSK tekniği ile fenolik maddelerin (ferulik asit, gallik asit, 2-hidroksisinnamik asit, kafeik asit, klorojenik asit, *p*-kumarik asit, kateşin, epikateşin, prokateşik asit, rutin, sinapik asit, siringik asit, umbelliferon, vanilik asit) kalitatif analizleri yapılmıştır. Total fenol miktar tayini sonuçlarına baktığımızda aslında numunelerin fenol içeriklerinin çok yüksek olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.1.). Bir karşılaştırma yapıldığında ise 2 ($38,24 \pm 0,51$ mg GAE eşdeğeri/g ekstre) ve 8 ($41,81 \pm 3,09$ mg GAE eşdeğeri/g ekstre) nolu numunelerin diğer örneklerle göre fenol içeriğinin daha yüksek olduğu, 4 ($15,21 \pm 0,41$ mg GAE eşdeğeri/g ekstre) ve 6 ($13,80 \pm 0,31$ mg GAE eşdeğeri/g ekstre) nolu numunelerin ise oldukça düşük fenol içeriğine sahip oldukları tespit edilmiştir. Numunelerin total fenol miktarları hakkında bilgi sahibi olduktan sonra bu fenoliklerin neler olduğunu tespit edebilmek amacıyla YPSK tekniği kullanılmıştır. Numunelere standart fenolik madde karışımlarının da eklenmesinden sonra elde edilen kromatogramlardan tüm numunelerin; epikateşin, kateşin, prokateşik asit, siringik asit, 2-hidroksisinnamik asit, klorojenik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit, umbelliferon, ferulik asit ve sinapik asidi içermedikleri, gallik asit, vanilik asit ve rutin içerdikleri görülmüştür (Çizelge 4.2 ve 4.3). Bu bileşiklerin miktar tayinleri tezi yayına hazırlarken yapılacaktır.

Numunelerin antioksidan etkilerini değerlendirmek için üç yöntem (total antioksidan kapasite, metal bağlama kapasitesi, ABTS radikali süpürücü aktivitesi) kullanılmıştır. Total antioksidan kapasite, askorbik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Numuneler birbirleri ile karşılaştırıldığında; 2 ($93,86 \pm 8,46$ AAE) ve 8 ($85,30 \pm 7,94$ AAE) numaralı numunelerin total antioksidan kapasitesinin yüksek 4 ($41,22 \pm 5,30$ AAE) ve 6 ($39,26 \pm 4,79$ AAE) nolu numunelerin ise düşük olduğu görülmüştür (Çizelge 4.4).

ABTS radikali süpürücü aktivite için numunelerin aktiviteleri, referans madde olarak gallik asit ile karşılaştırılmıştır. 6 ($40,88 \pm 3,43$, 0,5 mg/ml) numaralı numune en yüksek aktiviteyi gösterirken; 5 ($0,14 \pm 0,58$, 1 mg/ml) ve 9 ($1,70 \pm 2,60$, 1 mg/ml) numaralı numuneler oldukça düşük aktivite göstermişlerdir. Gallik asit $99,86 \pm 0,19$ (0,5 mg/ml) ve $98,62 \pm 0,68$ (1 mg/ml) inhibisyon değerleri ile numunelerle karşılaştırıldığında oldukça yüksek aktivite göstermiştir (Çizelge 4.5).

Metal bağlama kapasitesi için referans olarak EDTA kullanılmıştır. 4 ve 6 numaralı numuneler hiç aktivite göstermezken; en yüksek aktiviteyi 2 (%56,99 ± 1,91, 2 mg/ml) numaralı numune göstermiştir. 2 numaralı numuneyi %51,03 ± 1,69 (2 mg/ml) inhibisyon ile 8 numaralı numune ve %50,59 ± 0,73 inhibisyon ile 3 numaralı numune takip etmiştir. EDTA 2 mg/ml konsantrasyonda %92,79 ± 2,58 inhibisyon oluşturmuştur (Çizelge 4.6).

Çalışmada, numunelerin antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirmek için mikrodilüsyon testi kullanılmıştır. Test mikroorganizmaları olarak Gram pozitif bakteriler (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*), Gram negatif bakteriler (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) ve maya mantarları (*Candida albicans*, *Candida krusei*) kullanılmıştır. Antibakteriyel ve antifungal aktivitede MİK (µg/ml) değerleri ile birlikte minimal bakterisidal/-statik (MBC/-MBS mg/ml) veya fungisidal/-statik (MFC/-MFS mg/mL) 200- >400 mg/ml konsantrasyon aralığında tespit edilmiştir (Çizelge 4. 7).

Çalışmamızda sırasıyla MİK değerleri *S. aureus*'a karşı 200- >400 µg/ml aralığında, *E. faecalis*'e karşı ise 200- >400 µg/ml aralığında, *K. pneumoniae*'ye karşı 400- >400 µg/ml, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'a karşı 200 - >400 µg/ml aralığında tespit edilmiştir. Denenen tüm numunelerde MBC ve MBS sonuçları değerlendirildiğinde ise *S. aureus*'a karşı bakteriostatik etkinin 400- >400 mg/ml aralığında olup 8 no'lu numune 200 mg/ml'de MBC etkili olduğu görülmüştür. *E. faecalis*'e karşı bakterisit etki belirlenemezken; 200- >400 mg/ml'de bakteriostatik etki belirlenmiştir.

Araştırmamızda denenen numunelerin, Gram negatif bakterilerden *E. coli*'ye karşı 200- >400 mg/ml konsantrasyon aralığında bakteriostatik etkileri olduğu belirlenmiştir. *K. pneumoniae*'ye karşı 400- >400 mg/ml aralığında bakteriostatik etki belirlenirken, *P. aeruginosa*'a karşı 9 no'lu numunede 400 mg/ml'de konsantrasyonda bakterisid etki görülmüştür. *P. aeruginosa*'a karşı bakteriostatik etki ise 200- >400 mg/ml aralığında belirlenmiştir.

Araştırmamızda *C. albicans*'a karşı 100 µg/ml konsantrasyonda 1 no'lu numunenin MİK değeri belirlenirken 7 no'lu numune için 200 µg/ml konsantrasyonda, 4, 8 ve 10 no'lu numuneler için ise 400 mg/ml konsantrasyonda MİK değerleri belirlenmiştir. Diğer denenen numunelerin MİK değerleri >400 µg/ml'dir. *C. albicans* MFC'ü 1 no'lu numunede 400 mg/ml konsantrasyonda belirlenmiştir. 7 no'lu numunede minimum fungustatik etki 200

mg/ml konsantrasyonda belirlenirken; 4, 8 ve 10 no'lu numunelerde 400 mg/ml konsantrasyonda görülmüştür. *C. albicans*'a karşı denenen diğer numunelerde (2, 3, 5, 6, 9) MFS >400 mg/ml konsantrasyonda görülmüştür. *C. krusei* karşı MİK sonuçları ile birlikte MBC/-MBS veya MFC/-MFS sonuçları değerlendirildiğinde ise; 7 no'lu numunede 200 mg/ml konsantrasyonda, 10 no'lu numune 400 mg/ml konsantrasyonda ve geri kalan numunelerde >400 mg/ml konsantrasyonda MİK değerleri belirlenmiştir. *C. krusei*'ye karşı MFS etki, 7 no'lu numune için 200 mg/ml, 10 no'lu numune için ise 400 mg/ml'de ve denenen diğer numunelerde (1-6, 8, 9) >400 mg/ml konsantrasyonlarda tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, antimikrobiyal aktivite tayininde sonuçların karşılaştırılması için kullanılan referansların (ampisilin, amfoterisin B, gentamisin, flukanozol) test edilen mikroorganizmalara karşı güçlü (MİK 0,5-64 µg/ml) etkiler gösterdiği bulunmuştur. Numunelerin MİK değerleri göz önüne alındığında keçiyoynuzu pekmez ve/veya öz numunelerinin antimikrobiyal etkilerinden bahsetmenin çok da doğru olmayacağı görülmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Fabaceae familyasının bir üyesi olan *C. siliqua*'nın meyveleri piyasada “*Keçiboynuzu ve Harnup*” gibi isimlerle bilinmektedir. Meyvelerinin kullanılışı hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Meyvelerin Malta’da boğaz ağrısı ve öksürük şurubu olarak kullanıldığı bilinmektedir. Taze meyvelerin idrar söktürücü ve bağırsak yumuşatıcı etkileri de mevcuttur. Bitkideki tanen içeriği sayesinde bağırsak yumuşatıcı etkisine ters olarak bebeklerdeki ishallerde de kullanıldığı bildirilmiştir. Keçiboynuzu meyvelerinin içeriğinin araştırılması için yapılan analizlerde; karotenoidler (lutein, likopen, alfa karoten ve beta karoten), kersetin glikozitleri, kateşin ve epikateşingallat, epigallokateşingallat, gallik asit ve elajik asit türevleri, proantosiyanidin ve elajik tanen gibi kondanse tanenler içerdiği saptanmıştır. Keçiboynuzu meyvelerinin 15 dk kaynatılmasıyla edilen sıvının antioksidan etkinliğe sahip olduğu ve karaciğer tümör hücrelerinin çoğalmasını engellediği bildirilmiştir. Meyve içerisindeki liflerin ve meyvede bulunan polifenolik bileşiklerin kolondaki kanser hücreleri üzerine etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Meyvelerin zengin lif ve polifenol içeriği sebebiyle kolesterol ve trigliserit değerlerinin düşürülmesinde kullanılabileceği gösterilmiştir. Keçiboynuzu tohumundan elde edilen zıncın alijirik asit ve antiastitlerle birlikte kullanıldığında reflü vb. şikayetlerin giderildiği, bebeklerde ise süt içerisinde konulan 350 mg zıncın bebek reflüsünü yatıştırdığı kanıtlanmıştır [19].

Bu çalışmada aktarlarda, kozmetik ürün satışı yapılan yerlerde ve eczanelerde satışı yapılan sağlığa faydaları ile pazarlanan ve profilaktik olarak da özellikle çocuklarda üst solunum yolu enfeksiyonları için kullanılan Keçiboynuzu öz veya pekmez numunelerinin antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan etkileri değerlendirilmiştir. Ayrıca ultraviyole spektroskopisi tekniği ile total fenol analizi, YPSK tekniği ile de 14 fenolik bileşimin kalitatif analizi yapılmıştır.

Yaptığımız literatür çalışmaları sonucunda, piyasada satışı yapılan Keçiboynuzu öz veya pekmez örnekleri üzerinde hiç çalışma yapılmadığı görülmüştür. Çalışma kapsamında özellikle eczanelerde ve aktarlarda satışı yapılan 10 adet keçiboynuzu özü veya pekmez örneği toplanmıştır.

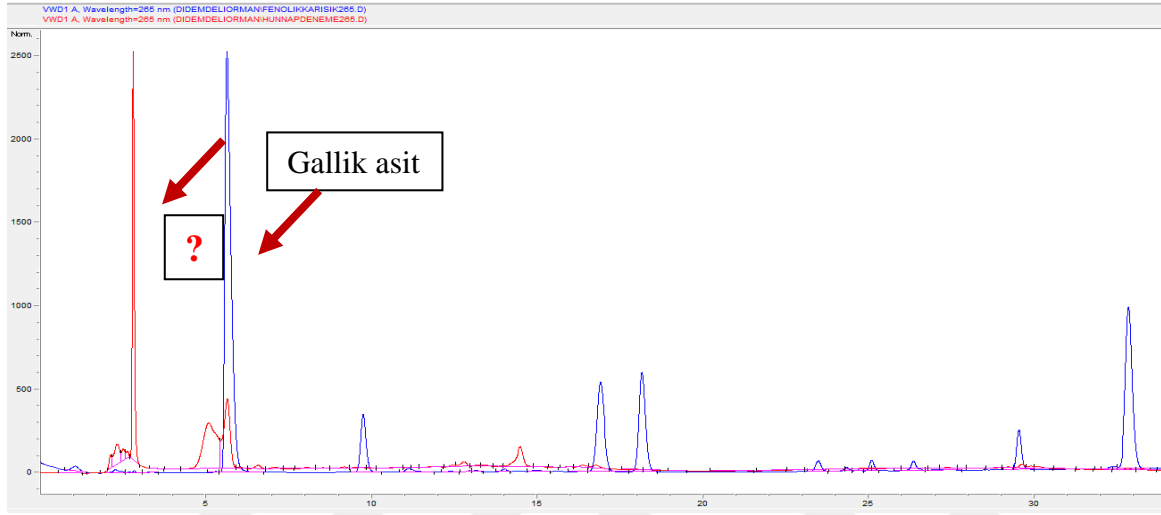
Üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarında oksidatif stresin önemli ölçüde arttığı bilinen bir gerçektir. Bu nedenle antioksidan içeriği zengin gıdalarla beslenme veya antioksidan içerikli gıda takviyeleri tüketmenin enfeksiyon sonrası meydana gelen oksidatif strese karşı faydalı olabileceği, enfeksiyonlara karşı koruyucu olabileceği hipotezi artık pek çok çalışma ile de ispatlanmıştır. Bu sebeple, numunelerin antioksidan aktivitesi çalışmada değerlendirilmiştir. Tüm numuneler, ABTS radikali süpürme ve metal indirgeme kapasitesi yönünden çok aktif bulunmamışlardır. Total antioksidan kapasite sonuçları değerlendirildiğinde ise 2 ve 8 numaralı numunelerin öne çıktığı görülmüştür.

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastane'sine 3 yıl boyunca başvuran 1516 adet solunum yolu enfeksiyonu vakasının solunum yolundan izole edilen mikroorganizmalar içinde birinci sırayı *Acinetobacter baumannii* (%18,5), ikinci sırayı *Pseudomonas aeruginosa* (%14,2), üçüncü sırayı *Klebsiella pneumoniae* (%5,2), dördüncü sıklıkla *Escherichia coli* (%5,1), beşinci sıklıkla *Staphylococcus aureus* (%2,4) yer aldığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda da *Acinetobacter baumannii* dışında bu mikroorganizmalara karşı etkinlik değerlendirilmesi yapılmıştır [73]. Aktivite sonuçları sağlık faydası ile bronşit gibi hastalıklar için önerilen keçiyoynuzu pekmezi ve özlerinin, sanılan iddiaları yerine getirmediğini açıklıkla göstermiştir.

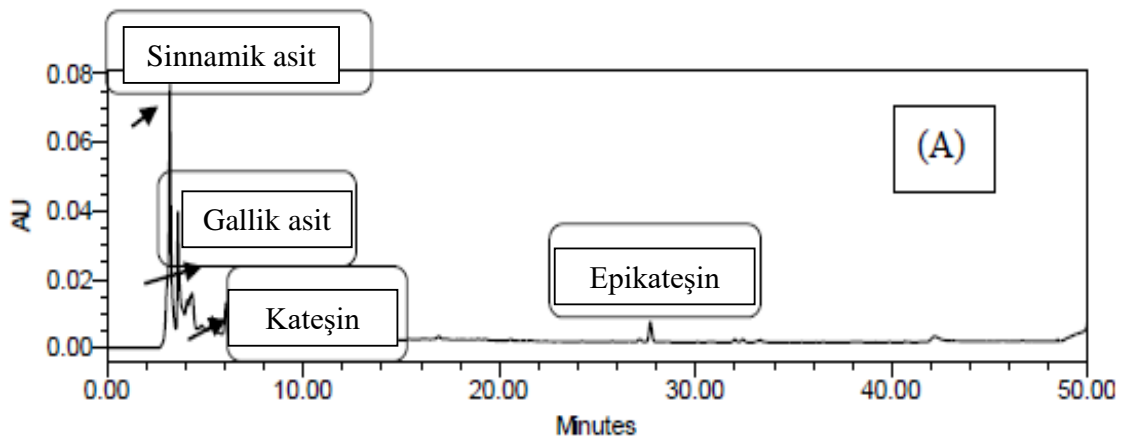
Numunelerin total fenol miktarlarının da aslında çok yüksek olmadığı söylenebilir. Total fenol miktarları ile antioksidan ilişki beraber değerlendirildiğinde ise; özellikle metal bağlama ve total antioksidan kapasite ile total fenol içeriklerinin pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Total fenol miktar tayini sonuçlarından sonra bu fenolik bileşiklerin ne olabileceği yolundaki soruyu cevaplayabilmek için YPSK tekniği ile 14 fenolik maddenin numunelerde olup olmadığı araştırılmıştır. Total fenol miktar tayini sonuçları ve YPSK analiz sonuçlarını beraber değerlendirdiğimizde, numunelerin total fenol içeriklerinin $41,81 \pm 3,09$ - $13,80 \pm 0,31$ mg GAE eşdeğeri/g ekstre arasında değişmesine rağmen gallik asit miktarının numunelerde tespit edildiği ama ölçülemeyecek kadar az olduğu görülmüştür. Total fenol miktar tayini deneyinde kullanılan Folin Ciocaltaeu reaktifi hem serbest hem bağlı fenolik maddelerle reaksiyona girmektedir [74]. Bu bilgi bize, YPSK ile tespit edilen ama ölçülemeyen gallik asit miktarı ile total fenolik madde miktar tayininde GAE eşdeğeri olarak verilen sonuçlar arasındaki çelişkinin sebebini açıklayabilmektedir.

YPSK analizlerinde numuneneler hem tek başına hem de standart fenolik madde karışımlarının eklenmesinden sonra uygun dalga boylarında incelenmiştir. Sonuçta, tüm numunelerin; epikateşin, kateşin, prokateşik asit, siringik asit, 2-hidroksisinnamik asit, klorojenik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit, umbelliferon, ferulik asit ve sinapikasiti içermedikleri, gallik asit, vanilik asit ve rutini içerdikleri ama miktarlarının tespit edilemeyecek ölçüde az olduğu görülmüştür.



Resim 6.1. 7 no'lu numunenin standart fenolik madde karışımı ile karşılaştırılmış kromatogramı (265 nm)



Resim 6.2. Üzüm pekmezi örneğinde fenolik maddelerin YPSK ile analizi [75]

2014 yılında üzüm pekmezi üzerinde yapılan bir YPSK analizinde, analiz şartları (mobil faz A: %0,1 (h/h) sulu trifluoroasetik asit, mobil faz B: %0,1 (h/h) trifluoroasetik asitli asetonitril) farklı olmakla beraber elde edilen kromatogramların profilinin (Resim 6.2),

Keçiboynuzunun YPSK ile analizi ile elde edilene çok benzer olduğu tarafımızca tespit edilmiştir. Çalışmamızda, Keçiboynuzu pekmez veya öz numunelerinin kromatogramlarının hepsinde tanımlayamadığımız, örnek kromatogram olarak koyduğumuz 7 nolu numunede de (Resim 6.1) soru işareti ile gösterdiğimiz pikin sinnamik asite ait olduğu düşünülmektedir. Bu konu ile ilgili kesin bir iddiada bulunmak için pek tabiki standart sinnamik asit maddesinin satın alınıp YPSK analizi ile tüm numunelerin tekrar analiz edilmesi gereklidir.

Keçiboynuzu öz veya pekmezlerinin özellikle solunum yolu enfeksiyonlarından korunma gibi sağlık iddialarının temelinde, kuvvetli bir antimikrobiyal aktivitenin olmadığı ama az da olsa görülen antioksidan aktivitenin bu etkiye katkıda bulunabileceği söylenebilir.

Sonuç olarak; Keçiboynuzu meyvesi Türkiye’de ve dünyada yetişen ve yetiştirilen şeker içeriği yüksek bir meyvedir. Zengin şeker içeriğinden kaynaklanan enerji verici özelliğinin yanı sıra yüksek miktarda diyet lifi içermesi, mineral madde ve fenoliklerce zengin olması gibi özellikleriyle yetişkin ve çocuk beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. İçeriğindeki D-pinitol ile diyabet gibi tüm dünyayı etkileyen bir hastalık üzerinde etkili ürünler üretilebilecek potansiyele sahiptir. Ayrıca özellikle gıda sanayisi olmakla beraber çoğu farklı alanda kullanımı yaygın olan bir katkı maddesi olan gam, Keçiboynuzu çekirdeklerinden üretilmektedir. Bu durum hem çekirdeğinin hem de meyvenin kendisinin ekonomik açıdan değerli olduğunu göstermektedir. Bu tezin, Fitoterapi alanında yapılmış olması dolayısıyla, Çizelge 4.8.’de yapılan literatür çalışmalarını da kapsayan Keçiboynuzunun aktif bileşikleri ve biyolojik aktiviteleride sunulmuştur.

Çizelge 6. 1.Keçiboynuzunun aktif bileşikleri ve biyolojik aktiviteleri [2]

Kimyasal madde/ madde grubu	Aktivite	Bitki kısmı/fraksiyon
Galaktomannan/ Keçiboynuzu zamkı	Gastrointestinal etkiler	Tohum endospermi
D-pinitol	Antidiyabetik aktivite	Meyve etli kısım
Gallik asit, gallotanen, flavonol glikozitleri/ Çözünen ve çözünmeyen diyet lif polifenoller	Glisemik kontrol, artan lipit metabolizması, total ve LDL kolesterolde düşme	Meyve etli kısım
Tanen, selüloz, hemiselüloz, lignin, pektin/ çözünmeyen diyet lif polifenoller	Kolesterol metabolizması, artan lipit oksidasyonu, postprandialaçillenmişgirelin miktarında azalma	Meyve etli kısım
Gallik asit, kateşin, mirsetinramnozid, eriyodiktiyolglukozit, kersetinglukozit, kersetinramnozid/Polifenoller	Antikanser	Lif
Gallik asit, ferulik asit, mirsetin, klorojenik asit, siringik asit, metil gallat, kersetin, rutin, kateşol, vanilin, teofilin, (+)-kateşin/Polifenol-alkaloit	Sitotoksik aktivite	Tohum unları
Lif	Beslenme,	Lif
Lif	Hiperlipidemik etkiler	Lif
Tanen-polifenoller	Antidiyareik etkiler	Meyve
Tanen-pektin	Antidiyareik etkiler	Meyve suyu

Dünya genelinde toplumların beslenme ve sağlık konusunda bilinçlenmesi buna bağlı olarak doğal ve mümkün olduğunca işlenmemiş ürünlere olan ilgiyi arttırmıştır. Keçiboynuzu da bu tanıma gerek yetiştirme gerek keçiboynuzundan üretilen ürünlerin üretim koşullarıyla tam olarak uyum sağlamaktadır. Keçiboynuzu meyvesinin ve bu meyveden üretilen ürünlerin tüketimi, üretimi desteklenmeli ve Keçiboynuzu meyvesi hakkında yapılan araştırmalar detaylandırılmalı ve çoğaltılmalıdır. Pekmez veya özlerinin iddia edilen antimikrobiyal aktivitelerinden dolayı değil de özellikle demir, kalsiyum, fosfor ve çinko vb. gibi minerallerden yana zengin olması, D-pinitol içermesi ve diğer pekmezlerle göre daha düşük glisemik indekse sahip olması sebebiyle tüketilmesi önerilmelidir.



KAYNAKLAR

1. Tetik N., Turhan İ., Karhan M. ve Öziyici H. R. (2010). Characterization of, and 5-hydroxymethylfurfural concentration in carob pekmez. *Gıda*, 35(4), 1-6.
2. Goulas V., Stylos E., Chatziathanasiadou M., Mavromoustakos T. and Tzakos A. (2016). Functional components of carob fruit: linking the chemical and biological space. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 1875.
3. İnternet: Authorname. “TÜBİVES *Ceratonia siliqua*”. Web: http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=2390. Son Erişim Tarihi: 18-Eki-2019.
4. Pazır F. ve Alper Y.(2016). Keçiboynuzu meyvesi (*Ceratonia siliqua* L.) ve sağlık. *Akademik Gıda*, 14(3), 333-338.
5. İnternet: Authorname. Το χαρούπι από τροφή της κατοχής, «μαύρος χρυσός» στην Ελλάδα της κρίσης – Newsbeast. Web: <https://www.newsbeast.gr/weekend/arthro/1919182/to-charoupi-apo-trofi-tis-katochis-mavros-chrisos-stin-ellada-tis-krisis>. Son Erişim Tarihi: 18-Eki-2019.
6. İnternet: Authorname. TrekNature | *Ceratonia siliqua* Photo. Web: https://www.treknature.com/gallery/Middle_East/Cyprus/photo280328.htm. Son Erişim Tarihi: 18-Eki-2019.
7. Akman G. ve Güney K. (2010). *Bitki biyolojisi: botanik*. Ankara: Palme Yayıncılık, 438-445.
8. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2007). *Farmasötik botanik*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 232-233.
9. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2002). *Farmasötik botanik uygulama*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 145-191.
10. Souza J. M. T., Snak C. and Varassin I. G. (2017). Floral divergence and temporal pollinator partitioning in two synchronopatric species of *Vigna* (Leguminosae-Papilionoideae). *Arthropod-Plant Interact*, 11(3), 285-297.
11. Batlle I. and Tous J. (1997). Carob tree *Ceratonia siliqua* L. Italy: International Plant Genetic Resources Institute, 1-92.
12. Çetinay Ş., Güler S., Coşgun S., Şahin M. ve Güngöroğlu C. (2013). Doğal ve Aşılı Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) Ağaçlarının meyve ve tohum özellikleri bakımından karşılaştırılması (Köprülü Kanyon Milli Parkı Örneği). *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 17(1), 64-69.
13. Karkacier M. ve Artık N. (1995). Keçiboynuzunun (*Ceratonia siliqua* L.) fiziksel özellikleri, kimyasal bileşimi ve ekstaksiyon koşulları. *Gıda*, 20(03), 131-136.
14. Davis P. H. (1969). *Flora of Turkey and East Aegean Islands*, Vol. 3. Edinburgh: Edinburgh University Press, 7.

15. İnternet: Authorname. Keçiboynuzu ağacı yaprağı / Leaf of carob tree / Blatt der Johannisbrotbaum. Web: http://traglor.cu.edu.tr/common/object_show.aspx?id=875. Son Erişim Tarihi: 18-Eki-2019.
16. İnternet: Authorname. Amazon.com: Carob Tree, *Ceratonia siliqua*, Authentic Chocolate Tree of Creta, 60 Fresh Seeds: Home & Kitchen. Web: <https://www.amazon.com/Carob-ceratonia-Siliqua-Authentic-Chocolate/dp/B07KX67P5Q>. Son Erişim Tarihi: 18-Eki-2019.
17. Heller J., Hammer K. and Engels J. M. M., “Carobtree. *Ceratonia siliqua* L”, *IPK IPGRI Rome Italy*, sy 17, 1997.
18. Coppen J. J. W. (1995). Gums, resins and latexes of plant origin. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 43-45.
19. Yeşilada E. (2015). Keçiboynuzu meyvesi sadece bir yemiş mi yoksa deva mı? *Eczanem Dergisi*, Ocak- Şubat 2015, 24-26.
20. Baytop T. (2007). *Türkçe bitki adları sözlüğü*, 3. baskı. Ankara: Türk Dil Kurum Yayınları, 166.
21. İnternet: Authorname. aphroditerentials8509, “Friday’s Fact About: The wonders of the Carob tree”, aphroditerentials 8509, 23-Oca-2015. Web: NCBDT64Y/fridays-fact-about-the-wonders-of-the-carob-tree.html. Son Erişim Tarihi: 18-Eki-2019.
22. Ramon-Laca L. and Mabberley D. J. (2004). Theecologicalstatus of thecarob-tree (*Ceratonia siliqua*, Leguminosae) in the Mediterranean. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 144, 431–436.
23. Sarı O. A., Oğuz B., Bilgiç A., Tort N., Güvensen A. ve Şenol S. G. (2010). Ege ve Güney Marmara Bölgelerinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler. *Anadolu*, 20 (2), 1-21.
24. Hillcoat D., Lewis G. and Verdcour B. (1980). A new species of *Ceratonia* (Leguminosae–Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. *Kew Bulletin*, 35, 261–271.
25. Zohary D. (2002). Domestication of the carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Israel Journal of Plant Sciences*, 50, 141–145.
26. Palamarev E., Kitanov G., Staneva K. and Bozukov V. (2000). Fossil flora from Paleogene sediments in the Northern area of the Mesta Graben in the Western Rhodopes. II. Analysis and stratigraphic importance of the flora. *Phytologia Balcanica*, 6, 3–11.
27. Demirezer Ö., Ersöz T., Saraçoğlu İ., Köroğlu B. ve Yalçın F. N. (2017). FFD Monografıları Bitkiler ve Etkileri. Ankara: Akademisyen Kitapevi, 243-250.
28. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (2016). Compendium of Food Additive Specifications. Compendium of Food Additive Specifications, 82nd meeting, 8.

29. Joint FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, "Volume 4". (1994). Codex Alimentarius, 47.
30. Martindale W. and Sweetman S. C. (2009). Martindale: The complete drug reference, 36. ed. London. Chicago: Pharmaceuticale Press, 153.
31. Ayaz F. A., Torun H., Ayaz S., Correia P. J., Alaiz M., Sanz C, Gruz J. and Strnad M. (2007). Determination of chemical composition of anatolian carob pod (*Ceratonia siliqua* L.): sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. *Journal of Food Quality*, 30 (6),1040-1055.
32. Avallone R., Plessi M., Baraldi M. and Monzani A. (1997). Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10 (2), 166-172.
33. Felker P. and Moss J. (1996). *Prosopis: Semiarid Fuelwood and Forage Tree Building Consensus for the Disenfranchised. U.S. National Academy of Sciences Building 2101 Constitution Avenue, Washington, D.C., 3-9.*
34. Youssef M. K. E., El-Manfaloty M. M. and Ali H. M. (2013). Assessment of proximate chemical composition, nutritional status, fatty acid composition and phenolic compounds of carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Food and Public Health*, 3 (6), 304-308.
35. Ahmad M. H. and Abuerreish G. M. (2012). Carob fruit as source of carbon and energy for production of *Saccharomyces cerevisiae*. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 5 (3), 209 - 214.
36. Henis Y., Tagari H. and Volcani R. (1963). Effect of water extracts of carob pods, tannic acid and their derivatives on the morphology and growth of microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 12 (3), 204-209.
37. Bengoechea C., Romero A., Villanueva A., Moreno G., Alaiz M., Milla'n F., Guerrero A. and Puppo M.C.(2008). Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua* L.) germ proteins. *Food Chemistry*, 107, 675-683.
38. Hsouna A. B., Saoudi M., Trigui M., Jamoussi K., Boudawara T., Jaoua S. ve El Fek A.(2011). Characterization of bioactive compounds and ameliorative effects of *Ceratonia siliqua* leaf extract against CCl₄ induced hepatic oxidative damage and renal failure in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 3183-3191.
39. Batal H. E., Hasib A., Ouatmane A., Boulli A., Dehbi F. and Jaouad A. (2013). Yield and composition of carob bean gum produced from different Moroccan populations of carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal of Materials and Environmental Science*, 4 (2), 309-314.
40. İnternet: Authurname. Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey - ScienceDirect. Web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605010824>. Son Erişim Tarihi: 07-Eki-2019.

41. Akkaya Z., Schröder J., Tavman S., Kumcuoglu S., Schuchmann H. P. ve Gaukel V. (2012). Effects of spray drying on physical properties, total phenolic content and antioxidant activity of carob molasses. *International Journal of Food Engineering*, 8 (4), Article 20.
42. Klenow S., Jahns F., Pool-Zobel B. L. and Gleis M. (2009). Does an extract of carob (*Ceratonia siliqua* L.) have chemopreventive potential related to oxidative stress and drug metabolism in human colon cells? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28 2999-3004.
43. Demirtaş Ö. (2007). *Keçiboynuzu (Ceratonia siliqua) çekirdeklerinden gam üretimi*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 1-37.
44. Akan L. S. (2018). Production and characteristics of a traditional food: molasses (Pekmez). *Food Science and Nutrition Studies*, 2 (2), 25-32.
45. Tsatsaragkou K., Yiannopoulos S., Kontogiorgi A., Poulli E., Krokida M. and Mandala I. (2012). Mathematical approach of structural and textural properties of gluten free bread enriched with carob flour. *Journal of Cereal Science*, 56 (3), 603-609.
46. Theophilou I. C., Neophytou C. M., Kakas A. and Constantinou A. I. (2017). Carob and its components in the management of gastrointestinal disorders. *Journal of Hepatology & Gastroenterology*, 1 (1), 1- 5.
47. Custódio L., Custódio L., Escapa A. L., Fernandes E., Fajardo A., Aligué R., Alberício F., Neng N., Nogueira J. M. F. and Romano A. (2011). Phytochemical profile, antioxidant and cytotoxic activities of the carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) germ flour extracts. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66. 78-84.
48. Public Information Tobacco Control (PITOC) (2012). *Additives in Tobacco Products, Contribution of Carob Bean Extract, Cellulose Fibre, Guar Gum, Liquorice, Menthol, Prune Juice Concentrate and Vanillin to Attractiveness, Addictiveness and Toxicity of Tobacco Smoking*. Heidelberg, Germany.
49. Parrado J., Bautista J., Romero E. J., García-Martínez A. M., Friaiza V. and Tejada M. (2008). Production of a carob enzymatic extract: Potential use as a biofertilizer. *Bioresource Technology*, 99, 2312-2318.
50. Özhan N. B. (2008). *Depolama süresince keçiboynuzu pekmezinde enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları kinetiği*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1-40.
51. Metin Z. E. (2014). *Ankara piyasasında satışa sunulan nar ekşisi, nar ekşisi sosu ve üzüm pekmezlerinin hidrosimetilfurfural düzeyinin saptanması*. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1-37.
52. Kumazawa S., Taniguchi M., Suzuki Y., Shimura M., Kwon M. S. and Nakayama T. (2002). Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 373-377.

53. Hajaji H. E., Lachkar N., Alaoui K., Cherrah Y., Farah A., Ennabili A., El Bali B. and Lachkar M. (2010). Antioxidant properties and total phenolic content of three varieties of carob tree leaves from Morocco. *Records of natural products*, 4(4), 193-204.
54. Hajaji H. E., Lachkar N., Alaoui K., Cherrah Y., Farah A., Ennabili A., El Bali B. and Lachkar M. (2011). Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. *Arabian Journal of Chemistry*, 4, 321-324.
55. Aliyazicioglu R., Kolaylı S., Kara M., Yıldız O., Sarıkaya A. O., Cengiz S. and Er F. (2009). Determination of chemical, physical and biological characteristics of some pekmez (molasses) from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21(3), 2215-2223.
56. Tounsi L., Ghazala I. and Kechaou N. (2019). Physicochemical and phytochemical properties of Tunisian carob molasses. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-11.
57. Kivçak B., Mert T. ve Öztürk H. T. (2002). Antimicrobial and cytotoxic activities of *Ceratonia siliqua* L. Extracts. *Turkish Journal of Biology*, 26, 197-200.
58. Ibrahim A. H., El-Baky R. M. A., Desoukey S. Y., Abd-Lateff A. and Kamel M. S. (2013). Bacterial growth inhibitory effect of *Ceratonia siliqua* L. plant extracts alone and in combination with some antimicrobial agents. *Journal of Advanced Biotechnology and Bioengineering*, 1, 3-13.
59. Sassi A., Bouhlel I., Mustapha N., Bzeouich I. M., Chaabane F., Ghedira K. and Chekir-Ghedira L. (2016). Assessment in vitro of the genotoxicity, antigenotoxicity and antioxidant of *Ceratonia siliqua* L. extracts in murine leukaemia cells L1210 by comet assay. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 77, 117-124.
60. Makris D. P. and Kefalas P. (2004). Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Technology and Biotechnology*, 42 (2), 105-108.
61. Vafaei A., Mohammadi S., Fazel A., Soukhtanloo M., Mohammadipour A. and Beheshti F. (2018). Effects of carob (*Ceratonia siliqua*) on sperm quality, testicular structure, testosterone level and oxidative stress in busulfan-induced infertile mice. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24 (2), 104-111.
62. Ortmeyer H. K., Huang L. C., Zhang L., Hansen B. C. and Larner J. (1993). Chiroinositol deficiency and insulin resistance. II. Acute effects of D-chiroinositol administration in streptozotocin-diabetic rats, normal rats given a glucose load, and spontaneously insulin-resistant rhesus monkeys. *Endocrinology*, 132 (2), 646-651.
63. Elhalim S. A.A., Sharada H. M., Abulyazid I., Aboulthana W. M. and Elhalim S. T. A. (2017). Ameliorative effect of carob pods extract (*Ceratonia siliqua* L.) against cyclophosphamide induced alterations in bone marrow and spleen of rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7 (10), 168-181.
64. Souli A., Sebai H., Chehimi L., Rtibi K., Tounsi H., Boubaker S., Sakly M., El-Benna J. and Amri M. (2013). Hepatoprotective effect of carob against acute ethanol-induced oxidative stress in rat. *Toxicology and Industrial Health*, 31, 1-9.

65. Elmhdwi M. F. (2013). Effect of Carob (*Ceratonia siliqua* L.) growing in Libya on cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. *Der Pharmacia Sinica*, 4 (4), 41-46.
66. Ruiz-Roso B., Quintela J. C., de la Fuente E., Haya J. and Pérez-Olleros L. (2010). Insoluble carob fiber rich in polyphenols lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic subjects. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65, 50-56.
67. Fırıncıahmetoğlu E. S. (2013). *Erişkinlerde keçiyoynuzu ununun kan lipit profiline etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1-155.
68. Georgieva M. (2016). Effects of carob-bean gum thickened formulas on infants reflux and tolerance indices. *World Journal of Clinical Pediatrics*, 5(1), 118-127.
69. Iacono G., Ietrano S., Cataldo F., Ziino O., Russo A., Lorello D., D'amico D., Di Rosa C., Le Moli C., Di Prima L., Giannitrapani L. and Cavataio F. (2002). Clinical trial with thickened feeding for treatment of regurgitation in infants. *Pediatric Gastroenterology*, 34 (7), 532-533.
70. Prieto P., Pimeda M. and Aguilar. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin, E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.
71. Pellegrini R., Proteggente N., Pannala A., Yang A., Rice Evans M. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation colorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
72. Rex J. H., Alexander B. D., Andes D., Arthington-Skaggys B., Brown S. D., Chaturvedi V., Ghannoum M. A., Espinel-Ingroff A., Kanpp C. C., Ostrosky-Zeichner L., Pfaller M. A., Sheehan D. J. and Walsh T. J. (2008). *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard, 3rd ed.* Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1-25.
73. Özer B., Babayiğit C., Çolak S., Önlü C., Çimen F., Boyacıgil İ. ve Akkücüük Ş. (2016). Pnömoni Etkenleri ve Antimikrobiyal Direnç Durumları. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi*, 7(26), 45-53.
74. Afshar F. H., Delazar A., Nazemiyeh H., Esnaashari S. and Moghadam S. B. (2012). Comparison of the Total Phenol, Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Methanolic Extracts of *Artemisia spicigera* and *A. splendens* Growing in Iran. *Pharmaceutical sciences*, 18(3), 165-170.
75. Çelik S. F. (2014). *Antioxidant activity and polyphenol composition of sesame paste and grape molasses blends*. M. Sc. Thesis, Istanbul Technical University Graduate School of Science Engineering And Technology, İstanbul, 1-69.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı :SULAK, Ergun Murat
 Uyruğu :T.C.
 Doğumtarihi ve yeri :15.02.1988, Konya-Ereğli
 Medeni hali :Evli
 Telefon :05056651251
 E-mail :ergunmuratsulak@yahoo.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/Farmakognozi Anabilim Dalı Fitoterapi Programı	Devam ediyor
Açıköğretim	Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Web Tasarım ve Kodlama Bölümü	Devam ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2011
Lise	Konya Atatürk Anadolu Öğretmen Lisesi	2006

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2011-devam ediyor	Sulak Eczanesi	Sahip ve Mesul Müdür

Hobiler

Ney üflemek, Ahşap işlemek, Kodlama ile pratik uygulamalar geliştirmek, Bilgisayar teknolojilerini takip etmek, minyatür yapmak ve biriktirmek, evcil hayvan beslemek.

Yabancı Dil

İngilizce



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

