

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Citrus limon* (Limon) MEYVESİNİN  
KABUK, İÇ ZAR VE YAPRAK ÖZÜTLERİNİN BİYOLOJİK  
AKTİVİTE POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ ve  
*Stenotrophomonas maltophilia* ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**BİYOLOJİ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**AFAN OMAR AMEEN**

**Ağustos 2019**

**Ağustos 2019**

**Yüksek Lisans Tezi Biyoloji**

**AFAN OMAR AMEEN**

***CITRUS LİMON* (LİMON) MEYVESİNİN KABUK, İÇ ZAR VE YAPRAK  
ÖZÜTLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTE POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ  
VE *STENOTROPHOMONAS MALTOPHİLİA* ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Gaziantep Üniversitesi**

**Biyoloji**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman**

**Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN**

**Afan Omar AMEEN**

**Ağustos 2019**



©2019 [Afan Omar AMEEN

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tezin Başlığı : *Citrus limon* (Limon) Meyvesinin Kabuk, İç Zar Ve Yaprak  
Özütlerinin Biyolojik Aktivite Potansiyelinin Belirlenmesi ve  
*Stenotrophomonas maltophilia* Üzerine Etkilerinin  
Araştırılması

Öğrencinin, Adı Soyadı : Afan Omar AMEEN

Tez Savunma Tarihi : 07.08.2019

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Necmeddin YAZICI  
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans olarak gerekli şartları sağladığımı onaylıyorum.

Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER  
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN  
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvanı, Adı ve Soyadı):

İmzası

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

.....

Doç.Dr. Işık Didem KARAGÖZ

.....

Doç.Dr. Mustafa ÇETİN

.....

**İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.**

**Afan Omar AMEEN**

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF THE EFFECT OF *Citrus lemon* (lemon) ENDOCARP, SKIN and LEAF PLANT EXTRACTS ON DNA PROTECTIVE ACTIVITIES and *Stenotrophomonas maltophilia*

AMEEN, Afan Omar

M.Sc. in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Ağustos 2019

69 Pages

In alternative treatments in the world, vegetable extracts are known to be used for therapeutic purposes in many diseases. The fact that our country has different climatic and ecological conditions, Flora contains many plant species and diversity and therefore there are many plant species consumed for medical purposes in our country. Most of these plants have antimicrobial effects, and they have been determined both in Turkey and abroad, and they are still working on them. Studies on lemon have shown that the antioxidant capacity of lemon is very high. The shell is intense during work on volatile oil. In addition to the biological activity of the endocarp, skin and leaf parts of the lemon juice, it is also important to determine the DNA protective activity. For these purposes, the extracts of Lemon endocarp, skin and leaf were extracted with various solvents (Water, Methanol, Hexane, Dichloromethane) and the extracts obtained afterwards were prepared for biological activity analysis. The same extracts were then prepared and made available for another study, DNA-protective activity determination assays. As a result of the study, it was determined that the water extract from the lemon leaf and the tiller extract had the antibacterial effect on the *Stenotrophomonas maltophilia* bacteria. The antioxidant capacity determination study showed that the best antioxidant effect was found in the methanol extract of the lemon endocarp. As a result of DNA protective activity analysis, it was determined that all extracts had DNA protective effect.

**Key words:** Antimicrobial, DNA Protective Effect, UV, Antioxidant, *Citrus limon*

## ÖZET

### ***Citrus limon* (Limon) MEYVESİNİN KABUK, İÇ ZAR ve YAPRAK ÖZÜTLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTE POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ ve *Stenotrophomonas maltophilia* ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**AMEEN, Afan Omar**

**Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji**

**Tez Danışmanı Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN**

**Ağustos 2019**

**69 Sayfa**

Dünya’da alternatif tedavilerde, bitkisel ekstrakter birçok hastalıkta tedavi amaçlı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Ülkemizin farklı iklim ve ekolojik koşullara sahip olması, floranın çok sayıda bitki türü ve çeşitliliği içermesi ve bundan dolayı da ülkemizde tıbbi amaçlı tüketilen bir çok bitki türü bulunmaktadır. Bu bitkilerin birçoğunun antimikrobiyal etkileri olduğu gerek yurt dışında, gerek ülkemizde yapılan çalışmalarda saptanmıştır ve bunlar üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Limon üzerine yapılan çalışmalarda limonun antioksidan kapasitesinin çok olduğu çalışmalar ile gösterilmiştir. Kabuk uçucu yağı üzerinde yapılan çalışmalarda yoğunluktadır. Tüm bu bilgiler ışığında Limon meyvesinin kabuk, iç zar ve yaprak kısımlarının biyolojik aktivitesi yanında DNA koruyucu aktivitesinin belirlenmesi de büyük önem taşımaktadır. Bu amaçlar çalışmamızda Limon kabuk, iç zar ve yaprak kısımları çeşitli solventler (Su, Metanol, Hekzan, Diklorometan) yardımıyla özütleme işlemine tabii tutulmuş ve sonrasında elde edilen ekstraktlar biyolojik aktivite analizleri için hazır hale getirilmiştir. Daha sonra aynı ekstraktlar hazırlanarak diğer bir çalışma olan DNA koruyucu aktivite belirleme analizleri için uygun hale getirilmiştir. Çalışma sonucunda Limon yaprağından su çözücüsü ile ilde ekstraktın *S. maltophilia* bakterisi üzerine antibakteriyel etkisinin olduğu saptanmıştır. Antioksidan kapasitesi belirleme çalışması sonucunda ise en iyi antioksidan etkiyi Limon iç zar metanol özütünde olduğu saptanmıştır. DNA koruyucu aktivite analizi sonucunda tüm özütlerin DNA koruyucu etkisinin olduğu saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal, DNA Koruyucu, UV, Antioksidan, *Citrus limon*



*Canım aileme...*



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin başından sonuna kadar tüm bilgilerini benimle paylaşan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan aynı zamanda kişilik olarak ve hayati anlamda da bana çok şey katan çok değerli danışman hocam, sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN'a;

Yüksek lisans eğitimim süresince büyük yardımlarını gördüğüm, bilgi, deneyimleriyle her türlü konuda bana yol gösteren, bilime bakış açısını ve insani değerlerini kendime örnek aldığım değerli hocam sayın Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ'a;

Engin bilgi ve tecrübeleriyle bilimsel veya herhangi bir konuda bizlere en doğru yolu göstermekten hiç kaçınmayan değerli hocam sayın Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ'E;

Yüksek lisans dönemim süresince her zaman bana destek olan, yardımlarını ve dostluklarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Uzman Biyolog Sami Serhat TONUS'a, Uzman Biyolog Bekir Sıddık KURT'a;

Bütün öğrenim hayatım boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayarak her zaman yanımda olan, beni her zaman en iyisini yapabileceğime inandıran, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve sonuna kadar yanımda olacaklarına inandığım haklarını asla ödeyemeyeceğim Kıymetli Aileme;

Sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım...

## İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>vi</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>viii</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>BÖLÜM I</b> .....	<b>1</b>
<b>GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.Giriş 1	
1.1.Ekstraksiyon Teknikleri .....	4
1.2.1.Maserasyon .....	4
1.2.2.Soxhlet Ekstraksiyonu.....	4
1.2.3.Basınçlı Solvent Ekstraksiyonu .....	5
1.3. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .....	6
1.4.Tıbbi ve Aromatik Bitkiler .....	7
1.5. <i>Citrus lemon</i> L. (Limon).....	8
1.6.Bitkisel Sekonder Metabolitler .....	11
1.6.1.Fenolik ve Flavonoid Maddeler .....	12
1.7.Serbest Radikaller .....	14
1.7.1.Serbest Radikal Oluşumuna Neden Olan Başlıca Mekanizmalar .....	15
1.7.2.Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri .....	16
1.8.Antioksidanlar ve Sınıflandırılması .....	17
1.8.1.Antioksidanların Etkileri.....	22
1.9. DNA.....	23
1.9.1.Oksidatif DNA Hasarının Neden Olduğu Biyolojik Sonuçları .....	28
1.10.DNA Koruyucu Aktivite.....	30
1.11.Antimikrobiyal Aktivite.....	30
<b>BÖLÜM 2</b> .....	<b>32</b>
<b>LİTERATÜR ÖZETİ</b> .....	<b>32</b>
2.1.Literatür Özeti.....	32

<b>MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>35</b>
3.1. <i>Citrus limon</i> Özütlerinin Elde Edilmesi.....	35
3.1.1.Materyal .....	35
3.1.2 Bitki Özütlerinin Hazırlanması .....	35
3.2. <i>Citrus limon</i> Özütlerinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi İçin .....	35
Kullanılan Parametre ve Yöntemler.....	35
3.2.1.ABTS Yöntemi ile Total Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi .....	35
3.2.2 Total Antioksidan Seviye Belirleme .....	37
3.3. <i>Citrus limon</i> Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivite Tayini .....	38
3.3.1.Materyal .....	38
3.3.2.Test Mikroorganizması: <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> .....	38
3.3.3.Disk Difüzyon Yöntemi .....	39
3.4. <i>Citrus limon</i> Özütlerinin DNA Koruyucu Potansiyelinin Belirlenmesi .....	40
3.4.1.Materyal .....	40
3.4.2.Protokol.....	40
3.4.3.Kontrol ve Özütlerin Hazırlanması .....	40
<b>BÖLÜM 4</b> .....	<b>42</b>
<b>BULGULAR</b> .....	<b>42</b>
4.1. <i>Citrus limon</i> Kabuk, İç zar, Yaprak kısımlarının TAS ve TOS Aktivite.....	42
Bulguları .....	42
4.1.1.TAS Değeri ve Grafikleri.....	42
4.1.2.TOS Değeri ve Grafikleri.....	44
4.2. <i>Citrus limon</i> Kabuk, İç zar, Yaprak Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivite .....	46
Potansiyelinin Belirlenmesi .....	46
4.3. <i>Citrus limon</i> (Limon) Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivite Bulguları .....	49
<b>BÖLÜM 5</b> .....	<b>50</b>
<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>50</b>
<b>BÖLÜM 6</b> .....	<b>56</b>
<b>SONUÇ</b> .....	<b>56</b>
<b>BÖLÜM 7</b> .....	<b>57</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>57</b>

## TABLULAR LİSTESİ

Sayfa

<b>Tablo1.1</b> Serbest radikaller ve etkilediği moleküller.....	16
<b>Tablo 1.2</b> Antioksidanların sınıflandırılması.....	18
<b>Tablo 1.3</b> Reaktif Oksijen Türleri tarafından oluşturulan karakterize pirimidin hasarları ve biyolojik sonuçları.....	25
<b>Tablo 2.1</b> TAS Değerleri.....	42
<b>Tablo 2.2</b> TAS Referans Değerleri.....	42
<b>Tablo 2.3</b> TOS Değerleri.....	44
<b>Tablo 2.4</b> TOS Referans Değerleri.....	44
<b>Tablo 2.5</b> <i>Citrus limon</i> Kabuk, İç zar ve Yaprak özütlerinin Antioksidan ve oksidan değerleri.....	45
<b>Tablo 2.6</b> Disk Difüzyon Yöntemi sonucunda ölçülen zon çapları.....	46

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ' nın mikroskop görüntüsü.....	7
Şekil 1.2 d-limonen Kimyasal Yapısı.....	8
Şekil 1.3 $\gamma$ -terpinen Kimyasal Yapısı.....	8
Şekil 1.4 terpinolen Kimyasal Yapısı.....	9
Şekil 1.5 $\alpha$ -bergamoten Kimyasal Yapısı.....	9
Şekil 1.6 $\beta$ -bisabolen Kimyasal Yapısı.....	9
Şekil 1.7 <i>Citrus lemon</i> L. (Limon) Bitkisinin genel bitki şeması.....	10
Şekil 1.8 Polifenol Alt Sınıfları.....	12
Şekil 1.9 Flavonodilerin Molekül Yapıları.....	13
Şekil 1.10 Serbest Radikaller.....	15
Şekil 1.11 DNA'da sık görülen oksidatif baz analogları .....	24
Şekil 1.12 OH radikalinin meydana getirdiği bazı ürünler.....	26
Şekil 1.13 DNA'da sık olarak rastlanan oksidatif şeker bozulmaları.....	26
Şekil 1.14 DNA'da meydana gelebilecek oksidatif nedenli hasarların gösterimi.....	27
Şekil 1.15 DNA hasarının neden olduğu biyolojik sonuçlar.....	29
Şekil 2.1 Disk Difüzyon yönteminde kullanılan Blank Disk.....	38
Şekil 2.2 Örnek bir zon çapı ölçümü.....	39
Şekil 3.1 TAS Değerleri Grafiği.....	34
Şekil 3.2 TOS Değerleri Grafiği.....	44
Şekil 3.3 Özütlerin TAS-TOS değerlerinin toplu gösterim grafiği.....	45
Şekil 3.4 Disk difüzyon testi sonucu.....	47
Şekil 3.5 Disk difüzyon testi sonucu.....	47
Şekil 3.6 Disk difüzyon testi sonucu.....	48
Şekil 3.7 Disk difüzyon testi sonuçları .....	48
Şekil 3.8 <i>Citrus limon</i> zar, kabuk ve yaprak Özütlерinin jel görüntüsü.....	49

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>UV</b>	:Ultraviyole Işın
<b>VIS</b>	:Görünür Işın
<b>EUCAST</b>	:Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
<b>MHA</b>	:Mueller-Hinton Agar
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	:Distile su
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	:Hidrojen Peroksid

## BÖLÜM I

### GİRİŞ

#### 1. Giriş

Bitkiler yüzyıllardır insan sağlığı ve yaşam standardını yükseltmek için kullanılmaktadırlar. Ülkemiz bulunduğu konum nedeniyle bitkisel biyoçeşitlilik bakımından önemli bir merkezdir. Türkiye çeşitli kültür bitkilerinin yetiştirilmesi için gerekli iklim koşullarına ve uygun toprak yapısına sahiptir. Ülkemiz yaklaşık olarak 174 familyaya ait 1251 cins ve 12000 tür ve alt tür olmak üzere geniş bir bitki çeşitliliğine sahiptir. Bunlardan yaklaşık olarak 500 kadarı tıbbi olarak kullanılabilir. Bu bitkilerin 200 tanesi de hem tıbbi hem de aromatik amaçlı kullanılmakta ve yurt dışına satılmaktadır (Erik ve Tarıkahya, 2004).

Tıbbi ve aromatik bitkiler, hastalığın önlenmesi, sağlıklı olan yaşamı sürdürmek veya var olan hastalıkların iyileştirilmesi için alternatif tedavi yöntemi olarak kullanıma sahiptirler. Çağımızda tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanım alanlarının artmasıyla birlikte, bitki ve bitkisel ürünlere olan talep artmıştır. Bu durum bitkilerin kullanımını arttırmakla birlikte yapılan çalışmaların artmasını sağlamıştır (Bayram vd.,2010).

Son yıllarda fonksiyonel gıdalara karşı; kan basıncını düşürme, antioksidan ve anti-inflamatuvar etki göstermeleri bakımından fizyolojik yararlarına ek olarak besinsel değerleri ve enerji verici özellikleri nedeniyle, gittikçe artan bir ilgi söz konusudur. Fonksiyonel gıda ise, bir veya daha fazla fizyolojik fonksiyonda yararlı etki yaratan, birçok önemli hastalığa yakalanma riskini önleyen ya da geciktiren gıdalar olarak tanımlanabilmektedir ve bunlar fonksiyonel gıdalar, doğal antioksidanlar ve lifli yapılar gibi fitokimyasallardan oluşmaktadır. Fitokimyasallar da (bitki kimyasalları, biyoaktif bileşikler); karbonhidrat, yağ ve protein gibi makrobesinler olarak bilinen ve sağlığımız için gerekli olan on üç adet vitamin ve on yedi adet

mineralin dışındaki bitkisel kaynaklı, çoğunlukla polifenollerden oluşan ve insan yaşamı için gerekli olan bileşiklerdir (Şahin, 2011).

Tüm gıdalarında yapı olarak, 5000 ve 25000 arasında bireysel fitokimyasal madde içerdiği öngörülmektedir (Acosta-Estrada vd., 2014). Özellikle bitkilerde bulunan fitokimyasallar, hücreleri zararlı radikallerin saldırılarından korumak için serbest radikallerle birleşmektedir.

Serbest radikaller insan organizmasındaki yağlar, proteinler ve nükleik asitler gibi çeşitli moleküllerde oksidatif hasara neden olmakta olup kanser, kardiyovasküler düzensizlik, astım, diyabet gibi çok sayıda dejeneratif hastalığa ve yaşlanmaya yol açmaktadır (Kalinowska vd., 2014). Epidemiyolojik çalışmalar meyve ve sebze tüketiminin kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklar, diyabet ve alzheimer gibi kronik hastalıkların önlenmesi üzerine önemli ve pozitif yönde bir ilişki olduğunu göstermektedir (Abeysinghe vd., 2007).

Bu yönde yapılan 206 adet insan epidemiyolojik çalışması ve 22 adet deney hayvanlarına ait bilimsel makale derlendiğinde; mide, yemek borusu, gırtlak, yutak, akciğer, pankreas, kolon ve endometrium kanserinde meyve ve sebzelerin tüketiminin koruyucu etki sağladığı belirlenmiştir (Selen İşbilir, 2008). Bu nedenle koruyucu etkilerinden ötürü polifenoller (fenolik bileşikler) gibi antioksidanlarca zengin gıdaların tüketilmesi son derece önemlidir (Kalinowska vd., 2014).

Polifenoller bitkisel kaynaklı matrikslerde mikroorganizma ve güçlü ultraviyole (UV) radyasyonuna karşı bir savunma mekanizması olarak sentezlenmektedir. Fenolik bileşiklerin; yapıları, hidrojen – verici potansiyelleri ve metal iyonları ile şelat oluşturma yetenekleri bakımından in vitro olarak yapılan deneylerde çok güçlü antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Martinez, 2007).

Limon ve portakal posası gibi turuncgillerin yan ürünleri fenolik bileşik gruplarına sahip olup, doğal flavonoid kaynağı olarak kabul edilmektedir. Turuncgillerin büyük bir kısmını oluşturan narenciyelerin meyve kabuklarının flavonoid miktarının yüksek olduğu bildirilmiştir.(Benelli vd., 2010).



Bu narenciye kabuklarının da özellikle naringin, hesperidin, narirutin ve neohesperidin olmak üzere karakteristik flavanone glikozitler açısından zengin olduğu bildirilmektedir (Khan vd., 2014).

Orinstein ve ark. limon, portakal ve greyfurt üzerinde yaptıkları çalışma ile kabuktaki toplam fenolik madde miktarının soyulmuş meyveye göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Gorinstein vd., 2001).

Birçok araştırmacı farklı köken ve çeşitlerdeki portakal ve limon kabuklarının olduğu kadar, meyve suyu ve yenilebilir kısımlarının ekstraktlarındaki polifenoller başta olmak üzere antioksidan özellik gösteren bileşikleri saptamışlardır.

Bu çalışmanın amacı limon (*Citrus lemon* L.) meyvesinin biyolojik aktivite tayinlerinin belirlenerek oksidan ve antioksidan seviyelerinin tespit edilmesidir. Bunun yanında limon meyve kısımlarının DNA koruyucu etki potansiyelinin belirlenmesi için de bir dizi çalışma yapılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda *Citrus lemon* L. meyvesi ticari olarak alınarak dış kabuk kısmı, iç zar kısmı ve yaprak kısımları ayrılmış ve gölgede kurutularak çalışmaya hazır hale getirilmiştir. Bu üç kısmın hekzan, diklorometan, metanol ve su özütleri elde edilmiş, DNA koruyucu çalışma kapsamında 4 farklı solvent ile çıkarılan özütler hidrojen peroksit ve UV-C'ye maruz bırakılmıştır. Daha sonra oluşan DNA hasarı üzerine etkilerin görünür hale gelmesi için çalışma kapsamında pBR322 plazmid DNA'sı kullanılmıştır. Çalışma kapsamında limon meyvesinin dış kabuk, iç zar ve yapraklarının özütlerinin *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisine karşı antimikrobiyel etkisinin olduğunun saptanması için ise disk difüzyon metodu kullanılmıştır.

## 1.1 Ekstraksiyon Teknikleri

Ekstraksiyon, elde edilmek istenen madde veya madde grubunun, bir karışımdan ayrıştırılması/ayrılması işlemidir ve ayrıştırılacak maddenin kimyasal ya da fiziksel özelliklerine göre, farklı yöntemler uygulanarak gerçekleştirilir. Örneğin, likid bir karışımda destilasyon veya ayırma hunisi yöntemleri kullanılabilirken, katı maddeler için maserasyon, soxhlet, basınçlı solvent, süperkritik akışkan gibi bazı yöntemler uygulanabilmektedir.

### 1.2.1 Maserasyon

Geleneksel olarak sık kullanılan ekstraksiyon tekniklerinden biri olup, katı halde olan maddenin belirlenen bir çözücü karışımında bir süre durması temeline dayanan bir yöntemdir. Genel olarak madde-çözücü oranı bire on olarak uygulanmaktadır. Çözücü oranında ki artış verimi de arttırmaktadır. Karışımın bulunduğu ortam ışıktan izole bir yer olmalıdır ve sabit oda sıcaklığında bir gün ya da daha fazla süre bekletilmelidir. Özütü çıkarılacak *madde* etki yüzeyinin artırılması için küçük parçalara ayrılması da verimi arttıracaktır. Fakat madde çok bölünüp toz haline getirilmişse, çözücü içerisinde çökme meydana gelecek ve çözücü ile madde arasındaki etkileşim azaldığından dolayı devamlı karıştırma zorunluluğu doğacaktır.

Ayrıca maserasyon karıştırma yahut çalkalama özellikli bir sistem ile desteklenirse ekstraksiyon zamanı kısalmış ve elde edilecek verim artmaktadır. Maserasyonun bitiminde elde edilen çözelti filtre kâğıdı yardımıyla süzülmemektedir. Süzütünün, evaporatörde vakum altında ısıtılmasıyla düşük sıcaklık ile çözücü ekstraktan uzaklaştırılmaktadır.

### 1.2.2 Soxhlet Ekstraksiyonu

F. Soxhlet tarafından 1879 yılında üretilmiştir ve günümüzde de kullanımı yaygın olup yarı katı ya da katı numunelerin ekstraktlarının hazırlanmasında oldukça uygun bir yöntemdir. Özüt işlemine tabii tutulacak maddenin, aynı çözücünün distilasyonu yoluyla bir düzenekle (Şekil 1.1) birkaç defa taze solventle temas etmesi işlemine dayanmaktadır. Genel olarak altı ile yirmi dört saat arası sürmektedir.

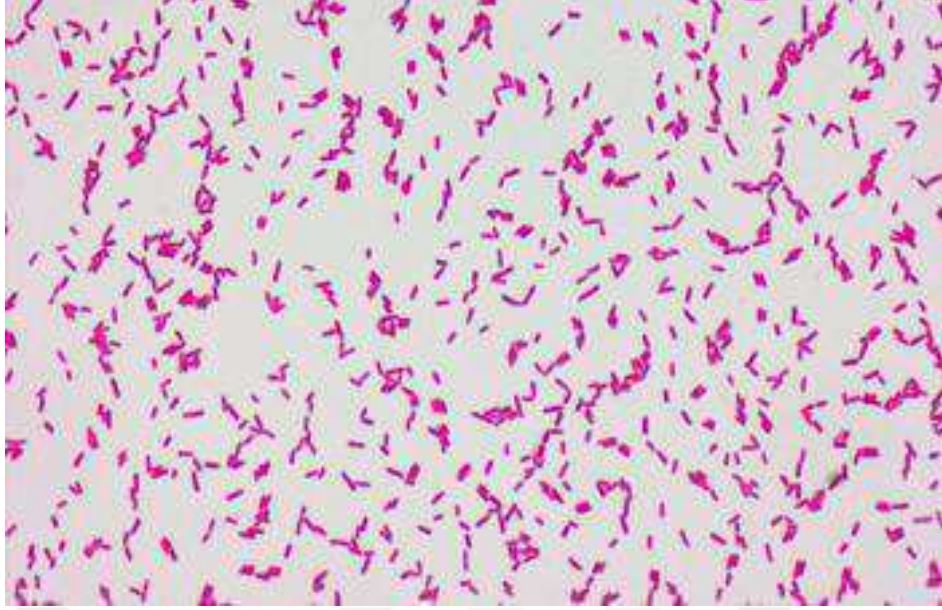
### **1.2.3 Basınçlı Solvent Ekstraksiyonu**

En gelişmiş ekstraksiyon yöntemlerinden biridir ve çözücülerin kritik sıcaklık ve basınç noktalarına gelmeden yüksek basınç ve yüksek ısıda ekstraksiyon işleminin neticelendirilmesi yöntemidir. Bir fırın, ekstraksiyon bölümü, pompa ve basınç altında bulunduran sistem, birkaç vana ve ekstrakt toplama bölümlerinden oluşmaktadır (Şekil 1.2).

Bu yöntemle çalışan sistemlerde basınç artışı olduğu için çözücülerin kaynama noktası yükselmektedir. Bu sayede çözücü, kaynama sıcaklığının çok yukarısında bile sıvı fazda kalabilmektedir. Sıcaklığın 300 °C'lere yükselir olması solvent yoğunluğunun düşürülerek örnek ile difüze gücünün artması sağlanmaktadır. Yüksek ısı karışımdaki moleküller arası bağların kırılmasını kolay hale getirdiği için çözünme hızı artarak buna paralel olarak verim artışı sağlanmaktadır.

### ***1.3 Stenotrophomonas maltophilia***

*Stenotrophomonas maltophilia* son yıllarda giderek daha sık rastlanan, fırsatçı bir nozokomiyal enfeksiyon etkeni olan bir bakteri türüdür (Dülger D, Berktaş M., 2007). Doğal koşullarda veya hastane ortamında sık olarak üreyebilme kapasitesine sahiptir. Yetişkin bireylerden alınan orofarinks ve balgam kültürlerinden izole edilebilmektedir. Hastane ve yoğun bakım ünitelerinde daha olarak karşımıza çıkabilen bu fırsatçı patojenler enfeksiyon etkeni olarak izole edilebilmektedir (Denton M, Kerr KG., 1988). İzolasyonu ve identifikasyonu ardından çok da uzun yıllar geçmeyen bu bakteri, bu ailenin tek mensubu olarak isimlendirilmeden önce kaynaklarda *S. maltophilia*, *Pseudomonas maltophilia* ve *Xanthomonas maltophilia* olarak belirtilmekteydi (Palleroni NJ, Bradbury JF., 1993). Biyolojik özellikleri incelendiğinde ise non-fermantatif, katalaz-pozitif (+), oksidaz negatif (-) ve hareketli bir gram-negatif (-) basil olarak tanımlanmaktadır. (Winn W, Allen S, Janda W, et al., 2006). En çok üriner sistem ve yara enfeksiyonlarına neden olmakla beraber, meningitis, bakteriyemi, peritonit ve akciğer enfeksiyonlarına neden olduğu saptanmıştır.(Dülger D, Berktaş M., 2007). *S. maltophilia* suşu beta-laktamaz, aminoglikozid, asetiltransferaz ve eritromisini pasif hale getirebilen enzim sistemleri taşımaktadırlar. *S. maltophilia*'nın neden olduğu etkilerin tedavi edilmesi ise oldukça zordur. Bunun pek çok nedenlerinden biri de *S. maltophilia*'nın genotipik ve fenotipik değişimlerinin olmasıdır. Diğer bir neden ise intrinsik faktör direnç mekanizmasının ifadesinin duyarlılığının belirlenmesinin zor olması ve buna bağlı olarak antimikrobilyallere karşı direnç oluşturmasıdır.



**Şekil 1.3** *Stenotrophomonas maltophilia*' nın Mikroskop Görüntüsü

#### **1.4 Tıbbi ve Aromatik Bitkiler**

Tıbbi aromatik bitkilerin çok eski tarihlerden beri tedavi amaçlı olarak kullanıldıkları bilinmektedir (Arslan, 2001). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dört milyara yakın insanın sağlık sorunları için bitkisel yöntemlere başvurduğunu rapor etmiştir. Bunun yanında gelişmiş ülkelerde reçete ile verilen ilaçların yaklaşık olarak %25'i bitkisel kökenli etken maddeleri bünyesinde barındırmaktadır. Özellikle 1990'lı yılların sonlarında, tıbbi aromatik bitkiler için yeni kullanım alanları keşfedilmiş ve bitkisel ürünlere olan talep yükselmeye başlamıştır. (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Tıbbi ve aromatik bitkiler hastalıkların tedavisinde, beslenme, kozmetik ve tat verme amaçlı kullanılan bitkilerdir. Bu bitkiler tedavide kullanımı amacıyla işlenmemiş veya birden fazla bitkinin karışımı ile oluşturulan insan sağlığına faydalı madde ve ürünler şeklinde kullanılmaktadır. Yapılan bu tanıma göre tıbbi ve aromatik bitkiler, işlenmiş, işlenmemiş bitkisel ürünler ve şifalı ot diye sınıflandırılmaktadır.

Tıbbi ve aromatik bitkilere karşı ilginin gün geçtikçe artmasından dolayı bu bitkilerin antioksidan ve anti bakteriyel özellikleri de büyük önem kazanmaya başlamıştır. Bu bitkiler anti bakteriyel ve antioksidan özellikleri bakımından hastalıkların kontrolünde çok önemlidirler (Güler vd., 2015).

Tıbbi ve aromatik bitkilerin içerisinde bulundurdukları uçucu yağlar farklı kimyasallara sahip bileşiklerdir. Terpenler, alkoller, aldehitler, fenolik bileşikler, esterler, eterler ve ketonlar gibi kimyasal uçucu yağlar antioksidan aktiviteye sahiptir.

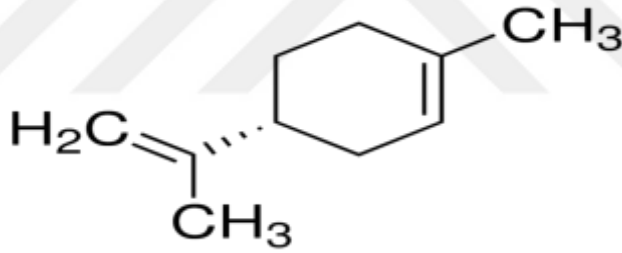
Bu antioksidan kapasiteleri iki önemli özelliğe sahiptir (Miguel, 2010):

1. Farklı sistemlerdeki yağ oksidasyonunun inhibe edebilmesidir.
2. Serbest radikal türlerini ortadan kaldırma kabiliyetine sahip olmasıdır.

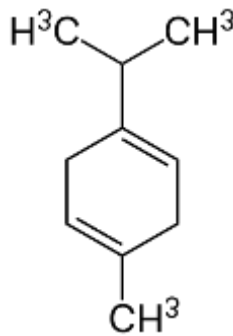
### 1.5 *Citrus lemon L. (Limon)*

Anavatanı Hindistan olan limon Türkiye’de en çok Akdeniz bölgesinde yetiştirilmektedir. Soğuk iklim koşullarına karşı dayanıksız olan limonun, hasat dönemi Ekim ayından Mart ayına kadar sürmektedir.

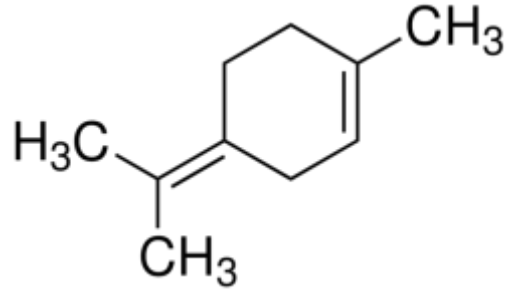
Limon kabuk yağında bulunan başlıca bileşenler; d-limonen,  $\gamma$ -terpinen, terpinolen, neral ve geranialdır. Limon yağ miktarı ise kabuk rengine göre farklılık gösterebilmektedir. Sarı limon meyvesindeki uçucu yağ miktarı ve bileşen sayısı yeşil limon meyvesine göre daha fazladır. Portakal, mandalina, greylift yağına kıyasla limon yağı daha az monoterpen içerir. Limon uçucu yağı içerisindeki başlıca seskiterpenler;  $\alpha$ -bergamoten,  $\beta$ -bisabolen ve karyofillendir.



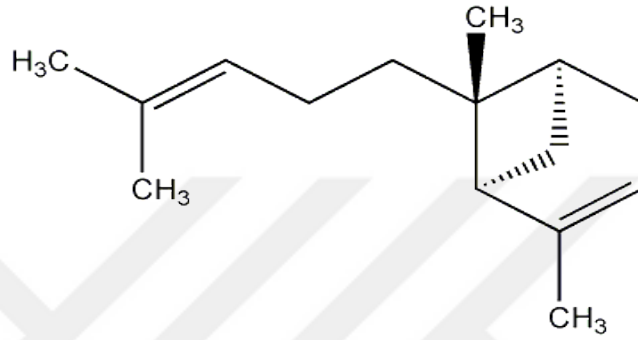
Şekil 1.4 d-limonen kimyasal yapısı



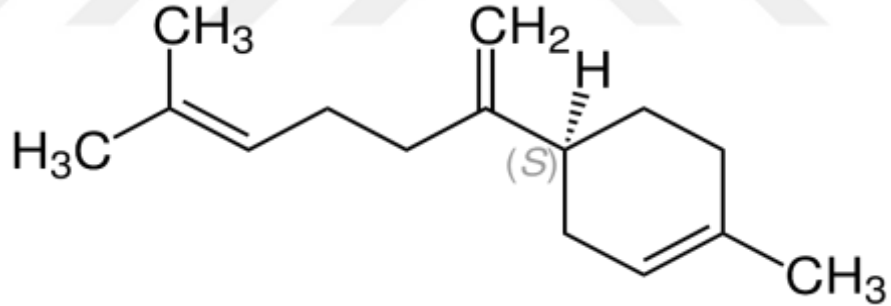
Şekil 1.5  $\gamma$ -terpinen kimyasal yapısı



Şekil 1.6 Terpinolen kimyasal yapısı



Şekil 1.7  $\alpha$ -bergamoten kimyasal yapısı

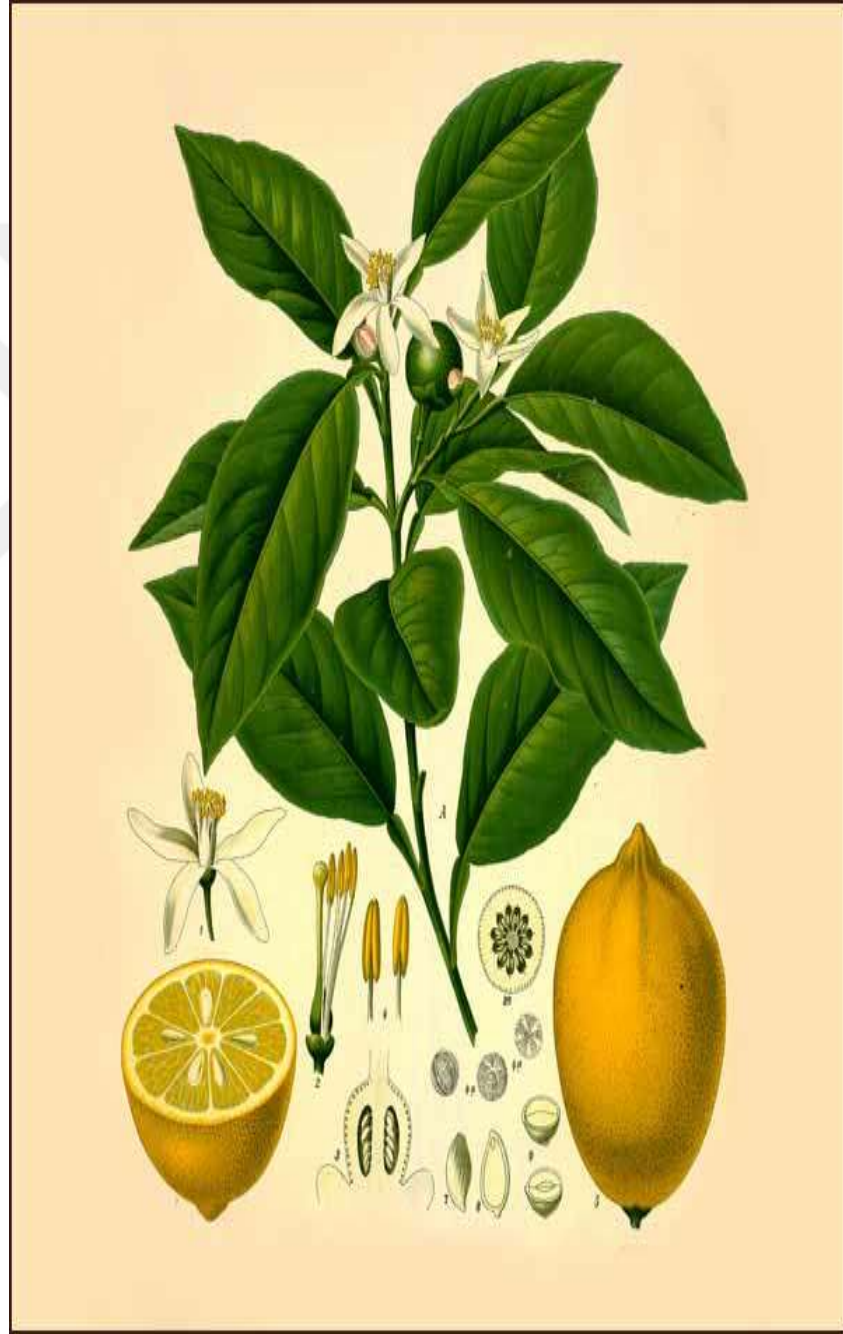


Şekil 1.8  $\beta$ -bisabolen kimyasal yapısı

Limon yağında bulunan oksijenli bileşenler portakal, mandalina ve greylift yağlarındakine göre farklılık göstermektedir. Sitral başlıca aldehittir, iki izomeri olan geraniol % 75 ve neral % 25 oranında sitral içeriğini oluşturur. Portakal ve greylift yağlarında limon yağının aksine nonanol, oktanol veya dekanalden daha yüksek miktarlarda bulunmaktadır.

Limon yağının alkol ve ester fraksiyonlarının bileşimleri değişkenlik göstermektedir. Limon uçucu yağları yüksek kaliteli, yaklaşık % 2 civarında sitral içeren ancak bileşen açısından oldukça zengin, özellikle de kaynama noktası yüksek bileşenler olan geraniol,

geranil asetat, neril asetat ve bergamoten içeren yağlardır. Orta kalitedeki bir limon yağında sitral miktarı yüksektir. Düşük kaliteli yağlarda ise yüksek kaynama noktalı bileşenler az miktarda bulunmaktadır. Limon yağları ekstraksiyon sonrası hemen bazı değişikliklere uğrayabilmektedirler. Bu değişiklikler ise bir miktar aldehit ve ester kaybı, terpenlerin bazılarının oksitlenmesi ve izomerizasyonu ile meydana gelebilmektedir (Ladaniya., 2008).



Şekil 1.9 *Citrus lemon* L. (Limon) bitkisinin genel bitki şeması



## 1.6 Bitkisel Sekonder Metabolitler

Bitki içeriğinde bulunan kimyasallar genel olarak primer ve sekonder metabolitler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Primer metabolitler, (karbonhidrat, yağlar ve proteinler gibi) doğada yaygındır ve yüksek bitkilerin tohum ve vejetatif dokularında fazlaca bulunmaktadır. Ayrıca hücre metabolizmasındaki esas fonksiyonlarından dolayı, bitkinin fizyolojik gelişimi için de gereklidirler (Oskay ve Oskay, 2009).

Sekonder metabolitler ise bitkilerden üretilmektedir. Günümüzde farklı sektörlerde hammadde olarak kullanılan bu sekonder metabolitler, bitkinin hayatsal faaliyetleri üzerine doğrudan ilişkisi olmayan, buna rağmen en az bitkinin yaşamsal faaliyetleriyle doğrudan ilişkili olan primer metabolitler kadar önemli olan kimyasal maddelerdir. Bitkiler tarafından sentezlenen sekonder metabolitlerin bitki yaşamında bazı önemli rolleri vardır. Bunlar, hastalıklara karşı direnç, herbivorlardan korunma, kendileriyle rekabette olan diğer bitki türlerinden allelokimyasal ilişkiler şeklinde kaçınma ve UV ışığı gibi abiyotik stresten korunma olarak özetlenebilmektedir (Aydın ve Mammadov, 2017).

Bitkilerde bulunan sekonder metabolitler, tozlanma için böcek gibi organizmaları çekerek simbiyotik ilişkilerde görev alırken, hücre boyutunda bitkilerde büyüme ve gen ekspresyonunu düzenlenmesinin yanında transdüksiyon mekanizmalarında da görev almaktadırlar.. (Oskay ve Oskay, 2009).

Pek çok yüksek yapılı bitkinin sahip olduğu fenolik bileşikler, alkaloid, terpen, nadir amino asitler, bitki aminleri ve glikosidler gibi organik kimyasal ticari uygulamalara ham madde sağlamaktadır. Bitkilerden elde edilen fitokimyasalların endüstride doğrudan veya dolaylı olarak kullanımı yaygındır.. Özellikle yağlar, resinler, taninler, saponinler, doğal plastikler, yapışkanlar, balmumu, boyalar, ilaçların kaynağı şeklindedir (Oskay ve Oskay, 2009).

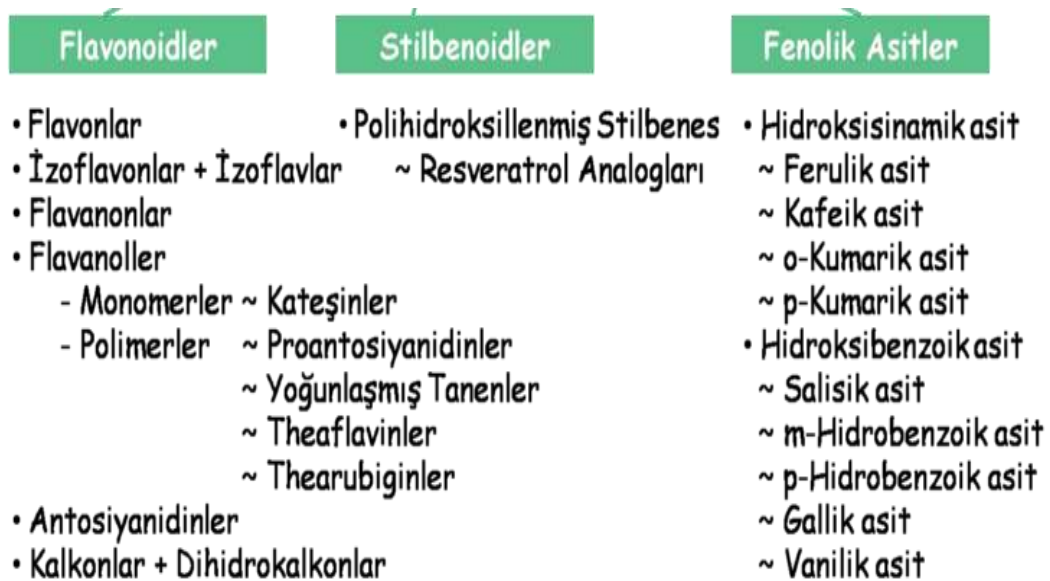
Sekonder metabolitler; olumsuz çevre koşullarında ve stres koşullarında ortaya çıkmaktadır. Bu durum olumsuz gibi görünmesine rağmen sekonder metabolit üretimini teşvik ettiği için bilim insanları ve insanlık için olumlu bir durum olarak görülmektedir (Akçam ve Oluk, 2006).

### 1.6.1 Fenolik ve Flavonoid Maddeler

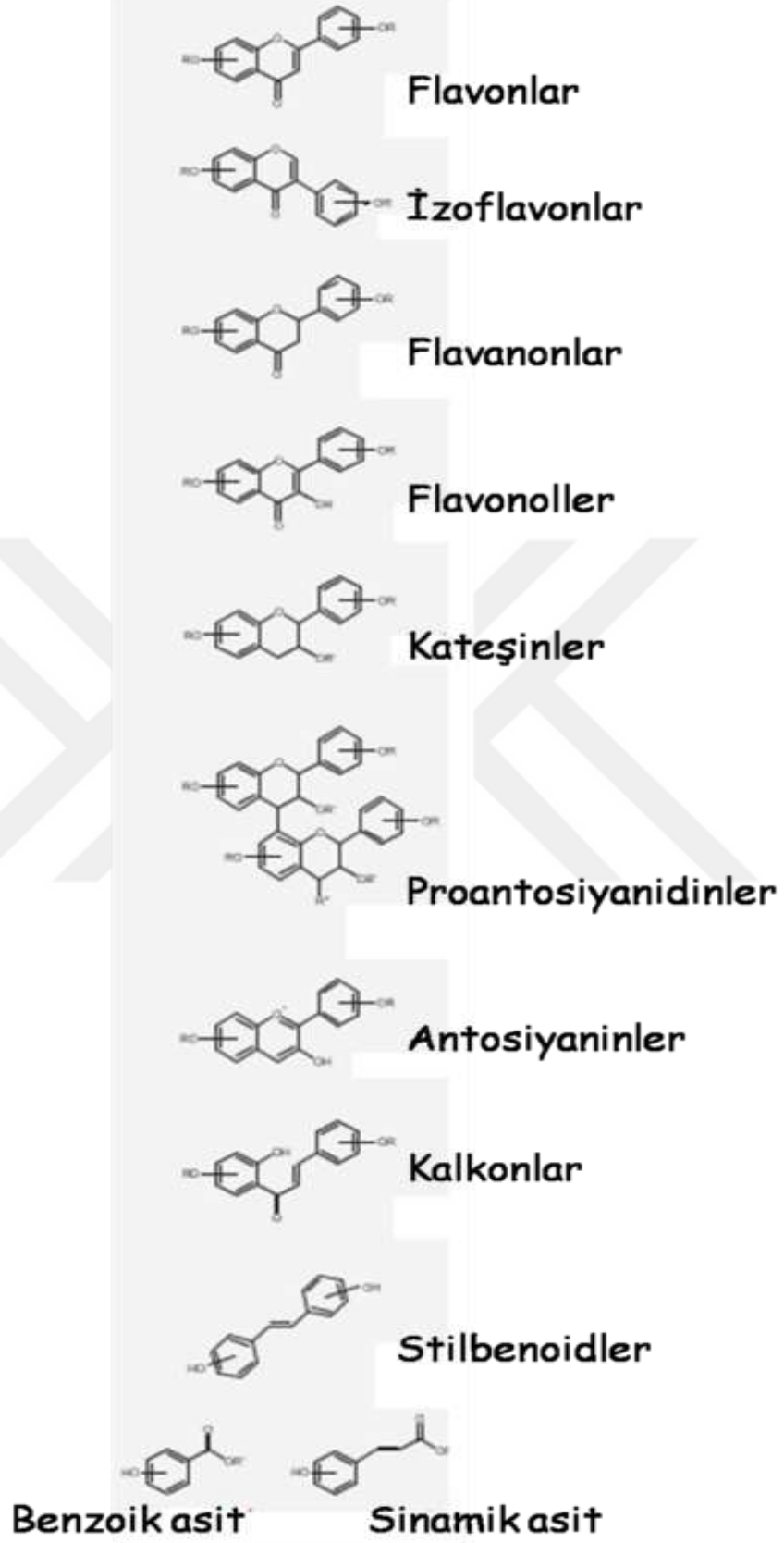
Bütün bitkiler bünyelerinde, sekonder metabolit olarak fenolik madde bulundurmaktadırlar ve bitkilerin bünyesindeki rolleri henüz yeteri kadar bilinmeyen bu fenolik bileşikler bütün gıdalarda farklı nitelikte ve çeşitte bulunmaktadırlar. Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla sayıda hidroksil grubunun bağlanmış olduğu bir benzen halkası içeren bileşikler grubudur (MEB, 2013).

Fenolik bileşikler fenolik asitler ve flavonoidler olarak 2 grupta incelenmektedir. Bazı fenolik bileşikler meyve ve sebzelerin özellikle ağızda acı ya da buruk tat bırakma ve lezzet oluşumunda rol oynamaktadırlar. Antosiyanin gibi fenolik maddeler sebze ve meyvelerin kendine has renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar. Buna ek olarak, fenolik maddelerin fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmesinde antioksidatif ve antimikrobiyal etkileri bağlı olarak sağlık üzerinde pozitif etkileri rol almaktadır. Fenolik bileşenlerin en çarpıcı özelliği antioksidatif etkiye sahip olmalarıdır (MEB, 2013).

Flavonoidler, geniş çaptaki vasküler bitkilerden izole edilebilen ve bilinen yaklaşık olarak 8000 bileşene sahip fenolik maddelerdir. Antioksidanlar, antimikrobiyal, fotoreseptör, görsel çekici ve ışık görüntüleme rol oynamakta olan flavonoidler ayrıca antialerjenik, antiviral, antiinfamatuar ve vazodilatör etkiler gibi biyolojik aktivitelere de sahiptirler ve en önemlisi ise flavonoidler antioksidan aktiviteye sahiptir (Pietta, 2000).



Şekil 1.10 Polifenol alt sınıfları



Şekil 1.11 Flavonodilerin molekül yapıları

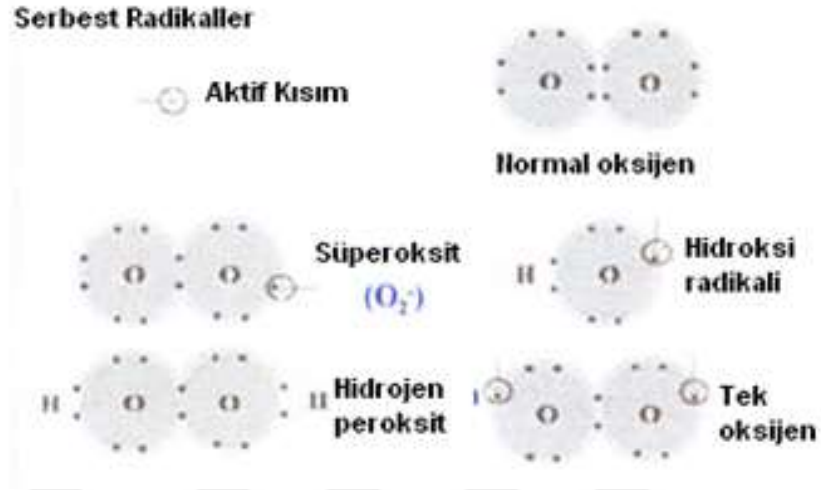
## 1.7 Serbest Radikaller

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kökenli etmenlere bağlı oluşturmaktadırlar. Ekzojen kaynaklı etmenler, parakuat, allokstan gibi kimyasallara maruz kalınması, karbon tetraklorür, parasetamol benzeri ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyoaktivite, hava kirliliğe neden olan fitokimyasal materyaller, sigara dumanı, solventler gibi çevresel etkiye sahip faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin benzeri antineoplastik ajanlar, alkol ve uyusturucular gibi alışkanlık yapan maddeler bulunması gibi sebeplerle serbest radikaller toksik açıdan da oldukça önemlidir (Janssen ve ark. 1993., Özdem ve Şadan 1994, Sincliar ve ark. 1990, Yagi 1994).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran, kısa süreli varlık gösteren, kararsız yapıda, düşük molekül ağırlıklı ve çok etkili moleküller şeklinde açıklanmaktadır. Pek çok olayda serbest radikal oluşumu, pato-mekanizmanın bir bölümüdür ve bir çok ksenobiyotigin toksisitesi, serbest radikallerin ortaya çıkması ile ilgilidir. Kadmiyum ve kurşun benzeri çevreye zarar veren kirleticilere maruz kalınması oksidatif strese sebep olabilmektedir. Bu durum biyolojik sistemlerin bulunması istenmeyen mekanizmalarının altında yatan bir mekanizmadır (Abdollahi ve ark. 2003, Abdollahi ve ark. 2004). Oksidatif etki temelde, vücudun antioksidan korunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna yol açan serbest radikallerin üretimi ile oluşan dengesizlik olarak açıklanabilmektedir.

Serbest radikaller süperoksit, hidroksil, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi farklı kimyasal yapılarda bulunabilmektedir (Cochranc, 1991). Oksijenden meydana gelen serbest radikaller biyolojik mekanizmalarda önem taşımaktadır. Oksijende, süperoksit grubuna ( $O_2^-$ ) bazı demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin neden olduğu etkiyle indirgenme oluşmaktadır. Yüksek derece aktif olup hücrel bozulmalara neden olan süperoksit grubu, bakırlı bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) vasıtasında hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve oksijene dönüştürülür. Süperoksit grubuna göre daha zayıf etkiye sahip olan  $H_2O_2$ , dokuların barındırdığı katalaz, peroksidaz ve glutasyon peroksidaz (GPx) benzeri enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf ürünlere çevrilerek etkisiz hale getirilmektedir. Dietilditiyokarbamat benzeri süperoksit dismutazın aktifliğini durduran maddeler, süperoksit gruplarının etkisizleştirilmesini sınırlarken, lipid peroksidasyonu hızlandırmaktadırlar. Buna ek olarak katalazın etkinliğini azaltan ya da engelleyen

maddeler (aminotriazol gibi herbisidler) de etkin oksijen gruplarına veya bu grupları meydana getiren maddelere duyarlılığı artırır (Kaya ve ark., 1998., Matés 2000).



Şekil 1.12 Serbest Radikaller

### 1.7.1 Serbest Radikal Oluşumuna Neden Olan Başlıca Mekanizmalar

Serbest radikallerin meydana gelmesine yol açan başlıca mekanizmalar şu şekildedir (Koca ve Karadeniz, 2002):

**Otooksidasyon:** Otooksidasyon, atmosferik oksijenin kataliz olduğu bir etkileşimdir. Hidroperoksitin zincir reaksiyon sayesinde peroksi radikali oluşturması, hidroperoksitin, bir metal iyonu varlığında indirgenmesi alkoksi ya da hidroksi radikali meydana getirmesi ve otooksidasyon ile serbest radikal oluşum mekanizmalarından birisidir.

**Geçiş metal iyon etkisi:** Demir ve bakır benzeri geçiş metali iyonları biyolojik sistemde serbest radikalleri meydana getiren önemli oksidatif katalisterdir.

**Fotooksidasyon:** Fotooksidasyon da oksidasyonlarda başlangıç rolü üstlenen peroksitlerin oluşumu için elzemdir ve bu şekilde serbest radikaller oluşturmaktadırlar.

**Enzimatik Oksidasyonlar:** Biyolojik sistemlerde reaktif oksijen türevlerini oluşturan başlıca mekanizmalardan biri olan enzimatik oksidasyonlarda, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, nötrofil miyeloperoksidaz, halojenlenmiş hidrokarbonlar benzeri enzimatik reaksiyonlar serbest radikal oluşturabilmektedirler.

### 1.7.2 Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri

Canlı ortamlarda oluşan radikallerin difüzyon yarıçapları aktiflik konusunda etkilidir ve en düşük difüzyon yarıçapına sahip olanlar ise oldukça aktiftirler. Düşük aktiviteye sahip radikallerin, difüzyon hızları yüksek olmasına karşın yüksek seviyede hücrel tahribatlara sebep olabilmektedirler. Hücrel serbest radikallerin etkilediği moleküler aşağıda bulunan Tablo 1.1’de verilmiştir (Akpoyraz ve Durak, 1995).

**Tablo 1.1** Serbest radikaller ve etkilediği moleküller

Etkilenen Bileşiğin Adı	Etkinin Sonuçları
Doymamış amino asitler ve kükürt içeriği olan amino asitler	Protein denatürasyonu
	Çapraz bağlanma
	Enzim inhibisyonu
	Organ ve hücre geçirgenliğinde değişimler
Nükleik Asit Bazları	Mutasyon
	Hücre gelişiminde değişimler
Karbonhidratlar	Hücre yüzey alıcılarında değişimler
Doymamış Yağlar	Kolesterol ve yağ asitleri oksidasyonu
Kofaktörler	Nikotinamid ve flavin içeren kofaktörlerin aktifliğinde azalma
	Askorbik asit ve porfirik oksidasyon
Antioksidanlar	Alfa-tokoferol ve beta-karoten gibi antioksidanların aktifliğinin azalması
Proteinler	Denatürasyon
	Peptid zincirinde kırılmalar
DNA	Baz modifikasyonu
	Zincirde kırılmalar
Hyaluronik asit	Synovial sıvının vizkozitesinde değişim

## 1.8 Antioksidanlar ve Sınıflandırılması

Antioksidanlar insan bünyesinde serbest radikallerin vasıtasıyla oluşturulan oksidatif stresi yok etmede önemli bir silahtır. Antioksidanlar serbest radikalleri süpürerek hücrel bozunmaları engelleyebilen maddeler olarak adlandırılmaktadır. İnsan vücudundaki antioksidanlar doğal olarak sentezlenebildiği gibi dışarıdan takviye olarakda alınmaktadır. Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar serbest radikal engelleyici olarak görev yapmaktadırlar. Bu sebepten dolayı immün sistemin etkisini de artırarak hastalık riskini de azalttıkları bilinmektedir (Shinde ve ark. 2012).

Antioksidanlar, hücre metabolizması sonucunda ortaya çıkarak toksik etki gösteren serbest radikalleri engelleyerek koruyucu etki göstermektedirler (Sen ve ark. 2010).

Reaktif oksijen meydana gelişini engellemek, bu maddelerden kaynaklı meydana gelen hasarları engellemek ve detoksifikasyonu mümkün kılmak üzere vücutta görev yapan savunma mekanizmaları “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” olarak isimlendirilmektedir (Şener ve ark. 2009). Antioksidanlar, radikallerle hızla etkileşime girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini durduran maddelerdir (Dündar ve Aslan 1999). Antioksidanlar serbest radikallerin fazlasını etkisiz hale getirirken, toksik etkilerine karşı hücreleri koruyarak hastalıkların engellenmesinde de etkilidir (Pham-Huy ve ark. 2008).

Antioksidanlar, endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Aydemir ve Karadağ 2009). Endojen ve eksojen antioksidanlar, oksidan/antioksidan dengesini korumak için serbest radikallerden vücudu koruma görevini üstlenir ve serbest radikalleri etkisizleştirmek için kullanılmaktadırlar (Sen ve Chakraborty 2011).

**Tablo 1.2** Antioksidanların sınıflandırılması (Aydemir ve Karadağ 2009, Sen ve Chakraborty 2011)

<b>ENDOJEN ANTIÖKSİDANLAR</b>		
<b>Enzimatik Antioksidanlar</b>	<b>Nonenzimatik Antioksidanlar</b>	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	$\alpha$ -lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
<b>EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR</b>		
<b>Vitamin Eksojen Antioksidanlar</b>	<b>İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar</b>	
$\alpha$ -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri	
$\beta$ -karoten (Vitamin A)	NADPH Oksidaz inhibitörleri	
Askorbik Asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Folik Asit (Vitamin B9)	Trolox-C (Vitamin E analogu)	

**Süperoksit Dismutaz:** Reaktif oksijen türevleri üzerine ilk savunma süperoksit dismutaz ile oluşturmaktadır. Süperoksit dismutaz enzimatik bir antioksidan olup süperoksit radikalini ( $O_2^-$ ) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve oksijene ( $O_2$ ) katalizleyebilmektedir. Hidrojen peroksit sonra, CAT ya da GPx vasıtasıyla ortamdan uzaklaştırılmaktadır (Young ve Woodside 2001).

İnsanlarda SOD'un üç farklı çeşidi bulunmaktadır. Bakır (Cu) ve çinko (Zn) bulunduran süperoksit dismutazlar (Cu/Zn SOD) sitozolde ve manganez (Mn) bulunduran süperoksit dismutazlar (Mn SOD) mitokondride bulunurken ekstrasellüler süperoksit dismutazlar (EC SOD) hücre dışında bulunan sıvılarda varlık göstermektedir (Sen ve Chakraborty 2011, Young ve Woodside 2001).

**Katalaz:** Katalaz, 4 protein alt bölümünden meydana gelmektedir. Her alt birim, bir hem grubu ve bir NADPH molekülü barındırmaktadır (Young ve Woodside 2001, Kirkman ve ark. 1987). Pek çok katalazda NADPH molekülü yüzeye yakın ve sıkı bir şekilde bağlı olarak bulunmaktadır (Zamocky ve Koller 1999). Katalaz, genellikle peroksizom benzeri hücre içi organellerde ve az olarak mitokondri ve endoplazmik



retikulumda bulunmaktadır. Hidrojen peroksitin,  $H_2O_2$  ve  $O_2$ 'ye dönüşümünü katalize etmektedir (Limon-Pacheco ve Gonsebatt 2009).

**Glutatton peroksidaz:** Glutasyon peroksidaz, hücre sitoplazmasında bulunan  $H_2O_2$ 'nin neden olduğu oksidatif bozunmaya karşı hücreleri korumaktadır. Bu sayede  $H_2O_2$ 'den OH.'nin oluşması engellenmiş olmaktadır. Dört protein alt biriminden oluşan glutasyon peroksidazın her alt birimi bir selenyum atomu barındırmaktadır (Sen ve Chakraborty 2011).

**Glutasyon Redüktaz:** Glutasyon redüktaz, flavin adenin dinükleotid (FAD) barındıran flavoprotein enzimdir. Glutasyon redüktaz, NADPH'nin bir elektronunu okside glutasyonun disülfid bağlarına vererek yeniden GSH'ye dönüştürülmektedir. Böylece NADPH serbest radikal bozunmasını durdurmak için gerekli olan ve en önemli kaynağı heksoz monofosfat (pentoz fosfat) yolağıdır (Sen ve ark. 2010, Özkan ve Fışkın 2004).

**Glutasyon:** Glutasyon, bütün ökaryotik hücrelerde sentezlenebilmektedir. Bu nedendenle yüksek yoğunluklarda bulunmaktadırlar. Glutasyon bir antioksidan gibi hareket ederken, hücrenin redoks durumunun sürmesinde, detoksifikasyon mekanizmasının çalışmasında, eikosonoidlerin üretilmesinde, hücre sinyal sisteminin düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak görev almaktadır (Townsend ve ark. 2003).

**Melatonin:** Melatonin (N-asetil-5-metoksi-triptamin), pineal bezden endojen kaynaklı olarak sentezlenip dolaşıma katılmaktadır ve buna ek olarak farklı yerlerde de sentezi gerçekleştirilir. Işıksız bir zamanda ya da ortamda triptofandan sentezlenmektedir (Hevia ve ark. 2014). Melatonin, serbest radikallerin hasara yol açan etkilerini inhibe etmektedir. Tüm hücre içi kısımlarında makromolekülleri oksidatif hasara karşı korumaktadır. Melatonin, protein ve lipitlerin yanında hem çekirdek DNA'sını hem de mitokondriyel DNA'yı hasarlara karşı korumada görev yapmaktadır. Melatonin, direk olarak bir serbest radikal giderici ve dolaylı bir antioksidan olması açısından her yerde etki göstermesi sayesinde çok geniş çaplı bir koruma sağlamaktadır.

**Ürik Asit:** Yüksek seviyelerde bulunduğu kristalize bir hale dönüştüğünden, böbrek taşları ve provoke gut artritise neden olmaktadırlar. Hidroksil, singlet oksijen, süperoksit, peroksinitrit anyonu, peroksinitrik asiti etkisiz hale getirip geçiş metallerini şelatlamayabilen ürik asit kanda bulunan toplam antioksidan oranının yaklaşık %50'sinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Lipit peroksidasyonu durdurarak

koruyucu olarak görev yapabilmektedirler. Ürik asit, güçlü bir serbest radikal süpürücü olması ile birlikte Fe ve Cu gibi metal iyonlarının şelatorları olarak da hareket etmektedir (Kumar ve ark. 2015, Waring 2002).

**Bilirubin:** Bilirubin, temel olarak ömrü sona eren eritrositlerin parçalanması sonucu içerisindeki hem proteinlerinin yıkımı neticesinde meydana gelmektedir. Dolaşım sırasında karaciğere alınır, biyotransformasyona uğrayarak safra veya idrarla atılımı yapılmaktadır. Bilirubinin güçlü bir antioksidan olup peroksil radikallerini etkileyerek engelleyici etki göstermektedir (Gutteridge 1995, Burtis ve Ashwood 2005).

**Albumin:** Albumin, 66 kDa'luk bir molekül ağırlığına sahip olup 585 aminoasit barındırmaktadır. İnsan plazmasında 35-50 mg/ml bulunan bu protein yüksek seviyede çözünebilmektedir. Albuminin fizyolojik ve farmakolojik olarak önemlidir. Vücudun içerisinde değişik kısımlardaki sıvıların dağılımında ve ozmotik basıncın düzenlenmesinde görevlidir. Genel itibariyle, albümin plazmadaki en önemli ve etkili antioksidanlardan bir tanesidir. Albümin enzimi hipokloröz asitin (HOCl) oluşmasını katalize etmektedir. Albümin oluşan HOCl oksidanlarını giderebilir, bu sayede HO-Cl'nin öncelikli biyolojik hedefindeki  $\alpha$ -antiproteazın dönüştürülmesini engellemektedir (Roche ve ark. 2008).

**Koenzim Q10:** Koenzim Q10 (CoQ10, ubikinon, vitamin Q10, ubidekakinon, ubidekarenon), insan bünyesinde doğal yoldan üretilen vitamin benzeri benzokinon bileşimidir. Aerobik solunum, aerobik metabolizma veya hücre solunumu mekanizmalarında enerji üretiminde görev almaktadır.

Koenzim Q10, ubikinonlar olarak adlandırılan bileşiklerin bir parçasıdır. Bütün hayvanlarda ve insanlarda ubikinonlar sentezlenebildiklerinden ötürü vitamin olarak kabul görmemektedirler. İnsan hücrelerinde tirozinden koenzim Q10 üretilebilmektedir. Koenzim Q10, lipidlerdeki çözünmesi yüksek olan, genellikle tüm hücre membranlarında bulunabilmesinin yanında lipoproteinlerde de bulunmaktadır. Bunun yanında, mitokondrinin iç zarındaki, en az üç mitokondri enzimi için kofaktör olup oksidatif fosforilasyonda rol oynamaktadırlar (Gürkan ve Bozdağ-Dündar 2005).

**$\alpha$ -Lipoik Asit:**  $\alpha$ -Lipoik asit ve  $\alpha$ -lipoik asitin indirgenmiş şekli dihidrolipoik asit (DHLA) güçlü antioksidanlardan birisidir.  $\alpha$ -Lipoik asit (LA), hidroksil, hipokloröz asit, peroksinitrit anyonu ve singlet oksijeni engellemektedir. Dihidrolipoik asit ayrıca süperoksit ve peroksil radikallerini de süpürmektedir (Packer ve ark. 2001).

**Selenyum:** Selenyum, antioksidan ve immün sistem düzenleme özelliğine sahip, selenoprotein fonksiyonu için önemli temel elementlerdendir. Selenyum aminoasit üretiminde kullanılmakta olup, selenosistein olarak da adlandırılır. İnsan vücudunda minimum 25 selenoprotein bulunmaktadır ve bunlar antioksidan enzimler (glutasyon peroksidaz), antioksidan proteinler (selenoprotein P ve W) ve diğer metabolik enzimlerin fonksiyonuna göre gruplandırılır. Selenyum, GPx aktivitesini artırarak ROS oluşumunu inhibe etmektedir (Kim ve ark. 2014).

**Vitamin E:** Yüksek antioksidan olup yağda çözünebilmektedir. 8 stereoizomeri bulunmakta olup asimetrik bir vitamindir. Bu asimetrik türevler  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tokoferol ve  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tokotrienol olarak gruplandırılmaktadır. İnsanlarda en biyoaktif türevi  $\alpha$ -tokoferoldür.  $\alpha$ -tokoferol, serbest radikallerin zararlarından hücre zarını korumaktadır.  $\alpha$ -tokoferolün antioksidan olarak esas fonksiyonu lipit peroksidasyonuna karşı korumada görev almaktır. Vitamin E; kolon, prostat ve göğüs kanserleri, bazı kardiyovasküler hastalıklar, iskemi, katarakt, artrit ve nörolojik bozukluklara karşı koruma fonksiyonuna sahiptir (Pham-Huy ve ark. 2008).

**Vitamin C:** Askorbik asit olarak da adlandırılan bu vitamin, suda çözünebilmektedir. Kollajen, karnitin ve nörotransmitter biyosentezi için elzemdir (Li ve Schellhorn 2007). Vitamin C süperoksit, hidroperoksil, singlet oksijen, ozon, peroksinitrit, nitrojen dioksit, ve hipokloröz asit benzeri reaktif oksijen türevleri ve reaktif nitrojen türlerini kolay bir şekilde süpürür ve bundan dolayı oksidatif strese karşı etkili bir şekilde koruma sağlamaktadır. Vitamin C lipitlerde çözünen radikallerin süpürülmesi ile üretilen  $\alpha$ -tokoferoksil radikallerinden  $\alpha$ -tokoferolü tekrar oluşturarak bir koantioksidan olarak hareket edebilmektedir (Carr ve ark. 1999). Vitamin C, bu antioksidan görevlerine ek olarak,  $Fe^{+3}$ 'ü lipid peroksidasyonunu artıran  $Fe^{+2}$ 'ye çevirerek, oksidan bir yapı da göstermektedir (Dündar ve Aslan 1999).

**$\beta$ -Karoten:** Karotenoidlerin yağda çözünen formudur. Bunlar aktif A vitaminine çevrilebildikleri için provitamin şeklinde de adlandırılmaktadırlar.  $\beta$ -karoten retinada retinole çevrilir ve ışıksız ortamlarda görüş sağlamaktadır.  $\beta$ -karoten, güçlü bir antioksidandır (Pham-Huy ve ark. 2008).

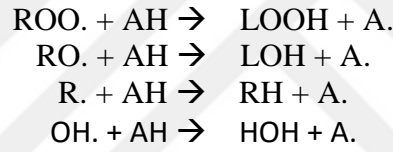
**Folik Asit:** Folik asit suda çözünürlüğü bulunan bir vitamin B üyesidir. Folik asit, DNA üretimi ve eritrositlerin üretiminde gereklidirler. Kadın ve erkeklerde normal fertilité için çok öneme sahiptirler. Bunlara ek olarak, hamilelik ve çocukluk gibi büyüme

dönemlerinde ve hücre bölünmesi aşamalarında önemli role sahiptirler. Folik asit erkeklerde sperm üretimi için çok önemlidir (Hussein ve ark. 2012). Folik asit ROS'u temizleyen çok güçlü bir antioksidandır (Ebaid ve ark. 2013).

Folik asit hem tek başına hem de diğer B vitaminleri ile ortaklaşa plazma homosistein derecesinin düşürülmesinde rol almaktadır. Buna ek olarak, vitamin C ve vitamin E gibi antioksidan vitaminler homosistein aracılı oksidatif vasküler hasarın engellenmesinde rol oynayabilmektedir (Title ve ark. 2000).

### **1.8.1 Antioksidanların Etkileri**

Antioksidanların etkileri bir araya getirmek, inhibe etmek, zincir kırıcı ve tamir edici etki olmak üzere dört ana gruba ayrılmaktadırlar. Toplayıcı ve giderici etki, meydana gelen serbest radikalleri bu etkiler ile birleştirerek kararlı hale getirilmektedir. Zincir kırıcı etki, serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları engelleyip, serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlı olarak zincirlerini kırar ve fonksiyonlarını durdurmaktadır:

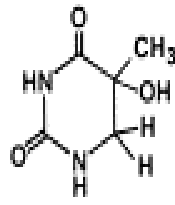


Durdurucu etki ise reaksiyon hızını düşürerek, serbest oksijen radikalleri ile etkileşime girer ve onlara bir hidrojen bağlar, transfer eder ve aktifliği azaltarak inaktif şekle çevirmektedir. Vitaminlerin baskılayıcı etkileri de vardır. Onarıcı etki ise lipid, protein ve DNA gibi yapılarda oluşan hasarı rejenere eden etkidir (Öztürk, 2012).

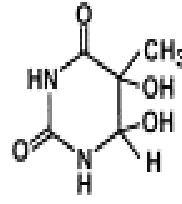
## 1.9. DNA

DNA'da reaktif oksijen türleri (ROT) aracılığı ile ortaya çıkan hasara oksidatif DNA hasarı adı verilir. Hem nükleer hem de mitokondriyal DNA, farklı DNA dönüşümleri ile neticelenen ROT saldırılarına hedef olabilmektedirler (Henle ve Linn, 1997). mtDNA ROT'ların neden olduğu hasarlara karşı nDNA'dan 3 kat daha hassas bir yapıdadır (Wei ve Lee, 1997; Sawyer ve van Houten, 1999). DNA'nın üç ana bileşeninde de hasarlar meydana gelebilmektedir. Ancak bazlar, şeker ve fosfat grubuna oranla bazı kimyasallar için daha iyi birer hedeftirler. Oksidatif stres neticesinde meydana gelen birçok farklı baz bozunması saptanmıştır. (Bohr, 2002). Normal bir metabolizma sonucunda oluşan reaktif türevleri de DNA'da düşük oranlarda olsa hasara neden olabilmektedir. Dizdaroğlu (1993) tarafından yapılan bir çalışma neticesinde 100 farklı oksidatif baz modifikasyonu saptanmıştır (Şekil 1.13). Ancak bunlardan en iyi bilineni 8-hidroksiguanozin (8-oxoG)'dir. En sık şekilde karşılaşılan modifikasyonlar, adenozin trifosfat noksanlığına ve gen mutasyonlarına neden olan baz hidroksilasyonları ve zincir kırılmalarıdır. OH•'nin DNA bazlarının çift bağlarına takılması, timin veya şeker grubunun beş karbonundan herhangi birisinden hidrojen atomu çalması sonucunda meydana gelen baz ve şeker radikallerinin reaksiyonları neticesinde pek çok modifikasyonu barındıran, baz içermeyen bölümler, zincir bozunmaları ve DNA-protein çapraz bağlanmalarını da kapsayan çeşitli hasarlar meydana gelmektedir.

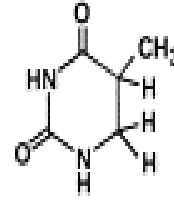
DNA farklılaşmasının önemli bir bölümünü ise serbest radikallerin en çok reaktif olanı olarak tanınan OH• tarafından oluşturulur (Takeuchi, diğ., 1996). OH•'nin DNA ile en sık gerçekleştirdiği etkileşimler 4 grup altında sıralanabilir:



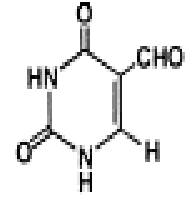
5-hidroksi-6-  
hidrotimin



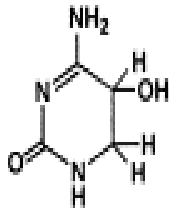
timin glikol



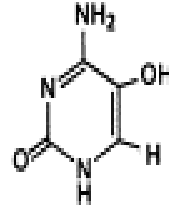
5,6-dihidrotimin



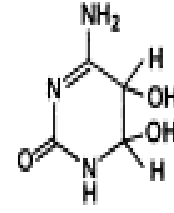
5-formilurasil



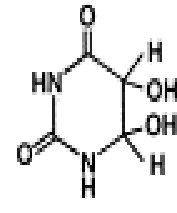
5-hidroksi-6-  
hidro-sitozin



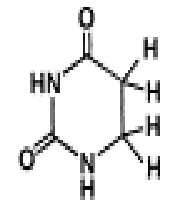
5-hidroksisitozin



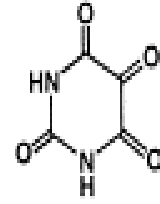
sitozin glikol



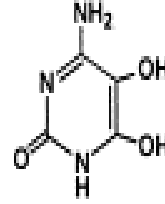
urasil glikol



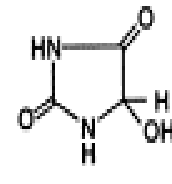
5,6-dihidrourasil



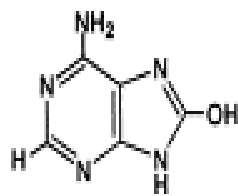
alloksan



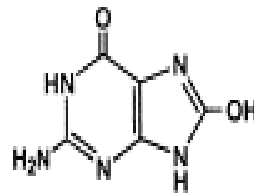
5,6-dihidroksi-  
sitozin



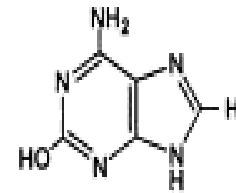
5-hidroksihidantoin



8-hidroksiadenin



8-hidroksiguanin



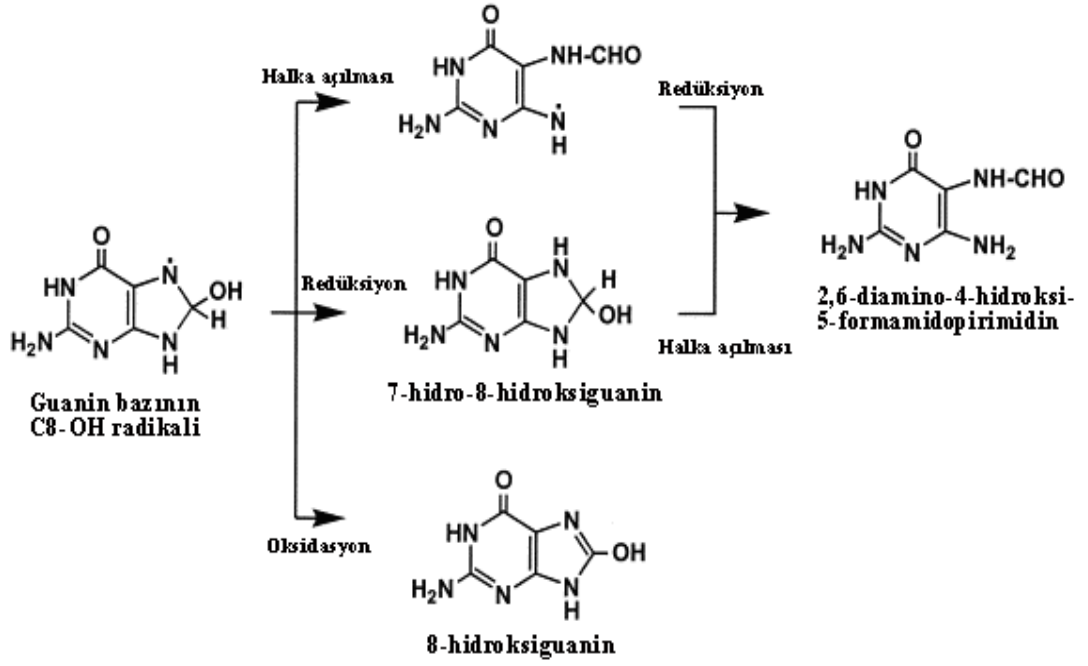
2-hidroksiadenin

Şekil 1.13 DNA'da sık görülen oksidatif baz analogları (Dizdaroğlu ve diğ., 2002).

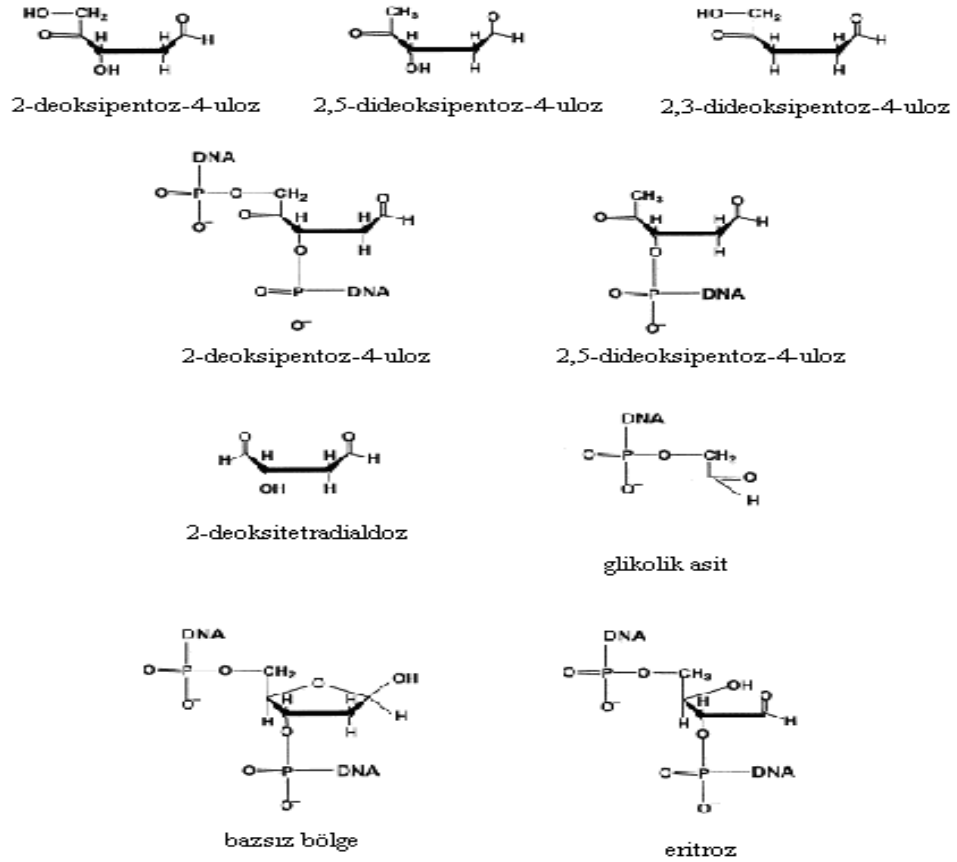
1. Pirimidin bazlarının C5 ve C6'ya eklenerek baz radikalleri meydana getirir ve bu radikallerin oksidasyon veya deprotonasyon etkileşimleri sonucunda timin glikol ve sitozin glikole farklılaşmasına neden olmaktadır. Bu ürünlerden de dehidratasyon veya deaminasyonla farklılaşmış sonuçlu ürünler oluşabilmektedir. Bu ürünler ve etkileri Tablo 1.3'de özetlenmiştir.
2. Pürin bazlarının C4, C5 ve C8'e eklenmesi ile baz radikalleri oluşturmaktadır. Bu baz radikalinin yeniden oksidasyon veya redüksiyon reaksiyonu gerçekleştirmesi neticesinde çeşitli ürünler oluşabilmektedir. Bu şekildeki etkileşimlerin bir örneği Şekil 1.14'de verilmiştir.
3. Şeker grubunun rastgele bir karbon atomundan H atomu alışverişi ile karbon odaklı şeker radikalleri ve bunların girdiği farklı reaksiyonlar neticesinde çeşitli tipte modifiye şeker ürünleri oluşmaktadır (Şekil 1.15). Bu ürünler ya DNA'dan kopar ya da bir veya her iki fosfat grubu ile bağlanmış durumda olabilmektedirler. Bu şekilde zincir hasarlarına en çok yol açan DNA hasarı gerçekleşmiş olmaktadır.
4. Serbest radikal etkileşimleri neticesinde DNA-protein çapraz bağları da oluşabilmektedir. DNA ile bağlantılı olan bir proteinin tirozin halkasına timinin allil radikalinin dahil olması ve sonrasında meydana gelen oksidasyon tepkimesi, DNA-protein çapraz bağının oluşumuna neden olmaktadır (Dizdaroğlu ve diğ., 2002).

**Tablo 1.3** Reaktif oksijen türleri tarafından oluşturulan karakterize pirimidin hasarları ve biyolojik sonuçları (Wallace, 2002).

Hasar	DNA polimerazı bloke etme	Letalite	Mutajenite
Timin glikol	Evet	Evet	Zayıf
Dihidrotimin	Hayır	Hayır	Yok
5-Hidroksimetilurasil	Hayır	Hayır	Zayıf
5-Formilurasil	Hayır	Hayır	T→C, T→A
β-Ureidoizobütirik asit	Evet	Evet	T→A
Hidantoin	Evet	-	-
Urasil glikol	Hayır	Hayır	C→T



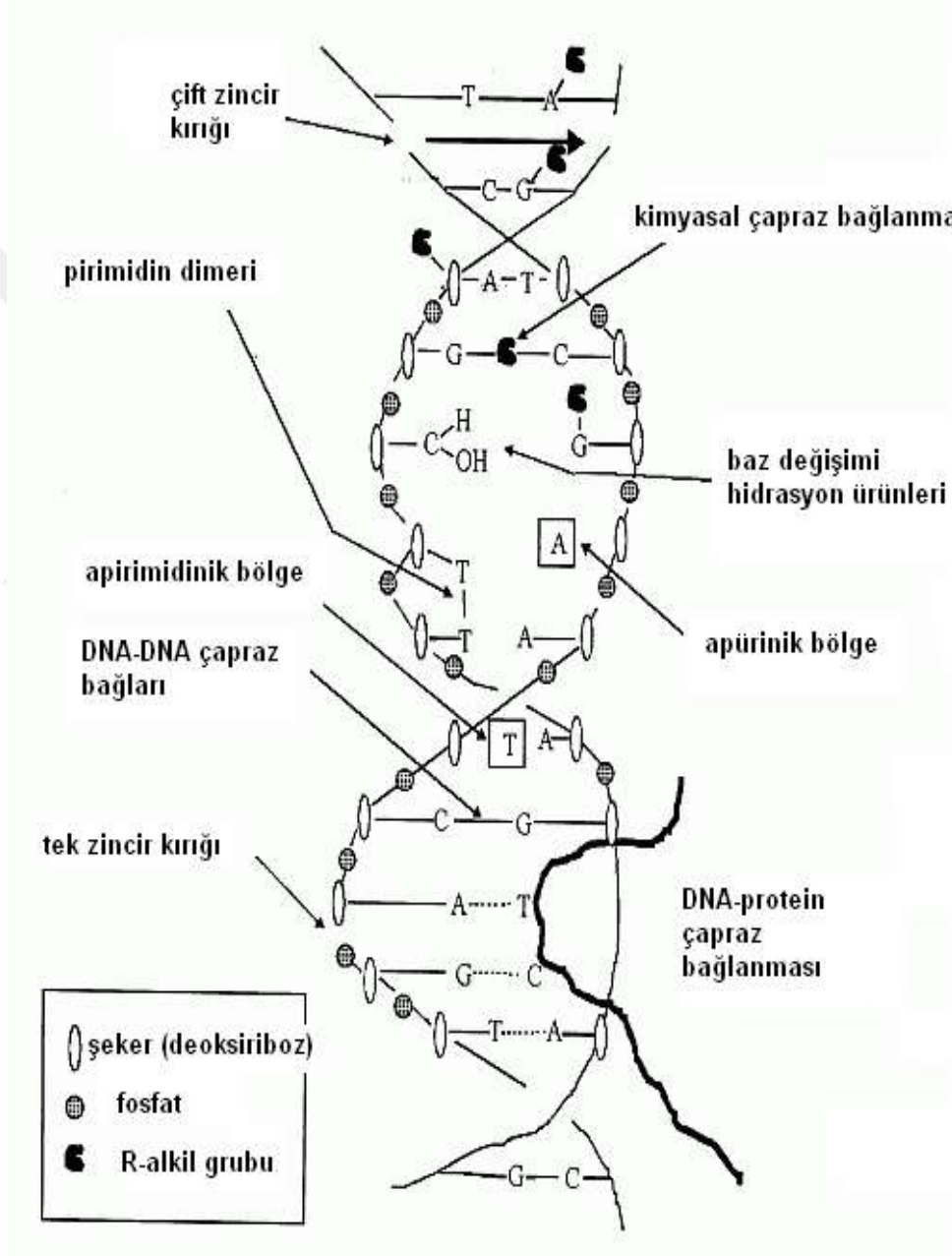
Şekil 1.14 OH radikalinin meydana getirdiği bazı ürünler (Dizdaroğlu ve diğ., 2002).



Şekil 1.15 DNA'da sık olarak rastlanan oksidatif şeker bozulmaları (Dizdaroğlu ve diğ., 2002).



$H_2O_2$  ise sitozoldeki nötralize hale getirci enzimlerin aktivitesiyle yok edilmezse, nukleusa doğru yol alır, kromatine bağlı durumda demir (veya oksidatif hasara uğramış Cu/Zn-SOD'tan açığa çıkan bakır) ile tepkimeye girerek, DNA molekülüne saldırarak OH• meydana getirmektedir (Park ve Floyd, 1997). OH• ile meydana gelen DNA hasarına karşı en önemli savunma etkisini, tiyol bakımından zengin bir protein olan metallothionein oluşturmaktadır.



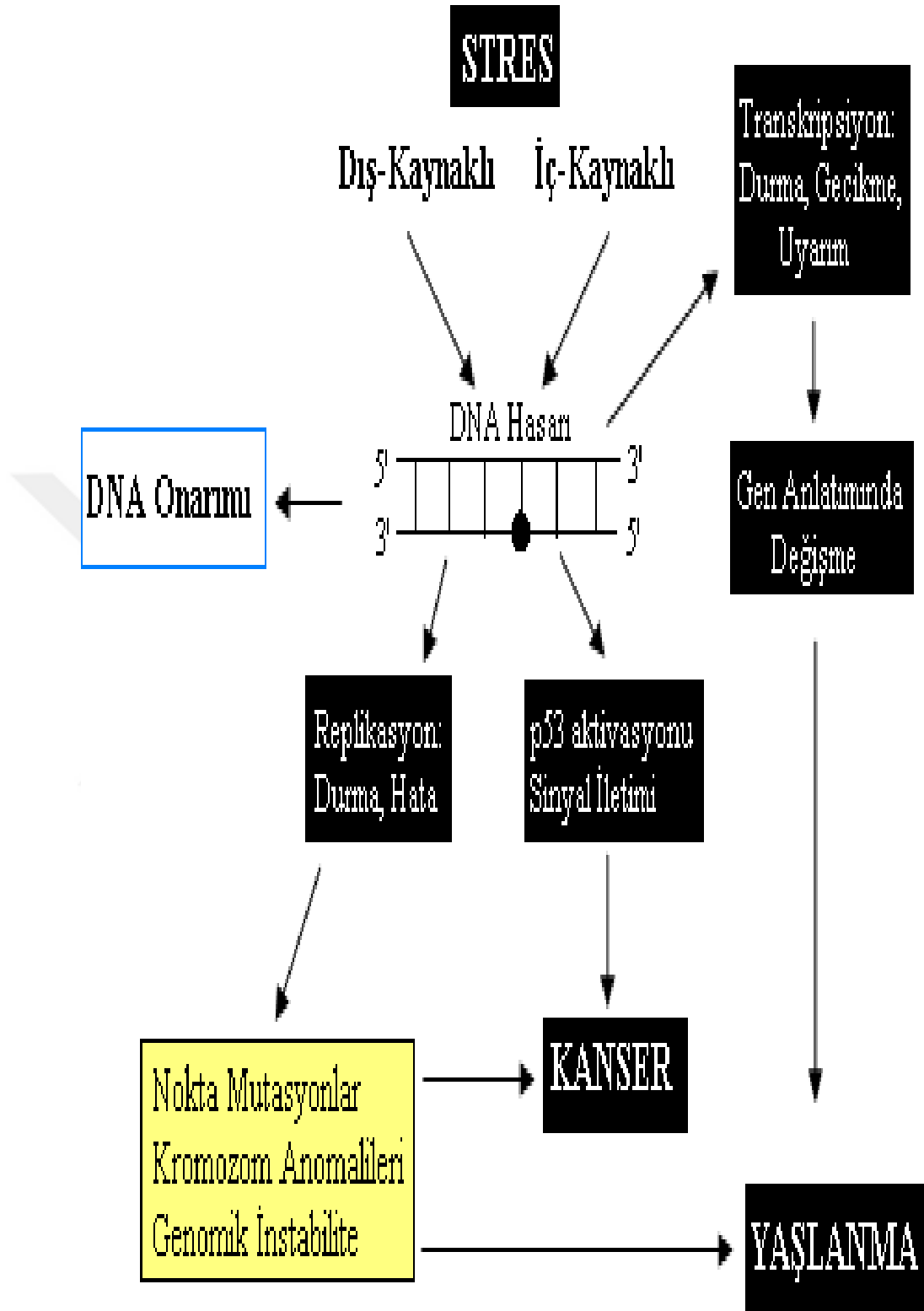
**Şekil 1.16** DNA'da meydana gelebilecek oksidatif nedenli hasarların gösterimi

### 1.9.1 Oksidatif DNA Hasarının Neden Olduğu Biyolojik Sonuçları

Farklı koşullar altında veya yaşlılık ile beraber hücrel antioksidan defans sistemleri hücreyi oksidatif hasardan korumak için yetersiz olabilmektedir ve reaktif oksijen türleri'nin biyomoleküllere verdiği zarar da giderek artmaktadır. Hasarlar önlenemez veya onarılamaz hale geldiğinde ise çeşitli metabolik aksamalara, mutasyonlara ve kanser oluşumuna sebep olabilmektedirler (Loeb ve Loeb, 2000; Bohr, 2002; Mandavilli ve diğ., 2002) (Şekil 1.17). Oksidatif DNA hasarının azalması veya engellenmesi anti-kanser etkisi yaparken yükselişi ise kanser gelişimini tetiklemektedir (Halliwell, 2002). Bu açıdan DNA bozulmasının kanser gelişimi ve ROT (reaktif oksijen türleri) ile ilişkili hastalıklar için iyi bir ölçüt olabileceği tezi ortaya atılmaktadır (Yakes ve van Houten, 1997; Halliwell, 2002).

Pek çok deneysel çalışma, oksidatif DNA hasarının genel olarak onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerde oluşmasının mutasyonları indüklediğini, yani mutajenik ve karsinojenik özelliklere sahip olduklarını (Salles ve diğ., 1999; Loeb ve Loeb, 2000; Marnett, 2000; Dizdaroğlu ve diğ., 2002; de Souza-Pinto ve diğ., 2008), ayrıca yaşlanma ve dejeneratif hastalıklarla da bağlantılı olduğunu ortaya çıkarmıştır (Croteau ve Bohr, 1997; Elliott ve diğ., 2000; Mandavilli ve diğ., 2002; Bohr, 2002).

Kanser görülme sıklığının 8-oxoG ve diğ. oksidatif hasarların yüksek seviyelerde ortaya çıkması, antioksidan ve onarım enzimlerinin aktivitelerinin farklılaşması, antioksidan savunmanın baskılanması (SOD eksikliği gibi) ve ROT düzeyi ile paralel bir biçimde arttığını ortaya koyan birçok *in vivo* çalışma mevcuttur (Elchuri ve diğ., 2005; Cooke ve diğ., 2006; Maynard ve diğ., 2009).



Şekil 1.17 DNA hasarının neden olduğu biyolojik sonuçlar (Bohr, 2002).

### **1.10 DNA Koruyucu Aktivite**

Atmosferde bulunan troposfer tabakasından sonra gelen stratosfer tabakası yaklaşık olarak 50 km yüksekliğe ulaşabilmektedir. Ozonlar ve güneş ışınların oluşturduğu hasar ile dünyaya ulaşan UV ışınları canlı organizmalar üzerinde negatif etkilere sahiptir. Bitkilerde bulunan antioksidanlar zarara yol açan UV ışınların negatif etkilerinden korunmakta büyük önem taşımaktadır. UV ışınları bunlara ek olarak cilt kanseri, cilt yaşlanması ve bunlar gibi hastalıklara neden olmaktadır. Aslında insan cildi görünür spektrofotometreki ışınlar ve tahribe neden olan UV ışınların zararlı etkisini azaltmak için önemli fonksiyonlara sahiptir. Fakat UV ışınlarına fazla maruziyet süresi DNA üzerinde zarara neden olmaktadır. Serbest radikaller de, UV ışınları gibi zarara yol açmaktadır ve yine antioksidan maddeler tahribatı önlemekte ve tahribattan korunmasını sağlamaktadır (Bülbül, 2014).

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki antioksidanlar oksidatif DNA hasarı ve kansere karşı koruyucu mekanizmalar olarak kullanılabilir. Ayrıca antioksidanlar kanser tetiklemesini ve gelişmesini önemli oranda azaltmaktadır. Bunun yanında fitokimyasalların ile reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu DNA tahribatına karşı etkili olduğu ortaya konmuştur.

### **1.11 Antimikrobiyal Aktivite**

Antimikrobiyal ajanlar, mikroorganizmaları öldürücü veya üremelerini durdurucu doğal ya da sentetik kimyasal maddeler olarak isimlendirilirler. Mikroorganizmaları öldürücü etkiye sahip olan maddelere sidal maddeler denmektedir. Sidal maddeler aldıkları ekler ile etki ettiği organizmayı belirtir. Örneğin; bakterileri öldürücü etkiye sahip maddelere bakteriyosidal, fungusları öldürme görevini üstlenen maddelere ise fungusidal adı verilmektedir. Mikroorganizma üzerinde öldürücü etkiye sahip olmayan buna karşın üremesini engelleyici ya da baskılayıcı etkiye sahip olan maddelere ise statik maddeler denir ve yine önlerine getirilen eke göre etki ettiği mikroorganizma grubunu belirtir. Örneğin bakterilerde statik etkiye sahip olan maddelere bakteriyostatik, funguslarda etki oluşturan maddelere ise fungustatik adı verilmektedir (Madigan ve Martinko, 2010).

Uzun süredir antimikrobiyal olarak kullanılan bitkiler, mikroorganizma kökenli hastalıklarla mücadelede anlamlı seviyede etki gösterme fonksiyonlarını sürdürmüşlerdir. Bitkilerin veya bitkisel kökenli ekstraktların mikroorganizmalar üzerine etkileri ve toplum sağlığı açısından önemi olan fonksiyonları 1926 yılından itibaren araştırılmaya devam edilmektedir (Abdelaziz vd., 1990; Asdou vd., 1972; Dığrak vd., 1999; Kalaycıoğlu ve Öner 1994; Khan vd., 1988; Iwu vd., 1999)



## BÖLÜM 2

### LİTERATÜR ÖZETİ

#### 2.1 Literatür Özeti

Kırbaşlar ve diğ. (2006) yılında yaptıkları çalışmada soğuk pres yöntemi ile elde ettikleri limon kabuğu uçucu yağını analize tabii tutarak içerisinde bulunan bileşenlerini saptamışlardır. Limon kabuğu uçucu yağ içeriğinde 42 adet bileşen saptandığı rapor edilmiştir. Yağ içeriğinin %61.8'ini limonen, % 10.6'sını  $\gamma$ -terpinen, %8.1'inin  $\beta$ -pinen'den oluştuğu tespit edilmiştir. Yağın toplam aldehit konsantrasyonunun %83'ünü oluşturan sitral konsantrasyonu %2.4 olarak bulunmuştur (Kırbaşlar ve ark., 2006).

Brezilya'da yapılan başka bir çalışmada Misket limonu kabuklarından SCFE ve SD ile uçucu yağ eldesi yapılmıştır ve içerisinde bulunan 20 bileşenin analizi yapılarak bu iki üretim yöntemi birbirleri ile kıyaslanmıştır. Clevenger kullanılarak yapılan ekstraksiyonda ekstraksiyon süresi 1-8 saat arasında olduğu saptanmıştır. Sitral bileşiği seviyesi açısından en uygun ekstraksiyon süresi 3 saat olarak belirlenmiştir. SCFE çalışmaları 40-50-60 °C'de 90-100-110 bar basınçları altında yapılmıştır. Yine sitral bileşimi seviyesi açısından en uygun ekstraksiyon şartının 60 °C ve 100 bar olduğu belirlenmiştir. Su destilasyonu tekniği ile elde edilen uçucu yağda sitral bileşimi %11.1 iken SCFE yöntemi ile elde edilen yağın sitral bileşimi %1.8 gibi çok düşük bir miktar olduğu bulunmuştur (Atti-Santos ve ark., 2005).

İtalya'da yapılan bir çalışmada geleneksel olarak kullanılan yöntemlerle yetiştirilen limon ağaçlarından elde edilen uçucu yağların pestisitler ile yetiştirilen ağaçlardan elde edilen uçucu yağlar ile kıyaslamışlardır. Toplamda 65 bileşenin çalışma kapsamında tanımlandığı rapor edilmiştir. Geleneksel yöntemler ile üretimi yapılan limonlardan elde edilen kabuk uçucu yağında % 69.67 limonen, % 0.11 linalool, %0.84 neral, %1.43 geranial olduğu saptanmıştır. Geleneksel olarak yetiştirilen ağaçlardan elde edilen meyve kabuk uçucu yağlarındaki terpen miktarı pestisitler kullanılan ağaç meyvelerine

oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve aldehit bileşenlerinin oranının daha düşük olduğu belirlenmiştir (Verzera ve ark., 2004).

Benzer bir diğer çalışma kapsamında, SD ile üretimi gerçekleştirilen uçucu yağlarda uygulanmış ve benzer bulgular saptanmıştır (Sparado ve ark., 2012).

Sarı tarafından (2009) yılında yapılan bir çalışmada hipertansiyon hastalarında limon suyu kullanımının kan basıncı üzerine akut ve kronik etkisi araştırılmıştır. Çalışma neticesinde hipertansif hastalarda limon kullanımı sık olmasına karşın limonun hem akut hem kronik kan basıncını düşürücü bir etkisi olmadığı saptanmıştır.

Baydar tarafından (2010) yılında yapılan bir çalışmada limondaki (*Citrus lemon*(L.) Burn f) fenolik bileşiklerin uçkurutan hastalığı (*Phoma tracheiphila* (Petri) Kanc. et Ghik.)'na etkisinin belirlenmesi amaçlanmış ve çalışma sonucunda fenolik bileşikler olan hesperidin ve limonin'nin farklı konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak hastalık etmeni olan fungus gelişimini engellediği belirlenmiştir.

Özdemir tarafından (2010) yılında yapılan yüksek lisans tezi çalışması kapsamında Türkiye'de turunçgiller içerisinde önemli yere sahip olan bergamut ve limon kabuğunun uçucu yağları eldesi yapılarak bu eldelerden kapsülasyon işlemi yapılarak mikrokapsüller elde edilmiş ve daha sonra bu işlemin ardından kapsülasyonu yapılan uçucu yağların fiziksel ve kimyasal analizleri yapılarak sonuçlar rapor edilmiştir.

Gök tarafından (2012) yılında yapılan doktora tezi çalışması kapsamında Turunçgillerden farklı yöntemlerle uçucu yağ eldesi yapılmış ve elde edilen yağların kimyasal bileşimleri incelenmiştir. Klemantin mandalinası ürünlerinde toplam 68 bileşen tespit edildiği, Alanya dilimli portakalı ürünlerinde toplam 48 bileşenin tespit edildiği, Kıbrıs limonu ürünlerinde toplam 45 bileşen tespit edildiği, Star Ruby greylu ürünlerinde toplamda 35 bileşen tespit edildiği, Bergamut meyve kabuklarında 57 adet bileşen tespit edildiği rapor edilmiştir.

Boyanay tarafından (2013) yılında yapılan bir yüksek lisans tezi çalışmasında, turunçgil yaprağından farklı ekstraksiyon yöntemleri ile uçucu yağ eldesi ve bileşimleri üzerine çalışmış ve çalışma sonucunda Interdonato limon yapraklarından elde edilen uçucu yağda toplam 51 bileşen tespit edildiği, turunç yapraklarından elde edilen uçucu yağ toplam 48 bileşenden oluştuğu, yerli mandalina yapraklarından elde edilen uçucu yağda ise toplam 41 bileşen tespit edildiği rapor edilmiştir.

Uçucu yağ ve özütlerin antioksidan potansiyelleri göz önüne alındığında yerli mandalınadan elde edilen ürünlerin yüksek seviyede antioksidan etki gösterdikleri saptanmıştır. Bu durumun Interdonato limon yapraklarından elde edilen ürünlerde en düşük seviyede olduğu rapor edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarlarının ise genel itibariyle antioksidan seviyeleriyle doğru orantı gösterdiği belirtilmiştir. En yüksek fenolik madde içeriğinin yerli mandalınadan elde edilen üründe olduğu, en düşük seviyenin ise Interdonato limon yapraklarından elde edilen ürünlerde olduğu saptanmıştır.

Janati ve ark. Tarafından (2012), yılında yapılan bir çalışma kapsamında limon kabuklarının kimyasal bileşimi ve hayvan yemi olarak değerlendirilmesi üzerine araştırma yapılmış ve bu araştırma neticesinde limon kabuklarında bulunan protein miktarı (%9.42), yağ (%4.98), kül (%6.26), selüloz (%15.18), sodyum (755.5 mg/100g), potasyum (8600 mg/100g), kalsiyum (8452.5 mg/100g), bakır (4.94 mg/100g), demir (147.65 mg/100g), magnezyum (1429.50 mg/100g), çinko (13.94 mg/100g) ve fosfor (6656 mg/100g) İran ulusal hayvan yemi standardı ile kıyaslanmış ve yağ, protein ve selüloz miktarlarının bu standardı karşılayabileceği saptanmıştır.

Güzel ve Akpınar tarafından, turunçgil kabuklarının biyoaktif bileşenleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi üzerine bir çalışma yapılmıştır ve çalışma sonucunda; mandalınanın kabuk kısımları karotenoid bileşikler bakımından limonun kabuk kısımlarının ise askorbik asit bakımından zengin bir içeriğe sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışma ile greyfurt ve limon kabuk kısımlarının yüksek fenolik madde içermesinin yanı sıra mandalina ve portakal kabuklarına göre yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.



## BÖLÜM 3

### MATERYAL VE METOD

#### 3.1 *Citrus limon* Özütlerinin Elde Edilmesi

##### 3.1.1 Materyal

Özütleme işlemi için aşağıdaki materyaller kullanılmıştır:

- Diklorometan ( $\text{CH}_2\text{CL}_2$ ) (Sigma Aldrich marka)
- Metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) (Sigma Aldrich marka)
- Hekzan ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ) (Sigma Aldrich marka)
- Distile su ( $\text{dH}_2\text{O}$ )
- Soxhlet (Gerhardt basınçlı ekstraksiyon cihazı)
- Evaporatör (Heildolph Heizbad HB Digit)

##### 3.1.2 Bitki Özütlerinin Hazırlanması

Limon kabuk, iç zar ve yaprak kısımları güneş almayan gölge yerlerde kurutma kağıtları üzerine serilip kuru hale gelmeleri sağlanmıştır. Soxhlet cihazı kullanılarak elde edilen bitki özütleri için kuruyan materyallerin toz hali kullanılmıştır. Hazırlanan materyaller Soxhlet yöntemi ile hekzan, diklorometan, metanol ve su özütleri olmak üzere ayrı ayrı özütler çıkarılmıştır. Elde edilen özütlerden Rotary evaporator cihazında evaporasyon işlemi ile hekzan, diklorometan, metanol ve su uzaklaştırılarak  $+4\text{ }^\circ\text{C}$ 'de deney başlangıcına kadar saklanmıştır (Topçu vd., 2007).

#### 3.2 *Citrus limon* Özütlerinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Parametre ve Yöntemler

##### 3.2.1 ABTS Yöntemi ile Total Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

###### 3.2.1.1 Materyal

- ❖ Rel Assay Diagnostic, Tas Assay Kit
- Reagent 1 (Assay tampon)
- Reagent 2 (Renkli ABTS Radikal Solüsyonu)
- Distile su (dH<sub>2</sub>O)

- Biber özütleri
- Thermo Scientific Multiskan Go Spektrofotometre
- Eliza plate

### 3.2.1.2 Protokol

TAS assay kit kullanılan protokol şu şekildedir:

- Eliza plate kuyucuklarına 200 µl Reagent 1 konulmuştur.
- Reagent 1 üzerlerine 0.1 mg/1000 µl lik stok çözeltiden 12 µl bitki özütleri eklenmiştir.
- Başlangıç absorbansları 660 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.
- Ölçüm sonrası üzerlerine 30 µl Reagent 2 eklendi ve 5 dakika 37 °C’ de inkübe edilmiştir.
- İnkübe sonrası 660 nm’de yeniden absorbans ölçümü yapılmıştır.

Ölçüm için şu formül kullanılmıştır:

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs sample})]}{[(\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Std2})]}$$

$\Delta$  Standard1 absorbansı= (Std1’in ikinci absorbansı - Std1’in birinci absorbansı)

$\Delta$  Standard2 absorbansı= (Std2’nin ikinci absorbansı - Std2’nin birinci absorbansı)

$\Delta$  Örnek absorbansı = (Örneğin ikinci absorbansı – Örneğin birinci absorbansı)

### 3.2.1.3 Prensibi

Bu teknikte, örnekteki antioksidan maddeler Reagent 2 içerisinde bulunan koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini indirgenmiş ABTS formuna dönüştürmektedir. Yöntemde serbest radikal olarak 2.2 AzinoBis 3-Etil Benzo Tiazolin-6-Sulfonik Asit (ABTS), pozitif kontrol olarak ise sentetik antioksidan ve Trolox kullanılmıştır. Trolox, bir vitamin E analogudur.

### 3.2.2 Total Antioksidan Seviye Belirleme

#### 3.2.2.1 Materyal

- ❖ Rel Assay Diagnostic, Tas Assay Kit
- Reagent 1 (Assay tamponu)
- Reagent 2 (Prokromojen solüsyon)
- Standard 1 (Blank solüsyon)
- Standard 2 Solüsyon (800 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv/L)
- Deiyonize su (dH<sub>2</sub>O)
- ❖ Spektrofotometre
- ❖ Eliza plate
- ❖ Limon kabuk, iç zar, yaprak özütleri

#### 3.2.2.2 Protokol

- Eliza plate kuyucuklarına 200 µl Reagent 1 konulmuştur.
- Reagent 1 üzerine hazırlanan stok solüsyondan (SSSS), 30 µl eklenmiştir.
- Başlangıç absorbansı spektrofotometrik olarak 530 nm’de okunmuştur.
- Ölçümden sonra üzerine 10 µl Reagent 2 eklenerek ve 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- İnkübe sonrası ikinci kez 530 nm’de absorbans ölçülmüştür.
- Aynı işlemler, standart 2 için de tekrarlanmıştır.
- Ölçüm için şu formül kullanılmıştır:

Sonuç:  $(\Delta \text{Örneğin absorbansı} / \Delta \text{Standart2'nin absorbansı}) \times 20$  (Standard2 Değeri)

$\Delta \text{Standard2 absorbansı} = (\text{Std2'nin ikinci absorbansı} - \text{Std2'nin birinci absorbansı})$

$\Delta \text{Örnek absorbansı} = (\text{Örneğin ikinci absorbansı} - \text{Örneğin birinci absorbansı})$

#### 3.2.2.3 Prensibi

Oksijen olduğunda ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonla oksitlenmektedir. tepkime alanında oksidanların varlığına bağlı olarak oksidasyon reaksiyon yoğunluğu artış göstermektedir. Ferrik iyon asidik ortamda renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Renk yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülür ve absorbans değeri örnekteki oksidan değerini göstermektedir (Çetinkaya, 2013).

### 3.3 Citrus limon Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivite Tayini

#### 3.3.1 Materyal

- Mikropipet
- Bitki Özütleri
- Mueller-Hinton Agar
- Bakteri suşu
- Dimetil Sülfoksit (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OS)
- İnkübatör
- Vorteks
- McFarland Cihazı
- Petri kapları
- Eküvyon çubuk
- Blank disk (6mm)
- Otoklav
- Hassas Terazî
- Biyolojik Güvenlik Kabini

#### 3.3.2 Test Mikroorganizması: *Stenotrophomonas maltophilia*

*Citrus limon* özütlerinin, antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesi için *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisi kullanılmıştır. *Stenotrophomonas maltophilia* suşları Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı öğretim üyesi Prof. Dr. Yasemin ZER'den temin edilmiştir.

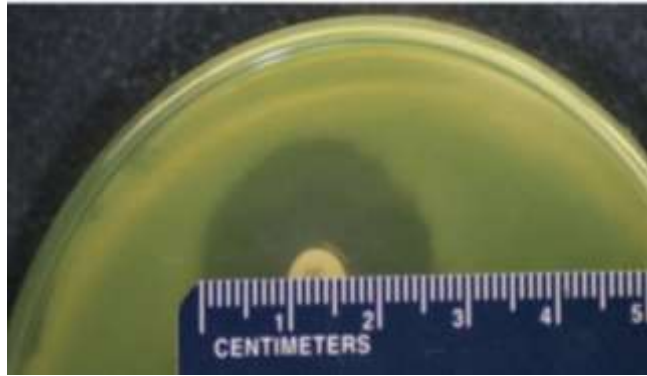


Şekil 2.1 Disk difüzyon yönteminde kullanılan blank disk

### 3.3.3 Disk Difüzyon Yöntemi

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla disk difüzyon testi European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterleri göz önüne alınarak uygulanmıştır. Eldesi yapılan limon kabuk, zar, yaprak özütleri metanol içerisinde çözdürülmüştür. 50mg ekstre için 1ml metanol kullanılmıştır. Karışımların homojenize olması için vorteks cihazı kullanıldı ve sonra 6mm çapındaki steril blank (boş) disklerle 20µl emdirilmiştir. Özütlerin emdirildiği disklerden metanolün uzaklaştırılması için bir gün süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir.

Daha önce besiyerlerinde üreme kontrolleri yapılan *Stenotrophomonas maltophilia* bakteri suşundan bir miktar alınarak ayrı ayrı SF içerisinde 0.5 Baryum Sülfat Bulanıklık Standardı baz alınarak Mcfarland cihazında belirlemeler yapılmıştır. Süspansiyon hale getirilerek vortekslen bu süspansiyonlar steril eküvyon yardımı ile alınan örnek Mueller-Hinton agar yüzeyine 100 µl inoküle edilmiş ve disk difüzyon için kullanılmak amacıyla ekimi yapılmıştır. Bu sıralamayı takiben özüt emdirilmiş diskler steril bir pens ile agar yüzeyine yerleştirilmiştir. İşlem sırasında oluşacak zonların net şekilde ölçülebilmesi için disklerin arasında 22mm, petri kabı kenarından ise 14mm uzaklıkta olmasına özen gösterilmiştir. Sonra besiyerleri 24 saat süreyle 35°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun tamamlanmasının ardından meydana gelen zonların çapları cetvel ile ölçülmüştür ve daha sonra değerlendirmek amacıyla kayda alınmıştır.



Şekil 2.2 Örnek bir zon çapı ölçümü (Türk mikrobiyoloji cemiyeti dergisi 2016)

### 3.4 *Citrus limon* Özütlerinin DNA Koruyucu Potansiyelinin Belirlenmesi

#### 3.4.1 Materyal

- pBR322 DNA (vivantis)
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- %1.25'lik agaroz jel
- Distile su (dH<sub>2</sub>O)
- UV translüminatör (DNR-IS)
- Jel dökümantasyon sistemi (DNR-IS, MiniBIS Pro)
- DMSO

#### 3.4.2 Protokol

Limon kabuk, zar, yaprak özütlerinin DNA'yı UV ve oksidatif stress etkilerinden koruma potansiyellerinin belirlenmesinde E. coli'den izole edilen pBR322 plazmid DNA'sı (vivantis) kullanılmıştır. Plazmid DNA'sı, özütlerin varlığında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve UV uygulanarak hasara uğratılmıştır. Daha sonra Russo vd., 2000, tarafından bulunan metot kapsamınca % 1.5'lik agaroz jel üzerinde yürütülme işlemi yapılarak daha sonra jel görüntüleme cihazında görüntüleme yapılmıştır. Farklı çözücüler ile çıkarılan özütler 50mg kuru ağırlıkları ile tartılarak üzerlerine 1000µl distile su eklenmiş ve özütlerin çözünmesi sağlanmıştır. %1,5 oranında hazırlanan agaroz jele örnek yüklemeleri yapılarak 60dk ve 100 voltta DNA örnekleri yürütülmüştür. Stok olarak hazırlanan pBR322 1:3 oranında distile su ile seyreltilmiştir. Yükleme yapım aşamasında 5µl hazırlanan özüt, 5µl orange G konularak 10µl jelde var olan kuyucuklara yüklenmiştir.

#### 3.4.3 Kontrol ve Özütlerin Hazırlanması

K1: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH<sub>2</sub>O (6µl)

K2: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH<sub>2</sub>O (6µl)+ UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1µl)

LZS: Plazmit DNA (3µl) + Limon zar Su özütü 5µl + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1µl)

LZM: Plazmit DNA (3 µl) + Limon zar Metanol özütü 5µl + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1µl)

LZH: Plazmit DNA (3µl) + Limon zar Hekzan özütü 5µl + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1µl)

LZD: Plazmit DNA (3µl) + Limon zar Diklormetan özütü 5µl + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1µl)

LKS: Plazmit DNA (3µl) + Limon kabuk Su özütü 5µl + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1µl)

LKM: Plazmit DNA (3 µl) + Limon kabuk Metanol özütü 5µl + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1µl)

LKH: Plazmit DNA (3µl) + Limon kabuk Hekzan özütü 5µl + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1µl)

LKD: Plazmit DNA (3µl) + Limon kabuk Diklormetan özütü 5µl + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1µl)

LYS: Plazmit DNA (3µl) + Limon yaprak Su özütü 5µl + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1µl)

LYM: Plazmit DNA (3 µl) + Limon yaprak Metanol özütü 5µl + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1µl)

LYH: Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon yaprak Hekzan özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(1 $\mu$ l)

LYD: Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon yaprak Diklormetan özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk)+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(1 $\mu$ l)



## BÖLÜM 4

### BULGULAR

#### 4.1 *Citrus limon* Kabuk, İç zar, Yaprak kısımlarının TAS ve TOS Aktivite Bulguları

Çalışmamızda limonun taze ve sağlıklı görünen kısımları kullanılmıştır. Bu kısımlar distile suyla yıkanıp gölgede, oda şartlarında kurutularak kullanıma hazır hale getirilmiştir. Aşağıdaki bulgular laboratuvarında yapılan işlemler sonucunda elde edilmiştir.

##### 4.1.1 TAS Değeri ve Grafikleri

Bu yöntemde, örnekteki antioksidan maddeler Reagent 2 içerisinde bulunan koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikaline indirgenmiş ABTS formuna dönüştürülmektedir. Yöntemde serbest radikal olarak 2.2 AzinoBis 3-Etil Benzo Tiazolin-6-Sulfonik Asit (ABTS), pozitif kontrol olarak ise sentetik antioksidan ve Trolox kullanılmıştır. Trolox, bir vitamin E analogudur.

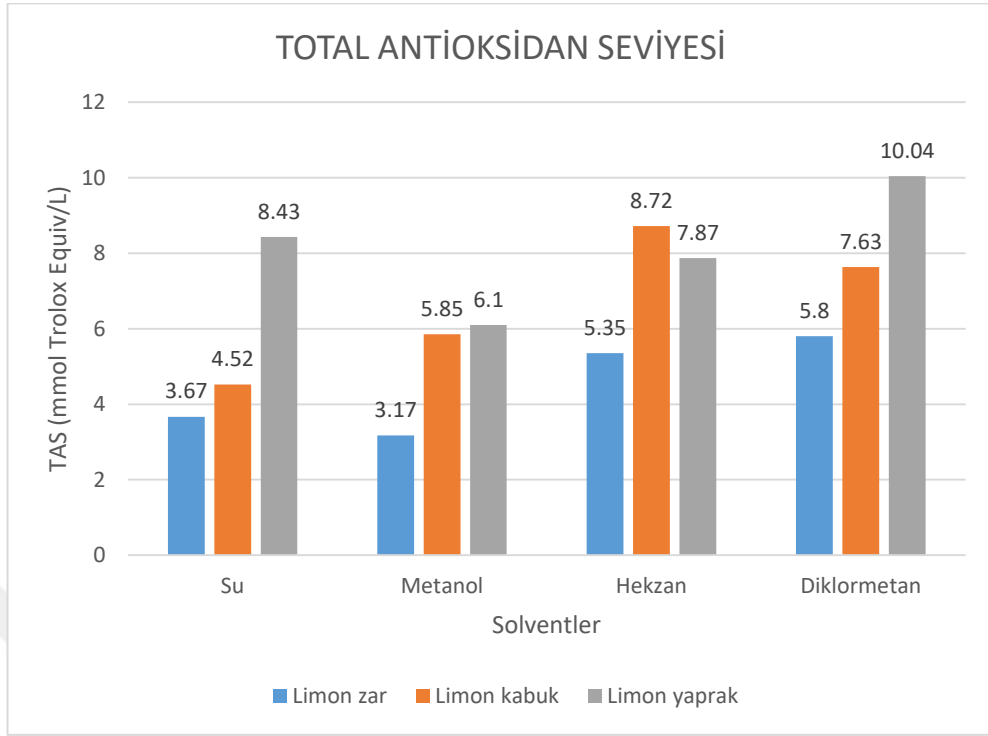
**Tablo 2.1** TAS değerleri

TAS Değeri	Su	Metanol	Hekzan	Diklorometan
Limon zar	3,91	4,27	4,28	3,09
Limon kabuk	4,29	4,26	1,62	0,44
Limon yaprak	4,27	4,29	2,87	1,67

**Tablo 2.2** TAS referans değerleri

TAS REFERANS DEĞERLERİ (mm Trolox Equiv/L)		
>2.0		Çok iyi
1,45	2,0	Normal
1,2	1,45	Normal Kabul Edilebilir
1	1,1	Düşük Antioksidan Seviyesi
<1,20		Çok Düşük Antioksidan Seviyesi





**Şekil 3.1** TAS değerleri grafiği

Tablo 2.1’de bütün özütlerin ve bitki materyallerinin TAS (Total antioksidan seviyesi) değerleri verilmiştir. Bu veriler daha sonra değerlendirilmek üzere kaydedilmiştir.

Saptanan özelliklerin daha iyi değerlendirilmesi ve kıyaslanmasının daha sağlıklı yapılabilmesi için tüm değerler Şekil 3.1’de grafik üzerinde gösterilmiştir.

#### 4.1.2 TOS Değeri ve Grafikleri

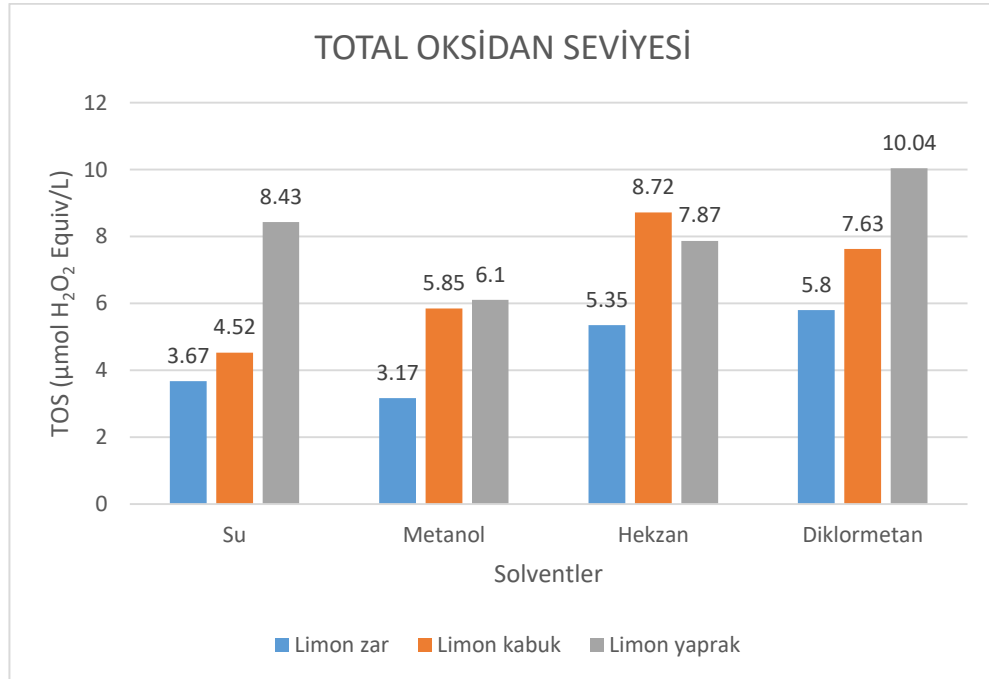
Oksijen varlığında ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonla oksitlemektedir. Oksidanların reaksiyon ortamında bulunmasına bağlı olarak oksidasyon reaksiyonunun yoğunluğunda artış göstermektedir. Ortamın asitlik derecesine bağlı olarak ferrik iyon renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Oluşan rengin yoğunluğu spektrofotometrik olarak ölçülüp absorbans değeri örnekteki oksidan değerini göstermektedir (Çetinkaya, 2013).

**Tablo 2.3** TOS değerleri

TOS Değeri	Su	Metanol	Hekzan	Diklorometan
Limon zar	3,67	3,17	5,35	5,80
Limon kabuk	4,52	5,85	8,72	7,63
Limon yaprak	8,43	6,10	7,87	10,04

**Tablo 2.4** TOS referans değerleri

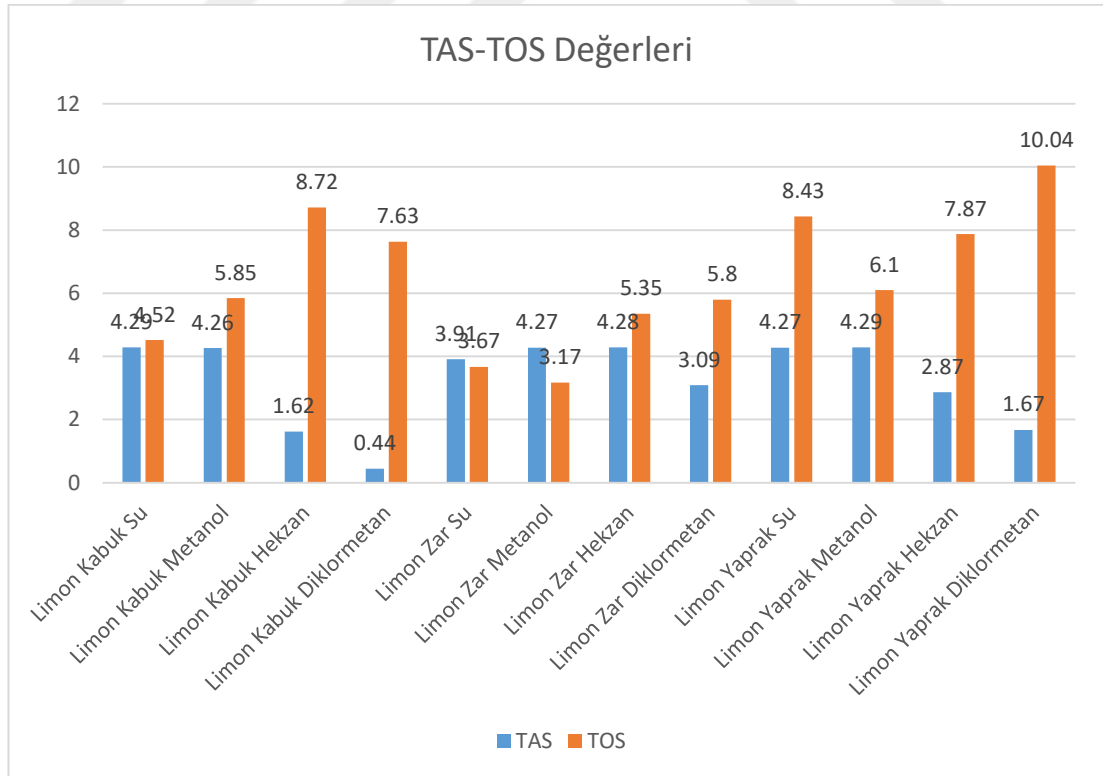
TOS REFERANS DEĞERLERİ ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv/L)		
<5.0		Çok iyi
8	5	Normal
12	8	Yüksek Oksidan Seviyesi
>12		Çok Yüksek Oksidan Seviyesi



**Şekil 3.2** TOS değerleri grafiği

**Tablo 2.5** *Citrus limon* kabuk, iç zar ve yaprak özütlerinin antioksidan ve oksidan değerleri

Özütler	TAS değerleri	TOS değerleri
Limon Kabuk Su	4,29	4,52
Limon Kabuk Metanol	4,26	5,85
Limon Kabuk Hekzan	1,62	8,72
Limon Kabuk Diklorometan	0,44	7,63
Limon Zar Su	3,91	3,67
Limon Zar Metanol	4,27	3,17
Limon Zar Hekzan	4,28	5,35
Limon Zar Diklorometan	3,09	5,80
Limon Yaprak Su	4,27	8,43
Limon Yaprak Metanol	4,29	6,10
Limon Yaprak Hekzan	2,87	7,87
Limon Yaprak Diklorometan	1,67	10,04



**Şekil 3.3** Özütlerin TAS-TOS değerlerinin toplu gösterim grafiği

#### 4.2 *Citrus limon* Kabuk, İç zar, Yaprak Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivite Potansiyelinin Belirlenmesi

Antimikrobiyal etki potansiyelinin belirlenmesi amacıyla disk difüzyon testi EUCAST kriterleri göz önüne alınarak araştırılmıştır. Bu kapsamda daha önceden bekletilerek içerisindeki çözücü uzaklaştırılan blank disklerin yerleştirilmesi için canlandırması yapılan *Stenotrophomonas maltophilia* suşu MHA (Mueller-Hinton Agar) besiyerine inoküle edilmiştir. Daha sonra özütlerin emdirildiği boş diskler uygun steril koşullar ve yöntemine uygun olarak bakteri inokülesi yapılan besiyerine yerleştirilmiş ve sonuçların görülmesi için uygun sıcaklığa ayarlanmış inkübatöre yerleştirilerek 24 saat beklenmiştir. 24 saatin sonunda ölçülen zon çapları aşağıdaki tablo 2.6’da verilmiştir.

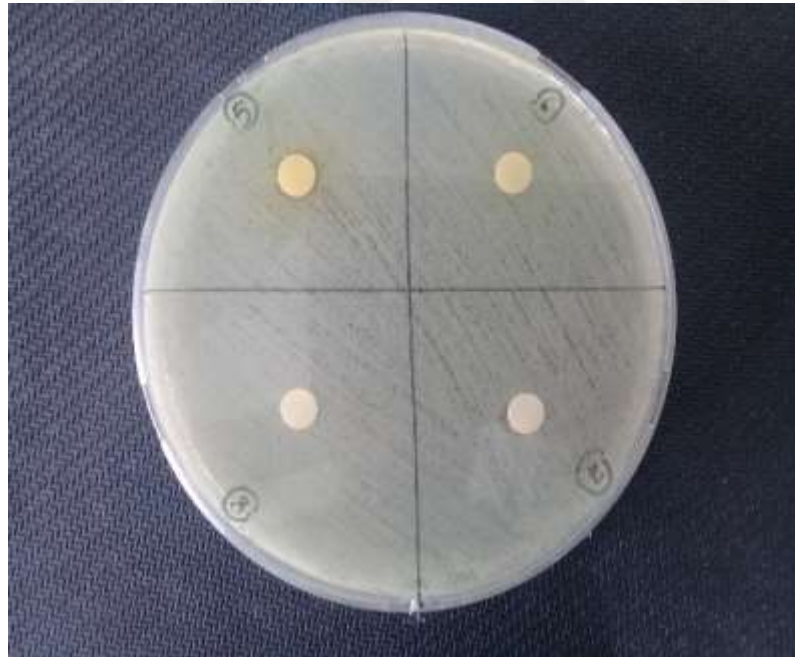
**Tablo 2.6** Disk difüzyon yöntemi sonucunda ölçülen zon çapları

	Su	Metanol	Hekzan	Diklormetan
Limon Kabuk	-	-	-	-
Limon Zar	-	-	-	-
Limon Yaprak	16mm	10mm	-	-

“ - “ Zon oluşumu gözlemlenmeyen diskler



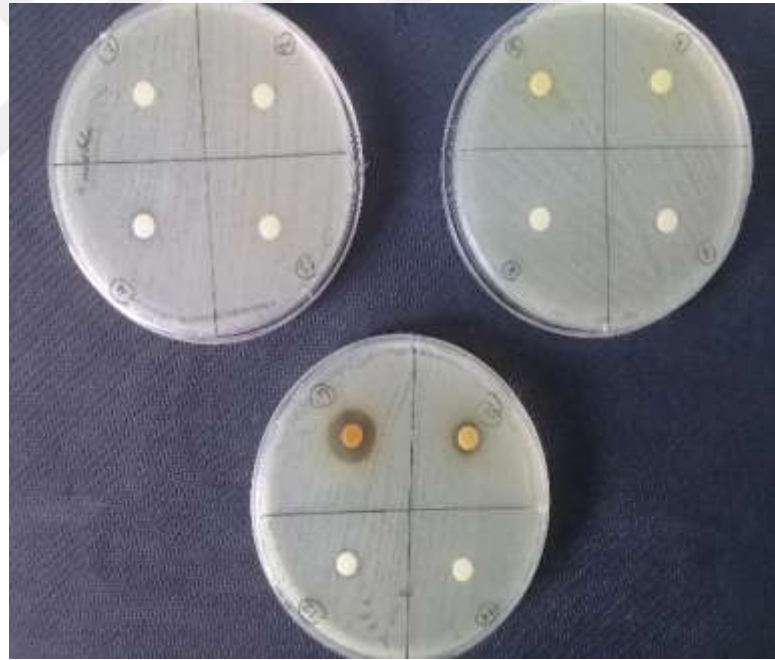
**Şekil 3.4** Disk difüzyon testi sonucu (sırasıyla emdirilen özütler: Limon zar Su, metanol, hekzan, diklormetan)



**Şekil 3.5** Disk difüzyon testi sonucu (sırasıyla emdirilen özütler: Limon kabuk Su, metanol, hekzan, diklormetan)



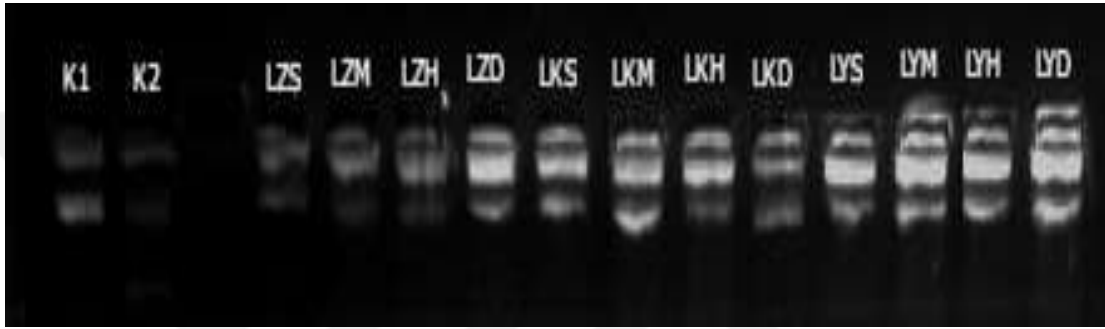
**Şekil 3.6** Disk difüzyon testi sonucu (sırasıyla emdirilen özütler: Limon yaprak su (1), metanol (10), hekzan (11), diklormetan (12))



**Şekil 3.7** Disk difüzyon testi sonuçları

### 4.3 *Citrus limon* (Limon) Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivite Bulguları

*Citrus limon* meyve kısımlarına ait özütlerinin DNA koruyucu aktivitesinin belirlenmesi çalışmasında *E. coli*'den izole edilen pBR322 plazmit DNA'sı kullanılmıştır. Çalışmanın yapılacağı jelin yoğunluğu bu DNA'nın içerdiği baz çifti sayısına göre hazırlanmıştır. Bu yöntem kapsamında, DNA hasarına neden olan UV ışınları ve hidrojen peroksit varlığında, elde ettiğimiz özütlerin DNA hasarını engelleme potansiyellerinin olup olmadığının bulunması amaçlanmıştır. Yapılan çalışma kapsamında ortaya çıkan ve görüntü kaydı alınan jel aşağıdaki şekildedir;



**K1:** Kontrol: Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + dH<sub>2</sub>O (6 $\mu$ l) **K2:** Kontrol: Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + dH<sub>2</sub>O (6 $\mu$ l) + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l)  
**LZS:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon zar Su özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l) **LZM:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon zar Metanol özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l) **LZH:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon zar Hekzan özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l) **LZD:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon zar Diklormetan özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l) **LKS:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon kabuk Su özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l) **LKM:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon kabuk Metanol özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l) **LKH:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon kabuk Hekzan özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l) **LKD:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon kabuk Diklormetan özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l) **LYS:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon yaprak Su özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l) **LYM:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon yaprak Metanol özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l) **LYH:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon yaprak Hekzan özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l) **LYD:** Plazmit DNA (3 $\mu$ l) + Limon yaprak Diklormetan özütü 5 $\mu$ l + UV (5dk) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ l)

**Şekil 3.8** *Citrus limon* zar, kabuk ve yaprak özütlerinin jel görüntüsü

Jel görüntüsü üzerinde de görüldüğü gibi limondan elde edilen özütler eklenerek hazırlanan örneklerin değerlendirilmesi için kontroller kullanılmıştır. Daha sonra değerlendirilmek üzere görüntü kayıt altına alınmıştır.

## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında Limon (*Citrus lemon*) meyvesinin kabuk, iç zar, yaprak özütlerinin antioksidan, antimikrobiyal ve DNA koruyucu aktivite potansiyelleri belirlenmeye çalışılmış, eldesi gerçekleştirilen özütlerin, literatür taraması sonucu olarak uçucu yağları ile yapılan biyolojik aktivite çalışmalarının yoğunlukta olduğu fakat çalışılan bakteri türleri arasında *Stenotrophomonas maltophilia* ile yapılan herhangi bir çalışma olmadığı belirlenmiştir. Yapılan diğer literatür taramasında ise DNA koruyucu aktivite ile ilgili herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Bu nedenle tez çalışmamız özgünlük açısından da oldukça önemli bir yere sahiptir. *Stenotrophomonas maltophilia* üzerine limon meyve kısımlarının ilk defa çalışılıyor olması da çalışmanın özgünlüğü açısından oldukça önemlidir.

Bitkilerin tıbbi amaçlı olarak kullanımları eskilere dayanmaktadır. Doğada çeşitli bitkilerin antimikrobiyal etki gösterdikleri bilinen bir gerçektir. Bitkilerin zararlı mikroorganizmaları öldürücü veya üremelerini durdurucu etkiye sahip oldukları ve halk sağlığı bakımından oldukça önemli özellikleri 1926'dan itibaren laboratuvar ortamında çalışılmaya başlanmıştır ve bu çalışmalar halen günümüzde devam etmektedir (Kırbağ ve Zengin, 2006).

Tıbbi ve aromatik bitkiler antimikrobiyal etki bakımından oldukça zengin kaynaklar olup yüzlerce bitki türünün antimikrobiyal fonksiyonları üzerine çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen büyük bir kısmı henüz keşfedilmemiştir (Mahesh ve Satish, 2008).

Antibiyotik ve bu etkiye sahip diğer ilaçların keşfedildiği 1950'li yıllarda bitkisel kökenli ekstraktların antimikrobiyal kullanımı pek yaygın değildir. Enfeksiyon hastalıklarının iyileştirilmesinde gösterilen başarılar sonucunda antibiyotikler pek çok hastalığın tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Fakat zamanla antibiyotiklerin uygun



olmayan bir şekilde ve yaygın olarak kullanılmaya başlanması direnç gelişimi gibi kötü bir sonuç ortaya çıkarmıştır (Kürek, 2007).

Bununla beraber mikroorganizmalar antimikrobiyal etkiye sahip olan bitkisel ürünlere karşı direnç kazanma gibi bir yeteneğe henüz sahip değildirler. Bunun nedeni yapay ortamda eldesi yapılan ilaçlar tek bir aktif maddeye sahip değil iken bitkilerde bulunan aktif maddeler diğer maddeler ile birlikte kompleks bir yapıya sahiptirler. Bu sebeple bakterilerin çoklu direnç geliştirmeleri söz konusu olmamaktadır. Bu nedenden dolayı da özellikle son zamanlarda bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin tespit edilmesi üzerine yapılan çalışmaların sayısında artış meydana gelmektedir. Bugüne dek bitkilerden 12 binden fazla sekonder metabolit izolasyonu gerçekleştirilmiş olup bu sayının toplam metabolit sayısının sadece %10'una denk geldiği ileri sürülmektedir (Karaman, 2011). Tüm bu bilgiler ışığında bitkilerin içerikleri ve etkilerinin üzerine yapılan çalışmalar çok büyük önem taşımaktadır.

Bakteriler, diğer canlılarda olduğu gibi yapıları gereği yaşamlarını tehlikeye atacak bütün dış etkilere karşı savaş içerisindedirler. Yaşamlarını tehlikeye sokan yeni bir etken ile karşılaştıklarında bu etkene direnç gösteremeyen bakteriler popülasyondan elenirken dirençli olanlar popülasyondaki varlıklarını devam ettirmekte ve daha fazla sayıya ulaşmaktadırlar. Direnç geliştirme adı verilen bu olay esasen doğal seçilimin bir başka ifadesidir. Antibiyotiklere karşı direnç gelişimi de bu olgudan ortaya çıkmaktadır. Bakterilerdeki direnç gelişim mekanizması farklı yollar ile oluşabilmektedir. Antibiyotiğin hedeflediği molekülün değişmesi neticesinde afinitenin ortadan kalkması ya da zayıf hale gelmesi, hücre duvarının geçirgen yapısında meydana gelen azalma, antibiyotiği parçalayan enzimin varlığı, antibiyotiğin engel olduğu metabolik yollara alternatif yollar oluşturulması temel direnç mekanizmalarıdır. Fakat tüm bunların meydana gelebilmesi için mutasyonlar ya da bakterilerarası genetik transferler sonucu oluşan genetik çeşitlilik gereklidir.

Oluşan genetik çeşitlilik neticesinde bir kimyasal etkene veya antibiyotiğe karşı duyarsızlık oluşmuyor ise direnç de oluşmayacaktır. Sonuç olarak tüm antibiyotiklere karşı direnç mekanizmasından söz edilememektedir. Mutasyonlar, doğal seçilim ve adaptasyon sonucu meydana gelen direnç oluşumu ve gelişimi defakto bir durumdur. Bu nedenle bakteriler üzerinde etkiye sahip alternatif ürünlerin bulunması ve üzerine yapılan çalışmalar büyük önem teşkil etmektedir.

Esansiyel yağların antimikrobiyal etkilerinin araştırılması üzerine yapılmış in vitro çalışmalara ek olarak, hayvanlar üzerinde yapılmış in vivo çalışmalar da bulunmaktadır. Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar ve diğer bileşiklerin antibakteriyel etkileri birçok çalışmaya konu olmuştur.

SM (*Stenotrophomonas maltophilia*)'nin kolonizasyon-enfeksiyon ayrımının yapılmasının zor olması, hayvan modellerinde enfeksiyon oluşturma yeteneğinin olmaması ve sağlıklı bireylerde enfeksiyon gözlenmemesinden dolayı virülansı düşük bir bakteri olarak kabul edilmektedir (Denton ve Kerr., 1998). Fakat risk faktörü içerisinde bulunan hastalarda öncelikle bakteriyemi ve pnömoni olmak üzere invazif ve mortal seyir gösteren enfeksiyonlara neden olarak gösterilmesi son iki dekatta arttığından bu bakterinin sanıldığı kadar da masum olmadığı söylenebilmektedir (Kim ve ark. 2016). Fırsatçı patojen olarak kabul gören bu bakteri ile enfeksiyona zemin hazırlayan risk grupları arasında hematolojik malignite, solid organ tümörü, nütropeni, santral venöz kateter, önceki karbapenem, glikopeptid veya anti-pseudomonal sefalosporin kullanımı, son 30 günde SM izolasyonu, uzamış yatış süresi, santral kateter dışı kullanılan yapay ürünler, önceki kemoterapi ve önceki steroid tedavisi sayılabilmektedir (Muder ve ark. 1987, Muder ve ark. 1996, Metan ve ark. 2014, Khardori ve ark. 1991).

*Stenotrophomonas maltophilia* tüm dünyada artış gösteren yaşlı ve immünsüpresif hasta popülasyonu, agrasif kemoterapi diyetleri ve kullanılan geniş spektrumlu antibiyotikler sebebi ile giderek artan sıklıkta ve önemli bir nozokomiyal patojen olarak bildirilmektedir. *Stenotrophomonas maltophilia*'ya bağlı gelişen kan dolaşımı enfeksiyonlarında mortalite oranları çeşitli çalışmalarda gösterilmiş olup birçoğu kaba mortalite oranını (14. gün veya 30. gün) bildirirken, az sayıda çalışmada ise atfedilebilir mortalite oranları bildirilmiştir. Literatürde bildirilen kaba mortalite oranları %21-69 arasında değişmektedir (Paez ve Costa, 2008).

Joma tarafından 2018 yılında yapılan bir çalışma kapsamında zahter özütleri kullanılarak yapılan antibakteriyel çalışma sonucunda zahter özütlerinin *S. maltophilia* bakterisi üzerine etkili olduğu belirtilmiştir (Joma, 2018).

Al-Ithawi tarafından 2018 yılında yapılan bir çalışma kapsamında *S. maltophilia* bakterisi üzerine yeşil çay yaprak özütü, zencefil özütü ve zeytin yaprak özütü denenmiş ve çalışma sonucunda zeytin yaprağından elde edilen özütlerin ve yeşil çay

yapraklarından elde edilen özütlerin *S. maltophilia* üzerine etkisinin olduğu belirtilmiştir (Al-Ithawi, 2018).

Salihi tarafından 2018 yılında yapılan bir çalışma kapsamında ise Zerdeçal ve Defne bitkilerinden elde edilen özütlerin *S. maltophilia* üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmış ve bu çalışma sonucunda çalışılan bitki özütlerinin *S.maltophilia* bakterisi üzerine herhangi bir etkiye sahip olmadıkları belirlenmiştir (Salihi, 2018).

Tez kapsamında yapılan antibakteriyel test sonuçları *S. maltophilia* bakterisine karşı etkili olduğu belirtilen diğer bitki özütleri (Zahter-Zeytin yaprağı-Yeşil çay) ile kıyaslandığında düşük seviyelerde olduğu görülmektedir. Bunun yanında diğer bitki özütleri ile yapılan çalışma ile kıyaslandığında Zerdeçal ve Defne bitki özütlerine göre limon özütünün daha yüksek seviyelerde etki ettiği görülmektedir.

Tez kapsamında yapılan antibakteriyel etki belirleme çalışmasında kullanılan *S. maltophilia* bakterisine karşı literatürde limon ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yönden tez kaynak teşkil edecek nitelikte olup literatürde yerini alacaktır. Antibakteriyel etki belirleme testi sonucunda limon meyvesinin çeşitli bölümleri kullanılarak oluşturulan özütlerden sadece limon yaprağının su kullanılarak çıkarılan özütünde bakteriye karşı anlamlı bir etki olduğu görülmektedir.

Canlı metabolizmasında devamlılık arz eden bir şekilde oksidasyon meydana gelmekte, dış kaynaklı olarak alınan reaktif oksijenler de bu oksidasyon sürecini hızlandırmaktadır. Serbest radikallerin vücutta artması neticesinde ortaya çıkabilecek hücre hasarları, insan sağlığı açısından oldukça önemli sorunlar oluşturma potansiyeline sahiptir. Çünkü serbest radikallerde meydana gelen artış gastrointestinal hastalıklardan infertiliteye, kardiyovasküler hastalıklardan solunum ve boşaltım sisteminde bozukluklara kadar pekçok hastalığa karşı eğilimi arttırabilmektedir.

Yukarıda da belirtildiği gibi tıbbi bitkiler antioksidan açısından oldukça yüksek aktiviteye sahiptirler. Bunlardan birisi de Limon (Citrus limon) olup üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda içerisinde bulundurduğu bileşenlerden kaynaklı zengin bir antioksidan kaynağı olduğu saptanmıştır.

Çalışma kapsamında turunçgil kabuklarının toplam askorbik asit miktarları belirlenmiş bu veriler göz önünde bulundurulduğunda turunçgiller arasında en yüksek askorbik asit miktarı limon kabuğunda olduğu saptanmıştır. Çalışma sonucunda turunçgil kabukları

arasında en yüksek antioksidan kapasitesinin limon kabuk ekstraktlarına ait olduğu belirtilmiştir (Güzel ve Akpınar, 2017).

Çalışma kapsamında limon kabuk, zar ve yaprak özütlerinin oksidan ve antioksidan kapasiteleri ortaya çıkarılmış çıkan oksidan ve antioksidan seviyeleri kıyaslanarak çalışma kapsamındaki özütlerin en düşük oksidan ve en yüksek antioksidan seviyelerine sahip olanları kayıt altına alınmıştır. Kayıt altına alınan antioksidan oranları yapılan diğer antioksidan çalışmaları ile kıyaslandığında paralellik göstermektedir. Yapılan literatür çalışmasında limon meyvesinin antioksidan yönünden zengin olduğu bildirilmiştir ve bu tez çalışması da limon meyve bölümlerinden elde edilen özütlerin yüksek antioksidan seviyelerine sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Bitkilerin sürekli güneş ışınları altında bulunmaları ve buna rağmen kendi savunma mekanizmaları sayesinde UV ışınlarından etkilenmemeleri UV hasarlarına karşı bitkisel koruyucuların çalışılması konusunda ilgi uyandırmaktadır.

Piyasada hali hazırda bulunan, UV koruyucu etkisi olduğu düşünülen oxybenzon ve retinil palmitat güneş kremleri, kişisel bakım ürünleri, el ve vücut kremleri içerisinde bulunan aktif bileşenler olarak çok sık olarak kullanılmaktadır (C. A. Downs. Vd.,2015). Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalar ve araştırmalar sonucunda kozmetik ürünlerinin vazgeçilmezi haline gelen bu bileşenlerin yan etkilere sahip oldukları bildirilmiştir. Bunun yanı sıra Oxybenzonun genotoksik ve endokrin sistemi negatif yönde etkileyen bir bileşen olduğu rapor edilmiştir (Zachary R. Hopkins, vd., 2017).

Tüm bu bilgiler ışığında UV ve DNA üzerinde hasar oluşturma potansiyeline sahip diğer ajanlara karşı koruyucu önlemler alınması önem kazanmaktadır. Bu doğrultuda bitkilerin DNA koruyucu aktivite potansiyelinin ortaya çıkarılması üzerine birçok çalışma yapılmakta ve gün geçtikçe daha da önemli hale gelmektedir.

Diğer bir parametre olarak Limon kabuk, zar ve yaprak özütlerinin DNA koruyucu aktivite potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmış ve bu çalışma kapsamında yapılan deneyler sonucunda tüm ekstraktların DNA koruma potansiyeline göre DNA üzerinde koruyucu aktiviteye sahip oldukları Şekil 3.8'de ki görüntü üzerinden değerlendirilmiştir. Bunlara ek olarak, limon zar diklorometan, limon zar su, limon zar metanol, limon kabuk hekzan, limon yaprağı su, limon yaprağı metanol, Limon yaprağı

hekzan, limon yaprağı diklorometan ekstralarının koruyucu etkisinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Literatür kapsamında limon meyvesi ve bölümleri ile ilgili daha önce DNA koruyucu aktivite potansiyelinin belirlenmesi amacıyla yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yönüyle bu tez çalışması literatüre özgün bir değer katacak ve daha sonraki çalışmalar için bir öncül teşkil edecektir.

Tüm bu çalışmalarda elde ettiğimiz sonuçların yüksek koruyucu potansiyeli, bu bileşenlere alternatif bir ürünle sonuçlanmakta ve kullanılan bitkinin yan etkilerinin olmaması, bu potansiyelin kullanılmasını daha uygun hale getirmektedir. Bu çalışma, değerlendirilen sonuçlar kapsamında elde edilen veriler doğrultusunda yeni çalışmalar yaparak bu potansiyeli arttırmak için bir temel oluşturmaktadır.

## BÖLÜM 6

### SONUÇ

- Limon zar su, limon zar metanol, limon zar hekzan, limon zar diklorometan özütlerinin çok iyi antioksidan kapasiteleri ve düşük oksidan değerlerine sahip olduğu bulunmuştur.
- Limon kabuk su ve limon kabuk metanol ekstralarının oksidan kapasitesi normal değerlerdir.
- Limon kabuk hekzan ve limon kabuk diklorometan ekstralarının yüksek oksidan seviyelerine sahip olduğu tespit edilmiştir.
- Limon yaprağı su özütü ve limon yaprağı metanol ekstraları çok iyi antioksidanlar olarak bulunmuştur.
- Limon yaprağı, hekzan ve limon yapraklarının diklorometan ekstraları ile incelendiğinde normal seviyelerde olduğu bulunmuştur.
- Oksidan değerleri incelendiğinde, tüm limon yaprağı ekstraktları normal ve yüksek oksidan seviye aralıklarındadır.
- DNA koruma potansiyeline göre tüm özütlerin DNA üzerinde koruyucu aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir.
- Limon zar diklorometan, limon zar su, limon zar metanol, limon kabuk hekzan, limon yaprağı su, limon yaprağı metanol, Limon yaprağı hekzan, limon yaprağı diklorometan ekstralarının koruyucu etkisinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.
- *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisine karşı limon yaprağının su kullanılarak çıkarılan özütünde 16mm zon çapı ölçülmüştür. EUCAST standartlarına göre bu zon çapının anlamlı olduğu belirlenmiştir.

## BÖLÜM 7

### KAYNAKLAR

Abdelaziz, A., Abuiryie, M., Alkofahı, A. S., El-oqla, A., Hunaiti, A., Mahmoud, I., (1990). Cytotoxicity, Mutagenicity and Antimicrobial of Forty Jordanian Medicinal Plants, *International Journal of Crude Drug Research*. **28**, 139-144.

Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emmami, B., Fooladian, F., Zafariet, K., (2003). Increasing Intracellular cAMP and cGMP Inhibits Cadmium-Induced Oxidative Stress in Rat Submandibular Saliva. *Comp. Biochem. Physiol. C*. **135**, 331-336.

Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A., (2004). Pesticides and Oxidative Stress: a Review. *Med. Sci. Monit*. **10**, 141-147.

Abeyasinghe, D. C., Li, X., Sun, C., Zhang, W., Zhou, C., Chen, K., (2007). Bioactive Compounds and Antioxidant Capacities in Different Edible Tissues of Citrus Fruit of Four Species, *Food chemistry*. **104(4)**, 1338-1344.

Acosta-Estrada, B. A., Janet A., G-U., Sergio O. S.-S., (2014). Bound phenolics in foods, a Review. *Food chemistry*. **152**, 46-55.

Akçam, E., Oluk, E., (2006). Bitki Hücre Süspansiyon Kültürleri ve Sekonder Metabolit Üretimi, *Anadolu University Journal of Science and Technology*. **7(2)**, 303-310.

Akpoyraz, M., Durak, İ., (1995). Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*. **48(2)**.

Asdou, I. A., Abou-Zeid, H. R., El-Sherbeeney, Z. H., (1972). Antimicrobial Activities of *Allium sativum*, *Allium cepa*, *Raphanus sativus*, *Capsicum rutescens*, *Erucasativa* *Allim kurrat* on Bacteria, *Qual. Plant et Materiae Vegetab*. **22(1)**, 29-35.

Arslan, N., Baydar, H., Kızıl, S., Karık, Ü., Şekeroğlu, N., Gümüştü, A. Tıbbi Aromatik Bitkiler Üretiminde Değişimler ve Yeni Arayışlar.

Atti-Santos, A. C., Rossato, M., Serafini, L., A., Cassel, E., Monya, P., (2005). Extraction of Essential Oils From Lime ( Citrus Latifolia Tanaka) by Hydrodistillation and Supercritical Carbon Dioxide, *Brazilian Archives of biology and technology*. **48**, 155-160.

Aydemir, B., Karadağ, Sarı, E., (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*. **2(2)**, 56-60.

Aydın, Ç., Mammadov, R., (2017). İnsektisit Aktivite Gösteren Bitkisel Sekonder Metabolitler ve Etki Mekanizması, *Marmara Pharmaceutical Journal*. **21(1)**, 30-37.

Baydar, K., (2010). Bazı Limon Çeşitlerinin (Citrus lemon (L.) Burm f.) Uçkurutan Hastalığı (Phoma tracheiphila (Petri) Kanc. et Ghik.)' na Karşı Dayanıklılık Mekanizmasının Fenolik Bileşikler Bazında Belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.

Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S., Telci, İ. (2010). Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttirilmesi Olanakları, *TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*. 11-15.

Benelli, P., Riehl, C. A. S., Smania, Jr. A., Smania, E. F. A., Ferreira, S. R. S., (2010). Bioactive Extracts of Orange (Citrus sinensis L. Osbeck) Pomace Obtained by SFE and Low Pressure Techniques: Mathematical Modeling and Extract Composition, *Journal of Supercritical Fluids*. **55**, 132-141.

Burtis C.A., Ashwood E.R., Vitaminler. Aslan, D. Eds., (2005). *Klinik Kimyada Temel İlkeler*. Palme Yayınları, Ankara.

BOHR, V. A., (2002). Repair of Oxidative DNA Damage in Nuclear and Mitochondrial DNA, and Some Changes with Aging in Mammalian Cells, *Free Radical Bio. Med.* **32(9)**, 804- 812.



Bülbül, B., (2014). Gaziantep İlindeki Bazı Doğal Mikorizal Mantarlar Üzerine Biyoaktivite Araştırmaları, Yüksek Lisans Tezi, *Gaziantep Üniversitesi*, Gaziantep

Boyanay, Ö. K., (2013). Turunçgil Yapraklarından Çeşitli Ayırma Yöntemleri İle Uçucu Yağ Eldesi Ve Bileşiminin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul *Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.

C. A., Downs, Esti Kramarsky-Winter, Roe Segal, John Fauth, Sean Knutson, Omri Bronstein, Frederic, R., Ciner, Rina Jeger, Yona Lichtenfeld, Cheryl M. Woodley, Paul Pennington, Kelli Cadenas, Ariel Kushmaro, Yossi Loya, (2015). Toxicopathological Effects of the Sunscreen UV Filter, Oxybenzone (Benzophenone-3), on Coral Planulae and Cultured Primary Cells and Its Environmental Contamination in Hawaii and the U.S. Virgin Islands, *Arch Environ Contam Toxicol.* **70**, 265–288.

Carr, A.C., Frei, B., (1999). Toward a New Recommended Dietary Allowance for Vitamin C Based on Antioxidant and Health Effects in Humans. *Am J Clin Nutr.* **69(6)**, 1086-1107.

Cochran, C.G., (1991) : Cellular İnjury by Oxidants. *Am. J. Med.* **92**, 235-305.

Cooke, M. S., Rozalski, R., Dove, R., Gackowski, D., Siomek, A., Evans M.D., Olinski, R., (2006). Evidence for Attenuated Cellular 8-oxo-7,8-dihydro- 2'-deoxyguanosine Removal in Cancer Patient. *Biol. Chem.* **387**, 393- 400.

Croteau, D. L., Bohr, V. A., (1997). Repair of Oxidative Damage to Nuclear and Mitochondrial DNA in Mammalian Cells, *J. Biol. Chem.* **272(41)**, 25409- 25412.

Çetinkaya, S., (2013). Bazı Bitkisel Fenolik Asitlerin in Vitro Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas.

Denton, M., Kerr, K. G., (1998). Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev.* **11(1)**, 57-80.

De Souza-Pinto, N. C., Wilson İıı, D.M., Stevnsner, T.V., Bohr, V.A., (2008). Mitochondrial DNA, Base Excision Repair and Neurodegeneration, *DNA Repair.* **7**, 1098- 1109.

Dığrak, M., İlçim, A., Alma, M. H. (1999). Antimicrobialactivities of severalparts of Pinus brutia, Juniperusoxycedrus, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and Pinusnigra. *Phytotherapy Research*. **13**, 584-587.

Dızdaroğlu, M., (1993). Quantitative Determination of Oxidative Base Damage in DNA by Stable İstotobe-Dilution Mass Spectrometry. *FEBS*. **315(1)**, 1- 6.

Dızdaroğlu, M., Jaruga, P., Bırıncıoğlu, M., Rodriguez, H., (2002). Free Radical-İnduced Damage to DNA: Mechanisms and Measurement, *Free Radical Bio. Med.* **32(11)**, 1102- 1115.

Dülger, D., Berktaş, M., (2007). *Stenotrophomonas maltophilia* Suşlarının Klinik Önemi. *Van Tıp Derg.* **14(3)**, 90-5.

Dündar, Y., Aslan, R., (1999). Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*. **2(2)**, 134-142.

Dündar, Y., Aslan, R., (1999). Oksidan-Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*. **9(1- 2)**, 32-39.

Ebaid, H., Bashandy S. A. E., Alhazza IM, Rady, A., El-Shehry, S., (2013). Folic Acid and Melatonin Meliorate Carbon Tetrachlorideinduced Hepatic İnjury, Oxidative Stress and İnflammation in Rats. *Nutr Metab.* **10(20)** doi,10.1186/1743-7075-10-20.

Elchurı, S., Oberley, T. D., Qi, W., Eisenstem, R.S., Roberts, L. J., Van Remmen, H., Epstein, C. J., Huang, T. T., (2005). Cu,Zn-SOD Deficiency Leads to Persistent and Wide-Spread Oxidative Damage and Hepatocarcinogenesis Later in Life, *Oncogene*. **24**, 367- 380.

Elliot, R. M., Astley, S. B., Southon, S., Archer, D. B., (2000). Measurement of Cellular Repair Activities for Oxidative DNA Damage, *Free Radical Bio. Med.* **28(9)**, 1438-1446.

Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M., (2011). Geçmişten Günümüze Tibbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi, *Journal of Forestry Faculty of Kastamonu University* **11(1)**.

Gorinstein, S., Martı n-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., ı , M., Trakhtenberg, S., (2001). Comparison of Some Biochemical Characteristics of Different Citrus Fruits, *Food Chemistry*. **74(3)**, 309-315.

Gök A., (2012). Turunçgillerden Farklı Yöntemlerle Uçucu Yağ Elde Edilmesi Ve Kimyasal Bileşiminin İncelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Gutteridge, J. M. C., (1995). Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clin Chem*. **41(12)**, 1819- 1828.

Güler, H. K., Dönmez, İ. E., Aksoy, S. A. (2015). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antibakteriyel Aktivitesi ve Tekstil Sektöründe Kullanımı, *SDÜ Fen Dergisi*. **10(2)**.

Gürkan, A. S., Bozdağ-Dündar, O., (2005). Coenzyme Q10. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*. **34(2)**: 129-154.

Güzel, M., Akpınar, Ö., (2017). Turunçgil Kabuklarının Biyoaktif Bileşenleri ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. *GÜFBED/GUSTIJ*. **7(2)**, 153-167.

HALLIWELL, B., (2002). Effect of Diet on Cancer Development: is Oxidative DNA Damage a Biomarker?, *Free Radical Bio. Med.*, **32(10)**, 968- 974.

Henle, E.S., Linn, S., (1997). Formation, Prevention, and Repair of DNA Damage by Iron/ Hydrogen Peroxide, *J. Biol. Chem*. **272 (31)**, 19095–19098.

Hevia, D., Mayo, J. C., Tan, D. X., Rodriguez-Garcia, A., Sainz, R. M., (2014). Melatonin Enhances Photo-Oxidation of 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein by an Antioxidant Reaction That Renders N1- Acetyl-N2-Formyl-5-Methoxykynuramine (AFMK). *PLoS ONE*. **9(10)**: e109257. doi:10.1371/journal.pone.0109257.

Hussein, H. K., Elnaggar, M. H., Al-Zahrani, N. K., (2012). Antioxidant Role of folic Acid Against Reproductive Toxicity of Cyhalothrin in Male Mice. *Glo Adv Res J Environ Sci Toxicol*. **1(4)**, 66-71.

Ithawi, A. D., (2018). Bazı Tıbbi Bilgilerin *Stenotrophomonas maltophilia* Bakterileri Üzerindeki Etkisinin Klinik Örnekten İzole Edilmesi Üzerine Araştırmalar, *Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi.

Iwu, G. M. W., Duncan, A. B., Okuaji, C. O., (1999). New Antimicrobials of Plant Orijin.p.457-462, in: J. Janick (ed.), Perspective on New Crops and New Uses, *ASHS Pres*, Alexandria.

Janati F. S. S., Beheshti, R., Feizy, J., Fahim, K. N., (2012). Limon (*Citrus limon*) Kabuklarının Kimyasal Bileşimi Ve Hayvan Yemi Olarak Değerlendirilmesi. *Gıda*. **37(5)**, 267-271.

Janssen, Y. M. W., Houten, B. V., Borm, P. J. A., Mossman, B. T., (1993). Biology of Disease, Cell and Tissue Responses to Oxidative Damage. *Lab. Invest.* **69**, 261-274.

Joma, M. H., (2018). *Thymbra spicata* L. var. *Spicata* (Zahter) Bitki Özütlерinin DNA KORUYUCU AKTİVİTELERİNİN ve *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerine Etkilerinin Araştırılması, *Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep.

Kalaycıoğlu, A., Önder, C., (1994). Bazı Bitki Ekstraksiyonlarının antiimutajenik Etkilerinin amest-Salmonella Test Sistemi ile Araştırılması. *Tr. J. Botany.* **18**,117- 122.

Kalinowska, M., Bielawska, A., Lewandowska- Siwkiewicz, H., Priebe W., Lewandowski, W., (2014). Apples: Content of Phenolic Compounds vs. Variety, Part of Apple and Cultivation Model, Extraction of Phenolic Compounds, Biological Properties, *Plant Physiology and Biochemistry.* **84**, 169-188.

Karaman, P., (2011). Bazı Aromatik Bitki Türlerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve DNA Koruyucu Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

Kaya, S., Pirinççi, Bilgili, A., (1998). Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. *Medisan Yayın Serisi* **35**, Ankara, s. 222, 232, 273, 276, 355.

Khan, M. K., Huma, Z. E., Dangles, O., (2014). A Comprehensive Review on Flavanones, the Major Citrus Polyphenols, *Journal of Food Composition and Analysis*. **33**, 85–104.

Khan, N. H., Nur, E., Kamal, M. S. A., Rahman, M., (1988). Antimicrobial Activity of *Euphorbia thymifolia* Linn.", *Indian J. med. Res.* **87**, 395-397.

Khadori, N., Elting, L., Wong, E., Schable, B., Bodey, G. P., (1991). Nosocomial Infections Due to *Xanthomonas maltophilia* (*Pseudomonas maltophilia*) in Patients with Cancer. *Rev Infect Dis.* **12**:997–1003.

Kırbağ, S., Zengin, F., (2006). Elazığ Yöresindeki Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Y.Y. Üniversitesi Ziraat Fakültesi, *Tarım Bilimleri Dergisi.* **16**:77-80.

Kırbaşlar, S. I., Boz, I., Kırbaşlar, F. G., (2006). Composition of Turkish Lemon and Grapefruit Peel Oils, *JOER.* **18(5)**, 525-543.

Kim, Y. J., Jeon, H., Na, S. H., (2016). *Stenotrophomonas maltophilia* Outer Membrane Vesicles Elicit a Potent Inflammatory Response in Vitro and in Vivo. *Pathog Dis.* **74(8)**,104.

Kim, Y, Kim, D. C, Cho, E. S., Ko S. O., Kwon, W. Y., Suh G. J., Shin H. K., (2014). Antioxidant and Antiinflammatory Effects of Selenium in Oral Buccal Mucosa and Small İntestinal Mucosa During İntestinal İschemia-Reperfusion İnjury. *J Inflamm.* **11(36)** doi,10.1186/s12950-014-0036-1.

Kirkman, H. N., Galiano, S., Gaetani, G. F., (1987). The Function of Catalase-Bound NADPH. *J Biol Chem.* **262(2)**, 660–666.

Koca, N., Karadeniz, F., (2002). Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri, *Gıda Mühendisliği Dergisi.*

Kumar, A. N., Aruna, P., Naidu, J. N., Kumar, R., Srivastava, A. K., (2015). Review of Concepts and Controversies of Uric Acid as Antioxidant and Pro-Oxidant. *Archives Medical Review Journal.* **24(1)**, 19-40.

- Kürek, N., (2007). Denizli ve Çevresinde Yayılış Gösteren Eryngium Cinsine Ait Safekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi, *Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli.
- Ladaniya, M., M., (2008). *Citrus Fruit, Biology, Technology, and Evaluation*, Elsevier Inc., London, ISBN-10: 0123741300.
- Limon-Pacheco J., Gonsebatt, M. E., (2009). The Role of Antioxidants and Antioxidantrelated Enzymes in Protective Responses to Environmentally Induced Oxidative Stress. *Mutat Res.* **674(1-2)**, 137-147.
- Li, Y., Schellhorn, H. E., (2007). New Developments and Novel Therapeutic Perspectives for Vitamin C. *J Nutr.* **137(10)**, 2171-2184.
- Loeb, K. R., Loeb, L. A., (2000). Significance of Multiple Mutations in Cancer, *Carcinogenesis.* **21(3)**, 379- 385.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., Clark, D. P., (2010). Brock Biology of Microorganisms. 13th edition, Pearson Benjamin-Cummings, San Francisco.
- Mahesh, B., ve Satish, S., (2008). Antimicrobial Activity of Some Important Medicinal Plant Against Plant and Human Pathogens. *World journal of agricultural sciences.* **4(5)**, 839-843.
- Mandavilli, B. S., Santos, J. H., Van Houten, B., (2002). Mitochondrial DNA Repair and Aging, *Mutat. Res.* **509**, 127- 151.
- Marnett, L. J., (2000). Oxyradicals and DNA Damage, *Carcinogenesis.* **21(3)**, 361-370.
- Martínez, J. L., (2007). Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds, *CRC Press, United States Of America*, 402s.
- Matés J. M., (2000). Effects of Antioxidant Enzymes in the Molecular Control of Reactive Oxygen Species Toxicology. *Toxicology.* **153**: 83-104.

Maynard, S., Schurman, S. H., Harboe, C., De Souza-Pinto, N. C., Bohr, V. A., (2009). Base Excision Repair of Oxidative DNA Damage and Association with Cancer and Aging, *Carcinogenesis*, **30(1)**, 2- 10.

Metan, G., Hayran, M., Hascelik, G., Uzun, O., (2006). Which Patient is a Candidate for Empirical Therapy Against *Stenotrophomonas maltophilia* Bacteraemia? An analysis of associated risk factors in a tertiary care hospital. *Scand J Infec Dis*. **38**,527-31.

Miguel, M. G., (2010). Antioxidant Activity of Medicinal and Aromatic Plants, A Review, *Flavour and Fragrance Journal*. **25(5)**, 291-312.

Milli Eğitim Bakanlığı (MEB). (2013). *Gıda Teknolojisi, Fenolik bileşikler ve doğal renk maddeleri*, Ankara.

Muder, R. R., Harris, A. P., Muller S. (1996). Bacteremia Due to *Stenotrophomonas* (*Xanthomonas*) *maltophilia*: a Arospective, Multicenter Study of 91 Episodes. *Clin Infect Dis*. **22(3)**,508-12.

Muder, R. R., Yu, V. L., Dummer, J. S., Vinson, C., Lumish, R. M., (1987). Infections Caused by *Pseudomonas maltophilia*: Expanding Clinical Spectrum. *Arch Intern Med*. **147(9)**, 1672-4.

Oskay, D., Oskay, M., (2009). Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoteknolojik Önemi, *Ecological Life Sciences*. **4(2)**, 31-41.

Özdemir, S. K., (2010). Bergamut ve Limon Kabuğu Uçucu Yağının Kapsüllemesi ve Elde Edilen Ürünün Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Antalya.

Özdem, S. S., Sadan, G., (1994). Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu ve Klinik Açısından Önemi. *Akdeniz Ü. Tıp Fak. Derg*. **11**, 63-71.

Özkan, A., Fışkın, K., (2004). Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*. **14**, 52-60.

Öztürk, B. D., (2012). Antioksidanlar Proje Danışmanlığı Eğitimi Çalıştayı, Çanakkale.

Paez, J. I., Costa, S. F., (2008). Risk Factors Associated with Mortality of Infections Caused by *Stenotrophomonas maltophilia*: a Systematic Review. *J Hosp Infect.* **70(2)**,101-8.

Packer, L., Kraeme, K., Rimbach, G., (2001). Molecular Aspects of Lipoic Acid in the Prevention of Diabetes Complications. *Nutrition.* **17**, 888-895.

Palleroni, N. J., Bradbury, J. F., (1993). *Stenotrophomonas*, a New Bacterial Genus for *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1980) Swings et al. 1983. *Int J Syst Bacteriol.* **43**, 606-609.

Park J. W., Floyd, R. A., (1997). Glutathione/Fe<sup>3+</sup>/O<sub>2</sub>-mediated DNA Strand Breaks and 8-hydroxydeoxyguanosine Formation-Enhancement by Copper, Zinc Superoxide Dismutase. *Biochim. Biophys. Acta.* **1336(2)**, 263–268.

Pham-Huy L. A., He, H., Pham-Huy, C., (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci.* **4(2)**, 89-96.

Pietta, P. G., (2000). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of natural products.* **63(7)**, 1035-1042.

Roche, M., Rondeau, P., Singh, N. R., Tarnus, E., Bourdon, E., (2008). The Antioxidant Properties of Serum Albümin. *FEBS Lett.* **582(13)**, 1783-1787.

Salihi, F., (2018). *Curcuma longa* L. ve *Laurus nobilis* L. Bitki Özütlelerinin DNA Koruyucu Aktivitelerinin ve *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerine Etkilerinin Araştırılması, *Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi.

Salles, B., Sattler, U., Bozzato, C., Calsou, P., (1999). Repair of Oxidative DNA Damage in Vitro: a Tool for Screening Antioxidative Compounds, *Food Chem. Toxicol.* **37**, 1009- 1014.

Sarı, A., (2009). Hipertansif Hastalarda Limon Kullanımının Kan Basıncı Üzerine Akut ve Kronik Etkilerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç hastalıkları Anabilim Dalı*, Samsun.



Sawyer, D. E., Van Houten, B., (1999). Repair of DNA Damage in Mitochondria, *Mutat. Res.* **434**, 161-176.

Selen, İşbilir, i., (2008). Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin incelenmesi, *Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi, 132 s.

Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, YSR, De B., (2010) Free radicals, antioxidants, diseases and phytochemicals: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* **3(1)**, 91-100.

Sen, S., Chakraborty, R., (2011) The Role of Antioxidants in Human Health. *American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy.* Chapter **1**, 1-37.

S. Erik, B. Tarıkahya, (2004). Türkiye Florası Üzerine. *Kekibeç.* **17(1)**, 139-163

Shinde, A., Ganu, J., Naik, P., (2012). Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review. *J Dent Allied Sci.* **1(2)**, 63-66.

Sinclair, A. J., Barnett, A. H., Junec, J., (1990). Free Radicals and Antioxidant Systems in Health and Disease. *British J. Hosp. Med.* **43**, 334-344.

Sparado, F., Circosta, C., Costa, R., Pizzimenti, F., Palumbo, D., R., Occhiuto, F., (2012). Volatile fraction composition and biological activity of lemon oil (*Citrus limon* L. Burm): Comparative study of oils extracted from conventionally grown and biological fruits, *The Journal of Essential Oil Research.* **24(2)**, 187-193.

Şahin, S., (2011). Zeytin ağacı yapraklarından Süperkritik –CO<sub>2</sub> ile Ekstrakt Eldesi ve Bileşimindeki Oleuropein Miktarının incelenmesi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi, İstanbul.

Şener, G., Yeğen, Berrak, Ç., (2009). İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi.* **22**, 5-13.

Takeuchi, T., Nakajima, M., Morimoto, K., (1996). Relationship Between the Intracellular Reactive Oxygen Species and the Induction of Oxidative DNA Damage in Human Neutrophil-Like Cells, *Carcinogenesis*. **17(8)**, 1543- 1548.

Title, L. M., Cummings, P. M., Giddens, K., Genest, J. J., Nassar, B.A., (2000). Effect of Folic Acid and Antioxidant Vitamins on Endothelial Dysfunction in Patients With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol*. **36(3)**, 758-765.

Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., (2007). Ulubelen, A., A New Flavone From Antioxidant Extracts of Pistacia Terebinthus, *Food Chemistry*. 816-822.

Townsend, D. M., Tew, K. D., Tapiero, H., (2003). The Importance of Glutathione in Human Disease. *Biomed Pharmacother*. **57(3-4)**, 145-155.

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti. (2016). Antibiyotik Duyarlılık Testleri, EUCAST: Uygulama, Yorum ve Uzman Kuralları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. **46**.

Verzera, A., Trozzi, A., Dugo, G., Bella, G., D., Cotroneo, A., (2004). Biological lemon and sweet orange essential oil composition, *Flavour and fragrance journal*. **19**, 544-548.

WALLACE, S. S., (2002). Biological consequences of free radical-damage DNA bases, *Free Radical Bio. Med*. **33(1)**, 1- 14.

Waring, W. S., (2002). Uric acid: An Important Antioxidant in Acute Ischaemic Stroke. *QJM*. **5(10)**, 691-693.

Wei, Y., Lee, H., (1997). Oxidative Stress, Mitochondrial DNA Mutation, and Impairment of Antioxidant Enzymes in Aging, *Proc. Soc. Exp. Bio. Med*. **217**, 53-63.

Winn, W., Allen, S., Janda, W., et al. (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia: *JB Lippincott*. 332-4.

Yagi, K., (1994). Lipid Peroxidase and Related Radicals in Clinical Medicine. (in) Free Radicals in Diagnostic Medicine. D Armstrong (Editor), 17-27, *Plenum Press, New York*.

Yakes, F. M., Van Houten, B., (1997). Mitochondrial DNA Damage is More Extensive and Persists Longer Than Nuclear DNA Damage in Human Cells Following Oxidative Stress. *Cell Biol.* **94**, 514-519.

Young, I. S., Woodside, J.V., (2001). Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol.* **54(3)**, 176-186.

Zachary, R., Hopkins, Sebastian Snowberger, Lee Blaney, (2017). Ozonation of the Oxybenzone, Octinoxate, And Octocrylene UV-Filters: Reaction Kinetics, Absorbance Characteristics, and Transformationproducts, *Journal of Hazardous Materials.* **338**, 23–32.

Zamocky, M., Koller, F., (1999). Understanding the Structure and Function of Catalases: Clues from Molecular Evolution and in Vitro Mutagenesis. *Prog Biophys Mol Biol.* **72(1)**, 19-66.