

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI



HÜNNAP (*Zizyphus jujuba Mill.*) MEYVESİNİN BAZI
BİYOKİMYASAL BİLEŞENLERİ İLE ANTİBAKTERİYEL,
HİPOGLİSEMİK VE TOTAL ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Halil İbrahim ÖZKAN

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Adnan Adil HİŞMİOĞULLARI

BALIKESİR - 2017

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

HÜNNAP (*Zizyphus jujuba Mill.*) MEYVESİNİN BAZI BİYOKİMYASAL
BİLEŞENLERİ İLE ANTİBAKTERİYEL, HİPOGLİSEMİK VE TOTAL
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Halil İbrahim ÖZKAN

TEZ SINAV JÜRİSİ

Doç. Dr. Adnan Adil HİŞMİOĞULLARI
Balıkesir Üniversitesi - Başkan

Doç. Dr. Tuncay KÜME
Dokuz Eylül Üniversitesi - Üye

Yrd. Doç. Dr. Serpil PAKSOY
Balıkesir Üniversitesi - Üye

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Adnan Adil HİŞMİOĞULLARI

BALIKESİR - 2017



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


TEZ KABUL VE ONAY


Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan
“**Hünnap (Zizyphus Jujuba Mill.) Meyvesinin Bazı Biyokimyasal Bileşenleri ile**
Antibakteriyel, Hipoglisemik ve Total Antioksidan Aktivitesinin İncelenmesi”
başlıklı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21/08/2017

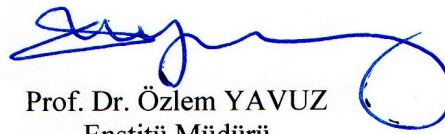
TEZ SINAV JÜRİSİ


Doç. Dr. A. Adil HİŞMİOĞULLARI
Balıkesir Üniversitesi
Başkan


Doç. Dr. Tuncay KÜME
Dokuz Eylül Üniversitesi
Üye


Yrd. Doç. Dr. Serpil PAKSOY
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi, sınav jüri komisyonu tarafından imzalanarak
21 / 08 / 2017 tarihinde teslim edilmiştir.


Prof. Dr. Özlem YAVUZ
Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından ve yazımına kadar bütün aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tezde kullanılmış olan bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim (27.07.2017).

Halil İbrahim ÖZKAN



TEŞEKKÜR

Öncelikle bana bu bölümde yüksek lisans yapma imkânı sağlayan ve tez çalışmam boyunca Anabilim Dalının tüm olanaklarını sunan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Özlem YAVUZ'a, yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren Sayın Doç. Dr. Adnan Adil HİŐMİÖĞULLARI'na teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans çalışmalarım boyunca her konuda yardım eden laboratuvar çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her zaman sevgilerini hissettiğim, yanımda olduklarını bildiğim ve attığım her adımda beni destekleyen, varlıklarıyla daima güç veren anneme ve babama minnettarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tıbbi Bitkiler	3
2.1.1. Tanımı ve Kapsamı	3
2.1.2. Tarihçesi	4
2.1.3. Sınıflandırılması	4
2.1.4. Önemi	5
2.2. Hünnap (<i>Zizyphus jujuba Mill.</i>)	7
2.2.1. Türleri ve Dağılımı	9
2.2.2. Kimyasal Bileşimi	10
2.2.3. Tıbbi Önemi	11
2.3. Antioksidan Madde	12
2.3.1. Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Metotları	13
2.3.1.1. Tek Elektron Transferi Reaksiyonuna Dayananlar Metotları (ET)	13
2.3.1.1.1. β -karoten - Linoleik Asit Metodu (Total Antioksidan Aktivite)	13
2.3.1.1.2. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) Metodu	13
2.3.1.1.3. Demir(III) İyonu İndirgenmesine Dayalı Antioksidan Güç (FRAP) Metodu.....	13
2.3.1.1.4. Cu(II)İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) Metodu	14
2.3.1.1.5. Folin-Ciocalteu Ayracı (FCR) ile Toplam Fenolik Metodu	14
2.3.1.1.6. Difenil-1-pikrihidrazil Radikal Söndürücü Kapasite (DPPH) Metodu	15
2.3.1.2. Hidrojen Atomu Transferi Reaksiyonuna Dayananlar (HAT).....	15
2.4. Antimikrobiyal Aktivite	16
2.5. Fenolik Bileşikler	16
2.5.1. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması	17

2.5.2. Flavonoidler	18
2.6. Vitaminler	20
2.6.1. C Vitamini	21
2.6.2. E vitamini	22
2.7. <i>İn vitro</i> Hipoglisemik Etki	23
2.8. Ekstraksiyon	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Gereçler	25
3.1.1. Analizlerde Kullanılan Bitki Örnekleri	25
3.1.2. Bitkisel Materyalin Hazırlanışı	25
3.1.3. Kullanılan Aletler	25
3.1.4. Kullanılan Kimyasallar	26
3.1.5. Verilerin Değerlendirilmesi.....	26
3.2. Yöntem	27
3.2.1. Bitki Ekstraktların Hazırlanması	27
3.2.2. Antibakteriyel Etkinin Belirlenmesi	27
3.2.3. <i>İn vitro</i> Hipoglisemik Etkinin Belirlenmesi	28
3.2.4. Vitamin C İçeriğinin Belirlenmesi	30
3.2.5. Vitamin E İçeriğinin Belirlenmesi	30
3.2.6. Toplam Antioksidan Kapasitesi Tayini	31
3.2.7. Toplam Fenolik Madde Tayini	31
3.2.8. Toplam Flavonoid Madde Analizi	32
4. BULGULAR	33
4.1. Toplam Antioksidan Kapasite Sonuçları.....	33
4.2. Toplam Fenolik Madde Sonuçları	33
4.3. Toplam Flavonoid Madde Sonuçları	36
4.4. C Vitamini Sonuçları	39
4.5. Hünnapın Antibakteriyel Etkisi	42
4.6. Hünnapın <i>in vitro</i> Hipoglisemik Etkisi	44
4.6.1. Hünnapın Glikoz Adsorpsiyonu Üzerine Etkisi	44
4.6.2. Hünnapın Glikoz Difüzyonuna Etkisi	45
4.6.3. Hünnapın Maya Hücrelerinin Glikoz Alımı Üzerindeki Etkisi	46
4.7. Vitamin E Düzeyleri	46
5. TARTIŞMA	50

6. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR	56
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	66



ÖZET

Hünnap (*Zizyphus jujuba Mill.*) Meyvesinin Bazı Biyokimyasal Bileşenleri ile Antibakteriyel, Hipoglisemik ve Total Antioksidan Aktivitesinin İncelenmesi

Bu çalışmada; hünnap bitkisinin (*Zizyphus jujuba Mill.*) yaprak, çekirdek, meyve, kabuk ve çiçeğinden elde edilen ekstraktlar ile hünnapın toplam antioksidan kapasitesi, fenolik ve flavonoid maddeleri, vitamin C ve E miktarlarının tayin edilmesi ayrıca hünnapın *in vitro* antibakteriyel ve *in vitro* hipoglisemik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla; mevsiminde toplanan hünnap bitkisinin meyvesi, yaprağı, kabuğu, çekirdeği ve çiçek kısımları önce 50 °C’de kurutuldu ve daha sonra bilyalı değirmen yardımıyla toz haline getirildi. Daha sonra da metanol ile ekstraksiyonu yapıldı. Hünnap bitkisinin antibakteriyel etkisinin belirlenmesi için kontrol suşu olarak *S. aureus* ve *E. coli* kullanıldı. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) ve Minimum Bakterisid Konsantrasyon (MBK) değerlerinin belirlenmesinde ise Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Hünnapın C vitamini içeriği, toplam antioksidan kapasite, fenolik ve flavonoid maddelerin analizi için spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Vitamin E tayini için de HPLC cihazı kullanıldı.

Veriler; toplam antioksidan miktarın en fazla olduğu kısmın yaprak, fenolik madde miktarının çiçek, flavonoid madde miktarının yaprak ve C vitamini miktarının da kabukta olduğunu göstermiştir. Bunun yanında hünnapın E vitamini değerleri, meyve, kabuk ve çiçekte tespit edilebilir seviyelerde ölçülemediği için sadece çekirdek ve yaprağında incelenmiştir. Hünnapın adsorpsiyon kapasitesi incelendiğinde, glikozun molar konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğu bulunmuştur. MİK ve MBK değerlerine göre; hünnapın antibakteriyel etkisinin Gram pozitif bakterilerde, Gram negatif bakterilere göre daha kuvvetli olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak; hünnap meyvesi içerdiği fitokimyasallar nedeniyle yararlı bir bitki olduğundan tıbbi amaçlı kullanılmak üzere ayrıntılı bir şekilde araştırılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Hünnap, fitokimyasal, antibakteriyel, hipoglisemi, vitamin.

ABSTRACT

The Examination of Some Biochemical Components of Jujube Fruit (*Zizyphus jujuba Mill.*) and Its Antibacterial, Hypoglycaemic and Total Antioxidant Activities

In this study, it was aimed to determine the total antioxidant capacity, phenolic and flavonoid substances, the amounts of vitamin C and E in extracts that obtained from leaf, seed, fruit, pericarp and flower of jujube plant (*Zizyphus jujuba Mill.*) as well as its antibacterial and hypoglycemic effects *in vitro*.

For this purpose; the fruit, leaf, pericarp, seed and flower parts of the plant collected during the season were first dried at 50°C and then powdered by a ball mill. It was then extracted with methanol. *S. aureus* and *E. coli* were used as control strains in order to determine the antibacterial effect of the jujube plant. Liquid microdilution method was used according to CLSI criteria for determining Minimum Inhibitor Concentration and Minimum Bactericidal Concentration values. Spectrophotometric method was used to determine the content vitamin C, total antioxidant capacity, phenolic and flavonoid substances of jujube plant. HPLC device was used for Vitamin E determination.

The data revealed that the amount of total antioxidant is highest in leaf, the amount of phenolic substance is flower, the amount of flavonoid is leaf, and the amount of vitamin C is in pericarp. In addition, the value of vitamin E examined only in seed and leaf due to it was not measurable at detectable levels in fruit, pericarp and flower. When the adsorption capacity of jujube plant examined, it was found that it was directly proportional to the molar concentration of glucose. According to MIC and MBC values; it was observed that the antibacterial effect of jujube plant was stronger in Gram positive bacteria than in Gram negative bacteria.

As a result, jujube fruit is a useful plant due to its phytochemical content, the detailed investigation required for using medical purposes.

Key words: Jujube, phytochemical, antibacterial, hypoglycaemia, vitamin.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolinsülfonik asit)
ALD	: Aldolaz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
CDDP	: cis-Diamminedikloroplatinyum
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
DDM	: Disk Difüzyon Metodu
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FCR	: Folin Ciocalteu Reaktifi
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LDH	: Laktat dehidtojenaz
MBK	: Minimal Bakterisid Konsantrasyon
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
PAL	: Fenilalanin amonyaliyaz
PPO	: Polifenol Oksidaz
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
UV	: Ultraviyole
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Taze Hünnap Meyvelerinin Genel Görünümü.....	8
Şekil 2.2. Hünnap Bitkisi ve Kısımları.....	9
Şekil 2.3. DPPH Radikali, Antioksidan Maddenin Hidrojeni ile Birleşerek Tek Elektronu İndirgenmiş DPPH-H'i Oluşturması.....	16
Şekil 2.4. Fenolik Bileşik Grupları	19
Şekil 4.1. Toplam Fenolik Madde Sonuçları.....	34
Şekil 4.2. Toplam Flavonoid Madde Sonuçları.....	37
Şekil 4.3. C Vitamin Sonuçları.....	40
Şekil 4.4. Hünnapın Glikoz Adsorpsiyon Kapasitesi Üzerine Etkileri.....	45
Şekil 4.5. Hünnapın Maya Hücrelerinin Glikoz Alımı Üzerindeki Etkileri.....	46
Şekil 4.6. Vitamin E için HPLC Cihazındaki Standart Alınan Değerler Grafiği....	47
Şekil 4.7. HPLC Cihazında Ölçülen Yaprak Ekstraktı.....	48
Şekil 4.8. HPLC Cihazında Ölçülen Çekirdek Ekstraktı.....	48
Şekil 4.9. HPLC Cihazında Ölçülen Meyve Ekstraktı.....	48
Şekil 4.10. HPLC Cihazında Ölçülen Kabuk Ekstraktı.....	48
Şekil 4.11. HPLC Cihazında Ölçülen Çiçek Ekstraktı.....	49

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Bitkilerdeki Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması	20
Tablo 4.1. Hünnap Bitki Ekstraktlarının % İnhibisyon Değerleri.....	33
Tablo 4.2. Yaprığın Fenolik Madde Yönünden Çiçek, Çekirdek, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.....	34
Tablo 4.3. Çekirdeğin Fenolik Madde Yönünden Çiçek, Yaprak, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.....	35
Tablo 4.4. Meyvenin Toplam Fenolik Madde Yönünden Yaprak, Çekirdek, Kabuk ve Çiçek ile Karşılaştırılması.....	35
Tablo 4.5. Kabuğun Toplam Fenolik Madde Yönünden Yaprak, Çekirdek, Meyve ve Çiçek ile Karşılaştırılması.....	36
Tablo 4.6. Çiçeğin Toplam Fenolik Madde Yönünden Yaprak, Çekirdek, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.....	36
Tablo 4.7. Yaprığın Flavonoid Madde Yönünden Çiçek, Çekirdek, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.....	37
Tablo 4.8. Çekirdeğin Flavonoid Madde Yönünden Çiçek, Yaprak, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.....	38
Tablo 4.9. Meyvenin Toplam Flavonoid Madde Yönünden Yaprak, çekirdek, kabuk ve çiçek ile karşılaştırılması.....	38
Tablo 4.10. Kabuğun Toplam Flavonoid Madde Yönünden Yaprak, Çekirdek, Meyve ve Çiçek ile Karşılaştırılması.....	39
Tablo 4.11. Çiçeğin Toplam Flavonoid Madde Yönünden Yaprak, Çekirdek, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.....	39
Tablo 4.12. Yaprığın C Vitamini Yönünden Çiçek, Çekirdek, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.....	40
Tablo 4.13. Çekirdeğin C Vitamini Yönünden Çiçek, Yaprak, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.....	41
Tablo 4.14. Meyvenin C Vitamini Yönünden Çiçek, Yaprak, Kabuk ve Çekirdek ile Karşılaştırılması.....	41
Tablo 4.15. Kabuğun C Vitamini Yönünden Çiçek, Yaprak, Meyve ve Çekirdek ile Karşılaştırılması.....	42
Tablo 4.16. Çiçeğin C Vitamini Yönünden Yaprak, Meyve ve Çekirdek ile Karşılaştırılması.....	42

Tablo 4.17. Gram Pozitif Bakterilerin MİK ve MBK Değerleri.....	43
Tablo 4.18. Gram Negatif Bakterilerin MİK ve MBK Değerleri.....	44
Tablo 4.19. Hünnapın Glikoz Difüzyon Oranı Üzerine Etkileri.....	46
Tablo 4.20. Vitamin E için HPLC Cihazındaki Standart Değerleri.....	47
Tablo 4.21. HPLC Cihazında Ölçülen Hünnap Bitkisinin Vitamin E Sonuçları.....	49



1. GİRİŞ

Antioksidan maddelerce zengin olduğu dolayısıyla sağlık açısından pek çok yararı olduğu bilinen meyve ve sebzelerin, yeterli ve dengeli beslenme konusundaki bilinçlenme ile birlikte, yıllar içinde önemi artmıştır (Yahia, 2010). Bu nedenle, Dünyada ve ülkemizde bu konuda yapılan bilimsel çalışmalar artmakta, bu çalışmalar sayesinde de bilinçli tüketiciler, meyve-sebze tüketiminde onların tat veya kokularının yanında, içerdikleri vitamin ve mineral değerlerini de dikkate almaktadırlar. Bu bağlamda, suda çözünen vitaminler ve mineraller bakımından zengin olan hünnap meyvesinin ülkemizdeki üretiminde de büyük oranda artış görülmüştür (Yaşa, 2016).

Yapılan bir çalışmada; hünnap meyvesinin kalsiyum, potasyum, brom, rubidyum ve lantan elementleri bakımından zengin olduğu gösterilmiştir (Zhumatov, 1996). Yine hünnap meyvesinin yapısındaki zengin fenolik bileşikler, onu hidrojen donörü yapmakta bu da hünnapın güçlü bir antioksidan olduğunu göstermektedir (Tanmay ve ark., 2011). Farklı bir çalışmada, hünnap meyvesi üzerinde yapılan bir analiz sonucuna göre; meyvede ağırlıklı olarak galaktoz, ramnoz, mannoz, glukuronik asit ve arabinoz karbonhidratlarının varlığı tespit edilmiştir. Yine hünnap meyvesinden çok sayıda triterpenik asit de izole edilmiştir (Lee ve ark., 2003).

Besin değeri bakımından zengin bir içeriğe sahip olan hünnap, tıp alanında da birçok dikkat çekici çalışmanın konusu olmuştur. En güncel olanlardan biri, hünnapın ağırlı diyabetik nöropatideki etkileri ile ilgili yapılan çalışmadır. (Kandimalla ve ark., 2017). Hünnapın kök kabuğundan hazırlanan biyoaktif fraksiyonunun oksidatif stres ve bazı inflammatuvar basamakları inhibe ederek ağırlı diyabetik nöropatiye karşı insülin ile birlikte koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca hünnap ile yapılan çalışmalardan elde edilen kanıtlar; içerdiği biyoaktif bileşiklerden dolayı antikanser, anti-inflammatuvar, anti-obezite, antioksidan etkilere

sahip olduğu dolayısıyla karaciğer ve sindirim sistemini de koruyucu özellikler gösterdiği yönündedir (Tahergorabi ve ark., 2015).

Karaciğer koruyucu etkisi olduğu bilinen hünnapın içermiş olduğu yüksek C vitamini ve fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri de mevcuttur. Toksik karaciğer hastalığı sonucu yükselen *aldolaz* (ALD), *aspartat transaminaz* (AST) ve *laktat dehidrojenaz* (LDH) düzeylerinin, hünnap ekstraktının verilmesinden sonra hızlı bir şekilde düştüğü saptanmıştır. Diğer yandan, hünnapın yapısındaki polisakkaritlerin melanoma hücrelerinin proliferasyonunu engelleyici etkisinin olduğu da gösterilmiştir. Hünnaptaki polisakkaritlerin melanoma hücrelerini G2/M fazında durdurduğu, *kaspaz-3* ve *kaspaz-9* aktivitelerini uyararak da melanoma hücrelerini apoptozise sürükledikleri bilinmektedir (Yao, 2013).

Birçok özelliği nedeniyle Dünyanın pek çok bölgesinde yetiştirildiği gibi, ülkemizde de yetiştirilen ve meyvesinden yemiş olarak faydalanılan hünnap ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Hünnap, sahip olduğu zengin vitamin içeriği, antioksidan maddeler, mineraller ve fenolik bileşikler nedeniyle ülkemizde de son yıllarda büyük ilgi görmeye başlamıştır.

Bu tez çalışmasında; çok sayıda tedavi edici özelliği olduğu iddia edilen hünnap meyvesi ile birlikte yaprak, çekirdek, kabuk ve çiçeğinin bileşimleri de araştırılmış olup hünnapın farklı kısımlarının ekstraksiyonu ile elde edilen bileşenlerin varlığı belirlenerek bu konudaki çalışmalara katkı sağlanması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Tıbbi Bitkiler

2.1.1. Tanımı ve Kapsamı

İnsanoğlu varoluşundan bu yana, gerek yaşamını sürdürebilmek, gerekse daha rahat yaşayabilmek için her türlü gereksinimi için eşsiz bir kaynak olan doğadan yararlanmıştır. Dolayısıyla bitkileri besin ve ilaç kaynağı olarak kullanmış; vücudunda oluşan herhangi bir rahatsızlık oluşması durumunda ilk çare olarak bitkilere yönelmiştir (Koç, 2012).

Günümüze değin tıbbi ve aromatik bitkilere dair birçok tanım yapılmıştır. İşlenmemiş ya da işlenerek, bir veya daha fazla bitkiden oluşan bileşikleri içeren, tedavi edici özelliğı olan, insan ve hayvanlara sağılık açısından yararlı olan bitkilerden türetilen maddeler 'bitkisel ilaç' olarak tanımlanmaktadır (Bayram ve ark., 2009). Bu nedenle, birçok hastalığın tedavisinde kullanılan bileşimlerin kaynağını yine doğada yetişen tıbbi bitkiler oluşturmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013).

Bitkilerin insan sağılığı açısından önemli özellikleri ve mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü etkileri, 1926 yılından bu yana, laboratuvarlarda araştırılmaya başlanmış ve bitkilerin ürettikleri veya bulduvdıkları esas etkin maddeler, basit yöntemler kullanılarak elde edilmiştir (Koyuncu ve ark., 2008). Tıbbi bitkilerin önemi; esas olarak içerdikleri uçucu yağlar, alkaloidler, glikozidler, fenoller, tanenler, reçineler gibi sekonder metabolitlerinden kaynaklanmaktadır (Akgül 1993; Ceylan 1997; Bakkali ve ark., 2008). Bitkiler tarafından üretilip depolanan, tüketildiklerinde sağılık için yararlı ancak besin değeri bulunmayan bileşikler sekonder metabolit, diğer ismiyle 'fitokimyasal' olarak tanımlanmaktadır (Erbaş, 2006; Uzunhan, 2014).

Tıbbi ve aromatik bitkiler, hem etkin madde yönünden, hem de kullanım alanları bakımından çok büyük bir grup oluşturmaktadır. Bu bakımdan, genellikle familyalarına, içerdikleri etkin maddelere, tüketim ve kullanım alanlarına, yararlanılan bitki kısmına ve farmakolojik etkilerine göre sınıflandırılma yapılmaktadır (Ceylan, 1995).

2.1.2. Tarihçesi

Dünya genelinde 250.000 ila 500.000 arasında bulunduğu tahmin edilen bitki türlerinin tedavi amacıyla kullanılması, insanlık tarihi kadar eskidir (Borris, 1996). Günümüze kadar keşfedilmiş en eski bitki türleri; Anadolu ve Mezopotamya toprakları içinde yer alan Kuzey Irak'taki Şanidar Mağarası'nda M.Ö. 50.000 yıllarına ait Neanderthal iskeletlerinin yanında bulunan civanperçemi, kanaryaotu, mor sümbül, gülhatmi ve efedradır (Lewin, 2000; Heinrich, 2004). Bunun yanında, bitkilerin kullanımları ile ilgili ilk yazılı metinler arasında; M.Ö. 3.500 - 3.000 yıllarında Sümerler'in kil tabletlere işledikleri tarımsal bilgiler ile tıbbi reçete bilgileri bulunmaktadır. Kayseri yakınlarındaki Kültepe'de bulunan kil tabletlerde ise (M.Ö. 1.974 - 1.719) üç adet baharatın adı (kimyon, kişniş, kekik) geçmektedir (Sabuncuoğlu, 2011).

2.1.3. Sınıflandırılması

Asırlar boyunca süregelen bitkiler ve insanlar arasındaki bu yakın ilişki, günümüzde Dünyaca önemi kabul edilen ve önemli araştırmaların yapıldığı 'etnobotanik' bilimini ortaya çıkarmıştır (Koçyiğit, 2005). Etnobotanik; bitkilerin bilimsel ortamda incelenmesine zemin hazırlamış ve yüzyıllarca deneme-yanılma yoluyla elde edilen önemli bilgilerin günümüze kadar doğru bir şekilde ulaşmasına katkıda bulunan bir bilim dalıdır. Tıbbi bitkiler, bu bilim dalına göre alfabetik, morfolojik, botanik, kimyasal, farmakolojik ve farmakokimyasal olarak sınıflandırılırlar:

Alfabetik sınıflandırma; tıbbi aromatik bitkilerin Latince isimlerine göre sınıflandırma yapısı.

Morfolojik sınıflandırma; tıbbi aromatik bitkilerin kullanılan bölümlerine göre yapılan sınıflandırmadır. Morfolojik sınıflandırmaya göre;

- ❖ Herba (ot): Toprak üstü kısımlar. Örn; adaçayı, hindiba.
- ❖ Folia (yaprak): Örn; nane, adaçayı, melisa.
- ❖ Flores (çiçek): Örn; papatya, hatmi.
- ❖ Fructus (meyve): Örn; kişniş, kuşburnu, anason.
- ❖ Semen (tohum): Örn; keten, çemen.
- ❖ Radix (kök): Örn; kedi otu.
- ❖ Rhizom (rizom): Örn; meyan kökü, ayrık.
- ❖ Yumru (tuber): Örn; sahlep.
- ❖ Bulb (soğan): Örn; sarımsak.

Botanik sınıflandırma; bitkilerin takım, familya ve cinslerine göre yapılan bir sınıflandırma olup farmasötik botanikte kullanılır.

Kimyasal sınıflandırma; bitkilerde bulunan etkin maddelere göre yapılan sınıflandırma şeklindedir.

Farmakolojik sınıflandırma; bitkilerin etki mekanizmasına göre yapılan sınıflandırma şeklindedir.

Farmakokimyasal sınıflandırma; droglar, farmakolojik etkilerine göre ana gruplara, kimyasal etkilerine göre de alt gruplara ayrılırlar.

2.1.4. Önemi

Yurdumuz bitki zenginliği açısından Dünya'nın önde gelen ülkelerden biridir. Avrupa kıtasında 12.000 bitki türü bulunurken, Türkiye 9.500'ün üzerinde bitki türüne sahiptir. Ülkemizin bu kadar zengin bir floraya sahip olmasının nedenleri arasında Akdeniz, İran-Turan (Kazakistan, Orta Asya'nın tamamı, Afganistan'ın bir bölümü, Irak ve Anadolu'yu içine alır) ve Avrupa-Sibirya gibi 3 bitki coğrafyası bölgesinin birarada bulunduğu bir konumda yer alması, Asya ile Avrupa'yı birbirine bağlayan bir köprü konumunda olması, ayrıca iklimsel, topografik ve jeolojik farklılıklar göstermesi ve deniz, göl, akarsu, bataklık gibi değişik sucul ortamlara sahip olması, 0 - 5.000 metreler arasında değişen yükseklik farkının bulunması sayılabilir (Ertaş, 12.Kasım.2015). Tüm bu özelliklerin bir arada olması, hem

endemik, hem de tıbbi ve aromatik bitkiler bakımından ülkemizin zengin olmasına yol açmıştır (Torlak ve ark., 2010).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından bildirilen raporlara göre; yaklaşık 20.000 bitki, Dünyada tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. WHO kayıtlarına göre; Dünya nüfusunun %70 - 80'i geleneksel tıptan yararlanmaktadır (Kıncı, 2015). Bu durum, tıbbi ve aromatik bitkilerin Dünya genelinde, toplumsal ölçekte sosyal, kültürel ve ekolojik açıdan önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Marshall, 2011).

Bitkiler; su, mineral ve bazı ögeleri, kendi metabolizmalarında insan vücudunun özümleyebileceği karbonhidrat, protein, yağ, vitamin ve mineral gibi, sıklıkla kullanılan etkin maddelere dönüştürürler. Bunun yanında birçok bitki, insanlar üzerinde önemli biyolojik etkisi olan farklı kimyasal maddeler içerir (Njume ve ark., 2009). Bitkilerin sentezlemiş olduğu flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanen, berberin, kinin ve emetin gibi fitokimyasallar, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Hussain, 2011). Amerika'da ölüme yol açan en önemli 4 hastalık olan kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyonun önlenmesi ve tedavisinde fitokimyasallardan yararlanılmaktadır (Dündar 2001; Coşkun 2005). Bunun yanında, tıpta sıklıkla kullanılan birçok ilaç, bitkilerden elde edilmektedir (Kınakına bitkisinden elde edilen kinin, haşhaştan üretilen morfin, söğüt kabuğu kullanılarak elde edilen asetilsalisilik asit, yüksükotundan üretilen digoksin, güzelavratotu bitkisinden elde edilen atropin ve hiyosin gibi) (Özbek, 2005; Harput, 2010).

Bazı bitkiler, taze ya da kronik yaraları tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır. *Aloe vera* bitkisi, sıcak ve nemli iklimlerde yetişmekte ve uzun yıllardır yanık tedavisinde kullanılmaktadır. *Aloe vera*'nın yanıklarda iyileşmeyi hızlandırdığı, tedavi süresini kısalttığı ve epitelyum oluşum hızını artırdığı saptanmıştır (Durusoy ve Gözel Ulusal, 2007; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013). Yine adaçayı (*Salvia officinalis*) ekstraktının sindirimi düzenleme, öksürüğü engelleme, yüksek tansiyonu düşürme, gece terlemelerini azaltma, kanı temizleme gibi etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Arıduru ve Arabacı, 2013).

Çok geniş bir kullanım alanına sahip olan sarımsak (*Allium sativum*), yüksek olan kan basıncı, kolesterol ve trigliserid seviyelerini normale düşürerek kalp

hastalıklarına karşı koruyucu etki göstermektedir. Ayrıca kandaki fibrin seviyesini azaltıp plak oluşmasını engellediği ve bu sayede kalp krizi riskini azalttığı da gösterilmiştir (Ağbaş ve ark., 2013). Kuşburnu bitkisinin anti-inflammatuvar, diş eti kanamalarını önleyici ve konstipasyon yapıcı özelliklere sahip olduğu, ayrıca böbrek, safra ve mesane taşlarına etki gösterdiği ileri sürülmekte ve halk arasında antidiyabetik olarak da kullanılmaktadır (Akçiçek, 2010). Kekik (*Thymus vulgaris*) ise genelde halk arasında balgam söktürücü ve dezenfektan olarak kullanılmakta ve sindirim sistemi ile ilgili şikâyetleri azaltmaktadır. Kekik bitkisinin böbrek taşlarını düşürücü, yağları eritici, tansiyonu geçici olarak düşürücü, diş ağrısını giderici, kan şekerini düşürücü ve idrar söktürücü etkilerinin bulunduğu ileri sürülmektedir (Benli ve Yiğit, 2005). Zeytin yaprağının ise ateş düşürücü etkisi tespit edilmiş; bakteri, virus ve mantarlara karşı antimikrobiyal etki gösterdiği ve içeriğinde bulunan 'oleuropein'in viral hemorajik septisemi etkeni olan *Rhabdovirus* üzerinde antiviral etki gösterdiği bildirilmiştir (Akçiçek, 2010). Yine içerdiği fitokimyasallar nedeniyle birçok hastalığın tedavisinde kullanılan önemli bitkilerden biri de hünnaptır.

2.2. Hünnap (*Zizyphus jujuba* Mill.)

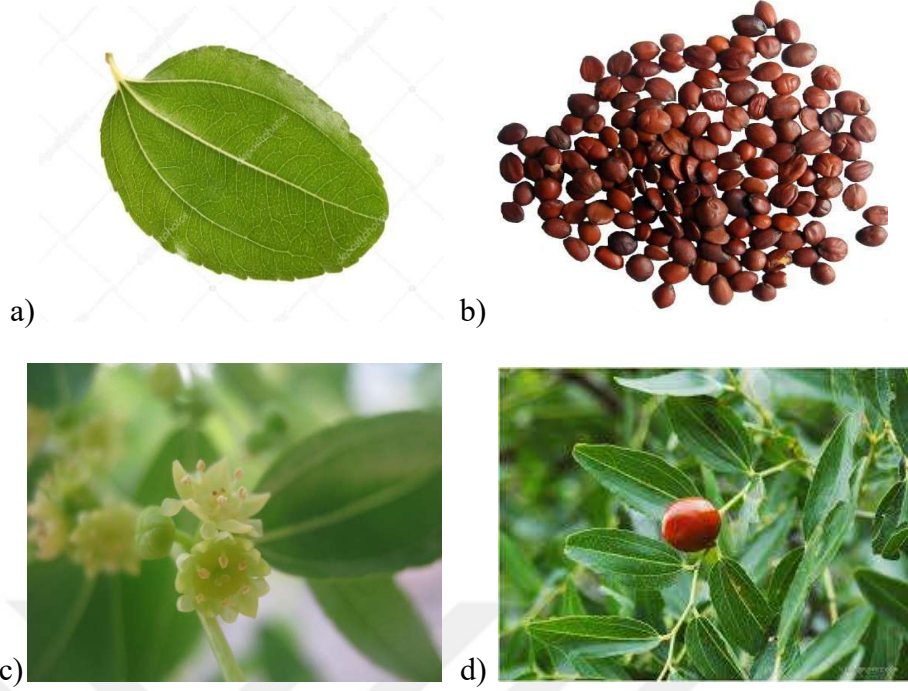
Hünnap (*Zizyphus jujuba* Mill.); Çin orijinli bir bitki olup doğal yayılma alanı Rusya, Hindistan, Kuzey Afrika, Güney Avrupa, Ortadoğu ve Anadolu olarak bilinmektedir (Reichl, 1991). Bu bitkinin subtropikal, soğuk, sıcak ve yarı kurak bölgelere iyi uyum sağladığı görülmüştür. Kışın uyku halinde bulunan bu bitkinin, özellikle Hindistan ve Pakistan dolaylarında kış sıcaklığının -30 °C'ye kadar düştüğü durumlara da uyum sağlayabildiği bilinmektedir.

Olgunlaşmamış meyveleri yeşil halde, olgunlaşan meyveler ise sarı veya sarı-kırmızımsıdan kahverengiye kadar farklı renklerde olabilmektedir. Meyvelerinin büyüklükleri; genellikle 2 cm uzunluk, 1 cm genişlikte olmakla birlikte, kültürü yapılmış bazı ağaçların meyveleri, tavuk yumurtası büyüklüğüne ulaşabilmektedir.



Şekil 2.1. Taze Hünnap Meyvesinin Genel Görünümü (Liu ve ark., 2015)

Hünnap bitkisinin gövdesi silindir biçiminde, kabuğu koyu renkte ve dikenli dallıdır. Yaprakları sade ya da bileşik, kenarları tam veya dişli, anadamarın oluşturduğu karşılıklı veya sarmal diziliş gösteren 8 ile 11 adet yaprakçığı bulunmaktadır. Çiçekleri hermafrodittir; beş adet erkek organ ve bir adet diş organ bulunur. Çanak yaprakları beş parçalı ve yeşil renkli olup, taç yaprakları ise sarı renkli, kıvrık ve beş parçalıdır (Anşin ve Özkan, 1997; Karıncalı, 2003). Çiçeklerinin rengi ise beyazdan gri-sarıya kadar değişkenlik gösteren farklı renklerde olabilir. Meyvesi ise sert çekirdekli eriksi (drupa) tipte olup çekirdeğin iki ucu sivridir (Anşin ve Özkan 1997; Karıncalı 2003). Her bir hünnap meyvesi, 1-2 cm büyüklüğünde genellikle bir adet çekirdek içermektedir. Bu çekirdek içinde genellikle üç adet tohum bulunmasına rağmen tohum sayısının bir veya iki olabildiği durumlar da sözkonusudur (Pareek, 2013). Ayrıca hünnap çekirdeklerinin çok hafif oluşları da dikkat çekmektedir.



Şekil 2.2. Hünnap Bitkisi ve Kısımları. a) Hünnap yaprağı b) Hünnap çekirdeği c) Hünnap çiçeği d) Taze hünnap ve yapraklarının görünümü (Shutterstock, 4 Nisan 2017; Southeastern flora, 4 Nisan 2017.)

2.2.1. Türleri ve Dağılımı

Ülkemizde ve Dünyada çeşitli isimlerle tanınan hünnapın sınıflandırılması, şu şekildedir (Karıncalı, 2003);

Alem (Regnum): Plantae

Bölüm (Divisio): Spermatophyta

Alt Bölüm (Subdivisio): Angiospermae

Sınıf (Classis): Magnoliopsida

Altsınıf (Subclassis): Rosidae

Takım (Ordo): Rhamnales

Aile (Familia): Rhamnaceae

Cins (Genus): *Zizyphus*

Tür (Species) : *Zizyphus jujuba*

Ülkemizde Batı ve Güney Anadolu'da üretilen hünnap; Isparta, Hatay, İskenderun, Antalya, Kayseri, Bursa, Çanakkale illerinde yaygın olarak yetiştirilirken en fazla Denizli ilinin Çivril ilçesi Gümüşsu beldesinde doğal olarak yayılış göstermektedir (Karıncalı, 2003). Hünnap türleri arasında *Z. jujuba* ve *Z. mauritiana*, meyveleri için yetiştirilen türlerdir (İslam ve Simmons, 2006).

2.2.2. Kimyasal Bileşimi

Hünnap meyveleri, insan sağlığı ve beslenmesi açısından içeriğinde önemli bileşenler barındırır. Bunlardan bazıları; askorbik asit, karotenoidler, fenolik bileşikler ile özellikle potasyum ve demir gibi minerallerdir (Promyou ve ark., 2012). Hünnap çekirdeklerinin yağ içerikleri ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada; çekirdeklerin perikarplarında oleik asit bulunduğu tespit edilmiştir (Goncharova ve ark., 1990). Hünnap meyvelerinin kimyasal bileşenlerini belirlemeye yönelik bir çalışmada ise diklorometan ile distile edilen kuru hünnap meyveleri distilatının analizinde 78 adet bileşik tespit edilmiş, bunların %62.97'sinin alifatik asitler, %25.56'sının da karbonil bileşikleri olduğu belirlenmiştir. Başlıca bileşiklerin ise %19.98 bir oran ile dekanolik asit, %15.64 oranı ile de dodekanoik asit olduğu gösterilmiştir (Wong ve ark., 1996).

Yapısındaki zengin fenolik bileşikler, hünnapı zengin hidrojen donörü yapmakta, bu da onun güçlü bir antioksidan olduğunu göstermektedir (Tanmay ve ark., 2011). Hünnapın içerdiği fenolik bileşik miktarı (275.6-541.8 mg/100g), en yakın takipçisi olan kirazdan (114 mg/100g) kat kat daha fazladır.

Hünnap meyveleri, mineral maddeler bakımından oldukça zengindir. Yapılan bir çalışmada; hünnap meyvelerinin kalsiyum, potasyum, brom, rubidyum ve lantan elementleri bakımından zengin olduğu bulunmuştur (Zhumatov, 1996). Limondan yirmi kat daha fazla C vitaminine sahip olan hünnap meyvelerinin vitamin B₁ (tiamin) ve vitamin B₂ (riboflavin) yönünden de oldukça zengin olduğu WHO tarafından onaylanmıştır (Kundi ve ark., 1989).

Hünnapın çekirdek, kabuk ve yapraklarında sedatif etkisi olduğu bilinen peptit yapılı çok sayıda siklik alkaloidin varlığı tespit edilmiştir. Bitkinin yine aynı kısımlarında glikozidik saponinlerin olduğu da bilinmektedir (Jujubosid A, B, A1, B1 ve C, asetil jujubosid B). Hünnap meyvesinde karbonhidrat olarak çoğunlukla

galaktoz, ramnoz, mannoz, glukuronik asit ve arabinoz varlığı saptanmıştır. Yine hünnap meyvelerinden çok sayıda triterpenik asit izole edilmiştir (Lee ve ark., 2003).

2.2.3. Tıbbi Önemi

Hünnap, tıbbi bitkilerden biri olarak kabul edilmektedir. Hünnap ile ilgili Erenmemişoğlu ve arkadaşlarının (1995) yaptığı bir çalışmada; hünnap yapraklarının dekoksasyonu ile elde edilen çeşitli solüsyonların enjekte edildiği farelerde, yüksek olan plazma glikozunun önemli ölçüde düştüğü tespit edilmiştir. Hünnapta bulunan saponinlerin, glukagon sentezini azalttığı ve bunun da kan glukoz düzeyinin azalmasına neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca hünnap meyvelerinin yüksek lif içeriği ile sindirimi yavaşlattığı, doygunluk hissi verdiği ve kan glukoz düzeyinin regülasyonunda etkili olduğu bilinmektedir. Doygunluk hissi vermesi ve ekstraktlarının gliseraldehit-3-fosfat miktarını azaltması, hünnapın obeziteye karşı etkili olduğunu göstermektedir. Yapılan benzer çalışmalarda da hünnap meyvelerinin *Diabetes mellitus* (DM) (Anand ve ark., 1989), sarılık (Belford, 1994), ishal, yara ve ülser (Kundi ve ark., 1989) gibi hastalıkların tedavisinde etkili olabileceği belirtilmiştir.

Hünnapın çay olarak tüketilmesiyle ateşi düşürüp ağrı ve stresi azalttığı, zihinsel yorgunluk, fiziksel güçsüzlük ve uykusuzluk durumlarında etkili olduğu gözlemlenmiştir (Williams ve ark., 2004). Tayvan'da hünnapın kuru tohumlarının insomnia (uykusuzluk) için ikinci sırada reçete edildiği bilinmektedir (Rodriguez, 2017). Ekşi hünnap çekirdekleri de insomnia tedavisinde kullanılmakta ve buna çekirdeklerde bulunan jujubositin etkili olduğu düşünülmektedir (Shegrui, 2013).

Hünnap, vitamin P (biyoflavonoid) yönünden zengin olup bu meyvenin tüketilmesinin P ve C vitaminlerinin birlikte gösterdikleri etki sonucu, kapillar arter duvarlarının kalınlaşmasının önüne geçtiği ortaya konmuştur. Ayrıca vitamin P'nin antibakteriyel, anti-inflammatuvar, anti-alerjik ve antioksidan etkilerin yanı sıra, safra salgısını uyarıcı ve dolaşımı düzenleyici etkilerinin bulunduğu da bilinmektedir. Ayrıca hünnap, yağ asitleri (oleik, linoleik, palmitik ve palmitoloik asitler) yönünden de oldukça zengindir.

2.3. Antioksidan Madde

Canlı hücrelerde birçok tepkime gerçekleşir. Bu tepkimeler sonucu açığa çıkan eşleşmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan serbest radikaller, başka moleküller ile çok kolay bir şekilde elektron alışverişine girebilirler. Antioksidan maddeler, bu serbest radikallerin neden olduğu oksidasyon reaksiyonlarını durduran ya da yavaşlatan bileşik grubuna verilen genel isimdir (Langseth, 1995). Bunlar canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi önemli ve okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelerdir (Çavdar ve ark., 1997).

Doğal antioksidanlar; fenolik bileşikler (fenolik asit, flavonoid), azotlu bileşikler (alkaloid ve klorofil türevleri gibi) ya da karoten, askorbik asit ve E vitamini gibi vitaminlerdir. Bunun yanında antioksidan özelliği keşfedilen birçok farklı madde vardır. Bu maddelerin bir kısmı diyetle alınırken, bir kısmı vücut tarafından immun sistemde üretilir. Vücudun serbest radikallere karşı savunma olarak ürettiği antioksidanlar; *katalaz*, *glutasyon peroksidaz* ve *süperoksit dismutaz* gibi enzimlerdir. Enzimatik olmayan antioksidanlara ise α -tokoferol, β -karoten, askorbik asit, ferulik asit, gallik asit örnek olarak verilebilir (Dündar ve Aslan, 1999; Akdeniz ve ark., 2008). Alfa-tokoferol; radikal giderme, zincir kırma, baskılama, onarma, endojen antioksidan savunma kapasitesini artırma ve intrasellüler enzim kinaz kayıplarını önleme mekanizmalarının tümünü kullanabilen güçlü bir antioksidandır. Tokoferoller grubu antioksidanlar, hidroksil grubundaki hidrojeni, lipid peroksil radikaline vererek etki gösterirler (Diken, 2009).

Reaktif oksijen türleri; UV ışınları, ilaçlar, yağ oksidasyonu, immunolojik reaksiyonlar, radyasyon, stres, sigara ve alkol gibi pek çok yolla oluşabilmektedir (Akdeniz ve ark., 2008). Vücutta yeteri kadar antioksidan bulunmadığında ise antioksidan mekanizması buna bağlı olarak yeterli düzeyde çalışmamakta ve reaktif oksidan moleküllerin neden olduğu hasarlara ve hastalıklara zemin hazırlamaktadır. Serbest radikal miktarı, sistemin kapasitesini aşarsa önemli hücre hasar oluşabilir. Belirli bir düzeye kadar olan oksidan molekül artışı, yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilmektedir; yalnız serbest radikaller antioksidan savunmanın kapasitesini aşarlarsa ise ateroskleroz, kalp hastalıkları, kanser, serebrovasküler hastalıklar, bronşit ve dejeneratif bozuklukların

da yer aldığı patolojik durumlar daha sık olarak görülmektedir (Akdeniz ve ark., 2008).

2.3.1. Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Metotları

Antioksidan kapasite tayin metotları; kullanılan kimyasal reaksiyon açısından, tek elektron transferi reaksiyonuna dayananlar (ET) ve hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT) olmak üzere 2 ana gruba ayrılır:

2.3.1.1. Tek Elektron Transferi Reaksiyonuna Dayananlar (ET)

Elektron transfer; indirgenmiş bir antioksidan maddenin renk değiştiren bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölçümüyle gerçekleşir. Renk değişiminin derecesi, antioksidan derişim ile orantılı olup 6 tür elektron transfer metodu vardır: Bunlar; β -karoten-linoleik asit yöntemi, troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) veya 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolinsülfonik asit) (ABTS), demir (III) iyonu indirgenmesine dayalı antioksidan gücü (FRAP), antioksidan olarak bakır (II)'nin kullanımına dayalı toplam antioksidan potansiyeli (CUPRAC), Folin Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde tayini ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metodudur.

2.3.3.1.1. β -karoten-Linoleik Asit Metodu (Total Antioksidan Aktivite)

Beta-karoten-linoleik asit metodu; yüksek sıcaklıkta linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan bir yöntemdir (Krishnaiah ve ark., 2009).

2.3.3.1.2. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) Metodu

Bu metot; ABTS'nin [2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolinsülfonik asit)] oksidasyonu sonucu oluşan $ABTS^{\bullet}$ + radikal çözültisi üzerine, antioksidan içeren örneğin eklenmesi sonucu, radikalın indirgenmesi ve oluşan mavi/yeşil renkli $ABTS^{\bullet}$ + radikalının renginin okunması ilkesine dayanmaktadır (Garcia-Alonso ve ark.,

2004). Bu yöntemin en büyük dezavantajı, sentetik ABTS radikalının biyolojik sistemlerde bulunmamasıdır (Huang ve ark., 2005).

2.3.3.1.3. Demir (III) İyonu İndirgenmesine Dayalı Antioksidan Güç (FRAP) Metodu

Bu metot; Fe (III)'ün indirgenme kapasitesi yoluyla antioksidanların toplam miktar tayininin yapılmasına dayanmaktadır. Düşük miktarlarda oluşan Fe(III)'ün tripiridiltriazin ile reaksiyonu ile oluşan (Fe(III)-TPTZ) kompleksinin antioksidanların etkisiyle Fe(II)-tripiridiltriazin kompleksine indirgenmesine ve oluşan koyu mavi renkteki Fe(II)-TPTZ kompleksinin okunması ilkesine dayanmaktadır (Tunali ve ark., 2004). Bu metodun dezavantajı ise yöntemin glutasyon gibi bazı antioksidanlar ile çok yavaş reaksiyona girmesidir (Guo ve ark., 2003).

2.3.3.1.4. Cu(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) Metodu

Apak ve arkadaşlarının (2007) geliştirdiği bu metot, bir numunedeki antioksidanlar tarafından Cu(II)'nin Cu(I)'e indirgenmesi temeline dayanır. Bu yöntemde; 2,9-dimetil-1,10- fenantrolin (Neokuproin veya Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neokuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), bakır (I) neokuproin [Cu(I)-Nc] kelatına indirgenme yeteneğinden yararlanarak antioksidan kapasite hesaplanmaktadır.

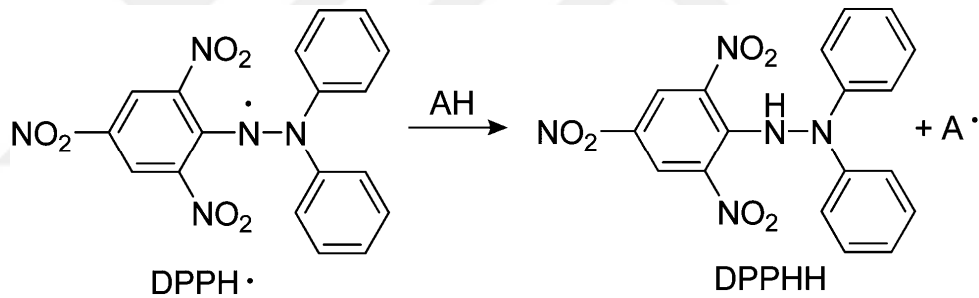
2.3.3.1.5. Folin Ciocalteu Ayırıcı (FCR) ile Toplam Fenolik Metodu

Bu metotta, fenolik bileşiklerden molibdenyuma elektron transfer edilir. Elektron transferi sonucunda, mavi renkli kompleks oluşur ve bu kompleks, 750 - 765 nm'de spektrofotometre ile ölçülür. Standart bileşik olarak genellikle gallik asit kullanılır ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilir. Fenol tayininde kullanılan güvenilir ve basit bir yöntemdir (Akalin ve ark., 2004).

2.3.3.1.6. Difenil-1-pikrihidrazil Radikal Söndürücü Kapasite (DPPH)

Metodu

Gıdaların antioksidan kapasitesinin ölçülmesinde çok sık kullanılan metotlardan bir diğeri de DPPH metodudur. Bu metot, antioksidan bileşiklerin mor renkli stabil bir bileşik olan DPPH radikalini indirgeme yeteneklerinin ölçümünü esas alarak, rengin antioksidan madde tarafından sarı renge dönüşmesini sağlar (Huang ve ark., 2005). DPPH radikali, antioksidan maddenin hidrojeni ile birleşerek, DPPH-H'i oluşturmakta ve bu sırada DPPH radikalinin 515 nm'deki molar absorpsiyon katsayısı 9.660'tan 1.640'a düşmekte ve renk de mordan sarıya dönüşmektedir (Prakash, 12.Ekim.2006). Bu metot; kolay, hızlı, hassas, tekrarlanabilir ve birçok örneğin radikal söndürme aktivitesini izlemek için farklı örneklerin çözünürlüklerinin ölçülmesine izin veren bir yöntemdir (Mot ve ark., 2011).



Şekil 2.3. DPPH⁺ Radikali ve Antioksidan Maddenin Hidrojeni ile Birleşerek Tek Elektronu İndirgenmiş DPPH-H'i Oluşturması (Nimse ve Pal, 2015).

2.3.1.2. Hidrojen Atomu Transferi Reaksiyonuna Dayananlar (HAT)

Hidrojen atomu transferine dayanan bu metotta, yarışmalı reaksiyon kinetiği izlenir. Bu analiz yöntemlerinin çoğunda, azo bileşiklerinin bozunması sonucu oluşan peroksi radikallerinin, antioksidan ve substrat tarafından yarışmalı bir şekilde söndürülmesi prensibi vardır (Apak ve ark., 2007). Metot, genellikle bir sentetik serbest radikal oluşturucu, bir oksitlenebilen prob ve bir antioksidan üçlüsünden oluşur. Bu metodun oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi (ORAC), toplam radikal yakalayıcı parametre (TRAP), luminol, koşin beyazlatma, toplam oksiradikal

söndürme kapasite (TOSC) ve diklorofloresin-diasetat (DCFH-DA) olmak üzere 6 farklı türü vardır.

2.4. Antimikrobiyal Aktivite

Bitkilerin yaprak, kök, tohum gibi kısımları, birçok mikroorganizmanın büyümesini durdurabilecek maddeler içermektedir. Bu bitkiler, halk arasında antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılmaktadır. Bu etkiyi gösteren kimyasallar; genel olarak alkaloid, flavonoid, isoflavonoidler, tanenler, kumarinler, terpenler, fenilpropaner ve organik asitler olarak bilinmektedir. Antimikrobiyal ajanların etki mekanizmaları, mikroorganizmaların hedef bölgeleri ve bakterinin hücre yapısıyla ilgilidir (Karaman, 2011).

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla geliştirilmiş birçok metot bulunmakta olup Disk Difüzyon Metodu (DDM), Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi ve Minimum Bakterisid Konsantrasyon (MBK) metotları, en çok tercih edilmişlerdir. Farklı konsantrasyonlarda test edilen antimikrobiyal maddelerin, mikrobiyal gelişimi tamamen yok ettiği ya da engellediği en düşük derişim, MİK olarak tanımlanır (Şahin, 2006). MBK ise bir mikroorganizmanın tamamını yok eden en düşük antibiyotik konsantrasyonudur. MBK, MİK testinden sonra uygulanır (Altuner, 2008). Bir diğer metot olan DDM, antimikrobiyal aktivite belirleme çalışmalarında kullanılan en yaygın metottur. Bu metotta, test edilen mikroorganizma ile inoküle edilmiş katı besiyeri üzerinde yer alana disk veya oluşturulan kuyucuğa antimikrobiyal madde eklenir. Besiyerinde antimikrobiyal maddenin oluşturduğu aktiviteye bağlı olarak oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek ekstraktın antimikrobiyal etkisi belirlenmektedir (Şahin, 2006; Madigan ve Martinko, 2010).

2.5. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bir aromatik halka ve buna bağlı olarak bir ya da birden fazla hidroksil grubu içeren ve bitkiler tarafından sentezlenen maddeler olarak tanımlanmaktadır (Shi ve ark., 2003; Ignat ve ark., 2011). Fenolik bileşikler; bitkinin çeşidine ve organına göre vakuollerde ve hücre duvarlarında bulunabilirler (Cemeroğlu ve ark., 2001). En basit fenolik bileşik, tek hidroksil grubu içeren

benzendir ve fenol olarak adlandırılmaktadır (Shi ve ark., 2003; Ignat ve ark., 2011). Fenolik bileşikler, en aktif doğal antioksidanlardır; antioksidan etkilerini serbest radikallere bağlanarak, metaller ile şelat oluşturarak ve lipoksijenaz enzimini inaktive ederek gerçekleştirirler (Oğuz, 2008).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar; fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu nedenle fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin; serbest radikalleri tutma, hidrojen verme, singlet oksijeni tutma, metal iyonlarını bağlama veya süperoksit anyonu için uygun substrat oluşturma gibi değişik mekanizmalardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu mekanizmalardan başka, *in vivo* sistemlerde, fenolik bileşiklerin oksidasyonu ile α - tokoferol radikaline H atomu vererek LDL oksidasyonunun önlenmesi şeklinde mekanizmaların varlığı da öne sürülmektedir (Büyükbacı, 2005).

Fenolik bileşikler, beslenme fizyolojisindeki faydaları nedeniyle 'biyoflavonoid' olarak da adlandırılmaktadır. Bunlar, kılcak dolaşım sisteminde geçirgenliği düzenleyici ve kan basıncı düşürücü etkileri gözönüne alınarak kaynaklarda 'P faktörü' veya 'P vitamini' olarak da adlandırılmaktadır (Özaydın, 2013). Fenolik bileşiklerden olan flavonoidlerin antioksidan, antimutajenik ve antikarsinojenik özelliklerinden dolayı insan sağlığını destekleyici bileşikler olduğu belirtilmektedir (Hertog ve ark., 1993; Hollman ve ark., 1996). Araştırmalara göre; fenolik bileşiklerden olan fenolik asitlerin ve flavonoidlerin bir grubunun antibiyotik, antifungal ve anti-inflammatuar olarak etki yaptığı ifade edilmiştir (Diken, 2009). Fenolik maddelerden olan kateşinler ile yapılan bir çalışmada; kateşinlerin bazı kronik rahatsızlıkları önleyici etkileri olup ayrıca antioksidan, antikarsinojen, vazorölsan ve hipoglisemik aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir (Rizvi ve Zaid, 2004).

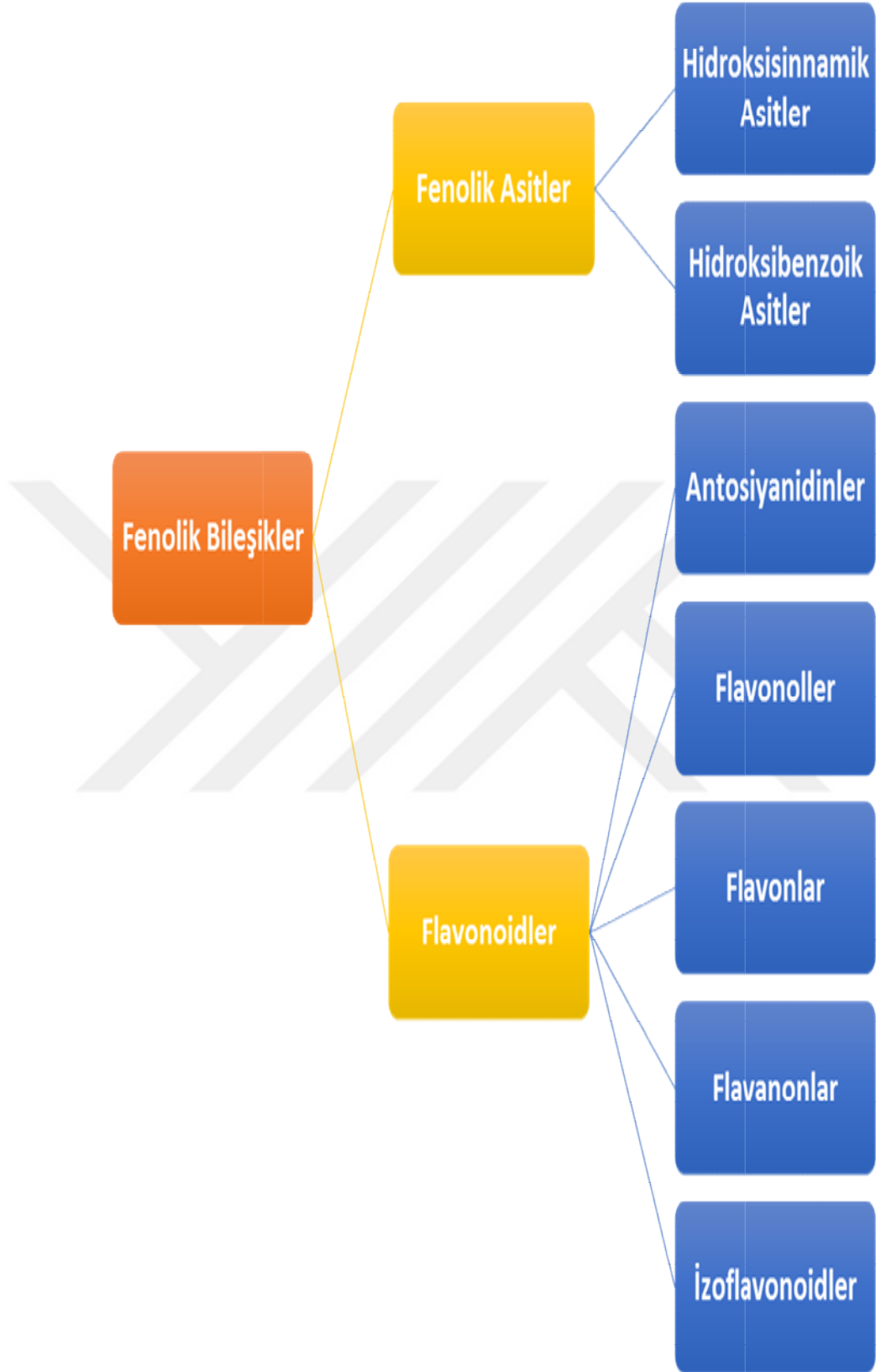
2.5.1. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

Fenolik bileşikler, fenol halkalarının sayısı ve pozisyonuna göre; fenolik asitler ve flavonoidler olarak 2 alt gruba ayrılmaktadır (Nizamlioğlu ve Nas, 2010).

2.5.2. Flavonoidler

Flavonoidler, 3 fenolik halkaya sahip, hidroksil ve metil grubuna göre değişen 2-fenilkromon türevidirler. Genellikle sarı renkli oldukları için 'flavonoid' olarak isimlendirilmiştir. Kimyasal yapıları, (C6-C3-C6) iskelet yapısına dayanır (Madhavi ve ark., 1996; Shahidi, 1995). Doğal olarak oluşan flavonoidler; flavanon, flavonlar, izoflavonoidler, flavanlar (flavanoller), antosiyaninler ve flavonoller olmak üzere kimyasal yapılarına göre 6 gruba ayrılırlar (Madhavi ve ark., 1996; Peterson ve ark., 2005). Flavonoidlerin yapı çeşitliliği; molekülün aromatik halkalarına bağlanan substitüent sayısı, özelliği ve bağlanma pozisyonlarına göre ortaya çıkar. Bunlardan hidroksil grupları, flavonoid yapılarında bulunan en yaygın substitüentlerdir ve en fazla 7 hidroksil grubunun yapılarına bağlanabilirler. Bu hidroksil grupları, reaktif özellikleri nedeniyle kolaylıkla alkillenir veya glikozillenirler (Çıkrıkçı, 2005).

Fenolik bileşiklerden flavonoidlerin bitkilerde çeşitli görevleri vardır. Örneğin; baklagillerin köklerinden salgılanarak topraktaki bakterileri uyarıp köke yerleşmelerinde rol oynar. Flavonoidler; bitkilerde antioksidan, enzim inhibitörü ve aynı zamanda ışıktan koruma gibi bazı önemli fonksiyonlara sahip oldukları gibi bitkilerde enerji dönüşümüne ve büyüme hormonlarına da etki etmektedirler. Ayrıca solunum ve fotosentez reaksiyonlarında elektron taşıma sisteminde görev alırlar ve bulaşıcı hastalıklara karşı savunma fonksiyonlarına da sahiptirler (Smith ve Banks, 1985).



Şekil 2.4. Fenolik Bileşik Grupları (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010).

Tablo 2.1. Bitkilerdeki Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması (Harbone, 1964).

Sınıf	Karbon Atomu Sayısı	Temel İskelet	Örnek
<i>Basit fenoller</i> <i>Benzokinonlar</i>	6	C6	Kateşol, Hidrokinon, 2,6-Dimetoksi benzokinon
<i>Fenolik Asit</i>	7	C6-C1	p-Hidroksi benzoik asit, Salisilik asit
<i>Asetofenonlar</i> <i>Fenilasetik asitler</i>	8	C6-C2	3-asetil-6-metoksi benzaldehit p-hidroksi fenilasetik asit
<i>Hidroksisinnamik asit</i> <i>Fenil Propenler</i> <i>Kumarinler</i> <i>İzokumarinler</i> <i>Kromonlar</i>	9	C6-C3	Kafeik asit, Ferulik asit, Miristisin, Eugenol, Umbellifenon, Aesculetin, Bergenin, Eugenin.
<i>Naftakinonlar</i>	10	C6-C4	Juglon, Plumbagin
<i>Ksantonlar</i>	13	C6-C1-C3	Mangiferin
<i>Stilbenler</i> <i>Antrakinonlar</i>	14	C6-C2-C6	Lunularik asit, Emodin
<i>Flavonoidler</i> <i>İzoflavonoidler</i>	15	C6-C3-C6	Kesretin, Siyanidin, Genistein
<i>Lignanlar</i> <i>Neolignanlar</i>	18	(C6-C3) ₂	Pinoresinol, Eusiderin
<i>Biflavonoidler</i>	30	(C6-C3-C6) ₂	Amintoflavon

2.6. Vitaminler

Vitaminler, az miktarlarda bile etki gösterebilen ve biyokatalizör özelliği taşıyan organik maddelerdir. Doğal olarak, besinler içerisinde yer alırlar ve büyük çoğunlukla dış kaynaklı, büyüme, çoğalma ve sağlığın sürekliliği için gerekli

maddelerdir (Üstdal, 1983). Yiyeceklerle aldığımız besinlerin tümü pasiftir; vitaminler, enzimler ve hormonlar ile besin maddelerini aktif duruma getirerek sağlıklı yaşamamızı sağlarlar.

2.6.1. C Vitamini

C vitamini; molekül formülü $C_6H_8O_6$, molekül ağırlığı 176.12 g/mol olan ve suda çözünen bir vitamindir (Roberts ve ark., 1997). Askorbik asitin L-enantiomer formu, biyolojik olarak aktiftir; D-askorbik asit ise inaktiftir. C vitamini denildiğinde, biyolojik olarak aktif olan L-askorbik asit kastedilir (Goldman ve ark., 1981). İndirgeyici özelliğe sahip C vitamini, bu özelliğini 2. ve 3. karbon atomlarına bağlı hidroksil (OH) gruplarındaki hidrojenlerin serbest hale geçmesiyle kazanır (Bayşu ve Bayşu Sözbilir, 2008). C vitamini, bitkilerde ve hayvanların bazılarında glukozdan sentezlenir ancak insanlarda L-gulonolakton oksidaz enziminin bulunmaması nedeniyle C vitamini sentezleyemezler; dolayısıyla bu vitamini diyetleriyle almak zorundadırlar (Nishikimi ve Yagi, 1991 ve 1996).

C vitamininin önemli fonksiyonları vardır: Güçlü bir indirgeyici ajan olması nedeniyle dehidroaskorbik asit ile bir redoks sistemi oluştururlar. Bu nedenle, askorbik asit elektron vericisi olarak görev yapar ve bu özelliği sayesinde de biyolojik sistemlerde hidrojen taşıyıcısı olarak önemli rol oynar (Asard ve ark., 2004; Combs, 1998). Karnitin ve tirozin biyosentezinde görev alır; burada askorbik asit, β -hidroksilaz basamağında ve lizinden karnitin sentezi hidroksilasyonunda ko-faktör görevi görür. Yine katekolamin sentezinde, *dopamin β -monooksijenaz* reaksiyonunda ko-faktör olarak görev alır (Aksoy ve ark., 2005). C vitamini; reaktif oksijen, reaktif azot ve reaktif klor türlerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırarak diğer substratları oksidatif strese korur (Halliwell, 1996). DNA ve proteinler gibi makromoleküllerin oksidatif hasarına yol açan reaktif oksijen türlerinin olumsuz etkilerini azaltır. Bunun sonucunda; kardiyovasküler hastalıklar, felç, nörodejeneratif hastalıklar ve katarakt oluşumu gibi kronik hastalıkların oluşumunu da azaltmış olur (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Uzun yıllardan beri yapılan pek çok araştırma, C vitamininin etkili bir antikarsinojen ajan olduğunu göstermektedir. Çalışmalar, bu antioksidan özelliğinin kanseri önlemede birkaç yolak ile olduğunu savunmaktadır. Yine

lipidlerin peroksidasyonunu önleyerek dejenerasyon ve yaşlanmayı önlediği de gözlemlenmiştir (Gözükara, 2011).

2.6.2. E vitamini

E vitamini, yapısal olarak birbiriyle bağlantılı bir grup bileşikten oluşur. Bunlar, temelde 2-metil-6-kroman çekirdeği içerirler ve 2.karbona bağlı 16 karbonlu fitil yan zinciri vardır (Dökmeci, 2007). E vitamininin (D-alfa-tokoferol) molekül ağırlığı 430.69, kaba formülü ise $C_{29}H_{50}O_2$ 'dir (Boydağ, 1998). Mevcut 8 tokoferol formu bulunmakta ve bunlar arasında en aktif olanı ise α -tokoferoldur (Kayaalp, 2000). Alfa-tokoferol, doğal olarak D izomeri halinde bulunur; sentetik olarak rasemik şekli üretilir ve ilaç olarak kullanılır (Kazanç, 1997).

E vitamini, dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur. En yüksek E vitamini konsantrasyonu mitokondriyon ve mikrozoimler gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında bulunurken sitozol ve peroksizomda ise miktarı daha azdır (Kazanç, 1997). Ayrıca yağda çözünebildiği için hem selüler, hem de subselüler membranlarda ve lipoproteinlerde bulunur (Duarte ve Lunec, 2005).

E vitamini, vücuttaki en önemli antioksidandır. Özellikle serbest radikal zincir tepkimelerini kırarak toksik olan peroksil serbest radikal gibi radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmayı korur (Dökmeci 2000; Murray 2009). Yapısında izoprenoid yan zincir bulunur ve vitaminin aktif kısmını fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik halka oluşturur. Vitamine antioksidan özellik veren de bu gruptur (Duke, 1978; Halliwell ve Gutteridge, 1999). Bu özellik sayesinde, hücre zarı fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikallerden koruyarak ilk savunma hattını oluşturur. Bunun yanında E vitamini, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri de indirger. E vitamini, selenyumun organizmadan kaybını önleyerek ya da onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır ve bu şekilde selenyum metabolizmasında da önemli rol oynadığı bilinmektedir (Duarte ve Lunec, 2005).

E vitamini, antioksidan etkisi dışında da önemli görevleri olan bir vitamindir. A vitamininin bağırsaktan emilimini ve dokulardaki düzeyini artırma, kanseri önleme, DNA sentezinde rol alma, bağışıklık sisteminde özellikle yardımcı T hücre

sayısını ve etkisini artırma, B lenfositlerini uyarma ve Ig sentezini artırma, diğer işlevleri arasında yer almaktadır (Kayaalp, 2002; Kalaycıoğlu, 2006).

2.7. *In vitro* Hipoglisemik Etki

Besinlerin sindirimi sonucu, kanda glikoz düzeyi yükselmeye başlar ve glikozun β -hücrelerine giriş hızı artar. Hücre içine glikoz taşıyıcısı II(GLUT II) aracılığıyla kolaylaştırılmış difüzyonla giren glikoz, *glikokinaz* ile yıkımlanır ve glikoz-6-fosfata fosforile edilir (Matschinsky, 1996). Sonrasında hücre içinde adenozin trifosfat (ATP) düzeyi yükselir ve bu durum ATP-bağımlı potasyum (K^+) kanallarını kapatarak depolarizasyona neden olur (Rorsman, 1997). Depolarizasyon, membrandaki voltaj bağımlı-kalsiyum (Ca^{2+}) kanallarını açarak dışarıdan içeriye giren Ca^{2+} aracılığıyla insülin salgılanmasını artırır (Lang, 1999). Bu sistemdeki aksaklıklar sonucunda ise karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan kronik hiperglisemik bir durum ortaya çıkabilir. DM, bu sistemdeki insülin hormon sekresyonunun ya da insülin etkisinin azalması sonucu, aksaklıklara neden olan kronik hiperglisemik bir metabolizma hastalığıdır (Roth, 2007).

İnsülin direnci ile oluşan çeşitli diyabet hastalıklarının komplikasyonlarını azaltma amacıyla yeni stratejilerin geliştirilebilmesi için yoğun bir çaba sarf edilmektedir. Son zamanlarda yapılan *in vitro* ve epidemiyolojik çalışmalar, bu çabanın insan sağlığı üzerindeki etkilerinin olumlu yönde olduğunu göstermektedir. Yakın zamanda antidiyabetik potansiyele sahip olabilecek bitkiler araştırılmıştır ve DM tedavisinde çok sayıda bitki etkili olduğu bilinmektedir (Tripathi ve ark., 2011; Nagarajan ve ark., 1987). Bu bitkilerden biri, hünnap bitkisinin bir cinsi olan *Z.mauritiana*'dır. Bu bitki ile yapılan çalışmada, bitkinin yapraklarından elde edilen ekstraktın hipoglisemik etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

2.8. Ekstraksiyon

Bitkiler, içerdikleri terpenler, fenolik bileşikler, alkaloidler, glikozidler, saponinler gibi sekonder metabolitler ve vitaminler sayesinde, insanlar için oldukça

yararlı ve önemli bir yere sahiptirler. Bu yararlı besinlerin içerdikleri etkin maddelerin daha uzun yıllar saklanabilmesi için bitkilerin çeşitli işlemlerden geçmesi ve bu etkin maddelerinin elde edilmesi gerekir. Bu yöntemlerin en başında, ekstraksiyon gelmektedir.

Ekstraksiyon, yaygın olarak kullanılan ve bir karışımdan, bir bileşiği uygun bir çözücü ile ayırma proseslerinden biridir. Ekstraksiyon, hem gıda bileşenlerinin geri kazanımında, hem de bazı gıda ürünlerinin temel proses aşaması olarak istenmeyen bileşenlerin gıdalardan uzaklaştırılmasında ve özellikle istenen bazı ürünlerin izolasyonu amacıyla kullanılmaktadır (Tizia ve Liadakis, 2003).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Analizlerde Kullanılan Bitki Örnekleri

Araştırmanın materyalini oluşturan hünnap bitkisine ait numuneler, 2016 yılının Eylül ayında Balıkesir ilinden toplandı; alınan örnekler, Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'na getirilerek kimyasal analizler için hazırlandı.

3.1.2. Bitkisel Materyalinin Hazırlanışı

Balıkesir'de yetişen hünnap bitkisinin meyvesi, yaprağı, kabuğu, çekirdeği ve çiçek kısımları, önce 50°C'de kurutuldu ve daha sonra bilyalı değirmen yardımıyla toz haline getirildi ve elekten geçirildikten sonra da hava geçirmeyen bir kapta +4°C'de saklandı.

3.1.3. Kullanılan Cihazlar

Agilent 1260 serisi (U.S.A) Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi (HPLC)

Software: Agilent ChemStation

Mobil faz gaz giderici: AGT-G4225A

Pompa: AGT-G1312B

Otomatik örnekleyici: AGT-G1367E

Kolon fırını: AGT-G1316A

Dedektör: AGT-G1321B

Kolon: Zorbax Eclips plus, C18, 5 μ , 250 mm \times 4.00 mm i.d.

Mobil faz: HPLC saflıkta metanol (%100)

Akış hızı: 1 ml/dakika

Dedektör: Floresans (eksitasyon dalga boyu 295, emisyon dalga boyu 325 nm)

Enjeksiyon miktarı: 50 μ l

Analiz süresi: 10 dakika

Kolon ısısı: 40°

UV Spektrofotometresi

Spektrofotometrik ölçümler, UV/Vis spektrofotometre T80+ model cihaz kullanılarak gerçekleştirilmiştir (PG instruments, United Kingdom).

3.1.4. Kullanılan Kimyasallar

Bu tezde kullanılan tüm kimyasal maddeler, Sigma Aldrich (U.S.A) firmasından temin edilmiştir.

3.1.5. Verilerin Değerlendirilmesi

Hünnap bitkisinin beş ögesinin karşılaştırılması, Araştırma Verileri Varyans Analizi (ANOVA) ve Brown-Forsythe testleri kullanılarak analiz edilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunduğunda ise farkın hangi ögeler arasında olduğunu tespit etmek amacıyla Bonferroni ve Dunnett T3 çoklu karşılaştırma testleri uygulanmıştır. Fenolik değişkenine ilişkin veriler, ANOVA testinin varsayımlarını karşılamasına rağmen diğer değişkenlerin varyansların homojenliği varsayımını karşılamadığı görülmüştür. Antioksidan, C vitamini ve flavonoid değişkenlerin analizinde varyansların homojenliği varsayımı karşılanamadığından

ANOVA yerine Brown-Forsythe testi yapılmış ve gruplararası karşılaştırma için de Dunnett T3 çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Tüm analizler, SPSS sürüm 24 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkisel Ekstraktların Hazırlanışı

Hünnap bitkisinin kurutulmuş meyvesi, yaprağı, kabuğu, çekirdeği ve çiçeği; çözücü olarak su ve %80'lik metanol kullanılarak çalkalamalı su banyosunda, 8'er saat süreyle ekstrakte edildi. Tüm ekstraktlar, analiz zamanına kadar +4°C'de saklandı.

3.2.2. Hünnapın Antibakteriyel Etkisi

Hünnap meyvesinin ekstraksiyonu yapıldıktan sonra elde edilen ekstraktın Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerinin belirlenmesinde, CLSI kriterleri doğrultusunda 'sıvı mikrodilüsyon yöntemi' kullanılmıştır. Hazırlanmış olan ekstrakta 64 mg/mL ile 0.031 mg/mL konsantrasyon aralığında seri dilüsyon yapılmıştır. İnkübasyon sonunda, üremenin gözle görülmediği en küçük kuyucuğa ait konsantrasyon değeri 'MİK değeri' olarak belirlenmiştir. Kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 29213 ve *E. coli* ATCC 25922 kullanılmıştır. MİK değerleri belirlenmiş olan mikropleytlardan %5'lik koyun kanlı agara pasaj alınmıştır. İnkübasyon sonunda, alınan pasajlarda üremenin görülmediği en küçük konsantrasyona sahip kuyucuğun değeri 'Minimal Bakterisid Konsantrasyon (MBK) değeri' olarak belirlenmiştir.

- 1-) Çalışmalar, 3 kez tekrar edilmiştir.
- 2-) Hünnap ekstraktının antimikrobiyal aktivitesi, 64 - 0.031 mg/mL dilüsyon aralığında çalışılmıştır.
- 3-) Çalışmada üreme kontrolü ve sterilite kontrolüne yer verilmiştir.
- 4-) Kontrol suşu olarak *S. aureus* 29213 ve *E. coli* 25922 kullanılmıştır.

3.2.3. Hünnapın *in vitro* Hipoglisemik Etkisi

Hünnapın *in vitro* hipoglisemik etkisi, üç farklı aşamada incelenmiştir: Bunlar i. Hünnapın glikoz adsorbsiyon kapasitesi, ii. Hünnapın glikoz difüzyonuna etkisi, iii. Hünnapın maya hücrelerinin glikoz alımı üzerindeki etkileri şeklindedir.

Hünnapın Glikoz Adsorbsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

Glikoz adsorbsiyon kapasitesi, Ou ve arkadaşlarının (2001) yöntemine göre belirlendi: Hazırlanan %1'lik bitki ekstraktları; 5, 10, 20, 50, 100 mmol/L konsantrasyonlarda alınarak 25 ml glikoz çözeltisine katıldı. Elde edilen çözelti iyice karıştırıldıktan sonra 6 saat süreyle 37°C'de su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Sonrasında 4.800 rpm/min devirde 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı alınarak glikoz konsantrasyonu, yöntemdeki aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{Glikoz Konsantrasyonu} = \frac{G1 - G6}{\text{Örneğin Ağırlığı}} \times \text{Solüsyonun Hacmi}$$

G1: Orijinal solüsyonun glikoz konsantrasyonu

G6: Altı saat sonraki solüsyonun glikoz konsantrasyonu

Hünnapın Glikoz Difüzyonuna Etkisi

Bu çalışmada, Ahmed ve arkadaşlarının (2011) uyguladığı metot kullanıldı: Toplam 25 ml glikoz solüsyonu (20 mmol/L) ve bitki ekstraktları numuneleri (% 1), çalkalayıcı su banyosu içinde, 37°C'de 200 ml distile suya karşı, diyaliz torbaları içinde diyalize tabi tutuldu. Diyalizat içerisindeki glikoz içeriği, *glikoz oksidaz peroksidaz* teşhis kiti kullanılarak 30, 60, 90, 120 ve 180 dakikalarda tespit edildi.

Glikoz Diyaliz Rötardasyon İndeksi (GDRI), aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı:

$$\text{GDRI (\%)} = 100 - \frac{\text{Örnek Ekli Glikoz Konsantrasyonu (mg/dL)}}{\text{Kontrolün Glikoz Konsantrasyonu (mg/dL)}} \times 100$$

Hünnapın Maya Hücrelerinin Glikoz Alımı Üzerindeki Etkileri

Maya hücrelerinin glikoz alımı, Cirillo (1962) metoduna göre hazırlanmıştır: Fırından alınan ticari maya, distile su ile yıkanıp santrifüjlendi (4.200 rpm/dakika, 5 dakika). Çeşitli konsantrasyonlardaki ekstraktlar (5, 10, 20, 50, 100 mg/dl), 1 ml glikoz çözeltisine (5-100 mmol/L) eklendi ve 10 dakika süreyle 37°C'de inkübe edildi. Hazırlanan çözelti üzerine, 100 µL maya süspansiyonu ilave edilerek vortekste karıştırıldı ve tekrar 37°C'de 60 dakika inkübe edildi; sonrasında tüpler santrifüjlendi (3.800 rpm/dakika, 5 dakika) ve süpernatant içindeki glikoz alım miktarı hesaplandı. Maya hücreleri tarafından glikoz alımı artış yüzdesi, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı:

$$\text{Glikoz Alım Artışı (\%)} = \frac{\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{örnek}}}{\text{Abs}_{\text{kontrol}}} \times 100$$

Burada $\text{Abs}_{\text{kontrol}}$, kontrol reaksiyonunun absorbansıdır (test örneği dışındaki tüm reaktifleri içerir) ve $\text{Abs}_{\text{örnek}}$ de test örneğinin absorbansıdır.

3.2.4. Hünnapın C Vitamin İçeriğinin Belirlenmesi

Bu vitaminin analizi, Kyaw (1978) yöntemine göre yapıldı. C vitamini analizinde iki çeşit renk çözeltisi kullanıldı. İlk çözeltide; 20 gr Na₂WO₄.2H₂O (Nantungstat) ve 10 gr Na₂HPO₄.2H₂O (disodyum hidrojen fosfat) alınarak 30 ml distile suda çözdürüldü. İkinci çözelti ise 15 ml distile suya, 5 ml H₂SO₄ eklenerek hazırlandı. Bu iki çözelti, yukarıdaki miktarlarda 45 derecelik eğimle geri soğutucuya konuldu ve rengi yeşile dönene kadar yaklaşık 2 saat süreyle kaynatılarak renk ayırıcı elde edildi. Soğuduktan sonra renk ayırıcının etrafı alüminyum folyo ile sarılarak muhafaza edildi. Ayrıca 50 mg askorbik asit, %5'lik okzalik asit solüsyonunda çözülerek vitamin C stok solüsyonu elde edildi. Stok solüsyondan 0.5 ml alınıp 25 ml %5'lik okzalik asit ile çözdürülerek çalışma standardı hazırlandı. Testin yapılışı için üç tüp alındı: İlk tüpe 2 ml bidistile su, ikinci tüpe 2 ml çalışma standardı ve üçüncü tüpe ise 2 ml ekstrakt konuldu; sonrasında tüm tüplere 2'şer ml renk ayırıcı konuldu. Tüpler vortekste karıştırıldıktan sonra 30 dakika süreyle oda ısında bekletildi. Sonrasında 15 dakika 3.000 rpm'de santrifüj edilen tüplerin süpernatantı alınarak spektrofotometrede 700 nm dalga boyunda okundu. Daha sonra aşağıdaki formüle göre hesaplama yapılarak ekstrakttaki C vitamini miktarı hesaplandı:

$$\% \text{ mg} = \frac{\text{Test OD}}{\text{ST OD}} = \text{mg}/100 \text{ ml}$$

3.2.5. Hünnapın E Vitamini İçeriğinin Belirlenmesi

Bu vitamininin tayini, Gliszczynska-Swingha ve Sikorska (2004) metoduna göre hazırlanmıştır. Hünnap bitkisinin meyve, kabuk, çekirdek, çiçek ve yaprak ekstraktlarındaki vitamin E (α -, β + γ - ve δ -tokoferol) düzeyleri, HPLC cihazında (Agilent 1260 serisi) belirlendi. Bu amaçla; bir ters faz (RP) kromatografi kolonu

(Zorbax Eclips plus C18, 5 μ , 250 mm \times 4.00 mm i.d.), mobil faz olarak HPLC saflığında %100 metanol, akış hızı 1 ml/dak. (izokratik) ve eksitasyon dalga boyu 295 nm, emisyon dalga boyu 325 nm'ye ayarlanmış floresans dedektör kullanılarak 10 dakikalık bir sürede tamamlanmıştır. Analiz süresince kolon, 40°C'ye ayarlanmış kolon fırınında muhafaza edildi ve analiz için cihaza standart ve örnekler 50 μ l miktarında enjekte edildi.

Tokoferol standartları, solvent olarak metanol kullanılarak 0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, ve 0.5 μ g/ml yoğunluklarında hazırlanmıştır. Hünnap ekstraktları 0.45 μ 'luk filtrelerden süzülerek herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan direkt olarak HPLC cihazına uygulanmıştır.

3.2.6. Hünnapın Toplam Antioksidan Kapasitesi Metodu

Hünnapın antioksidan kapasitesi, DPPH (2,2- difenil-1- pikril hidrazil) nötrleşmesi işleminin spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle saptanmıştır.

Spektrofotometrik ölçümler için örneklerden 3'er, kontrol çözeltilerinden 2'şer adet çözelti hazırlanmıştır; 250 ml ekstrakta %100'lük 2.500 ml metanol ile 2.500 ml DPPH çözeltisi eklendikten sonra karanlıkta 1 saat bekletilmiş ve 517 nm dalga boyunda absorban değerleri ölçülmüştür. Kontrol çözeltilerinde ise sadece metanol ve DPPH kullanılmıştır. Ölçülen absorbanlar, aşağıdaki formüle yerleştirilerek örneklerin DPPH radikali yakalama aktiviteleri yani antioksidan aktiviteleri hesaplanmıştır:

$$\text{Antioksidan aktivite (\%)} = (1 - (\text{örneğin absorbanı} / \text{kontrolün absorbanı}) \times 100$$

3.2.7. Hünnapın Toplam Fenolik Madde Tayini

Hünnap ekstraktlarına ait toplam fenolik madde analizi için Folin- Ciocalteu ayırıcı kullanılmıştır: Örneklerden 0.25 ml alınarak üzerlerine 3.5 ml saf su konulmuştur; sonrasında da 0.25 μ l Folin reaktifi eklenmiştir. Kör deneme

örneğinde ise ekstrakt yerine 0.25 ml %80'lik metanol kullanılmıştır. Üç dakika bekledikten sonra 1 ml %20'lik sodyum karbonat ilave edilip tüpler vorteksde karıştırılarak 40 dakika boyunca 40°C'de bekletilmiştir. Kırk dakika sonra oluşan mavi renk absorbansı, UV spektrofotometre cihazı kullanılarak 685 nm'de kör örneğe karşı ölçülmüştür. Toplam fenolik bileşikler, gallik asit kalibrasyon eğrisine göre belirlenmiş ve sonuçlar 'µg gallik asit' örnek olarak hesaplanmıştır.

3.2.8. Toplam Flavonoid Madde Analizi

Hünnapın toplam flavonoid madde analizinde, Ramful ve ark. (2011)'nin metodu kullanılmıştır; 2.5 ml bitki ekstraktı üzerine, 150 µl %5 sulu NaNO₂ eklenerek vorteksde karıştırılmıştır; 5 dakika bekledikten sonra 150 µl %10'luk AlCl₃ ilave edilmiştir. İlaveden 1 dakika sonra çözeltiye 1 M NaOH'den 1 ml karıştırılarak absorbansları 510 nm'de %80'lik metanolden oluşan köre karşı okunmuştur. Toplam flavonoid konsantrasyonu, kuersetinin standart olarak kullanıldığı standart grafik denklemlerinden 'µg kuersetin' olarak hesaplanıp tabloya aktarılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamızda; hünnap bitkisinin yaprak, çekirdek, meyve, kabuk ve çiçek kısımlarından elde edilen 10'ar adet ekstraktı üzerinde toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, vitamin C ve vitamin E miktarları tayin edilmiş ayrıca hünnapın *in vitro* antibakteriyel ve *in vitro* hipoglisemik etkisi araştırılmıştır.

4.1. Toplam Antioksidan Kapasite Sonuçları

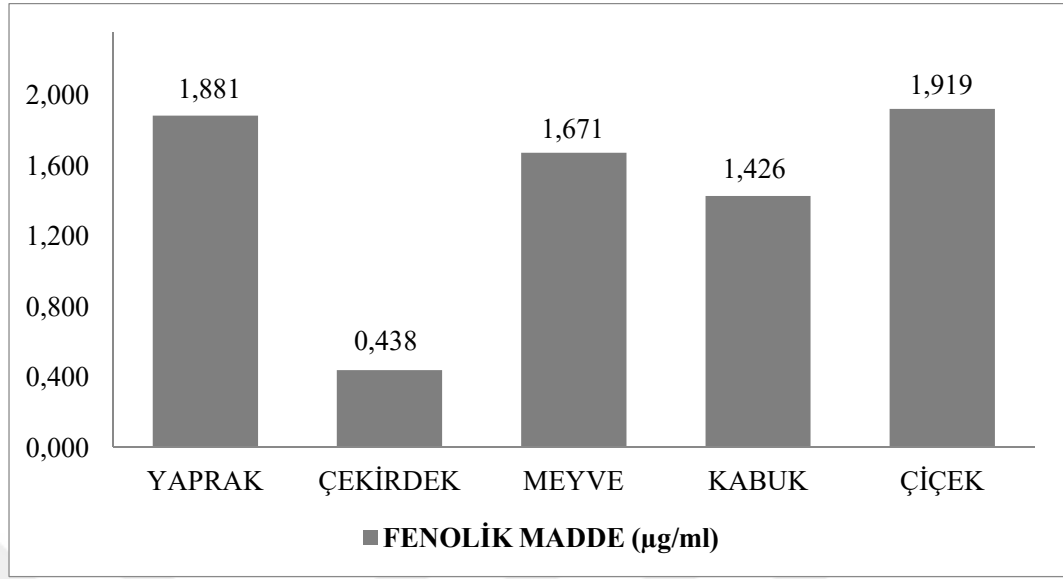
Tablo 4.1. Hünnap Bitki Ekstraktlarının % İnhibisyon Değerleri.

Konsantrasyon (µg/ml)	Yaprak Ekstraktı (% inhibisyon)	Çekirdek Ekstraktı (% inhibisyon)	Meyve Ekstraktı (% inhibisyon)	Kabuk Ekstraktı (%inhibisyon)	Çiçek Ekstraktı (% inhibisyon)
25	92	63	66	63	79
50	94	63	71	67	79
100	94	65	79	83	79
200	94	70	92	83	83

Bitkinin antioksidan kapasitesi incelendiğinde bütün konsantrasyon değerlerinde (25, 50, 100, 200) yaprak kısmının en fazla, çekirdek kısmının ise en az miktarda inhibisyon değerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.1.).

4.2. Toplam Fenolik Madde Sonuçları

FCR yöntemi ile yapılan toplam fenolik madde tayini ile yaprak, çekirdek, meyve, kabuk ve çiçekte sırasıyla 1.881 ± 0.077 , 0.438 ± 0.063 , 1.671 ± 0.074 , 1.426 ± 0.045 , 1.919 ± 0.066 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Toplam Fenolik Madde Sonuçları.

Tablo 4.2. Yaprığın Fenolik Madde Yönünden Çiçek, Çekirdek, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
<i>Yaprak</i>	<i>Çekirdek</i>	1,4430	0,0294	0,000	1,3563	1,5297
	<i>Meyve</i>	0,2100	0,0294	0,000	0,1233	0,2967
	<i>Kabuk</i>	0,4550	0,0294	0,000	0,3683	0,5417
	<i>Çiçek</i>	-0,0380	0,0294	1,000	-0,1247	0,0487

Yaprak diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında çiçekten az; kabuk, çekirdek ve meyveden daha fazla miktarda fenolik maddeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Yaprak ile çekirdek, meyve ve kabuk arasında oluşan farklılık, istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p < 0,05$), yaprak ile çiçek ile arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$; Tablo 4.2.).

Tablo 4.3. Çekirdeğin Fenolik Madde Yönünden Çiçek, Yaprak, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Çekirdek	Yaprak	-1,4430	0,0294	0,000	-1,5297	-1,3563
	Meyve	-1,2330	0,0294	0,000	-1,3197	-1,1463
	Kabuk	-0,9880	0,0294	0,000	-1,0747	-0,9013
	Çiçek	-1,4810	0,0294	0,000	-1,5677	-1,3943

Çekirdek diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında hepsinden daha az miktarda fenolik maddeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Çekirdek ile yaprak, meyve, kabuk ve çiçek arasındaki farklılıklar, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$; Tablo 4.3.).

Tablo 4.4. Meyvenin Toplam Fenolik Madde Yönünden Yaprak, Çekirdek, Kabuk ve Çiçek ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Meyve	Yaprak	-0,2100	0,0294	0,000	-0,2967	-0,1233
	Çekirdek	1,2330	0,0294	0,000	1,1463	1,3197
	Kabuk	0,2450	0,0294	0,000	0,1583	0,3317
	Çiçek	-0,2480	0,0294	0,000	-0,3347	-0,1613

Meyve diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında yaprak ve çiçekten az; çekirdek ve kabuktan daha fazla miktarda fenolik maddeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Meyve ile yaprak, çekirdek, kabuk ve çiçek arasında oluşan farklılık, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$; Tablo 4.4.).

Tablo 4.5. Kabuğun Toplam Fenolik Madde Yönünden Yaprak, Çekirdek, Meyve ve Çiçek ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
<i>Kabuk</i>	<i>Yaprak</i>	-0,4550	0,0294	0,000	-0,5417	-0,3683
	<i>Çekirdek</i>	0,9880	0,0294	0,000	0,9013	1,0747
	<i>Meyve</i>	-0,2450	0,0294	0,000	-0,3317	-0,1583
	<i>Çiçek</i>	-0,4930	0,0294	0,000	-0,5797	-0,4063

Kabuk diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında çekirdekten fazla; yaprak, meyve ve çiçekten daha az miktarda fenolik maddeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Kabuk ile yaprak, çekirdek, meyve ve çiçek arasında oluşan farklılık, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$; Tablo 4.5.).

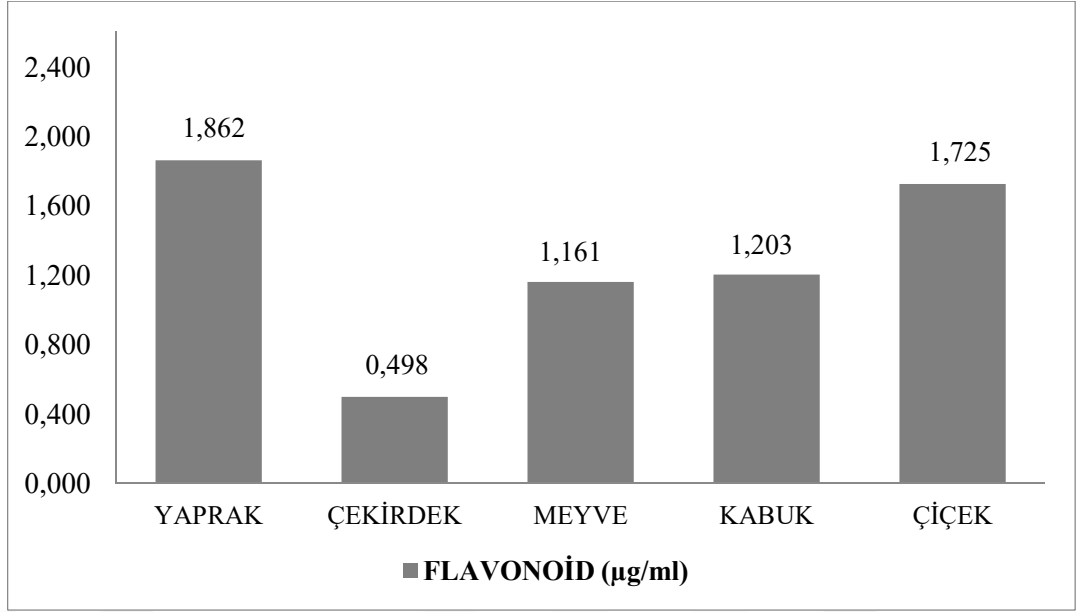
Tablo 4.6. Çiçeğin Toplam Fenolik Madde Yönünden Yaprak, Çekirdek, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
<i>Çiçek</i>	<i>Yaprak</i>	0,0380	0,0294	1,000	-0,0487	0,1247
	<i>Çekirdek</i>	1,4810	0,0294	0,000	1,3943	1,5677
	<i>Meyve</i>	0,2480	0,0294	0,000	0,1613	0,3347
	<i>Kabuk</i>	0,4930	0,0294	0,000	0,4063	0,5797

Çiçek diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında hepsinden fazla miktarda fenolik maddeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Çiçek ile yaprak arasında oluşan farklılık, istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p > 0,05$), diğer karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$; Tablo 4.6.).

4.3. Toplam Flavonoid Madde Sonuçları

Ramful ve arkadaşlarına (2011) ait yöntem ile yapılan toplam fenolik madde tayini; yaprak, çekirdek, meyve, kabuk ve çiçekte sırasıyla $1,862 \pm 0,106$, $0,498 \pm 0,038$, $1,161 \pm 0,057$, $1,203 \pm 0,034$, $1,725 \pm 0,288$ $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Toplam Flavonoid Madde Sonuçları.

Tablo 4.7. Yaprakın Flavonoid Madde Yönünden Çiçek, Çekirdek, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
<i>Yaprak</i>	<i>Çekirdek</i>	1,3640	0,0356	0,000	1,2434	1,4846
	<i>Meyve</i>	0,7010	0,0380	0,000	0,5767	0,8253
	<i>Kabuk</i>	0,6590	0,0353	0,000	0,5388	0,7792
	<i>Çiçek</i>	0,1368	0,0969	0,801	-0,1902	0,4638

Yaprak diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında hepsinden fazla miktarda flavonoid maddeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Yaprak ile çekirdek, meyve ve kabuk arasında oluşan farklılıklar, istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p < 0,05$), yaprak ile çiçeğin karşılaştırılması ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$; Tablo 4.7.).

Tablo 4.8. Çekirdeğin Flavonoid Madde Yönünden Çiçek, Yaprak, Kabuk ve Meyve ile karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Çekirdek	Yaprak	-1,3640	0,0356	0,000	-1,4846	-1,2434
	Meyve	-0,6630	0,0215	0,000	-0,7320	-0,5940
	Kabuk	-0,7050	0,0162	0,000	-0,7561	-0,6539
	Çiçek	-1,2272	0,0916	0,000	-1,5501	-0,9043

Çekirdek diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında hepsinden daha az miktarda flavonoid maddeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Çekirdek ile yaprak, meyve, kabuk ve çiçek arasında oluşan farklılıklar, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$; Tablo 4.8.).

Tablo 4.9. Meyvenin Toplam Flavonoid Madde Yönünden Yaprak, Çekirdek, Kabuk ve Çiçek ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Meyve	Yaprak	-0,7010	0,0380	0,000	-0,8253	-0,5767
	Çekirdek	0,6630	0,0215	0,000	0,5940	0,7320
	Kabuk	-0,0420	0,0209	0,421	-0,1095	0,0255
	Çiçek	-0,5642	0,0926	0,001	-0,8875	-0,2409

Meyve diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında çekirdekten daha fazla; kabuk, çiçek ve yapraktan ise daha az miktarda flavonoid maddeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Meyve ile yaprak, çekirdek ve çiçek arasında oluşan farklılıklar, istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p < 0,05$), meyvenin kabuk ile karşılaştırılması istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$; Tablo 4.9.).

Tablo 4.10. Kabuğun Toplam Flavonoid Madde Yönünden Yaprak, Çekirdek, Meyve ve Çiçek ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
<i>Kabuk</i>	<i>Yaprak</i>	-0,6590	0,0353	0,000	-0,7792	-0,5388
	<i>Çekirdek</i>	0,7050	0,0162	0,000	0,6539	0,7561
	<i>Meyve</i>	0,0420	0,0209	0,421	-0,0255	0,1095
	<i>Çiçek</i>	-0,5222	0,0915	0,002	-0,8450	-0,1994

Kabuk diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında meyve ve çekirdekten daha fazla; yaprak ve çiçekten daha az miktarda flavonoid maddeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Kabuk ile yaprak, çekirdek ve çiçek arasında oluşan farklılıklar, istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p < 0,05$), meyve ile karşılaştırılması istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$; Tablo 4.10).

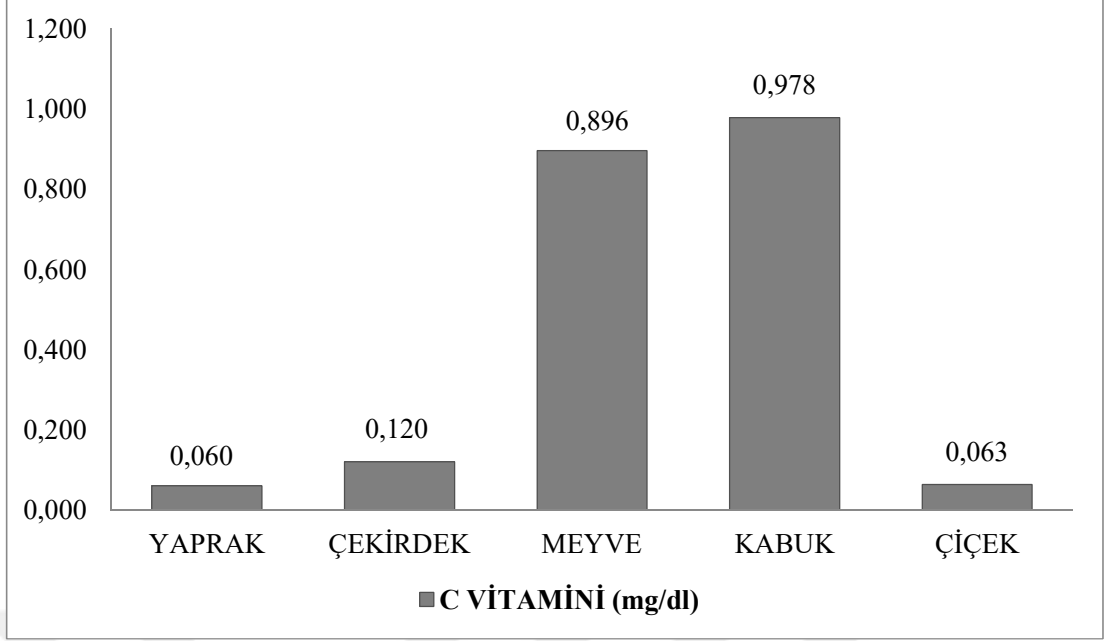
Tablo 4.11. Çiçeğin Toplam Flavonoid Madde Yönünden Yaprak, Çekirdek, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
<i>Çiçek</i>	<i>Yaprak</i>	-0,1368	0,0969	0,801	-0,4638	0,1902
	<i>Çekirdek</i>	1,2272	0,0916	0,000	0,9043	1,5501
	<i>Meyve</i>	0,5642	0,0926	0,001	0,2409	0,8875
	<i>Kabuk</i>	0,5222	0,0915	0,002	0,1994	0,8450

Çiçek diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında meyve, çekirdek ve kabuktan daha fazla; yapraktan daha az miktarda flavonoid maddeye sahip olduğu tespit edilmiştir. Çiçek ile yaprak arasında oluşan farklılık, istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p > 0,05$), diğer karşılaştırmalar ise anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$; Tablo 4.15.).

4.4. C Vitamini Sonuçları

Kyaw (1978) yöntemi ile yapılan C vitamini tayini; yaprak, çekirdek, meyve, kabuk ve çiçekte sırasıyla $0,060 \pm 0,009$, $0,120 \pm 0,011$, $0,896 \pm 0,032$, $0,978 \pm 0,028$, $0,063 \pm 0,009$ mg/dl olarak tespit edildi (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. C Vitamini Sonuçları.

Tablo 4.12. Yaprığın C Vitamini Yönünden Çiçek, Çekirdek, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
<i>Yaprak</i>	<i>Çekirdek</i>	-0,0596	0,0044	0,000	-0,0737	-0,0455
	<i>Meyve</i>	-0,8353	0,0106	0,000	-0,8718	-0,7988
	<i>Kabuk</i>	-0,9183	0,0093	0,000	-0,9500	-0,8866
	<i>Çiçek</i>	-0,0023	0,0041	1,000	-0,0151	0,0105

Yaprak diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında hepsinden daha az miktarda C vitaminine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yaprak ile çekirdek, meyve ve kabuk arasında oluşan farklılıklar, istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p < 0,05$), çiçek ile yapılan karşılaştırma, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$; Tablo 4.12).

Tablo 4.13. Çekirdeğin C Vitamini Yönünden Çiçek, Yaprak, Kabuk ve Meyve ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	P	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Çekirdek	Yaprak	0,0596	0,0044	0,000	0,0455	0,0737
	Meyve	-0,7757	0,0108	0,000	-0,8124	-0,7390
	Kabuk	-0,8587	0,0095	0,000	-0,8906	-0,8268
	Çiçek	0,0573	0,0045	0,000	0,0431	0,0715

Çekirdek diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında yaprak ve çiçekten daha fazla; meyve ve kabuktan daha az miktarda C vitaminine sahip olduğu tespit edilmiştir. Çekirdek ile yaprak, meyve, kabuk ve çiçek arasında yapılan karşılaştırmalar sonucunda oluşan farklılıklar, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$; Tablo 4.13.).

Tablo 4.14. Meyvenin C Vitamini Yönünden Çiçek, Yaprak, Kabuk ve Çekirdek ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Meyve	Yaprak	0,8353	0,0106	0,000	0,7988	0,8718
	Çekirdek	0,7757	0,0108	0,000	0,7390	0,8124
	Kabuk	-0,0830	0,0135	0,000	-0,1257	-0,0403
	Çiçek	0,8330	0,0106	0,000	0,7964	0,8696

Meyve diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında yaprak, çekirdek ve çiçekten daha fazla; kabuktan daha az miktarda C vitaminine sahip olduğu tespit edilmiştir. Meyve ile yaprak, çekirdek, çiçek ve kabuk arasında oluşan farklılıklar, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$; Tablo 4.14.).

Tablo 4.15. Kabuğun C Vitamini Yönünden Çiçek, Yaprak, Meyve ve Çekirdek ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	P	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
<i>Kabuk</i>	<i>Yaprak</i>	0,9183	0,0093	0,000	0,8866	0,9500
	<i>Çekirdek</i>	0,8587	0,0095	0,000	0,8268	0,8906
	<i>Meyve</i>	0,0830	0,0135	0,000	0,0403	0,1257
	<i>Çiçek</i>	0,9160	0,0093	0,000	0,8843	0,9477

Kabuk diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında hepsinden daha fazla miktarda C vitaminine sahip olduğu tespit edilmiştir. Kabuk ile yaprak, çekirdek, meyve ve çiçek arasında yapılan karşılaştırmalar, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$; Tablo 4.15.).

Tablo 4.16. Çiçeğin C Vitamini Yönünden Yaprak, Meyve ve Çekirdek ile Karşılaştırılması.

I. GRUP	II. GRUP	Ortalama Farkları	Standart Hata	P	%95 Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
<i>Çiçek</i>	<i>Yaprak</i>	0,0023	0,0041	1,000	-0,0105	0,0151
	<i>Çekirdek</i>	-0,0573	0,0045	0,000	-0,0715	-0,0431
	<i>Meyve</i>	-0,8330	0,0106	0,000	-0,8696	-0,7964
	<i>Kabuk</i>	-0,9160	0,0093	0,000	-0,9477	-0,8843

Çiçek diğer bitki kısımlarıyla karşılaştırıldığında yapraktan daha fazla; çekirdek, meyve ve kabuktan ise daha az miktarda C vitaminine sahip olduğu görülmüştür. Çiçek ile yaprak arasında oluşan farklılık, istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0,05$), diğer karşılaştırmalar arasındaki farklılıklar, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$; Tablo 4.16.).

4.5. Hünnapın Antibakteriyel Etkisi

Çalışmamızda, hünnap bitkisinin meyvelerinden elde edilen metanol ekstraktının, standart bakteri kökenleri üzerindeki antibakteriyel etkileri araştırıldı. Hünnapın MİK değerleri incelendiğinde, Gram pozitif bakteri kökenlerine karşı

güçlü antibakteriyel etkinlik gösterdiği saptandı. Buna karşılık Gram negatif bakteri kökenlerinde ise zayıf antibakteriyel etkinlik görüldü.

Gram pozitif bakteri kökenlerinde en yüksek antibakteriyel etkinlik, 2 mg/ml'lik MİK değeri ile *S. aureus* 29213 kökeninde tespit edildi. *S. aureus* 43300, *E. faecalis* ve *M. smegmatis* kökenleri için sırasıyla 8 mg/ml, 16 mg/ml ve 8 mg/ml MİK değerleri etkili bulunurken, *E. faecium* ve *Bacillus cereus* kökenleri için > 64 mg/ml MİK değerleri ile antibakteriyel etkinliğin zayıf olduğu saptandı (Tablo 4.17.).

Tablo 4. 17. Gram Pozitif Bakterilerin MİK ve MBK Değerleri.

GRAM POZİTİF BAKTERİLER	Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK)	Minimum Bakterisid Konsantrasyon (MBK)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	2 mg/mL	16 mg/mL
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	8 mg/mL	32 mg/mL
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51219	16 mg/mL	64 mg/mL
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 6057	> 64 mg/mL	> 64 mg/mL
<i>Listeria monocytogenes</i> F 1483	8 mg/mL	32 mg/mL
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	> 64 mg/mL	> 64 mg/mL
<i>Mycobacterium smegmatis</i> CMM 2067	8 mg/mL	16 mg/mL

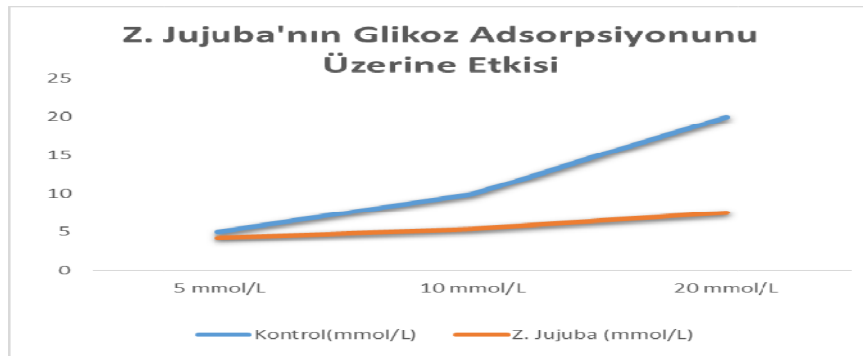
Hünnapın Gram negatif bakterilerdeki MİK değerleri; *E. coli* ve *P. aeruginosa* kökenleri için sırasıyla 64 mg/ml ve 32 mg/ml olarak tespit edilirken diğer Gram negatif bakteri kökenleri için > 64 mg/ml olarak saptandı. Yüksek MİK değerleri ile hünnapın Gram negatif bakteri kökenlerine karşı zayıf antibakteriyel etki gösterdiği tespit edildi (Tablo 4.18.).

Tablo 4.18. Gram Negatif Bakterilerin MİK ve MBK Değerleri.

GRAM NEGATİF BAKTERİLER	Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK)	Minimum Bakterisid Konsantrasyon (MBK)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25923	64 mg/mL	64 mg/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	> 64 mg/mL	> 64 mg/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	32 mg/mL	32 mg/mL
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	> 64 mg/mL	> 64 mg/mL
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC XXXX	> 64 mg/mL	> 64 mg/mL
<i>Acinetobacter lwoffii</i> ATCC 19002	> 64 mg/mL	> 64 mg/mL
<i>Serratia mercenscens</i> ATCC XXXX	> 64 mg/mL	> 64 mg/mL

4.6. Hünnapın *in vitro* Hipoglisemik Etkisi

4.6.1. Hünnapın Glikoz Adsorbsiyonu Üzerine Etkisi



Şekil 4.4. Hünnapın Glikoz Adsorpsiyon Kapasitesi Üzerine Etkileri.

Hünnapın adsorpsiyon kapasitesi incelendiğinde; yükselen glikoz konsantrasyonunda, ortamdaki glikozu bağlayarak glikoz miktarını azaltmakta olduğu bulundu. Ayrıca glikozun adsorpsiyon kapasitesinin molar glikoz konsantrasyonları ile doğru orantılı olarak arttığı tespit edildi (97→77 mg/dL, 127→98 mg/dL, 157→136 mg/dL) (Şekil 4.4.).

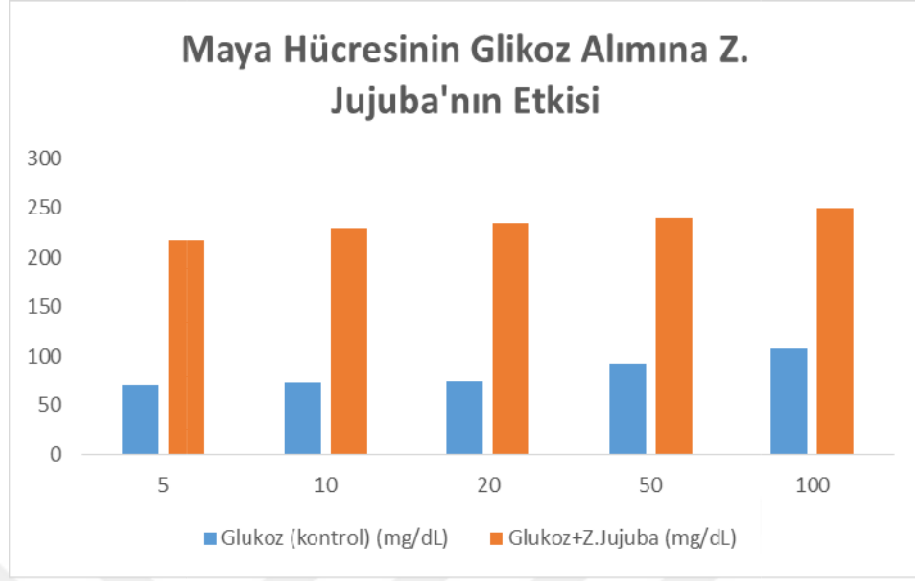
4.6.2. Hünnapın Glikoz Difüzyonuna Etkisi

Tablo 4.19. Hünnapın Glikoz Difüzyon Oranı Üzerine Etkileri.

	0'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Glikoz (kontrol) (mg/dl)	363	429	434	442	453	462	473
Glikoz + <i>Z. jujuba</i> (mg/dl)	363	402	417	419	424	430	436
GDRI		%6	%4	%5	%6	%7	%8

Hünnapın glikozun diyaliz membranlarından difüzyonunu geciktirdiği görüldü (Tablo 4.19.).

4.6.3. Hünnapın Maya Hücrelerinin Glikoz Alımı Üzerindeki Etkileri

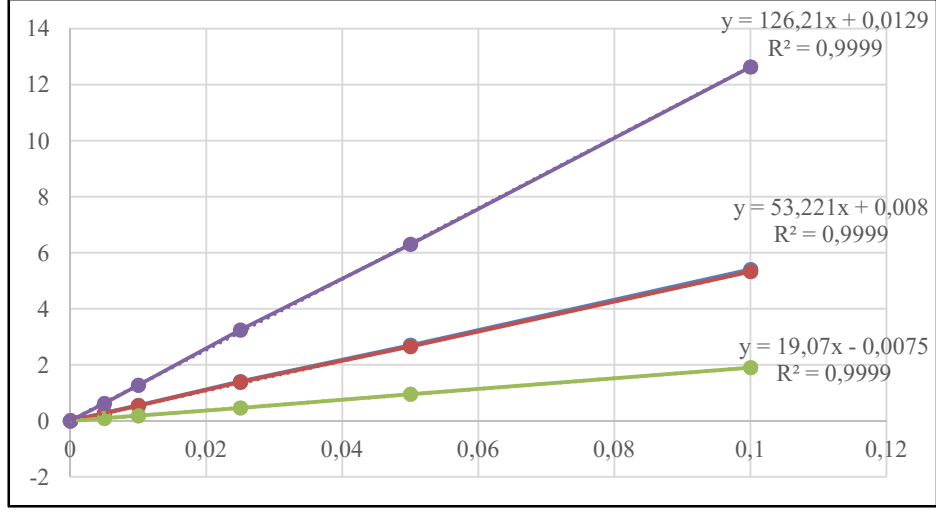


Şekil. 4.5. Hünnapın Maya Hücrelerinin Glikoz Alımı Üzerindeki Etkileri.

Maya hücrelerinin bulunduğu ortama hünnap ekstraktının eklenmesiyle maya hücrelerinin glikozu daha az kullanabildiği tespit edildi (Şekil. 4.5.).

4.7. Vitamin E Sonuçları

Hünnap bitkisinin meyve, kabuk, çekirdek, çiçek ve yaprak ekstraktlarındaki vitamin E (α -, β + γ - ve δ -tokoferol) seviyeleri; HPLC cihazında tokoferol standartları, solvent olarak da metanol kullanılarak 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, ve 0,5 μ g/ml yoğunluklarında hazırlanarak belirlendi (Tablo 4.20.).

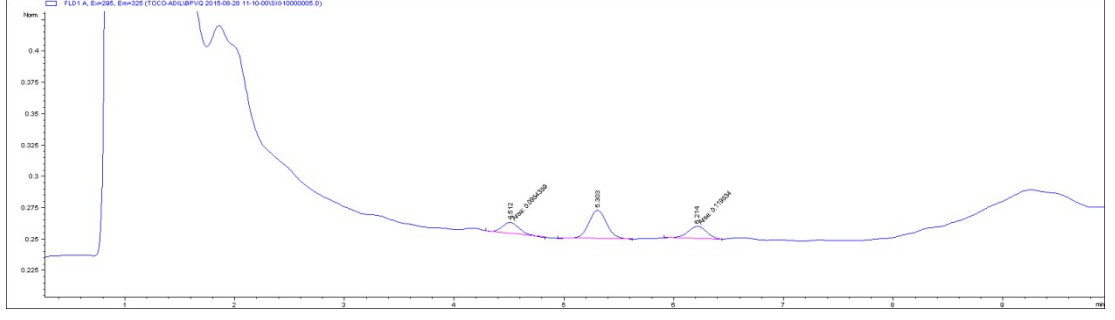


Şekil.4.6. Vitamin E için HPLC Cihazındaki Standart Alınan Değerler Grafiği.

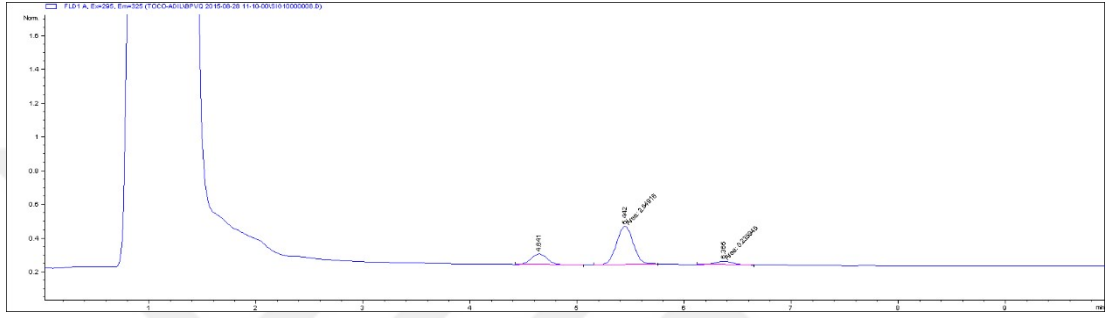
Tablo 4.20. Vitamin E için HPLC Cihazındaki Standart Değerleri.

Standart	δ-Toco	β+γ-Toco	α-Toco	Total
0	0	0	0	0
0.005	0.27	0.26	0.088	0.618
0.01	0.55	0.54	0.18	1.27
0.025	1.4	1.38	0.46	3.24
0.05	2.7	2.65	0.95	6.3
0.1	5.4	5.33	1.9	12.63

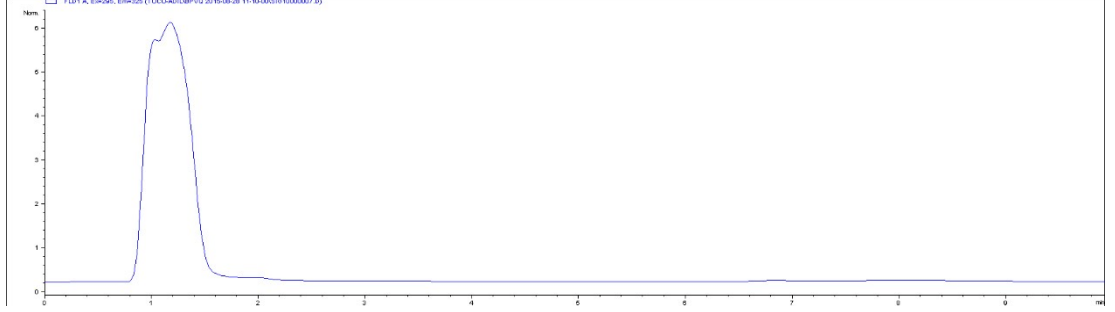
HPLC cihazında ölçülen hünnap bitkisine ait yaprak (Tablo 4.21), çekirdek (Tablo 4.21), meyve (Tablo 4.21), kabuk (Tablo 4.21) ve çiçek (Tablo 4.21) ekstraktlarındaki vitamin E (α -, β + γ - ve δ -tokoferol) yoğunlukları, yaprak ve çekirdekte sırasıyla 0.004 ve 0.027 ($\mu\text{g/ml}$) olarak belirlendi. Meyve, kabuk ve çiçekteki yoğunluk ise tespit edilebilir seviyelerde ölçülmedi (Tablo 4.21).



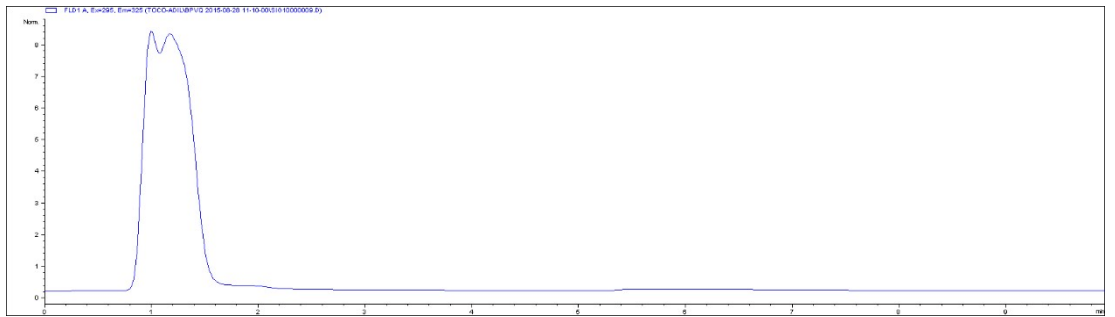
Şekil. 4.7. HPLC Cihazından Ölçülen Yaprak Ekstraktı.



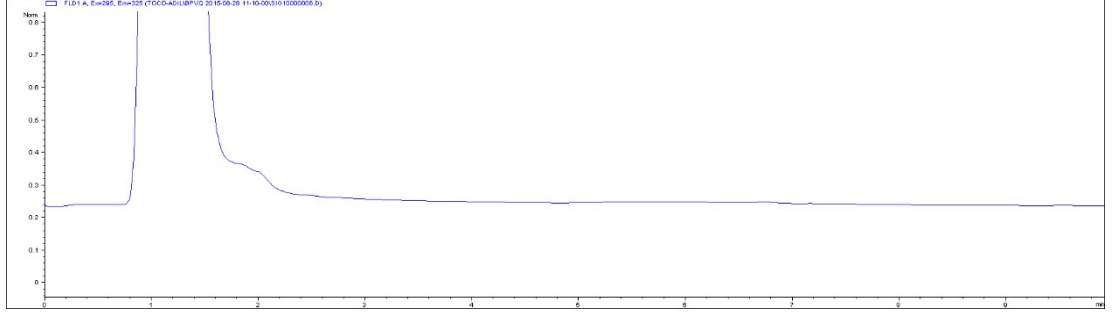
Şekil. 4.8. HPLC Cihazından Ölçülen Çekirdek Ekstraktı.



Şekil. 4.9. HPLC Cihazından Ölçülen Meyve Ekstraktı.



Şekil. 4.10. HPLC Cihazından Ölçülen Kabuk Ekstraktı.



Şekil. 4.11. HPLC Cihazında Ölçülen Çiçek Ekstraktı.

Tablo 4.21. HPLC Cihazında Ölçülen Hünnap Bitkisinin Vitamin E Sonuçları.

Yoğunluk (µg/ml)				
	δ -Toco	β + γ -Toco	α -Toco	Total
<i>Yaprak</i>	0.002	0.005	0.025	0.004
<i>Çiçek</i>	-	-	-	-
<i>Meyve</i>	-	-	-	-
<i>Çekirdek</i>	0.012	0.047	0.178	0.027
<i>Kabuk</i>	-	-	-	-

4.TARTIŞMA

Tıbbi bitkiler; içerdikleri sekonder metabolitler (fenolik bileşikler, terpenler, alkaloidler, glikozidler, saponinler, flavonoidler) sayesinde, insan ve hayvanlarda görülen hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde ilaç olarak kullanılan bitkilerdir.

Alternatif tıp veya tamamlayıcı tıp alanında en çok başvuru alan yöntemlerden biri de meyve, yaprak ve kökten elde edilen ekstraktların ya da bu bitki kısımlarının doğrudan kullanılması şeklinde olmaktadır. Hünnap bitkisi; karaciğer şikayetleri, diyabet, üriner sistem rahatsızlıkları, gastrointestinal sistem hastalıkları (özellikle ishal), deri enfeksiyonları, insomnia gibi hastalık durumlarında kullanılan bitkiler arasında yer almaktadır.

Bu çalışmada; hünnap bitkisinin yaprak, çekirdek, meyve, kabuk ve çiçek kısımlarının toplam antioksidan, toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, vitamin C ve vitamin E miktarları tespit edilmiş, ayrıca *in vitro* antibakteriyal ve *in vitro* hipoglisemik etkileri de incelenmiştir.

Çalışmamızda hünnap bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktın çeşitli bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkileri de araştırılmıştır. Araştırma sonunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde; sözkonusu ekstraktın Gram pozitif bakterilere oldukça etkili olduğu, buna karşın Gram negatif bakteriler üzerinde daha az etkili olduğu görülmüştür. Gram pozitif bakteriler içinde de özellikle *S. aureus* 29213 türüne karşı kuvvetli bir etki tespit edilmiştir.

Benzer şekilde, Sherif ve arkadaşlarının (2013) yapmış oldukları bir çalışmada; yine en güçlü etki *S. aureus*'a karşı görülürken, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* gibi Gram negatif bakteriler üzerinde daha az güçlü bir antimikrobiyal etki tespit etmişlerdir. Ahmad ve Beg (2001) yapmış oldukları bir çalışmada; hünnap ekstraktının antimikrobiyal etkisini araştırmışlar ve sonuç olarak *E. coli*'ye karşı inhibisyon zonu oluşmazken, *S. aureus* bakterisi için 10-20 mm'lik bir inhibisyon zonu oluştuğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızın sonucu, yukarıda bahsedilen çalışmalar ile uyumludur. Bu sonuçlar ışığında; hünnap meyvelerinden elde edilen ekstraktın, *S. aureus*'a karşı diğer bakterilerden daha etkili olduğu düşünülmektedir. Söz konusu ekstraktın kimyasal bileşenlerinin tespit edilmesi ve bu bileşenlerin toksikolojik ve farmakolojik özelliklerinin belirlenmesi, ayrıca *S. aureus* infeksiyonlarına karşı antimikrobiyal ilaç olarak kullanılabilme potansiyelinin kanıtlanmasının, insan sağlığı ve artan antimikrobiyal direnç sorunu açısından önem arz etmektedir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalar; hünnap bitkisinin farklı türlerinin, glikoz adsorpsiyon kapasiteleri üzerine yoğunlaşmış olup bu bitkinin glikoz adsorpsiyonu üzerine direkt etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Diyabetik ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada; DM tedavisi ile birlikte hünnap ekstraktının da uygulanmasıyla, daha etkili sonuçlar alındığı ortaya konmuştur. Yine hünnapın farklı hayvan türleri üzerindeki hipoglisemik etkisini araştıran çalışmalar mevcuttur (Chen ve ark., 2016; Hwang ve ark., 2005; Zhou ve ark., 2015). Ancak hünnapın glikoz adsorpsiyonu üzerine direkt etkisi ile ilgili veriler, ilk defa çalışmamız sonucunda bildirilmiştir.

Hünnapın adsorpsiyon kapasitesi incelendiğinde; yüksek glikoz konsantrasyonunda, ortamdaki glikozu bağlayarak glikoz miktarını azalttığı saptanmıştır. Ayrıca glikozun adsorpsiyon kapasitesinin molar glikoz konsantrasyonları ile doğru orantılı olarak arttığı bulunmuştur. Hünnapın diyaliz membranlarında glikoz difüzyonunu geciktirdiği de görülmüştür. Maya hücrelerinin bulunduğu ortama hünnap ekstraktının eklenmesiyle maya hücrelerinin glikozu daha az kullanabildiği tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışmada; hünnap ekstraktının postprandial hiperglisemi döneminde adsorpsiyon kapasitesini artırdığı, glikozun diyaliz membranlarından difüzyonunu geciktirdiği, ayrıca glikozun emilimi aşamasında hücrelerin glikoz alımını azaltarak kan glikozunun aşırı yükselmesini engellediği görülmüştür. Bu bilgilerden yola çıkılarak DM hastalarının tedavilerine, destekleyici olarak hünnap bitkisinin de diyete eklenmesi ile daha başarılı bir tedavi süreci geçirilebileceği öngörülmektedir.

Hünnap bitkisinin yüksek konsantrasyonda vitamin C içerdiği, yapılan birçok çalışma ile ortaya konmuştur. Cui ve arkadaşlarının (2008) farklı *Zyzzhus* türlerinin meyveleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada; meyvelerin toplandıktan hemen sonraki vitamin C konsantrasyonunun en yüksek seviyede olduğu, buna karşılık bekleme süresi arttıkça meyvedeki vitamin C konsantrasyonunda azalma olduğu bildirilmiştir. Ayrıca çalışmamızda, vitamin C konsantrasyonunun sadece bitkinin meyve kısmında değil; yaprak, çekirdek, kabuk ve çiçek bölümlerinde de bulunduğu tespit edilmiştir.

Önemli bir anti-inflammatuvar olan vitamin C, hünnap bitkisinin birçok türünde oldukça yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Zhang ve ark., 2010). Bu bitkinin tüketilmesinin immun sistemi destekleyip kuvvetlendirdiği yapılan çalışmalar ile ortaya koyulmuştur. Ancak vitaminin saklama koşulları, meyvenin olgunlaşmadan toplanması veya çok fazla bekletilmesi gibi sebeplerden dolayı vitamin C konsantrasyonunun azaldığı bildirilmiştir (Gao ve ark., 2013). Yapılan diğer çalışmalarda ise 7 çeşit hünnap meyvesinin analiz sonuçlarına göre; C vitamini içeriğinin 101.47 – 60.53 mg/100 g arasında değiştiği saptanmıştır (Kundi ve ark., 1989).

Bizim çalışmamızda; hünnapın C vitamini miktarı, en fazla kabukta sonra sırasıyla meyvede, çekirdekte, çiçekte ve en az olarak da yaprakta ölçülmüştür.

Yapılan çalışmalar sonucunda; hünnap bitkisinin antioksidan kapasitesi üzerinde birçok faktörün etkili olduğu ortaya konulmuştur. Wu ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları bir çalışmada; hünnap bitkisi yaprağının en yüksek oranda antioksidan maddeye sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak bitkinin yetiştirilmesi sırasındaki yöntemler, yetiştirilen bölge ve hasat zamanı gibi etkilerin, bitkinin yaprak kısmındaki antioksidan madde miktarı üzerinde etkisinin olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte yapılan diğer bir çalışmada; hünnap bitkisinin meyve kısmında bulunan antioksidan maddenin, karaciğer hasarlarına karşı koruyucu bir etkisinin olduğu ortaya konmuştur (Shen ve ark., 2009).

Bugüne kadar yapılan çalışmalar arasında bizim çalışmamız, hünnapın antioksidan madde kapasitesinin belirlenmesinde, bitkinin en fazla sayıda kısmının incelenmesi yönüyle ön plana çıkmaktadır. Wu ve arkadaşlarının (2013) hünnap kabuğu üzerinde yaptıkları çalışmada; bitkinin yetiştirildiği bölge, yetiştirilme yöntemi ve hasat zamanları karşılaştırıldığında dahi, farklı oranlarda antioksidan

madde içerdiğinin saptandığı görülmüştür. Çalışmamız sırasında bitkinin yaprak, çekirdek, meyve, kabuk ve çiçek kısımları incelenmiş ve diğer çalışmaların sonuçlarına benzer olarak yaprak kısmının en fazla oranda antioksidan maddeye sahip olduğu ortaya konmuştur.

Bizim çalışmamızdaki toplam antioksidan madde tayinine göre; hünnapın kısımları arasından en yüksek antioksidan kapasiteye sahip kısmının yaprak, en düşük kısmının ise çekirdek olduğu görülmüştür.

Fenolik madde içeriği bakımından çalışmamız değerlendirildiğinde; bitki çekirdeğinin en az oranda fenolik madde içerdiği anlaşılmıştır. Bunun yanında, bitkinin fenolik madde bakımından en zengin bölgesinin ise çiçek kısmının olduğu ortaya konmuştur. Bitkinin fenolik madde içeriğini ortaya koymak adına yapılmış çalışmalar ile karşılaştırıldığında; çalışmamız en fazla parametreye ve en fazla sayıda incelenen bitki bölümüne sahip olmasıyla ön plana çıkmaktadır (San ve Yildirim, 2010; Pawlowska ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2010). Bildirilen sonuçlar incelendiğinde ise farklı bölgelerde yetişen veya farklı hünnap kültürleri arasında bile, fenolik madde miktarlarına bakıldığında farklılıklar olduğu görülmektedir. Gao ve arkadaşları (2013); sadece bitkinin meyve kısmında toplam fenolik madde tayini yapmışlardır.

Yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında; çalışmamızda kullandığımız hünnap bitkisi, en fazla miktarda flavonoid ve fenolik madde içermesiyle dikkat çekmektedir. Bu sonuçlardan yola çıkılarak bölgemizde yetişen hünnap bitkisinin, içerik bakımından diğer bölgelerde yetişen hünnap bitkilerine oranla daha zengin olduğu ortaya konmuştur.

Çekirdeğinin bitkinin diğer kısımlarıyla karşılaştırıldığında hepsinden daha az miktarda fenolik maddeye sahip olduğu, en fazla miktarda fenolik maddenin ise çiçeğinde bulunduğu gösterilmiştir.

Flavonoid madde içeriğini tayin etmek için yapılan çalışmalarda; çoğunlukla hünnap bitkisinin meyvesi araştırılmış ve araştırmacıların skorlama sistemlerine göre değerlendirilmiştir (Choi, 2012). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar; hünnap bitkisinin değerlendirilen kısımları arasında, en fazla kısım değerlendirmesine sahip olması yönüyle önem kazanmaktadır. Çalışmamızın sonucunda; hünnap bitkisinin meyvesinde bulunan flavonoid madde miktarı, diğer çalışma sonuçlarına benzer iken,

daha önce değerlendirilmeyen kabuk, iek gibi bitkinin diğer bölümlerinde de saptanan flavonoid madde varlığı, elde ettiğimiz veriler ile gösterilmiştir. Buna göre, hünnap bitkisinin flavonoid madde içeriği lldğnde, çekirdeğinde en az ve yaprağında da en fazla oranda bulunduğu tespit edilmiştir.

Bugüne kadar, hünnap meyvesinde bulunan α -tokoferol konsantrasyonunu tespit eden sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bizim alışmamızda elde ettiğimiz sonuçların aksine San ve Yildirim (2010); α -tokoferol sadece hünnapın meyve kısmında tespit ederken çekirdek, yaprak gibi bitkinin diğer bölümlerinde α -tokoferol saptayamamışlardır. Gao ve arkadaşları (2013); meyvenin taze dondurulmuş ve ısıl işlem ile kurutulmuş α -tokoferol kısımları için bildirimde bulunmuşlar, bitkinin diğer bölümlerinde ise α -tokoferol tespit edememişlerdir.

Hünnap bitkisinin vitamin E içeriğinin meyvenin yetiştirildiği bölgeye göre farklılıklar gösterdiği ortaya çıkmaktadır. Ayrıca meyvenin farklı işlemlere maruz kalmasının da vitamin E konsantrasyonu üzerine etkili olduğu anlaşılmaktadır. Yapılan çalışmalarda; vitamin E'ye sadece meyvede rastlanırken, bizim çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz verilere göre, vitamin E konsantrasyonu yaprakta en fazla, çekirdekte en az oranda olduğu tespit edilmiştir. Bitkinin meyve, kabuk ve iek kısımlarında ise vitamin E yoğunluğu tespit edilebilir seviyelerde llememiştir.

Tüm bu veriler işığında bakıldığında; Balıkesir bölgesinde yetişen hünnap bitkisinin fitokimyasal bileşimi, farklı bölgede yetişen türlerine göre birçok ayırım göstermektedir. Bizim alışmamızda kullandığımız bitkinin meyvesinde değil, daha çok yaprağında çekirdeğinde ve kabuğunda fitokimyasal bulunmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada; hünnap bitkisinin meyve, yaprak, kabuk, çekirdek ve çiçek kısımlarının antibakteriyel etki, toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve toplam antioksidan kapasite miktarları, C ve E vitamini içerikleri, glikoz adsorpsiyon kapasitesi incelenmiştir. Hünnap bitkisinin meyvesi, yaprağı, kabuğu, çekirdeği ve çiçeğindeki fitokimyasallar belirlendikten sonra bu kısımlar kendi aralarında karşılaştırılmıştır. Sonuçlar; toplam antioksidan miktarın en fazla olduğu kısmın meyve, fenolik madde miktarının çiçek, flavonoid madde miktarının yaprak ve C vitamini miktarının da kabukta olduğunu göstermiştir. Diğer yandan, toplam antioksidan miktarın en az olduğu kısmın yaprak, fenolik madde miktarının çekirdek, flavonoid miktarının çekirdek ve C vitamini miktarının yaprak olduğunu göstermiştir. Bunun yanında hünnapın E vitamini değerleri; meyve, kabuk ve çiçekte tespit edilebilir seviyelerde ölçülemediği için sadece çekirdek ve yaprağında incelenmiştir. Hünnapın glikoz adsorpsiyon kapasitesi incelendiğinde; glikozun molar konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğu bulunmuştur. Bu nedenle hünnapın yüksek glikoz konsantrasyonlarında daha fazla glikoz bağlayarak ortamdaki glikozun azalmasına neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda, hünnap bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktın, çeşitli bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkileri araştırıldığında, MİK ve MBK değerleri temel alınarak antibakteriyel etkinliğinin Gram pozitif bakterilerde, Gram negatif bakterilere göre daha etkili olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak; hünnap bitkisi farklı oranlarda fitokimyasallar içermektedir. Bu nedenle, hünnap ekstraktının mevcut etkilerinin daha ayrıntılı araştırılarak hünnapın tıbbi amaçlı kullanılma potansiyelinin aydınlatılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Ahmad I, Beg AZ. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *J Ethnopharmacol*, 2001, 74(2):113-123.

Ahmed F, Sairam S, Urooj A. In vitro hypoglycemic effects of selected dietary fiber sources. *J Food Sci Technol*. 2011; 48(3): 285–289.

Ağbaşı B, Karakuş D, Adıgüzel R, Keser S, Demir E. Tunceli sarımsağının (*Allium tuncelianum*) toplam antioksidan özelliklerinin ve kuru madde içeriğinin normal sarımsak (*Allium sativum*) ile karşılaştırılması. *Bilim ve Gençlik Dergisi*, 2013, 1(2):50-62.

Akalın HÜ, Altındaş H, Karaman Y, Demirtaş D, İmamoğlu N. Alzheimer hastalarının lenfositlerinde rRNA ifadenmesinin araştırılması. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2004, 13(1):43-47.

Aksoy N, Vural H, Sabuncu T, Arslan O, Aksoy S. Benefical effect of vitamins C and E against oxidative stress in diabetic rats. *Nutr Res*, 2005, 25:625-630.

Akdeniz F, Gökçe G, Güneş F, Akgöl S, Yucayurt G. *Rhododendron ponticum* ve *Laurocerasus officinalis* bitkilerinin çeşitli kısımlarından elde edilen süperkritik ve akışkan ekstraktlarının fenolik bileşikler açısından analiz ve antioksidan aktivitelerinin tayini, TÜBİTAK Proje No: 106T296, 2008.

Akgül A. Baharat Bilimi ve Teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, 1993, 15:101104.

Akçiçek E. Eski İlaçlar, Yeni Uygulama Alanları. Bitkilerle Tedavi Sempozyumu, Zeytinburnu, 2010.

Altuner EM. Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara, Ankara Üniversitesi, 2008.

Anand KK, Singh B, Chand D, Chandan BK, Gupta VN. Effect of *Zizyphus sativa* leaves on blood glucose levels in normal and alloxan-diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 1989, 27:121- 127.

Anşin R, Özkan ZC. Tohumlu Bitkiler (*Spermatophyta*), Odunsu Taksonlar, Karadeniz Teknik Üniversitesi Orman Fakültesi, 1997, 98-101.

Apak R, Kubilay G, Demirata B, Ozyurek M, Celik ES, Bektasoglu B, Berker IK, Ozyurt D. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 2007, 12:1496-1517.

Arıduru R, Arabacı G. Ciğertazeotu (*Salvia officinalis*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2013, 17(2):241-246.

Asard H, May JM, Smirnoff N. Vitamin C function and biochemistry in animals and plants. London; BIOS Scientific Publishers, *Free Radical Bio Med*, 2004:173-220.

Bayram E, Kırıcı S, Tansı S, Yılmaz G, Arabacı O, Kızıl S, Telci İ. Tıbbi ve aromatik bitkilerin üretiminin artırılması olanakları. http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/09e9d4bcc8157c0_ek.pdf. 27.Ocak.2017.

Bayşu N, Bayşu Sözbilir N. Biyokimya. Güneş Tıp Kitabevi, İstanbul, 2008, s.632.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chem Toxicol*, 2008, 46(2):446-475.

Benli M, Yiğit N. Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik bitkisinin (*Thymus vulgaris*) antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 2005, 3(8):1-8.

Belford R. Chinese herbal medicine treatment of chronic hepatitis. *Australian J Medical Herbalism*, 1994, 6(4):94-98.

Borris RP. Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. *J Ethnopharmacol*, 1996, 51:29-38.

Boydağ S. Deneysel *Diabetes mellitusta* gelişen hemodinamik değişiklikler üzerine vitamin E'nin etkisi. Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tez Çalışması, Eskişehir, 1998.

Büyükbacı A. Bazı bitkisel çayların *in vitro* koşullarda antidiyabetik etkilerinin, toplam antioksidan aktivitelerinin ve toplam fenolik madde içeriklerinin saptanması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Ege Üniversitesi, 2005.

Cemeroğlu B, Yemencioğlu A, Özkan M. Meyve ve sebzelerin bileşimi, soğukta depolanmaları. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, 2001, Ankara. No:494, s.328.

Ceylan A. Tıbbi Bitkiler I. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, III. Basım, Yayın No:312, 1995. s.154-157.

Ceylan A. Tıbbi Bitkiler II (uçucu yağ içerenler), Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 1997, Yayın No: 481, s.188.

Chen C, You LJ, Abbasi AM, Fu X, Liu RH, Li C. Characterization of polysaccharide fractions in mulberry fruit and assessment of their antioxidant and hypoglycemic activities *in vitro*. *Food Function*, 2016, 7(1):530-539.

Choi SH, Ahn JB, Kim HJ, Im NK, Kozukue N, Levin CE, Friedman M. Changes in free amino acid, protein, and flavonoid content in jujube (*Ziziphus jujuba*) fruit during eight stages of growth and antioxidative and cancer cell inhibitory effects by extracts. *J Agric Food Chem*, 2012, 17; 60(41):10245-55.

Cirillo VP. Mechanism of glucose transport across the yeast cell membrane. *J Bacteriol*. 1962, 84(3):485-491.

Cui N, Du T, Kang S, Li F, Zhang J, Wang M, Z Li. Regulated deficit irrigation improved fruit quality and water use efficiency of pear-jujube trees. *Agricultural Water Management*, 2008, 95:489-497.

Combs GF. Vitamin C: Fundamental aspects in nutrition and health. Academic Press, New York, 1998, 245-275.

Coşkun T. Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 2005, 48:69-84.

Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen molekülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1997; 3-4: 92-95.

Çıkrıkçı S. 4'-dioktilamino-3-hidroksiflavon temelli floresans problemlerinin sentezleri ve özelliklerinin incelenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, İstanbul Teknik Üniversitesi, 2005.

Diken MA. Bazı şifalı bitkilerin antioksidan özellikleri. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir, Balıkesir Üniversitesi, 2009.

Dökmeci İ. Vitaminler. *İçinde: Farmakoloji - Temel kavramlar*. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2000, 815-817.

Dökmeci İ. Farmakolojik İlaçlar ve Etkileri. Alfa Yayınları, 2007, s. 690.

Durusoy Ç, Gözel Ulusal B. Dermatolojide Bitkisel Tedavi - Fitoterapi. *Türk Dermatoloji Dergisi*, 2007, 1:47-50.

Duke JB. The biology of oxygen radicals. *Science*, 1978, 201:875-880.

Duarte TL, Lunec J. Review: When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. *Free Radic Res*, 2005, 39:671-86.

Dündar Y, Aslan R. Bir antioksidan olarak vitamin E. *Genel Tıp Dergisi*, 1999, 9(3):109-116.

Dündar Y. Fitokimyasallar ve sağlıklı yaşam. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 2001, 2:131-138.

Erbaş M. Yeni bir gıda grubu olarak fonksiyonel gıdalar. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 2006. 791-794.

Erenmemişoğlu A, Keleştimur F, Köker AH, Üstün H, Tekol Y, Üstdal M, Hypoglycemic effect of *Zizyphus jujuba* leaves. *J Pharmacy and Pharmacol*, 1995, 47:72-74.

Ertaş A. 2015 HALBES Tarım ve Makine Ltd. Şti., Tıbbi ve aromatik bitkilerinin yetiştirilmesi ve ıslah edilmesinin bölge için önemi ve yol haritası. Yazılı görüşme: 12.Kasım.2015.

Faiyaz A, Sudha S, Asna U. *In vitro* hypoglycemic effects of selected dietary fiber sources. *J Food Sci Technol* 2011, 48(3):285–289.

Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS. Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2013, 6(2):233-265.

Garcia-Alonso M, de Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chem*, 2004, 84:13-18.

Gao QH, Wu CS, Wang M. The jujuba (*Zizyphus jujuba* mill.) fruit: A review of current knowledge of fruit composition and health benefits. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(14):3351-3363.

Gliszczynska-Swigło A, Sikorska E. Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils. *J Chromatography*, 2004, 1048:195–198.

Guo C, Yang J, Wei J, Li Y, Xu J, Jiang Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Res*, 2003, 23:1719-1726.

Gözükara EM. Biyokimya. Nobel Tıp Kitabevi, 2011, ss.852, 874, 897.

Goldman HM, Gould BS, Munro HN. The antiscorbutic action of L-ascorbic acid and disoascorbic acid (erythorbic acid) in the guinea pig. *Am J Clin Nutr*, 1981, 34:2433.

Goncharova NP, Isamukhamedov ASH, Glushenkova AI. Lipids of *Zizyphus jujuba*. *Chemistry of Natural Compounds*, 1990, 26(1):16-18.

Harput Ş. Yeni ilaç geliştirme çalışmalarında tıbbi bitkiler. Bitkilerle Tedavi Sempozyumu, Zeytinburnu, İstanbul, 2010, 45-50.

Harbone JB. Biochemistry of phenolic compounds. Academic Press, London, 1964, 147-151.

Halliwell B. Vitamin C: Antioxidant or pro-oxidant *in vivo*? *Free Radical Research*, 1996, 25:439-454.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Ascorbic acid. *In: Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed., Oxford University Press, Oxford, UK. 1999:200-208.

Hertog MGL, Hollman PCH, Putte B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices. *J Agric Food Chem*, 1993, 41:1242-1246.

Heinrich J. Cultural group selection, coevolutionary processes and large scale cooperation. *J Economic Behavior and Organization*, 2004, 53:3-35.

Hollman PCH, Hertog MGL, Katan MB. Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chem*, 1996, 57(1):43-46.

<https://www.shutterstock.com/tr/search/ziziphus+jujuba>. Erişim tarihi: 4 Nisan 2017.

http://www.southeasternflora.com/view_flora.php?plantid=1762#. Erişim tarihi: 4 Nisan 2017.

Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem*, 2005, 53:1841-1856.

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

Hwang HJ, Kim SW, Lim JM, Joo JH, Kim HO, Kim HM, Jun JW. Hypoglycemic effect of crude exopolysaccharides produced by a medicinal mushroom *Phellinus baumii* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Science*, 2005, 76(26):3069-3080.

Ignat I, Volf I, Popa IV. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem*, 2011, 126:1821-1835.

İslam MB, Simmons MP. A thorny dilemma: Testing alternative intrageneric classifications within *Zizyphus (Rhamnaceae)*. *Systematic Botany*, 2006, 31:826-842.

Kandimalla R, Dash S, Kalita S, Choudhury B, Malampati S, Devi R, Ramanathan M, Talukdar NC, Kotoky J. Bioactive fraction of *Annona reticulata* bark (or) *Zizyphus jujuba* root bark along with insulin attenuates painful diabetic neuropathy through inhibiting NF- κ B inflammatory cascade. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11:73.

Karaman P. Bazı aromatik bitki türlerinin antimikrobiyal, antioksidan ve DNA koruyucu aktivitelerinin belirlenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Sivas, Cumhuriyet Üniversitesi, 2011.

Karınçalı M. *Zizyphus jujuba Mill.* (hünnap) bitkisinin morfolojik, anatomik, ekolojik ve polen özelliklerinin araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi (basılmamış), Denizli, Pamukkale Üniversitesi, 2003.

Kayaalp O. Vitaminler. *İçinde: Tıbbi Farmakoloji*. Cilt 2, 9.Baskı, Hacettepe Taş Kitabevi, 2000:1541-1575.

- Kayaalp O. Akılcı yönleriyle Tıbbi Farmakoloji, Palme Yayıncılık, Ankara, 2002:91.
- Kalaycıoğlu L. Biyokimya. 3.basım, Nobel Yayınevi, Ankara, 2006:654.
- Kazanç MB. Antioksidan vitaminler. *Sendrom*, 1997:14-23.
- Kıncı S. Türkiye’de tıbbi ve aromatik bitkilerin genel durumu. TÜRKTOB, Temmuz-Eylül 2015, Yıl:1, Sayı 15, 4-11.
- Koçyiğit M. Yalova ilinde etnobotanik bir araştırma. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, İstanbul Üniversitesi, 2005.
- Koç LY. Bazı bitki ekstrelerinin antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik etkileriyle kanserli dokularda *adenozin deaminaz* enzimi üzerine etkisi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara, Ankara Üniversitesi, 2012.
- Koyuncu İ, Yıldırım İ, Duranoğlu S. Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal özellikleri. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum, 2008, 913-916.
- Krishnaiah D, Devi T, Bono A, Sarbatly R. Full Length Research Paper: Studies on phytochemical constituents of six Malaysian medicinal plants. *J Medicinal Plants Research*, 2009, 3(2):067-072.
- Kundi AHK, Wazir FK, Abdul G, Wazir ZDK Physicochemical characteristics and organoleptic evaluation of different ber (*Zizyphus jujuba* Mill.) cultivars. *Sarhad J Agriculture*, 1989, 5(2):149-155.
- Kyaw A. A simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma. *Clin Chim Acta*, 1978, 86(2):153-157.
- Lang J. Molecular mechanisms and regulation of insulin exo-cytosis as a paradigm of endocrine secretion. *Eur J Biochem*, 1999, 259:3-17.
- Langseth L. Oxidants, antioxidants and disease prevention. *International Life Sciences Institute*, Europe, printed in Belgium, 1995.
- Lee S, Min B, Lee C, Kim K, Kho Y. Cytotoxic triterpenoids from the fruits of *Zizyphus jujuba*. *Planta Med*, 2003, 69:1051-1054.
- Liu G, Liu X, Zhang Y, Zhang F, Wei T, Yang M, Wang Y, Liu N, Cheng H, Zhao Z. Hepatoprotective effects of polysaccharides extracted from *Zizyphus jujuba* cv. Huanghetanzao. *Int J Biol Macromolecules*, 2015, 76:169-175.
- Lewin R. Modern İnsanın Kökeni. TÜBİTAK Popüler Bilim Kitapları, Çeviri: N. Özüaydın, 7.Basım, TÜBİTAK, Ankara, 2000.
- Matschinsky FM. Banting Lecture 1995 : A lesson in metabolic regulation inspired by the glucokinase glucose sensor paradigm. *Diabetes*, 1996, 45(2):223–241.

Madigan TM, Martinko MJ. Mikroorganizmaların biyolojisi. 11th ed., Cumhuriyet (Çeviri editörü), Palme Yayıncılık, Ankara, 2010.

Marshall E. Health and Wealth from Medicinal Aromatic Plants. FAO Diversification Booklet 17. Rural Infrastructure and Agro-Industries Division Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2011, ISSN:1810-0775.

Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK. Food Antioxidants: Technological, toxicological and health perspectives. Marcel Dekker, New York, 1996:41-50.

Mot CA, Dumitrescu SR, Sarbu C. Rapid and effective evaluation of the Antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV-Vis Spectroscopic Data. *J Food Composite and Analysis*, 2011, 24:516-522.

Murray RK. Harper Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2009, s.928.

Nagarajan S, Jain HC, Aulakh GS. Indigenous plants used in the control of diabetes. New Delhi, CSIR, 1987:586–590.

Nimse SB, Pal D. Free radicals, natural antioxidants and their reaction mechanisms. *RSC Adv*, 2015:27986.

Nishikimi M, Yagi K. Molecular basis for the deficiency in humans of gulonolactone oxidase, a key enzyme for ascorbic acid biosynthesis. *Am J Clin Nutr*, 1991, 54:1203-1208.

Nishikimi M, Yagi K. Biochemistry and molecular biology of ascorbic acid biosynthesis. *Subcell Biochem*, 1996, 25:17-39.

Nizamlioglu NM, Nas S. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Electronic J Food Technologies*, 2010, 5:20-35.

Njume C, Afolayan AJ, Ndip RN. An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. *African J Pharm Pharmacol*, 2009, 3:685-699.

Oğuz A. Bazı çerez gıdaların antioksidan kapasiteleri. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Tokat, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, 2008.

Otsuka H. The structure of jujubosides A and B, the saponins isolated from the seeds of *Zizyphus jujuba*. *Phytochemistry*, 1978, 17(8):1349-1352.

Ouédraogo M, Nikiema A. Domestication de *Zizyphus mauritiana* Lam. : Etude de l'aire de distribution au Burkina Faso et mise au point de quelques techniques de propagation. Atelier Panafricain sur *Zizyphus mauritiana*; Bamako; Mali; 1997, p.11.

Özaydın A. Farklı kurutma koşullarının bazı önemli armut çeşitlerinin aroma, fenolik madde ve diğer kalite bileşenleri üzerine etkilerinin araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Isparta, Süleyman Demirel Üniversitesi, 2013.

Özbek H. Cinsel ve jinekolojik sorunların tedavisinde bitkilerin kullanımı. *Van Tıp Dergisi*, 2005, 12(2):170-174.

Pareek S. Nutritional composition of jujuba fruit. *Emir J Food Agric*, 2013, 25(6):463-470.

Pawłowska AM, Camangi F, Bader A, Braca A. Flavonoids of *Zizyphus jujuba* L. and *Zizyphus spina-christi* (L.) wild (*Rhamnaceae*) fruits. *Food Chemistry*, 2009, 112(4):858-862.

Peterson JJ, Dwyer J, Bhagwat SA, Haytowitz D, Holden J, Eldridge AL, Beecher G, Aladesanmi J. Major flavonoids in dry tea. *J Food Composition and Analysis*, 2005, 18:487-501.

Prakash A. Antioxidant activity. <http://www.medlabs.com> Erişim tarihi: 12.Ekim.2006.

Promyou S, Supapvanich S, Boodkord B, Thangapiradeekajorn M. Alleviation of chilling injury in jujuba fruit by dipping in 350°C water. *Kasetsart J Nat Sci*, 2012, 46:107-119,

Ou S, Kwok K, Li Y, Fu L. In vitro study of possible role of dietary fiber in lowering postprandial serum glucose. *J Agric Food Chem*. 2001;49(2):1026-9.

Ramfula D, Aumjaud B, Neergheen V.S, Soobrattee M.A, Googoolye K, Aruoma O.I, Bahorun T. Polyphenolic content and antioxidant activity of *Eugenia pollicina* leaf extract in vitro and in model emulsion systems. *Food Research International* 2011; 44(5): 1190-1196.

Reichl L. Uncommon fruits worthy of attention. A gardener's guide. Addison Wesley, Reading, MA, 1991, 125-127

Rizvi SI, Zaid MA. Impairment of sodium pump and Na/H exchanger in erythrocytes from non-insulin dependent *Diabetes mellitus* patients: Effect of tea catechins. *Clinica Chimica Acta*, 2004, 354(1-2):59-67.

Rodriguez Villanueva J. Experimental and clinical pharmacology of *Zizyphus jujuba* Mills. 2017, 31(3):347-365.

Roth SH. Low concentrations of pentobarbital enhance excitability of rat hippocampal neurons. *Canada Anesth Analg*, 2007, 105(4):993-997.

Rorsman P. The pancreatic beta-cell as a fuel sensor: An electrophysiologist's viewpoint. *Diabetologia*, 1997, 40:487-495.

Roberts JrJL, Holenberg JL, Postma JM. Chemistry in the Laboratory. 4th ed., 1997:809-820.

Sabuncuoğlu T. Çivi yazılı belgeler ışığında M.Ö. 2.bin yıl Anadolu'sunda tarım. Sosyal Bilimler Enstitüsü, Tarih Anabilim Dalı, Eskiçağ Tarihi Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Pamukkale Üniversitesi, 2011.

San B, Yildirim AN. Phenolic, alpha-tocopherol, beta-carotene and fatty acid composition of four promising jujube (*Ziziphus jujuba* Miller) selections. *J Food Composition and Analysis*, 2010, 23(7):706-710.

Shahidi F, Naczk M. Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications. Technomic Publishing Company Inc., Lanchester, Basel: 1995, 331.

Shen X, Tang Y, Yang R, Yu L, Fang T, Duan JA. The protective effect of *Zizyphus jujuba* fruit on carbon tetrachloride-induced hepatic injury in mice by anti-oxidative activities. *J Ethnopharmacol*, 2009, 122(3):555-560.

Sherif H. Abd-Alrahman, Mounir M. Salem-Bekhit and Manal E.A. Elhalwagy. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Ziziphus jujuba* Seeds Extract. *Journal Of Pure And Applied Microbiology*, 2013, 7, 379-385

Shi J, Yu J, Pohorly JE, Kakuda Y. Polyphenolics in grape seeds biochemistry and functionality. *J Medicinal Food*, 2003, 6:291-299.

Smith DA, Banks SW. Plant flavonoids in biology and medicine: Biochemical, pharmacological and structure activity relationship. Proceedings of a Symposium held in Buffalo, New York, July 22-26, 1985,113-124.

Şahin E. Bitkisel kaynaklı antimikrobiyallerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, İstanbul Teknik Üniversitesi, 2006.

Tanmay KK, Shweta W, Prerna N, Awasthi OP, Charanjit K. Nutraceutical composition of *Zizyphus mauritiana* Lamk (Indian ber): Effect of enzyme-assisted processing. *Int J Food Sci Nutr*, 2011, 62(3):276–279.

Tahergorabi Z, Abedini MR, Mitra M, Fard MH, Beydokhti H. *Zizyphus jujuba*: A red fruit with promising anticancer activities. *Pharmacogn Rev*, 2015, 9(18):99-106.

Tripathi AK, Bhoyar PK, Baheti JR, Biyani D, Khalique M, Kothmire MS, Amgaonkar YM, Bhanarkar AB. Herbal antidiabetics: A review. *Int J Res Pharm Sci*, 2011, 2(1):30–37.

Tizia C, Liadakis G.(ed). Extraction optimization in food engineering. Marcel Dekker Inc., New York, Basel, 2003:442.

Torlak H, Vural M, Aytaç Z. Türkiye'nin endemik bitkileri. *Kültür ve Turizm Bakanlığı Yayınları*, Ankara, 2010:223

Tunalier Z, Kosar M, Ozturk N, Baser KHC, Duman H, Kirimer NA. Antioxidant properties and phenolic composition of sideritis species. *Chem Nat Comp*, 2004, 40(3):206-210.

Uzunhan S. *Heliotropium hirsutissimum*'dan elde edilen farklı ekstraktlerin fitokimyasal analizi ve biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, Adnan Menderes Üniversitesi, 2014.

Üstdal M. Vitaminler, Enzimler ve Hormonlar. *İçinde: Biyokimya*. Anadolu Üniversitesi Basımevi, Eskişehir, 1983, 35-40.

Yaşa F. Türkiye'de yetiştirilen hünnap meyvesinin bileşimi ve meyvenin Kurutulması sırasında bileşiminde meydana gelen değişimler. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Pamukkale Üniversitesi, 2016.

Yahia EM. The contribution of fruits and vegetable consumption to human health. *In: Fruit and vegetable phytochemicals*. De la Rosa LA, Álvarez-Parilla E, González-Aguilar GA. (Eds.), Iowa: Wiley-Blackwell, 2010:3-51.

Yao S. Past, present and future of Jujubas-Chinese Dates in the United States. *Hort Science*, 2013, 48(6):672-680.

Zhumatov UZ. Elementary compositions of the fruits of *Morus nigra* and *Zizyphus jujuba* and their biological activities. *Chem Nat Compd*, 1996, 32: 116-117.

Zhou J, Yan J, Bai Z, Li K, Huang K. Hypoglycemic activity and potential mechanism of a polysaccharide from the loach in streptozotocin induced diabetic mice. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 121:199-206.

Zhang H, Jiang L, Ye S, Ye Y, Ren F. Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanolic extract of different tissues of jujuba (*Zizyphus jujuba* Mill.) from China. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(6):1461-1465.

Williams RJ, Spencer JP, Rice-Evans C. Flavonoids: Antioxidants or signaling molecules? *Free Rad Biol Med*, 2004, 36:838-849.

Wong KC, Chee SG, Tan CH. Volatile constituents of the fruit of *Zizyphus jujuba* mill. var. *inermis* (Bge.) Rehd. *J Essential Oil Research*, 1996, 8(3):323-326.

Wu CS, Gao QH, Kjellgren RK, Guo XD, Wang M. Yields, phenolic profiles and antioxidant activities of *Zizyphus jujuba* Mill. in response to different fertilization treatments. *Molecules*, 2013, 18(10):12029-12040.

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	: Halil İbrahim ÖZKAN
Doğum tarihi	: 07.09.1983
Doğum yeri	: Sarıkamış
Medeni hali	: Evli
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Çağış Kampüsü 10145 Balıkesir
Tel	: 0266 612 10 10
Faks	: 0266 244 00 11
E-mail	: ibo_06@hotmail.com
EĞİTİM	
Lise	: Mehmet Akif Ersoy Lisesi (2001)
Lisans	: Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü
Yüksek lisans	: Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı (devam ediyor)
YABANCI DİL BİLGİSİ	
İngilizce	: İyi derecede (KPDS 67.5,2012)