



T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI

HATAY'DA YETİŞEN *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* TÜRÜNÜN  
FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN ve ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN  
BELİRLENMESİ

ESRA KARPUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/HATAY  
AĞUSTOS-2012



T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI

HATAY'DA YETİŞEN *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* TÜRÜNÜN  
FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN ve ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN  
BELİRLENMESİ

ESRA KARPUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/HATAY  
AĞUSTOS -2012

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HATAY'DA YETİŞEN *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* TÜRÜNÜN  
FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN ve ANTİMİKROBİYAL  
ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

ESRA KARPUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Yrd. Doç. Dr. Yener TEKELİ danışmanlığında hazırlanan bu tez 09/08/2012 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Yener TEKELİ  
Başkan

Doç. Dr. Nizami DURAN  
Üye

Yrd. Doç. Dr Alpaslan KAYA  
Üye

Bu tez Enstitümüz Kimya Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

**Kod No:**

Prof. Dr. İlhan Üremiş  
Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir

**Proje No:** 1105 Y 0126

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirimlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER	Sayfa
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
1.GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Labiatae (Lamiaceae)</i> Familyası.....	2
1.2. <i>Salvia</i> Cinsi.....	3
1.3.Antioksidanlar.....	5
1.3.1.Doğal Antioksidanlar.....	6
1.3.1.1.C Vitamini.....	6
1.3.1.2.Tokoferoller.....	7
1.3.1.3.Fenolik Bileşikler.....	7
1.3.1.4.Karotenoidler.....	8
1.3.2.Sentetik Antioksidanlar.....	9
1.3.3.Enzimatik Antioksidanlar.....	10
1.4.Antioksidanların Etki Mekanizmaları.....	11
1.5.Serbest Radikaller.....	11
1.5.1.Süperoksit Anyonları.....	12
1.5.2.Hidrojen Peroksit ve Hidroksil Radikali.....	13
1.6.Uçucu Yağlar.....	14
1.7.Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	14
1.7.1.Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini.....	14
1.7.1.1.Folin-Ciocalteau Yöntemi İle Toplam Fenolik Bileşik Tayini.....	14
1.7.1.2.Fosfomolibden Metodu.....	15
1.7.2.DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayin Yöntemi.....	15
1.7.3.CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Metodu.....	15
1.7.4.β- Karoten- Lineolik Asit Emülsiyon Yöntemi.....	16
1.7.5.FRAP İndirgeme Gücü (Demir(III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü).....	16
1.8.Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri.....	16
1.8.1.Dilüsyon Teknikleri.....	16
1.8.2.Difüzyon Teknikleri.....	17
1.9.Çalışmada Kullanılan Bakteri Türleri ve Özellikleri.....	17
1.9.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
1.9.2. <i>Enterococcus faecalis</i> .....	18
1.9.3. <i>Escherichia coli</i> .....	18
1.9.4. <i>Candida albicans</i> .....	19
1.9.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	19
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	21
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1.Materyal.....	29
3.2.Yöntem.....	29

3.2.1.Drog Veriminin Belirlenmesi.....	29
3.2.2.Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması .....	29
3.2.3.Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri .....	30
3.2.3.1.Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu .....	30
3.2.3.1.1.Folin-Ciocaltaeu Yöntemi .....	30
3.2.3.1.2.Fosfomolibden Metodu.....	30
3.2.3.2.DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Etkisi .....	31
3.2.3.3.CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini .....	31
3.2.3.4.β- Karoten- Lineolik Asit Emülsiyon Yöntemi.....	32
3.2.3.5.FRAP İndirgeme Gücü.....	33
3.2.4.Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemi .....	33
3.2.5. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> Türünün Fenolik İçeriğinin HPLC ile Belirlenmesi.....	34
3.2.6. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> Türünün Uçucu Yağ Bileşiminin GC-MS ile Analizi .....	35
4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	36
4.1.Drog Veriminin Hesaplanması.....	36
4.2.Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları .....	36
4.2.1.Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu .....	36
4.2.1.1.Folin-Ciocalteu Metodu.....	36
4.2.1.2.Fosfomolibden Metodu .....	37
4.2.2.DPPH Radikal Süpürme Etkisi Deney Sonuçları.....	39
4.2.3.CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini Deney Sonuçları .....	40
4.2.4.β- Karoten- Lineolik Asit Emülsiyon Yöntemi Deney Sonuçları .....	43
4.2.5.İndirgeme Gücü ( FRAP Metodu ) Deney Sonuçları.....	44
4.3.Antimikrobiyal Aktivite Analiz Sonuçları .....	46
4.4. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> Türünün Fenolik İçeriğine Ait Bulgular .	51
4.5. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> Türünün Uçucu Yağ Bileşimine Ait Bulgular .....	53
5.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	55
KAYNAKLAR .....	57
TEŞEKKÜR.....	61
ÖZGEÇMİŞ .....	62

## ÖZET

**HATAY'DA YETİŞEN *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* TÜRÜNÜN FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN ve ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Bu çalışmada Hatay'da yetişen *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün antioksidan aktivitesi, antimikrobiyal etkisi, fenolik madde içeriği ve uçucu yağ bileşimi belirlenmiştir. Antioksidan aktivite tayini Folin metodu, DPPH serbest radikal süpürme metodu, bakır iyonu indirgeme gücü, demir iyonu indirgeme gücü, fosfomolibden metodu ve  $\beta$ -karoten-linoleik asit emülsiyon sistemi kullanılarak tayin edilmiştir. Sonuçlar standart antioksidanlarla (BHA, BHT) kıyaslanmıştır. Antimikrobiyal etki 2 Gram pozitif bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*), 2 Gram negatif bakteri (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) ve 1 maya türüne (*Candida albicans*) karşı disk difüzyon metodu ile test edilmiştir. Numunenin içerdiği fenolik maddeler HPLC, yağ asitleri ve uçucu yağlar GC-MS ile tespit edilmiştir.

Folin Ciocalteu metoduna göre yapılan toplam fenolik madde miktarı analizlerinde numunenin fenolik içeriğini 347 mg/g GAE olarak bulunmuştur ve dolayısıyla antioksidan etkisinin kuvvetli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca DPPH metodunda 3.18 mg/ml olarak bulunan IC<sub>50</sub> değeri numunenin radikal süpürücü aktivitesinin yüksek olduğunu göstermiştir.

Antimikrobiyal analiz sonuçlarına göre *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*'nın *Staphylococcus aureus*'a karşı oldukça yüksek aktivite gösterdiği tespit edilirken, *Pseudomonas aeruginosa* için antimikrobiyal etkinliğin daha düşük olduğu saptanmıştır ve çalışmada en düşük antimikrobiyal etkinliğin *Enterococcus faecalis*'e karşı olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*'nın *Escherichia coli* ve *Candida albicans*'a karşı herhangi bir antimikrobiyal etkisi saptanamamıştır.

*Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün fenolik madde içeriğinin başlıca bileşenleri hesperidin ve rosmarinik asit olarak saptanmıştır. Uçucu yağ kompozisyonunun başlıca bileşenleri ise trans-caryophyllene (% 35.07), germacrene-d (% 10.98) ve caryophyllene oxide (% 5.81) olduğu tespit edilmiştir.

2012,62 sayfa

**Anahtar kelimeler:** *S. verticillata*, antioksidan, antimikrobiyal, fenolik madde, uçucu yağ.

## ABSTRACT

**THE DETERMINATION OF PHYTOCHEMICAL PROPERTIES and  
ANTIMICROBIAL EFFECT OF *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*  
GROWN IN HATAY**

In this study; the antioxidant activities, antimicrobial effects, phenolic composition and essential oil composition of *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* grown in Hatay were determined. The antioxidant capacities were evaluated by using folin assay, free radical scavenging (DPPH) assay, cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC), ferring reducing power, phosphomolybdenum method and  $\beta$ -carotene-linoleic acid emulsion method. Results were compared against reference synthetic antioxidants (BHA, BHT). The antimicrobial activity was determined by using disk diffusion method against two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*), two Gram-negative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) and one kind of yeast (*Candida albicans*). The phenolic substances contained in the samples determined by HPLC and essential oil composition was determined by GC-MS.

The amount of phenolic content in the samples by Folin Ciocalteu was found as 347 mg/g GAE. According to DPPH method the IC<sub>50</sub> value was found as 3.18 mg/ml and this results showed that sample has storong antioxidant activity.

As a result of antimicrobial analysis while *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* has very strong antimicrobial activity against to *Staphylococcus aureus*, it has been shown to have lower antimicrobial activity for *Pseudomonas aeruginosa*. And, it has been determined that *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* has shown the lowest antimicrobial activity against to *Enterococcus faecalis*. For all that *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* has no antimicrobial activity against to *E. coli* and *C. albicans*.

The main constituents of phenolic acid in *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* were hesperidin and rosmarinic acid. Besides the main componentsof the essential oil composition were found to be trans-caryophyllene (% 35.07), germacrene-d (% 10.98) and caryopyllene oxide (% 5.81).

2012, 62 pages

**Key Words** : *S. verticillata*, antioxidant, antimicrobial, phenolic compound, essential oil.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	2,2 '-Azino-bis (3-etilbenzothiazoline-6-sülfonik asit)
ArOH	Antioksidan Fenol
BHA	Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EMB	Eozin-Metilen Mavili
ET	Elektron TransferiGSH-PxGulutasyon peroksidaz
GS-MS	Gaz Kromatografisi Mass Dedektör
HAT	Hidrojen Atom Transferi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
HUM	Hidrokarbon Kullanan Bakteriler
IC	İnhibisyon Konsantrasyonu
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
NDGA	Nordihidroguairatik asit
PL	Propilgallat
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SDA	Sabouroud Dextroz Agar
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBHQ	Tersiyer Bütilhidrokinin
TCA	Trikloroasetik Asit
UV-VIS	Ultraviyole/Görünür bölge



**ÇİZELGELER DİZİNİ****sayfa**

Çizelge 4. 1. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> 'nın toplam fenolik içeriğinin iki farklı metoda göre sonuçları .....	38
Çizelge 4.2. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> 'nın ve sentetik antioksidanların % inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması .....	39
Çizelge 4. 3. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> ve sentetik antioksidanların TEAC değerleri.....	43
Çizelge 4. 4. Standartların ve <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> 'nın 470 nm'deki absorbans değerleri.....	43
Çizelge 4. 5. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> ve sentetik antioksidanların absorbans değişim oranları ve % inhibisyon değerleri .....	44
Çizelge 4. 6. Numune ve sentetik antioksidanların 700 nm'deki absorbans değerleri ...	45
Çizelge 4. 7. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> ve sentetik antioksidanların molar absorplama katsayıları ve FRAP değerleri.....	46
Çizelge 4. 8. Amikasinin kullanılan mikroorganizmalara karşı etkisi .....	46
Çizelge 4. 9. CLSI kriterlerine göre mikroorganizmaların Amikasin için zon çapları ...	47
Çizelge 4. 10. Numunenin mikroorganizmalara karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm).....	47
Çizelge 4. 11. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> türünün uçucu yağ bileşimi .....	54

## ŞEKİLLER DİZİNİ

sayfa

Şekil 1. 1. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> .....	4
Şekil 1.2. C vitaminin kimyasal yapısı.....	6
Şekil 1.3. E vitamininin kimyasal yapısı.....	7
Şekil 1.4. Fenolik asitlerin genel yapısı .....	8
Şekil 1. 5. Flavonoidlerin genel yapısı.....	8
Şekil 1. 6. Bazı sentetik antioksidanların kimyasal yapısı .....	10
Şekil 4.1. Gallik asit standart eğrisi .....	36
Şekil 4.2. Askorbik asit standart eğrisi .....	37
Şekil 4. 3. Gallik asit standart eğrisi .....	38
Şekil 4. 4. Sentetik antioksidanlar ve numunenin radikal süpürücü etkisi.....	40
Şekil 4. 5. Sentetik antioksidanlar ve <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> 'nın IC <sub>50</sub> değerleri.....	40
Şekil 4. 6. Troloks standart eğrisi.....	41
Şekil 4. 7. BHA içinde troloks standart eğrisi.....	41
Şekil 4. 8. BHT içinde troloks standart eğrisi .....	42
Şekil 4. 9. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> içinde troloksun standart eğrisi.....	42
Şekil 4. 10. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> ve sentetik antioksidanların antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması .....	42
Şekil 4. 11. Örneklerin linoleik asit peroksidasyonlarının zamanla değişimi.....	44
Şekil 4. 12. Askorbik asit standart eğrisi .....	44
Şekil 4. 13. EMB besiyerinde <i>P.aeruginosa</i> 'ya karşı <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> 'nın antimikrobiyal etkisi.....	48
Şekil 4. 14. Kanlı Agarda <i>S. aureus</i> 'a karşı <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> 'nın antimikrobiyal etkisi.....	48
Şekil 4. 15. Kanlı Agarda <i>E. faecalis</i> 'e karşı <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> 'nın antimikrobiyal etkisi.....	49
Şekil 4. 16. EMB besiyerinde <i>E. coli</i> 'ye karşı <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> 'nın etkisi.....	49
Şekil 4. 17. SDA besiyerinde <i>Candida albicans</i> 'a karşı <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> 'nın etkisi.....	50
Şekil 4. 18. Standart fenolik maddelerden elde edilen HPLC kromatogramı.....	51
Şekil 4. 19. <i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i> türüne ait HPLC kromatogramı.....	52
Şekil 4. 20. Numunenin uçucu yağ bileşimini gösteren GS-MS kromatogramı.....	53

## 1. GİRİŞ

İnsanoğlu eski zamanlardan beri hayatını devam ettirebilmek için çeşitli hastalıklarla mücadele etmek zorunda kalmıştır. Bu hastalıkların çeşitliliği çok farklı tedavi şekillerinin ortaya çıkmasını sağlamıştır. Bu bağlamda alternatif tıp gün geçtikçe önemi artan bir bilim dalıdır. Alternatif tıp, çağdaş tıp biliminin hastalık sebepleri ve tedavisi konusunda yetersiz kaldığı durumlarda hasta isteğiyle başlanılabilen veya çağdaş tıp tedavilerini destekleyici olarak hastanın rahatlaması, bağışıklık sisteminin güçlenmesi, psikolojisinin düzelmesi amacıyla uygulanabilen ve doğal ürün kullanımının esas alındığı tedavi yöntemidir. Bu alanda bitkiler büyük bir kullanıma sahiptir.

Bitkilerle tedavi şekline genel anlamda “fitoterapi” denmektedir. Fitoterapi terimi ilk kez Fransız hekim Henri Leclerc (1870–1955) tarafından kullanılmıştır. Leclerc’e göre fitoterapi; hastalıkların tedavi edici özellikleri olan bitkisel droglarla ya da ekstraksiyon ürünleri kullanılarak elde edilen çay, damla, kapsül, şurup, draje ve tablet gibi ürünlerle iyileştirilmesidir (Tekeli, 2008). *Salvia* cinsi fitoterapide çok geniş şekilde kullanılmaktadır.

Bitkide tedavi edici etken maddeyi taşıyan, yani bitkinin ilaç olarak kullanılmasını sağlayan kısımlara drog denir. Hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılan, hasta tarafından alınabilir hale getirilen drog veya drog karışımları ise ilaçlardır. Bazı bitkilerin sadece belirli bölgeleri drog olarak kullanılırken, bazı bitkilerin tamamı drog olarak kullanılabilme özelliğine sahiptir (Baydar, 2005).

Ülkemiz coğrafî konumu, jeolojik yapısı, toprak gruplarına sahip oluşu, değişik iklim tiplerinin etkisinde olması ve üç farklı bitki coğrafyası bölgesinin birleştii yerde olması nedeniyle zengin bir flora ve çok farklı vejetasyon tiplerine sahiptir. Türkiye, bitki türleri açısından on bini aşkın tür ve tür altı takson sayısı ile ekvator ve subtropikal kuşaklardan sonra dünyanın zengin bölgeleri arasında yer almaktadır (Atalay 1994; Çiriğ ve Seçmen 1990). Ülkemizin bitki florası yönünden böyle bir potansiyele sahip olması ve özellikle de endemik türlerin çokluğu alternatif tıba yönelik bu tür çalışmaları teşvik etmektedir (Tekeli, 2008).

Adaçayları, değerli tıbbi bitkiler olan ve baharat olarak da kullanılan *Salvia* cinsine ait otsu veya ağaçsı bitkilerdir. Bu cinsin bir üyesi olan *Salvia officinalis*

(adaçayı) en yaygın kullanım alanına sahip tıbbi ve aromatik bitkilerden biridir (Matkowski, 2008).

*Salvia* cinsi, dünya boyunca yayılmış, yaklaşık 900 tür içerir ve *Lamiaceae* familyasına ait en büyük bir türdür. Bu cinsin bazı üyeleri parfümeride ve kozmetikte kullanıldıklarından dolayı ekonomik önem kazanmışlardır. Adaçayının uzun bir tıbbi kullanım listesi de mevcuttur; örneğin spazmolitik, antiseptik, astrenjan özellikleri vardır. Bu cinse ait bazı bitkilerin fenolik bileşikleri aktif oksijen süpürme, süperoksit radikal süpürme aktivitesinin yanı sıra mükemmel bir antimikrobiyal aktivite de gösterir. Sonuç olarak bahsedilen tür, yağ ve yağ besinlerin stabilize edilmesinde geniş ölçüde kullanılır (Tepe ve ark., 2005).

Antioksidanlar, oksidatif bozunmaya karşı koruma sağlamak için gıdalarda katkı maddesi olarak geniş ölçüde kullanılırlar. Eski zamanlardan beri farklı çeşit gıdalarda tat geliştirmek için kullanılan çeşitli türlerin antioksidan özellikleri bakımından da kuvvetli olduğu bilinir. Çeşitli çalışmalarda her ikisi de nane ailesine ait olan biberiye ve adaçayı bilinen doğal antioksidanlar arasında en yaygın olarak kullanılan türlerdir (Lu ve Foo, 2001).

### **1.1. *Labiatae* (*Lamiaceae*) Familyası**

*Labiatae* (= *Lamiaceae*) familyası, özellikle Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişen, 200 kadar cins ve 3500'in üzerinde türü içeren zengin bir familyadır. Bu aileye dahil olan üyeler daha çok aromatik olan bitkiler veya karakteristik uçucu yağlar taşıyan çalılardır. *Labiatae* familyası çok eski zamanlardan beri halk arasında ilaç olarak kullanılmıştır ve bunun yanında tıpta, gıda endüstrisinde parfümeri ve kozmetik alanlarında çeşitli kullanım alanlarına sahip olmuştur. Günümüzde Fitoterapi'de kullanılan birçok materyalde bu bitkilerden yararlanıldığı da görülmektedir (Saleem, 2000).

*Labiatae* familyası dünyanın bazı bölgeleri dışında tüm habitat ve yüksekliklerde yetişmekte olup, Kuzey Kutbu'nda Himalayalar'a kadar, Güneydoğu Asya'dan Hawaii'ye kadar, ayrıca Avustralya'da, tüm Afrika'da ve Amerika'nın kuzeyi ve güneyi boyunca yayılış göstermektedir (Özer, 2010).

*Labiatae* familyası bitkileri genellikle uçucu yağ taşıyan bir veya çok yıllık otsu bitkiler veya çalılardır. Familya üyelerinin çoğunda eterik yağlar, acı maddeler ve tanenlerin bulunuşu familyanın önemli özelliğidir (Kıvrak, 2006).

Genelde hoş kokulu bitkilerin bulunduğu ve 45 cins ile temsil edilen *Lamiaceae* (Ballıbabagiller) familyası üyeleri uçucu ve aromatik yağ içermelerinden dolayı farmakoloji ve parfümeri sanayinde önemlidir. Bu türlerden eterik yağ elde edilir, baharat olarak kullanılır ve süs bitkisi olarak yetiştirilirler. Bu familyanın birçok önemli cinsi olup, bunların en önemlilerinden birisi de Türkçede adaçayı olarak adlandırılan *Salvia* cinsidir (İpek ve Gürbüz, 2010).

*Labiatae* familyasına ait cinsler özellikle terpenik bileşikler (mono-,di-,triterpenler) flavonoid, fenolik asitleri içerdikleri için önemli fizyolojik aktiviteler (antioksidan ve antimikrobiyel) gösterirler. Bitkide bulunan flavonoidler ve fenolik bileşikler, lipidlerin, karbonhidratların ve proteinlerin serbest radikaller tarafından oksidasyona uğramalarını engellemek amacıyla aromatik halkalarındaki hidroksil grubunda bulunan hidrojeni verebilmektedirler (Çoban ve Patır, 2010).

## 1.2. *Salvia* Cinsi

*Salvia* cinsi *Lamiaceae* familyasına ait en büyük cinstir ve dünyada yaklaşık olarak 900 tür ile temsil edilmektedir. Bu cinsin Türkiye florasında 89 türü ve toplamda 94 taksonu yayılış gösterir. Endemizm oranı yaklaşık %50'dir (Aşkun ve ark., 2010). Genellikle adaçayı olarak bilinirler ve 50-100 cm arasında boylanırlar. Tek veya çok yıllık bitkilerdir. En iyi bilinen türü, *Salvia officinalis* tıbbi adaçayı olarak satılmaktadır. Pek çok *Salvia* türü ve bu bitkilerden elde edilen maddeler, çok çeşitli test sistemlerinde önemli antioksidan aktivite sergilemiştir (Yumrutaş, 2007).



Şekil 1. 1. *Salvia verticillata* L. subsp. amasiaca (<http://www.vanherbaryum.yyu.edu.tr>)

*Salvia* türleri halk arasında ilaç olarak kullanılmayı yaygın olan türlerdir. Literatür araştırmaları *Salvia* türlerinin antibakteriyel, antitüberküloz, antiviral, sitotoksik, kardiyovasküler ve karaciğer koruyucu etkisinin olduğunu göstermiştir. Antioksidan özelliklerinden dolayı *Salvia* türleri gıda koruyucu olarak kullanılmaktadır. Ayrıca *Salvia* cinsinin, 1641-1693 yılları arasında yaşayan Osmanlı herbalist hekim tarafından hafıza geliştirmede kullanıldığı belirtilmiştir. Bazı *Salvia* türleri Avrupa'da hafıza kaybına karşı da kullanılmaktadır (Öztürk ve ark., 2010).

*Salvia* türleri gerek tıbbi gerekse ekonomik önemleri ve doğal yayılışları ile tür sayısı bakımından ülkemizde zengin bir potansiyele sahiptir. *Salvia* türleri tıbbi değer taşımalarının yanı sıra güzel görünümlü çiçekleri nedeniyle bahçe ve parklarda dekoratif süs bitkileri olarak yetiştirilmektedirler. *Lamiaceae* familyası üyeleri uçucu ve aromatik yağ içermelerinden dolayı farmakoloji ve parfümeri sanayisinde de önemlidir. Bunlardan eterik yağ elde edilir, baharat olarak kullanılır. *Salvia* cinsi *Lamiaceae* familyasının en zengin salgı tüyüne sahip olan cinsidir (Bağcı ve Koçak, 2008).

*Salvia* cinsine ait bazı bitkilerin özellikle antioksidan özellikleri aydınlatılmış, ancak tıbbi ve ticari kullanımları sınırlı kalmıştır (Weng ve Wang, 2000).

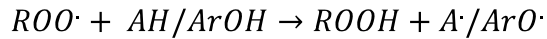
### 1.3. Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikaller ve bu radikallerden kaynaklanan hasarları önleyen maddelerdir. Oksidatif stres koşulları altındaki aşırı reaktif oksijen ve nitrojen türleri ile reaksiyona girerek, hücre yaşlanması, kardiyovasküler hastalıklar, mutajenik değişiklikler ve kanserli tümör büyümesini önleyen, sağlık açısından yararlı bileşiklerdir. Bu tür sağlık tehlikeleri taşıyan hastalıklar ile mücadele etmenin en etkili yolu doğal antioksidan gücü taşıyan besinler tüketmektir.

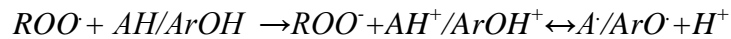
Antioksidanların önemi üzerinde çeşitli çalışmalar sonrasında biyolojik sistemlerde ateroskleroz, diyabet, kronik inflamasyon, nörodejeneratif bozuklukları ve kanserin bazı tiplerine neden olan oksidatif strese karşı mücadelede antioksidanların miktarının etkisinin önemli olduğu belirtilmiştir (Karadağ ve ark., 2009).

Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki gruba ayrılır. Bu antioksidanların enzim içerenleri, düşük molekül ağırlıklı olanlar ve enzim kofaktörleri endojen olarak üretilir. Non-enzimatik antioksidanların çoğu besin kaynaklarından elde edilir. Diyet ile alınan antioksidanlar çok çeşitli sınıflara ayrılabilir; bunların en büyük sınıfı polifenollerdir. Polifenoller fenolik asit ve flavonoidleri içerir. Diğer diyet antioksidan sınıfları vitaminler, karotenler, mineraller ve organosülfüral bileşiklerdir (Kumar ve ark., 2006).

Antioksidan kapasite testleri hidrojen atomu transferi ve elektron transferi tabanlı testler olarak sınıflandırılabilir. HAT esaslı antioksidan kapasite etkisi şu şekilde özetlenebilir:



Bu denkleme göre ariloksi radikal formu ( $ArO\cdot$ ) antioksidan fenol ( $ArOH$ ) ve peroksil radikal formu rezonans yapı ile kararlı hale getirilebilir. Diğer taraftan ET transferine dayalı antioksidan etki mekanizması aşağıdaki gibidir:



ET dayalı reaksiyonlar HAT dayalı reaksiyonlara kıyasla daha yavaştır ve pH ya bağımlıdır.

Spektrofotometrik ET dayalı ölçümler antioksidan kapasitesini, indirgendiği zaman renk değiştiren bir oksidanın azalması ile ölçer. Renk değişim derecesi veya

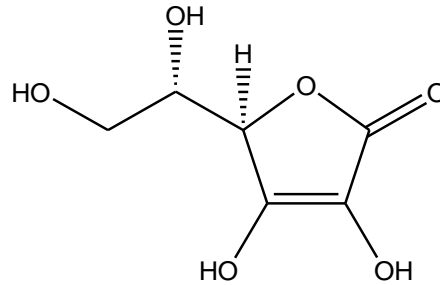
verilen dalga boyunda absorbanans değişimi örnek içindeki antioksidan miktarı ile doğru orantılıdır.

BHA (Bütillenmiş hidroksi anisaol), BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen), PL (Propilgallat) ve TBHQ (Tersiyer bütül hidrokinin) gibi bileşikler yüksek antioksidan kapasiteleri nedeniyle besin endüstrisinde kullanılırlar. Ancak yapılan çalışmalarda bu antioksidanların F344 sıçanlarda karaciğer hasarı ve karsinogeneze neden olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle bu tür antioksidanların kullanımı bazı ülkelerde sınırlandırılmıştır. Dolayısıyla doğal antioksidanlara insanları oksidatif etkilere karşı korumalarından dolayı ilgi artmıştır (Apak ve ark., 2007)

### 1.3.1. Doğal Antioksidanlar

#### 1.3.1.1. C Vitamini

C vitamini, önemli bir besin ögesi olması yanında, kuvvetli antioksidan özellikleri nedeniyle de önem taşımaktadır. Vücutta sentezlenemediğinden dolayı dışarıdan alınması zorunlu olan ve suda çözünebilen bir bileşiktir. Kalp-damar hastalıkları, sinirsel hastalıklar ve bazı kanser türlerine karşı risk azaltıcı etkisinin yanında radikallerin oluşturduğu DNA hasarlarını önlemede de etkilidir. Antioksidan özellikleri çok yönlü olup, lipid oksidasyonunu farklı mekanizmalarla önlemektedir. Bu mekanizmalar bazı bileşiklerinin oksidasyonunu serbest radikal ve oksijen yok edici olarak indirgen etki ile önlemek, daha az reaktif olan türlerine dönüşmek suretiyle suretiyle oksijen ve karbon merkezli radikalleri etkisiz hale getirmek ve bazı antioksidanları yenilemek şeklinde 3 grupta toplanabilir. Turunçgil meyveleri, biber, kabak, çilek, lifli yeşil sebzeler ve lahanagiller en önemli C vitamini kaynaklarıdır (Koca ve Karadeniz, 2005)



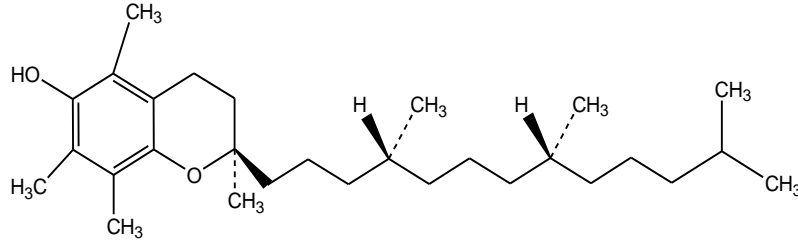
Şekil 1.2. C vitaminin kimyasal yapısı



### 1.3.1.2. Tokoferoller

Tokoferoller, bitkisel ve hayvansal kaynaklı yağları dayanıklı hale getirmede kullanılan antioksidanlardır. E vitamini ve türevleri olarak bilinirler (Çakır ve Bayrak, 2004).

Fenolik hidroksil gruplarından hidrojen veya elektron vererek başlangıçtaki serbest yağ asidi radikali oluşumunu engellerler ve bu şekilde oluşacak lipid oksidasyonunu önlerler. Doğada bulunan sekiz veya daha fazla sayıdaki tokoferol formundan alfa-, beta-, gamma- ve delta- en yaygın olan türlerdir ve antioksidan etki gösterirler. Antioksidan etkinlik sırası delta > gamma > beta > alfa şeklindedir. Ancak bu sıralama substrata ve sıcaklık gibi diğer koşullara bağlı olarak değişebilir (Turhan ve Üstün, 2006).



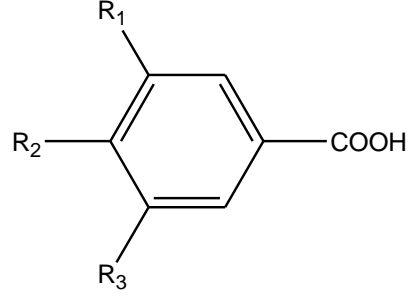
Şekil 1.3. E vitamininin kimyasal yapısı

### 1.3.1.3. Fenolik Bileşikler

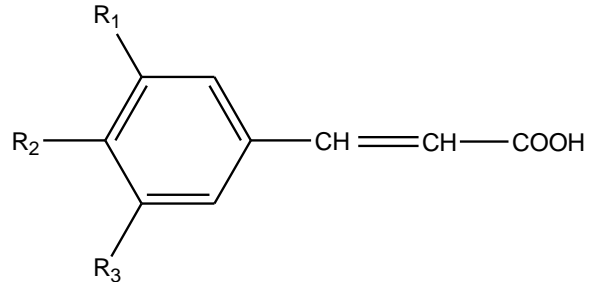
Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşmasında etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, sarı-esmer, kırmızı-mavi tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar. Bu özellikler meyve ve sebzeler ile bunlardan elde edilen ürünler için son derece önemlidir. Bunlardan flavonoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin yapılarında doğal olarak bulunan polifenolik antioksidanlardır. Fenolik asitler ise özellikle meyvelerin yapısında bulunan antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri olan bileşiklerdir. Bu bileşikler beslenme fonksiyonlarındaki olumlu etkilerinden dolayı “biyoflavonoid” adını da alır (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010).

Fenolik maddeler LDL oksidasyonunun inhibisyonunda da antioksidan aktiviteye sahiptirler (Teissedre ve Landrault, 2000).

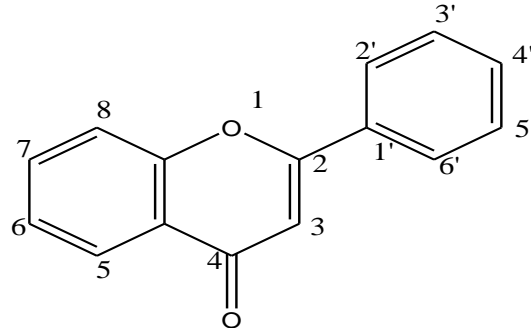
(a)



(b)



Şekil 1.4. Fenolik asitlerin genel yapısı a) Benzoik asit türevleri b) Sinamik asit türevleri



Şekil 1. 5. Flavonoidlerin genel yapısı

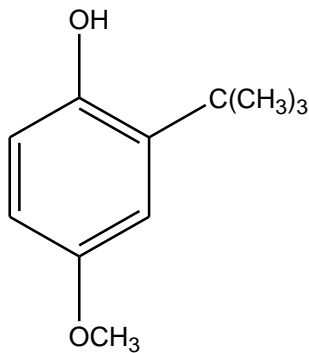
#### 1.3.1.4. Karotenoidler

Karotenoidler 40C atomlu, dokuz konjuge çift bağ içeren, birçok meyve ve sebze de bulunan ve onlara sarı, turuncu, kırmızı gibi renkleri veren pigmentlerdir.

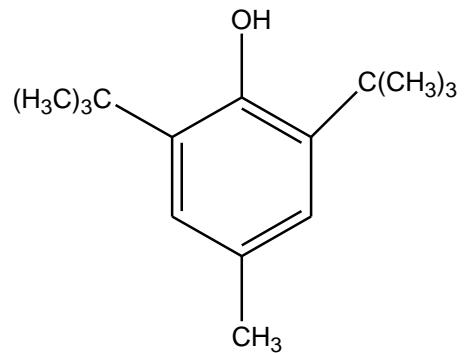
İçerdikleri çoklu doymamış yapı nedeniyle stabil olmayan bir yapıya sahiptirler ve kolaylıkla okside olabilirler. Hidrokarbonlar ve ksantofiller olmak üzere iki gruba ayrılırlar.  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  karotenoidler hidrokarbonlara ve yapısında metoksi, etoksi, hidroksi, karboksi, keto gruplar bulunduran karotenoidler de ksantofillere örnektir. Karotenoidler içerdikleri çift bağ sayısı arttıkça daha kuvvetli antioksidan etki gösterirler. Antioksidan aktivitelerini serbest radikal reaksiyonlarına katılarak hidrojen peroksit radikalinin oluşum hızını yavaşlatma şeklinde ortaya koyarlar (Koca ve Karadeniz, 2005).

### 1.3.2. Sentetik Antioksidanlar

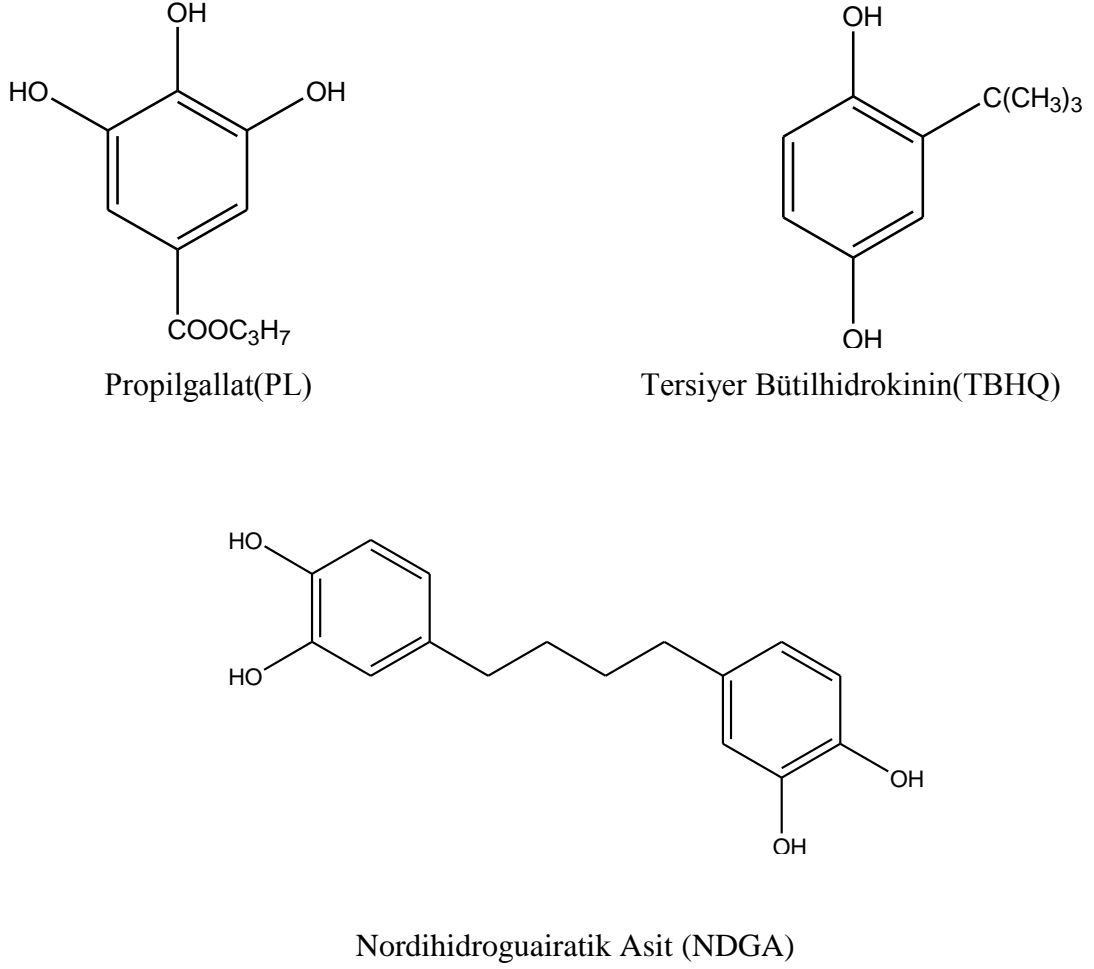
Sentetik antioksidanlar, gıdalarda oksidatif bozulmayı önleyen veya geciktiren bileşiklerdir. Bu bileşikler oksidatif ve otooksidatif işlemlerin başlangıcında etki göstererek oksidasyonu ve buna bağlı olarak oluşan istenmeyen reaksiyon ürünlerinin oluşumunu engelleyebilmektedir. Diğer bir ifadeyle ticari olarak üretilen sentetik antioksidanlar oksijen ile reaksiyona girerek, gıdalar içindeki olumsuz etkileri engelleyen maddeler olarak tanımlanırlar. Bunlar BHA, BHT, TBHQ ve PG ve NDGA (nordihidroguairatik asit)'dir. Ancak sentetik antioksidanların kansere neden olması ve vücutta mutajenik özelliklere sahip olmaları nedeniyle kullanımları yasaklanmıştır. Sentetik antioksidanlar doğal antioksidanlara nazaran daha ucuz olmaları, yüksek kararlılık ve yüksek etkinlik göstermeleri nedeniyle yaygın kullanım alanlarına sahiptir. Son zamanlarda sentetik antioksidanların toksik etkilerine bağlı olarak doğal antioksidanlara olan ilgi oldukça artmıştır (Bucak, 2011).



Bütillenmiş hidroksianisao1(BHA)



Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT)



Şekil 1. 6. Bazı sentetik antioksidanların kimyasal yapısı

### 1.3.3. Enzimatik Antioksidanlar

Hidroperoksidazlar substrat olarak hidrojen peroksit veya organik bir peroksit kullanırlar. Bu kategoriye peroksidazlar ve katalaz olmak üzere iki tip enzim girer. Bu enzimler hem hayvan hem de bitkilerde bulunurlar. Hidroperoksidazlar vücudu zararlı peroksitlere karşı korurlar. Peroksitlerin birikmesi sonucunda serbest radikal üretimi başlar, bunlar da kronik hastalıklara yol açarlar. Peroksidazlar çeşitli elektron alıcılar kullanarak peroksitleri indirgerler (Murray ve ark., 2004). Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) bazı önemli enzimatik antioksidanlardır.

#### 1.4. Antioksidanların Etki Mekanizmaları

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler;

1. Süpürme etkisi (Scavenging): Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder.
2. Söndürme etkisi (Quenching): Oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive etmesine denir. Vitaminler, flavanoidler, timetazidin ve mannitol bu şekilde etki eder.
3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Hemoglobinin, serüloplazmin ve ağır mineraller oksidanları kendilerine bağlar ve inaktive eder.
4. Onarma etkisi (Repair): Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar (Gökpinar ve ark., 2006)

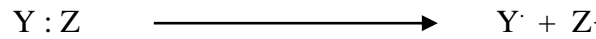
#### 1.5. Serbest Radikaller

Potansiyel olarak oksidanlar ve antioksidanlar arasında daha çok oksidanlara karşılık gelen ve serbest radikal olarak tanımlanan türler, oksidatif strese neden olan, yüksek derecede reaktif moleküllerdir (Kumar ve ark., 2006).

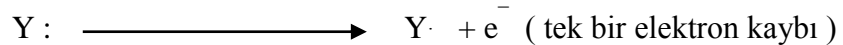
Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron çifti içerirler, normal veya patolojik hücre metabolizmasında farklı durumlarda oluşurlar. Çevresel stres serbest radikallerin hücre içinde bozulmalarından daha hızlı bir şekilde üremelerine neden olur.

Radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşurlar;

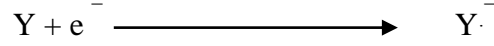
**Kovalent bağların homolitik kırılması ile:** Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklıkla kimyasal bağlar kırılır ve kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır.



**Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile:** Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalırsa radikal oluşur (Askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller gibi...).



**Normal bir moleküle elektron transferi ile:** Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transfer edildiğinde dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşturuluyorsa, bu tür indirgenme ile radikal oluşur (Kılınç ve Kılınç, 2002).



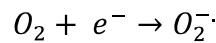
Bu değişiklik yaşlanma, ateroskleroz, inme, diyabet, kanser, alzheimer, parkinsonizm gibi nörodejeneratif hastalıklara neden olur. Her ne kadar insanlar ve diğer organizmalar antioksidan savunma sistemlerine sahip olsalar da bu sistemler onları zararlardan tamamen korumada yetersiz kalır. Antioksidanlar, serbest radikaller ile katalitik şelatlama ve radikal süpürme reaksiyonlarına girerek oksidasyon proseslerine müdahale eder. Uzun yıllardır birçok araştırmacı en güçlü fakat toksik olmayan, özellikle yenilebilir veya tıbbi bitki kaynaklı doğal antioksidanları araştırmışlardır. Bu tür doğal antioksidanlar kanserojen ya da akciğer ve karaciğere zararlı etkiler oluşturan sentetik antioksidanların kullanımı olmadan, insanları ilgili reaktif türlerin zararlarına karşı koruyabilir (Khodaghali ve ark., 2010).

Organizmada serbest radikaller radyasyon, ilaçlar, zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile oluşabileceği gibi metabolizmada geręekleřen reaksiyonların yan ürünü olarak da oluşabilir. Metabolizma yan ürünleri olarak süperoksit anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^{\bullet}$ ) gibi mutajenler meydana gelir (Gökpınar ve ark., 2006).

Süperoksit anyonları ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^{\bullet}$ ) gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) kolay okside olabilen hücrenel bileşenlerle reaksiyona girme eğilimi yüksektir. Reaktif oksijen türleri arasında en kuvvetli oksidatif etkiyi hidroksil radikali gösterir (Apak ve ark., 2008).

### 1.5.1. Süperoksit Anyonları

Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin ( $O_2$ ) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallere otooksidasyonu yani zincir radikal reaksiyonları süperoksit radikali meydana getirebilir.

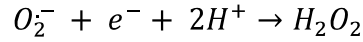
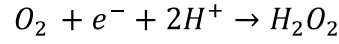


Süperoksit radikali doğrudan zarar vermez ancak bir başka radikal olan hidrojen peroksit için oluşum kaynağıdır. Ayrıca geçiş metalleri için indirgeyicidir, düşük

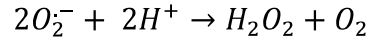
pH'larda daha etkilidir ve oksidan perhidroksi radikali ( $\text{HO}_2^\cdot$ ) oluşturmak üzere protonlanır. Süperoksit radikali hem bir indirgen hem bir yükseltgen olarak özellik gösterir.

### 1.5.2. Hidrojen Peroksit ve Hidroksil Radikali

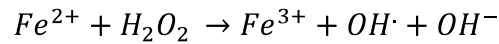
Hidrojen peroksit moleküler halde bulunan oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron veya süperoksit radikalının çevresinde bulunan moleküllerden bir elektron alması sonucu oluşan peroksidin ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) 2  $\text{H}^+$  ile birleşmesi sonucu oluşur.



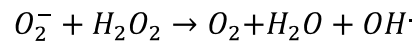
Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) dismutasyonu ile gerçekleşir. İki süperoksit molekülü, bu reaksiyonda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar.



Hidrojen peroksit oksidandır ama reaktif bir tür değildir. Serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü  $\text{Fe}^{2+}$  veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalının ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ( $\text{OH}^\cdot$ ) oluşturur.



Fenton reaksiyonu



Haber-Weiss reaksiyonu

## 1.6. Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar, bitkilerden veya bitkisel droglardan, su veya su buharı destilasyonu ile elde edilen karışımlardır. Oda sıcaklığında sıvıdırlar, fakat bazen donabildikleri gibi, açıkta bırakıldıklarında da buharlaşabilme özelliğine sahiptirler. Bu derece kolay buharlaşabildiklerinden dolayı 'uçucu yağ', güzel kokulu olmaları ve parfümeride kullanılmaları nedeniyle "esans" gibi isimlerle anılırlar (Çolakoğlu E., 2006).

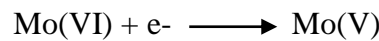
Bitkilerin sahip oldukları bu güzel kokular uçucu yağ fraksiyonlarında elde edilen terpenlerden ileri gelmektedir. Terpenler sekonder metabolitlerdir. Uçucu yağlar genellikle yiyeceklere tat vermek için, parfümeride hoş koku elde etmek için, aroma terapide, geleneksel ve alternatif ilaçlarda kullanılırlar. Genel kimyasal yapıları  $C_{10}H_{16}$  şeklindedir ancak isimleri karbon sayılarına göre değişir;  $C_{20}$  diterpen,  $C_{30}$  triterpen,  $C_{40}$  tetraterpen gibi. Çeşitli terpen ve terpenoidlerin güçlü antimikrobiyal etkiye de sahip oldukları bildirilmektedir (Özer, 2010).

## 1.7. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

### 1.7.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

#### 1.7.1.1. Folin-Ciocalteu Yöntemi İle Toplam Fenolik Bileşik Tayini

Yöntem ilk olarak 1965'de Singleton ve Rossi tarafından önerilmiştir. Folin-Ciocalteu reaktifi (Folin Fenol Reaktifi veya Folin-Denis reaktifi) fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımı bir reaktif olup fenolik ve polifenolik antioksidanların toplam fenolik bileşik tayininde kullanılır. Ancak bu reaktifin sadece toplam fenolik bileşik miktarını değil, örnek içinde mevcut tüm indirgen maddelerle reaksiyon vereceği bilinmektedir. Bu nedenle reaktifin sadece örnekteki fenolik bileşik düzeyini değil örneğin toplam indirgeme kapasitesini de ölçtüğü konusunda tartışma vardır (Ikawa ve ark., 2003). Buna rağmen Folin-Ciocalteu reaktifi ile toplam fenolik bileşik miktarı tayini hemen hemen tüm antioksidan çalışmalarında örnekteki fenolik içeriğinin tayininde kullanılan standart bir metottur.



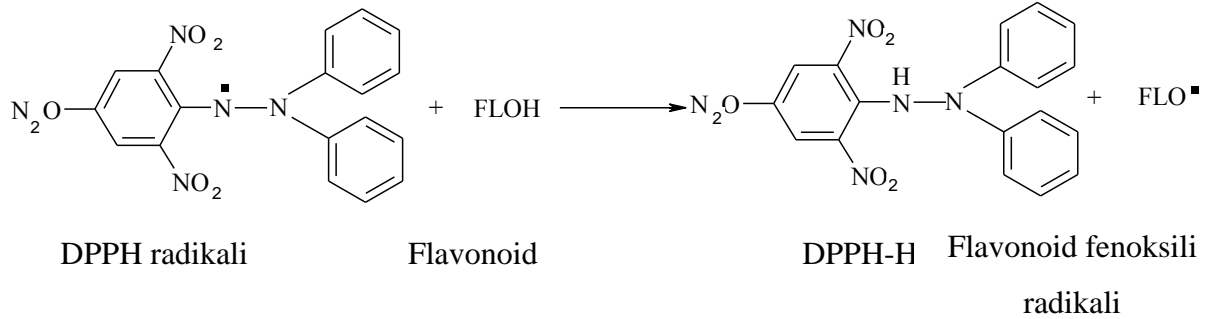


### 1.7.1.2.Fosfomolibden Metodu

Yöntemin temeli asidik Mo (VI)'nın Mo (V)'e indirgenmesiyle asidik pH'ta yeşil renkli fosfat/ Mo (V) kompleksinin oluşmasına dayanmaktadır (Prieto vd., 1999).

### 1.7.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayin Yöntemi

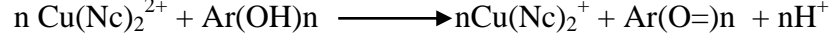
Bu yöntem ilk kez 1958 yılında Blois tarafından 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) radikallerinin antioksidan moleküllerin tayininde kullanılabileceğinin önerilmesi ile ortaya çıkmış, antioksidan aktivite ölçümlerinin önem kazandığı ve yoğunlaştığı yıllarda Brand-Williams ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş ve pek çok araştırmacı tarafından referans olarak kullanılmaya başlamıştır. Yöntemin esası serbest bir radikal olan DPPH molekülünün, hidrojen atomu verme eğilimi olan bir molekül (antioksidan) ile etkileştirilmesine dayanır. Bu reaksiyon sonunda mor menekşe rengine sahip olan DPPH çözeltisinin rengi açılır. Antioksidan aktivite başlangıçtaki DPPH derişiminin % 50'sinin azalması için harcanan antioksidan miktarını ifade eden IC<sub>50</sub> (etkin konsantrasyon) değeri ile verilir (Brand-Williams ve ark., 1995).



### 1.7.3. CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Metodu

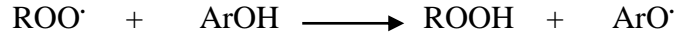
Yöntem bitki ekstraları ve insan serumunda kuprik iyonu indirgeme potansiyeli ölçülmek suretiyle Apak ve arkadaşları tarafından (2004; 2005) toplam antioksidan kapasite tayini için geliştirilmiş bit metottur. Bu yöntemle hem hidrofilik hem lipofilik toplam antioksidan kapasitesi kolaylıkla tayin edilebilmektedir. Bakır(II) ve neokuprin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) reaktifleri kullanılarak polifenolik bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin spektrofotometrik olarak tayin edilmesi esasına dayanır. İndirgen olan polifenolik bileşikler, Cu(II)-Nc kompleksini, Cu(I)-Nc kompleksine dönüştürür. Cu(I)-

Nc kompleksinin maksimum absorpsiyon verdiği 450 nm'de absorbasın ölçülmesi ile antioksidan kapasite tayin edilir.



#### 1.7.4. $\beta$ - Karoten- Lineolik Asit Emülsiyon Yöntemi

Bu metot, linoleik asidin ısı, hava ve ışık oksidasyonu sonucu oluşan alkil peroksitler tarafından beta karotenin renk açılımının 470 nm'de spektrofotometrik olarak izlenmesi temeline dayanır. Hidrojen atom transferi ile gerçekleşen bu reaksiyon çözücü ve pH etkisinden bağımsız ve çok kısa sürede gerçekleşir.



#### 1.7.5. FRAP İndirgeme Gücü (Demir(III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü)

Bu yöntemde,  $\text{Fe(CN)}_6^{3-}$  indirgenir ve oluşan  $\text{Fe(CN)}_6^{4-}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  ile tepkimeye girerek mavi renkli  $\text{Fe}[\text{Fe(CN)}_6]^-$  kompleksini oluşturur. Reaksiyon sonucu oluşan kompleks koyu mavi renk verir ve yüksek absorbans yüksek indirgeme gücünü ifade eder.



### 1.8. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

#### 1.8.1. Dilüsyon Teknikleri

Bir mikroorganizmanın antibiyotiklere duyarlılığını tayin etmek için geliştirilmiş tekniklerdir. Bu tekniklerden bitki ekstraları veya uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesinde de yararlanılmaktadır. Dilüsyon teknikleri makro ve mikro dilüsyon şeklinde gerçekleştirilebilmektedir. Bu metotta, ticari olarak geliştirilmiş, 80, 96 veya daha fazla kuyucuğa sahip plaklar kullanılmaktadır. Bu

kuyucuk serilerinde madde dilüsyonları hazırlanmakta ve belli bir miktarda kültürün ilavesiyle, madde ve mikroorganizma etkileştirilmektedir. İnkübasyondan sonra test edilen antimikrobiyal maddenin, kullanılan mikroorganizmaya karşı hangi konsantrasyonda etkili olduğu, üremenin varlığına veya yokluğuna göre bulanıklık tayiniyle yapılmakta ve üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon değeri, Minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeri olarak tanımlanmaktadır.

### **1.8.2. Difüzyon Teknikleri**

Antimikrobiyal testlerde kullanılan agar difüzyon metodu uçucu yağların test edilmesinde kolaylığından dolayı en çok tercih edilen tekniktir. Kalitatif ve yarı kantitatif bilgiler bu metotla ortaya çıkarılabilmektedir. Agar difüzyon tekniğinde, içinde test edilecek olan maddenin bulunduğu bir çukur sistemiyle, test organizmasının bulunduğu uygun bir besiyeri kullanılmaktadır. Besiyeri üzerine, belirli çapta açılan kuyulara homojen olarak çözülmüş uçucu yağ karışımı koyulmaktadır. İnkübasyon süresi sonunda, kullanılan madde etkili ise çukurların etrafında belirgin biçimde üremenin olmadığı inhibisyon zonları oluşmaktadır. Oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek kaydedilmekte ve değerlendirilmektedir. Kuyucuklara koyulan maddenin artan ya da azalan konsantrasyonlarıyla, aktivite sonucu oluşan inhibisyon zonu çaplarının da doğru orantılı olarak artması ya da azalması beklenmektedir (Çelik ve Çelik, 2007).

Disk difüzyon metodunda ise saflaştırılmış bakteriler üzerine numune içeren diskler yerleştirilir. Bu disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çaplarının ölçülmesi ile mikroorganizmanın numuneye karşı duyarlılığı hakkında bir yargıya varılır. Oluşan inhibisyon zonunun çapı, çalışma koşullarına, mikroorganizmanın duyarlılığına, antibiyotiğin miktarına ve difüzyon yeteneğine bağlı olarak değişir.

## **1.9. Çalışmada Kullanılan Bakteri Türleri ve Özellikleri**

### **1.9.1. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus*, başta ısıtılma işlem olmak üzere mikroorganizmaların indirgenmesine yönelik tüm uygulamalara karşı yüksek bir duyarlılık gösterir. *S. aureus* insanlarda menenjit, septisemi ile yara iltihaplarına ve önemli ölçüde gıda

zehirlenmelerine neden olur. Stafilokokal gıda zehirlenme riski bakteriyel gelişmenin ve/veya toksin oluşumunun azalması ile kayda değer ölçüde azaltılabilir. Yeterli ısı işlem ile gıdanın depolama koşulları bu konuda en etkili önlemlerdir. Genel olarak gıdada  $10^5 - 10^9$  adet/g *S. aureus* varlığı enterotoksin oluşumu için "toksik düzey" olarak kabul edilir. Gıdada *S. aureus* bulunması o gıdanın stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olacağı anlamına gelmeyeceği gibi tersine olarak gıdada *S. aureus* bulunmaması o gıdanın stafilokokal gıda zehirlenmelerine neden olmayacağına dair güvence vermez. Başta ısı işlem olmak üzere çeşitli uygulamalar *S. aureus* hücrelerini öldürebilmekte ancak daha önce oluşmuş enterotoksini tahrip edemeyebilmektedir (www.mikrobiyoloji.org).

### **1.9.2. *Enterococcus faecalis***

*E. faecalis*, Gram-pozitif, insan ve hayvan dışkısında bulunan fekal orijinli bir türdür. Ancak bu bakterilere insan ve memeli hayvanların dışkısı dışında toprak, su, bitki ve böcek gibi birçok çevrede de rastlanmaktadır. *E. faecalis* 'in bazı türlerinin bitkilerde de yaygın olarak bulunması bu bakterilerin sanitasyon indikatörü olarak değerini büyük ölçüde azaltmaktadır. Ancak *E. faecalis* 'in fekal veya fekal olmayan türlerini biyokimyasal testlerle ayırmanın mümkün olduğu bilinmektedir.

### **1.9.3. *Escherichia coli***

Genelde *E. coli* kısaltması ile veya koli basili olarak bilinen *Escherichia coli*, memeli hayvanların kalın bağırsağında yaşayan faydalı bakteri türlerinden biridir. Normalde bağırsakta yaşadığı için, *E. coli* 'nin çevresel sularda varlığı dışkı kirlenmesinin bir belirtisidir. *E. coli*, genel olarak bakteri biyolojisinin anlaşılması amacıyla üzerinde sıkça çalışılmış bir model organizma olmuştur. İnsanın bir günde dışkı yoluyla vücudundan geçen *E. coli* bakteri sayısı 100 milyar ile 10 trilyon arasındadır. Başka hayvanlarda etkisiz olan bazı *E. coli* tipleri insana bulaştıklarında hastalık yapabilirler. Bunların en ünlüsü sayılan O157:H7 adlı serotip kanlı ishale ve ölüme yol açabilir. *E. coli*, normal bağırsak florasına aittir, biyolojik sınıflandırmada da bağırsaklarda yaşayan bakterilerden oluşan enterik bakteriler ailesinde yer alır. Bakteri çubuk şeklinde olup, boyutları 1-2 µm uzunluğunda ve 0.1-0.5 µm çapındadır. *E. coli*

Gram-negatif bir bakteri olduğundan endospor oluşturmaz, kaynatma ile ölür. Memeli hayvanların bağırsaklarında büyümeye adapte olmuş olduğu için en iyi vücut sıcaklığında çoğalır (<http://tr.wikipedia.org/wiki/E.coli>).

#### **1.9.4. *Candida albicans***

*Candida albicans*, eşeyli çoğalan maya tipi bir mantar türüdür. *Candida* cinsine ait 200 tür olmasına karşın *Candida* enfeksiyonlarının %75'inin sorumlusu *C. albicans*'tır. Bağışıklığı baskılanmış hastalarda (AIDS, kanser kemoterapisi, organ veya kemik iliği transferi durumlarında) sistemik fungal enfeksiyonlar, hastalık ve ölümün başlıca nedenleri arasındadırlar. *C. albicans* insan ağızı ve sindirim sistemi içinde yaşayan pek çok organizmadan biridir. *C. albicans* sindirim sistemindeki varlığıyla başka patojen bakterilerin çoğalmasını engeller. Vücudun bağışıklık sistemi ve diğer zararsız bakteriler normal şartlarda *Candida*'yı kontrol altında tutarlar. Ancak, diğer bakterilerin sayısı *C. albicans*'a oranla azalırsa (örneğin antibiyotik kullanımından dolayı), bağışıklık sistemi zayıflamışsa veya mayanın çoğalmasına sağlayan başka şartlar mevcutsa (yüksek şeker, yüksek pH) *C. albicans* zararsız olan tek hücreli biçiminden, çok hücreli, istilacı (invasif), küf gibi iplikçi biçimine dönüşür ve vücudu istilaya başlar. *C. albicans* iplikçi bir biçime dönüşmesine ilaveten, konak dokulara bağlanmasını sağlayan adhesinler, dokulara hem imha etmeye hem de onlara daha iyi yapışmayı sağlayan proteazlar, ve vücudun bağışıklık sisteminin tepkisini azaltan faktörler üretir ([http://tr.wikipedia.org/wiki/Candida\\_albicans](http://tr.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans)).

#### **1.9.5. *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa*, çoğu toprak ve suda bulunur. Glikozu oksidasyon yoluyla parçalayan fakat fermentasyon yapmayan bakterilerdir. Genellikle tek hücreler halinde görünürler, fakat bazen üreme esnasında birkaç hücre bitişik kalarak kısa zincirler teşkil ettikleri görülür. Genç kültürler, üzerinde büyüdüğü ortamlarda genellikle mavi-yeşil bir pigment çıkarır. Kültür yaşlandıkça bu renkler kahverengiye döner. Aerobik olmaları nedeni ile gıdaların yüzeyinde hızlı gelişebilmeleri sonucu okside ürünler ve mukoz madde oluştururlar. Kendi gelişmeleri için gerekli gelişme faktörleri ve vitaminleri sentezleme yeteneğindedirler. Diğer Pseudomonadlar gibi *Pseudomonas aeruginosa* da piyosyanin {mavi-yeşil}, piyorubin (kırmızı-kahverengi)

ve flöressein (yeşil-sarı ve flöresan) gibi pigmentler üretir. Flöresseini tüm Pseudomaslar oluşturabilirken; piyosiyani sadece *Pseudomonas aeruginosa* oluşturabilir. Hemoglobini tam olarak ettiğinden kanlı agar besiyerindeki kolonilerin etrafında temiz ve berrak zon oluşturur. *Pseudomonas aeruginosa* in-vitro koşullarda, inci beyazı koloni görüntüsü ve üzüksü kokusuyla tanınır. Organizmanın kesin tanısı 42 °C de üreme yetisinin ve pigment üretiminin incelenmesiyle konur. Kurumaya dirençlilikleri zayıftır. Süt içindedeyi ürer, sütün pıhtılaşmasında ve çıkardığı pigmentten dolayı yeşil renk almasına neden olur. Bu özelliği sayesinde “hidrokarbon kullanan bakteriler (HUM)” ünvanını kazanmıştır ([http://tr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas\\_aeruginosa](http://tr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa)).

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Aksoy ve arkadaşları (2008), Türkiye’de yetişen endemik *Salvia halophila*’nın antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin belirlemişlerdir. Çalışmada *Salvia halophila* (*Lamiaceae*)’nin metanollü ekstraktının antioksidan aktivitesi fosfomolibdenum ve serbest radikal süpürücü aktivite olmak üzere iki farklı yöntemle araştırılmıştır. Fosfomolibdenum yönteminde metanollü ekstraktın antioksidan aktivitesi  $59.55 \pm 0.4$  mg AAE/g kuru ekstrakt olarak belirlenmiştir. Metanollü ekstraktın serbest radikal temizleyici aktivitesi 1,1-difenil-2- pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi ile belirlenmiştir. IC<sub>50</sub> (%50 inhibisyon için gerekli konsantrasyon) değeri 69.84 µg/ml olarak bulunmuştur. Metanollü ekstraktın toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi ile  $6.66 \pm 0.29$  mg GAE/g kuru ekstrakt olarak bulunmuştur. Ekstraktın antimikrobiyal aktivitesi agar difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Antimikrobiyal analiz için on üç bakteri ve iki maya kullanılmıştır. Metanollü ekstraktın düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve test edilen mayalara karşı etkili olmadığı belirlenmiştir.

Tepe ve arkadaşları (2003), *Salvia multicaulis* ve *Salvia cryptantha* türlerinin metanolik ekstraktı ve uçucu yağlarının antioksidatif ve antimikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. İzole edilen uçucu yağlar GC-MS ile analiz edilmiş ve *Salvia cryptantha* için 53, *Salvia multicaulis* için ise 47 bileşen tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite tayini için ise 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), hidroksil radikal süpürücü ve lipid peroksidasyon deneyleri ile belirlenmiştir. Sonuçlar bu iki türün, besin endüstrisinde antimikrobiyal ve antioksidatif özellik bakımından, radikal süpürücü kullanımına uygun olduğunu göstermiştir.

Bağcı ve Koçak Elazığ ve civarında yetişen *Salvia ceratophylla* ve *S. aethiopsis*’in toprak üstü kısımlarının uçucu yağlarını analiz etmişlerdir. Bu bitkilerin uçucu yağları su distilasyonu yoluyla elde edilmiş ve yaklaşık %0.4 ve %0.3 oranında yağ verimi saptanmıştır. Yağların GC ve GC/MS cihazıyla yapılan kimyasal analizleri sonunda seksen dört ve kırk bileşenin yağın %94.5 ve %96.5’ini oluşturduğu saptanmıştır. *S. ceratophylla*’da ana bileşenler olarak, germakren D (%27.4), bisiklogermakren (%11.3) ve spatulenol (%10) saptanmıştır. Bunun yanında, *S. aethiopsis*’de ise alfa- kopaen (%21.1), beta- kubeben (%8.1), germakren D (%26.3), bisiklogermakren (%24.1) ve delta- kadinen (%5) tespit edilmiştir. Her iki bitkinin uçucu yağ bileşeninin monoterpenlere göre seskiterpenler bakımından daha zengin olduğu saptanmıştır.

Matkowski ve arkadaşları (2008), üç *Salvia* türüne ait kök ve yaprakların metanolik ekstraktının antioksidan özelliklerini belirlemişlerdir. Polifenol varlığı HPLC ve spektrofotometrik deneyler ile sergilenmiştir. Çalışılan türlerin antioksidan kapasite özellikleri yüksek bulunmuş fakat türlerin kendi arasında farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca türlerin kendi içinde, organlarının antioksidan özelliklerinin de farklı olduğu ortaya konulmuştur.

Tepe ve arkadaşları(2005), *Salvia verticillata* L. subsp.*verticillata* ve *S. verticillata* L. subsp. *amasiaca* türlerinin metanolik ekstraktlarının in vitro antioksidan potansiyelleri ve rosmaririk asit seviyelerini incelemişlerdir. Ekstraktların pozitif antioksidan etkileri iki tamamlayıcı metod olan DPPH serbest radikal süpürücü sistem ve  $\beta$ -karoten linoleik asit sistemi ile belirlenmişler. İlk durumda *S. verticillata* subsp. *verticillata* türü, subsp. *amasiaca* türüne göre  $IC_{50}$  ( $14.5 \pm 1.21$   $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) değeri bakımından üstün gelmiştir. Burada  $IC_{50}$  değeri serbest radikallerin yarısının süpürüldüğü andaki numune konsantrasyonunu ifade eder.  $\beta$ -karoten linoleik asit sisteminde ise *S. verticillata* L. subsp. *verticillata* türünün inhibisyon kapasitesi  $74.4 \pm 1.29\%$  olarak bulunmuştur. Sentetik antioksidanlar olan BHT, askorbik asit, kurkumin,  $\alpha$ -tokoferole ait antioksidan kapasiteleri de paralel deneyler ile belirlenmiştir. Numuneler, bu sentetik antioksidanlar ile karşılaştırılarak, radikal süpürücü etki bakımından değerlendirilmiştir. Ayrıca rozmarinik asit seviyesi ve antioksidan kapasitesi arasındaki ilişkinin belirlenebilmesi için bitki ekstraktlarındaki rozmarinik asit aktivitesini de incelenmişler. *S. verticillata* L. subsp. *verticillata* türünün  $28.7 \pm 0.89$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  ile en yüksek rosmaririk asit seviyesine sahip olduğunu bulmuşlardır. Bu da rosmaririk asit seviyesi ile antioksidan potansiyeli arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermiştir

Bağcı ve Koçak *Salvia palaestina* Bentham ve *S. tomentosa* Miller türlerinin uçucu yağ kompozisyonunu belirlemişlerdir. Elazığ'dan toplanan iki *Salvia* L. (*Salvia palaestina* Bentham ve *S. tomentosa* Miller )'dan su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağları GC ve GC-MS ile analiz etmişlerdir. Bitkilerin uçucu yağ verimi %0.4 (v/w) ve %0.3 (v/w) olarak saptanmış, atmış ve yetmiş bir bileşen yaklaşık olarak yağın %95.5 ve %95 ini oluşturacak şekilde tanımlamışlardır. *S. palaestina*'da ana bileşenler, b karyofillen (%18), germakren D (%16.5), linalool L (%9.2), karyofillen oksit (%7.3), linalil asetat (%6), a-kopaen (%4.3), sklaerol (%6.6) ve spatulenol (%4.1), oysa *S.*



*tomentosa* ise a-pinen (%33.7), germakren D (%7.5), b-pinen (%6.8), a-humulen (%6), veridiflorol (%3.8) ve limonen (%3.1) olduğu tespit edilmiştir. Çalışma, incelenen *S. palaestina*'nın seskiterpen, *S. tomentosa*'nın ise hem monoterpen hem de seskiterpen bakımından zengin olduğunu ortaya koymuşlardır.

Özcan ve arkadaşları (2010), *Scrophulariaceae* familyasının endemik bir türü olan *Verbascum antiochium*'un artan polaritelerdeki ve metanoldeki ekstraktlarını gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı disk difüzyon yöntemiyle test etmişlerdir. Metanol/su ekstraktının hem gram pozitif hem gram negatif bakterilere karşı diğer ekstraktlardan daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. Metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi DPPH yöntemiyle belirlenmiş ve %50 inhibisyon aktivitesi 4,80 mg/ml olarak bulunmuştur. Linoleik asit sisteminde ise sentetik antioksidan olarak kullanılan ter-bütül hidroksitoluene yakın bir inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Kelen ve Tepe (2007) Türkiy'de yetişen üç *Salvia* türünden izole edilen uçucu yağların antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri ile kimyasal kompozisyonlarını belirlemeye çalışmışlardır. Bu çalışmada *Salvia aucheri var. aucheri* (endemik), *Salvia aramiensis* ve *Salvia pilifera* (endemic) türleri üzerinde çalışılmıştır. Bu bitkilerde Gaz Kromatografi- Elektron Etki Kütle Spektromu (GC)/EIMS sonuçlarına göre sırasıyla 41 (97.2%), 51 (98.5%) ve 83 (98.2%) bileşen tanımlanmıştır. Antioksidan kapasitesi birbirini tamamlayan iki metod olan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil(DPPH) serbest radikal süpürücü sistem ve  $\beta$ -karoten linoleik asit sistemi ile belirlenmiştir. *S.aramiensis* türünün antioksidan aktivitesi her iki metotta diğer iki türden sırasıyla  $12.26 \pm 1.09$  ve  $92.46\% \pm 1.64 \mu\text{g}/\text{mg}$  değerleri ile daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca sentetik antioksidanlar olan BHT, curcumin,  $\alpha$ -tokoferol ve askorbik asit için de aynı deneylerle antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Numuneler, sentetik antioksidanlarla karşılaştırılmıştır ve antioksidan içerik bakımından aydınlatılmışlardır. Ayrıca antimikrobiyal aktivite disk difüzyon ve MIK yöntemleri olmak üzere iki yöntem ile belirlenmiştir. *Salvia aramiensis* türünün antimikrobiyal aktivitesini sırasıyla *Salvia aucheri var. aucheri* ve *Salvia pilifera* takip etmiştir.

Şarer *Salvia yosgadensis* Freyn. et Bornm. uçucu yağı üzerinde kimyasal araştırmalar gerçekleştirmiştir. Çalışmada endemik türlerden *S. yosgadensis* Freyn. et Bornm. uçucu yağının fiziksel özellikleri ve kimyasal bileşimi incelenmiştir. Bitkinin çiçek ve yaprakları % 0.30 uçucu yağ içermektedir. Kolon ve gaz-sıvı kromatografisi

yöntemleri ile uçucu yağda 14 monoterpenik hidrokarbon, 15 oksijenli monoterpen ve eskiterpen saptanmıştır. Uçucu yağın başlıca maddeleri karyofillen (% 12.8), teşhis edilemeyen bir madde (% 10.7), sabinil asetat (% 10.1) ve sabinol'dür (% 8.7).

Pitarokili ve arkadaşları(2006) Yunanistan'da yetişen *Salvia verticillata*, *S. verbenaca*, *S. glutinosa* ve *S. candidissima* türlerine ait uçucu yağ kompozisyonunun GS ve GS- MS ile belirlemişlerdir. *Salvia verticillata* için en büyük bileşikler,  $\beta$ -pinen (30.7%), *p*-simen (4- izsopropiltoluen) (23.0%) ve laurik asit izopropil ester (16.8%) olmak üzere toplamda 28 bileşen tanımlanmıştır. *S. verbenaca* için  $\beta$ -phellandrene (30.3%), (*E*)-caryophyllene (16.1%)and methyl ester of 6-octadecenoic acid (15.0%) büyük moleküller olmak üzere 19 bileşen ve *Salvia glutinosa* için ise butyl butyryl lactate (26.7%) en bol bulunan bileşik olmak üzere 23 bileşik ve son olarak *S. candidissima*, için  $\alpha$ -pinene (11.2%) ve 1,8-cineole (9.89%) en büyük bileşenler olmak üzere 36 bileşen tanımlanmıştır.

Nostro ve arkadaşları(2000), yapmış oldukları çalışmada bazı bitki ekstraktlarının test mikroorganizması olarak kullanılan bazı Gram (+), Gram (-) bakteri ve maya suşlarına karşı inhibitörük etki gösterdiğini tespit etmişlerdir

Kırbağ ve Zengin(2006), Elazığ yöresinde tıbbi amaçlarla kullanılan *Bunium paucifolium* DC. var. *paucifolium*, *Taraxacum revertens* G. Hagl., *Linum nodiflorum* L., *Centauria kurdica* Reichart., *Echium italicum* L., *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* (Frey & Barnma) Barnm, *Thymus kotschyanus* Boiss & Hohen var. *glabrescens* Boiss., *Verbascum varians* Freyn & Sind. *Ranunculus constantinopolitanus* (DC) UV., *Rheum ribes* L. ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini araştırmıştır. Bu ekstraktların disk diffüzyon metoduna göre *Bacillus megaterium* DSM 32, *Bacillus subtilis* IMG 22, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071, *Listeria monocytogenes* SCOTTA, *Klebsiella pneumonia* FMC 5, *Proteus vulgaris* FMC I, *Staphylococcus aureus* COWAN 1, *Saccharomyces cerevisiae* FMC 16, *Candidia albicans* FMC 17 üzerindeki antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Araştırma sonunda *Bunium paucifolium* var. *paucifolium*, *Linum nodiflorum* L. *Centauria kurdica*, *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*, *Thymus kotschyanus* var. *glabrescens* *Rheum ribes* ekstraktları test edilen mikroorganizmaların gelişmelerini değişik oranlarda engellediği bulunmuştur. Diğer ekstraktlar mikroorganizmaların gelişmelerini inhibe etmemiştir.

Özkan ve arkadaşları *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* ve *Phlomis pungens* Willd. var. *hirta* Velen'in yaprak ve çiçek metanolik ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. Metanolik ekstraktların 9 farklı bakteri türüne (*Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Salmonella enteritidis* (KUEN 349), *Proteus mirabilis* (CCM 1944), *Escherichia coli* (ATCC 25922) karşı antibakteriyel etkileri makro broth dilüsyon yöntemi kullanılarak tespit etmişlerdir. *Salvia verticillata*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı belirgin bir etkinlik gösterirken *Phlomis pungens* yaprak ve çiçek ekstraktları *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis*'e karşı etkili olmuşlardır. Sonuç olarak bu iki bitki türünün çeşitli enfeksiyöz hastalıklarda antimikrobiyallere alternatif olarak kullanılabilceğini düşündürmüştür.

Gölcü ve Nalbantbaşı(2010), Kahramanmaraş yöresinde yayılıs gösteren 18 farklı sifalı bitkinin çeşitli çözücü ortamlarından alınan ekstrelerinde antimikrobiyal aktivitelerine bakmışlardır. Aktimikrobiyal aktivite çalışmalarında 4 adet bakteri (*Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*) ve 4 adet maya (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Candida crusei*) kullanılmıştır. Sonuçta bütün ekstrelerin bütün mikroorganizmalarına karşı etkili olduğu saptamışlardır

Öztürk ve arkadaşları (2010) *Salvia chionantha* türünün hekzan ekstraktı ile elde edilen uçucu yağların bileşimini ve bu yağların antioksidan özelliklerini belirlemişlerdir. Uçucu yağ analizi GC ve GS-MS ile belirlenmiştir. Uçucu yağ içerisinde 54 bileşen algılanmıştır ve bunların tümü belirlenmiştir. Germacren-d (25.03%), b-karyofillen (8.71%), spathulenol (5.86%) ve a-humulen (4.82%) en büyük bileşenler olarak tespit edilmiştir. Hekzan ekstraktlarının antioksidan aktivitesi  $\beta$ -karoten-linoleik asit, DPPH radikal süpürücü aktivite, ABTS' radikal süpürücü aktivite ve CUPRAC metodu ile belirlenmiştir.  $\beta$ -karoten-linoleik asit emülsiyon sisteminde 0,8 mg/ml derişimindeki ekstrakt  $81.2 \pm 0.1\%$  lipid peroksidasyonu göstermiştir. Aynı konsantrasyonda ABTS metodunda  $77.4 \pm 0.5\%$  inhibisyon göstermiştir.

Tepe ve arkadaşları(2003) *Salvia tomentosa* türünün çeşitli ekstraktlarının ve uçucu yağlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. GC ve GC-MS

analizlerinde bulunan sonuçlara göre; b-pinene (39.7%), a-pinene (10.9%) ve kâfuru (9.7%) ana bileşenler olmak üzere 44 bileşen tanımlanmıştır. Örneklerin antioksidan kapasite miktarları da DPPH ve  $\beta$ -karoten-linoleik asit test sistemleri ile incelenmiştir. Sulu metanolik ekstraktın serbest radikal süpürücü etkisi ( $IC_{50} = 18.7 \mu\text{g/ml}$ ) tüm diğer türlere göre baskın gelmiştir. Polar ekstraktlar non-polar ekstraktlara göre daha üstün antioksidan etki göstermiştir. Linolenik asit test sisteminde ise metanol ekstraktı %90.6 inhibisyon oranı ile sentetik antioksidan BHT'ye çok yakın bir antioksidan kapasite özelliği göstermiştir.

Kotan ve arkadaşları (2007), Türkiye'de yetişen *Salvia hydrangea DC.ex Benth.* türünden izole edilen uçucu yağların antimikrobiyal ve böcek öldürücü aktivitesini belirlemişlerdir. Uçucu yağ analizi GS-MS ile gerçekleştirilmiştir. Yağ içerisinde 54 farklı bileşen tanımlanmıştır. Dominant olarak kafur (54.2%), a-humulen (4.0%), cis-sesquisabinen hydrate (2.8%), mirtenol (2.6%), b-bisabolol (2.2%) ve 1,8-sineole (2.1%). Yağ ayrıca bağıl olarak yüksek miktarda oxygenated monoterpenler bakımından da karakterize edilmiştir. Yağ, ayrıca in vitro mikrobiyal büyüme inhibisyon deneyleri kullanılarak 33 tarımsal patojenik mantarın fungitoksik etkilerine karşı da test edilmiştir. Test edilen mantarlara karşı önemli ölçüde antifungal etki elde edilmiştir. Antimikrobiyal etki ise 30 bakteriyel suşa karşı disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Yağın çok geniş bir antimikrobiyel aktivite spektrumuna sahip olduğu bulunmuştur. Yağ, buğday ve buğday ürünlerindeki en büyük zararlılar olan ergin *Sitophilus granarius* ve *Tribolium confusum*'a karşı 68.3-75.0% inhibisyon oranı göstermiştir. Sonuç olarak *Salvia* türünden elde edilen bu uçucu yağın tarımsal patojenik mantarlara ve *Sitophilus granarius* ile *Tribolium confusum* türlerine karşı antimikrobiyal etkiye sahiip olduğu belirlenmiştir.

X.C. Weng ve W. Wang (2000) *Salvia plebeian* türünden izole edilen bileşiklerin antioksidan aktivitesini incelemiştir. Bu türden , hispidulin-glucuronide (1), hispidulin-7-O-d-glucoside (2), 6-methoxy-luteolin-7-glucoside (3), b-sitosterol (4), 20-hydroxy-50-methoxybiochanin A (5) and coniferyl aldehyde (6) olmak üzere 6 bileşik izole edilmiştir ve UV, IR, Kütle,  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR spektrumları ile tanımlanmışlardır. İzole edilen maddelerin antioksidan aktiviteleri oksidatif kararlılık cihazı (OSI)nda sentetik antioksidanlar olan BHT ve  $\alpha$ - tokoferol ile karşılaştırılmıştır. 3.,4. ve 5. Bileşiklerin

yüksek derecede antioksidan etkiye sahip oldukları ancak 1., 2., ve 6. Bileşiklerin düşük antioksidan etkiye sahip oldukları bulunmuştur.

Yeşilyurt ve arkadaşları (2007) *Salvia cedronella* türünün antioksidan potansiyelini ve fenolik bileşenlerini incelemiştir. Bu amaçla *Salvia cedronella* bitkisinin toprak üstü kısmının aseton ile hazırlanan ekstraktında toplam fenolik ve flavonoid içerik bakımından incelenmiştir. Antioksidan kapasite tayini in vitro çalışma koşulları altında üç farklı metod kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Toplam antioksidan aktivite tayini için  $\beta$ -karoten linoleik asit test sistemi, serbest radikal süpürücü aktivite tayini için DPPH yöntemi ve metal şelasyonu için  $Fe^{+2}$  ferrozine test sistemi kullanılmıştır. Sonuçlarda yüksek miktarda fenolik içerik, kuvvetli radikal temizleme etkisi ve önemli demir şelat etkisi gözlenmiştir. Ancak  $\beta$ -karoten linoleik asit test sisteminde lipid peroksidasyon inhibisyon etkisi önemli bir ölçüde gözlenmemiştir. Fitokimyasal analizler p-hydroxyphenylethyl docosanoate ve iki triterpenoids; Oleanolic asit ve betulinic asit ile birlikte 3-metoksi-4-hidroksimetil adında yeni bir kumarin vermiştir.

Kamata ve arkadaşları (2009), Güney Afrika *Salvia* türlerinin antioksidan, anti-inflamatuar aktiviteleri belirlemiş ve HPLC analizlerini yapmışlardır. Bu çalışmada Güney Afrika'da yetişen 16 *Salvia* türü belirlenmiş ve 1:1 metanol kloroform karışımında ekstrakte edilerek çalışılmıştır. Antioksidan aktivite azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) ve 2,2-difenil-1-1 pikrilhidrazil(DPPH) radikal temizleme test sistemleri ile çalışılmıştır. Aynı deneylerle sentetik antioksidan torolox'un antioksidan kapasitesi belirlenmiş ve bu sonuçlar numunelerin verdiği sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Hemen hemen tüm çözücü ekstraktları DPPH testinde 1.6-74.5  $\mu\text{g/ml}$  ve ABTS testinde 11.9-69.3  $\mu\text{g/ml}$  aralığındaki  $IC_{50}$  değerleri ile antioksidan özellik göstermiştir. *Salvia schlechteri* türü 1.6  $\mu\text{g/ml}$   $IC_{50}$  değeri ile referans maddeden üç kat kuvvetli antioksidan etki göstermiştir(Toroloks için  $IC_{50}$  değeri 2.51  $\mu\text{g/ml}$ ).

Kokkini ve arkadaşları(1998), Yunanistan'da yetişen *Salvia pomifera* L. subsp. *pomifera* (Labiatae) türünün dağılımını ve bu türün uçucu yağlarını incelemiştir. Adaya dağılmış olan 6 *Salvia* popülasyonunun uçucu yağ çalışması yapılmıştır. Uçucu yağ içeriği %2.1-4.2 olarak bulunurken tüm durumlarda en çok bulunan bileşenler sırasıyla %23.4-72.3 ve %7.1-40.8 değerleriyle  $\alpha$ - ve/veya  $\beta$ -thujone olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları literatür verileri ile karşılaştırıldığında *S.*

*pomifera* uçucu yağ kompozisyonu ile *S. Fruticosa* türünden ayırt edilebileceği önerilmiştir.

Flamini ve arkadaşları (2007) Ürdün’de yetişen *Salvia* cinsine ait *Salvia lanigera*, *S. Spinosa* ve *S. Syriaca* türlerinin toprak üstü kısımlarının uçucu yağ bileşenlerini incelemiştir. Her üç türün monoterpen türevleri bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. *Salvia lanigera* ve *S. Spinosa* türlerinin sırasıyla %54.9 ve %68.9 değerleri ile yüksek thymol içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. *S. Syriaca* türünün ise ana bileşenleri thymo(115.5%), a-pinene (12.6%) and isobornyl acetate (12.0%) olarak bulunmuştur.

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

*Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türüne ait örnekler Mustafa Kemal Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Yelda GÜZEL'in 14 Haziran 2011 tarihinde yaptığı arazi çalışmaları sonucu Hatay Yayladağı 3. km'den temin edildi.

#### **3.2. Yöntem**

##### **3.2.1.Drog Veriminin Belirlenmesi**

Numunenin drog verimini hesaplamak amacıyla 5,0015 gram madde tartıldı. Maddenin tamamı sokset kartuşuna alınarak ekstraksiyon işlemi başlatıldı. Ekstraksiyonda çözücü olarak metanol kullanıldı. 8 saat süre sonunda bu işlem tamamlandı ve çözücü evaporatörde uçuruldu. Hafif metanollü kısım liyofilize edildi ve drog veriminin hesaplanabilmesi için elde edilen drog miktarı gram cinsinden belirlendi.

##### **3.2.2.Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması**

Kuru halde temin edilen bitkiler makas ile küçük parçalara ayrıldıktan sonra, ezilerek toz haline getirildi. Antioksidan analizlerinin yapılabilmesi için toz haline getirilen 30 g bitki numunesinin metanol ekstraksiyonu yapıldı. Bunun için numuneler %70'lik metanolde 40 °C'de, ilk etapta 3 saat süreyle ekstraksiyona tabi tutuldu. Bu işlem her defasında süzmek suretiyle 3 kez tekrarlandı. Süzüntüler birleştirildi ve evaporatörde vakum altında 40 °C'de uzaklaştırıldı. Bu işlemden sonra kalan hafif metanollü kısım petri kaplarına az hacimlerde olmak şartıyla alındı ve liyofilizasyona tabi tutuldu. Böylece kalan metanol de düşük atmosfer basıncında ve düşük sıcaklıkta tamamen uzaklaştırıldı. Liyofilize edilerek tamamen kurutulmuş ekstre analiz edilene kadar +4 °C'de saklandı.

### **3.2.3. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri**

#### **3.2.3.1. Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu**

Toplam fenolik madde konsantrasyonu aynı temele dayanan iki farklı metod ile belirlendi.

##### **3.2.3.1.1. Folin-Ciocaltaeu Yöntemi**

Toplam fenolik madde konsantrasyonunu belirlemek için Folin-Ciocaltaeu yöntemi esas alındı. Bu metotta kullanılan kimyasallar ve Folin reaktifi (Sigma-Aldrich),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , metanol, gallik asit (Merck)'tir. Ölçümlerde Hitachi U.V. U-1900 spektrofotometre kullanıldı.

0.4 mg/ml derişimde hazırlanan numune çözeltilisinden 0.25 ml alınan deney tüpüne sırasıyla 1:10 oranında seyreltilmiş Folin reaktifinden 1.25 ml ve % 10'luk  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltilisinden 3.75 ml alınarak iki saat inkübasyona bırakıldı. Aynı işlemler standart olarak kullanılan gallik asit için de uygulandı. Standart eğrinin oluşturulabilmesi için gallik asit 0.4-0.125 mg/ml aralığında olmak üzere beş farklı konsantrasyonda çalışıldı. Karanlıkta, ağzı kapalı olarak inkübe edilen örneklerin 765 nm'de metanol körüne karşı absorbans değerleri ölçüldü. Numunede bulunan toplam fenolik madde miktarı gallik asit standart eğrisinden yararlanılarak bulundu. Sonuçlar 1 gram ekstredeki mg GAE (gallik asit eşdeğeri) olarak verildi.

##### **3.2.3.1.2. Fosfomolibden Metodu**

Numunenin toplam antioksidan kapasitesi Folin metoduna ek olarak Prieto ve ark.(1999) metoduna göre yapılan fosfomolibden metoduyla da belirlendi. Bu amaçla sülfirik asit, sodyum fosfat, amonyum molibdat, askorbik asit, metanol, Hitachi U.V. U-1900 spektrofotometre, su banyosu (JSR, Korea) kullanılan kimyasal ve cihazlardır.

0.6 M sülfirik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat içeren reaktif çözeltisi hazırlandı ve 0.4 mg/ml derişimde 0.3 ml numune üzerine 3 ml reaktif çözeltisi ilave edildi. Tüplerin ağızları kapatıldıktan sonra 95°C'de 90 dakika inkübe edildi. Örnekler oda sıcaklığına soğutuldu ve 695 nm dalga boyunda kontrol örneğe (0.3



ml metanol, 3 mL belirteç çözeltisi) karşı okundu. Sonuçlar mg askorbik asit eşdeğeri/gram ekstre olarak verilmiştir.

### 3.2.3.2.DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Etkisi

Bitki numunesinin radikal süpürme aktivitesi Brand Williams, Culivier ve Berset (1995) metoduna göre belirlendi. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) (Sigma-Aldrich), metanol (Merck) kullanılan kimyasallardır. Ölçümde Hitachi U.V. U-1900 spektrofotometre kullanıldı.

0.4 mg/ml derişimde hazırlanan numune ve sentetik antioksidanlar 1:1 oranında seyreltilerek 5 farklı derişimde çalışıldı. Daha sonra deney tüplerine bu örneklerden 1.25 ml alındı ve üzerlerine  $6.10^{-5}$  M'lık DPPH çözeltisinde 3.75 ml eklendi. Tüpler kabaca karıştırıldıktan sonra karanlıkta ve oda sıcaklığında yarım saat bekletildi. Daha sonra 517 nm'de metanol körüne karşı absorbans değerleri ölçüldü. Numune ve sentetik antioksidanlar için % inhibisyon değeri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$I (\%) = (A_0 - A_{\text{numune}} / A_0) \times 100$$

Bu değerlerden faydalanılarak DPPH serbest radikalinin yarısının süpürüldüğü andaki numune konsantrasyonu ( $IC_{50}$ ) değerleri hesaplandı. Değerler sentetik antioksidan olan BHT ve BHA ile kıyaslandı.

### 3.2.3.3.CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

Neocuproine (2,9-dimethyl-1,10-fenantrolin), BHT, BHA, Troloks, (Sigma-Aldrich),  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ , metanol, etanol, amonyum asetat (Merck) kullanılan kimyasallar olup ölçümler için Hitachi U.V. U-1900 spektrofotometre kullanıldı.

Metod Apak ve ark. (2006) yönteminde bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. İçerisine sırasıyla 1 mL  $10^{-2}$  M  $CuCl_2$ , 1 mL  $7.5 \times 10^{-3}$  M Neocuproine çözeltisi ve 1 mL 1 M (pH=7)  $NH_4Ac$  tamponu konulup çalkalanan tüplere, 0.0025 mg/ml derişime sahip bitki ekstrelerinden 0.5 mL eklenip üzerine toplam hacim 4.1 mL olacak şekilde 0.6 mL deiyonize su+troluks ilave edildi. Tüpler ağzı kapalı bir biçimde 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 450 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Kör olarak tüm işlemler aynı olacak şekilde hazırlanan ancak numune içermeyen çözelti kullanıldı.

Standart olarak  $1,0 \times 10^{-3}$  M derişimde troloks çözeltisi kullanıldı. Beş farklı derişimde olacak şekilde 1:1 oranında seyreltme işlemi yapıldıktan sonra bir standart eğri oluşturuldu. Aşağıda verilen hesap yöntemiyle her bitkinin troloks eşdeğeri cinsinden kuru madde antioksidan kapasiteleri hesaplandı. Her bitkide % nem oranı farklı olduğu için kapasite değerlerinin hesaplanmasında % kuru madde değerleri göz önünde tutuldu.

$$\text{TEAC}_{(\text{mmol/g})} = \frac{\text{Absorbans} \times 4.1 \times 100 \times 100 \times 1}{1.67 \times 10^4 \times 0.5 \times 10 \times \text{Bitki tartımı (g)} \times \% \text{ Kurumadde}}$$

#### 3.2.3.4. $\beta$ - Karoten- Lineolik Asit Emülsiyon Yöntemi

Metod Kaur ve Kapoor'un (2002)  $\beta$ -karoten linoleik asit emülsiyon sistem metoduna göre yapıldı. Kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ),  $\beta$ -karoten, linoleik asit, tween 40 (Sigma-Aldrich), evaporatör (Buchi), su banyosu (JSR, Korea), Hitachi U.V. U-1900 spektrofotometre yöntemde kullanılan cihaz ve kimyasal malzemelerdir.

İlk olarak  $\beta$ -karoten linoleik asit emülsiyon çözeltisi hazırlandı. Bu işlem için 0.2 mg  $\beta$ - karoten, 1 ml kloroformda çözüldü. Üzerine % 60'lık 0.02 ml lineolik asit çözeltisi ve 200 mg Tween 40 ilave edildi. Kloroform vakum altında  $40^\circ\text{C}$  de evaporatörde tamamen uzaklaştırıldı. 100 ml oksijenle doyuruldu ve deiyonize suda çözüldü. Şiddetli şekilde karıştırıldı.

Numunenin ve karşılaştırılmak üzere hazırlanan sentetik antioksidan BHA ve BHT'nin konsantrasyonu 1 mg/ml olacak şekilde %70'lik metanolde hazırlandı. Deney tüplerine hazırlanan numune, BHA ve BHT çözeltilerinden 0.2'şer ml alınarak üzerlerine 5'er ml hazırlanan emülsiyon çözeltsinden ilave edildi. Kontrol numunesi olarak metanol kullanıldı. İçerisine 0.2 ml metanol alınan tüpe 5 ml  $\beta$ -karoten linoleik asit emülsiyon çözeltisi eklendi. Deney tüplerindeki numunelerin ve kontrol çözeltisinin absorbansı  $470 \text{ nm}$ 'de okundu ( $A_0$ ). Hemen sonra  $50^\circ\text{C}$ 'de su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Bu andan itibaren inkübasyondaki çözeltilerin absorbansı her 15 dakikada bir olmak üzere toplam 120 dakika boyunca okundu. Bu absorbanslara dayanarak, yapılan hesaplamalarda absorbans değişim oranı (AO) ve buna bağlı olarak da % oksidasyonu engelleme katsayıları hesaplandı.

$$\text{Absorbans değişimin oranı (AO)} = \frac{\ln ( A_0 / A_t )}{t}$$

$A_0 = t_0$  anındaki absorbansı

$A_t = t$  anındaki absorbansı ( $t= 120$  dk)

$$\% \text{ Oksidasyonu engelleme} = \frac{[ AO_{(\text{kontrol})} - AO_{(\text{numune})} ]}{AO_{(\text{kontrol})}} \times 100$$

### 3.2.3.5. FRAP İndirgeme Gücü

Numunenin indirgeme gücü Oyaizu (1986) metoduna göre belirlendi.  $FeCl_3$ , metanol, fosfat tamponu, potasyum ferrosiyonür, trikloroasetik asit (TCA), BHA, BHT (Sigma-Aldrich), su banyosu (JSR, Korea), Hitachi U.V. U-1900 spektrofotometre, santrifüj, (Hettich EBA 8S, Germany), pH metre (HACH sension1) yöntemde kullanılan cihaz ve kimyasal malzemelerdir.

Drogların indirgeme gücü Oyaizu (1986) metodu ile belirlendi. Drogların 5 farklı konsantrasyonda metanolik çözeltileri hazırlandı (0.4-0.025 mg/ml). Hazırlanan her bir çözeltiden deney tüplerine 2.5 ml numune alındı. Her birinin üzerine 0.2 M 2.5 ml fosfat tamponu ve %1'lik potasyum ferrsiyonür çözeltisinden ilave edildi. Tüpler  $50^\circ C$ 'de 20 dakika boyunca su banyosunda inkübe edildi. Daha sonra 2.5 ml %10'luk trikloroasetik asit (TCA) ilave edilip, 10 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatandan 2.5 ml alınarak başka tüplere aktarıldı ve 2.5 ml deiyonize su eklendi. %1'lik  $FeCl_3$  ilave edildikten sonra oluşan yeşil renkli çözeltilerin absorbansları spektrofotometrede 700 nm dalga boyunda ölçüldü. Uygun hesaplamalar ile sentetik antioksidanlar ve numune için FRAP değeri hesaplandı. Standart olarak askorbik asit (0.4-0,025 mg/ml) kullanıldı.

### 3.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemi

*Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türüne ait antimikrobiyal aktivite disk difüzyon metodu ile belirlendi (CLSI). Bu yöntemde numune 100 mg/ml derişimde çalışıldı ve analiz üçlü tekrarlar şeklinde gerçekleştirildi. Çözücü olarak DMSO (dimetil

sülfoksit, Merck), standart antibiyotik olarak amikasin (Oxoid, 30 µg) kullanıldı. Analizde iki Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)), iki Gram negatif (*Escherichia coli* (ATCC 35218), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)) olmak üzere dört bakteri türü ve bir maya (*Candida albicans* (ATCC 14053)) kullanıldı. *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* için Kanlı besiyeri (Biomerieux), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* için EMB (Eosin-Metilen blue) besiyeri (Biomerieux), *Candida albicans* için SDA (Sabouraud Dextroz Agar) besiyeri (Merck) kullanıldı.

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları için öncelikle bakteri stoklarından uygun besiyerleri üzerine ekim yapıldı. Ekimden sonra bakteriler 37° C de 24 saat süre ile inkübe edildi. Daha sonra bakteri konsantrasyonu McFarland 0.5 bulanıklık standardına göre hazırlarak Müller Hinton besiyerine ekildi. Her bakteri için üç besiyeri hazırlandı ve her besiyerine 40 µl, 80 µl ve 120 µl numune emdirilmiş diskler konuldu. Numunenin bakterilere karşı duyarlılığı disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının mm cinsinden ölçülmesiyle tespit edildi. Ayrıca sadece DMSO içeren diskler negatif kontrol olarak kullanıldı.

### **3.2.5. *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* Türünün Fenolik İçeriğinin HPLC ile Belirlenmesi**

Numunenin fenolik içeriğinin belirlenmesi için kullanılan fenolik maddeler gallik asit, kateşin, kafeik asit, epikateşin, kumarik asit, ferulik asit, viteksin, rutin, hesperidin, rosmarinik asit, eriodiktiol, quersetin, hesperidin, morin, viteksin ve karvakroldur.

Kullanılan Young Lin 9100 model HPLC cihazının teknik özellikleri ise şu şekildedir:

Dedektör	: PDA YL 9160 dedektör
Pompa	: Kuaterner YL 9160
Kolon	: Terz Faz ODS2 C18 (250 x 4,6 mm)
Tanecik Boyutu	: 5 µ

**Numune Hazırlama ve İnjesiyon:** 0.5 mg/ml derişimde numune, 0.45 µm çapına sahip süzgeç kağıdı ile süzöldükten sonra 20 µL'si HPLC'ye enjekte edildi. Mobil faz

olarak %5 formik asit-su ve %5 formik asit-asetonitril kullanıldı. Akış hızı 0.8 mL/dakika ve kolon sıcaklığı 30°C olarak ayarlandı.

Öncelikle standart fenolik maddelerin enjeksiyonu yapıldı. Standart bir kromatogram oluşturulduktan sonra 5 mg/ml derişiminde numuneden 20µL enjekte edildi ve elde edilen kromatogram, standart kromatogram ile karşılaştırılarak numunenin fenolik içeriği belirlendi.

### **3.2.6. *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* Türünün Uçucu Yağ Bileşiminin GC-MS ile Analizi**

Numunedeki yağın elde edilmesi için clevenger aparatı kullanıldı ve elde edilen uçucu yağ GC-MS ile analiz edildi. Analiz Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümünde bulunan Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Laboratuvarında yapıldı.

Uçucu yağ analizinde kullanılmak üzere bitkideki yağ clevenger aparatı ile elde edildi. Bu amaçla yaklaşık 50 gram kadar madde 1 litrelik bir balona alındı ve balonun yarısı kadar hacimde su ile 6 saat süre su buharı destilasyonuna tabi tutuldu. Destilasyon sonunda elde edilen uçucu yağ vialle alındı ve analiz süresine kadar +4 °C'de muhafaza edildi.

Numune Thermo Scientific Focus (ISQ Single Quadrupole) marka GS-MS cihaz ile analiz edildi. Taşıyıcı gaz olarak % 99.9 saflıkta ve 1 ml/dk akış aralığı ile 70 eV iyonlaşma enerjisinde helyum gazı kullanıldı. MS transfer sıcaklığı 250 °C, enjeksiyon sıcaklığı 220 °C olarak ayarlandı. Örnek 250 split aralığında, 1 µl hacimde enjekte edildi. Fırın sıcaklığı 3°C/dak artış ile 50°C'den 220°C'ye çıkarıldı. Her bileşiğin yapısı, bu bileşiklerin kütle spektrumunun Xcalibur yazılım programı kullanılarak elde edilen verilerle karşılaştırılarak belirlendi.

## 4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Drog Veriminin Hesaplanması

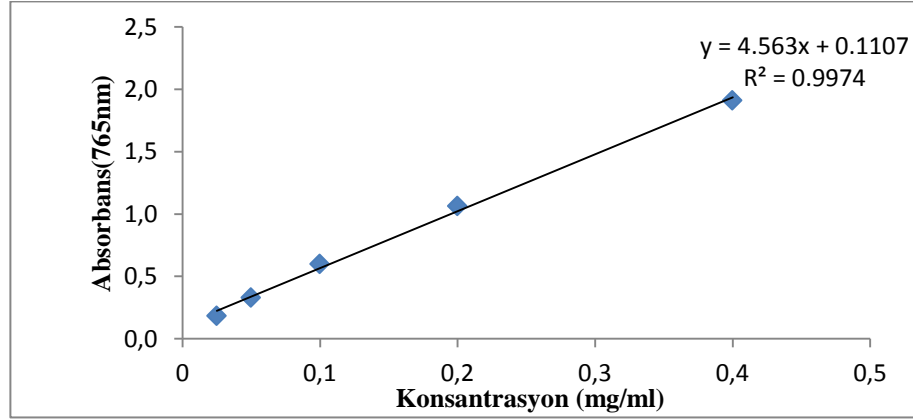
5,0015 gram bitkiden 1,1966 gram ekstre elde edildiğinden drog verimi % 23,932 olarak bulundu.

### 4.2. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

#### 4.2.1.Toplam Fenolik Madde Konsantrasyonu

##### 4.2.1.1.Folin-Ciocalteu Metodu

Örneğin içerdiği toplam fenolik madde miktarı 1 gram bitki ekstresi içindeki mg gallik asit eşdeğeri cinsinden hesaplandı. Bu hesaplama için öncelikle gallik asit standart eğrisi ( Şekil 4.1.) oluşturuldu.



Şekil 4.1. Gallik asit standart eğrisi

Numunenin Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak elde edilen toplam fenolik madde miktarı yapılan 3 denemenin ortalaması şeklinde verildi. Bitki içerisinde birden fazla fenolik yapılmı madde olduğu düşünöldüğünde, her birinin konsantrasyon değerlerini tek tek hesaplamak mümkün olamayacağından bitki içerisindeki toplam fenolik madde miktarı standart madde olarak değerlendirilen gallik asit cinsinden hesaplandı.

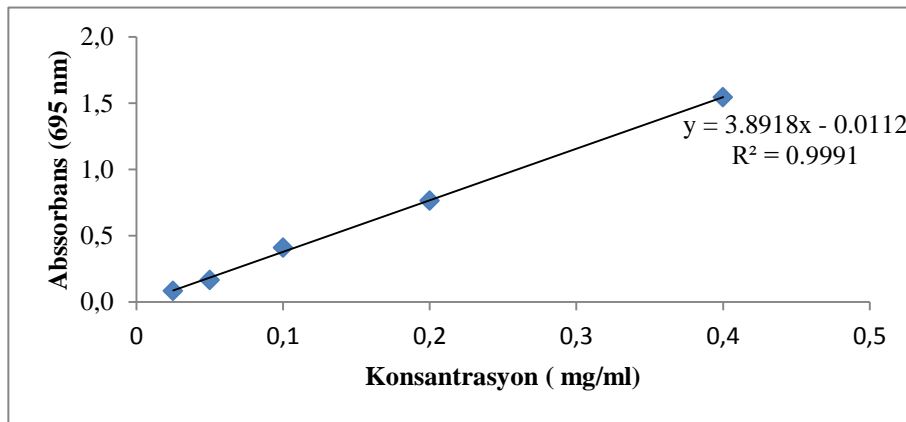
Bir bitkinin antioksidan etkisinden bahsedebilmek için, bünyesinde antioksidan aktivitesi yüksek bileşiklerin bulunması gerekmektedir. Fenolik yapılmı maddeler de bu

kapsamda değerlendirilir. Yapılan bazı çalışmalarda bazı fenolik yapılu bileşiklerin antioksidan etkisi incelenmiş hepsinin serbest radikalleri süpürebildikleri belirtilmiştir (Karademir, 2005, Apak ve ark., 2007). Bu bakımdan bitki içerisinde bulunan polifenolik yapılu maddeler ne kadar fazlaysa antioksidatif yönden o kadar etkilidir.

Literatür çalışmaları incelendiğinde bazı salvia türlerinin fenolik içerikleri belirlenmiştir. Örneğin *Salvia halophila* (Hedge) bitkisinin metanolik ekstraktın toplam fenolik içeriği  $6.66 \pm 0.29$  mg GAE/g kuru ekstrakt olarak gallik asit cinsinden belirlenmiştir (Aksoy ve ark., 2008). *Salvia officinalis* L. bitkisinin fenolik içeriği ise  $24.6 \pm 0.4$  mg GAE/g kuru ekstrakt olarak belirlenmiştir (Bernatoniene1 ve ark., 2011). Bir başka çalışmada *Salvia limbata* türünün toplam fenolik içeriği 167.1 mg GAE/g drog, *Salvia virgata* türünün toplam fenolik içeriği 10.2 mg GAE/g drog, *Salvia Candidissima* türünün toplam fenolik içeriği 87.1 mg GAE/g drog olarak bulunmuştur (Tosun ve ark., 2009). Yapılan çalışmalar sonucunda ise *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün toplam fenolik içeriği folin metoduna göre 347.5 mg GAE/g ekstre olarak bulunmuştur. Bu miktar *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*'ın literatürlerde verilen diğer *Salvia* türlerinden daha fazla miktarda fenolik madde içerdiği, dolayısıyla antioksidan kapasite bakımından daha kuvvetli etkiye sahip olduğunu gösterir.

#### 4.2.1.2.Fosfomolibden Metodu

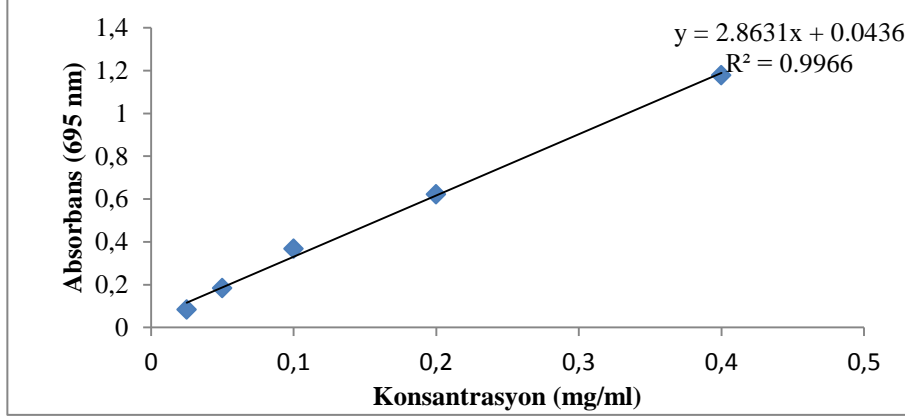
Numunenin toplam fenolik içeriği fosfomolibden metodu ile hem gallik asit hem askorbik asit standartları ile belirlenmiştir. Bu amaçla oluşturulan askorbik asit standart eğrisi Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Askorbik asit standart eğrisi

Bu eğriden elde edilen toplam fenolik içerik değeri 1 gram ekstre içindeki miligram askorbik asit eşdeğeri (mg AAE/g ekstre) biriminden verilmiştir.

Standart olarak gallik asit kullanıldığında ise 1 gram ekstre içindeki toplam fenolik madde miktarı miligram gallik asit eşdeğeri olarak verilmiştir. Bu amaçla oluşturulan gallik asit standart eğrisi Şekil 4.3.'te verilmiştir



Şekil 4. 3. Gallik asit standart eğrisi

Bu üç standart eğriden faydalanılarak hesaplanan toplam fenolik içerik Folin-Ciocalteu metoduna göre 347.5 mg GAE/g ekstre ve fosfomolibden metodunda 431.70 mg GAE/g ekstre olarak bulunmuştur. Ayrıca fosfomolibden metodunda askorbik asit standardı kullanıldığında toplam fenolik içerik 351.97 mg AAE/g ekstre olarak bulunmuştur. Elde edilen bu değerler Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4. 1. *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* 'nın toplam fenolik içeriğinin iki farklı metoda göre sonuçları

Toplam Fenolik İçeriği		
Folin-Ciocalteu	Fosfomolibden Metodu	
347.5 mg GAE/ gram ekstre	431.70 mg GAE/ gram ekstre	351.97 mg AAE/ g ekstre



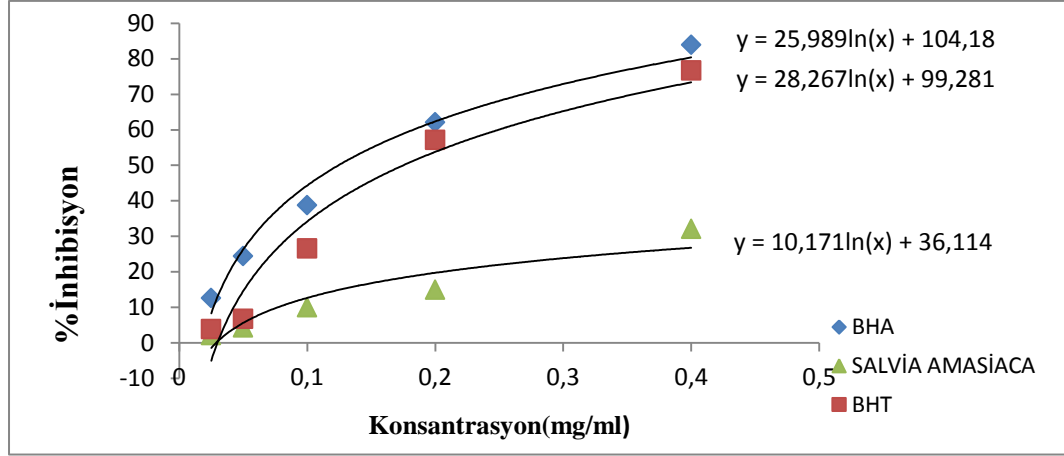
#### 4.2.2.DPPH Radikal Süpürme Etkisi Deney Sonuçları

Serbest radikal süpürme aktivite tayini için öncelikle numune ve sentetik antioksidanlar (BHA, BHT) için yüzde inhibisyon değerleri hesaplandı.

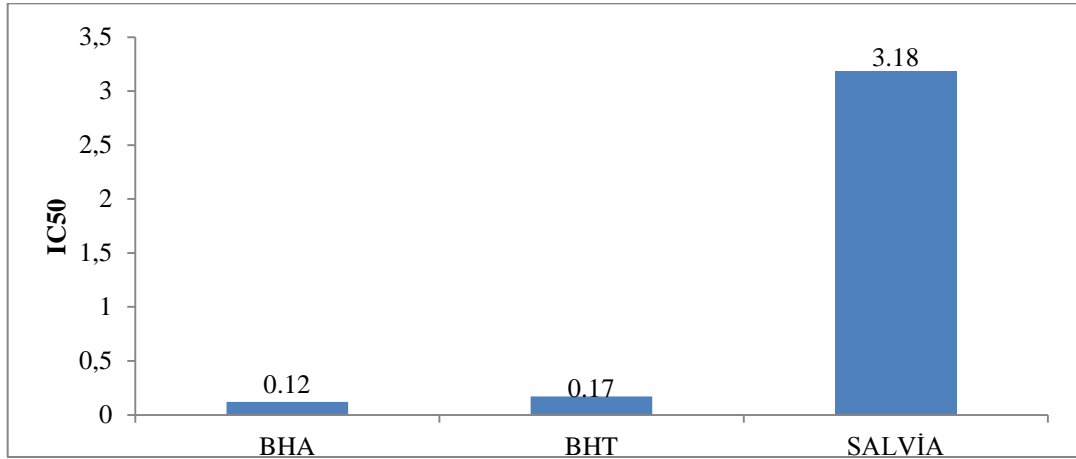
Çizelge 4.2. *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*'nın ve sentetik antioksidanların % inhibisyon değerlerinin karşılaştırılması

% İNHİBİSYON			
Konsantrasyon(mg/ml)	BHA	BHT	<i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i>
0.400	83.856	76.655	32.056
0.200	62.079	57.143	14.983
0.100	38.734	26.539	9.988
0.050	24.448	6.736	4.297
0.025	12.602	3.891	2.149

Yüzde inhibisyon değerinin büyüklüğü antioksidan etkinin kuvvetini ifade eder. Diğer bir deyişle yüzde inhibisyon değeri ne kadar büyükse antioksidan etki de o kadar kuvvetlidir. DPPH radikal süpürücü etkisinin bir diğer göstergesi de  $IC_{50}$  değeridir. Bu değer ne kadar küçükse antioksidan etki o kadar kuvvetlidir. Çünkü  $IC_{50}$  değeri belirli bir DPPH derişiminde mevcut DPPH'in yarısının süpürülmesi için gerekli olan antioksidan miktarı olarak tanımlanmaktadır. Antioksidan miktarına karşı % inhibisyon değerlerinin çizildiği grafikten elde edilen eğri denkleminde %50 konsantrasyon değeri baz alınarak hesaplanmıştır.(Brand-Williams ve ark., 1995). Numune ve sentetik antioksidanlar için bulunan  $IC_{50}$  değerleri Şekil 4.5. 'te verilmiştir.



Şekil 4. 4. Sentetik antioksidanlar ve numunenin radikal süpürücü etkisi

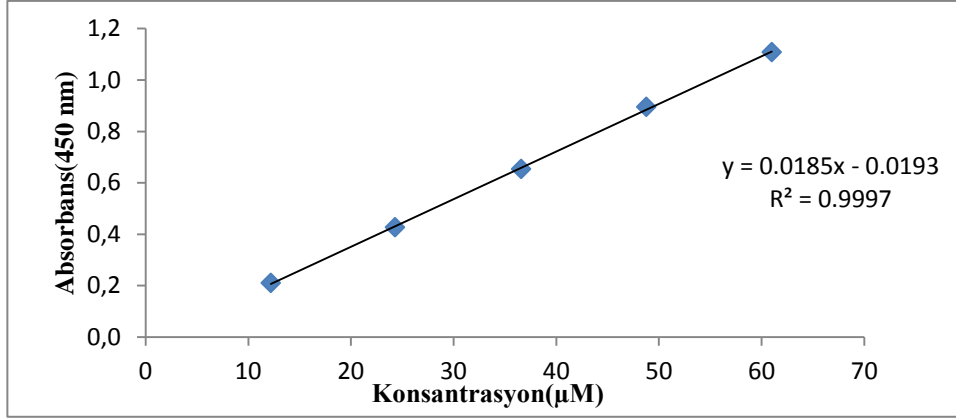


Şekil 4. 5. Sentetik antioksidanlar ve *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*'nın IC<sub>50</sub> değerleri

Çalışmada en kuvvetli antioksidan etki sırasıyla BHA, BHT ve numuneye aittir. Bu sonuçlar düşük IC<sub>50</sub> değerinin kuvvetli antioksidan etki gösterdiğini kanıtlar niteliktedir.

#### 4.2.3.CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini Denev Sonuçları

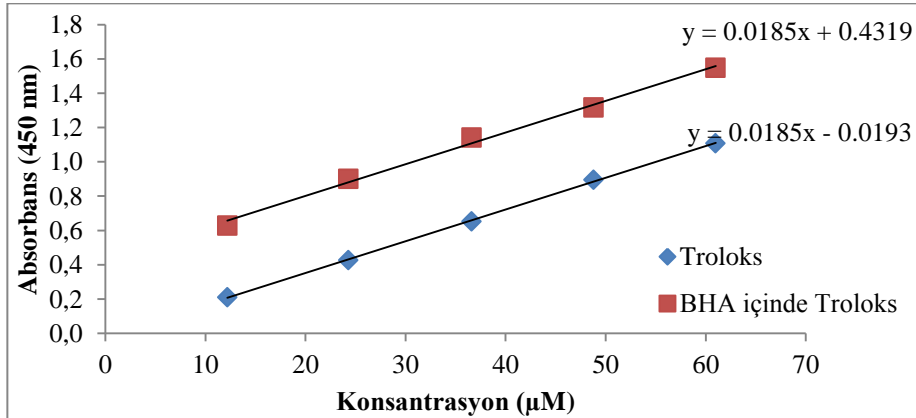
Bakır iyonu indirme aktivitesi için standart olarak troloks kullanıldı. Troloks'a ait absorbans değerleri ile elde edilen standart eğri Şekil 4.6.'da verilmiştir.



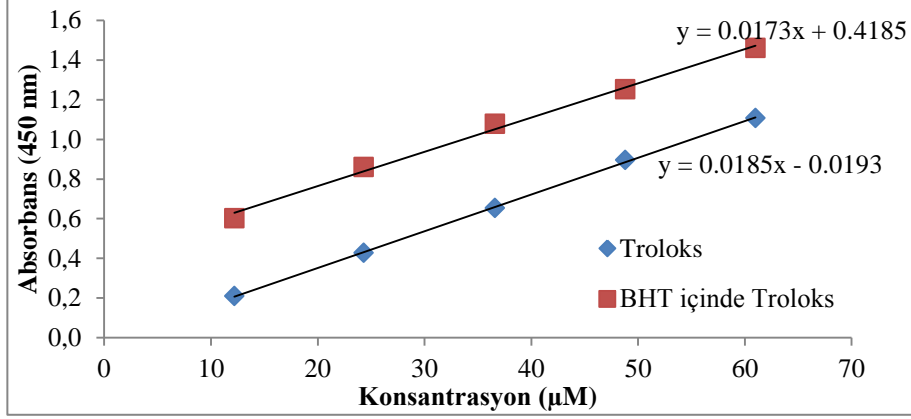
Şekil 4. 6. Troloks standart eğrisi

Burada yüksek absorbans değeri daha çok indirgemeyi dolayısıyla daha kuvvetli antioksidan kapasiteyi ifade eder. Bu amaçla numune yine sentetik antioksidanlar BHA ve BHT ile kıyaslandı ve en yüksek indirgeme gücünün BHA'ya ait olduğu görüldü.

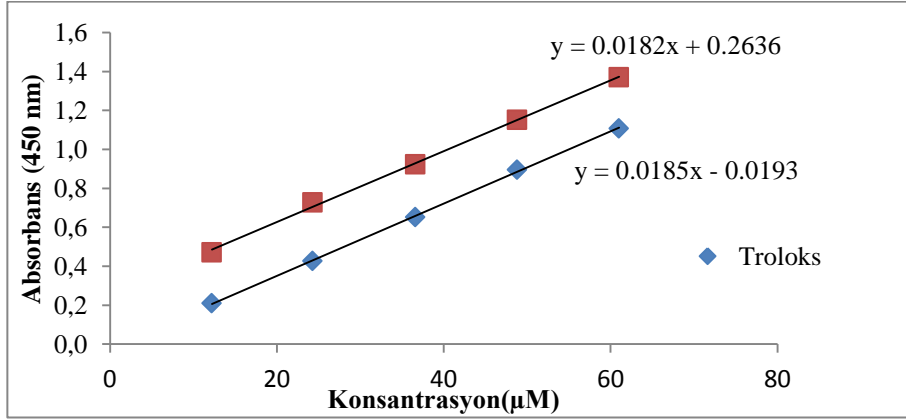
CUPRAC metodunda elde edilen absorbanslarla TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) değerleri hesaplandı. Bu işlemde  $\epsilon$  (molar absorplama katsayıları) değerleri troloksun ve örneklerin standart eğrilerinden saptandı. BHA içinde troloks, BHT içinde troloks ve numune içerisinde troloks grafikleri sırasıyla Şekil 4.7., Şekil 4.8., ve Şekil 4.9. da verilmiştir.



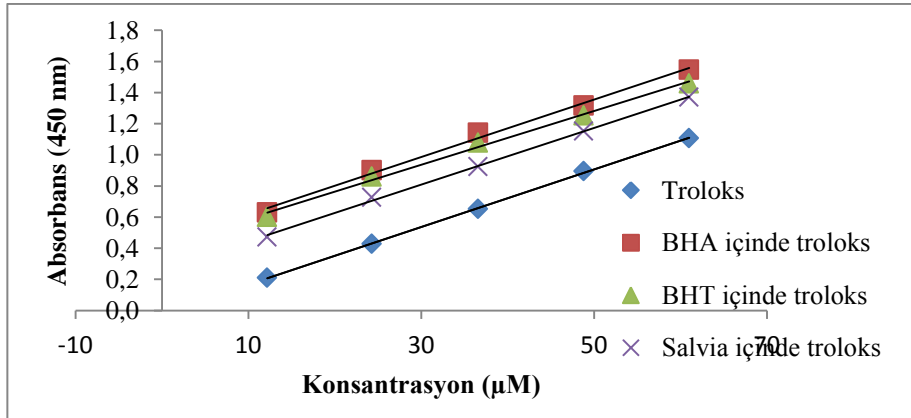
Şekil 4. 7. BHA içinde troloks standart eğrisi



Şekil 4. 8. BHT içinde troloks standart eğrisi



Şekil 4. 9. *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* içinde troloksun standart eğrisi



Şekil 4. 10. *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* ve sentetik antioksidanların antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması

Yüksek TEAC değeri yüksek antioksidan kapasiteyi ifade eder. Bulunan değerler Tablo 4.4'te verildi ve bu değerler en yüksek indirgeme gücünün BHA'ya ait olduğunu bir kez daha gösterdi.

Çizelge 4. 3. *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* ve sentetik antioksidanların TEAC değerleri

Numune	TEAC (mmol/g)
<b>BHA</b>	0.760
<b>BHT</b>	0.717
<i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i>	0.112

#### 4.2.4.β- Karoten- Lineolik Asit Emülsiyon Yöntemi Deney Sonuçları

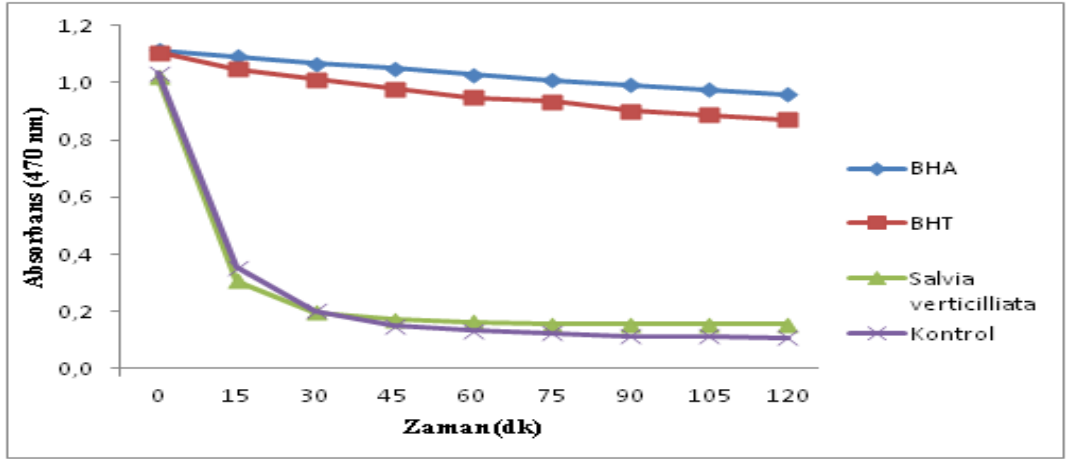
Çalışmada ölçülen zamana bağlı absorbans değerlerinden her bir zaman aralığında absorbans değişim oranları ve buna bağlı olarak inhibisyon oranları tespit edildi. Karışımlardaki renk açılmalarına göre hava ve ısı oksidasyonuna karşı antioksidan aktiviteleri tespit edildi. % inhibisyon değerleri ne kadar fazlaysa oksidasyonu engelleme aktivitesi o kadar fazladır. Yani kuvvetli antioksidandır. Bu deney sonunda antioksidatif kapasitenin en fazla sırasıyla BHA, BHT ve *S.verticillata* L. subsp. *amasiaca* 'ya ait olduğu görüldü.

Çizelge 4. 4. Standartların ve *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* 'nın 470 nm'deki absorbans değerleri

Zaman (dk)	BHA	BHT	<i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i>	Kontrol
0	1.115	1.107	1.022	1.034
15	1.092	1.047	0.308	0.354
30	1.069	1.012	0.198	0.204
45	1.052	0.979	0.172	0.152
60	1.029	0.949	0.163	0.134
75	1.009	0.936	0.155	0.124
90	0.992	0.903	0.155	0.116
105	0.978	0.888	0.155	0.115
120	0.959	0.872	0.155	0.108

Çizelge 4. 5. *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* ve sentetik antioksidanların absorbens değışim oranları ve % inhibisyon değeri

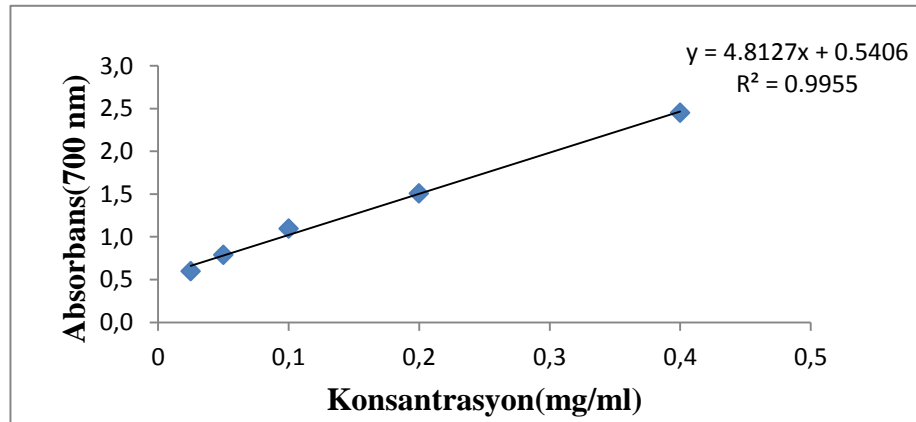
Tür	Absorbans değışim oranı (AO)	%İnhibisyon
<b>BHA</b>	0.001252	93.35
<b>BHT</b>	0.001988	89.43
<i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i>	0.015744	16.35



Şekil 4. 11. Örneklerin linoleik asit peroksidasyonlarının zamanla değışimi

#### 4.2.5.İndirgeme Gücü ( FRAP Metodu ) Deney Sonuçları

Sentetik antioksidanlar ve numunenin demir iyonu indirgeme kapasitesinin belirlenebilmesi için FRAP değeri hesaplandı. Bu amaçla standart olarak askorbik asit kullanıldı ve öncelikle askorbik asit standart eğrisi oluşturuldu (Şekil 4.11 ).



Şekil 4. 12. Askorbik asit standart eğrisi

Yönetmin esasına dayalı olarak açık sarı renkteki numune çözeltilerinin renklerin koyu mavi ve tonlarına dönüşmektedir. Bu renk dönüşümü spektrofotometrik olarak 700 nm'de absorbans ölçümü ile belirlenmiştir. Yüksek absorbans değeri yüksek miktarda antioksidan kapasiteyi ifade eder. Numune ve sentetik antioksidanların 700 nm'deki absorbans değerleri Çizelge 4.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4. 6. Numune ve sentetik antioksidanların 700 nm'deki absorbans değerleri

Konsantrasyon(mg/ml)	Askorbik Asit	BHA	BHT	<i>Salvia verticillata</i> L. subsp. <i>amasiaca</i>
0.4	2.450	2.612	2.270	2.313
0.2	1.505	1.468	1.516	1.387
0.1	1.094	0.978	0.984	0.911
0.05	0.788	0.648	0.738	0.627
0.025	0.596	0.452	0.533	0.468

Bu değerden sayısal olarak FRAP değerleri hesaplandı. Hesaplama aşağıdaki bağıntı kullanıldı ve oluşturulan askorbik asit standart eğrisinden, askorbik aside ait molar absorplama katsayısı hesaplandı.

$$A = \epsilon \cdot L \cdot C$$

A: Absorbans (en derişik çözeltilinin)

$\epsilon$  : Molar absorplama katsayısı

C: Konsantrasyon

Aynı yöntemle numune ve sentetik antioksidanların da molar absorplama katsayıları hesaplandı. Örneklerin molar absorplama katsayılarının askorbik aside bölünmesiyle elde edilen değer FRAP değeridir ve indirgeme güçlerinin kıyaslanmasında esas olarak alınmıştır.

$$\text{FRAP değeri} = \epsilon_{\text{örnek}} / \epsilon_{\text{askorbik asit}}$$

Çizelge 4. 7. *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* ve sentetik antioksidanların molar absorplama katsayıları ve FRAP değerleri

Örnek	Molar Absorplama katsayısı	FRAP Değeri
Askorbik asit	6.125	1.000
BHA	6.531	1.066
BHT	5.674	0.926
<i>Salvia verticillata</i>	5.783	0.944

Değerlerden de görüldüğü üzere en yüksek indirgeme kapasitesi BHA'ya aittir. Ancak diğer bir sentetik antioksidan olan BHT'nin indirgeme gücü, *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünden daha düşük değerde kalmıştır. Bu yöntemde numune BHT'den daha kuvvetli antioksidan etki göstermiştir.

#### 4.3. Antimikrobiyal Aktivite Analiz Sonuçları

Antimikrobiyal aktivite sonuçları *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*'nın her bir mikroorganizmaya karşı oluşturduğu inhibisyon zonlarının çapları mm cinsinden belirlendi. Testlerde kullanılan standart antibiyotiğin (Amikasin 30 µg) mikroorganizmalara karşı oluşturduğu inhibisyon zon çaplarının uzunlukları da ayrıca belirlendi ve Çizelge 4.10'de verildi. Çalışmada DMSO'nun inhibisyon zonu oluşturmadığı tespit edildi.

Çizelge 4. 8. Amikasinin kullanılan mikroorganizmalara karşı etkisi

Mikroorganizma	Zone Çapı ( mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	23
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	28
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	21
<i>Candida albicans</i> (ATCC 140539)	0



Çizelge 4. 9. CLSI kriterlerine göre mikroorganizmaların Amikasin için zon çapları

Mikroorganizma	Dirençli(mm)	OrtaDerecede Duyarlı(mm)	Duyarlı(mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	≤14	15-16	≥17
<i>Enterococcus faecalis</i>	≤14	15-16	≥17
<i>Escherichia coli</i>	≤14	15-16	≥17
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≤14	15-16	≥17
<i>Candida albicans</i>	-	-	-

Yapılan analizde numunenin bakterilere karşı oluşturduğu inhibisyon zonları ve bu zonların mm cimsinden uzunlukları ise Çizelge 4.10 'de verilmiştir.

Çizelge 4. 10. Numunenin mikroorganizmalara karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm)

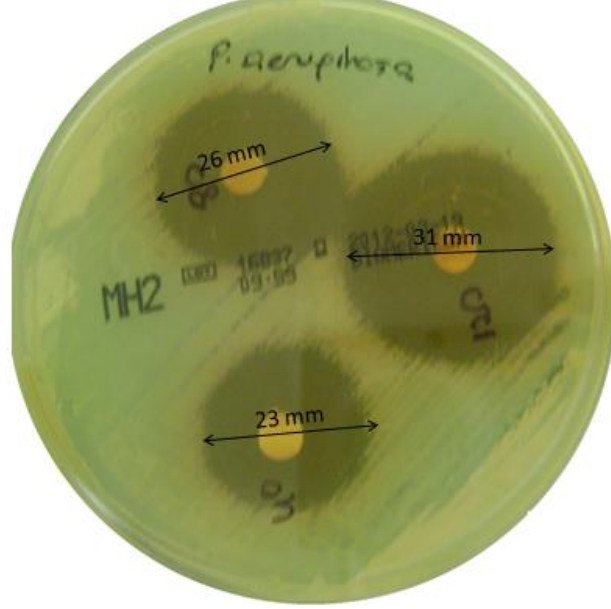
<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Candida albicans</i>	
Disk İçeriği (µl)	Zone Çapı (mm)	Disk İçeriği (µl)	Zone Çapı (mm)	Disk İçeriği (µl)	Zone Çapı (mm)	Disk İçeriği (µl)	Zone Çapı (mm)	Disk İçeriği (µl)	Zone Çapı (mm)
40	24.7±1.7	40	21.2±0.9	40	-	40	23.1±1.1	40	-
80	30.4±1.5	80	20.6±1.3	80	-	80	26.4±0.9	80	-
120	32.6±1.9	120	23.6±0.9	120	-	120	31.5±2.6	120	-

- : zon gözlenmedi

Çizelgede de görüldüğü gibi *Salvia verticillata* L. susbp. *amasiaca*'nın her bakteriye karşı farklı derecede etki ettiği görülmektedir. Ayrıca disklerle emdirilen numune miktarı arttıkça oluşan inhibisyon zonunun çapı da artmıştır. Numune miktarı ile inhibisyon zon çapının doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir. Ancak *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün *Escherichia coli* ve *Candida albicans*'a karşı etkili olmadığı saptanmıştır.

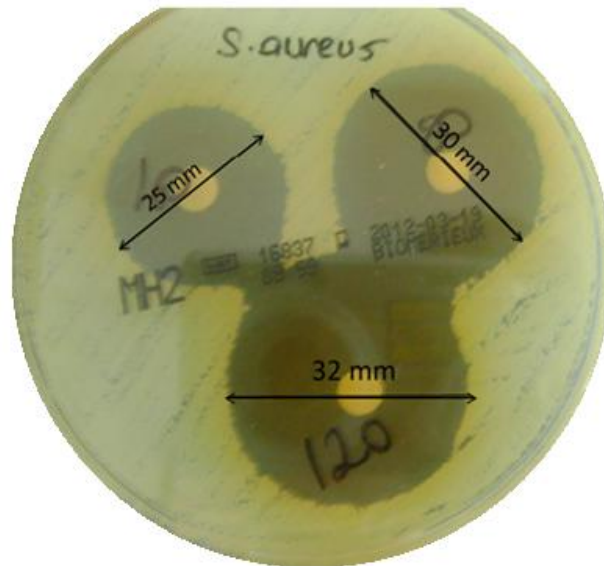
Çalışılan mikroorganizmalar üzerinde numune etkisi Şekil 4.12., Şekil 4.13., Şekil 4.14., Şekil 4.15., Şekil 4.16.'da verilmiştir.

Şekil 4. 13. EMB besiyerinde *P.aeruginosa*'ya karşı *Salvia verticillata* L. susbp. *amasiaca* 'nın antimikrobiyal etkisi.



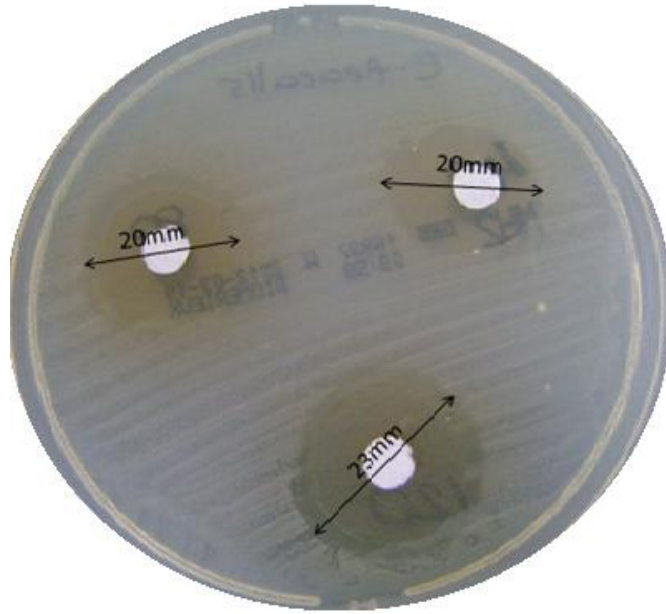
Yukarıdaki şekilde görüldüğü gibi numune *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 4 mg numune yüklemde 23 mm, 8 mg numune yüklemde 26.2 mm ve 12 mg numune yüklemde 31 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Şekil 4. 14. Kanlı Agarda *S. aureus*'a karşı *Salvia verticillata* L. susbp. *amasiaca* 'nın antimikrobiyal etkisi.



*Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün en yüksek etkinliği *Staphylococcus aureus*'a karşı gösterdiği tespit edilmiştir. Oluşan inhibisyon zonları 4 mg, 8 mg, 12 mg numune yüklemesi için sırasıyla 25 mm, 30 mm ve 32 mm olarak bulunmuştur.

Şekil 4. 15. Kanlı Agarda *E. faecalis*'e karşı *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*'nın antimikrobiyal etkisi.



*Enterococcus faecalis*'e karşı 4 mg ve 8 mg numune miktarında zon çapının 20 mm olduğu saptanmıştır. Bitki ekstraktının 12 mg miktarına karşılık zon çapının 23 mm olduğu tespit edilmiştir.

Şekil 4. 16. EMB besiyerinde *E. coli*'ye karşı *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*'nın etkisi.



Şekil 4. 17. SDA besiyerinde *Candida albicans*'a karşı *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*'nın etkisi.

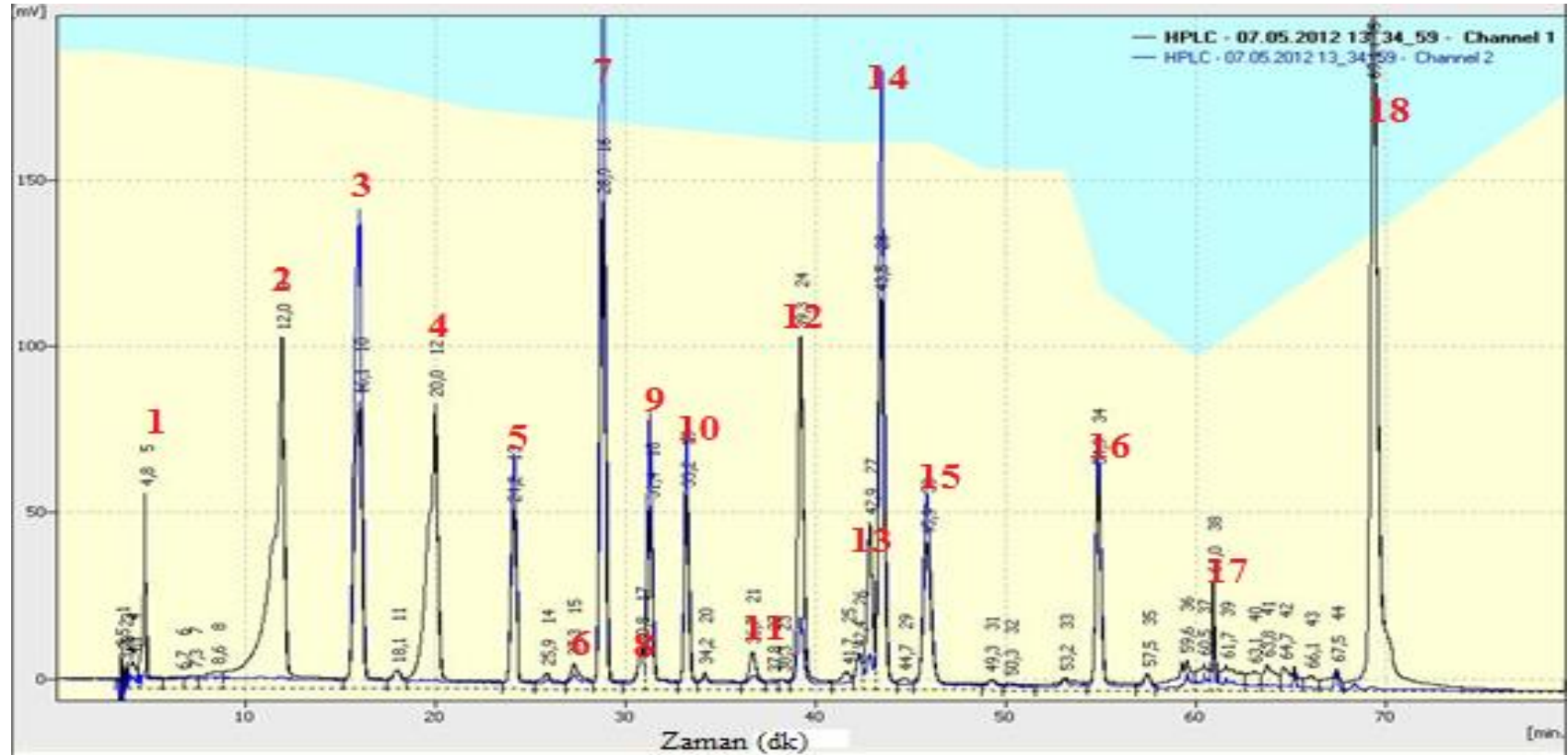


Numune çalışılan derişim ve miktarlarda *Escherichia coli* ve *Candida albicans*'a karşı hiçbir yüklemde etki göstermemiştir.

#### 4.4. *Salvia verticillata L. subsp. amasiaca* Türünün Fenolik İçeriğine Ait Bulgular

Numunenin fenolik içeriğın belirlenmesi için standart fenolik maddeler ile oluşturulan kromatogram Şekil 4.17. 'te verilmiştir.

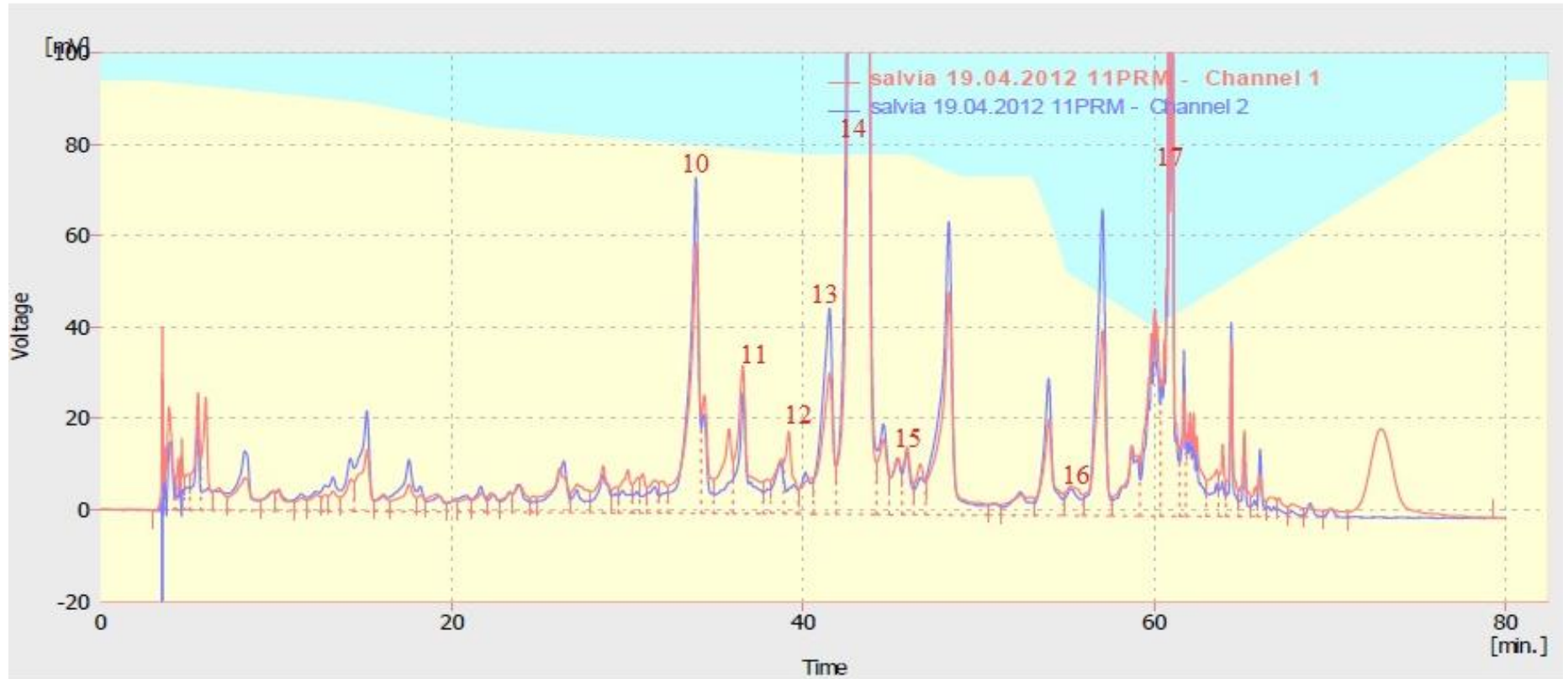
Şekil 4. 18. Standart fenolik maddelerden elde edilen HPLC kromatogramı(1.Gallik asit, 2. kateşin, 3. kafeik asit, 4.epikateşin, 5.p-kumarik asit I, 6. P-kumarik asit II, 7.ferulik asit, 8. Viteksin, 9. Rutin, 10. ferulik asit, 11. Hesperidin I, 12. Naringinin, 13.Rosmanirik asit, 14 . Hesperidin II, 15. Morin, 16. Quercetin I, 17. Quercetin II, 18. karvakrol)



Standart fenolik maddelerden elde edilen bu kromatogramdan yararlanılarak maddelerin alıkonma zamanlarına göre numunenin içerdiği fenolik maddeler belirlenmiştir. Bu amaçla *Salvia verticillata* L. subsp. *amaciaca* türüne ait kromatogram ait HPLC kromatogramı Şekil 4.18.'de verilmiştir.

Şekil 4. 19. *Salvia verticillata* L. subsp. *amaciaca* türüne ait HPLC kromatogramı

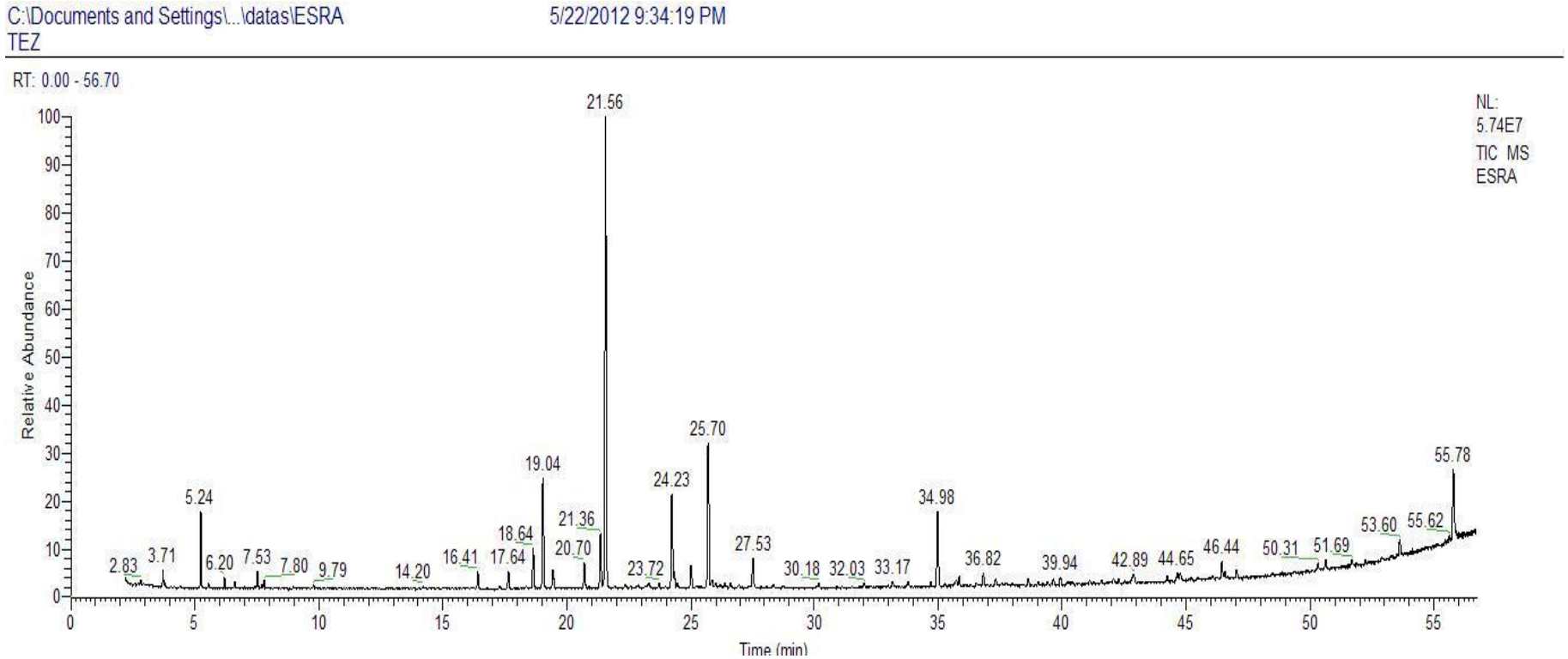
(10. Ferulik asit, 11. Hesperidin I, 12. Naringinin, 13. Rosmarinik 14. Hesperidin II, 15. Morin, 16. Quercetin I, 17. Quercetin II).



#### 4.5. *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* Türünün Uçucu Yağ Bileşimine Ait Bulgular

Numunenin uçucu yağ bileşimi GS-MS ile belirlenmiş ve bu amaçla elde edilen kromatogram Şekil 4.20'da verilmiştir. Bu kromatogramdan alıkonma zamanlarına göre elde edilen veriler ile belirlenen uçucu yağ bileşenlerine ait sonuçlar ise Çizelge 4.11'de verilmiştir:

Şekil 4. 20. Numunenin uçucu yağ bileşimini gösteren GS-MS kromatogramı



*Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün GS-MS analizi sonunda 31 farklı uçucu yağ bileşenine sahip olduğu ve ana bileşenlerinin trans-caryophyllene (% 35.07), germacrene-d (% 10.98) ve caryophyllene oxide (% 5.81) olduğu tespit edildi.

Çizelge 4. 11. *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün uçucu yağ bileşimi

Alıkonma Süresi (dk)	Alıkonma indeksi	% Alan	Bileşen
3.71	1033	0.54	delta-3-carene
5.24	1117	3.38	beta-pinene
5.55	1131	0.08	alpha-phellandrene
6.2	1159	0.31	sabinene
6.61	1174	0.11	alpha-myrcene
7.53	1205	0.68	dl-limonene
7.8	1216	0.18	gama-terpinene
16.41	1460	0.89	alpha-copaene
17.64	1490	0.98	alpha-cubebene
18.64	1517	2.55	beta-bourbone
19.04	1528	7.89	alpha-gurjunene
20.7	1572	1.59	alpha-ylangene
21.36	1588	4.74	germacrene-d
21.56	1593	35.07	trans-caryophyllene
23.72	1652	0.03	junipene
24.23	1665	7.07	alpha-humulene
24.33	1668	0.86	epi-bicyclosesquiphellanderene
25.02	1686	1.46	alpha-amorphene
25.7	1703	10.98	germacrene-d
25.87	1708	0.14	aromadendrene
26.61	1730	0.09	bicyclogermacrene
27.53	1756	1.75	delta-cadinene
30.18	1830	0.03	cis-calamenene
32.03	1883	0.06	cubenol
33.17	1917	0.1	butyl hydroxy toluene
34.98	1972	5.81	caryophyllene oxide
35.86	1997	0.48	ethylchrysanthemumate
36.82	2029	0.58	huuladenone
42.89	2246	0.46	beta-cadinol
46.44	2350	1.06	spathulenol
55.78	2693	5.4	myristic acid



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan analizler sonunda adaçayı familyasının bir üyesi olan *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün antioksidan, antimikrobiyal kapasitesi ile fenolik madde kompozisyonu ve uçucu yağ bileşenleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda numunenin antioksidan ve antimikrobiyal etkisinin azımsanamayacak ölçüde kuvvetli olduğu, fenolik içerik ve uçucu yağ bakımından ise zengin bir bileşen içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Numunedeki toplam fenolik madde miktarını belirlemeye yönelik olan Folin metoduna göre *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün içerdiği toplam fenolik madde miktarı 347.5 mg GAE/g ekstre olup bu miktar çoğu adaçayı türünün fenolik içeriğinden daha yüksektir. Aynı amaçla yapılan fosfomolibden metoduna göre toplam fenolik içerik 351.94 mg AAE/g ekstre ve 431.7 mg GAE/g ekstre olarak bulunmuştur.

Antioksidan etkiyi belirleme amacıyla yapılan analizlerde ise DPPH radikal süpürme metoduna göre numunenin IC<sub>50</sub> değeri 3.18 olarak bulunmuştur. Bu analizde % inhibisyon değerinin yüksek, IC<sub>50</sub> değerinin düşük olması yüksek antioksidan kapasiteyi ifade eder. Bu değerlere göre en yüksek antioksidan etki değerleri BHA>BHT> *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* olarak belirlenmiştir ve dolayısıyla en yüksek indirgeme kapasitesi sırasıyla BHA, BHT ve numuneye ait olarak bulunmuştur. BHA ve BHT sentetik fenolik madde olması sebebiyle yüksek antioksidatif etki göstermesi son derece doğaldır. Ancak bu sıralama FRAP değerlerini belirlemek için yapılan analizde farklılık göstermiştir. En yüksek indirgeme kapasitesini yine BHA göstermiştir fakat numunenin demir iyonu indirgeme kapasitesi BHT'den yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla FRAP değerleri sırasıyla BHA>*Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*>BHT şeklinde bulunmuştur. CUPRAC metodunda elde edilen yüksek TEAC değeri yüksek indirgemeyi ifade eder. Bakır iyonu indirgeme kapasitesi sentetik antioksidanlarda numuneden daha yüksek değerdedir. Bu değerler BHA, BHT ve *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* için sırasıyla 0.760; 0.717; 0.112 olarak bulunmuştur. Dolayısıyla bakır iyonu indirgeme kapasitesi BHA>BHT>*Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* şeklindedir. β-karoten Linoleik asit emülsiyon sisteminde elde edilen sonuçlar analizlerin sonuçları ile uygunluk göstermiştir ve % inhibisyon değeri BHA>BHT> *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* olarak bulunmuştur.

Bu veriler göz önüne alındığında *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün serbest radikallerin yol açtığı hasarlı hücre oluşumunu önleyebileceği ve dolayısıyla insan sağlığının korunmasında kansorejen etkisi olan sentetik antioksidanlar yerine bir alternatif olarak kullanılabilmesi belirlenmiştir.

*Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*'ın antimikrobiyal aktivite analizi disk difüzyon metodu ile çalışılmış ve dört bakteri bir maya türüne karşı etkisi test edilmiştir. Sonuçlar dikkate alındığında çalışılan mikroorganizmalardan *E. fecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*'a karşı kayda değer bir etki göstermiş iken *C. albicans* ve *E. Coli*'ye karşı etkili olmadığı görülmüştür. Analiz sonuçları değerlendirildiğinde *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca*'ın *E. fecalis*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ın yol açtığı hastalıkların tedavisinde kullanılacak ilaçların geliştirilmesinde bir alternatif olarak değerlendirilebileceği sonucuna ulaşılabilir.

Yapılan fenolik madde analizinde numunenin yüksek miktarda rosmarinik asit içerdiği de belirlenmiştir. Literatür çalışmaları incelendiğinde numunenin içerdiği rosmarinik asit miktarı ile antioksidan kapasite arasında kuvvetli bir korelasyon saptanmıştır (Tepe ve ark., 2005). Bu bakımdan *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün antioksidan etkisinin kuvvetli olması yapılan literatür çalışmaları ile de bire bir örtüşmektedir.

*Salvia* cinsi uçucu yağ içeriği bakımından zengin bir türdür. Bu nedenle bu türün kozmetik, parfümeri alanlarında ve gıda endüstrisinde kullanımı yaygındır. Çalışmamızda *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün GS-MS analizi sonunda 31 farklı uçucu yağ bileşenine sahip olduğu belirlenmiş ve bu nedenle bahsedilen alanlarda kullanımı yaygın olabilecek türlerden birisi olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Numunenin uçucu yağ analizi sonunda elde edilen verilere göre ana bileşenlerinin trans-caryophyllene (% 35.07), germacrene-d (% 10.98) ve caryophyllene oxide (% 5.81) olduğu tespit edildi.

Antioksidan ve antimikrobiyal etkisi birçok literatür çalışması ile desteklenmiş olan *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türünün farmakoloji alanında değerlendirilebileceği sonucuna ulaşılabilir. Ayrıca uçucu yağ bakımından zengin olan *Salvia verticillata* L. subsp. *amasiaca* türü kozmetik alanında da kullanılabilmesinden dolayı ekonomik bakımdan da getirisi olabilecek doğal bir türdür.

## KAYNAKLAR

- Akın, A., Ommaty, M., R., 1998. Pseudomonas'larda Antibakteriyellere Dirençliliğin R Plazmidleri ile İlişkisi. **Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi**, 18(1).
- Aksoy, A., Albayrak, S., Sağdıç, O., 2008. Türkiye’de Yetişen Endemik *Salvia Halophila*’nın Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. **Türkiye 10. Gıda Kongresi**; 21-23 Mayıs, Erzurum.
- Apak, R., Bektaşoğlu, B., Özyürek, M., Güçlü, K., 2008. Hydroxyl Radical Scavenging Assay Of Phenolics And Flavonoids With A Modified Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC) Method Using Catalase For Hydrogen Peroxide Degradation. **Analytica Chimica Acta** 616 , 196–206
- Apak, R., Çelik, S.E., Özyürek, M., Güçlü, K., 2007. CUPRAC Total Antioxidant Capacity Assay Of Lipophilic Antioxidants In Combination With Hydrophilic Antioxidants Using The Macrocyclic Oligosaccharide Methyl B-Cyclodextrin As The Solubility Enhancer. **Reactive & Functional Polymers** 67 ,1548–1560.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S.E., Bektaşoğlu, B., Berker, K.I., Özyurt, D., 2007. Comparative Evaluation Of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied To Phenolic Compounds With The Cuprac Assay. **Molecules**, 12, 1496-1547.
- Aşkun, T., Başı, K., H., C., Tümen, G., Kürkçüoğlu, M., 2010. Characterization of essential oils of some *Salvia* species and their antimycobacterial activities. **Turk J Biol** 34, 89-95
- Atalay, İ., 1994. **Türkiye Vejetasyon Coğrafyası**. Ege Üniv. Basımevi. Bornova, İzmir.
- Bernatoniene1, J., Kaledaite1,R., Majiene1, D., Dvorackova, K., Masteikova, R., Muselik, J., Kalveniene1 ,Z., Liobikas, J., Savickas, A., 2011. Investigation of antiradical activity of *Salvia officinalis* L., *Urtica dioica* L., and *Thymus vulgaris* L. extracts as potential candidates for a complex therapeutic preparation. **Journal of Medicinal Plants Research** Vol. 5(25), pp. 6090-6096.
- Bağcı, E., Koçak, A., 2007. İki *Salvia* L. (*S. ceratophylla* L., *S. aethiopsis* L.) Türü Uçucu Yağlarının Analizi ve Değerlendirilmesi Üzerine Bir Çalışma. **Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi**, 19 (4), 435-442.
- Bağcı, E., Koçak, A., 2008. *Salvia palaestina* Bentham ve *S. tomentosa* Miller Türlerinin Uçucu Yağ Kompozisyonu, Kemotaksonomik Bir Yaklaşım. **Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi**, 20 (1), 35-41.
- Bayar, S., HOCAOĞLU, Z., DIĞRAK, M., 2008. Boğaz Kültürlerinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suslarının Bazı Fizyolojik, Biyokimyasal Özellikleri ve Antibiyotik Duyarlılıklarının İncelenmesi. **KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi**, 11(1).
- Baydar, H., 2005, Susamda (*Sesamum indicum* L.) Verim, Yağ, Oleik Ve Linoleik Tipi Hatların Tarımsal Ve Teknolojik Özellikleri, **Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi** 18:2, 267-2722, Antalya.
- Brand-Williams, W., Cavalier, M. E. and Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, 28(1): 25-30.
- Bucak, S., 2011. **Hatay İlinde Üretilen Salgı, Okaliptüs, Çiçek Ve Maydanoz Ballarının Antioksidan, Antimikrobiyal, Yağ Asidi Ve Kalıntı Analizler**. Yüksek Lisans Tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi 9 s, Hatay.
- Çakır, M. Ü., Bayrak, A., 2004. Ekstraksiyon ve Presyon Yöntemleriyle Elde Edilen Ayçiçek ve Mısırozü Yağlarının Tokoferol ve Tokotrienol İçeriklerinin HPLC ile Tayini. **Gıda**, 29 (5) : 329-334.

- Çelik, E., Çelik, Y., G., 2007. Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri. **Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi**, Cilt: 05, Sayı: 2, 1-6 s,
- Çiriğ, N., Seçmen, Ö., 1990. *Salvia kronenburgii* Rec. Fil Tür Üzerinde Morfolojik Taksonomik ve Ekolojik Çalışmalar. **X. Ulusal Biyoloji Kongresi**, 18-20 Temmuz, Erzurum.
- Çolakoğlu, E., Kıralan, M., Bayrak, A., 2006. Uçucu Yağ Nedir, Nasıl Üretilir ve Türkiye'deki Durumuna Genel Bir Bakış. **Türkiye 9. Gıda Kongresi**; 24-26 Mayıs 2006, Ankara.
- Çoban, E., Ö., Patır, B., 2010. Antioksidan Etkili Bazı Bitki ve Baharatların Gıdalarda Kullanımı. **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, Cilt: 5, No: 2, (7-19)
- Diğrak, M., Aslan, Ç., Halipçi, H., N., 2011. Bazı Meyve Sularının Antibiyotiklerle Sinerjistik Etkileri. **Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi**, 1 (1), 17-27.
- Flamini G., Cioni P.L., Morelli I., Bader A., 2007. Essential oils of the aerial parts of three *Salvia* species from Jordan: *Salvia lanigera*, *S. spinosa* and *S. Syriaca*, **Food Chemistry**, 732-735.
- Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları**, 2000. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını. Genişletilmiş 2. Baskı, 17. Bölüm, 522 s. Ankara.
- Gökpinar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal antioksidanlar, **E.Ü. Su Ürünleri Dergisi**, 23, 85-89
- Gölcü, A., Nalbantbaşı, Z., 2010, Kahramanmaraş Yöresine Ait Sıfırlı Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri, **KSÜ Doğa Bil. Dergisi**, 12(2).
- Gören, A. C., Kılıç T., Dirmenci, T., Bilsel, G., 2005. Chemotaxonomic evaluation of Turkish species of *Salvia*: Fatty acid compositions of seed oils, **Biochemical Systematics and Ecology**, 160-164.
- [http://tr.wikipedia.org/wiki/Candida\\_albicans](http://tr.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans)
- <http://tr.wikipedia.org/wiki/E.coli>
- [http://tr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas\\_aeruginosa](http://tr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa)
- Ikawa, M., Schaper, T. D., Dollord, C. A. and Sosner, J. J., 2003. Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51(7): 1811-1815.
- İpek, A., Gürbüz, B., 2010. Türkiye Florasında Bulunan *Salvia* Türleri ve Tehlike Durumları, **Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi**, 19 (1-2): 30-35.
- Kamatou, G.P.P., Viljoen, A.M., Steenkamp, P., 2009. Antioxidant, antiinflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species, **Food Chemistry**, 684-688.
- Karadağ, A., Özçelik, B., Saner, S., 2009. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. **Food Analytic Methods**, 2:41-60.
- Kelen, M., Tepe, B., 2007. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. **Bioresource Technology**, 4096-4104.
- Khodaghali, F., Asadi, S., Ahmadiani, A., Esmaeili, M.A., Sonboli, A., Ansari, N., 2010. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: A comparative study. **Food and Chemical Toxicology**, 48, 1341-1349.
- Kılıç, T., Dirmenci, T., Gören, A.C., 2007. Fatty Acid Composition Of Seeds Of Some Species Of *Nepeta* L., **Natural Product Research**, 21:5, 465-468.
- Kılınç, K., Kılınç, A., 2002. Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri, **Hacettepe Tıp Dergisi**, 33:2, 110-118. Ankara

- Kırbağ, S., Zengin, F., 2006. Elazığ Yöresindeki Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi** 16(2): 77-80,2006.
- Kıvrak, İ., 2006. *Salvia Potentillifolia* Boiss & Heldr. Ex Bentham Bitkisinin Uçucu Bileşenlerinin Analizi Ve Antioksidatif Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, 6 s, Muğla.
- Koca, N., Karadeniz, F., 2005. Gıdalardaki Doğal Antioksidan Bileşikler. **Gıda**, 30(4) 229-236.
- Kokkini, S., Karousou, R., Vokou D., 1998. Distribution and essential oils of *Salvia pomifera* L. subsp. *pomifera* (Labiatae) on the island of Crete (S Greece). **Biochemical Systematics and Ecology**, 889-897.
- Kotan, R., Kordali, Ş., Çakır A., Kesdek M., Kaya Y., Kılıç H., 2007. Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC. ex Benth., **Biochemical Systematics and Ecology**, 360-368.
- Kumar, R. M.N.V., Ratnam, V. D., Ankola D.D., Bhardwaj V., Sahana D. K., 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, 113, 189–207.
- Lu, Y., Foo, Y.L., 2001, Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*), **Food Chemistry**, 75, 197-202.
- Matkowski, A., Zielin'ska, S., Oszmian'ski J., Lamer-Zarawska E., 2008, Antioxidant activity of extracts from leaves and roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge, *S. przewalskii* Maxim and *S. verticillata* L. **Bioresource Technology**, 7892–7896.
- Nizamlioğlu, N. M., Nas, S., 2010. Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, Cilt:5, No: 1, (20-35)
- Nostro, A., Germano M. P., D'angelo, V., Marino, A., Cannatelli, M. A., 2000. Extraction Methods and Bioautography for Evaluation of Medicinal Plant Antimicrobial Activity. **Lett. Appl. Microbiol**, 30 (5), 79-84.
- Özcan, B., Yılmaz, M., Çalışkan, M., 2010. Antimicrobial and antioxidant activities of various extracts of *Verbascum antiochium* Boiss. (Scrophulariaceae). **Journal of Medicinal Food**, cilt 13, sayı 5: 1147-1152.
- Özer, Z., 2010. *Sideritis* L. (*Lamiaceae*) Türlerinden İzole Edilen Siderol Bileşiği Üzerine Deneysel Ve Hesapsal Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi , Balıkesir Üniversitesi, 11 s., Balıkesir.
- Özkan, O., Aydın, H., Bağcıgil, F. A., 2009. *Salvia verticillata* ve *Phlomis pungens*'in in vitro Antibakteriyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, 15 (4): 587-590.
- Öztürk, M., Tel, G., Duru, E. M., Harmandar, M, Topcu, G., 2010. Chemical composition of the essential oil and hexane extract of *Salvia chionantha* and their antioxidant and anticholinesterase activities, **Food and Chemical Toxicology** 48, 3189–3193.
- Pitarokili, D., Tzakou, O., Loukis, A., 2006. Essential oil composition of *Salvia verticillata*, *S. verbenaca*, *S. glutinosa* and *S. Candidissima* growing wild in Greece, **Flavour And Fragrance Journal**, 21: 670–673.
- Prieto, P.M., Pineda and M. Aguilar., (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, 269, 2, 337-341.

Saleem, M., 2000. Chemical and biological screening of some relatives of *Lamiaceae* (*Labiatae*) family and *marina alga Codium iyengarii*. **P.H.D. Thesis University of Karachi, Karachi.**

Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar., <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf>

Şarer, E., 1998. *Salvia yosgadensis Freyn. et Bornm.* Uçucu Yağı Üzerinde Kimyasal Araştırmalar, **Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi**. 18, 1.

Taşbakan, M., I., Pullukçu, H., Yamazhan T., Arda, B., Ulusoy, S., 2004. Toplum Kökenli Üriner Sistem İnfeksiyonlarından Soyutlanan *Escherichia Coli* Suşlarına Fosfomisin İn-Vitro Etkinliğinin Diğer Antibiyotiklerle Karşılaştırılması. **Ankem Dergisi**. 18(4): 216-219.

Teissedre, P.L., Landrault, N., 2000. Wine phenolics: contribution to dietary intake and bioviability. **Food Research International**, 33, 461–467.

Tekeli, Y., 2008, **Konya Bölgesindeki Bazı Centaurea Türlerinin Bazı Kimyasal Ve Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi**, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, 3 s, Konya.

Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M., 2003, Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*), **Food Chemistry**, 333–340.

Tepe, B., Eminağaoğlu, Ö., Akpulat, H.A., Aydın, E., 2005. Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata* L. subsp. *verticillata* and *S. verticillata* L. subsp. *amasiaca* (*Freyn & Bornm.*) *Bornm.*, **Food Chemistry** 100, 985–989.

Tepe, B., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., 2003. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*), **Food Chemistry**, 333–340.

Tosun, M., Ercişli S., Şengül, M., Özer, H., Polat, T., Öztürk, E., 2009. Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of Eight *Salvia* Species from Turkey. **Biological Research** 42: 175-181

Turhan, S., Üstün, N., Ş., 2006. **Doğal Antioksidanlar ve Gıdalarda Kullanımları**. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

Weng, X.C., Wang W., 2000. Antioxidant activity of compounds isolated from *Salvia plebeian*, **Food Chemistry**, 489-493.

[www.mikrobiyoloji.org](http://www.mikrobiyoloji.org)

Yeşilyurt, V., Halfon, B., Öztürk, B., Topçu, G., 2007. Antioxidant potential and phenolic constituents of *Salvia cedronella*, **Food chemistry**, 108 (2008) 31–39.

Yumrutaş, Ö., 2007. *Salvia verticillata* (L. subsp. *amasiaca* ve L. subsp. *verticillata*) ve *S. euphratica* (var. *euphratica* ve var. *leiocalycina*)’dan Elde Edilen Özütlelerin ve Uçucu Yağların Antioksidan Aktivitelerinin Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, 6 s, Sivas.

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bana yol gösteren, maddi ve manevi anlamda destek olan danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Yener TEKELİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca numune temininde yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr Yelda GÜZEL'e, Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Durmuş Alpaslan KAYA'ya, antimikrobiyal analizlerim sırasında Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarını kullanmamı sağlayan ve bu analizler sırasında bana yardımcı olan hocam Doç. Dr. Nizami DURAN'a, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarıyla çalışmama katkıda bulunan hocam Arş. Gör. Hatice DANAHALILOĞLU'na teşekkür ederim.

Tüm okul hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden hiç esirgemeyip, her aşamada yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Esra Karpuz, 1987 yılında İskenderun'da doğdu. İlk, orta ve lise öğretimini İskenderun'da tamamladı. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü programına 2006 yılında yerleşti. Bu bölümden 2010 yılında Kimyager ünvanı ile mezun oldu. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans programına yerleşti. Halen bu programda eğitime devam etmektedir.