

**T.C.  
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Alchemilla* L. (ROSACEAE) CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN FENOLİK  
BİLEŞİKLERİNİN ANTIOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**YEKTA TOPAL**

**(Enstitü No:.....)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 20 Haziran 2013  
Tezin Savunulduğu Tarih : 28 Haziran 2013**

**Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Bülent KAYA (B.Ü.)  
Diğer Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ (B.Ü.)  
Yrd. Doç. Dr. Semih YAŞAR (B.Ü.)**

**HAZİRAN-2013**

Yrd. Doç. Dr. Bülent KAYA danışmanlığında, Yekta TOPAL'ın hazırladığı "ALCHEMILLA L. (ROSACEAE) CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI" konulu bu çalışma 28 / 06 / 2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: **Yrd. Doç. Dr. Bülent KAYA (B.Ü.)**

Üye: **Prof. Dr. Mehmet ÇİFTÇİ (B.Ü.)**

Üye: **Yrd. Doç. Dr. Semih YAŞAR (B.Ü.)**

**Bu tezin Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldığını ve Enstitümüz kurallarına göre düzenlendiğini onaylıyorum.**

**Enstitü Müdürü**

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

## ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca, deneyimleri ve bilgisiyle her türlü konuda yardım ve desteklerini esirgemeyen, akademik çalışmalarındaki disiplini, başarısı ve anlayışlılığıyla her zaman örnek alacağım danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Bülent KAYA'ya

Laboratuar çalışmalarım sırasında her türlü malzeme ve cihazın kullanımında destekleri için Uzman A. Şükrü BENGÜ'ye

Laboratuar çalışmalarım sırasında sorularımı yanıtlayan, yardım ve desteklerini esirgemeyen Arş. Gör. İbrahim Halil GEÇİBESLER'e,

Antimikrobiyal aktivite çalışmam sırasında kullanılacak mikroorganizmaların temininde ve çalışmalarımın uygulanmasında bana yol gösterici ve yardımcı olan Arş. Gör. Fatma CAF'a ,

Çevirilerim sırasında bana yardımcı olan kardeşime, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ve bana her zaman güvenen çok değerli aileme,

Teşekkür ederim.

**Yekta TOPAL**  
**BİNGÖL- 2013**

## ÖZET

Yapılan bu tez çalışmasında, *Alchemilla* L. cinsinin farklı türlerine ait (*A. Holotricha*, *A. Persica*, *A. Cimilensis*) farklı polariteye sahip çözücülerle hazırlanmış ekstraktlarındaki antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile ilgili biyolojik aktiviteleri incelendi.

Çalışmada bitki örnekleri sırasıyla hekzan, diklorometan, etil asetat, metanol ve su olmak üzere artan polarite ile farklı çözücüler içerisinde alınarak farklı polariteye sahip bitki ekstraktları elde edildi.

Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde her bir ekstre için, toplam fenol içeriği, toplam flavanoid içeriği, toplam antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, metal şelatlama kapasitesi, toplam indirgeme gücü, hidrojen peroksit giderme aktivitesi ve fenolik asit içeriği belirlendi.

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde agar disk difüzyon yöntemi ve agar kuyu difüzyon yöntemi kullanıldı. Bu yöntemler *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae* EMCS, *Saccharomyces cerevisiae* RSKK04017 mikroorganizmaları üzerinde denendi.

*Alchemilla* L. cinsine ait türlerin farklı ekstrelerinde yapılan antioksidan çalışmalar sonrasında; standart antioksidan maddeler olan BHA, BHT,  $\alpha$ -tokoferol ve troloksa oldukça yakın aktivite gösterdiği tespit edildi. Bitki ekstrelerinin antimikrobiyal aktiviteleri ise karşılaştırma amaçlı kullanılan streptomisin'e göre daha düşük bulundu.

Elde edilen bulgular, bitki ekstraktlarının çalışmada kullanılan test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteye ve oksidan maddelere karşı da antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve sentetik maddelere alternatif olarak kullanılabileceğini gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** *Alchemilla*, Antimikrobiyal Aktivite, Antioksidant Aktivite, Bitki Ekstraktları.

## ABSTRACT

In this thesis studies, the antioxidant and antimicrobial properties of *Alchemilla* L. (Rosaceae) extracts which prepared with solvents which have different polarity were examined.

In this study, while the plant samples incasing different solvents with increasing polarity respectively hexane, dicloromethane, ethyl acetate, methanol and water, plant extracts having different polarity were obtained.

In designating antioxidant activity, DPPH free radical eliminating activity, total including fenol, total antioxidant activity, metal chelation capacity, total reduction power, hydrogen peroxide eliminating activity, total including flavanoid and including fenolic acid were established for each extract.

To designate antimicrobial activity, agar disc diffusion method and agar well diffusion method were utilized. These methods, were experimented on *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae* EMCS, *Saccharomycescerevisiae* RSKK04017 microorganisms.

After the antioxidant studies with *Alchemilla* L. extracts; it was observed that BHA, BHT,  $\alpha$ -tocopherol and troloks, which are standart antioxidant substances, demonstrated quite close activity. On the other hand, the antimicrobial activity of plant extract established lower than Streptomycin for comparing.

The obtaining findings showed that established that plant extracts had antimicrobial activity against test microorganisms which were used at study, and had antioxidant activity against oxidant substances and they might be used as synthetic substances alternatively.

**Key words:** *Alchemilla*, Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity, Plant Extracts.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ .....	II
ÖZET .....	III
ABSTRACT .....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	X
1.GİRİŞ:.....	1
1.1. Antimikrobiyal Aktivite .....	2
1.2. Antioksidan Aktivite .....	6
1.2.1. Antioksidan Savunma Mekanizmalarının İşlevleri.....	6
1.2.2. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri .....	7
1.2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	7
1.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Araştırılmasında Kullanılan Mikroorganizmaların Genel Özellikleri.....	9
1.4. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Özellikleri.....	11
1.4.1. <i>Alchemilla</i> L. Cinsi .....	12
2.KAYNAK ÖZETLERİ .....	14
3. MATERYAL METOT: .....	17
3.1. MATERYAL .....	17
3.1.1. Kullanılan Bitki Materyalinin Temini.....	17
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	17
3.1.3. Kullanılan Laboratuvar Cihazları .....	18
3.1.4.Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	18
3.2. METOT .....	22
3.2.1. Ekstraksiyon Tekniği .....	22
3.2.2. Antioksidan Aktiviteyi Araştırma Teknikleri .....	22

	Sayfa No
3.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Araştırma Yöntemleri.....	27
3.2.4. İstatistiksel Analizler .....	28
4.BULGULAR.....	29
4.1.Özüt Verimleri .....	29
4.2. Antioksidan Aktivite Bulguları.....	29
4.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini.....	29
4.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi .....	32
4.2.3. Toplam Fenolik Asit İçeriği (TPA).....	35
4.2.4. Toplam $\beta$ -Karoten ve Likopen İçeriğinin Belirlenmesi .....	38
4.2.5. DPPH Radikalinin Etkisinin Giderilmesi.....	43
4.2.6. İndirgeyici Güç Özelliğinin Ölçülmesi .....	48
4.2.7. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi Tayini.....	52
4.2.8. Hidroksil Radikali Giderme Özelliğinin Ölçülmesi.....	57
4.2.9. Metal Şelatlama Aktivitesinin Ölçülmesi.....	61
4.2.10. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi.....	65
4.3.Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivite bulguları.....	68
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	72
6. KAYNAKLAR.....	79
ÖZGEÇMİŞ .....	91

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Toplam fenol içeriği için gallik asit ile hazırlanan standart grafik .....	30
Şekil 2. <i>A. holotricha</i> türünün çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenol içerikleri.....	31
Şekil 3. <i>A. persica</i> türünün çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenol içerikleri.....	32
Şekil 4. <i>A. cimilensis</i> bitkisinin çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenol içerikleri.....	32
Şekil 5. Toplam flavonoid içeriği tayini için catechin ile hazırlanan standart grafik.....	33
Şekil 6. <i>A. holotricha</i> çeşitli çözücü ekstralarının toplam flavonoid içerikleri.....	34
Şekil 7. <i>A. persica</i> çeşitli çözücü ekstralarının toplam flavonoid içerikleri.....	35
Şekil 8. <i>A. cimilensis</i> çeşitli çözücü ekstralarının toplam flavonoid içerikleri.....	35
Şekil 9. Fenolik asit tayini için sinapik asit ile hazırlanan standart grafik.....	36
Şekil 10. <i>A. holotricha</i> için çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenolik asit içerikleri.....	37
Şekil 11. <i>A. persica</i> için çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenolik asit içerikleri.....	38
Şekil 12. <i>A. cimilensis</i> için çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenolik asit içerikleri .....	38
Şekil 13. <i>A. holotricha</i> için çeşitli çözücü ekstralarının $\beta$ -karoten içerikleri.....	40
Şekil 14. <i>A. persica</i> için çeşitli çözücü ekstralarının $\beta$ -karoten içerikleri.....	40
Şekil 15. <i>A. cimilensis</i> için çeşitli çözücü ekstralarının $\beta$ -karoten içerikleri.....	41
Şekil 17. <i>A. persica</i> için çeşitli çözücü ekstralarının likopen içerikleri.....	43
Şekil 18. <i>A. cimilensis</i> için çeşitli çözücü ekstralarının likopen içerikleri.....	43
Şekil 19. <i>A. holotricha</i> çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında % DPPH giderme aktiviteleri .....	46
Şekil 20. <i>A. persica</i> çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında % DPPH giderme aktiviteleri .....	47
Şekil 21. <i>A. cimilensis</i> çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında % DPPH giderme aktiviteleri .....	47
Şekil 22. <i>A. holotricha</i> çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında indirgeme gücü aktiviteleri.....	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>
Şekil 23. <i>A. persica</i> çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında indirgeme gücü aktiviteleri.....	51
Şekil 24. <i>A. cimilensis</i> çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında indirgeme gücü aktiviteleri.....	51



	<u>Sayfa No</u>
Şekil 25. <i>A. holotricha</i> çözücü ekstrelerinin % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> aktiviteleri .....	54
Şekil 26. <i>A. persica</i> çözücü ekstrelerinin % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> aktiviteleri .....	54
Şekil 27. <i>A. cimilensis</i> çözücü ekstrelerinin % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> aktiviteleri .....	55
Şekil 28. <i>A. holotricha</i> çözücü ekstrelerinin 0,100 mg/ml konsantrasyonlarında % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> giderme aktiviteleri .....	55
Şekil 29. <i>A. persica</i> çözücü ekstrelerinin 0,10 mg/ml konsantrasyonlarında % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> giderme aktiviteleri .....	56
Şekil 30. <i>A. cimilensis</i> çözücü ekstrelerinin 0,10 mg/ml konsantrasyonlarında % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> giderme aktiviteleri .....	56
Şekil 31. <i>A. holotricha</i> çözücü ekstrelerinin ve standart antioksidan olan BHA, α-Tokoferol ve Troloks'un, % OH radikali giderme aktiviteleri .....	59
Şekil 32. <i>A. persica</i> çözücü ekstrelerinin ve standart antioksidan olan BHA, α-Tokoferol ve Troloks'un, % OH radikali giderme aktiviteleri.....	60
Şekil 33. <i>A. cimilensis</i> çözücü ekstrelerinin ve standart antioksidan olan BHA, α-Tokoferol ve Troloks'un, % OH radikali giderme aktiviteleri .....	60
Şekil 34. <i>A. holotricha</i> çözücü ekstrelerinin ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında metal şelatlama aktiviteleri.....	63
Şekil 35. <i>A. persica</i> çözücü ekstrelerinin ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonların da metal şelatlama aktiviteleri .....	64
Şekil 36. <i>A. cimilensis</i> çözücü ekstrelerinin ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında metal şelatlama aktiviteleri.....	64
Şekil 37. Toplam antioksidan kapasite tayini için askorbik asit ile hazırlanan standart grafik .....	65
Şekil 38. <i>A. holotricha</i> çözücü ekstrelerinin toplam antioksidan miktarı.....	67
Şekil 39. <i>A. persica</i> çözücü ekstrelerinin toplam antioksidan miktarı.....	67
Şekil 40. <i>A. cimilensis</i> çözücü ekstrelerinin toplam antioksidan miktarı.....	68
Şekil 41. <i>A. cimilensis</i> <i>Candida albicans</i> üzerindeki etkisi .....	70
Şekil 42. <i>A. persica</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> üzerindeki etkisi .....	71
Şekil 43. <i>A. holotricha</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> üzerindeki etkisi .....	71

## TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Çalışılan örneklerin defter kayıt numaraları ve depolandıkları herbaryum.....	17
Tablo 2. <i>Alchemilla</i> L. türlerinin özüt verimleri.....	29
Tablo 3. Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri (mg GAE/g ekstre).....	30
Tablo 4. Ekstrelerin toplam flavonoid içerikleri (mg C/g ekstre).....	33
Tablo 5. Ekstrelerin toplam fenolik asit içerikleri (mg SAE/g ekstre).....	36
Tablo 6. Ekstrelerin $\beta$ -karoten içerikleri (mg/g ekstre).....	39
Tablo 7. Ekstrelerin likopen içerikleri (mg/g ekstre).....	41
Tablo 8. Ekstrelerin ve standartların % DPPH giderme aktiviteleri.....	44
Tablo 9. Ekstrelerin ve standartların indirgeyici güç aktiviteleri.....	48
Tablo 10. Ekstrelerin % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> giderme aktiviteleri.....	52
Tablo 11. Ekstrelerin ve standartların % OH radikali giderme aktiviteleri.....	57
Tablo 12. Ekstrelerin ve standartların metal şelatlama aktiviteleri.....	61
Tablo 13. Ekstrelerin toplam antioksidan kapasiteleri (mg askorbik asit/g ekstre).....	66
Tablo 14. <i>A. holotricha</i> türünün antimikrobiyal aktivitesi.....	68
Tablo 15. <i>A. persica</i> türünün antimikrobiyal aktiviteleri.....	69
Tablo 16. <i>A. cimilensis</i> türünün antimikrobiyal aktivitesi.....	69

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C:	Celcius derece
AAE:	Askorbik asit eşdeğeri
AKontrol:	Kontrolün absorbansı
ANumune:	Numunenin absorbansı
BHA:	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT:	Bütillenmiş hidroksi toluen
DMSO:	Dimetilsulfoksit
DPPH:	2,2-Difenil 1-pikril hidrazil
FCR:	Folin-Ciocalteu reaktifi
g:	Gram
GAE:	Gallik asit ekivalenti
GAE:	Gallik asit eşdeğeri
HPLC:	High-performance liquid chromatography ( Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi )
m:	Metre
M:	Molar
MHA:	Mueller Hinton agar
ml:	Mililitre
mm:	Milimetre
mM:	Milimolar
NB:	NutrientBroth
nm:	Nanometre
PDA:	Patates Dekstroz agar
KE:	Kateşin ekivalenti
RAE:	Rosmarinic asit
Rpm:	Revolution per minute (Dakikadaki devir sayısı )
TCA:	Triklorasetik asit
Troloks:	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
UV:	Ultraviyole

$\alpha$ -TE :	$\alpha$ -Tokoferol ekivalenti
$\mu$ g:	Mikrogram
$\mu$ l:	Mikrolitre
$\mu$ m:	Mikrometre

## 1.GİRİŞ

Epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarda, sebze ve meyve gibi zengin diyet ile beslenen kişilerde kronik damar riskleri, kalp damar hastalıkları, artrit, kronik inflamasyon ve kanser gibi hastalıkların görülme sıklığının daha düşük olduğu görülmüştür (Chen vd., 2005; Middleton vd., 2000; Prior, 2003; Saleem vd., 2002; Zhang vd., 2005).

Sebze ve meyvelerin fizyolojik fonksiyonları düzenleme, onların fenolik içerikleri ile bağlantılıdır. Renkli sebze ve meyveler yapılarında bol miktarda flavonoidler ve antosiyaninler gibi fenol kaynakları ile karetenoidleri bulundurmaktadır (Cieslik vd., 2006; Qian vd., 2004; Sass-Kiss vd., 2005; Trappey vd., 2005). Polifenolik gruptan olan flavonoidlerin bilinen 6000'den fazla çeşidi keşfedilmiştir (Merken ve Beecher, 2000). Turuncu ve kırmızı renkli meyve ve sebzelerde birçok amaç için sentezlenen flavonoidler antosiyanidinler, flavanoller (kateşinler), flavonlar, flavonlar ve flavonollar gibi gruplar altında sınıflandırabilir (Merken ve Beecher, 2000).

Renkli sebze, meyve gibi doğal gıdalar özellikle doğu ülkelerinde daha sağlıklı olarak kabul edilmektedir. İnsan sağlığının devamı ya da hastalık risklerinin minimize edilmesi açısından farklı renklerdeki meyve ve sebze diyetleri ile bu renklenmeye sebep olan sekonder metabolitlere olan ilgi son zamanlarda giderek artmıştır (Merken ve Beecher, 2000).

Antioksidan madde arayışları yüzyıllardır çeşitli şekillerde var olan bir durumdur. Bitkilerin antioksidan ve antimikrobiyal etkileri tesadüf olarak ya da deneysel çalışmalarla bulunmadan önce etnobotanik olarak halk arasında çeşitli hastalıklarda kullanılmasıyla ortaya çıkmış ve hala günümüzde alternatif bir tedavi olarak olgu olarak kullanılmaktadır (Acar, 2007).

Bitkilerden elde edilecek doğal antioksidan ve antimikrobiyal içerik eldesi ile sentetik antibiyotik kullanımı ve gıdalardaki sentetik antioksidan kullanımının azalması beklenmektedir. Bilindiği gibi antibiyotiklerin hastalık etmenlerine karşı mücadelesi organizmanın dengesi için son derece önemli olan doğal florasında tahrip olmasına neden olmaktadır. Ayrıca bakteri suşlarının zamanla antibiyotiklere karşı direnç kazanması da antibiyotiklerin önemini yitirmesinin nedenlerindedir (Acar, 2007).

İşte tüm bu özellikler nedeniyle bitkilerin antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri bitkilerin toplanma zamanlarına, kullanım şekillerine kullanım miktarlarına bağlı olarak enfeksiyon hastalıklarına karşı önce koruma sağlamakta ve eğer hastalık meydana geldiyse doğal yollardan alternatif bir tedavi yöntemi olarak drogları geliştirilmektedir (Acar, 2007).

### 1.1. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal madde; çok az yoğunlukta dahi mikroorganizma gelişimini engelleyen, biyolojik kökenli ikincil metabolitlerdir. Mikroorganizmalardan elde edilen, küçük dozlarda diğer mikroorganizmaları öldüren ve insan organizmasına zararlı etkisi görülmeyen doğal veya sentezlenmiş maddeler olarak da tanımlanmaktadır (Talaro vd., 1993).

Bunlar mikroorganizmanın çoğalmasını engelleyici bakteriyostatik ve fungistatik olabildikleri gibi mikroorganizma ölümüne sebep olan bakteriosit ve fungusit gibi maddeler de olabilirler (Gülay, 2002). Böylece enfeksiyöz ajanlar etrafa yayılmadan, başka kişilere bulaşmadan ve enfeksiyon yaygınlaşmadan kontrol altına alınabilir, gerekli koruyucu ve sağaltıcı önlemler için de zaman kazanılmış olur (Arda, 1997).

Antimikrobiyal maddelere örnek olarak antibiyotikleri, çeşitli kimyasal maddeleri ve bakteriyosinleri verebiliriz. Antibiyotikler, genellikle canlı mikroorganizmaların bazı özel türleri tarafından sentezlenen kemoterapötik maddelerdir (Arda, 1997). Kemoterapötik ise antibiyotiklere benzer özellikte olan, tümüyle sentetik maddelerdir. Bunlar insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyon hastalıklarından korunmada ve bu hastalıkların tedavisinde kullanılırlar (Arda, 1997).

Canlılarda enfeksiyona neden olan organizmalar sadece hastalık oluşturmakla kalmayıp birçok olumsuz etki de gösterirler. Gıdaların bozulması ve ürettikleri toksinlerle gıda zehirlenmelerine neden olmaları bu etkileri arasında gösterilebilir. Bu nedenle gıdaların korunmasında ve gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesinde, antibiyotiklerin dahil olduğu çeşitli antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır (Acar, 2007).

Antimikrobiyal maddede olması gereken en önemli özellik seçici toksisitedir. Kemoterapide kullanılan antimikrobiyal madde düşük konsantrasyonlarda bile etkili olup çok az toksik olmalıdır. Böyle bir etkinin ortaya çıkabilmesi için antimikrobiyal maddenin hedef olarak memeli hücrelerinden ziyade mikroorganizmalar da kullanılmalıdır.

Bakteriler prokaryot, memeli hücreler ise ökaryottur. Prokaryot hücrede var olan, ancak ökaryot hücrede bulunmayan bir molekülü hedefleyen antimikrobiyal maddeler (örneğin; sefalosporinler, sülfonamidler) yüksek derecede seçici toksisiteye sahiptir (Akyüz, 2007).

Ancak virüsler ve mantarlar için seçici toksiteden bahsedilemez. Virüsler konak hücreye entegre olduklarından, konağa zarar vermeden virüsü etkilemek olanaksızdır (Akyüz, 2007).

Antimikrobiyal maddeler etkili olabildikleri mikroorganizma cins sayısının az ya da çok oluşuna bağlı olarak, dar ya da geniş spektrumlu şeklinde tanımlanır. En dar spekturumlu maddeler enfeksiyona neden olan mikroorganizma üzerine etkili ve tedavide ideal antimikrobiyal maddeler olarak kabul edilir. Geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler konağın doğal bağışıklığında önemli rol oynayan ve ekolojik dengeyi sağlayan normal mikroorganizma florasını bozar. Fakat birçok patojenin birlikte etken olduğu enfeksiyonlarda ya da mikrobiyoloji laboratuvarı sonuçlarının beklenemeyeceği acil durumlarda geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler (karbapenemler, kinolonlar...) kullanılır (Akyüz, 2007).

İkinci dünya savaşı sırasında birçok değişik antibiyotik bulunmuş ve değişik mikroorganizmalara karşı duyarlılık modelleri saptanmıştır; yeni antibiyotikler medikal uygulamada “olağanüstü” ilaçlar olarak kabul edilmektedir. Fleming (1929), antibiyotik duyarlılık deneyini uygulamak için ilk yöntemi geliştirmiştir; bu yöntemde bir petri kutusunda agar besiyeri, ortadan kenara çok yakın bir yerde, dik olarak keserek bir şerit halinde dışarı almıştır. Açılan bu hendeğe veya boşluğa küf özeti (penisilin gibi) içeren besiyeri konmuştur. Bu hendeğe dik bir açıda paralel olarak değişik bakteri kültürleri yayma yöntemi ile ekilmektedir. İnokulasyondan sonra kültürlerin üreme ve inhibisyon bölgeleri gözlenerek kültürlerin duyarlılığı değerlendirilmektedir (Beşe, 1989).

Foster ve Woodruff (1943), duyarlılık testlerinin uygulamasında, ilk kez antibiyotik emdirilmiş süzgeç kâğıtlarının kullanılmasını önermişlerdir. Araştırmacılar, yoklanacak organizma ile önceden inokule edilen petri kutusundaki besiyeri üzerine bir antibiyotik emdirilmiş şeridi yerleştirerek duyarlılık testi yapmaktadır. Farmastotik özellikteki bitkilerin esansiyel yağları ve ekstraktlarının antibakteriyel ve antioksidan özelliği bir çok literatürde gösterilmektedir (Sökmen vd., 2003).

Antibakteriyal ilaçların etki mekanizmaları temel olarak bölgelere yönelmekte ve dört türlü etki mekanizması olduğu kabul edilmektedir:

1. Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu,
2. Hücre membran fonksiyonunun inhibisyonu,
3. Protein sentezi inhibisyonu,
4. Nükleik asit sentezinin inhibisyonudur (Çolak, 2000).

Enfeksiyon hastalıklara karşı mücadelede antibiyotik ve diğer kemoterapötiklerin önemi büyük olmasına rağmen; bu maddeler dikkatli kullanılması gereken maddelerdir. Bu maddelerin bilinçsizce kullanılmaları birçok olumsuz durumların ortaya çıkmasına yol açar. Bu olumsuz durumlar; sekonder enfeksiyonların ortaya çıkması, antibiyotik ve diğer kemoterapötiklere karşı dirençli suşlar gelişmesi ve enfeksiyonlar üzerinde bir etkinin olmaması şeklinde sıralanabilir (Arda, 1997).

Özellikle gelişmekte olan ülkelerde antimikrobiyal maddelerin yaygın ve kontrolsüz kullanımı, dirençli susların yararına bir seleksiyon oluşturmaktadır (Akalin, 1994). Böylece antibiyotik direnci son yıllarda büyük ölçüde artmakta ve terapötik problemlerdeki bu artış sorun haline gelmektedir (Austin vd., 1999; Guillemot, 1999).

Mikroorganizmaların antibiyotiklere ve diğer ilaçlara karşı dirençliliği, doğal yapılarının yanı sıra, enfeksiyon sırasında ve sonunda da gelişebilmektedir (Arda, 1997). Bakterilerin antimikrobiyal ajanlara karşı gösterdikleri bu direnç ise git gide artarak ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Bakterilerin direnç mekanizmalarına dikkat edilerek geliştirilen yeni ilaçlara ise bakteriler yine kısa sürede direnç oluşturabilmektedirler.

1928'de Alexander Fleming tarafından penisilinin keşfiyle enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yeni bir devir başlamıştır. İlaç şirketleri 1943'de penisilinin kitle halinde üretimine başlamışlardır ve penisilin, enfeksiyon hastalıklarına karşı oldukça etkili olmuştur. Fakat 1947'nin başlarında, dirençli suşlar ortaya çıkmaya başlamıştır. Penisilinin



ve diğ er antibiyotiklerin enfeksiyon hastalıklarındaki başarıları, bu ilaçların yaygın ve çoğ u zaman da gereksiz kullanımına yol açmıştır. Bu yaygın ve gereksiz kullanım bugün bütün dünyada enfeksiyon hastalıklarının tedavisindeki en önemli sorun olan ‘antibiyotik dirençli bakterilerle geliş en enfeksiyonlar’ı ortaya çıkarmıştır (Akalm, 1994).

Antimikrobiyallere karşı direnç kazanan bazı mikroorganizma türleri ş unlardır:

*Escherichia coli*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* ve *Candida albicans* (Barbour vd., 2004). *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* ve *Pseudomonas aeruginosa*’nın neden oldukları nozokomiyal enfeksiyonların tedavisi genellikle zordur (Isenberg vd.,1999).

Genel olarak kullanılan birçok antibiyotiğ e karşı patojen bir bakterinin direnç geliştirmesi nedeniyle enfeksiyonlarla savaşta, direnç problemini yenmede ve bugün mevcut antimikrobiyal ajanların meydana getirdiğ i yan etkilerden dolayı, yeni antimikrobiyal ajanların bulunması için çalışmaların yapılması zorunludur (Ali-Shtayeh vd., 1998). Antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların çoklu direnç geliştirmesi ve bu mikroorganizmaların neden olduğ u enfeksiyonların tedavisindeki başarısızlıklar, alternatif yeni antimikrobiyal kaynak arayışına neden olmuştur. Antibiyotiklerin kullanımı ile ilişkili problemlerin ortaya çıkmasının sonucu olarak, antimikrobiyal özelliklere sahip bitkilere olan ilgi yeniden canlanmaktadır (Emor ve Gaynes, 1993; Pannuti ve Grinbaum, 1995). Bilim adamları son yıllarda bitki türlerinden izole edilen ve patojenik mikroorganizmaları yok etme özelliğ ine sahip, biyolojik yönden aktif bileş enlerle ilgilenmektedirler. Son yıllarda, tıbbi bitkilerin antimikrobiyal özellikleri dünyanın değ iş ik yerlerinde gittikçe artarak rapor edilmektedir (Pacheco vd., 1993; Ratnakar ve Murthy, 1995; Saxena ve Sharma, 1999; Djipa vd., 2000; Loy vd., 2001; Medeiros vd., 2003).

İnsanlık tarihi boyunca birçok enfeksiyon hastalığ ın bitkisel ilaçlarla tedavi edildiğ i bilinmektedir. Bitkilerdeki antimikrobiyal bileş enler, kullanılan mevcut antimikrobiyallerden farklı mekanizmalarla bakteriyel geliş imi inhibe edebilmekte ve bu sayede dirençli mikrobiyal suş ların tedavisinde önemli klinik sonuçlar elde edilebilmektedir (Eloff, 1988). Günümüzde bitki ve bitki ürünleri mikrobiyal hastalıklar da dahil olmak üzere bir çok hastalığ ın tedavisinde önemli birer kaynaktırlar ve yeni tedavi edici ajanların geliştirilmesinde kullanılmaktadır (Eloff, 1988).

## 1.2. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar, diğler moleküllerin oksidasyonunu engelleyen ya da geciktiren bileşikler olup bunu, oksitleyici zincir reaksiyonlarının başlamasını veya çoğalmasını engelleyerek gerçekleştirirler (Velioglu vd., 1998).

Antioksidan özellik gösteren bir kimyasal bileşik, diğler kimyasala oksijen bağlanmasına engel olur veya kimyasalın elektron kaybetmesini engeller. Antioksidanlar birçok yolla tepki gösterip, oksitlenmeye karşı koruma sağlarlar. Bu nedenle kısaca “indirgeyici ajanlar” da denilmektedir (Velioglu vd., 1998).

Oksidasyonun depo maddelerde enerjinin serbest bırakılması için gerekli olmasının yanı sıra bazı istenmeyen etkileri de vardır. Örnek verecek olursak; hücre zarında bulunan PUFA (polidoymamış yağ asitleri)’ların bir çift bağının oksidasyonu ile zarin bu parçasındaki yapısal olan kısımlar parçalanabilir. Yağ asidinin oksidasyonu ilk olarak peroksitlerin ve yüksek derecede reaktif olan serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Son yağ asidi daha kısa zincirlere parçalanır, oksijen içeren bu bileşiklerin kimyasal özellikleri, orijinal bileşikten çok farklıdır (Robinson, 1997).

### 1.2.1. Antioksidan Savunma Mekanizmalarının İşlevleri

1. Serbest radikalleri ve diğler reaktif türlerini katalitik olarak uzaklaştırırlar. Örneğin; süperoksitdismutaz, katalaz, peroksidaz enzimleri ve tiyol-spesifik antioksidanlar,

2. Bu proteinler Hem gibi öncül oksidanların, Demir ve bakır iyonlarının bulunabilirliğini azaltırlar. Örnek olarak; haptoglobinler, hemopeksin, transferrinler verilebilir.

3. Biyomoleküller diğler mekanizmaların oluşturabileceği oksidatif v.b. zararlara karşı koruyan proteinlerdir. Örneğin; Heat Shock proteinleri

4. Bu düşük molekül ağırlığına sahip ajanlar RNS (Reaktif Azot Türleri) ve ROS (Reaktif Oksijen Türleri)’ni uzaklaştıran biyomoleküllerdir. Örnek olarak; glutatyon,  $\alpha$ -tokoferol, bilirubin ve ürik asit verilebilir. Özellikle bazı düşük molekül ağırlıklı antioksidanların (askorbik asit ve  $\alpha$ -tokoferol gibi) besinlerle alınmasından dolayı antioksidan savunması ve beslenme arasında üstü kapalı bir ilişki vardır (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

### 1.2.2. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri

Serbest radikallerin çeşitli etkilerine biyolojik sistemler üzerinde çalışılmış ve etkileri bilinmektedir. Biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonu; biyolojik yapılar, özellikle membranlar yüksek oranda doymamış lipid içermektedir. Bu lipidler bir radikal başlatıcı ile ya da oksijen varlığında oksidasyona uğrarlar. Lipid peroksidler içerdikleri etkin kimyasal maddelerle hücre hasara yol açar, metabolizmayı değiştirir ve dokulardaki kan akımını azaltır. Aminoasitler ve proteinlere etkisi; serbest radikaller doymamış ve sülfür içeren aminoasitler (triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein) ile bunların bulunduğu proteinleri modifikasyona uğratabilirler. Nükleik asit ve DNA'ya etkisi; nükleik asitlerde baz modifikasyonu, DNA'da iplikçik kopması nedeniyle mutasyon oluşumu ve hücrelerde ölüme sebep olmaktadır. Karbonhidratlara etkisi ise hücre yüzeyinde bulunan reseptörlerde ve hiyalürik asidin eklenmesi ile sinovial sıvı viskozitesinde değişiklikler oluşturabilmekte, kofaktörler üzerine de nikotinamid ve flavin içeren kofaktörlerin miktarlarında ve aktivitesinde azalma oluşturma gibi gözlenmektedir (Demirel, 2006).

### 1.2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar iki ana kategori altında toplanır; sentetik ve doğal antioksidanlar.

Sentetik antioksidanlar çeşitli derecelerde alkil sübstitüsyonuna sahip fenolik yapıdaki bileşiklerdir. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve tertü bütillhidro-kuinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar 20. yy başından beri antioksidan olarak kullanılmaktadır (Velioglu vd., 1998). Sentetik antioksidanlar olan BHA ve BHT genellikle hayvani ve bitkisel yağlarda oksidatif bozunmayı azaltarak, gıdada katkı maddesi olarak katılmakta olup insan sağlığında vücut üzerinde depolanmak suretiyle toksik ve karsinojenik etkiye neden olmaktadır. Ayrıca sentetik antioksidanlar karaciğerin şişmesine neden olup karaciğer enzim aktivitesini de etkilemektedirler (Rehman vd., 2003).

Doğal antioksidanlar ise fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoidler ve fenolik asitler), azot bileşikleri (alkaloidler, klorofil türevleri, amino asitler ve aminler) ya da askorbik asit olabileceği gibi karotenoidler de olabilmektedirler (Velioglu vd., 1998).

Doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanlar gıdaların bozulmasını önlemekte güçlü alternatiflerdir. Doğal olanların sentetik antioksidanlara göre avantajlarından biri, insan sağlığına zarar vermemesidir. Doğal olarak baharatlar, literatürlerde bitkiler ve fındık ekstralarının güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir (Rehman vd., 2003).

Bitkisel gıdalar, fizyolojik olarak bazı işlevleri yerine getirdiğinden sağlık için oldukça önemlidir. Bitkisel gıdalar düzenli olarak ve sıklıkla tüketilirse insan sağlığını önemli ölçüde korurlar. Fitokimyasalların İn vitro yapılan çalışmalar sonucunda, gıdalarda güçlü antioksidan potansiyeline sahip oldukları, hastalık risklerini azalttıkları, kanser ve kardiovasküler hastalıklara karşı koruyucu oldukları görülmüştür. Vitaminler, askorbik asit,  $\alpha$ -tokoferol ve  $\beta$ -karoten gıdalarda bulunan antioksidanlardandır. C, E vitaminleri ve  $\beta$ -karoten antioksidanları, çalışmalarda antioksidan özelliği gösteren flavonoidler, isoflavon, antosiyan, kateşin ve isokateşine göre daha etkilidirler (Arnao vd., 2001).

Epidemiyolojik çalışmalarda gıdalarda bulunan zengin fenolik bileşiklerin kalp hastalıkları riskini azalttığı görülmüştür. Sentetik antioksidanların yerini gıda uygulamalarında doğal antioksidanlar almaktadır. Pancar, mantar, beyaz lahana, mısır, ıspanak, kırmızı biber, soğan, kabak, kıvırcık marul, sarımsak, brokoli, fasulye ve karnıbahar yüksek antioksidan aktiviteye sahip gıdalar arasında sayılabilir. Sarımsak ekstraktları; kardiovasküler ve antikanser ajanı olarak kullanılmaktadır. Bazı farklı sebze ekstraktları mutajenlere karşı aktivite gösterirler. Ispanak, hafıza kaybının yaşandığı durumlarda ve alzheimer hastalarında “Beyin gıdası” olarak görev görür (Kaur ve Kapoor, 2001). Lipid peroksidasyonu, besinlerde ekşimsi koku ve tat oluşturmasının yanı sıra gıdaların pişirilmesi, işlenmesi ve depolanması aşamalarında esansiyel yağ asitlerini ve vitaminleri parçalayarak güvenilirliği ve kaliteyi düşürür. Gıdaların oksitlenmesinin engellenmesinde bazı yollar kullanılır; vakum altına alma, havanın azotla değiştirilmesi, sıcaklığın düşürülmesi (Jiangning vd., 2004).

Endüstriyel gıda işletmelerinde gıdaların raf ömürlerinin uzatılması, besin değerlerinin kaybedilmemesi ve zararlı maddelerin oluşmasını azaltmak için ürünlere yüksek etkili antioksidanlar eklenmektedir (Jiangning vd., 2004).

Sentetik antioksidanların hayvanlar üzerinde etkisi test edilmiştir. BHA ve BHT'nin hayvan vücudunda biriktiği ve bu maddelerin karaciğere zarar vererek karsinojenik etki yaptığı görülmüştür (Jiangning vd., 2004).

Bazı ülkelerde sentetik antioksidanların kullanımı yasaklanmıştır. İlerleyen zamanlarda diğer ülkelerde de gıdalarda sentetik antioksidan kullanımı yasaklanacaktır. Bunların yerini doğal antioksidan maddelerin alması için çalışmalar yapılmaktadır (Suja vd., 2005).

Bitkisel kaynaklı fenolik bileşikler de biyolojik sistemlerde oksidanlara karşı yardımcı olmaktadır. Serbest radikaller, singlet oksijenin tutulmasını sağlarlar. Birçok çalışmada yüksek bitkilerde bulunan fenolik bileşikler insan sağlığı ve kanserle ilişkilidir (Duval vd., 2000).

Sentetik kimyasalların kullanılması yerine bitkilerden elde edilen doğal ürünlerin antibakteriyal ve antioksidan ajan gelişimlerine karşı etkisi araştırılmakta olup, günümüzde bu tür çalışmalar fonksiyonel gıdalar tabiri ile gelişen bir alanı ifade etmektedir (Sökmen vd., 2004).

### 1.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Araştırılmasında Kullanılan Mikroorganizmaların Genel Özellikleri

***Bacillus subtilis* (ATCC 6633):** Çok geniş yayılım alanı olan bir bakteridir. 3-5 µm boy ve 1-1.2 µm eninde, düz veya hafif kıvrık şekilli, kısa ve bazen uzun zincirler yapabilen bir çomaktır. Bakteri kapsülsüz olup sporları sentral veya subterminal ve ovaldir. Gram pozitif olup besin zehirlenmesine yol açar. İnsanlarda nadiren enfeksiyon oluşturur. Daha çok direnci kırılmış kişilerde fırsatçı patojen olarak abseler, sellülit, göz enfeksiyonları ve idrar yolları enfeksiyonları gibi hastalıklara yol açtığı bildirilmiştir (Bilgehan, 2000).

***Staphylococcus aureus* (ATCC 29213):** Staphylococcaceae familyasına ait bir bakteri türüdür. Yaklaşık 1 µm en ve 1 µm boyunda olan ve üzüm salkımına benzer kümeler oluşturan bakteridir. Genel olarak bakteriyolojik boyalarla kolay boyanır ve gram pozitifdir. Sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüzdür. Diğer pek çok bakteri 60 °C'de 30 dakika bekletilince öldüğü halde, *Staphylococcus aureus* aynı koşullarda 1 saat kadar canlı kalabilmektedir. Yine bu bakterinin en önemli özelliği, günümüzde yoğun olarak kullanılan kemoterapötik maddelerin çoğuna karşı hızla direnç kazanması ve bu nedenle enfeksiyonlarına daha sık rastlanmasıdır. Deride abseler, fronkül (sivilce), sikozis (sakal

kıl kökleri yangısı), kan çıbanı, hidroadenit (ter bezi yangısı), göz kapağı yangısı, deri döküntüleri gibi hastalıklar meydana getirir. Belli bir odakta yerleşerek kana karışıp çoğalması ile sepsis ve endokarditlere yol açar. Solunum yolundan aspirasyonları ya da kan yolu ile akciğerlere yerleşmek suretiyle stafilokok pnömonisi ve karbonhidrat ve proteinli besin maddeleri içerisinde üreyerek yaptıkları enterotoksinlerin ağız yolu ile alınması sonucunda da besin zehirlenmeleri ve enteritlere yol açmaktadır (Bilgehan, 2000).

***Escherichia coli* (ATCC 25922):** 2-4 µm boyunda olan çomak şekilli bakteridir. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanır ve gram negatiftir. Soğuğa dirençli, dezenfektanlara karşı dirençsizdir. Belirli koşullar altında insan ve hayvanlar için patojen olup, gerek yangı, gerekse sürgün şeklinde ortaya çıkan bağırsak hastalıklarına neden olur. Bağırsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri, patojenlik kazanmaları için en önemli etkidir. Özellikle idrar yolları, safra kesesi ve safra yolları, akciğer, periton ve menenjlere ulaşan *E. Coli* bakterileri önemli hastalıklara yol açmaktadırlar (Bilgehan, 2000).

***Klebsiella pneumoniae* (EMCS ):** 1-2 µm boyunda ve 0.5-0.8 µm eninde, spor oluşturmayan hareketsiz bir bakteridir. Etrafında polisakkarit yapıda geniş bir kapsül bulunur. Gram negatif olup bakteriyolojik boyalarla iyi boyanır. Doğada yaygın olarak bulunan bu bakteri; kuraklığa dirençli, sıcaklığa ise duyarlıdır. Oda sıcaklığında haftalarca ve 4°C’de aylarca canlı kalabilirler. Memelilerde üst solunum yolu ve dışkı florasında bulunan bir bakteri olduğu için patojenliği uygunsuz koşullarda fırsatçı patojen olarak açığa çıkar. *Klebsiella* özellikle 2 yaş altı ve 40 yaş üstü kişilerde vücut direncinin kırılması, virütik üst solunum yolu enfeksiyonları sırasında pnömonilere neden olur (Bilgehan, 2000).

***Candida spp: Candida’lar*** maya formunda mantarlardır. 5-7 µm boyunda ve oval veya 4-6 µm boyunda ve 6-10 µm eninde uzun maya hücreleri şeklinde görülür. *Candida*’ların patojen duruma geçmesine yaş, genel enfeksiyonlar, aşırı zayıflama ve şişmanlık, şeker hastalığı, fazla terleme, vitamin eksikliği gibi endojen ve travma, nem artışı, mantarların virolansı ve patojenitesi gibi ekzojen faktörler sebep olmaktadır. Ayrıca, yüksek dozda geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı vücut florasında maya mantarları üzerindeki baskının ortadan kalkmasına neden olur ve bunların üremesine sebep olur.

*Candida*'ların sebep olduğu lezyonların tedavisindeki en iyi yöntem nedenin ortadan kaldırılmasıdır. Bu mayalar ağız, deri, tırnak, vajina, bronş ve akciğerlerde lezyonlar oluşturmaktadırlar (Tatçı, 1999).

***Saccharomyces cerevisiae* (RSKK 04017):** Askospor yapan bu mayalar oval, yuvarlak ve uzun hücreler oluşturur. Çok yönlü tomurcuklanma ve içinde 1 ile 4 adet spor bulunan asklarla çoğalırlar. Doğada başta üzüm olmak üzere meyve ve sebzeler üzerinde çok yaygındır. Şekerleri fermente ederek alkol ve CO<sub>2</sub> oluşturur. *Saccharomyces cerevisiae* başta bira olmak üzere tütülenmiş kuru salam, şarap, şampanya, ekme ve alkol üretiminde de kullanılmaktadır. *S. cerevisiae* gıdalarda nadiren bozulmaya neden olur. Benzoat ve sorbat gibi kimyasal koruyuculara dirençlidir (Ayhan, 2000). Kalın bağırsakta iltihaba neden olan *Clostridiumdifficile* bakterisinin biyolojik kontrolünde bir probiyotik katkı olarak kullanılır. Hastalığı ilerlemiş kişilerde bu uygulamanın sistemik maya iltihabına yol açabileceği gözlemlenmiştir (Munoz vd., 2005).

#### 1.4. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Özellikleri

*Alchemilla* L. cinsi Rosaceae (Gülgiller) familyasına aittir. Rosaceae familyası otsu ve odunsu bitkilerin bulunduğu dikotiledonların büyük ve önemli bir familyasıdır. Bu familyanın 122 cinse dahil 3370 kadar taksonu vardır. Birçok türü süs bitkisi olarak park ve bahçelerde yetiştirilmektedir. *Alchemilla*, Rosaceae familyası içinde Rosoideae alt familyasının *Sanguisorbaeae* tribusunda yer almaktadır (Heywood, 1978). 1000'den fazla tür ile temsil edilen *Alchemilla* cinsi genellikle holarktık bölgede yayılmakla beraber, bu bölgenin dışında Seylan, Doğu Hindistan, Ümit Burnu ve Doğu Afrika Dağları'nda da bulunmaktadır (Izmailow, 1981). *Alchemilla*'nın Avrasya taksonları Rothmaler tarafından iki seksiyona ayrılmıştır. Bu seksiyonlar *Pentaphyllon* Rothm. ve *Brevicaulon* Rothm.'dur. Aynı araştırmacıya göre bunlara ait taksonların bir kısmı geniş yayılışlı, bir kısmı da endemiktir (Rothmaler, 1937). Türkiye Florasındaki kayıtlara göre, Türkiye'de yayılış gösteren *Alchemilla* türlerinin tamamı *Alchemilla* seksiyonuna aittir (Hayırlıoğlu vd., 1997). Bu seksiyon 3 subseksiyon (*Chirophyllum* Rothmn., *Heliodrosium* Rothmn. ve *Calycanthum* Rothmn. ve 6 seriye (*Saxatiles* Bus., *Sericeae* Bus., *Pubescentes* Bus., *Vulgares* Bus., *Elatae* Rothmn. ve *Calycinae* Bus.) ayrılmıştır (Hayırlıoğlu vd., 1997).

Türkiye'deki *Alchemilla* türlerinin çoğunluğu Kuzey Anadolu Bölgesi'nde yayılış göstermektedir. Bunların Kırım, Kafkasya ve İran'daki türlerle yakın akraba olabilecekleri ileri sürülmektedir (Hayırlıoğlu vd., 1997).

#### 1.4.1. *Alchemilla* L. Cinsi

*Alchemilla* cinsi ülkemizde genellikle "aslanpençesi" ismiyle bilinmekte olup, 16 tane endemik tür ile temsil edilen bir cinstir. Bu cins Rosaceae familyası içerisinde yer almaktadır.

*Alchemilla* cins ismi Arapça bir kelime olan *Alkemelych* (alchemy = simya) kelimesinden türemiş olup, bitkinin bazı güçlerinin olduğuna inanılmasından dolayı bu ad verilmiştir (Hughes, 2005).

Günümüzde 1000'den fazla tür ile temsil olunan *Alchemilla* cinsi taksonomik hiyerarşi içerisinde *Rosoidae* Focke alt familyası ve *Sanguisorbeae* tribusu içerisinde yer almaktadır (Fröhner, 1995) ve özellikle Avrupa ve Asya'da geniş bir yayılışa sahiptir. Doğu Afrika'da, Kuzey Amerika'da ve Avustralya'da da dağılımının olduğu belirtilmiştir (Fröhner, 1995; Rothmaler, 1941).

Avrupa'da 300'ün üzerinde türün tanımı yapılmış olmasına rağmen, Walter (Townsend ve Guest, 1966) 118 tanesini tür olarak kabul etmiştir. *Alchemilla* cinsi İran Florası'nda 31, Irak Florası'nda 2 (Townsend ve Guest, 1966), Sovyet Florası'nda 151 (Juzepczuk, 1971 ) ve Kafkasya Florası'nda 36 (Grossheim vd., 1952) tür ile temsil edilmektedir. Türkiye Florası'nda 50 tür kayıtlı olarak gösterilmesine rağmen daha sonradan yayınlanan yeni türler ve yeni kayıtlarla tür sayısı 76 olmuştur (Davis vd.,1988; Pawlowski ve Walters, 1972).

Türkiye'de yayılış gösteren *Alchemilla* türlerinin tamamı *Alchemilla* seksiyonuna aittir (Pawlowski ve Walters, 1972). Bu seksiyon 3 subseksiyon (*Chirophyllum* Rothm., *Heliodrosium* Rothm. Ve *Calycanthum* Rothm.) ve 6 seriye (*Saxatiles* Bus., *Sericeae* Bus., *Pubescentes* Bus., *Vulgares* Bus., *Elatae* Rothm. ve *Calycinae* Bus.) ayrılmıştır. Türkiye'deki *Alchemilla* türlerinin çoğunluğu Kuzey Anadolu Bölgesinde yoğun bir şekilde yayılış göstermekle birlikte, ülkenin tamamına dağılmış durumdadır (Pawlowski ve Walters, 1972).



Walters ve Pawlowski küçük boylu olan *Alchemilla* türlerinin dağların yüksek kısımlarında, aşırı çok küçük olanların karlı dağlık yerlerde yetiştiğini, orta boylu *Alchemilla* türlerinin yarı-doğal çayır ve otlatma alanlarında, büyük türlerin ise muhtemelen insan faktörüyle şimdiki coğrafik yayılış alanlarına getirilmiş kuzey ve dağ çayır bitkileri olan büyük türler olduğunu belirtmiştir (Walters ve Pawlowski, 1968 ).

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

*Glycine tomentella* Hayata, Leguminosae familyasında bulunan, Kinmen/Tayvan'da halk arasında tedavi amaçlı olarak kullanılan önemli bir bitkidir (Lin vd., 2010). Uzun yıllar boyunca artrit ve romatizma tedavisinde kullanılmıştır. Son zamanlarda, sağlıklı yaşam adı altında ticari amaçla çay, şarap ve çeşitli gıda ile ilişkili ürünler ailesi olarak bol miktarda satılmaktadır. *G. tomentella* köklerinin, antioksidan özellik gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Lin vd., 2010; Chen ve Pan, 2007; Chen vd., 2005). Bu biyolojik aktivitelere bakıldığında; kan lipit düzeyini düşürücü (Ko vd., 2004, Chen ve Pan, 2007), anti-inflamatuvar (Chen vd., 2005; Lu vd., 2007) ve bağışıklık sistemini güçlendirici olarak (Chuang vd., 2008) olarak sayılabilir.

Sevil Albayrak ve arkadaşları (2010) yaptıkları çalışmada 16 *Helichrysum* türünün metanolik ekstralarında invitro olarak antioksidan ve radikal giderme özellikleri ile antimikrobiyal aktivitelerini belirlemişlerdir. Tüm türlere ait ekstralar yüksek antioksidan ve radikal giderme etkisi göstermiştir. *Helichrysum noeanum* için fosfo molibden metodu kullanılarak kuru ekstrakta yüksek antioksidan kapasitesi askorbik asit eşdeğeri olarak 194,64 mg/g belirlenmiştir. DPPH metodunda ise en yüksek IC<sub>50</sub> *Helichrysum stoechas* subsp. *barellieri*'de 7,95 g/ml olacak şekilde bulmuşlardır. Toplam fenolik içeriği gram kuru ekstrakt başına gallik asit eşdeğeri olarak 66.74 ile 160.63 mg arasında belirlemişlerdir. HPLC analizlerinde ise majör bileşik olarak klorjenik asit onu takiben de apigenin-7-glikozit ile apigenini bulmuşlardır. Çalışılan tüm ekstraktlar agar difüzyon metodu kullanılarak 13 bakteri ve 2 maya karşısında önemli antimikrobiyal aktiviteyi belirlemişlerdir (Albayrak vd., 2010).

M. Zovko Koncic ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada, fenolik bileşiklerin (toplam fenolik içerik, flavonoid ve fenolik asit içerikleri) miktarı yanı sıra onların antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri *Moltkia petraea* (Tratt.) Griseb'in farklı iki lokaliteden alınmış örneklerin yaprak, kök ve çiçek su ekstralarında belirlemişlerdir. Bunlara ek olarak fenolik asit içeriklerini UPLC-MS/MS kullanarak analiz etmişlerdir. Antioksidan aktivite için tüm ekstraktalarda farklı test sistemleri kullanmışlardır. DPPH radikal giderme aktivitesi, indirgeyici güç özelliği, şelatlama aktivitesinin belirlenmesi gibi testler yapıldı. Bu testlerde ekstraktaların konsantrasyonu artıkça aktivitede artış gözlemlenmiştir. *M.*

*Petraea*'nın su ekstresinde disk difüzyon ve dilüsyon metotları ile yapılan deneylerde antimikrobiyal aktivite göstermemişlerdir (Koncic vd., 2010).

Flavonoidler, fenolik asitler, diterpenler ve tanen gibi fenolik bileşenler, yüksek antioksidan aktivite özelliği gösterirler (Shahidi vd., 1992; Rice-Evans vd., 1996). Birçok araştırma, bu bileşiklerin, insanlarda gözlemlenen pek çok hastalığın oluşmasının veya ilerlemesini önlemede önemli bir değer olduğunu göstermiştir (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Halliwell vd., 1992; Willet, 1994; Tsao ve Akhtar, 2005). Bu etkiler bazı değişik faktörlerle (diyet, alkol, bazı ilaçlar gibi) ve aynı zamanda hücre yapısındaki hasarların oluşmasıyla sonuçlanan redoks denge bozukluklarıyla açıklanmıştır (Ames vd., 1993). Bu nedenle, son birkaç yıl içinde, tıbbi bitkilerin bir dizi yoğun polifenoller ve diğer antioksidanların varlığı ve etkinliği araştırılmıştır (Pietta, 1998; Sindambiwe vd., 1999; Halvorsen vd., 2002; Naik vd., 2003; Pegg vd., 2004).

Sentetik antioksidanlardan bütillendirilmiş hidrokianizol, bütillendirilmiş hidroksi toluen ve üçüncül butil hidrokinon gibi sentetik antioksidanlar yaygın olarak gıdalarda kullanılmaktadır. Ancak gıdalarda sentetik antioksidanların kullanımı, toksisite ve kanserojen riskleri nedeniyle önerilmez (Ito vd., 1986). Bu nedenle insanlar hem raf ömrünü uzatmak için hem de kanserojen etkilerin ortadan kaldırılması için çeşitli hastalıkları ve yaşlanmayı ortadan kaldıran doğal antioksidanların elde edilmesi ve kullanılabilirliğinin var olup olmadığının araştırılmasına odaklanılmıştır (Pokorny, 1991).

Meyvelerde, yapraklarda, tohumlarda ve değişik bitki ürünlerinin yağlarında bulunan flavonoidler, tanenler, kumarinler, kurkuminoidler, ksantonlar ve terpenoidler gibi doğal antioksidanlar (Larson, 1988) ve bunların bazıları farklı modelleri sentetik antioksidanlar olarak etki eder (Deshpande vd., 1984). Fenolik içeriğin boyutu monomerlerden tanen gibi uzun zincirli polimerlere ve genellikle karbonhidratlara bağlı olan ya da yüksek molekül ağırlıklı polimerlerin tekrarlayan subünitlerinin parçasına kadar değişir. Bademde yan ürünler olarak çeşitli fenolik bileşikler tespit edilmiştir. Badem tohumunda flavonol glikozitler-isorhamnetin rutinozid, isorhamnetin glucoside, kaempferol rutinozid ve kaempferol glucoside-olarak 4 farklı fenolik bileşik olduğu bildirilmiştir (Harrison ve Were, 2007). Diğer araştırmacılar aynı şekilde badem zıtları ve kabuklarında galaktoz, ramnoz, kaempferol, naringenin, kateşin, protocatechuic asit, vanilik asit ve benzoik asit türevi, glikoza glikosile, quercetin gibi fenolik bileşikleri

belirlemişlerdir. Fenolik bileşikler gıdalarda serbest radikaller ve řelat metalleri tutma özellikleri ile antioksidan olarak hareket ederler (Harrison ve Were, 2007).

### 3. MATERİYAL VE METOT

#### 3.1. MATERİYAL

##### 3.1.1. Kullanılan Bitki Materyalinin Temini

Kullanılan bitki materyalleri Kırıkkale Üniversitesi ADO Herbaryumu'ndan temin edilmiştir.

Tez konusu olan *Alchemilla* cinsi türleri hem geniş hem de endemik olarak bol miktarda yayılış gösterdiği Trabzon ve Gümüşhane'yi birbirine bağlayan karayolu üzerinde Zigana geçidine kadar olan bölgeden ve ayrıca bu karyolunu Gümüşyayla kayak merkezine bağlayan yol üzerinden toplanmıştır. Çalışılan örneklerin defter kayıt numaraları ve depolandıkları herbaryum Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışılan örneklerin defter kayıt numaraları ve depolandıkları herbaryum

Tür adı	Toplayıcı kayıt no	Muhafaza edildiği herbaryum
<i>A. holotricha</i>	Yusuf 1500	ADO
<i>A. persica</i>	Yusuf 1508	ADO
<i>A. cimilensis</i>	Yusuf 1514	ADO

##### 3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kullanılan tüm kimyasallar ve reaktifler analitik yada HPLC sınıfı saflıkta kullanılmıştır. Kateşin(+), gallik asit, folin-ciocalteu reaktifi, 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH·) radikali, ferrozin, trikloroasetik asit (TCA), linoleik asit,  $\alpha$ - tokoferol, Troloks [(±)-6-hidroksi-2.5.7.8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit], ABTS [2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu], kuersetin, sodyum karbonat, sodyum fosfat, sodyum hidroksit, sodyum nitrit, sodyum nitrat, sodyum molibdat, amonyum molibdat, aliminyum klorid, DMSO, hekzan, diklormetan, etil asetat, metanol, etanol, aseton, demir klorür, demir ferro cianat, hidrojen peroksit, 1,10-phenanthroline Sigma Aldrich'den (Almanya) satın

alındı. Mueller Hinton Agar, Patates Dekstroz Agar, butillendirilmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) Merck'ten (Darmstadt/Almanya); tedarik edildi.

### 3.1.3. Kullanılan Laboratuvar Cihazları

Bu çalışmada kullanılan alet ve cihazlar şunlardır:

Mikrobiyolojik emniyet kabini (Bilser), UV-VIS Spektrofotometre (Shimadzu/ Jasco V650), UV-Spektrofotometre küveti (3 cm<sup>3</sup>'lük Kuartz Küvet), Manyetik karıştırıcı (Ika), Isıtmalı su banyosu (Wise Clean), Otomatik pipetler (Brand), Dairesel sallayıcı (Gerhardt), Ultrasonik banyo (Wise Clean WUC-D06H), Derin dondurucu (-86 °C, Hettich/ Nuair), Döner evaporatör (Ika RV06-ML), pH-metre (Hanna Instrument), Hassas terazi (Precisa/ Denver ), İnkübatör (Elektro-Mag 0-300°C) Vorteks (Ika MS3 Basic), Saf su cihazı (GFL 2004), Dispenser (Isopenser), Santrifüj (Hettich Universal 320), Buzdolabı (4°C, Arçelik), Otoklav (Hirayama), Etüv (Memmert 100-800).

### 3.1.4. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

#### 3.1.3.1. Toplam fenol içeriği tayini ile ilgili çözeltiler

1. % 10'lik Folin-Ciocalteu Reaktif (FCR) için: 10 ml FCR alındı. Toplam hacim 100 ml olacak şekilde distile su ile tamamlandı.

2. % 2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi için: 2 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> bir miktar destile suda çözülüp toplam hacim destile suyla 100 ml'ye tamamlandı.

#### 3.1.3.2. Toplam flavanoid içeriği tayini ile ilgili çözeltiler

1. %15'lik NaNO<sub>2</sub> çözeltisi için: Toplam hacim 100 ml olacak şekilde 15 g NaNO<sub>2</sub> destile suda çözüldü.

2. %4'lük NaOH çözeltisi: Toplam hacim 100 ml olacak şekilde 4 g NaOH destile suda çözüldü.

3. %10'lük AlCl<sub>3</sub> çözeltisi: Toplam hacim 100 ml olacak şekilde 10 g AlCl<sub>3</sub> destile suda çözüldü.

4. Standart kateşin çözeltisi için: 1 mg kateşin 1 ml metanolde çözüldü.

### **3.1.3.3. Toplam fenolik asit içeriğinin saptanması ile ilgili çözeltiler**

1. Standart gallik asit çözeltisi için: 1 mg gallik asit 1 ml metanolde çözüldü.
2. Fenolik asit içeriğinin ölçümü için reaktif hazırlanması: 10'ar g  $\text{NaNO}_3$  ve  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$  alınarak toplam hacim destile suyla 100 ml'ye tamamlandı.
3. 0,5 M'lık HCl çözeltisi için: Toplam hacim 200 ml olacak şekilde 8,2 ml HCl distile suda çözüldü.
4. % 8,5'lik NaOH çözeltisi için: Toplam hacim 60 ml olacak şekilde distile suda 5,10 g NaOH çözüldü.

### **3.1.3.4. DPPH Radikalinin Etkisinin Giderilmesi ile ilgili çözeltiler**

1. 0,1 mM'lık DPPH çözeltisi için: 200 ml metanol içinde 4 mg DPPH karıştırılarak tamamen çözüldü.

### **3.1.3.5. Toplam indirgeme kuvveti tayini ile ilgili çözeltiler**

1. % 10'luk TCA çözeltisi için: Toplam hacim 400 ml olacak şekilde 40 g TCA destile suda çözüldü.
2. % 0,1'lik  $\text{FeCl}_3$  çözeltisi için: Distile suda 330 mg  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  çözüldü ve toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı.
3. % 1'lik  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  çözeltisi için: 100 ml distile suda 1 g  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  karıştırılarak tamamen çözüldü.
4. 0,2 M'lık fosfat tamponunu için: 4.8 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  bir miktar destile suda çözüldü. Daha sonra NaOH ve distile su kullanılarak pH'sı 6,6 olacak şekilde toplam hacim 200 ml'ye tamamlandı.

### **3.1.3.6. Toplam B-Karoten Ve Likopen İçeriğinin Belirlenmesi**

1. Aseton-hekzan çözeltisinin hazırlanması: 40 ml aseton ile 60 ml hekzan balon joje içinde iyice karıştırılarak 100 ml'lik çözelti hazırlandı.

### 3.1.3.7. Hidrojen peroksit giderme aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler

1. 40 mM'lık  $H_2O_2$  çözeltilisinin hazırlanması: 408  $\mu$ l %30'luk  $H_2O_2$ 'den alınarak 100 ml 0,1 M'lık fosfat tamponunda çözüldü.

2. 0,1 M'lık fosfat tamponu için: 12 g  $NaH_2PO_4$  bir miktar suda çözüldü. Daha sonra 1 M'lık NaOH ve distile su ile pH'sı 7,4 olacak şekilde 1000 ml'ye tamamlandı.

### 3.1.3.8. Hidroksil Radikali Giderme Özelliğinin Ölçülmesi

1. 1mM  $FeCl_2$  çözeltilisinin hazırlanması: 0,05g  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$  alındı ve son hacim 250 ml olacak şekilde distile suda çözüldü.

2. 0,17 M  $H_2O_2$  çözeltilisinin hazırlanması: 4,714  $\mu$ l  $H_2O_2$  alınarak 2 ml distile suda çözüldü.

3. 0,2 M fosfat tamponu hazırlanması (pH 7,8): 1,92 g  $NaH_2PO_4 \cdot 5H_2O$  alındı ve 50 ml suda çözüldü. 1M'lık NaOH çözeltisi ile pH metre kullanılarak pH'sı 7,8'e ayarlandı.

4. 1mM'lık 1,10-phenanthroline hazırlanması: 0,018 gr 1,10-phenanthroline tartılarak 100 ml ethanol'de çözüldü.

### 3.1.3.9. Metal şelatlama kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler

1. 5 mM'lık ferrozin çözeltisi için: 40 ml metanolda 0,0492 g ferrozin vorteks yardımıyla tamamen çözüldü.

2. 2 mM'lık  $FeCl_2$  çözeltisi için: 40 ml metanolde 0,0160 g  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$  vorteks yardımıyla tamamen çözüldü.

### 3.1.3.10. Toplam antioksidan aktivite tayini ile ilgili çözeltiler

Toplam antioksidan aktivite tayini için reaktif hazırlanması için öncelikle 0,6 M'lık  $H_2SO_4$ , 28 mM'lık  $NaH_2PO_4$  tamponu ve 4nM'lık  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$  (amonyum molibdat) çözeltilisine ihtiyaç vardır.

1. 0,6 M'lık  $H_2SO_4$  çözeltisi için: 6,6 ml  $H_2SO_4$  bir miktar destile suda çözüldü.



2. 4 mM'lık amonyum molibdat çözeltisi için: 0,99 g  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  bir miktar destile suda çözüldü.

3. 28 mM'lık  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  tamponu için: 0,68 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  bir miktar destile suda çözüldü.

Bu çözeltiler hazırlandıktan sonra balon jodede karıştırıldı ve toplam hacimleri 200 ml olacak şekilde distile su eklendi.

### **3.1.3.11. Kullanılan Besiyerlerinin Hazırlanması**

1. Nutrient Broth Besiyerinin Hazırlanması: 13 g Nutrient Broth toplam hacmi 1000 ml olacak şekilde distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Daha sonra hazırlanan besiyeri otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edildi ve saklanmak üzere buzdolabına kaldırıldı.

2. Mueller Hinton Agar Besiyerinin için: 34 g Mueller Hinton Agar toplam hacmi 1000 ml olacak şekilde distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Ardından hazırlanan besiyeri otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edildi. 45 °C'ye kadar soğutulduktan sonra steril koşullarda steril petri kaplarına 30'ar ml aktarıldı. Hem katılaşması hem de kullanılacak zamana kadar saklanması için buzdolabına konuldu.

3. Potato Dekstroz Agar Besiyerinin Hazırlanması: 19,5 g PDA toplam hacmi 500 ml olacak şekilde distile su eklenerek manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Daha sonra hazırlanan besiyeri 121 °C'de 15 dakika steril edildi. 45 °C'ye kadar soğutulduktan sonra steril koşullarda steril petri kaplarına 30'ar ml aktarıldı. Hem katılaşması hem de kullanılacak zamana kadar saklanması için buzdolabına konuldu.

### **3.1.3.12. Kullanılan Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması**

Agar disk difüzyon metodu için 6 mm çapındaki steril diskler DMSO'da çözdürülerek 25 mg/ml konsantrasyonundaki ekstraktlar ile 20 µl olacak şekilde emdirildi.

4°C'de buzdolabında saklanan stok mikroorganizma kültürleri Nutrient Broth sıvı besiyeri içeren tüplerinoküle edildi ve 37°C'de 6 saat beklendi.

Bu süre sonunda mikroorganizma kolonileri besiyerlerinden öze yardımıyla alınarak distile su içerisinde süspanse edildi ve Mc Farland 0,5 bulanıklık tüpleriyle karşılaştırılarak  $10^6$  bakteri/ml'lik dilüsyon hazırlandı.

Ardından bekletilen mikroorganizma kültürlerinin Mueller Hinton Agar bulunan petri kaplarına ekimi yapıldı. Ve bu petri kapları da 37 °C'de 24 saat bekletildi.

Hazırlanan bu kültür potato dekstroz agar içeren petrilere 200'er µl aktarıldı ve eküvyon çubuğu ile mikroorganizmaların ekimi yapıldı.

## **3.2. METOT**

### **3.2.1. Ekstraksiyon Tekniği**

Kuru bitki örneklerinin her birisi havanda ezilerek toz haline getirildi. Sonrasında toz halindeki materyal apolar çözücünden polar çözücüye doğru ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. Bunun için ilk hekzan fraksiyonundan başlamak üzere sırasıyla diklorometan, etil asetat, metanol ve sonrasında distile suda 24 saat boyunca çalkalamalı bir karıştırıcıda dakika da 150 rpm olacak şekilde karıştırıldı. Sonrasında ise bu ekstrakt sıvısı süzülerek süzülen kısım basıncı azaltılmış rotaevaporatörde çözücüsü uçurularak ekstrakt elde edildi. Elde edilen ekstrakt içerisinde  $CaCl_2$  konulmuş vakumlu bir desikatöre transfer edilmiş ve ekstraktın tamamen kurutulması ve nemden korunması sağlandı. Sonrasında ise süzüntüde kalan bitki ikinci ve üçüncü kez hekzanfraksiyonuna alınarak aynı işlemler diğer tekrarlandı. Yapılan bu işlemler diğer çözücüler için de tekrarlandı. Böylece her bitki türüne ait 5 tane farklı fraksiyon elde edilmiş oldu (Mingbo vd., 2005).

### **1.2.2. Antioksidan Aktiviteyi Araştırma Teknikleri**

#### **3.2.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini**

Ekstreler içerisindeki toplam fenol miktarı Folin-Ciocaltaeu yöntemine (Gamezmeza vd., 1999) göre yapılmıştır. Standart olarak kullanılan gallik asit ve çalışılan bütün örnekler, %70'lik metanol içinde hazırlanmıştır. 0.5 ml örnek, 2.5 ml Folin Ciocaltaeu reaktifi ve 7.5 ml sodyum karbonat çözeltisi deney tüpüne karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre sonunda çözeltilerin absorbansları UV

Spektrofotometresi'nde 760 nm'de okunarak toplam fenol miktarları; gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg gallik aside eşdeğer olacak şekilde hesaplandı (Gamez-meza vd.,1999).

### **3.2.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi**

Toplam Flavonoid miktarının belirlenmesi için, bitki ekstraktından 250 µl alınarak 1,25 ml. distile suyun içerisine aktarılır bu karışımın üzerine 75 µl % 5'lik NaNO<sub>2</sub> solüsyonu eklenerek karıştırılır. 5 dakika sonra % 10'luk AlCl<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O solüsyonu bu çözeltiliye eklenerek karıştırılır. Bunu takip eden altıncı dakikada, 1 M NaOH'dan 500 µl eklenir üzerine 275 µl distile su eklenerek tüm karışım çok iyi ve nazikce karıştırılır. Ortaya çıkacak olan pembe renk 415 nm'de okunarak daha önceden hazırlanan (+)-kateşin standart kalibrasyon grafiğinde göre okunarak (+)-Kateşin eşleneği olarak toplam flavonoid içeriği bitkin kilogramında miligram cinsinden hesaplandı (Barros vd., 2007).

### **3.2.2.3. Toplam Fenolik Asit İçeriği (TPA)**

Taze olarak hazırlanacak bitki ekstraktı (1.0 mL) 0.5 M hidroklorik asit (2.0 mL) ve 10 g sodyum nitrit 10 g sodyum molybdatenin 100 mL suda çözdürülmesiyle hazırlanan reagent (2.0 mL) eklendi. Bunu takiben % 8,5'lik sodyum hidroksitten 2 ml eklendi. Daha sonra son hacim 10 mL olacak şekilde distile su ilave edildi. Absorbans 505 nm de okutuldu. Kör olarak her bir ekstrakt için 10 ml su kullanıldı. Toplam fenolik asit içeriği sinapik asit kullanılarak standart kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Bu kalibrasyon eğrisinden sinapik asit eş değeri (mg/g) olarak toplam fenolik asit içeriği hesaplandı (Koncic vd., 2010).

### **3.2.2.4. Toplam B-Karoten ve Likopen İçeriğinin Belirlenmesi**

Karotenoidlerin içeriği Barros ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalardaki metot kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmesi için bitki ekstrakt örneklerinden 100 mg alınarak 10 ml Aseton-hekzan (4:6) karışımı içerisine konularak 1 dakika süresince iyi bir şekilde karıştırılarak Whatman No. 4 filtre kağıdıyla süzülür. Süzütünün absorbans

değerleri 453, 505 ve 663 nm. Dalga boylarında ölçümler yapılır.  $\beta$ -karoten ve Likopen içerikleri standart grafiklerle değerlendirilerek kilogram bitkideki karotenoid miktarı miligram cinsinden hesaplanır ( Barros vd., 2007).

$\beta$ -karoten ve Likopen içerikleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\beta\text{-karoten (mg/100 ml)} = 0,216A_{663} - 0,304A_{505} + 0,452A_{453} \quad (1.a)$$

$$\text{Likopen (mg/100 ml)} = -0,0458A_{663} + 0,372A_{505} - 0,0806A_{453} \quad (1.b)$$

Formülde  $A_{663}$ ; 663 nm,  $A_{505}$ ; 505 nm ve  $A_{453}$  ise 453 nm dalga boylarında okunan absorpsiyon değerlerini ifade etmektedir. Sonuçlar g ekstredeki mg karotenoid miktarı cinsinden hesaplandı.

### 3.2.2.5. DPPH Radikalinin Etkisinin Giderilmesi

Sulu bitki solüsyonları değişik konsantrasyonlarda ya da fenolik ekstraktın (0.3 ml) içerisinde litrede  $6 \times 10^{-5}$  mol olacak şekilde hazırlanan DPPH radikali içeren 2.7 ml metanolik solüsyon karıştırılır. Bu karışım güçlü bir şekilde karıştırılarak 60 dakika karanlık bölgede bekletilir. DPPH radikalinin azalması 517 nm'de absorpsiyonun ölçülmesi ile kararlaştırılacaktır. Bu radikalın etkinliğinin giderilmesi çalışmaları çeşitli araştırmacıların ortaya koydukları metodu takiben yapılacaktır (Hatano vd., 1988). Radikalın etkinliğinin giderilmesi için bitkiden elde edilen ekstrakt ile radikal karıştırılarak spektrofotometrik olarak okuma yapıldı ve bu okuma sonucunda DPPH'nin renginin giderilmesi ile etkinliğin miktarı hesaplandı. DPPH radikali giderilmesi aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{numune}}}{A_{\text{kontrol}}} = 100 \quad (2)$$

Burada  $A_{\text{kontrol}}$ , kontrol ya da körün absorpsiyonu,  $A_{\text{numune}}$  ise ekstraktın varlığında ölçülen absorpsiyonu ifade eder.

### 3.2.2.6. İndirgeyici Güç Özelliğinin Ölçülmesi

Değişik konsantrasyonlar da sulandırılmış bitki örnekleri ya da fenolik ekstraktlar dan 2,5 ml alınarak 2,5 ml pH: 6,6 olan litresinde 200 mmol bulunacak şekilde hazırlanan sodyum fosfat tamponu ile %1'lik 2,5 ml potasyum feri cianit ile karıştırılarak ve 50 derece de 20 dakika inkübe edilir. Üzerine %10'luk hazırlanan tri kloroasetik asitten 2,5 ml. katılır ve bu karışım 1000 rpm'de 8 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında üst faz alınarak yaklaşık 5 ml üzerine 5 ml deiyonize su ve 1 ml % 0,1'lik demir klorid konularak spektrofotometrik olarak 700 nm.'de okuması yapılmıştır. Yüksek absorbans yüksek indirgeyici özelliği göstermiştir. BHA ve  $\alpha$ -tocoferol standartlarına karşı hesaplama yapılmıştır (Oyaizu, 1986).

### 3.2.2.7. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi Tayini

Çalışmada kullanılan bitki ekstraktları ve sentetik antioksidant maddelerin çeşitli konsantrasyonlarındaki su ile hazırlanan çözeltilerinin hidrojen peroksit giderme aktivite tayini Ruch ve ark. (1989) metoduna göre tayin edildi. Bitki ekstraktlarının çözeltilerinden 0.4 ml alındı ve üzerine 100 mM pH 7.4 fosfat tamponunda hazırlanan hidrojenperoksit ( $H_2O_2$ )( 40 mM, 0.6 ml) ilave edildi,  $H_2O_2$  ilave edilir edilmez karışımın 230 nm deki absorbansı köre karşı okundu.  $H_2O_2$  giderme aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$H_2O_2 \text{ giderme aktivitesi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{numune}}}{A_{\text{kontrol}}} = 100 \quad (3)$$

Burada  $A_{\text{kontrol}}$ , kontrol ya da körün absorbansı,  $A_{\text{numune}}$  ise ekstraktın varlığında ölçülen absorbansı ifade eder (Ruch vd. 1989).

### 3.2.2.8. Hidroksil Radikali Giderme Özelliğinin Ölçülmesi

Hidroksil radikali giderme özelliği Fenton reaksiyonu ( Yu vd., 2004) ile analiz edilmiştir. Bu reaksiyona göre reaksiyon karışımı 1 mM  $FeCl_2$ 'den 60  $\mu$ l, 1 mM 1,10-

phenanthroline'den 90 µl, 0,2 M fosfat tamponundan (pH 7,8)'den 2,4 ml, 0.17 MH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den 150 µl ve 1,5 ml değişik konsantrasyonlarda ekstrakt eklenerek hazırlanmıştır. Bu karışıma H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin eklenmesiyle reaksiyon başlatılır. Oda sıcaklığında yapılan 5 dakikalık inkübasyon sonrasında spektrofotometre kullanılarak 560 nm.'de yapılan ölçüm sonrasında hidroksil radikalini uzaklaştırma aktivitesi aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı (Yu vd., 2004).

$$\text{Uzaklaştırma Oranı} = \frac{A_1 - A_2}{A_0} \times 100 \quad (4)$$

Burada A<sub>0</sub>, kontrolün (ekstrakt olmaksızın) absorpsiyonu, A<sub>1</sub>, ekstrakt varlığında alınan absorpsiyon değeri, A<sub>2</sub> ise 1,10- phenanthroline olmaksızın alınan absorpsiyon değeridir.

### 3.2.2.9 Metal Şelatlama Aktivitesinin Ölçülmesi

Metal şelatlama aktivitesine demir şelatlama özelliği üzerinden bakıldı. Dinis ve ark. metoduna göre yapılmıştır. Bu özellik belirlenmesi kısaca; her bir 0,5 ml ekstrakt'a 1,6 ml deiyonize su ve 0,05 ml 2 mM FeCl<sub>2</sub>'den eklenerek başlatılmıştır. 30 saniye sonrasında 5 mM Ferrozine'den 0,1 ml eklenmiştir. Ferrozine iki değerlikli demir ile reaksiyona girdiğinde suda çok iyi çözünür hale gelir. Bunu takiben 10 dakika oda sıcaklığında bekletilecek karışımın Fe<sup>+2</sup> Ferrozine kompleksinin absorpsiyonu 562 nm.'de ölçülmüştür. Böylelikle ekstraktın demiri şelatlama aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (Dinis vd., 1994).

$$\text{Şelatlama oranı} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{numune}}}{A_{\text{kontrol}}} = 100 \quad (5)$$

Burada A<sub>kontrol</sub>, kontrol ya da körün absorpsiyonu, A<sub>numune</sub> ise ekstraktın varlığında ölçülen absorpsiyonu ifade eder.

### 3.2.2.10. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

Örneklerinin antioksidan aktiviteleri phosphomolybdenum yöntemi ile Prieto ve ark. göre değerlendirildi ve askorbik asit eşdeğeri olarak ifade edildi. Kısaca, 0,4 mL metanolde çözdürülmüş ekstrakt ile 4 mL reaktif çözeltisi ( 0,6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) karıştırıldı. Kör olarak bitki ekstraktı yerine metanol kullanıldı. Reaksiyon karışımı vortex ile karıştırıldı ve su banyosunda 90 dakika süreyle 95 °C' de bekletildi. Absorbans 695 nm dalga boyunda ölçüldü. Antioksidan aktivitesi, askorbik asit eşdeğeri (AAE mg / 1 gr bitki) olarak hesaplandı (Prieto vd., 1999).

## 1.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Araştırma Yöntemleri

### 1.2.3.1. Test Mikroorganizmalarının Seçimi

Çalışmada kullanılacak olan test mikroorganizmaları Refik Saydam Hıfzısıha merkezinden elde edilmiştir. Mikroorganizma olarak Gram (+), Gram (-) ve maya kullanılmıştır. (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae* EMCS, *Saccharomyces cerevisiae* RSKK04017).

### 3.2.3.2. Agar Disk Difüzyon Metodu

Antimikrobiyal aktivite testleri Berghe ve Vlietinck tarafından açıklanan metoda göre yapılmıştır. Bitki ekstraktları 100 mg/ml olacak şekilde %100 dimetillsulfoksit (DMSO) içerisinde çözülmüştür. HPLC saflıkta filtrasyon yapan 0.22 µm'lik Nylon membran filtreler kullanılarak süzülen ekstraktlar kullanılmıştır. Testte kullanılacak mikroorganizmaların kültür süspansiyonundan 200µl (yaklaşık olarak mc farland 0,5 eşitliğine göre 10<sup>6</sup> koloni içerir) Mueller Hinton agar ve Sabouraud dextrose-agara sırasıyla yayıldı. Sonrasında 3 mm kalınlık ve 6 mm çapa sahip disklere 50µl filtreden süzülüp steril bir ortamda tutulan her bir ekstrakt emdirildi. Bu diskler steril bir pens yardımıyla üzerinde bakteri ekilmiş olan petri kapları içerisindeki besiyerine yerleştirildi. Negatif kontrol olarak 50µl DMSO emdirilmiş diskler kullanıldı. Streptomisin referans

antimikrobiyal ajan olarak kullanıldı. Sonrasında petri kapları 1 saat 4 derecede sonrasında 24 saat 37 derecede inkübe edildi. Antimikrobiale aktivitenin belirlenmesi ekstrakt emdirilmiş disklerin etrafındaki zonların ölçülmesi ile sağlandı (Berghe ve Vlietinck, 1998).

#### **1.2.4. İstatistiksel Analizler**

Tüm ölçümler 3 kez tekrarlandı ve yapılan analizler student's t-test programı kullanılarak  $p < 0,05$  değerleri aralığında belirlendi.



## 4. BULGULAR

### 4.1.Özüt Verimleri

*Alchemilla* L. (Rosaceae) cinsine ait bitkilerinden takip eden ekstraksiyon ile elde edilen hekzan, diklorometan, etilasetat, metanol ve su özüt verimleri Tablo 2’de verilmiştir.

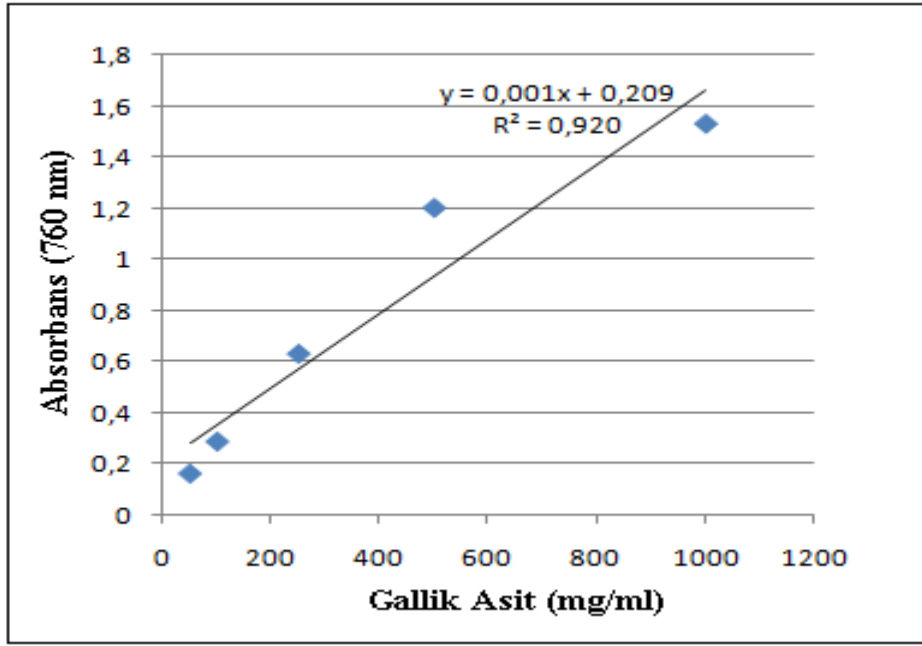
Tablo 2. *Alchemilla* L. türlerinin özüt verimleri

Ekstraksiyon çözücüsü	Verim (%)		
	<i>A. holotricha</i>	<i>A. persica</i>	<i>A. cimilensis</i>
Hekzan	0,12	0,93	0,26
Diklorometan	0,53	0,27	0,66
Etil asetat	0,93	1,50	0,29
Metanol	0,36	0,34	0,43
Su	0,33	0,25	0,80

### 4.2. Antioksidan Aktivite Bulguları

#### 4.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Çözeltilerin absorbansları UV Spektrofotometresi’nde 760 nm’de okunarak toplam fenol miktarları; gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg gallik aside eşdeğer olacak şekilde hesaplandı (Şekil 1).



Şekil 1. Toplam fenol içeriği için gallik asit ile hazırlanan standart grafik

Alchemilla L. Cinsine ait 3 tür ile yapılan çalışma sonuçları Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri (mg GAE/g ekstre)

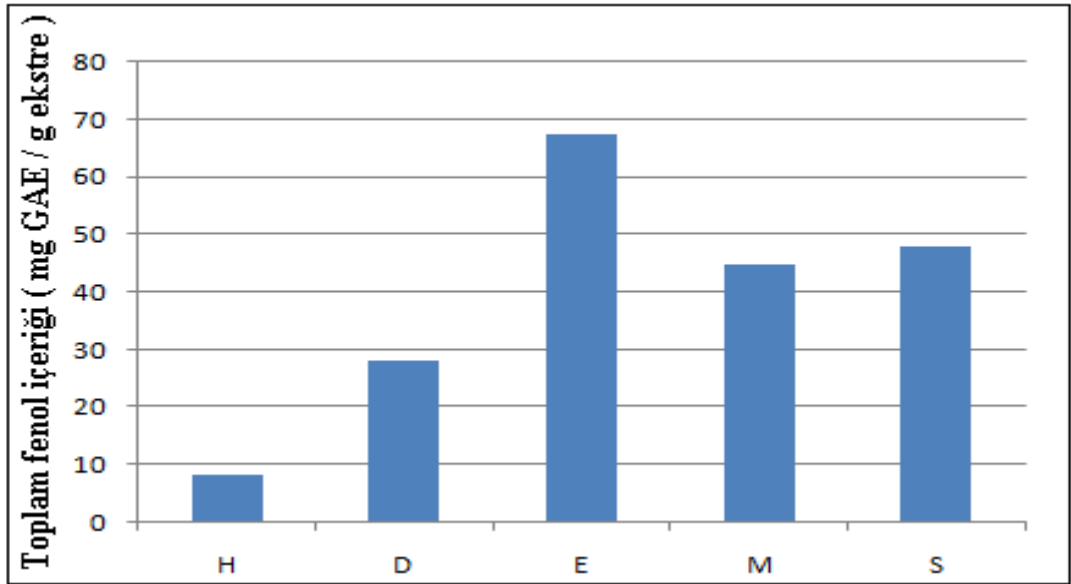
	<b>Numuneler</b>	<b>mg GAE/g ekstre</b>
<i>A. holotricha</i>	Hekzan	8,050 ± 1,25
	Diklorometan	28,323 ± 1,33
	Etil asetat	67,632 ± 1,45
	Metanol	45,985 ± 2,01
	Su	48,167 ± 0,70
<i>A. persica</i>	Hekzan	15,433 ± 0,44
	Diklorometan	15,634 ± 0,18
	Etil asetat	61,105 ± 1,03
	Metanol	54,155 ± 1,16
	Su	52,747 ± 0,98
<i>A. cimilensis</i>	Hekzan	10,025 ± 0,11
	Diklorometan	45,765 ± 0,88
	Etil asetat	67,863 ± 0,24
	Metanol	57,538 ± 0,45
	Su	57,065 ± 0,78

*A. holotricha* türünün çeşitli çözücü ekstralarında bulunan toplam fenolik içerikleri sırasıyla incelendiğinde Etil asetat ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklinde bulundu. Bu değerler sırasıyla  $67,632 \pm 1,45 > 48,167 \pm 0,70 > 45,985 \pm 2,01 > 28,323 \pm 1,33 > 8,050 \pm 1,25$  olarak hesaplandı.

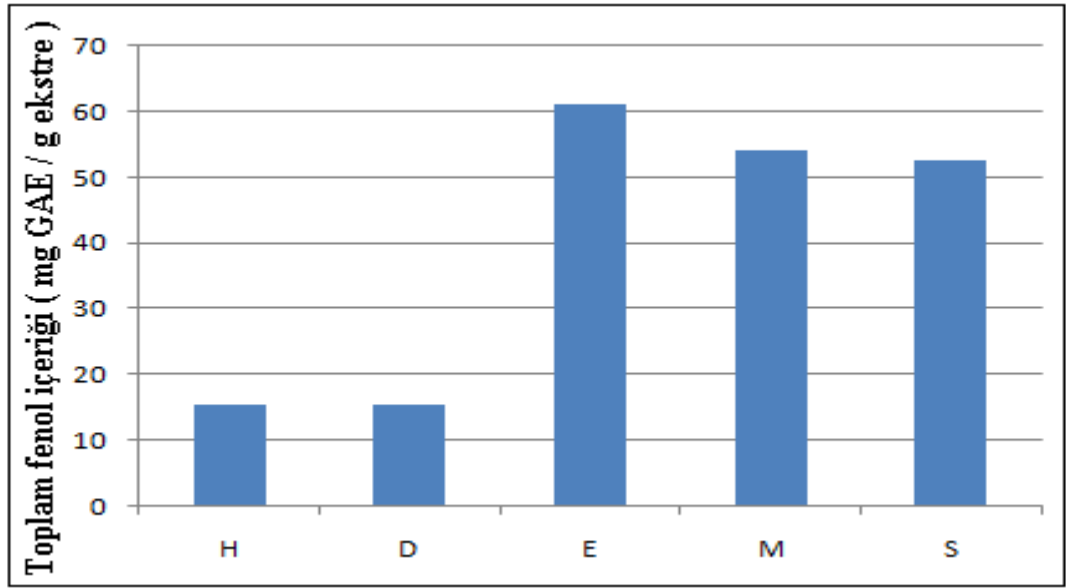
*A. persica* türü için çeşitli çözücü ekstralarında bulunan toplam fenolik madde içerikleri ise Etil asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla  $61,105 \pm 1,03 > 54,155 \pm 1,16 > 52,747 \pm 0,98 > 15,634 \pm 0,18 > 15,433 \pm 0,44$  olarak hesaplandı.

*A. cimilensis* için çeşitli çözücü ekstralarında bulunan toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla Etil asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla  $67,863 \pm 0,24 > 57,538 \pm 0,45 > 57,065 \pm 0,78 > 45,765 \pm 0,88 > 10,025 \pm 0,11$  olarak hesaplandı.

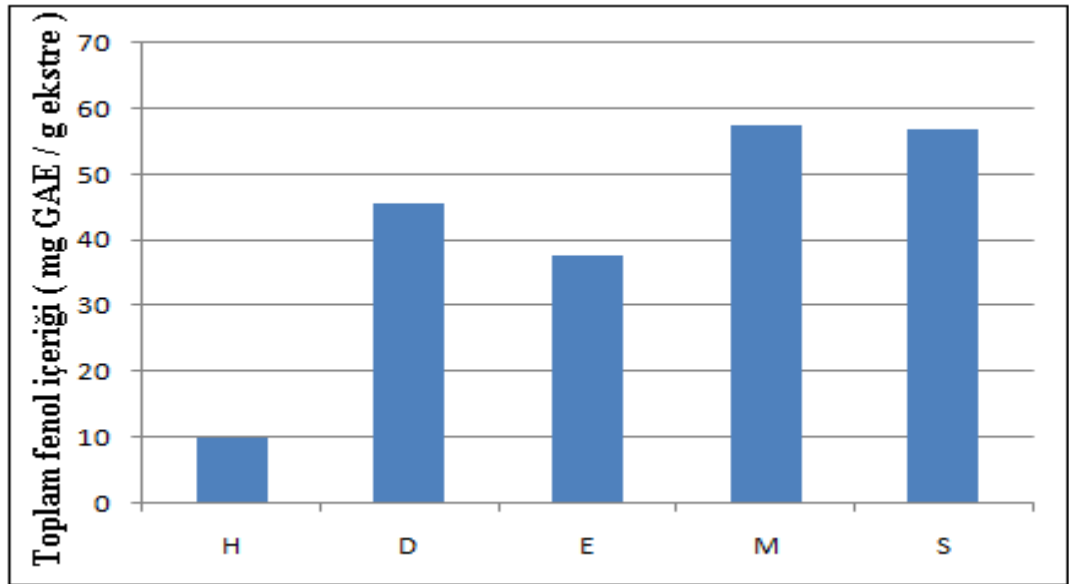
Çalışma sonuçlarında ifade edildiği üzere metanol ve su ekstralarında bulunan fenolik madde miktarı, diğer çözücü ekstralarına oranla daha fazla çıkmıştır. Hekzan ekstresinin her 3 bitki örneği için yapılan çalışmada da en az fenolik madde içerdiği saptanmıştır. 3 bitki örneğiyle yapılan çalışma sonuçları şekil 2, şekil 3 ve şekil 4'te grafik olarak verilmiştir.



Şekil 2. *A. holotricha* türünün çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenol içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



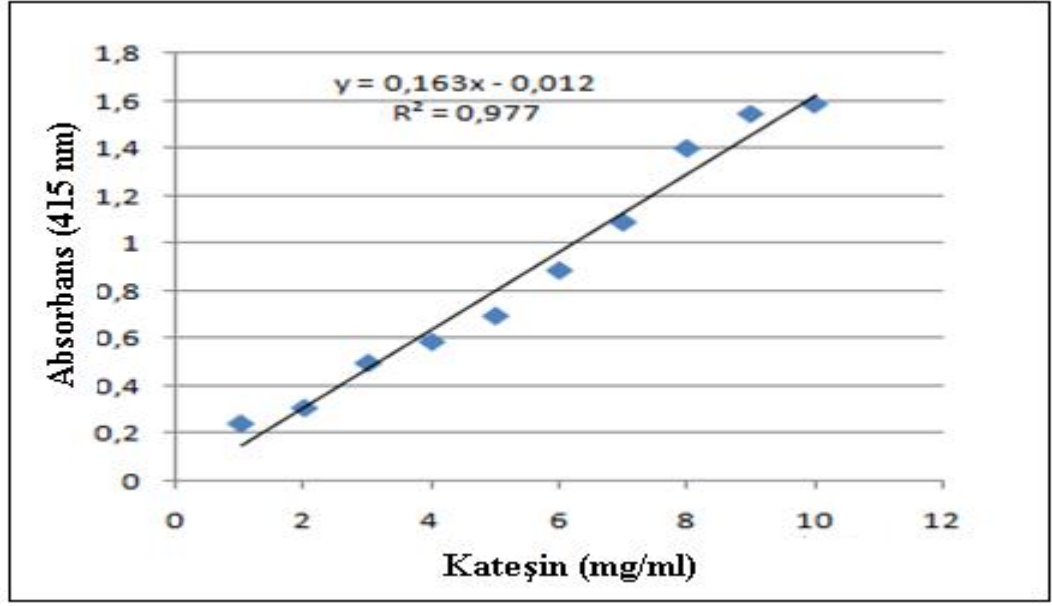
Şekil 3. *A. persica* türünün çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenol içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 4. *A. cimilensis* bitkisinin çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenol içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)

#### 4.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Çözeltilerin absorbanları UV Spektrofotometresi'nde 415 nm'de okunarak toplam flavonoid miktarları; (+)-kateşin standart kalibrasyon eğrisine göre, miligram cinsinden hesaplandı. (+)-Kateşin standart kalibrasyon grafiği Şekil 5'de verilmiştir.



Şekil 5. Toplam flavonoid içeriği tayini için catechin ile hazırlanan standart grafik

Tablo 4'de Alchemilla L. Cinsine ait 3 tür ile yapılan çalışma sonuçları verilmiştir.

Tablo 4. Ekstrelerin toplam flavonoid içerikleri (mg C/g ekstre)

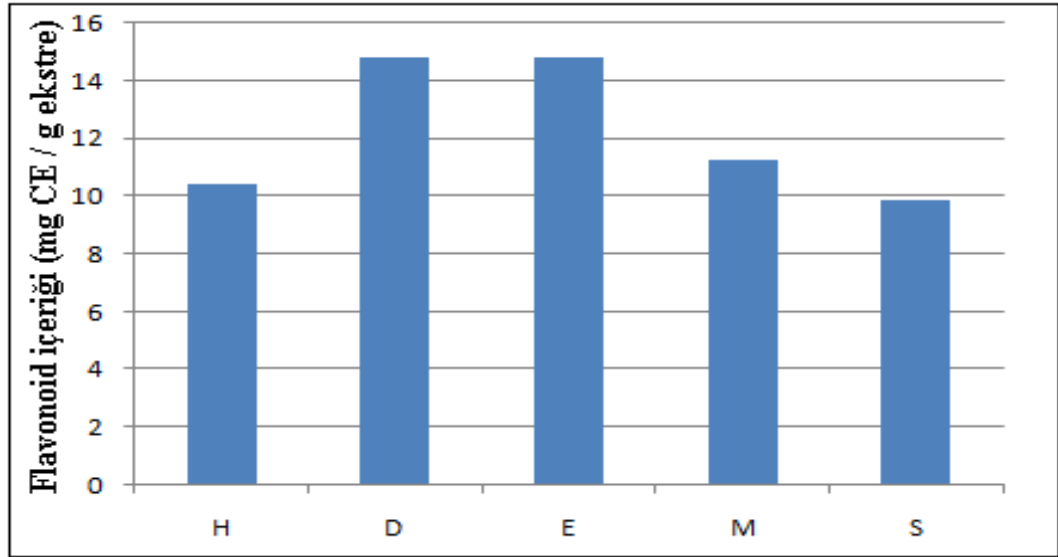
	Numuneler	mg C /g ekstre
<i>A. holotricha</i>	Hekzan	10,462 ± 0,15
	Diklorometan	14,823 ± 0,38
	Etil asetat	14,825 ± 0,71
	Metanol	11,294 ± 0,58
	Su	9,859 ± 0,45
<i>A. persica</i>	Hekzan	8,466 ± 1,33
	Diklorometan	10,037 ± 1,56
	Etil asetat	17,945 ± 1,02
	Metanol	13,546 ± 0,98
	Su	9,736 ± 0,75
<i>A. cimilensis</i>	Hekzan	8,478 ± 0,48
	Diklorometan	10,914 ± 1,03
	Etil asetat	13,712 ± 1,07
	Metanol	12,834 ± 0,81
	Su	10,116 ± 0,65

*A. holotricha* için çeşitli çözücü ekstralarında bulunan toplam flavonoid içerikleri sırasıyla Etil asetat ekstresi = Diklorometan ekstresi > Metanol ekstresi > Hekzan ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla  $14,825 \pm 0,71 > 14,823 \pm 0,38 > 11,294 \pm 0,58 > 10,462 \pm 0,15 > 9,859 \pm 0,45$  olarak hesaplandı.

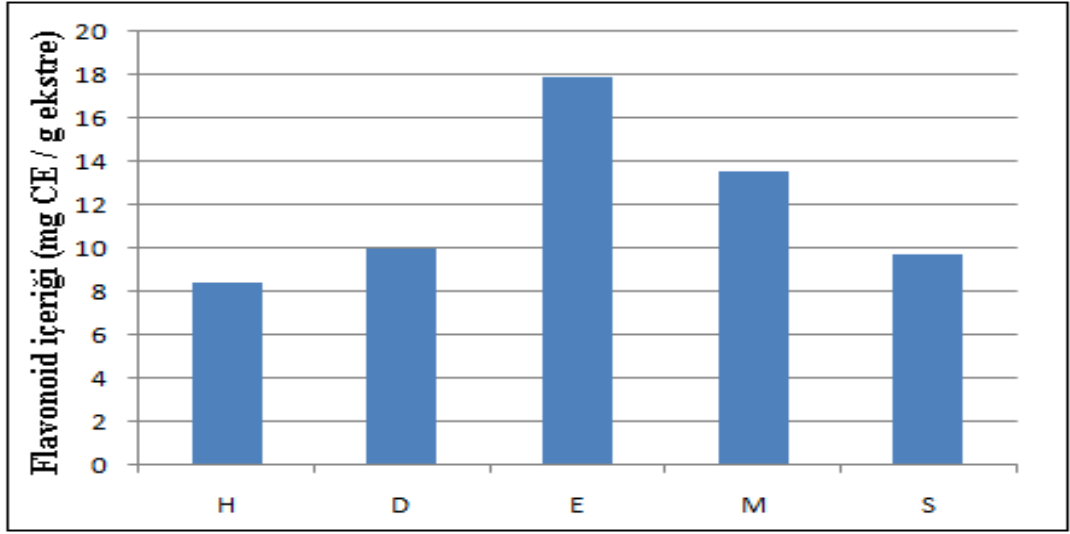
*A. persica* için çeşitli çözücü ekstralarında bulunan toplam flavonoid içerikleri sırasıyla Etil asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Su ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla  $17,945 \pm 1,02 > 13,546 \pm 0,98 > 10,037 \pm 1,56 > 9,736 \pm 0,75 > 8,466 \pm 1,33$  olarak hesaplandı.

*A. cimilensis* için çeşitli çözücü ekstralarında bulunan flavonoid içerikleri sırasıyla Etil asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Su ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla  $13,712 \pm 1,07 > 12,834 \pm 0,81 > 10,914 \pm 1,03 > 10,116 \pm 0,65 > 8,478 \pm 0,48$  olarak hesaplandı.

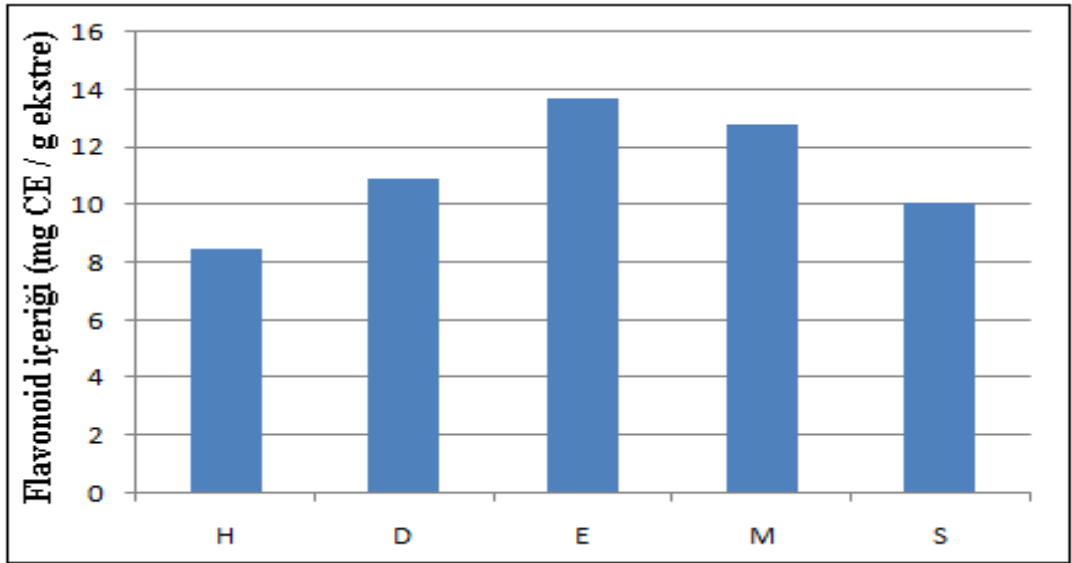
Çalışma sonuçlarında görüldüğü gibi etil asetat ekstralarında bulunan toplam flavonoid madde miktarı, diğer çözücü ekstralarına oranla daha fazla çıkmıştır. Hekzan ve su ekstralarının ise her 3 bitki örneği için yapılan çalışmada da en az toplam flavonoid içerik bulunduğu görülmüştür. 3 bitki örneğiyle yapılan çalışma sonuçları şekil 6, şekil 7 ve şekil 8'de grafik olarak verilmiştir.



Şekil 6. *A. holotricha* çeşitli çözücü ekstralarının toplam flavonoid içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



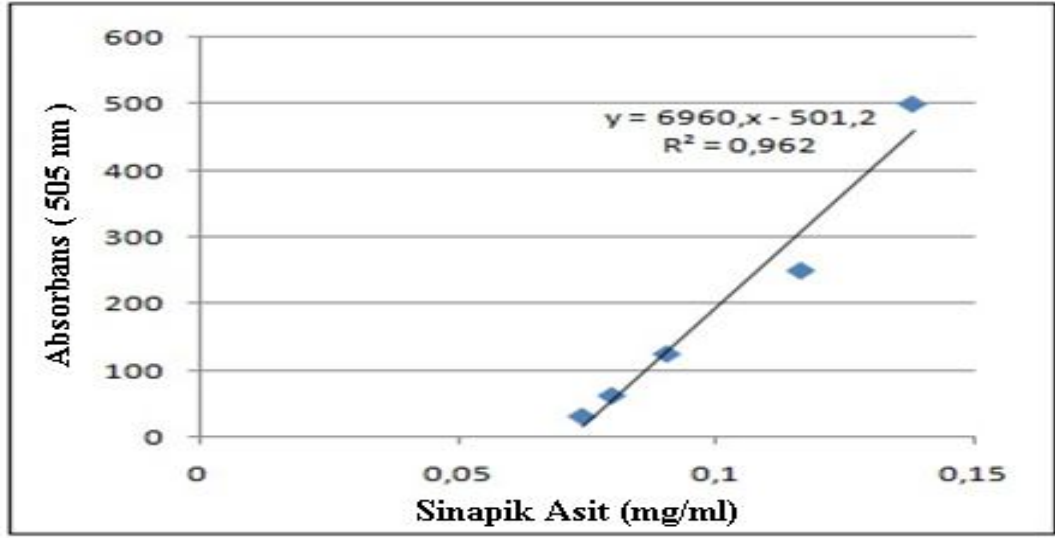
Şekil 7. *A. persica* çeşitli çözücü ekstralarının toplam flavonoid içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 8. *A. cimilensis* çeşitli çözücü ekstralarının toplam flavonoid içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)

#### 4.2.3. Toplam Fenolik Asit İçeriği (TPA)

Örneklerin fenolik asit içeriği için standart grafiği için 25-500 ppm konsantrasyonları arasında hazırlanan konsantrasyonlar 505 nm dalga boyunda spektrofotometre kullanılarak okutuldu. Toplam fenolik asit içeriği bu standart kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı (Şekil 9).



Şekil 9. Fenolik asit tayini için sinapik asit ile hazırlanan standart grafik

Alchemilla L. Cinsine ait 3 tür ile yapılan çalışma sonuçları Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5. Ekstrelerin toplam fenolik asit içerikleri (mg SAE/g ekstre)

	Numuneler	mg SAE/g ekstre
<i>A. holotricha</i>	Hekzan	0,7216 ± 0,21
	Diklorometan	0,7208 ± 0,24
	Etil asetat	0,7206 ± 0,26
	Metanol	0,7205 ± 0,27
	Su	0,7204 ± 0,34
<i>A. persica</i>	Hekzan	0,7218 ± 0,33
	Diklorometan	0,7206 ± 0,21
	Etil asetat	0,7206 ± 0,71
	Metanol	0,7204 ± 0,54
	Su	0,7205 ± 0,21
<i>A. cimilensis</i>	Hekzan	0,7219 ± 0,52
	Diklorometan	0,7209 ± 0,32
	Etil asetat	0,7207 ± 0,34
	Metanol	0,7206 ± 0,36
	Su	0,7204 ± 0,37

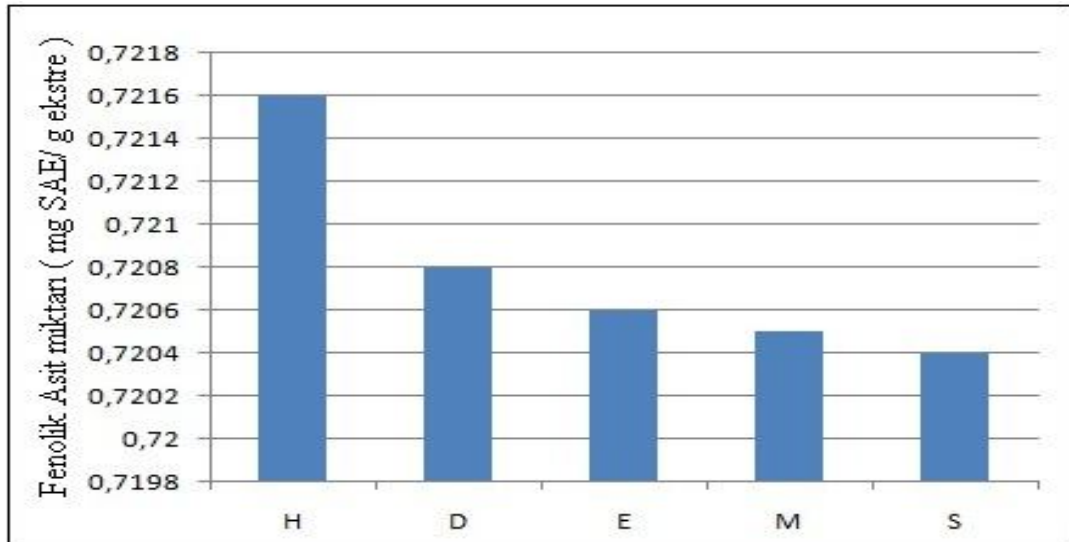


*A. holotricha* için çeşitli çözücü ekstralarında bulunan toplam fenolik asit içerikleri sırasıyla Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi > Etil asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla  $0,7216 \pm 0,21 > 0,7208 \pm 0,24 > 0,7206 \pm 0,26 > 0,7205 \pm 0,27 > 0,7204 \pm 0,34$  olarak hesaplandı.

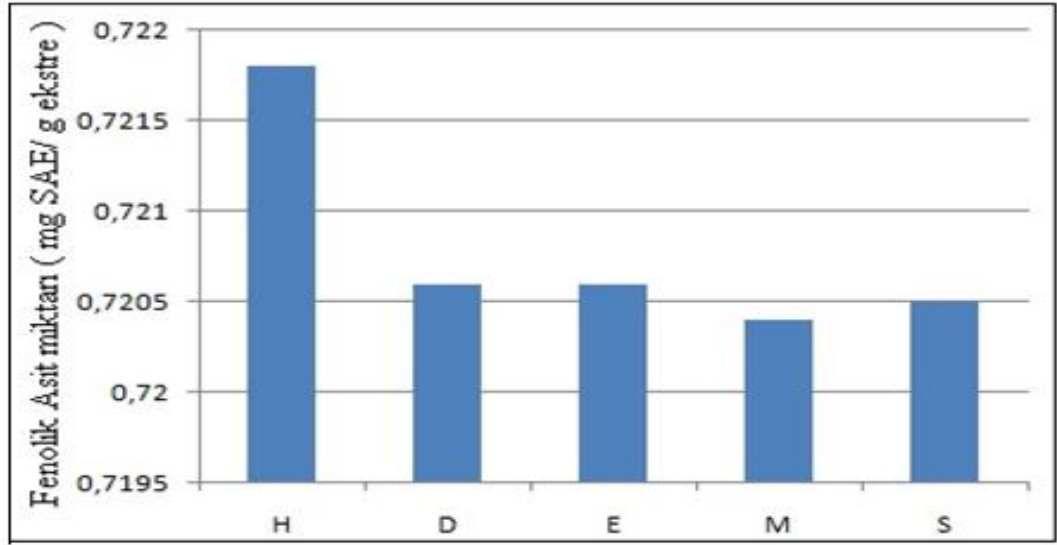
*A. persica* için çeşitli çözücü ekstralarında bulunan toplam fenolik asit içerikleri sırasıyla Hekzan ekstresi > Etil asetat ekstresi = Diklorometan ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla  $0,7218 \pm 0,33 > 0,7206 \pm 0,21 = 0,7206 \pm 0,71 > 0,7205 \pm 0,21 > 0,7204 \pm 0,54$  olarak hesaplandı.

*A. cimilensis* için çeşitli çözücü ekstralarında bulunan toplam fenolik asit içerikleri sırasıyla Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi > Etil asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla  $0,7219 \pm 0,52 > 0,7209 \pm 0,32 > 0,7207 \pm 0,34 > 0,7206 \pm 0,36 > 0,7204 \pm 0,37$  olarak hesaplandı.

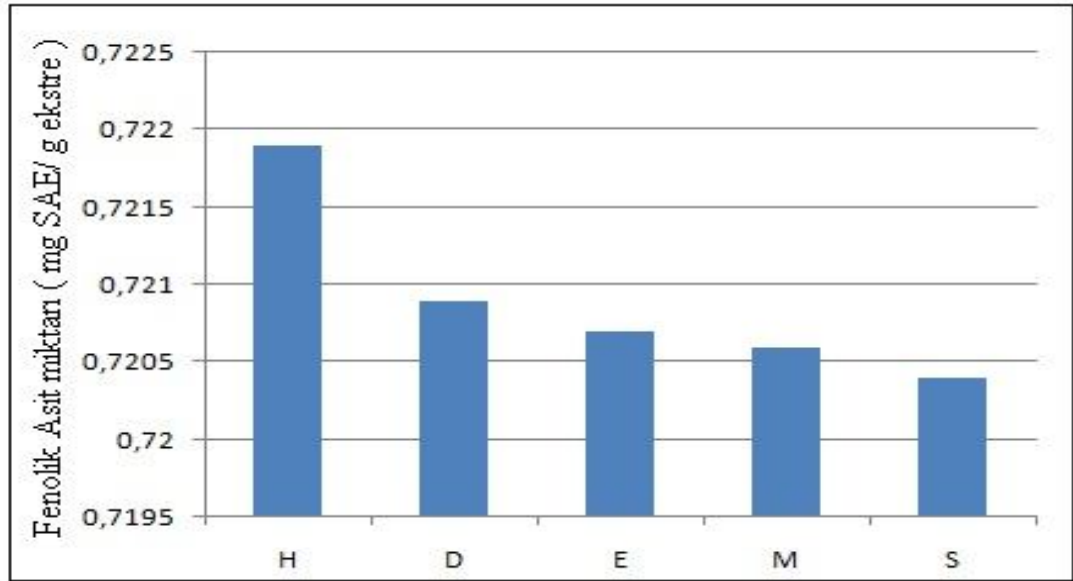
Çalışma sonuçlarında görüldüğü gibi hekzan ekstralarında bulunan fenolik asit madde miktarı, diğer çözücü ekstralarına oranla daha fazla belirlenmiştir. Metanol ve su ekstralarının ise her 3 bitki örneği için yapılan çalışmada da en az fenolik asit içerik bulunduğu görülmüştür. Diklorometan ve etil asetat ekstralarında ise birbirine yakın sonuçlar görülmüştür. 3 bitki örneğiyle yapılan çalışma sonuçları şekil 10, şekil 11 ve şekil 12'de grafik olarak verilmiştir.



Şekil 10. *A. holotricha* için çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenolik asit içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 11. *A. persica* için çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenolik asit içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 12. *A. cimilensis* için çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenolik asit içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)

#### 4.2.4. Toplam $\beta$ -Karoten ve Likopen İçeriğinin Belirlenmesi

Ektraktlar ile hazırlanmış süzütünün absorban değerleri 453, 505 ve 663 nm dalga boylarında ölçümler yapıldı.  $\beta$ -karoten ve Likopen içerikleri standart grafiklerle değerlendirilerek kilogram bitkideki karotenoid miktarı miligram cinsinden hesaplandı (Barros vd., 2007).

Sonuçlar g ekstredeki mg karotenoid miktarı cinsinden hesaplandı (Tablo 6).

Tablo 6. Ekstrelerin  $\beta$ -karoten içerikleri (mg/g ekstre)

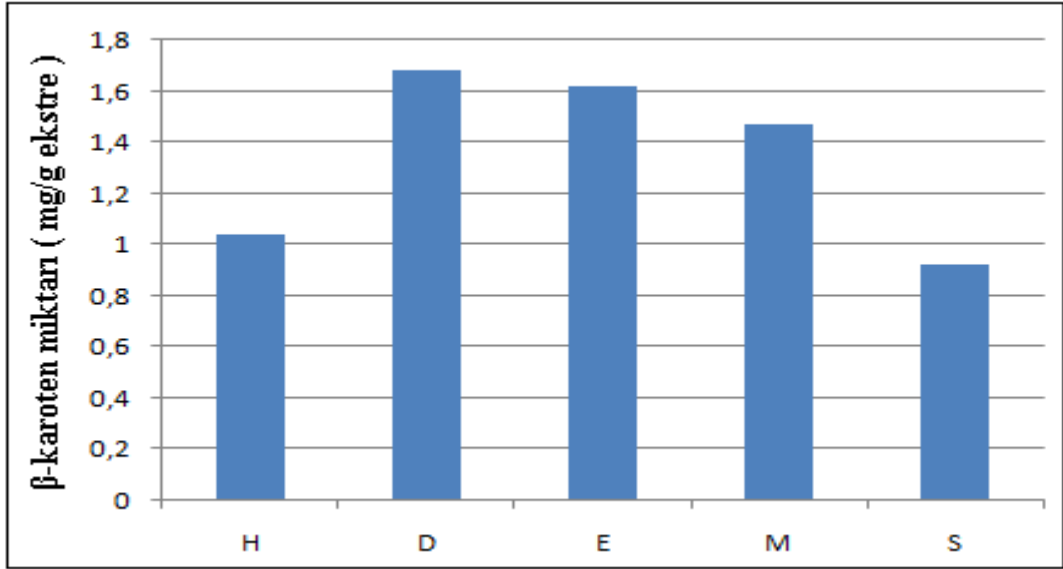
	NUMUNELER	mg/g ekstre
<i>A. holotricha</i>	Hekzan	1,043 $\pm$ 1,22
	Diklorometan	1,685 $\pm$ 1,18
	Etil asetat	1,624 $\pm$ 1,34
	Metanol	1,471 $\pm$ 1,42
	Su	0,924 $\pm$ 1,65
<i>A. persica</i>	Hekzan	0,938 $\pm$ 1,12
	Diklorometan	0,743 $\pm$ 1,23
	Etil asetat	1,435 $\pm$ 1,15
	Metanol	1,585 $\pm$ 1,19
	Su	0,665 $\pm$ 1,36
<i>A. cimilensis</i>	Hekzan	1,113 $\pm$ 1,48
	Diklorometan	1,578 $\pm$ 1,37
	Etil asetat	1,312 $\pm$ 1,31
	Metanol	1,759 $\pm$ 1,13
	Su	1,675 $\pm$ 1,09

*A. holotricha* çözücü ekstrelerinde bulunan  $\beta$ -karoten içerikleri sırasıyla Diklorometan ekstresi > Etil asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Hekzan ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla 1,685  $\pm$  1,18 > 1,624  $\pm$  1,34 > 1,471  $\pm$  1,42 > 1,043  $\pm$  1,22 > 0,924  $\pm$  1,65 olarak bulundu.

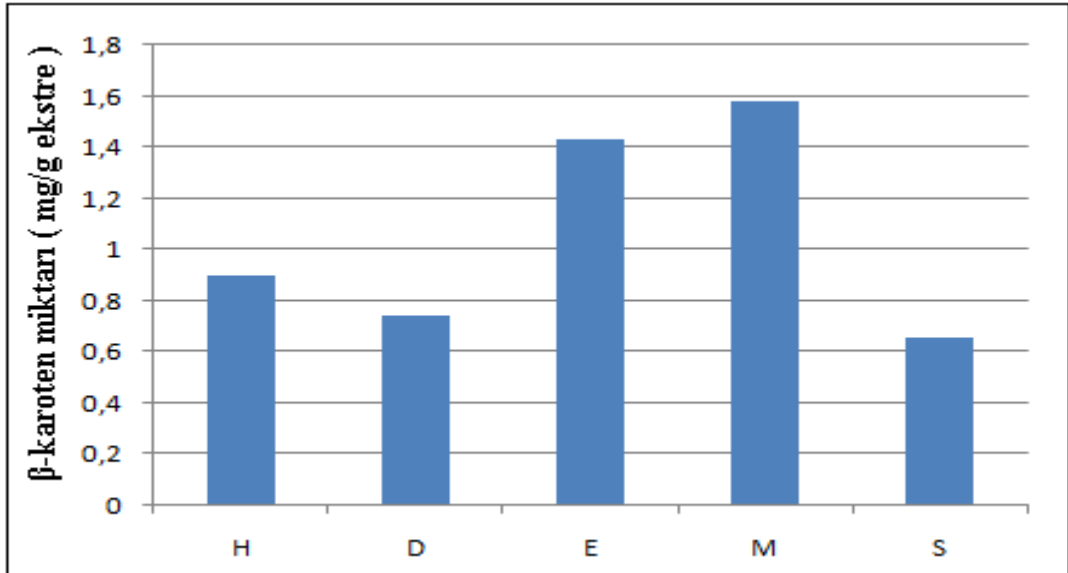
*A. persica* çözücü ekstrelerinde bulunan  $\beta$ -karoten içerikleri sırasıyla Metanol ekstresi > Etil asetat ekstresi > Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla 1,585  $\pm$  1,19 > 1,435  $\pm$  1,15 > 0,938  $\pm$  1,12 > 0,743  $\pm$  1,23 > 0,665  $\pm$  1,36 olarak bulundu.

*A. cimilensis* çözücü ekstrelerinde bulunan  $\beta$ -karoten içerikleri sırasıyla Metanol ekstresi > Su ekstresi > Diklorometan ekstresi > Etil asetat ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla 1,759  $\pm$  1,13 > 1,675  $\pm$  1,09 > 1,578  $\pm$  1,37 > 1,312  $\pm$  1,31 > 1,113 olarak bulundu.

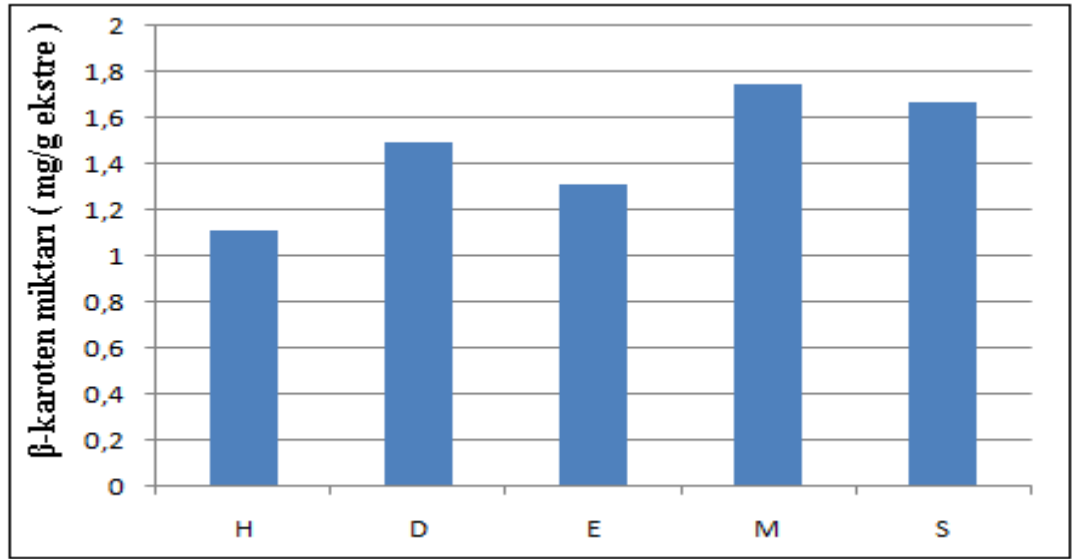
Yapılan çalışmada her 3 bitki örneği kıyaslandığında  $\beta$ -karoten içerikleri sonuçlarının birbirine yakın olduğu görülmüştür. *Alchemilla L.* Cinsine ait 3 tür ile yapılan çalışma sonuçları şekil 13, şekil 14 ve şekil 15'te grafik olarak verilmiştir.



Şekil 13. *A. holotricha* için çeşitli çözücü ekstralarının  $\beta$ -karoten içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 14. *A. persica* için çeşitli çözücü ekstralarının  $\beta$ -karoten içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 15. *A. cimilensis* için çeşitli çözücü ekstrelerinin  $\beta$ -karoten içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)

Sonuçlar g ekstredeki mg likopen içeriği miktarı cinsinden hesaplandı (Tablo 7).

Tablo 7. Ekstrelerin likopen içerikleri (mg/g ekstre)

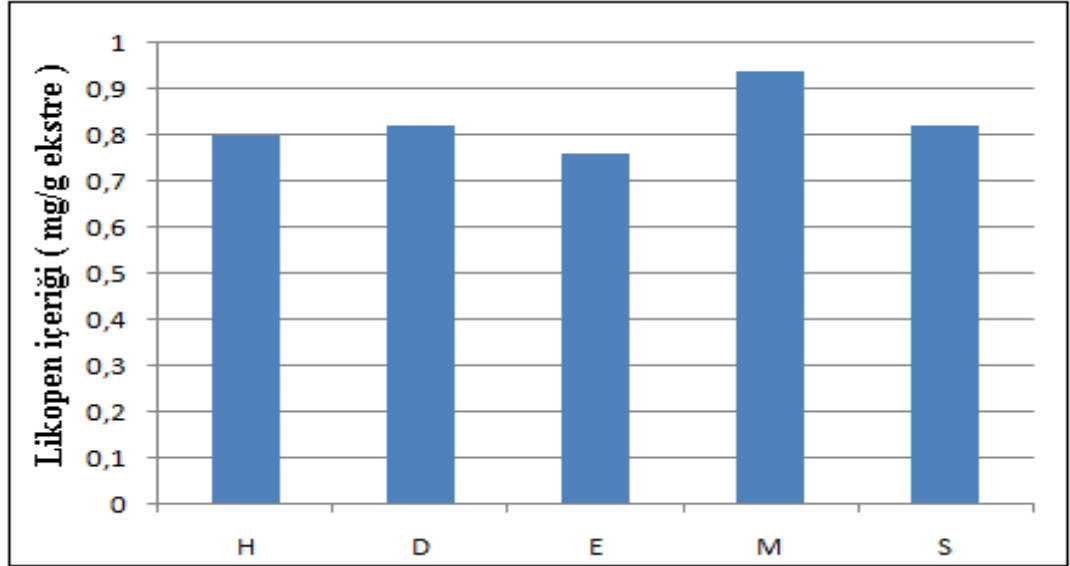
	NUMUNELER	mg/g ekstre
<i>A. holotricha</i>	Hekzan	0,814 $\pm$ 0,56
	Diklorometan	0,825 $\pm$ 0,61
	Etil asetat	0,767 $\pm$ 0,63
	Metanol	0,945 $\pm$ 0,42
	Su	0,825 $\pm$ 0,38
<i>A. persica</i>	Hekzan	0,969 $\pm$ 0,37
	Diklorometan	1,253 $\pm$ 0,45
	Etil asetat	1,312 $\pm$ 0,67
	Metanol	0,925 $\pm$ 0,71
	Su	0,878 $\pm$ 0,52
<i>A. cimilensis</i>	Hekzan	1,190 $\pm$ 0,64
	Diklorometan	1,081 $\pm$ 0,26
	Etil asetat	1,323 $\pm$ 0,24
	Metanol	0,896 $\pm$ 0,27
	Su	0,855 $\pm$ 0,32

*A. holotricha* için çeşitli çözücü ekstralarında bulunan Likopen içerikleri sırasıyla Metanol ekstresi > Su ekstresi = Diklorometan > Hekzan ekstresi > Etil asetat ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla  $0,945 \pm 0,42 > 0,825 \pm 0,38 = 0,825 \pm 0,61 > 0,814 \pm 0,56 > 0,767 \pm 0,63$  olarak bulundu.

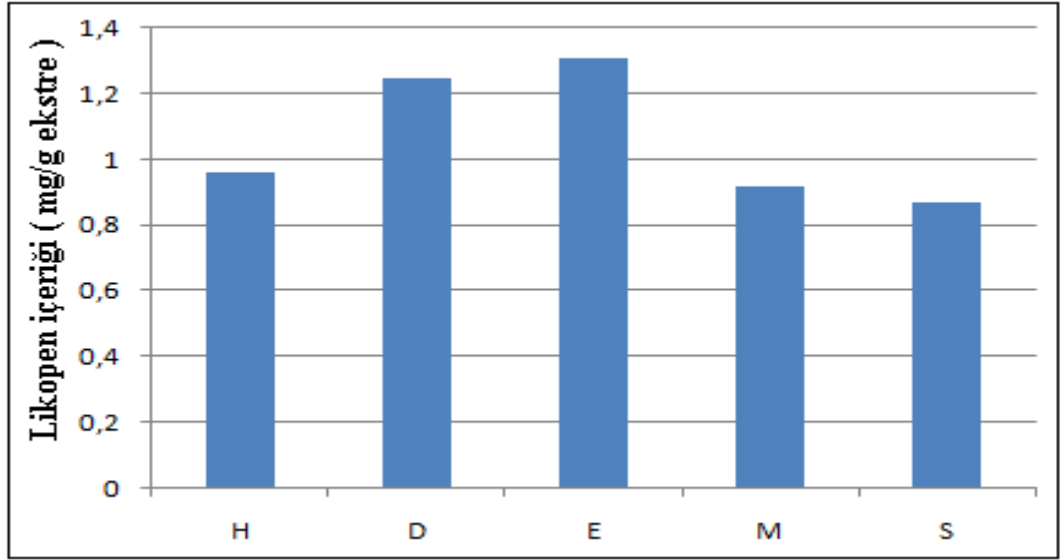
*A. persica* çözücü ekstralarında bulunan likopen içerikleri sırasıyla Etil asetat ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan Ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla  $1,312 \pm 0,67 > 1,253 \pm 0,45 > 0,969 \pm 0,37 > 0,925 \pm 0,71 > 0,878 \pm 0,52$  olarak bulundu.

*A. cimilensis* çözücü ekstralarında bulunan Likopen içerikleri sırasıyla Etil asetat ekstresi > Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla  $1,323 \pm 0,24 > 1,190 \pm 0,64 > 1,081 \pm 0,26 > 0,896 \pm 0,27 > 0,855 \pm 0,32$  olarak bulundu.

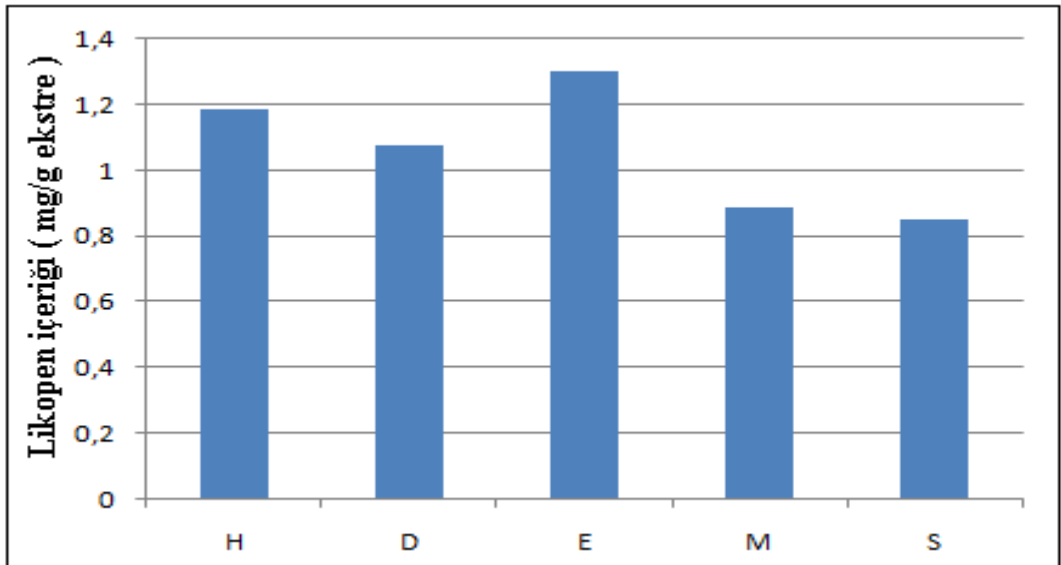
Yapılan çalışmada *A. persica* ve *A. cimilensis* türlerinde birbirlerine benzer sonuçlar çıkarken *A. holotricha* bitkisinin likopen içerikleri daha farklı oranda çıkmıştır. 3 bitki örneğiyle yapılan çalışma sonuçları şekil 16, şekil 17 ve şekil 18'de grafik olarak verilmiştir.



Şekil 16. *A. holotricha* için çeşitli çözücü ekstralarının likopen içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 17. *A. persica* için çeşitli çözücü ekstralarının likopen içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 18. *A. cimilensis* için çeşitli çözücü ekstralarının likopen içerikleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)

#### 4.2.5. DPPH Radikalinin Etkisinin Giderilmesi

Radikalın etkinliğinin giderilmesi için bitkiden elde edilen ekstarkt ile radikal karıştırılarak spektrofotometrik olarak okuma yapıldı. Ekstrelerin DPPH serbest radikali

giderme aktivitelerinin konsantrasyona karşı % inhibisyon grafikleri çizildi. Her bir örnek ve standart için sonuçlar yüzde olarak hesaplanarak Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Ekstrelerin ve standartların % DPPH giderme aktiviteleri (TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)

	Numuneler	0,05 mg/ml	0,1 mg/ml	0,15 mg/ml	0,2 mg/ml
<i>A. holotricha</i>	Hekzan	43,83 $\pm$ 0,22	44,51 $\pm$ 0,78	46,57 $\pm$ 0,46	47,63 $\pm$ 0,26
	Diklorometan	45,98 $\pm$ 0,36	46,66 $\pm$ 0,28	47,42 $\pm$ 0,78	53,60 $\pm$ 1,21
	Etil asetat	85,50 $\pm$ 1,21	86,01 $\pm$ 0,98	86,57 $\pm$ 0,89	88,14 $\pm$ 1,45
	Metanol	85,57 $\pm$ 0,20	86,66 $\pm$ 0,32	86,69 $\pm$ 0,10	87,17 $\pm$ 0,69
	Su	86,93 $\pm$ 0,18	87,27 $\pm$ 0,48	87,48 $\pm$ 1,52	87,62 $\pm$ 0,88
<i>A. persica</i>	Hekzan	44,32 $\pm$ 0,25	48,47 $\pm$ 0,25	48,75 $\pm$ 1,25	78,31 $\pm$ 0,91
	Diklorometan	45,41 $\pm$ 0,29	46,78 $\pm$ 1,24	53,80 $\pm$ 0,24	54,04 $\pm$ 0,71
	Etil asetat	86,49 $\pm$ 0,41	87,21 $\pm$ 0,68	87,65 $\pm$ 1,23	87,69 $\pm$ 0,65
	Metanol	87,46 $\pm$ 1,48	87,50 $\pm$ 0,73	87,62 $\pm$ 2,01	87,98 $\pm$ 0,24
	Su	87,01 $\pm$ 0,51	87,25 $\pm$ 1,19	87,62 $\pm$ 1,41	88,08 $\pm$ 1,42
<i>A. cimilensis</i>	Hekzan	44,57 $\pm$ 0,23	45,39 $\pm$ 0,42	49,88 $\pm$ 0,32	52,38 $\pm$ 0,28
	Diklorometan	43,61 $\pm$ 0,42	45,06 $\pm$ 0,25	49,43 $\pm$ 0,69	55,19 $\pm$ 0,64
	Etil asetat	85,92 $\pm$ 0,24	87,11 $\pm$ 0,78	87,17 $\pm$ 0,72	89,04 $\pm$ 2,06
	Metanol	86,93 $\pm$ 0,15	86,96 $\pm$ 0,59	87,12 $\pm$ 0,98	87,22 $\pm$ 2,08
	Su	74,73 $\pm$ 0,14	85,95 $\pm$ 0,48	87,67 $\pm$ 1,23	87,75 $\pm$ 1,25
Sentetik Antioksidanlar	TOC	85,19 $\pm$ 0,05	83,44 $\pm$ 0,18	85,52 $\pm$ 0,09	85,72 $\pm$ 1,32
	BHA	83,81 $\pm$ 0,08	85,18 $\pm$ 0,22	85,33 $\pm$ 0,11	85,66 $\pm$ 1,14
	BHT	75,91 $\pm$ 0,03	79,42 $\pm$ 0,29	82,22 $\pm$ 0,15	83,58 $\pm$ 1,05

*A. holotricha* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada kullanılan standartların 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,15 mg/ml’lik konsantrasyonlarda, % DPPH giderme aktiviteleri sırasıyla; Su ekstresi > Metanol ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,05 mg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla 86,93  $\pm$  0,18 > 85,57  $\pm$  0,20 > 85,50  $\pm$  1,21 > 45,98  $\pm$  0,36 > 43,83  $\pm$  0,22 olarak; 0,1 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 87,27  $\pm$  0,48 > 86,66  $\pm$  0,32 > 86,01  $\pm$  0,98 > 46,66  $\pm$  0,28 > 44,51  $\pm$  0,78 olarak 0,15 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 87,48  $\pm$  1,52 >



86,69 ± 0,10 > 86,57 ± 0,89 > 47,42 ± 0,78 > 46,57 ± 0,46 bulundu. 0,2 mg/ml konsantrasyonunda ise, % DPPH giderme aktivitesi sırasıyla; Etil Asetat ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,2 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 88,14 ± 1,45 > 87,62 ± 0,88 > 87,17 ± 0,69 > 53,60 ± 1,21 > 47,63 ± 0,26 olarak bulundu.

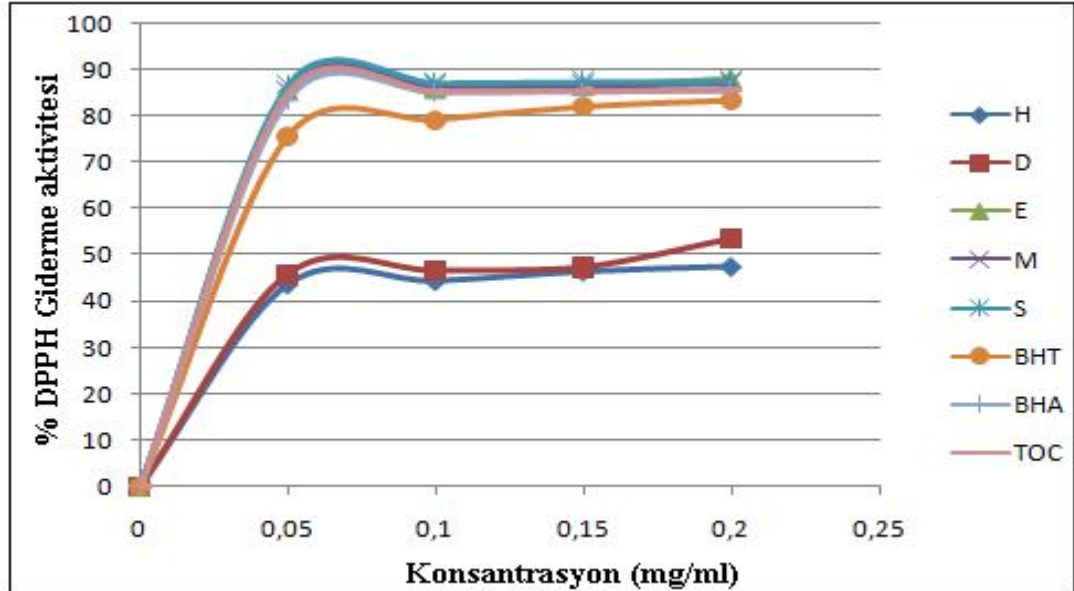
*A. persica* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada kullanılan standartların 0,05 mg/ml konsantrasyonunda, % DPPH giderme aktiviteleri sırasıyla; Metanol ekstresi > Su ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,05 mg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla 87,46 ± 1,48 > 87,01 ± 0,51 > 86,49 ± 0,41 > 45,41 ± 0,29 > 44,32 ± 0,25 olarak bulundu. 0,1 mg/ml konsantrasyonunda, % DPPH giderme aktiviteleri sırasıyla; Metanol ekstresi > Su ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi şeklindedir. 0,1 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 87,5 ± 0,73 > 87,25 ± 1,19 > 87,21 ± 0,68 > 48,47 ± 0,25 > 46,78 ± 1,24 olarak bulundu. 0,15 mg/ml konsantrasyonunda, % DPPH giderme aktiviteleri sırasıyla; Etil Asetat ekstresi > Metanol ekstresi = Su ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,15 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 87,65 ± 1,23 > 87,62 ± 2,01 = 87,62 ± 1,41 > 53,8 ± 0,24 > 48,75 ± 1,25 olarak bulundu. 0,2 mg/ml konsantrasyonunda ise, % DPPH giderme aktivitesi sırasıyla; Su ekstresi > Metanol ekstresi > Etil Asetat > Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi şeklindedir. 0,2 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 88,08 ± 1,42 > 87,98 ± 0,24 > 87,69 ± 0,65 > 78,31 ± 0,91 > 54,04 ± 0,71 olarak bulundu.

*A. cimilensis* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada kullanılan standartların 0,05 mg/ml konsantrasyonunda, % DPPH giderme aktiviteleri sırasıyla; Metanol ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Su ekstresi > Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi şeklindedir. 0,05 mg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla 86,93 ± 0,15 > 85,92 ± 0,24 > 74,73 ± 0,14 > 44,57 ± 0,23 > 43,61 ± 0,42 olarak bulundu. 0,1 mg/ml konsantrasyonunda, % DPPH giderme aktiviteleri sırasıyla; Etil Asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi şeklindedir. 0,1 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 87,1 ± 0,78 > 86,96 ± 0,59 > 85,95 ± 0,48 > 45,39 ± 0,42 > 45,06 ± 0,25 olarak bulundu. 0,15 mg/ml konsantrasyonunda, % DPPH giderme aktiviteleri sırasıyla; Su ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi şeklindedir. 0,15 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 87,67 ± 1,23 > 87,17

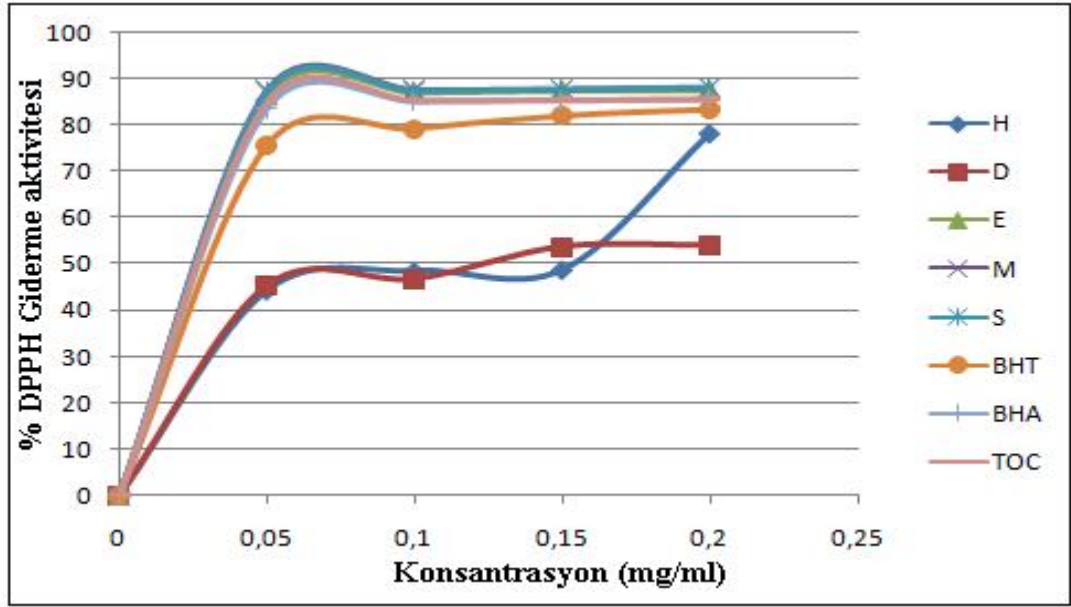
$\pm 0,72 > 87,12 \pm 0,98 > 49,88 \pm 0,32 > 49,43 \pm 0,69$  olarak bulundu. 0,2 mg/ml konsantrasyonunda ise, % DPPH giderme aktivitesi sırasıyla; Etil Asetat > Su ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,2 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $89,04 \pm 2,06 > 87,75 \pm 1,25 > 87,22 \pm 2,08 > 55,19 \pm 0,64 > 52,38 \pm 0,28$  olarak bulundu.

Çeşitli standartlar kullanılarak yapılan çalışmada 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,15 mg/ml ve 0,2 mg/ml'lik konsantrasyonlarda DPPH giderme aktivitesi sırasıyla;  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi > BHA ekstresi > BHT ekstresi şeklindedir. 0,05 mg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla  $85,19 \pm 0,05 > 83,81 \pm 0,08 > 75,91 \pm 0,03$  olarak; 0,15 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $85,52 \pm 0,09 > 85,33 \pm 0,11 > 82,22 \pm 0,15$  olarak; 0,2 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $85,72 \pm 1,32 > 85,66 \pm 1,14 > 83,58 \pm 1,05$  olarak bulundu. 0,1 mg/ml konsantrasyonunda ise BHA >  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi > BHT ekstresi şeklindedir. 0,1 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $85,18 \pm 0,22 > 83,44 \pm 0,18 > 79,42 \pm 0,29$  olarak bulundu.

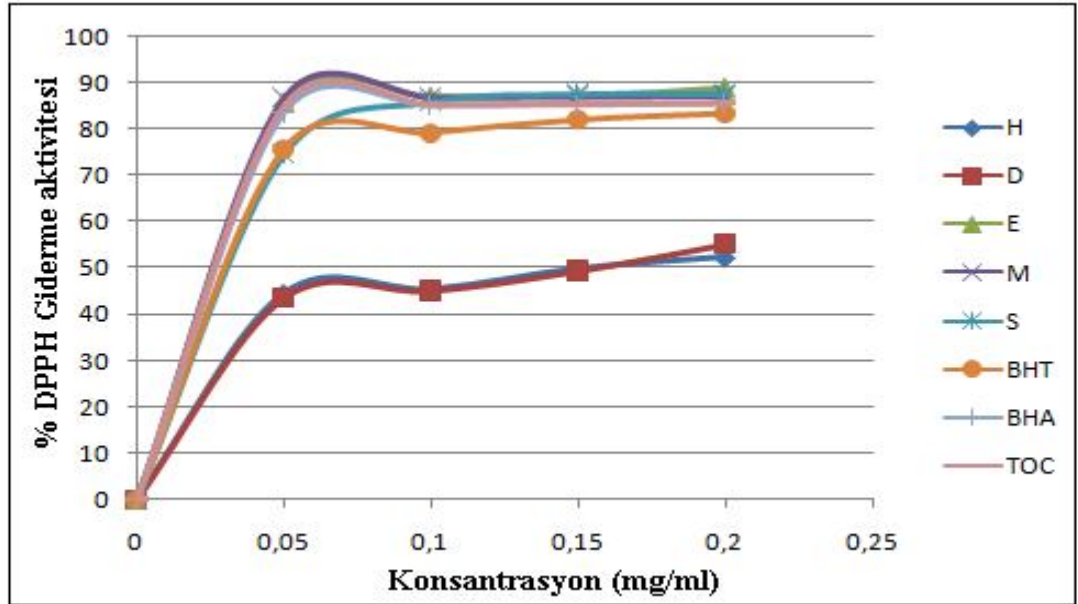
Hem çeşitli çözücü ekstrelerinde hem de standart olarak kullanılan maddelerde yapılan çalışmalarda artan konsantrasyonlarda DPPH giderme aktivitesinin de arttığı görülmüştür. Alchemilla L. Cinsine ait 3 tür ile yapılan çalışma sonuçları şekil 19, şekil 20 ve şekil 21'de grafik olarak verilmiştir.



Şekil 19. A. holotricha çözücü ekstrelerinin ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında % DPPH giderme aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)



Şekil 20. *A. persica* çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında % DPPH giderme aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)



Şekil 21. *A. cimilensis* çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında % DPPH giderme aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)

#### 4.2.6. İndirgeyici Güç Özelliğinin Ölçülmesi

Spektrofotometrik olarak 700 nm’de okunan çözeltilerden yüksek absorpsiyon değeri yüksek indirgeyici özelliği göstermiştir. BHA, BHT ve  $\alpha$ -tokoferol standartlarına karşı kıyaslama yapılmıştır.

Her bir örnek ve standart için sonuçlar, Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. Ekstrelerin ve standartların indirgeyici güç aktiviteleri (TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)

	Numuneler	0,050 $\mu\text{g/ml}$	0,100 $\mu\text{g/ml}$	0,150 $\mu\text{g/ml}$	0,200 $\mu\text{g/ml}$
<i>A. holotricha</i>	Hekzan	0,294 $\pm$ 0,32	0,303 $\pm$ 0,45	0,304 $\pm$ 0,37	0,481 $\pm$ 2,07
	Diklorometan	0,355 $\pm$ 0,45	0,381 $\pm$ 0,41	0,452 $\pm$ 1,42	0,554 $\pm$ 1,23
	Etil asetat	2,194 $\pm$ 1,55	2,891 $\pm$ 0,38	3,158 $\pm$ 1,60	3,333 $\pm$ 1,05
	Metanol	1,132 $\pm$ 1,26	1,746 $\pm$ 1,40	2,485 $\pm$ 2,01	3,011 $\pm$ 2,04
	Su	1,439 $\pm$ 1,78	2,340 $\pm$ 1,67	2,758 $\pm$ 1,32	2,775 $\pm$ 0,96
<i>A. persica</i>	Hekzan	0,275 $\pm$ 1,36	0,272 $\pm$ 1,75	0,275 $\pm$ 0,51	0,276 $\pm$ 1,36
	Diklorometan	0,305 $\pm$ 1,48	0,451 $\pm$ 0,64	0,552 $\pm$ 0,38	0,678 $\pm$ 1,41
	Etil asetat	2,079 $\pm$ 1,76	2,971 $\pm$ 0,58	3,210 $\pm$ 2,05	3,330 $\pm$ 0,51
	Metanol	1,672 $\pm$ 0,87	2,669 $\pm$ 1,14	2,997 $\pm$ 2,11	3,149 $\pm$ 0,42
	Su	1,855 $\pm$ 0,93	2,701 $\pm$ 1,18	2,739 $\pm$ 1,39	3,096 $\pm$ 2,01
<i>A. cimilensis</i>	Hekzan	0,115 $\pm$ 0,63	0,281 $\pm$ 1,42	0,337 $\pm$ 0,21	0,475 $\pm$ 0,65
	Diklorometan	0,312 $\pm$ 0,54	0,493 $\pm$ 1,26	0,637 $\pm$ 0,28	0,781 $\pm$ 0,41
	Etil asetat	0,405 $\pm$ 0,87	0,654 $\pm$ 1,30	0,986 $\pm$ 0,82	1,239 $\pm$ 0,32
	Metanol	1,477 $\pm$ 0,89	2,035 $\pm$ 0,97	2,183 $\pm$ 0,71	3,318 $\pm$ 1,41
	Su	1,069 $\pm$ 0,93	1,407 $\pm$ 0,81	2,257 $\pm$ 0,89	3,132 $\pm$ 1,40
Sentetik Antioksidanlar	TOC	0,375 $\pm$ 0,05	0,622 $\pm$ 0,46	0,944 $\pm$ 1,05	0,994 $\pm$ 0,11
	BHA	0,788 $\pm$ 0,07	1,433 $\pm$ 0,59	2,068 $\pm$ 1,63	2,441 $\pm$ 0,28
	BHT	0,247 $\pm$ 0,12	0,265 $\pm$ 0,71	0,355 $\pm$ 0,78	0,385 $\pm$ 0,32

*A. holotricha* çözücü ekstraktları ile yapılan çalışmada kullanılan standartların 0,05  $\mu\text{g/ml}$ , 0,100  $\mu\text{g/ml}$  ve 0,150  $\mu\text{g/ml}$ ’lik konsantrasyonlarında, indirgeme gücü aktiviteleri sırasıyla; Etil asetat ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,050  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değerleri sırasıyla 2,194  $\pm$  1,55 > 1,439  $\pm$  1,78 > 1,132  $\pm$  1,26 > 0,355  $\pm$  0,45 > 0,294  $\pm$  0,32 olarak; 0,100  $\mu\text{g/ml}$

konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $2,891 \pm 0,38 > 2,340 \pm 1,67 > 1,746 \pm 1,40 > 0,381 \pm 0,41 > 0,303 \pm 0,45$  olarak;  $0,150 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $3,158 \pm 1,60 > 2,758 \pm 1,32 > 2,485 \pm 2,01 > 0,452 \pm 1,42 > 0,304 \pm 0,37$  olarak bulundu.  $0,200 \mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonda ise, indirgeme gücü aktiviteleri sırasıyla; Etil asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir.  $0,200 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $3,333 \pm 1,05 > 3,011 \pm 2,04 > 2,775 \pm 0,96 > 0,554 \pm 1,23 > 0,481 \pm 2,07$  olarak bulundu.

*A. persica* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada kullanılan standartların  $0,05 \mu\text{g/ml}$ ,  $0,100 \mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonlarında, indirgeme gücü aktiviteleri sırasıyla; Etil asetat ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir.  $0,05 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değerleri sırasıyla  $2,079 \pm 1,76 > 1,855 \pm 0,93 > 1,672 \pm 0,87 > 0,305 \pm 1,48 > 0,275 \pm 1,36$  olarak;  $0,1 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $2,971 \pm 0,58 > 2,701 \pm 1,18 > 2,669 \pm 1,14 > 0,451 \pm 0,64 > 0,272 \pm 1,75$  olarak bulundu.  $0,150 \mu\text{g/ml}$  ve  $0,200 \mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonlarda ise, indirgeme gücü aktiviteleri sırasıyla; Etil asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir.  $0,150 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $3,210 \pm 2,05 > 2,997 \pm 2,11 > 2,739 \pm 1,39 > 0,552 \pm 0,38 > 0,275 \pm 0,51$  olarak;  $0,2 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $3,330 \pm 0,51 > 3,149 \pm 0,42 > 3,096 \pm 2,01 > 0,678 \pm 1,41 > 0,276 \pm 1,36$  olarak bulundu.

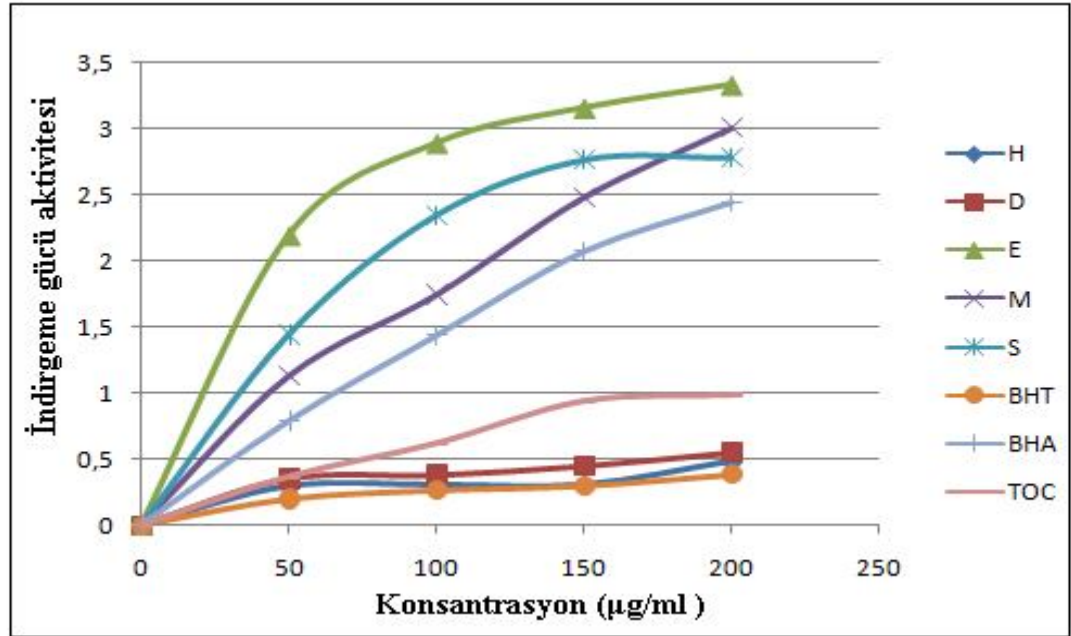
*A. cimilensis* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada kullanılan standartların  $0,50 \mu\text{g/ml}$  ve  $0,100 \mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonlarında, indirgeme gücü aktiviteleri sırasıyla; Metanol ekstresi > Su ekstresi > Etil asetat ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir.  $0,50 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değerleri sırasıyla  $1,477 \pm 0,89 > 1,069 \pm 0,93 > 0,405 \pm 0,87 > 0,312 \pm 0,54 > 0,115 \pm 0,63$  olarak;  $0,100 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $2,035 \pm 0,97 > 1,407 \pm 0,81 > 0,654 \pm 1,30 > 0,493 \pm 1,26 > 0,281 \pm 1,42$  olarak bulundu.  $0,150 \mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonda, indirgeme gücü aktiviteleri sırasıyla; Su ekstresi > Metanol ekstresi > Etil asetat ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir.  $0,150 \mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $2,257 \pm 0,89 > 2,183 \pm 0,71 > 0,986 \pm 0,82 > 0,637 \pm 0,28 > 0,337 \pm 0,21$  olarak bulundu.  $0,200 \mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonda ise, indirgeme gücü aktiviteleri sırasıyla; Metanol ekstresi > Su ekstresi > Etil asetat ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi

şeklindedir. 0,200 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $3,318 \pm 1,41 > 3,132 \pm 1,40 > 1,239 \pm 0,32 > 0,781 \pm 0,41 > 0,475 \pm 0,65$  olarak bulundu.

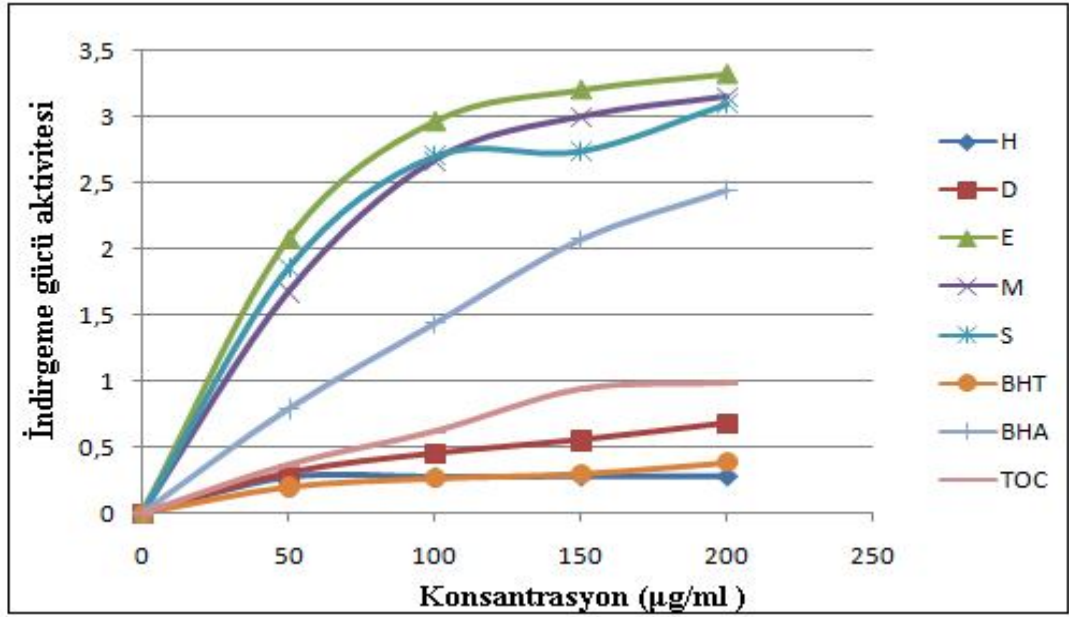
Çeşitli standartlar kullanılarak yapılan çalışmada tüm konsantrasyonlarda indirgeme gücü aktivitesi sırasıyla; BHA > ekstresi > α-Tokoferol ekstresi > BHT ekstresi şeklindedir. 0,050 µg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla  $0,788 \pm 0,07 > 0,375 \pm 0,05 > 0,247 \pm 0,12$  olarak; 0,100 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $1,433 \pm 0,59 > 0,622 \pm 0,46 > 0,265 \pm 0,71$  olarak; 0,150 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $2,068 \pm 1,63 > 0,944 \pm 1,05 > 0,355 \pm 0,78$  olarak; 0,200 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $2,441 \pm 0,28 > 0,994 \pm 0,11 > 0,385 \pm 0,32$  olarak bulundu.

Bitki örnekleri kullanılarak yapılan çalışmada etil asetat, metanol ve su ekstralarının indirgeyici güç özelliğinin; diklorometan ve hekzan ekstralarına göre daha fazla olduğu görülmüştür.

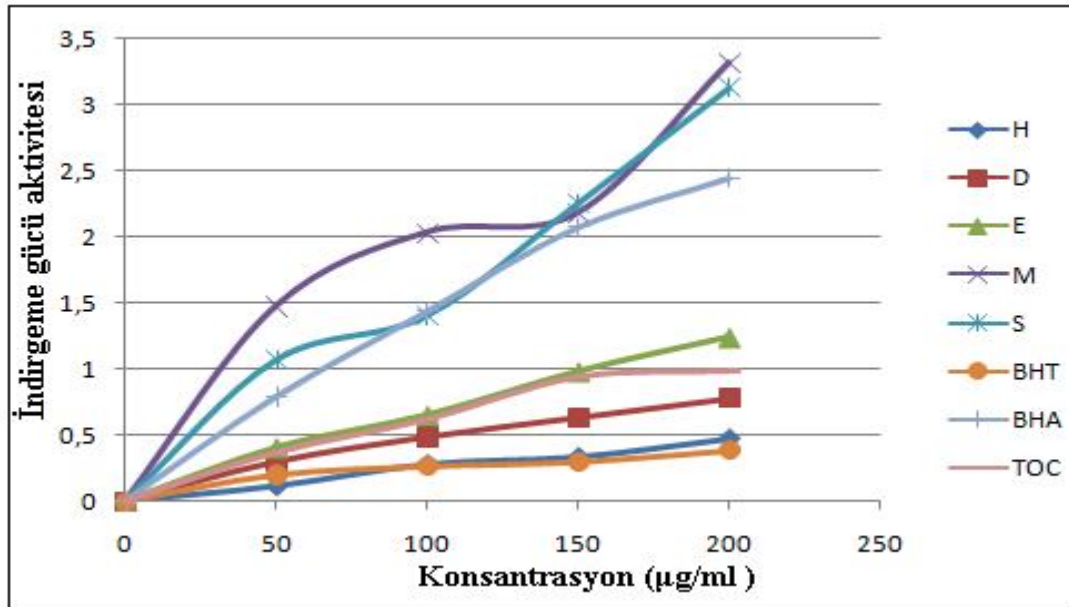
Hem çeşitli çözücü ekstralarında hem de standart olarak kullanılan maddelerde yapılan çalışmalarda artan konsantrasyonlarda DPPH giderme aktivitesinin de arttığı görülmüştür. Alchemilla L. Cinsine ait 3 tür ile yapılan çalışma sonuçları şekil 22, şekil 23 ve şekil 24'te grafik olarak verilmiştir.



Şekil 22. *A. holotricha* çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında indirgeme gücü aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC: α-Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)



Şekil 23. *A. persica* çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında indirgeme gücü aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)



Şekil 24. *A. cimilensis* çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında indirgeme gücü aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)

#### 4.2.7. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi Tayini

Bitki ekstraktlarından oluşturulan çözeltilerin 230 nm deki absorbanası köre karşı okundu. Her bir örnek için % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktivitesi hesaplanarak Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. Ekstrelerin % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri

	Numuneler	0,050 µg/ml	0,100 µg/ml	0,150 µg/ml	0,200 µg/ml
<i>A. holotricha</i>	Hekzan	52,24 ± 0,23	54,76 ± 0,35	58,44 ± 0,45	59,92 ± 0,95
	Diklorometan	46,40 ± 0,25	47,67 ± 0,46	47,69 ± 0,96	53,12 ± 1,31
	Etil asetat	28,16 ± 0,47	34,05 ± 0,74	42,07 ± 0,69	50,23 ± 2,12
	Metanol	41,03 ± 1,56	42,61 ± 0,65	52,37 ± 0,84	53,21 ± 2,23
	Su	42,84 ± 1,87	46,98 ± 0,54	57,73 ± 0,14	57,75 ± 1,25
<i>A. persica</i>	Hekzan	52,92 ± 2,40	53,73 ± 2,04	58,33 ± 1,24	58,89 ± 0,89
	Diklorometan	34,07 ± 1,01	34,15 ± 1,06	51,72 ± 2,05	57,43 ± 0,34
	Etil asetat	32,13 ± 2,13	39,17 ± 0,60	40,84 ± 2,06	42,53 ± 0,24
	Metanol	36,05 ± 2,12	45,62 ± 1,03	46,27 ± 1,85	56,25 ± 1,26
	Su	41,78 ± 0,95	42,42 ± 2,05	44,05 ± 0,47	43,73 ± 0,77
<i>A. cimilensis</i>	Hekzan	68,27 ± 0,14	68,51 ± 2,25	69,93 ± 0,45	70,01 ± 1,88
	Diklorometan	56,36 ± 0,09	57,13 ± 1,15	58,66 ± 0,49	61,14 ± 0,55
	Etil asetat	63,37 ± 1,54	63,69 ± 0,31	66,8 ± 1,27	67,12 ± 0,47
	Metanol	44,29 ± 2,01	52,44 ± 0,52	54,92 ± 2,31	64,89 ± 0,36
	Su	47,72 ± 0,57	52,98 ± 0,85	57,34 ± 1,25	63,47 ± 1,14

*A. holotricha* çözücü ekstraktları ile yapılan çalışmada kullanılan standartların 0,50 µg/ml ve 0,100 µg/ml'lik konsantrasyonlarında, % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri sırasıyla; Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi > Etil Asetat ekstresi şeklindedir. 5 µg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla 52,24 ± 0,23 > 46,40 ± 0,25 > 42,84 ± 1,87 > 41,03 ± 1,56 > 28,16 ± 0,47 olarak; 0,100 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 54,76 ± 0,35 > 47,67 ± 0,46 > 46,98 ± 0,54 > 42,61 ± 0,65 > 34,05 ± 0,74 olarak bulundu. 0,150 µg/ml ve 0,200 µg/ml'lik konsantrasyonlarda ise, % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri sırasıyla; Hekzan ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan

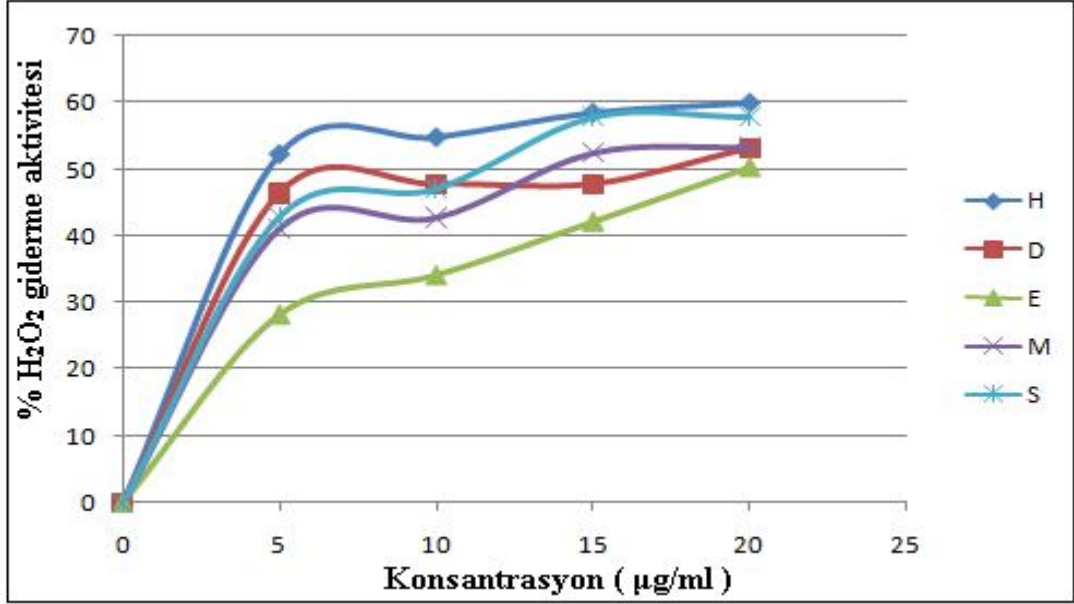


ekstresi > Etil Asetat ekstresi şeklindedir. 0,150 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 58,44 ± 0,45 > 57,73 ± 0,14 > 52,37 ± 0,84 > 47,69 ± 0,96 > 42,07 ± 0,69 olarak; 0,200 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 59,92 ± 0,95 > 57,75 ± 1,25 > 53,21 ± 2,23 > 53,12 ± 1,31 > 50,23 ± 2,12 olarak bulundu.

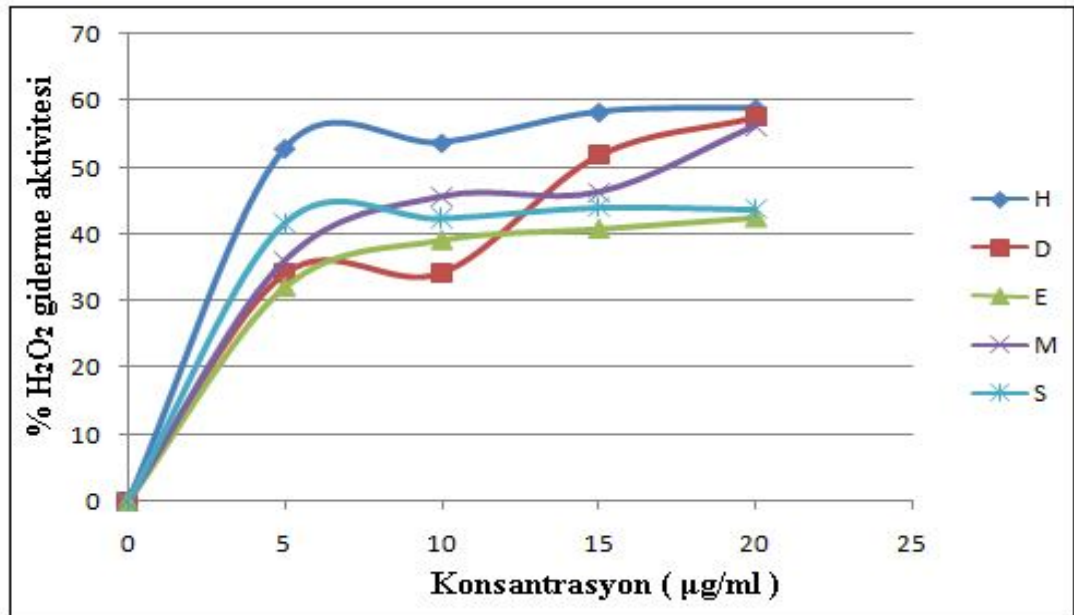
*A. persica* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada kullanılan standartların 0,50 µg/ml konsantrasyonunda, % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri sırasıyla; Hekzan ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Etil Asetat ekstresi şeklindedir. 0,50 µg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla 52,92 ± 2,40 > 41,78 ± 0,95 > 36,05 ± 2,12 > 34,07 ± 1,01 > 32,13 ± 2,13 olarak bulundu. 0,100 µg/ml konsantrasyonunda, % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri sırasıyla; Hekzan ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Diklorometan ekstresi şeklindedir. 0,100 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 53,73 ± 2,04 > 45,62 ± 1,03 > 42,42 ± 2,05 > 39,17 ± 0,60 > 34,15 ± 1,06 olarak bulundu. 0,150 µg/ml ve 0,200 µg/ml'lik konsantrasyonlarda ise, % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri sırasıyla; Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Etil Asetat ekstresi şeklindedir. 0,150 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 58,33 ± 1,24 > 51,72 ± 2,05 > 46,27 ± 1,85 > 44,05 ± 0,47 > 40,84 ± 2,06 olarak; 0,200 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 58,89 ± 0,89 > 57,43 ± 0,34 > 56,25 ± 1,26 > 43,73 ± 0,77 > 42,53 ± 0,24 olarak bulundu.

*A. cimilensis* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada kullanılan standartların 0,5 µg/ml ve 0,100 µg/ml'lik konsantrasyonlarda, % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri sırasıyla; Hekzan ekstresi > Etil Asetat > Diklorometan ekstresi > Su > Metanol ekstresi şeklindedir. 0,50 µg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla 68,27 ± 0,14 > 63,37 ± 1,54 > 56,36 ± 0,09 > 47,72 ± 0,57 > 44,29 ± 2,01 olarak bulundu. 0,100 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 68,51 ± 2,25 > 63,69 ± 0,31 > 57,13 ± 1,15 > 52,98 ± 0,85 > 52,44 ± 0,52 olarak; 0,150 µg/ml konsantrasyonunda, % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri sırasıyla; Hekzan ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Diklorometan > Su ekstresi > Metanol ekstresi şeklindedir. 0,150 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 69,93 ± 0,45 > 66,8 ± 1,27 > 58,66 ± 0,49 > 57,34 ± 1,25 > 54,92 ± 2,31 olarak bulundu. 0,200 µg/ml'lik konsantrasyonunda ise, % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri sırasıyla; Hekzan ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Diklorometan ekstresi şeklindedir. 0,200 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 70,01 ± 1,88 > 67,12 ± 0,47 > 64,89 ± 0,36 > 63,47 ± 1,14 > 61,14 ± 0,55 olarak bulundu.

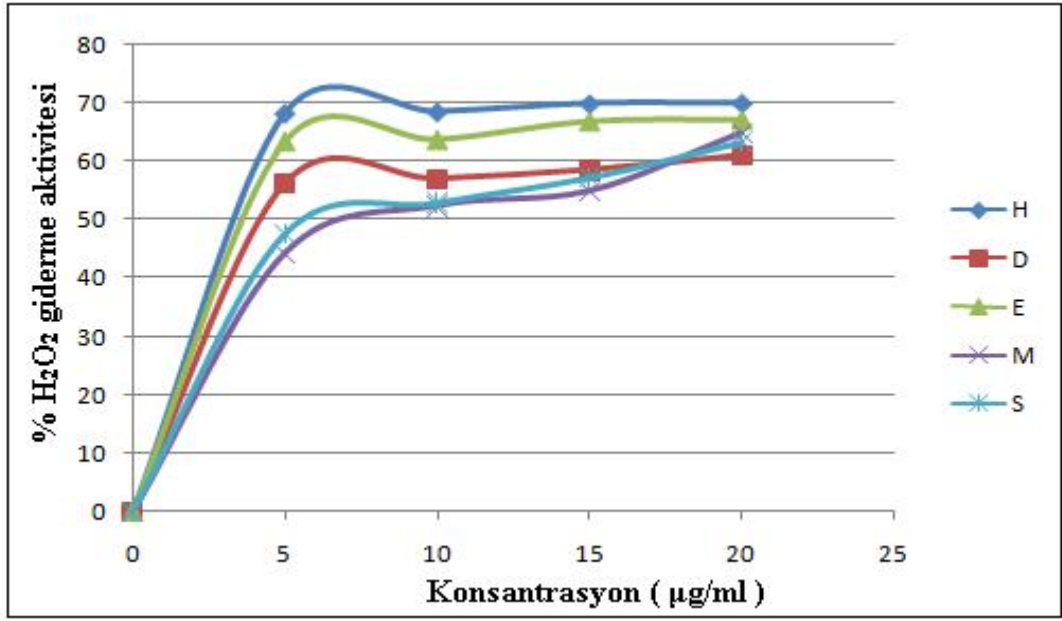
Yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi bitki ekstralarının artan konsantrasyonlarında % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktivitesinin de arttığı görülmüştür. Alchemilla L. Cinsine ait 3 tür ile yapılan çalışma sonuçları şekil 25, şekil 26, şekil 27, şekil 28, şekil 29 ve şekil 30'da grafik olarak verilmiştir.



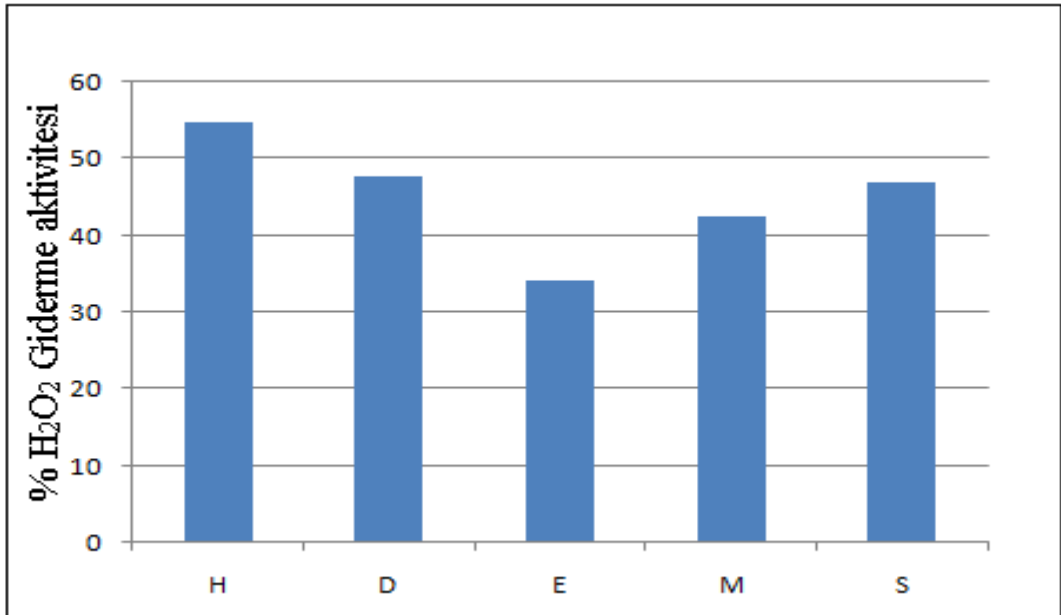
Şekil 25. *A. holotricha* çözücü ekstralarının % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



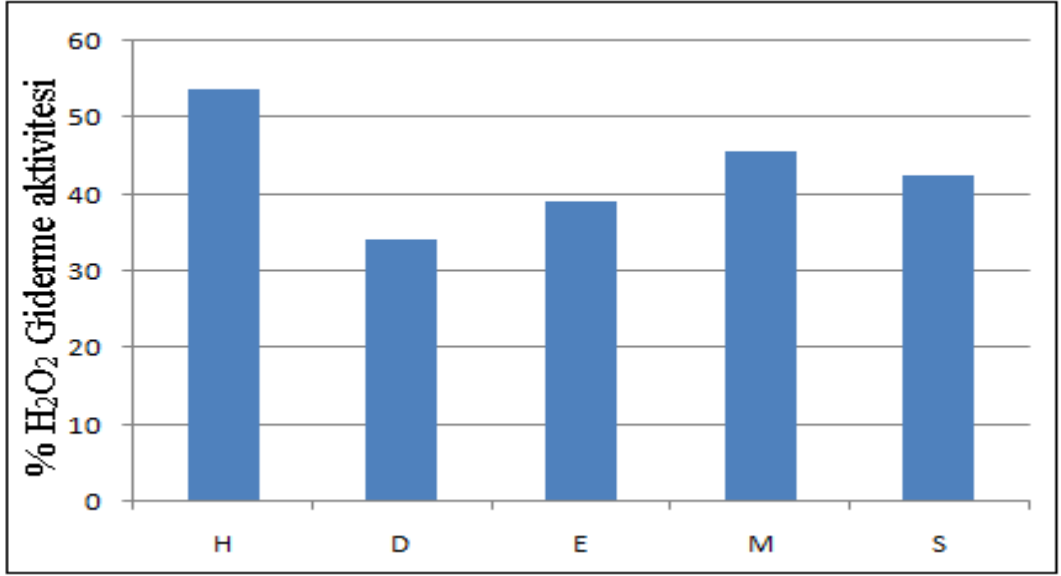
Şekil 26. *A. persica* çözücü ekstralarının % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



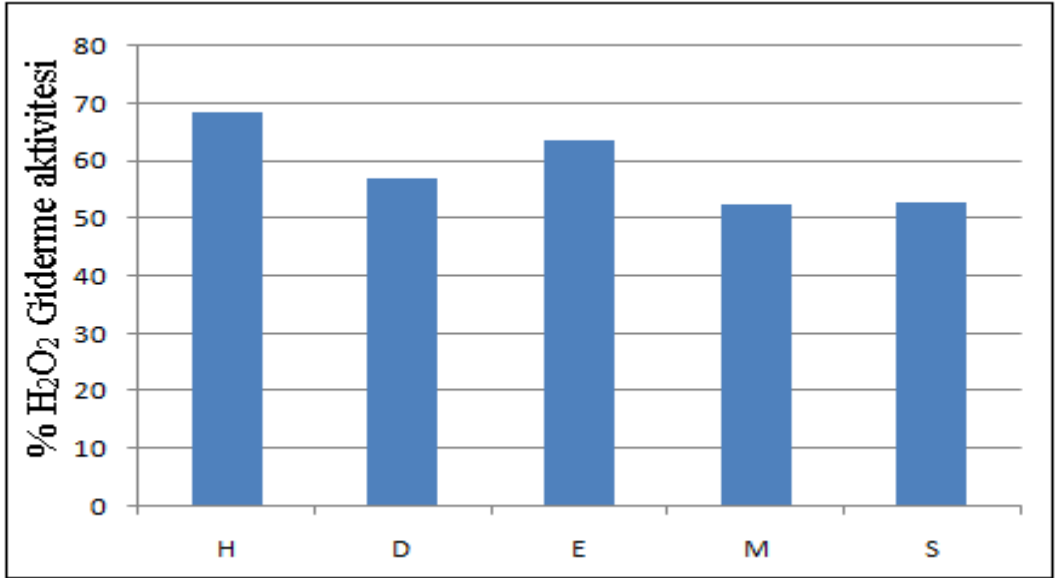
Şekil 27. *A. cimilensis* çözücü ekstralarının % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi S:Su ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi)



Şekil 28. *A. holotricha* çözücü ekstralarının 0,100 µg/ml konsantrasyonlarında % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 29. *A. persica* çözücü ekstrlerinin 0,10 µg/ml konsantrasyonlarında % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 30. *A. cimilensis* çözücü ekstrlerinin 0,10 µg/ml konsantrasyonlarında % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)

#### 4.2.8. Hidroksil Radikali Giderme Özelliğinin Ölçülmesi

Hazırlanan karışım oda sıcaklığında yapılan 5 dakikalık inkübasyon sonrasında spektrofotometre kullanılarak 560 nm’de yapılan ölçüm sonrasında hidroksil radikalini uzaklaştırma aktivitesi aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı. Her bir örnek için % OH radikalini giderme aktivitesi hesaplanarak Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11. Ekstrelerin ve standartların % OH radikalini giderme aktiviteleri (TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi  
BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi)

	Numuneler	0,05 mg/ml	0,100 mg/ml	0,150 mg/ml	0,200 mg/ml
<i>A. holotricha</i>	Hekzan	0,25 ± 0,51	0,44 ± 0,25	1,04 ± 1,18	2,13 ± 0,02
	Diklorometan	0,41 ± 0,55	1,95 ± 0,78	9,74 ± 2,19	11,95 ± 0,36
	Etil asetat	2,96 ± 0,73	3,34 ± 1,21	12,48 ± 0,12	13,29 ± 0,41
	Metanol	1,21 ± 1,06	1,99 ± 0,18	3,24 ± 1,78	3,57 ± 1,21
	Su	1,36 ± 2,28	1,81 ± 0,36	2,38 ± 0,74	2,62 ± 1,03
<i>A. persica</i>	Hekzan	0,24 ± 0,36	0,64 ± 2,14	1,37 ± 0,45	2,57 ± 2,06
	Diklorometan	0,44 ± 0,66	2,45 ± 0,98	5,81 ± 0,41	9,27 ± 1,14
	Etil asetat	2,58 ± 0,50	2,63 ± 1,13	6,84 ± 0,36	7,55 ± 2,49
	Metanol	1,75 ± 1,40	2,52 ± 0,74	3,25 ± 0,21	3,91 ± 1,17
	Su	0,87 ± 2,23	0,88 ± 1,14	0,89 ± 0,33	0,94 ± 2,07
<i>A. cimilensis</i>	Hekzan	0,38 ± 2,06	0,70 ± 0,23	0,74 ± 2,11	5,75 ± 0,41
	Diklorometan	5,32 ± 1,40	5,76 ± 0,09	14,82 ± 1,32	16,85 ± 0,36
	Etil asetat	2,68 ± 1,31	3,04 ± 2,10	4,05 ± 1,47	4,82 ± 1,27
	Metanol	3,27 ± 2,01	3,74 ± 1,15	5,56 ± 2,01	6,26 ± 2,05
	Su	1,91 ± 0,30	2,37 ± 0,99	3,21 ± 0,61	4,45 ± 0,65
<b>Sentetik Antioksidanlar</b>	TOC	0,86 ± 0,05	1,32 ± 0,96	1,41 ± 0,58	2,50 ± 0,21
	BHA	0,43 ± 0,09	0,54 ± 1,16	0,65 ± 0,32	0,86 ± 0,45
	TROLOKS	0,15 ± 0,11	0,16 ± 0,87	0,27 ± 0,74	0,33 ± 1,56

*A. holotricha* çözücü ekstraları ile yapılan çalışmada kullanılan standartların 0,05 mg/ml konsantrasyonunda, OH giderme aktivitesi sırasıyla; Etil Asetat ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,05 mg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla 2,96 ± 0,73 > 1,36 ± 2,28 > 1,21 ± 1,06 > 0,41 ± 0,55 > 0,25 ± 0,51 olarak bulundu. 0,1 mg/ml konsantrasyonunda, OH giderme

aktivitesi sırasıyla; Etil Asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Su ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,1 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $3,34 \pm 1,21 > 1,99 \pm 0,18 > 1,95 \pm 0,78 > 1,81 \pm 0,36 > 0,44 \pm 0,25$  olarak bulundu. 0,15 mg/ml ve 0,2 mg/ml konsantrasyonlarında, OH giderme aktiviteleri sırasıyla; Etil Asetat ekstresi > Diklorometan ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,15 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $12,48 \pm 0,12 > 9,74 \pm 2,19 > 3,24 \pm 1,78 > 2,38 \pm 0,74 > 1,04 \pm 1,18$  olarak; 0,2 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $13,29 \pm 0,41 > 11,95 \pm 0,36 > 3,57 \pm 1,21 > 2,62 \pm 1,03 > 2,13 \pm 0,02$  olarak bulundu.

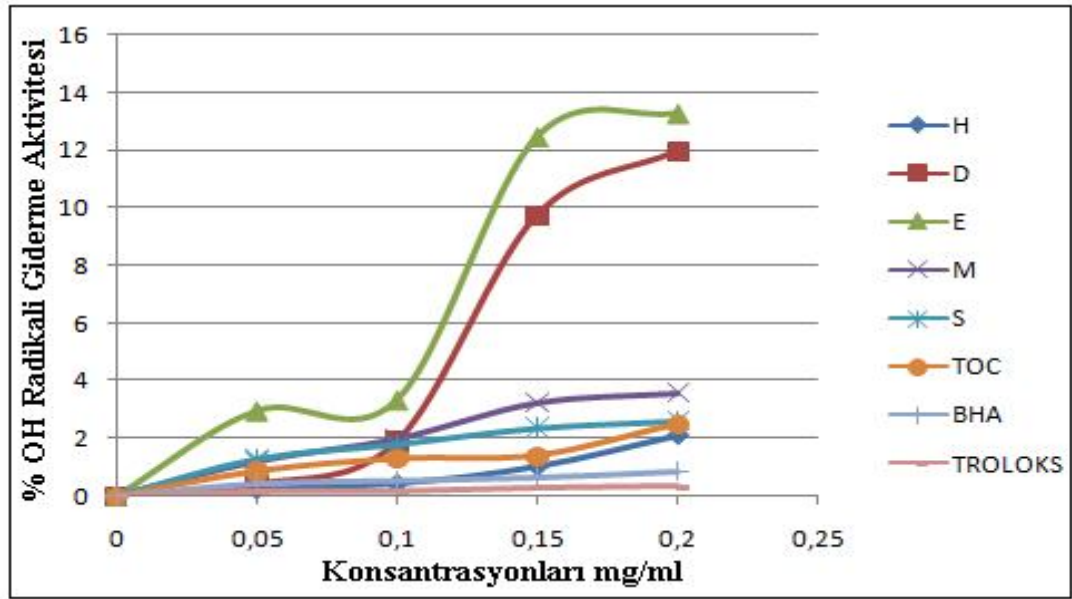
*A. persica* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada kullanılan standartların 0,05 mg/ml konsantrasyonunda, OH giderme aktivitesi sırasıyla; Etil Asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,05 mg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla  $2,58 \pm 0,50 > 1,75 \pm 1,40 > 0,87 \pm 2,23 > 0,44 \pm 0,66 > 0,24 \pm 0,36$  olarak bulundu. 0,1 mg/ml konsantrasyonunda, OH giderme aktivitesi sırasıyla; Etil Asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Su ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,1 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $2,63 \pm 1,13 > 2,52 \pm 0,74 > 2,45 \pm 0,98 > 0,88 \pm 1,14 > 0,64 \pm 2,14$  olarak bulundu. 0,15 mg/ml konsantrasyonunda, OH giderme aktivitesi sırasıyla; Etil Asetat ekstresi > Diklorometan ekstresi > Metanol ekstresi > Hekzan ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. 0,15 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $6,84 \pm 0,36 > 5,81 \pm 0,41 > 3,25 \pm 0,21 > 1,37 \pm 0,45 > 0,89 \pm 0,33$  olarak bulundu. 0,2 mg/ml konsantrasyonunda, OH giderme aktivitesi sırasıyla; Diklorometan ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Hekzan ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. 0,2 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $9,27 \pm 1,14 > 7,55 \pm 2,49 > 3,91 \pm 1,17 > 2,57 \pm 2,06 > 0,94 \pm 2,07$  olarak bulundu.

*A. cimilensis* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada kullanılan standartların 0,05 mg/ml ve 0,1 mg/ml konsantrasyonlarında, OH giderme aktiviteleri sırasıyla; Diklorometan ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,05 mg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla  $5,32 \pm 1,40 > 3,27 \pm 2,01 > 2,68 \pm 1,31 > 1,91 \pm 0,30 > 0,38 \pm 2,06$  olarak; 0,1 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $5,76 > 3,74 > 3,04 > 2,37 > 0,7$  olarak bulundu. 0,15 mg/ml konsantrasyonunda, OH giderme aktivitesi sırasıyla; Diklorometan ekstresi > Metanol ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Su ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. 0,15 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $14,82 \pm 1,32 > 5,56 \pm 2,01 > 4,05 \pm 1,47 > 3,21 \pm 0,61$

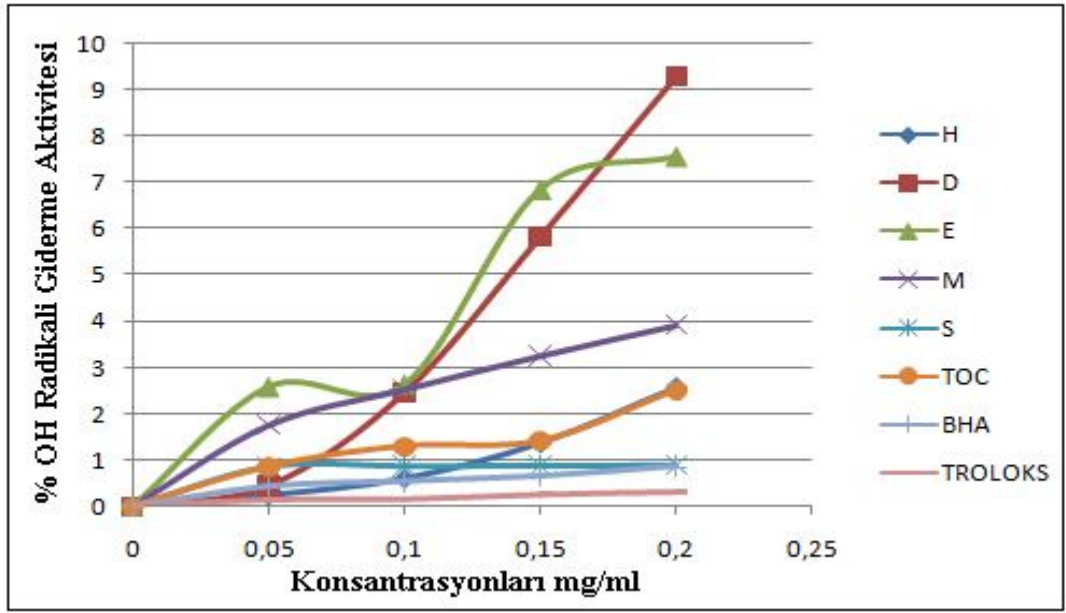
>  $0,74 \pm 2,11$  olarak bulundu. 0,2 mg/ml konsantrasyonunda, OH giderme aktivitesi sırasıyla; Diklorometan ekstresi > Metanol ekstresi > Hekzan ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. 0,2 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $16,85 \pm 0,36 > 6,26 \pm 2,05 > 5,75 \pm 0,41 > 4,82 \pm 1,27 > 4,45 \pm 0,65$  olarak bulundu.

Çeşitli standartlar kullanılarak yapılan çalışmada tüm konsantrasyonlarda OH radikali giderme aktivitesi sırasıyla;  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi > BHA ekstresi > Troloks ekstresi şeklindedir. 0,05 mg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla  $0,86 \pm 0,05 > 0,43 \pm 0,09 > 0,15 \pm 0,11$  olarak; 0,1 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $1,32 \pm 0,96 > 0,54 \pm 1,16 > 0,16 \pm 0,87$  olarak; 0,15 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $1,41 \pm 0,58 > 0,65 \pm 0,32 > 0,27 \pm 0,74$  olarak; 0,2 mg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $2,50 \pm 0,21 > 0,86 \pm 0,45 > 0,33 \pm 1,56$  olarak bulundu.

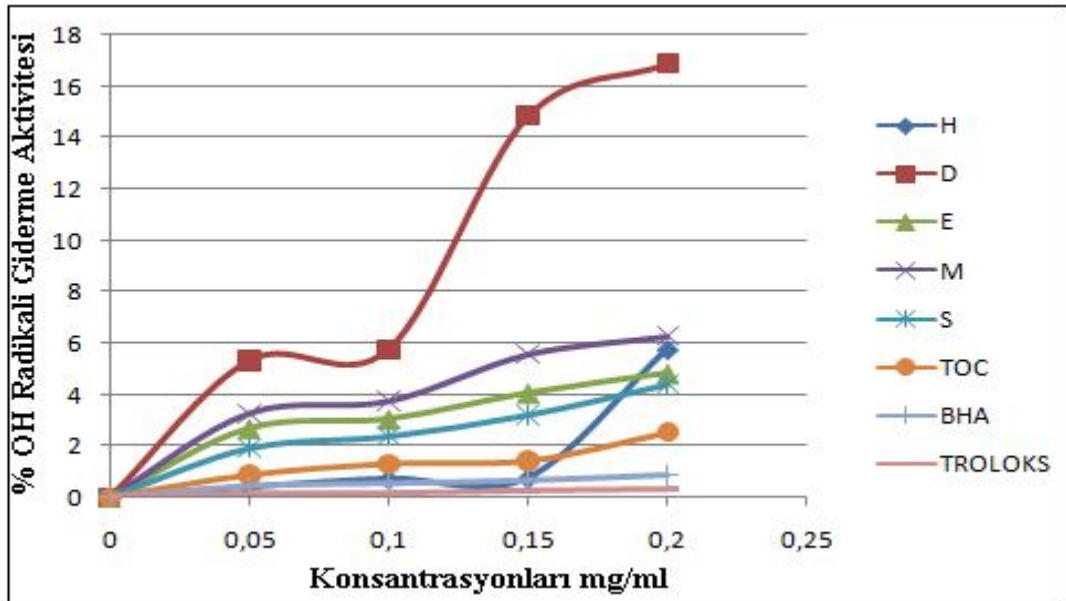
Standart ve çeşitli çözücü ekstreleriyle yapılan çalışmalarda artan konsantrasyonlarda OH radikali giderme etkisinin de arttığı görülmüştür. Alchemilla L. Cinsine ait 3 tür ile yapılan çalışma sonuçları şekil 31, şekil 32 ve şekil 33'de grafik olarak verilmiştir.



Şekil 31. *A. holotricha* çözücü ekstrelerinin ve standart antioksidan olan BHA,  $\alpha$ -Tokoferol ve Troloks'un, % OH radikali giderme aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi)



Şekil 32. *A. persica* çözücü ekstralarının ve standart antioksidan olan BHA,  $\alpha$ -Tokoferol ve Troloks'un, % OH radikali giderme aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi)



Şekil 33. *A. cimilensis* çözücü ekstralarının ve standart antioksidan olan BHA,  $\alpha$ -Tokoferol ve Troloks'un, % OH radikali giderme aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi)



#### 4.2.9. Metal Şelatlama Aktivitesinin Ölçülmesi

Hazırlanan çözeltiler 10 dakika oda sıcaklığında bekletilerek karışımın  $Fe^{+2}$  Ferrozine kompleksinin absorbansı 562 nm'de ölçüldü. Her bir örnek için % metal şelatlama aktivitesi hesaplanarak Tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12. Ekstrelerin ve standartların metal şelatlama aktiviteleri (TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi  
BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)

	Numuneler	0,05 $\mu\text{g/ml}$	0,100 $\mu\text{g/ml}$	0,150 $\mu\text{g/ml}$	0,200 $\mu\text{g/ml}$
<i>A. holotricha</i>	Hekzan	60,62 $\pm$ 1,23	64,54 $\pm$ 0,24	69,28 $\pm$ 0,91	73,15 $\pm$ 0,85
	Diklorometan	57,88 $\pm$ 2,05	66,87 $\pm$ 1,22	71,47 $\pm$ 0,47	96,46 $\pm$ 0,92
	Etil asetat	45,46 $\pm$ 1,98	59,50 $\pm$ 1,33	61,93 $\pm$ 1,36	86,49 $\pm$ 0,63
	Metanol	44,43 $\pm$ 2,01	44,94 $\pm$ 2,11	45,43 $\pm$ 1,55	45,78 $\pm$ 1,21
	Su	41,24 $\pm$ 1,31	42,15 $\pm$ 0,34	47,59 $\pm$ 2,06	51,23 $\pm$ 0,33
<i>A. persica</i>	Hekzan	56,38 $\pm$ 0,44	59,06 $\pm$ 0,27	61,58 $\pm$ 0,65	64,86 $\pm$ 2,23
	Diklorometan	47,58 $\pm$ 0,58	49,29 $\pm$ 1,72	54,88 $\pm$ 0,34	56,88 $\pm$ 1,36
	Etil asetat	37,03 $\pm$ 0,69	39,93 $\pm$ 0,83	41,14 $\pm$ 1,22	50,83 $\pm$ 0,97
	Metanol	39,25 $\pm$ 0,11	41,74 $\pm$ 1,32	41,79 $\pm$ 0,69	41,95 $\pm$ 0,84
	Su	31,77 $\pm$ 1,21	34,37 $\pm$ 1,17	38,42 $\pm$ 2,30	39,92 $\pm$ 0,14
<i>A. cimilensis</i>	Hekzan	54,59 $\pm$ 0,41	60,03 $\pm$ 1,55	63,06 $\pm$ 1,25	64,02 $\pm$ 1,16
	Diklorometan	58,55 $\pm$ 0,33	62,66 $\pm$ 2,16	64,41 $\pm$ 1,45	64,54 $\pm$ 0,25
	Etil asetat	43,72 $\pm$ 0,85	44,19 $\pm$ 1,32	45,04 $\pm$ 1,43	56,11 $\pm$ 0,32
	Metanol	33,79 $\pm$ 1,25	37,30 $\pm$ 0,25	40,62 $\pm$ 1,66	41,48 $\pm$ 1,12
	Su	38,60 $\pm$ 1,58	40,31 $\pm$ 0,14	41,49 $\pm$ 0,53	53,02 $\pm$ 0,35
Sentetik Antioksidanlar	BHT	5,74 $\pm$ 2,03	13,17 $\pm$ 0,05	16,37 $\pm$ 1,41	36,57 $\pm$ 2,08
	TOC	33,28 $\pm$ 2,14	33,35 $\pm$ 0,03	34,56 $\pm$ 2,04	36,91 $\pm$ 1,78
	BHA	33,58 $\pm$ 0,21	34,32 $\pm$ 1,15	38,14 $\pm$ 1,61	43,67 $\pm$ 0,65
	TROLOKS	33,84 $\pm$ 0,52	34,95 $\pm$ 1,18	36,78 $\pm$ 0,74	36,94 $\pm$ 0,85

*A. holotricha* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada 5  $\mu\text{g/ml}$  ve 0,10  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonlarında, metal şelatlama aktiviteleri sırasıyla; Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. 5  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değerleri sırasıyla 60,62  $\pm$  1,23 > 57,88  $\pm$  2,05 > 45,46  $\pm$  1,98 > 44,43  $\pm$  2,01 > 41,24  $\pm$  1,31 olarak; 0,10  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla 66,87 >

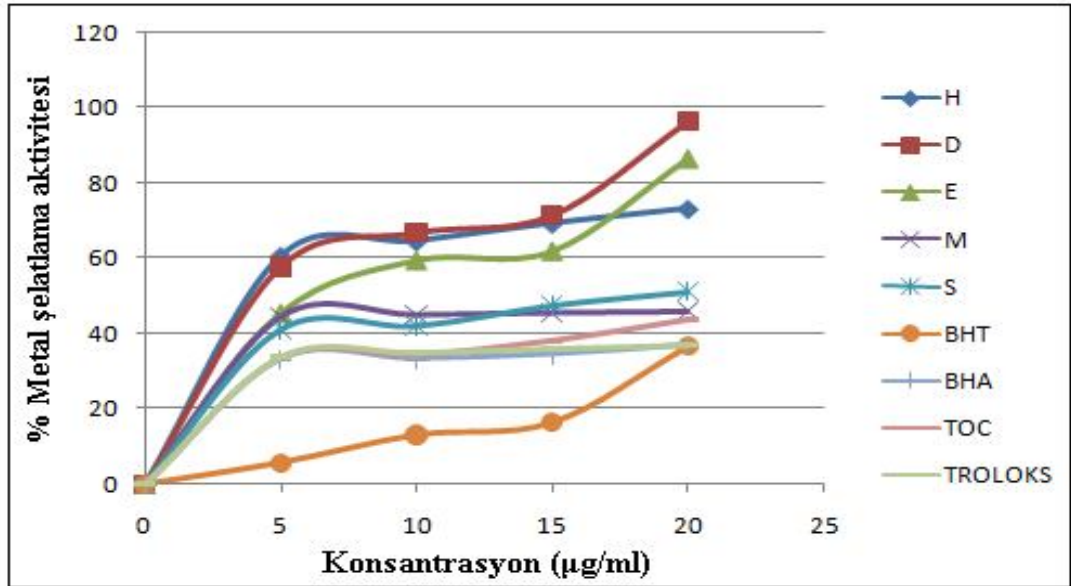
$\pm 1,22 > 64,54 \pm 0,24 > 59,50 \pm 1,33 > 44,94 \pm 2,11 > 42,15 \pm 0,34$  olarak bulundu. 0,15  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda, metal şelatlama aktivitesi sırasıyla; Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi şeklindedir. 0,15  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $71,47 \pm 0,47 > 69,28 \pm 0,91 > 61,93 \pm 1,36 > 47,59 \pm 2,06 > 45,43 \pm 1,55$  olarak bulundu. 0,20  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda ise, metal şelatlama aktivitesi sırasıyla; Diklorometan ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Hekzan ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi şeklindedir. 0,20  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $96,46 \pm 0,92 > 86,49 \pm 0,63 > 73,15 \pm 0,85 > 51,23 \pm 0,33 > 45,78 \pm 1,21$  olarak bulundu.

*A. persica* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada 0,05  $\mu\text{g/ml}$ , 0,100  $\mu\text{g/ml}$  ve 0,150  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonlarında, metal şelatlama aktiviteleri sırasıyla; Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi > Metanol ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. 0,05  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değerleri sırasıyla  $56,38 \pm 0,44 > 47,58 \pm 0,58 > 39,25 \pm 0,11 > 37,03 \pm 0,69 > 31,77 \pm 1,21$  olarak; 0,10  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $59,06 \pm 0,27 > 49,29 \pm 1,72 > 41,74 \pm 1,32 > 39,93 \pm 0,83 > 34,37 \pm 1,17$  olarak; 0,150  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $61,58 \pm 0,65 > 54,88 \pm 0,34 > 41,79 \pm 0,69 > 41,14 \pm 1,22 > 38,42 \pm 2,30$  olarak bulundu. 0,200  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda ise, metal şelatlama aktivitesi sırasıyla; Hekzan ekstresi > Diklorometan ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi şeklindedir. 0,200  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $64,86 \pm 2,23 > 56,88 \pm 1,36 > 50,83 \pm 0,97 > 41,95 \pm 0,84 > 39,92 \pm 0,14$  olarak bulundu.

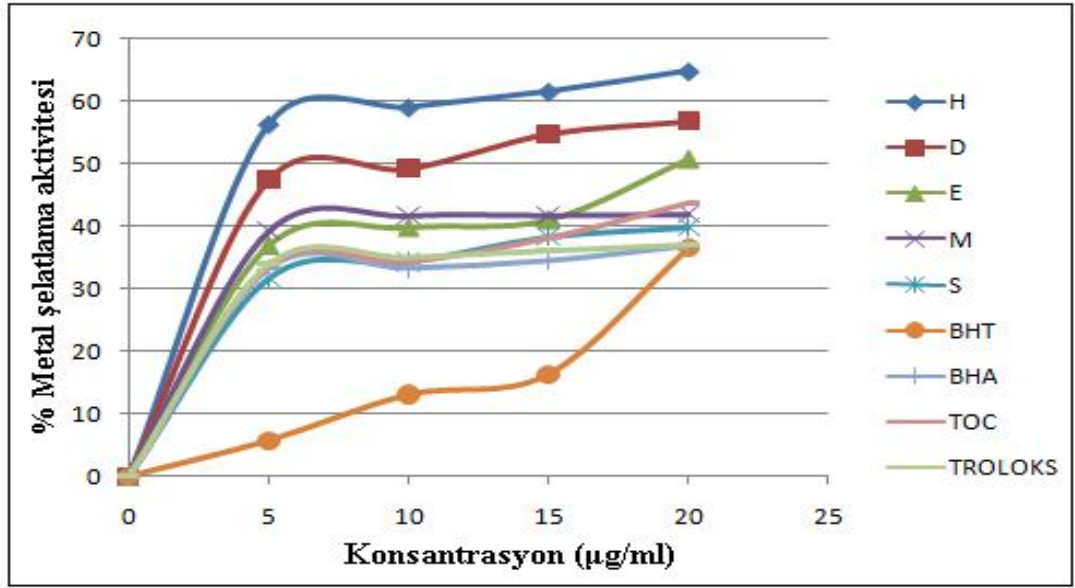
*A. cimilensis* çözücü ekstreleri ile yapılan çalışmada 0,05  $\mu\text{g/ml}$ , 0,100  $\mu\text{g/ml}$ , 0,150  $\mu\text{g/ml}$  ve 0,200  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonlarında, metal şelatlama aktiviteleri sırasıyla; Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi > Etil Asetat ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi şeklindedir. 0,05  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değerleri sırasıyla  $58,55 \pm 0,33 > 54,59 \pm 0,41 > 43,72 \pm 0,85 > 38,60 \pm 1,58 > 33,79 \pm 1,25$  olarak; 0,100  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $62,66 \pm 2,16 > 60,03 \pm 1,55 > 44,19 \pm 1,32 > 40,31 \pm 0,14 > 37,30 \pm 0,25$  olarak; 0,150  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $64,41 \pm 1,45 > 63,06 \pm 1,25 > 45,04 \pm 1,43 > 41,49 \pm 0,53 > 40,62 \pm 1,66$  olarak; 0,200  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonunun değeri sırasıyla  $64,54 \pm 0,25 > 64,02 \pm 1,16 > 56,11 \pm 0,32 > 53,02 \pm 0,35 > 41,48 \pm 1,12$  olarak bulundu.

Standart maddeler kullanılarak yapılan çalışmada 0,05 µg/ml, 0,100 µg/ml ve 0,150 µg/ml konsantrasyonlarında, metal şelatlama aktiviteleri sırasıyla; Troloks ekstresi > α Tokoferol ekstresi > BHA ekstresi > BHT ekstreleri şeklindedir. 0,05 µg/ml konsantrasyonunun değerleri sırasıyla 33,84 ± 0,52 > 33,58 ± 0,21 > 33,28 ± 2,14 > 5,74 ± 2,03 olarak; 0,100 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 34,95 ± 1,18 > 34,32 ± 1,15 > 33,35 ± 0,03 > 13,17 ± 0,05 olarak; 0,150 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 38,14 ± 1,61 > 36,78 ± 0,74 > 34,56 ± 2,04 > 16,37 ± 1,41 olarak bulundu. 0,200 µg/ml'lik konsantrasyonda ise, metal şelatlama aktivitesi sırasıyla; α Tokoferol ekstresi > Troloks ekstresi > BHA ekstresi > BHT ekstresi şeklindedir. 0,200 µg/ml konsantrasyonunun değeri sırasıyla 43,67 ± 0,65 > 36,94 ± 0,85 > 36,91 ± 1,78 > 36,57 ± 2,08 olarak bulundu.

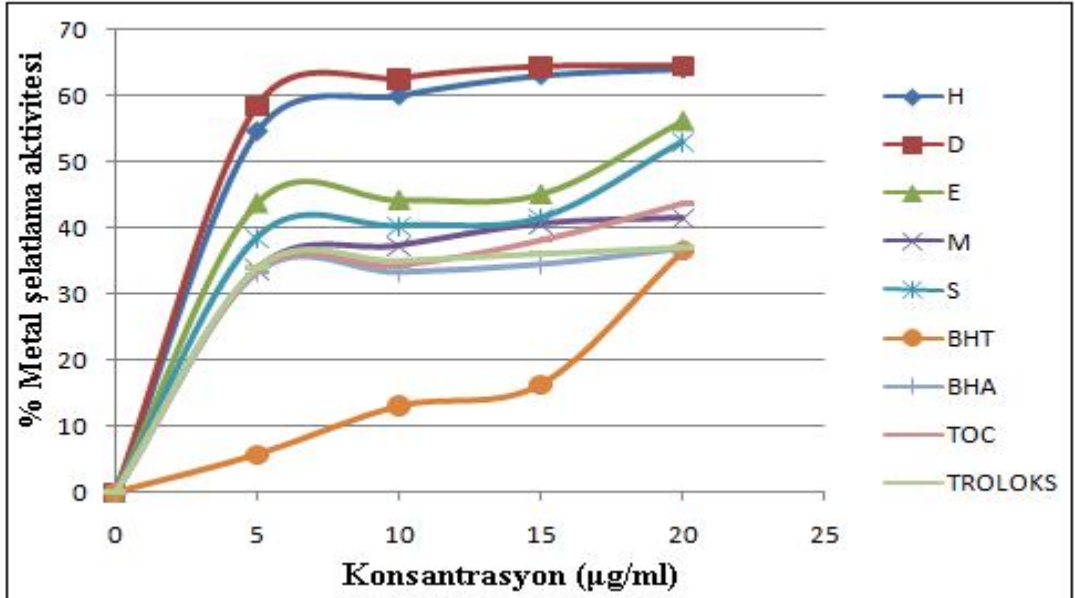
Hem çeşitli çözücü ekstrelerinde hem de standart olarak kullanılan maddelerde yapılan çalışmalarda artan konsantrasyonlarda metal şelatlama aktivitesinin de arttığı görülmüştür. Alchemilla L. Cinsine ait 3 tür ile yapılan çalışma sonuçları şekil 34, şekil 35 ve şekil 36'da grafik olarak verilmiştir.



Şekil 34. *A. holotricha* çözücü ekstrelerinin ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında metal şelatlama aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC: α-Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)



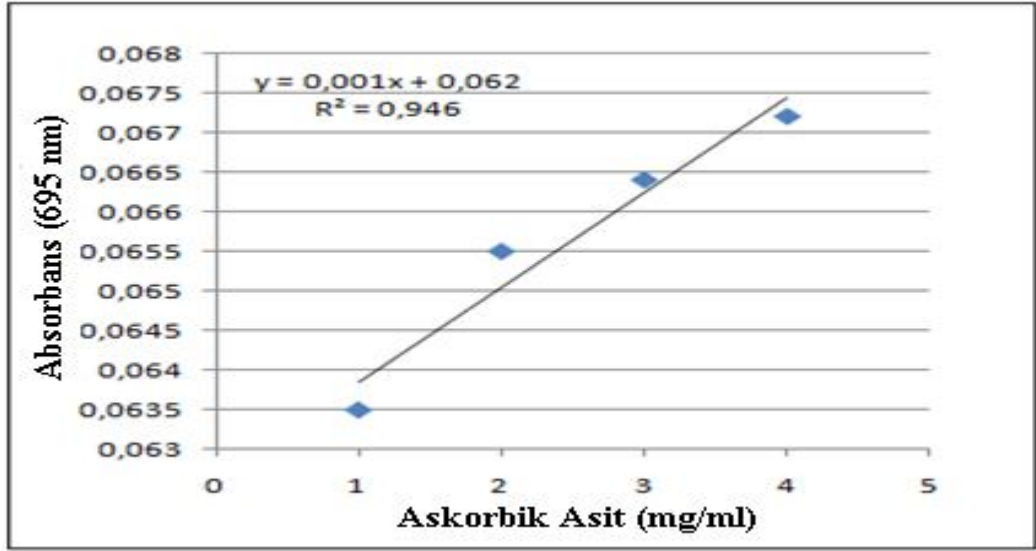
Şekil 35. *A. persica* çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında metal şelatlama aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)



Şekil 36. *A. cimilensis* çözücü ekstralarının ve standart antioksidanların farklı konsantrasyonlarında metal şelatlama aktiviteleri (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi TOC:  $\alpha$ -Tokoferol ekstresi BHA:Butil Hidroksi Anisol ekstresi BHT:Butil hidroksi Toluen ekstresi)

#### 4.2.10. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

Çözeltinin absorbansı 695 nm dalga boyunda ölçülür. Antioksidan aktivitesi, askorbik asit eşdeğeri (AAE mg / 1 gr bitki) olarak hesaplandı (Şekil 37).



Şekil 37. Toplam antioksidan kapasite tayini için askorbik asit ile hazırlanan standart grafik

Her bir örnek için, g ekstre başına mg cinsinden toplam antioksidan kapasite içeriği Tablo 13'de verilmiştir.

*A. holotricha* çözücü ekstralarında bulunan toplam antioksidan içerikleri sırasıyla Etil asetat ekstresi > Su ekstresi > Metanol ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. Konsantrasyon değerleri sırasıyla  $359,64 \pm 2,18 > 234,06 \pm 1,52 > 197,84 \pm 0,74 > 135,96 \pm 1,52 > 24,15 \pm 0,35$  olarak bulundu.

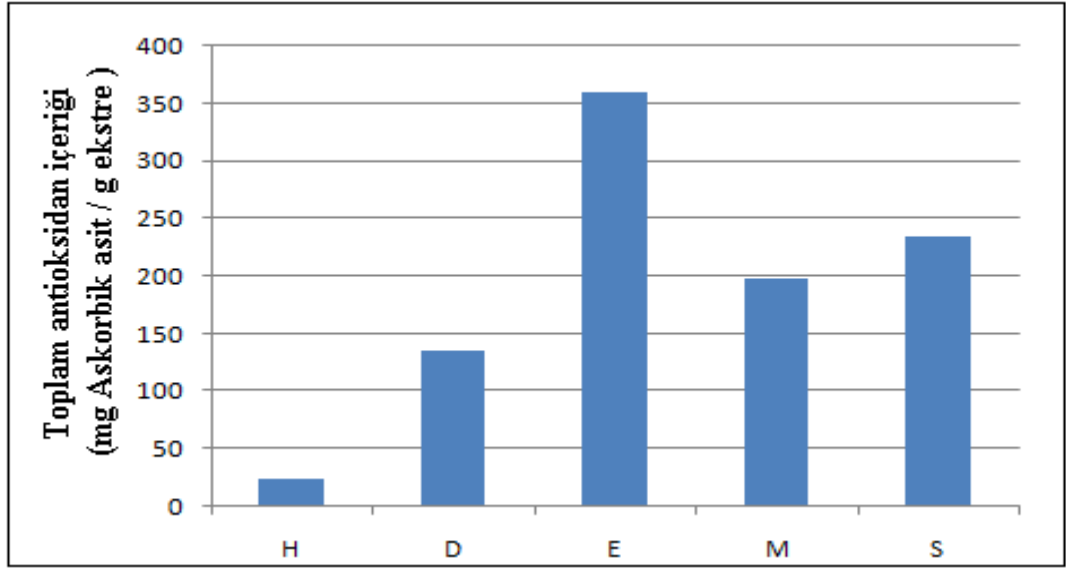
*A. persica* çözücü ekstralarında bulunan toplam antioksidan içerikleri sırasıyla Etil asetat ekstresi > Metanol ekstresi > Su ekstresi > Diklorometan ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. Konsantrasyon değerleri sırasıyla  $292,18 \pm 2,12 > 252,17 \pm 0,63 > 205,62 \pm 0,36 > 129,90 \pm 1,46 > 25,07 \pm 0,41$  olarak bulundu.

*A. cimilensis* çözücü ekstralarında bulunan toplam antioksidan içerikleri sırasıyla Su ekstresi > Etil asetat ekstresi > Diklorometan ekstresi > Metanol ekstresi > Hekzan ekstresi şeklindedir. Konsantrasyon değerleri sırasıyla  $278,86 \pm 0,14 > 273,19 \pm 1,12 > 236,85 \pm 0,52 > 147,28 \pm 0,25 > 13,69 \pm 0,41$  olarak bulundu.

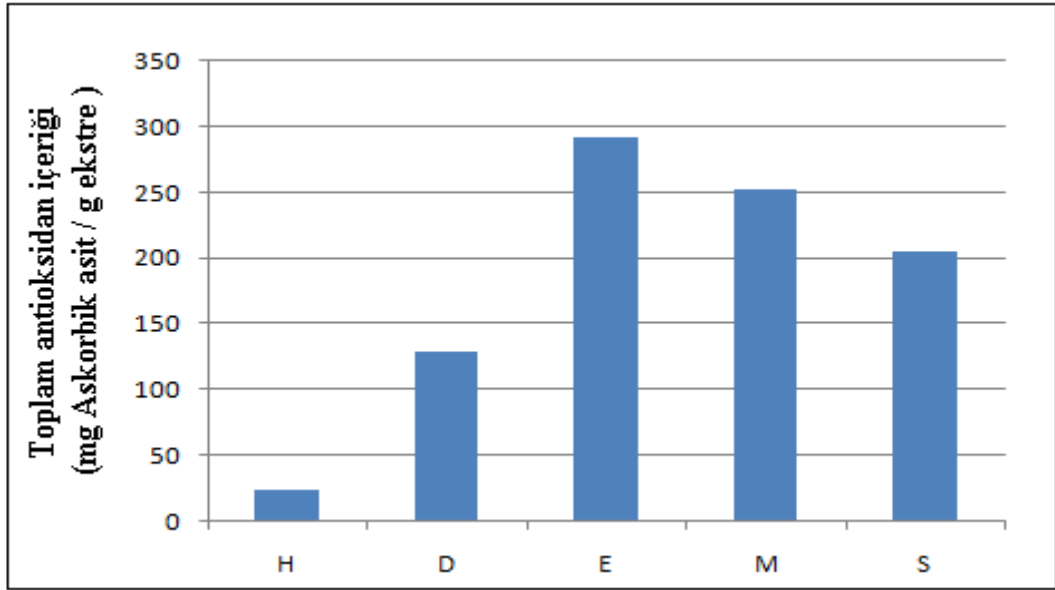
Tablo 13. Ekstrelerin toplam antioksidan kapasiteleri (mg askorbik asit/g ekstre)

	<b>Numuneler</b>	<b>mg/g ekstre</b>
<b><i>A. holotricha</i></b>	Hekzan	24,15 ± 0,35
	Diklorometan	135,96 ± 1,52
	Etil asetat	359,64 ± 2,18
	Metanol	197,84 ± 0,74
	Su	234,06 ± 1,52
<b><i>A. persica</i></b>	Hekzan	25,07 ± 0,41
	Diklorometan	129,90 ± 1,46
	Etil asetat	292,18 ± 2,12
	Metanol	252,17 ± 0,63
	Su	205,62 ± 0,36
<b><i>A. cimilensis</i></b>	Hekzan	13,69 ± 0,41
	Diklorometan	236,85 ± 0,52
	Etil asetat	273,19 ± 1,12
	Metanol	147,28 ± 0,25
	Su	278,86 ± 0,14

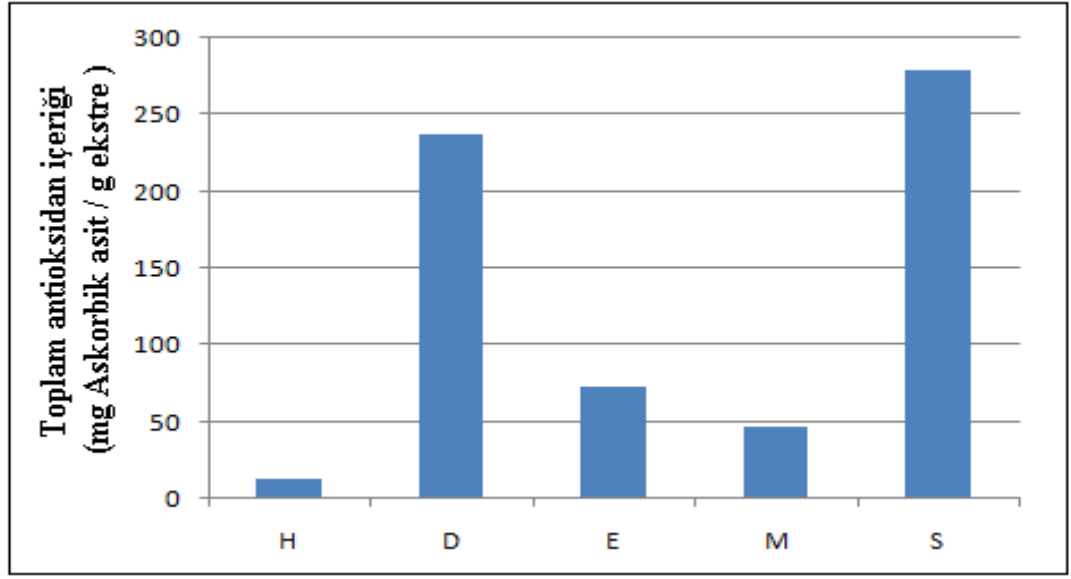
Sonuçlardan görüldüğü gibi *A. holotricha* ve *A. persica* adlı 2 bitki örneğinde toplam antioksidan içeriği etil asetat ekstresinde en fazla çıkmıştır. *A. cimilensis* bitkisinde ise diğerlerinin aksine su ekstresinde en fazla toplam antioksidan içeriğine rastlanmıştır. Her 3 bitki örneğinde görüldüğü üzere hekzan ekstresi ise en az toplam antioksidan içeriğine sahiptir. Alchemilla L. Cinsine ait 3 tür ile yapılan çalışma sonuçları şekil 38, şekil 39 ve şekil 40'ta grafik olarak verilmiştir.



Şekil 38. *A. holotricha* çözücü ekstrelerinin toplam antioksidan miktarı (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 39. *A. persica* çözücü ekstrelerinin toplam antioksidan miktarı (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)



Şekil 40. *A. cimilensis* çözücü ekstralarının toplam antioksidan miktarı (H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi)

#### 4.3.Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivite bulguları

*A. holotricha* türünde en iyi antimikrobiyal sonucu metanol ve etil asetat ekstraları vermiştir. Diklorometan ekstresi diğer mikroorganizmalara karşı az da olsa etki göstermesine rağmen; '*Saccharomyces cerevisiae*' üzerinde etkili olmamıştır. Hekzan ekstresi ise sadece *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* mikroorganizmalarına karşı etki gösterirken diğer mikroorganizmalarda etki göstermemiştir.

*A. holotricha* türüne ait antimikrobiyal aktivite bulguları Tablo 14'de verilmiştir.

Tablo 14. *A. holotricha* türünün antimikrobiyal aktivitesi (Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6 mm çapında olup disklere 30'ar µl ekstre emdirilmiştir. H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etil Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi DMSO: Dimetilsülfoksit Str.: Streptomisin; Streptomisin: Pozitif kontrol, DMSO: Negatif kontrol )

Mikroorganizmalar	<i>Alchemilla holotricha</i>						
	H	D	E	M	S	Str.	DMSO
	İnhibisyon zon çapı (mm)						
<i>Bacillus subtilis</i>	-	7	8	8	7	25	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	10	11	12	7	40	-
<i>Escherichia coli</i>	7	12	17	10	8	40	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	9	15	10	8	26	-
<i>Candida albicans</i>	-	8	13	9	8	16	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	8	11	7	23	-



*A. persica* türüne ait antimikrobiyal aktivitesine ait bulgular Tablo 15’de verilmiştir.

*A. persica* türüne ait diklorometan, etil asetat, metanol ve su ekstreleri mikroorganizmalar üzerinde etki gösterirken; hekzan ekstresi hiçbir mikroorganizma üzerinde etkili olmamıştır.

Tablo 15. *A. persica* türünün antimikrobiyal aktiviteleri (Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6 mm çapında olup disklere 30’ar µl ekstre emdirilmiştir. H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etıl Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi DMSO: Dimetilsülfoksit Str.: Streptomisin; Streptomisin: Pozitif kontrol, DMSO: Negatif kontrol )

Mikroorganizmalar	<i>Alchemilla persica</i>						
	H	D	E	M	S	Str.	DMSO
	İnhibisyon zon çapı (mm)						
<i>Bacillus subtilis</i>	-	11	12	10	10	26	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	12	9	9	8	35	-
<i>Escherichia coli</i>	-	12	12	11	11	39	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	10	9	9	8	24	-
<i>Candida albicans</i>	-	10	8	8	8	24	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	8	10	8	8	21	-

*A. cimilensis* türüne ait antimikrobiyal aktivite bulguları Tablo 16’da verilmiştir.

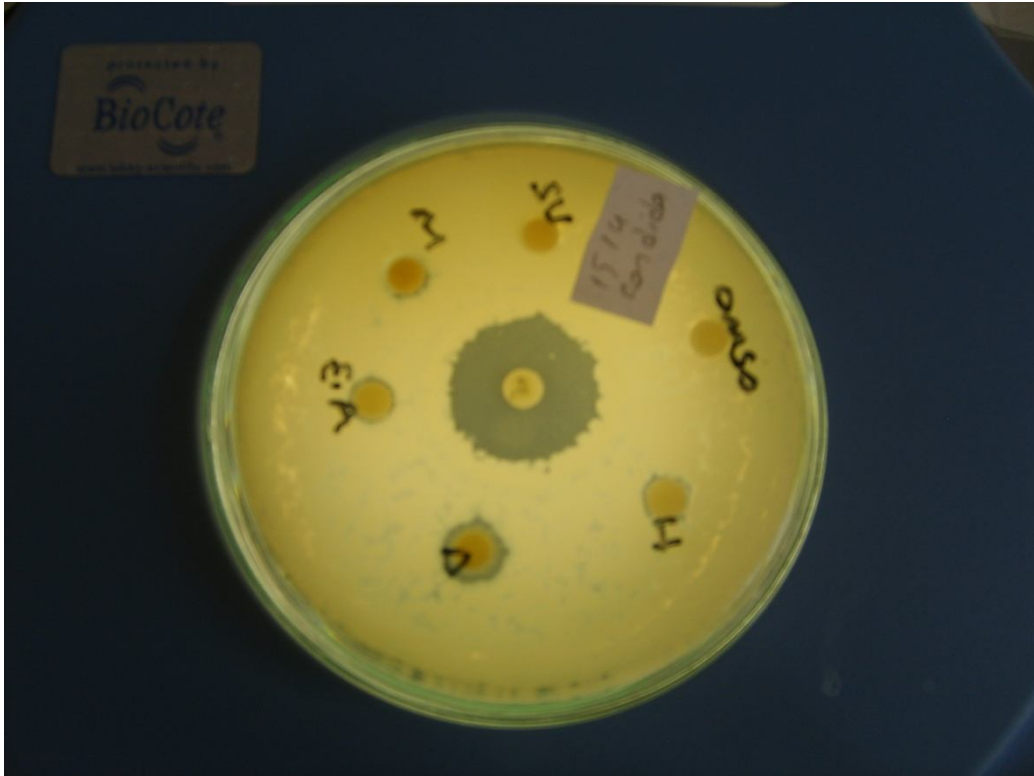
*A. cimilensis* türünde en iyi aktiviteyi diklorometan göstermiştir. Etıl asetat ve metanol ekstrelerinin değerleri ise birbirine hemen hemen benzer çıkmıştır. Hekzan ekstresi ile *A. holotrichan* ve *A. persica*’ ya oranla daha iyi sonuç vermiştir. Hekzan ekstresi sadece *Staphylococcus aureus*’a karşı etkili olmamıştır.

Tablo 16. *A. cimilensis* türünün antimikrobiyal aktivitesi (Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6 mm çapında olup disklere 30’ar µl ekstre emdirilmiştir. H:Hekzan ekstresi D:Diklorometan ekstresi E:Etıl Asetat ekstresi M:Metanol ekstresi S:Su ekstresi DMSO: Dimetilsülfoksit Str.: Streptomisin; Streptomisin: Pozitif kontrol, DMSO: Negatif kontrol )

Mikroorganizmalar	<i>Alchemilla cimilensis</i>						
	H	D	E	M	S	Str.	DMSO
	İnhibisyon zon çapı (mm)						
<i>Bacillus subtilis</i>	7	14	10	11	10	28	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	13	10	9	8	40	-
<i>Escherichia coli</i>	10	13	10	11	10	24	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	9	11	8	7	25	-
<i>Candida albicans</i>	8	11	8	10	8	25	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7	10	8	8	8	21	-

Yapılan çalışmalarda pozitif kontrol grubu olarak Streptomisin, negatif kontrol grubu olarak ise DMSO kullanılmıştır. Çalışmada pozitif kontrol olan Streptomisin tüm ekstrelelere oranla en iyi sonucu verirken; negatif kontrol olan DMSO ise mikroorganizmalar üzerinde hiç etki göstermemiştir.

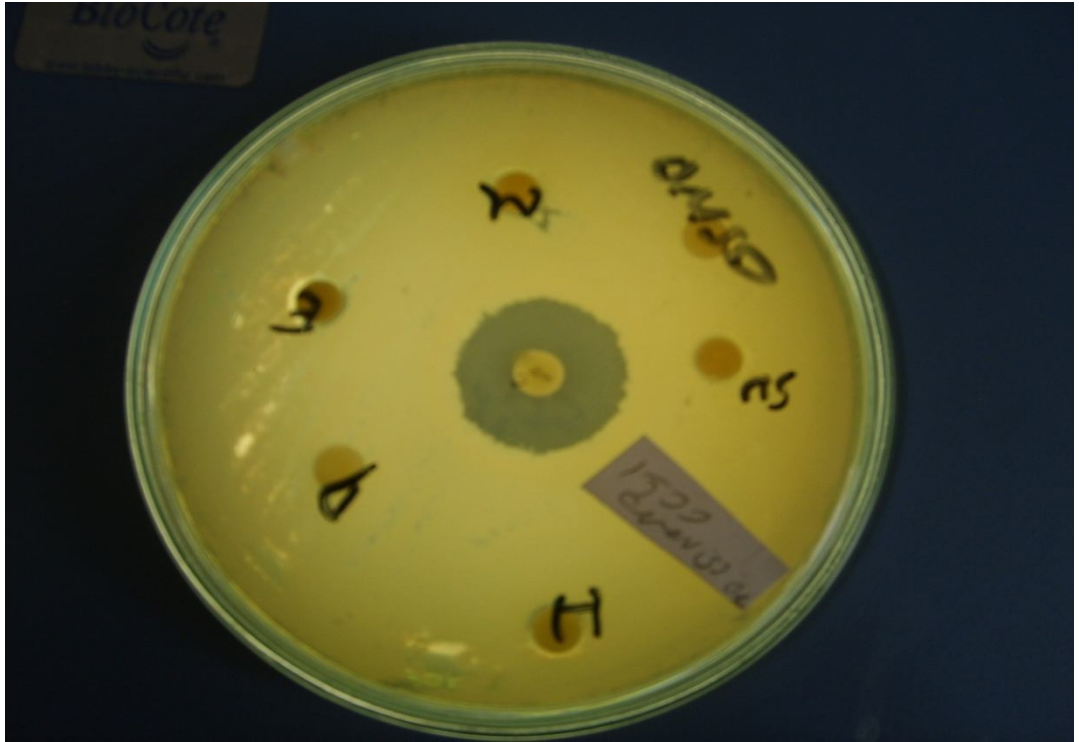
*Alchemilla* türlerinin antimikrobiyal aktivite çalışmasına ait birkaç fotoğraf örneği aşağıda verilmiştir (Şekil 41, şekil 42, şekil 43 ).



Şekil 41. *A. cimilensis* *Candida albicans* üzerindeki etkisi



Şekil 42. *A. persica* *Klebsiella pneumoniae* üzerindeki etkisi



Şekil 43. *A. holotricha* *Saccharomyces cerevisiae* üzerindeki etkisi

## 5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Tıpta tedavi amaçlı bitki kullanımının yaygınlaşması ile birlikte dünya üzerinde bitkilerde bulunan doğal bileşiklere özellikle de oksidatif strese karşı koyabilecek olan antioksidanlara olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle doğal antioksidanların incelenmesi için, bitkiler araştırmaların odak noktası haline gelmiştir.

Ülkemiz bazı bitki türlerinin üretimi ve ihracatı açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Bu bitkilerin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin bilinmesi, hastalıklarla mücadelede önemli katkı sağlayacaktır.

Bitkilerde bulunan antioksidan ve antimikrobiyal içerikler genetik ve çevresel etmenler nedeniyle farklılık gösterebilir. Antioksidan aktivite belirleme çalışmalarında, en yüksek aktivitenin hangi bileşik türlerinden kaynaklandığını saptamak amacıyla artan polariteye göre çözücü sistemi kullanılır.

Bu çalışmada sırasıyla hekzan, diklorometan, etil asetat, metanol ve su ekstralarını kullanılmıştır. Bu çözücüler ile hazırlanan ekstratlar üzerinde antioksidan kapasitenin sağlıklı bir biçimde belirlenebilmesi için farklı ekstratlara ait antioksidan aktivite deneyleri çeşitlendirilmiştir. Bundan dolayı literatürde toplam antioksidan aktiviteyi belirleyen farklı birçok testler sonucunda yöntemler oluşmuştur. Ancak Frankel ve Meyer (2000)'a göre, toplam antioksidan kapasitenin farklı zamanlarda ürünlerin ölçümünün yapılabilmesi ve çeşitli oksidatif durumların belirlenmesi için standart olarak kullanılan antioksidantlar ile aynı molaritede değerlendirilmesi ve indirgeme özelliği, yüzde giderme  $IC_{50}$  değerlerinin yine aynı şekilde aynı molar konsantrasyona sahip olan standart antioksidan bileşikler ile karşılaştırılması önemlidir.

Rice-Evans (1999) ve arkadaşları yaptıkları analitik metot geliştirme çalışmalarıyla ortaya çıkardıkları TEAC metodu ile gıda analizlerinde daha çok tercih edilmektedirler (Re vd., 1999). Diğer taraftan DPPH metodu ise daha çok doğal ürünlerin kendileri ve onların suları ile hazırlanacak gıdaların ölçümünde tercih edilen bir metot olarak karşımıza çıkmaktadır.

Ekstrasyon işlemi sonrasında en fazla ekstre etil asetat çözücüsü ile elde edildi.

Alchemilla L. Cinsine ait 3 tür ile yapılan çalışmalarda antioksidan sonuçları şu şekilde gözlemlendi:

Toplam fenolik madde içerik belirleme çalışmaları Folin–Ciocalteu metodu kullanılarak yapıldı. *Alchemilla holotricha*, *Alchemilla persica*, *Alchemilla cimilensis* türlerinin etil asetat ile hazırlanan ekstraktlarındaki toplam fenolik madde miktarları diğer ekstraktlara göre daha yüksek miktarda bulundu. Bu miktar etil asetat ekstreleri açısından değerlendirildiğinde *Alchemilla cimilensis* > *Alchemilla holotricha* > *Alchemilla persica* şeklinde sıralanır. Bu sıralamanın rakamsal olarak ifadesi ise;  $67,863 \pm 0,24 > 67,632 \pm 1,45 > 61,105 \pm 1,03$  mg GAE/g ekstre şeklinde olmuştur (Albayrak vd., 2010) *Helicrysum* (Asteraceae)'nin farklı türleri ile yaptıkları çalışmalarda toplam fenolik madde miktarının  $66,74 \pm 1,3$ 'den  $160,63 \pm 1,2$  mg GAE/g değerler arasında olduğunu belirtmişlerdir. Özkan ve ark., (2004) yaptıkları çalışmada *Helicrysum chasmolyticum* metanolik ekstraktlarda  $108,33 \pm 0,88$  mg GAE eşdeğeri olarak toplam fenolik ekstrakt olarak ifade ettiler.

Çalışmada örnek olarak kullanılan tüm türlere ait olarak yapılan toplam flavonoid içeriklerini belirleyen analiz sonucunda da en yüksek toplam flavonoid miktarları yine etil asetat ekstrelerinde ortaya konulmuştur. Türler olarak sıralandığında *Alchemilla persica* > *Alchemilla holotricha* > *Alchemilla cimilensis* sıralaması ortaya çıkmıştır. Bu sıralamanın kateşin (+) eşdeğeri olarak kuru ekstraktaki madde miktarı;  $17,945 \pm 1,02 > 14,825 \pm 0,71 > 13,712 \pm 1,07$  mg CE/g ekstre miktarlarında hesaplandı. Hossain ve Rahman (2011) yılında yapmış oldukları çalışmada tropikal meyve olan ananasta toplam flavonoid içeriğini su ekstresinde  $39,4 \pm 1,1$  etil asetat ekstresini  $37,9 \pm 0,3$  ve metanol ekstresini  $55,2 \pm 0,2$  mg/gr kuru ekstrede kersetin eşleniği olarak belirlemişlerdir. Toplam fenolik asit içerikleri ise hekzan çözeltilerinde diğer çözeltilere oranla daha fazla olduğuna ve bu durum *Alchemilla cimilensis* > *Alchemilla persica* > *Alchemilla holotricha* sıralamasıyla ifade edilebilir. Burada Sinapik Asit eşdeğeri olarak sırasıyla  $0,7219 \pm 0,52 > 0,7218 \pm 0,33 > 0,7216 \pm 0,21$  mg/gr miktarlarında hesaplandı. Kullanılan total fenolik bileşik tayini yöntemi renk reaksiyonuna dayalı bir yöntemdir. Bu yöntemin kullanılabilir olduğu lineer aralık yapılan çalışmalarda genellikle tespit edilmemektedir. Yüksek derişimlerde lineerlikten sapma gözlenebilen bir durumdur (Singleton vd., 1999).

Fenolik madde ve flavonoid miktarları ile antioksidan kapasitesi tayin yöntemleri arasında ilişki mevcut olabilir. Özellikle radikal yakalama temeli üzerine kurulu DPPH ve ABTS metotlarının toplam fenolik madde ve flavonoid miktarları ile ilişkisi bazı bitkisel kaynaklarda önemli olabilir. Bununla birlikte antioksidan kapasiteleri ile fenolik bileşikler

ve flavonoidler arasında da önemli farklılıklar söz konusu olabilir. Bitkisel kaynakların antioksidan kapasitelerini değerlendirirken bu ilişkilerin de irdelenmesi önerilmektedir (Eruçar, 2006).

$\beta$ -karoten ve likopen içerikleri bitki ve apolar çözücü sistemlerinde artan polarite ile azaldığı gözlenmiştir. Burada diklorometan ekstraktı yüksek miktarda  $\beta$ -karoten ve likopen içerikleri belirlendi. *Alchemilla persica* > *Alchemilla holotricha* > *Alchemilla cimilensis* şeklinde 1,74 mg/100 ml > 1,68 mg/100 ml > 1,5 mg/100 ml şeklinde belirlendi.

DPPH radikali giderme etkisine bakıldığında özellikle etil asetat ve üzerindeki daha yüksek polaritedeki ekstraktlar da % DPPH giderme aktivitesi aynı konsantrasyondaki standart antioksidanlar olan BHT, BHA, TOC'dan daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. Konsantrasyonun artmasıyla DPPH radikali giderme etkisine bağlı olarak antioksidan aktivitesi de artmaktadır. Hossain ve Rahman (2011) yılında yapmış oldukları çalışmada trpikal meyve olan ananas'da DPPH giderme aktivitesinin Metanol > Etil asetat > Su ekstresi şeklinde bulmuşlardır. Bu durum yaptıkları çalışmada toplam fenol içeriğinin aynı şekilde yani Metanol > Etil asetat > Su ekstresi şeklinde sıralanmasıyla olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmada DPPH giderme aktivitesi aynı şekilde toplam fenolik maddenin en yüksek bulunduğu ekstrede en yüksek giderme aktivitesine ulaşılmaktadır. Yani etil asetat ekstraktında en yüksek sırasıyla metanol ve su ekstraktaları her üç örnekte en yüksek sıralamayla dizilenmiştir. Bu özellik açısından standart antioksidanlardan daha yüksek aktivite gösterdikleri de belirlendi.

*Alchemilla holotricha*' da hekzan ve diklorometan ekstresi dışında standart sentetik antioksidanlarla karşılaştırıldığında onlardan daha yüksek aktivite göstermiş olduğu, *Alchemilla persica*' da ise aynı şekilde tüm konsantrasyonlar karşılaştırıldığında hekzan ve diklorometan ekstresi dışındaki diğer tüm ekstraktların indirgeyici gücü sentetik antioksidanlardan yüksek çıkmıştır. *Alchemilla cimilensis*'e bakıldığında ise aynı şekilde etil asetat ve daha yüksek polaritedeki aktivite yüksek olmakla beraber, etil asetat ekstraktında bir azalma söz konusu olmuştur. Bununla beraber etil asetat ve üzerindeki polarite artışı indirgeyici gücün aktivitesini standart antioksidanların üzerine taşımıştır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giderme aktivitesine baktığımızda ise hekzan ekstreleri tüm türlerin en çok hidrojen peroksit giderme yeteneğine sahip olan ekstreleri olarak ortaya çıkmıştır. Bu durum hekzan fraksiyonundaki yağ asitlerinin doyurulması ile olduğu fikrini akla getirmektedir.

OH radikallerini giderme aktivitesi bütün *Alchemilla* tür ve onlara ait ekstreler içinde en yüksek diklormetan-etil asetat ekstrelerinde ortaya çıktığı görüldü. Özellikle diklormetan çalışılan tüm türlerin tüm konsantrasyonlarında yüksek bir radikal giderme aktivitesi gösterdi.

Metal şelatlama aktivitelere de bakıldığında yine yüksek aktivite diklorometan ekstrelerinde ve hekzan ekstrelerinde gözlenmektedir. Bu durum polarite açısından etil asetat altında bulunanlardan özellikle diklorometan polaritesinde bulunan bileşiklerin sahip olduğu fonksiyonel grupların varlığında metaller ile daha iyi bir bağlantı kurduğunu düşündürmektedir. Burada çalışılan tüm türlerde aynı özellikler ortaya çıkmıştır. Tüm ekstreler yine aynı şekilde sentetik standart antioksidanlardan daha yüksek aktivite gösterdiği görüldü.

Cai ve arkadaşlarının Çin'de halk arasında tıbbi özellikleri ile bilinen 112 bitkinin toplam fenolik bileşik içerikleriyle ve bu bitkilerin antioksidan kapasitelerini değerlendirdikleri çalışmalarında toplam antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışılan örnek ekstrelerinin Troloks cinsinden toplam antioksidan kapasiteleri TEAC/ABTS yöntemini kullanarak belirlemişlerdir. Buna göre test edilen örnek ekstraktlarında toplam fenolik içeriği ile antioksidan kapasiteleri arasında önemli bir doğrusal ilişki ile anlamlı olduğunu bulmuşlardır. Aynı şekilde yapmış olduğumuz çalışma ile de bu doğrusal ilişkinin varlığı belirlenmiştir. Çalışılan tüm türlere ait en yüksek toplam fenolik içerik en yüksek etil asetat takiben metanol ve su içeriklerinde belirlendi. Bu özellik çalışılan DPPH yüzde giderme aktivitesinde de aynı sıralamayla ortaya çıkmıştır. Özellikle toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesinde de fosfomolibden yöntemi kullanıldı ve Cai ve arkadaşlarının buldukları sonuçla paralellik gösterdiği görülmüştür (Cai vd., 2004).

Bu çalışmalar sonrası tüm konsantrasyonların incelenmesi sonucunda konsantrasyonun artmasıyla örneklerin antioksidan ve etkilerinin de arttığı gözlemlendi.

Antioksidan konularının karmaşıklığı ve sorgulanabilir yöntemlerin uygun olmayan kullanımları antioksidan araştırmaları yapan araştırmacı ve endüstri çalışanlarını zor durumda bırakabilmektedir. Standart bir yöntemin eksikliği farklı araştırma gruplarının sonuçlarının karşılaştırılmasını olanaksız kılarken, besin ve bitki kaynaklı ilaç endüstrisinin antioksidan ürünlerde sıkı kalite kontrolün yapabilmesini de sınırlamaktadır (Huang vd., 2005).

Elde edilen sonuçlarda, çalışılan bitkilerin fenolik madde içeriğindeki farklılıkların, gösterdikleri antioksidan özelliklerini etkilediği açıkça görülmüştür. Yüksek fenolik miktarına veya yüksek radikal yakalama aktivitesine sahip olmanın, tüm antioksidan aktivitesi çalışmalarında yüksek sonuç vermediği açıkça görülmüştür. Böylelikle tek bir yöntemle antioksidan aktivitesi hakkında karar vermenin doğru bir yaklaşım olmadığı anlaşılmaktadır. Buna göre antioksidan aktivitesi belirlenirken, farklı yöntemler kullanarak canlı sistemlerdeki biyokimyasal olayları da simüle edebilecek metotların uygulanması ve elde edilen aktivite sonuçlarının, her bir özelliğe göre verilmesi daha doğru bir yaklaşım olacaktır. Bu tip sonuçların *in vivo* çalışmalar ve klinik çalışmalar ile desteklenmesi biyoyararlılığın belirlenmesi açısından da önem taşımaktadır (Eruçar, 2006).

*Alchemilla* cinsine ait türlerde antimikrobiyal çalışmalar açısından yapılan herhangi bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.

Antimikrobiyal aktivite belirleme çalışmasında *Alchemilla* cinsine ait bitki türlerinin gram (+), gram (-) ve maya türleri üzerindeki etkileri araştırıldı. Gram (+) bakteriler olarak *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) ; gram (-) bakteriler olarak *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Klebsiella pneumoniae* (EMCS); maya olarak ise *Candida spp* ve *Saccharomyces cerevisiae* (RSKK 04017) kullanıldı.

Çalışmalarda takip eden ekstraksiyon ile elde edilen hekzan, diklorometan, etil asetat, metanol ve su ekstraktları ile antimikrobiyal aktivite çalışıldı.

Antimikrobiyal aktivite çalışmasında kullanılan tüm ekstraktlar pozitif kontrol olan streptomisine göre oldukça düşük aktivite gösterdiği görüldü. Negatif kontrol olarak kullanılan DMSO ise hiç etki göstermemiştir. Hekzan ekstraktının antimikrobiyal aktivitesinin diğer çözücü ekstraktlarına göre çok düşük çıktığı gözlemlendi.

Tablo 13'de *Alchemilla holotricha* ile ilgili disk difüzyon tekniği ile belirlenmiş antimikrobiyal etkiyi gösteren bilgiler verildi. Buna göre antimikrobiyal özelliğın belirlenmesinde negatif kontrol olarak kullanılan DMSO herhangi bir inhibisyon etkisi göstermemiştir. Kullanılan bitki ekstraktlarından Etil Asetat ile elde edilen ekstraktan üzerinde 500 µg/disk olacak şekilde hazırlanan disklerle yapılan antimikrobiyal etki denemelerinde *E. coli* üzerinde en yüksek inhibisyon çapına ulaşıldığı görüldü. Buradaki inhibisyon çapı yaklaşık olarak 17 mm olarak ölçülmüştür. Takiben yaklaşık olarak 15 mm olarak ölçülen *Klebsiella pneumoniae*, inhibisyon çapı 13 mm olarak ölçülen maya örneği



olan *Candida albicans* onu da 11 mm inhibisyon çapı olan *Staphylococcus aureus* ve 8 mm inhibisyon çapıyla *Bacillus subtilis* izlemiştir. İnhibisyon çapının yüksek olması mikroorganizmaya karşı bir antimikrobiyal aktivitenin varlığının etkinliğini göstermektedir. Burada pozitif kontrol olarak kullanılan Streptomisin de ise bu zon yaklaşık olarak 40 mm olarak ölçülmüştür. İnhibisyon etkinliği olarak bakıldığında etil asetatı en yüksek aktiviteye sahip ekstraktken metanol, su, diklormetan ve hekzan fraksiyonları sırasıyla etkinliklerini ortaya koymaktadırlar. Pozitif kontrol streptomisin farklı mikroorganizmalarda farklı inhibisyon zonu oluşturmaktadır. Buna göre bakıldığında etil asetat ekstresindeki *Candida albicans*'a karşı pozitif kontrol streptomisinin zon çapı 16 mm iken etil asetat ekstrakt 13 mm'lik yüksek bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Aynı şekilde *Klebsiella pneumoniae*'de 26 olan streptomisin zon çapına karşın etil asetat ekstresi 15 mm'lik bir zon çapı oluşturarak nispeten anlamlı bir cevap oluşturmuştur.

Tablo 14'de *A. persica* türüne ait diklorometan, etil asetat, metanol ve su ekstraktları mikroorganizmalar üzerindeki etkisi gösterilmiştir. Tabloya göre hekzan ekstresi hiçbir mikroorganizma üzerinde etkili olmamıştır. *A. persica* ile ilgili disk difüzyon tekniği ile antimikrobiyal özelliğin belirlenmesinde negatif kontrol olarak kullanılan DMSO herhangi bir inhibisyon etkisi göstermemiştir. Kullanılan bitki ekstraktlarından etil Asetat ile elde edilen ekstraktan üzerinde 500 µg/disk olacak şekilde hazırlanan disklerle yapılan antimikrobiyal etki denemelerinde *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis* üzerinde en yüksek inhibisyon çapına ulaşılmıştır. Buradaki inhibisyon çapı yaklaşık olarak 12 mm olarak ölçülmüştür. Takiben 10 mm olarak ölçülen *Saccharomyces cerevisiae*, 9 mm inhibisyon çapıyla *Klebsiella pneumoniae*, 9 mm inhibisyon çapı olan *Staphylococcus aureus* ve 8 mm inhibisyon çapıyla *Candida albicans* olarak belirlenmiştir. Diklorometan ekstraktı ise *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* 'da en yüksek zon çapına 12 mm olarak belirlendi. *Bacillus subtilis* ise 11 mm'lik zon çapında gelişmesini engellemiştir. *Klebsiella pneumoniae* ve *Candida albicans*'da ise 10 mm'lik bir zon çapı ölçülmüştür. *Saccharomyces cerevisiae*'de ise zon çapı 8 mm olarak ölçüldü. Metanol ekstraktı ile su ekstraktının etkisi de birbirine çok yakın olarak belirlenmiştir.

Tablo 15'de *A. cimilensis*'in antimikrobiyal özelliği verilmiştir. Burada tüm türlerde DMSO tüm ekstraktlarda negatif kontrol olarak kullanılmış ve herhangi bir inhibisyon göstermemiştir. Tablo 15'te *A. cimilensis*'in türüne ait diklorometan ekstraktı en yüksek aktiviteye sahip ekstrakt olarak ortaya çıkmıştır. En yüksek antimikrobiyal etki

*Bacillus subtilis* (14 mm) takiben *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (13 mm) olarak ortaya çıkmıştır. Maya örneklerinde daha düşük bir aktivite ortaya çıkmıştır. *Candida albicans* (11 mm) *Saccharomyces cerevisiae* (10 mm) olarak ifade edilen inhibisyon zon çapına bakıldığında ise en dirençli mikroorganizma olarak *Klebsiella pneumoniae* (8 mm) olarak belirlendi. Etil asetat ekstraktının antimikrobiyal özelliği diklorometanı takip etmiştir. Onları takiben de sırasıyla metanol su ve hekzan ekstraktları sıralanmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

- Acar, G.**, 2006. Crocus Cinsine Ait Saf Ekstratların Antimikrobiyal Ve Antioksidant etkisi, Pamukkale Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Denizli.
- Akalin, E.**, 1994. Klinik Uygulamada Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal ilaçlar. Günes Kitabevleri Ltd. Sti., Ankara, 386.
- Akyüz, E.**, 2007. *polygonum bistorta* ssp. *carneum* bitki ekstraktlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri
- Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O. ve Hamzaoglu, E.**, 2010, Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of Helichrysum (Asteraceae) species collected from Turkey. Food Chemistry, 119, 114–122.
- Ali-Shtayeh, M. S., Yaghmour, R. M. R., Faidi, Y. R., Khalid, S. ve Al- Nuri, M. A.**, 1998. Antimicrobial Activity of 20 Plants Used in Folkloric Medicine in the Palestinian Area. J. of Ethnopharmacol., 60, 265-271.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K. ve Gold, L. S.**, 1993. Environ. Health Perspect., in press.
- Arda, M.**, 1997. Mikrobiyal Üremenin Kontrolü. Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayınevi, Ankara, 80-102.
- Arnao, M.B., Cano, A. ve Acosta, M.**, 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity, Food Chemistry, 73, 239-244
- Austin, D. J., Kristinsson, K. G. ve Anderson, R. M.**, 1999. The Relationship Between the Volume of Antimicrobial Consumption in Human Communities and the

Frequency of Resistance. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 96, 1152-1156.

**Ayhan, K.**, 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara, 522.

**Barbour, E. K., Sharif, M. A., Sagherian, V. K., Harbe, A. N. ve Talhouk, R. S.**, 2004. Screening of Selected Indigenous Plants of Lebanon for Antimicrobial Activity. J. of Ethnopharmacol., 93,1-7.

**Barros, L., Calhelha, R. C., Vaz, J. A., Ferreira, I. C. F. R., Baptista, P., ve Estevinho, L. M.**, 2007. Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms. European Food Research and Technology, 225, 151–156.

**Berghe, D.V. ve Vlietinck, A.J.**, 1998. Structure-activity relationship and classification of flaonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. J. Nat. Prod. 61, 71-76.

**Beşe, M.**, 1989. Mikrobiyolojide kullanılan antibiyotik duyarlılık ve deneme yöntemleri, İstanbul, syf: 10-16.

**Bilgehan, H.**, 2000. Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları),10. Baskı . Barış Yay. Fakülteler Kitabevi, İstanbul

**Cai, L., Luo, Q., Sun, M. Ve Corke, H.**, 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sciences, 74, 2157-2184.

**Chen, C.-C., Liu, L.-K., Hsu, J.-D., Huang, H.-P., Yang, M.-Y. ve Wang, C.-J.**, 2005. Mulberry extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. Food Chemistry, 91, 601–607.

- Chen, T. Y. ve Pan, B. S.**, 2007. Ex vivo inhibitory effect on tilapia LDL oxidation and hypolipidemia properties of Glycine tomentella root extract. Comparative Biochemistry and Physiology – Part A: Molecular and Integrative Physiology, 148, 189–195.
- Chen, T. Y., Shiao, M. S., ve Pan, B. S.**, 2005. Inhibition of 12- and 15-lipoxygenase activities and protection of human and tilapia low density lipoprotein oxidation by I-Tiao-Gung (*Glycine tomentella*). Lipids, 40, 1171–1177.
- Chuang, W. L., Haugland, Ø., Pan, B. S. ve Evensen, Ø.**, 2008. Isoflavone-rich extracts from woolly glycine *Glycine tomentella* inhibits LPS-induced TNF- $\alpha$  expression in a macrophage cell line of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Molecular Immunology, 45, 3956–3964.
- Cieslik, E., Greda, A., ve Adamus, W.**, 2006. Contents of polyphenols in fruit and vegetables. Food Chemistry, 94, 135–142.
- Çolak, D.**, 2000. Antimikrobiyal İlaçlar ve etki Mekanizmaları, Genel Bakteriyoloji, syf:81-89.
- Davis, P. H., Mill, R. R. ve Tan, K.**, 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- Demirel, Z.**, 2006. Eğirdir Gölünden İzole Edilen Yeşil Mikroalg (Chlorophyta) *Scenedesmus Protuberans* Fris.'İN Antimikrobiyal Ve Antioksidan Özelliğinin Araştırılması, Ege Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi.
- Deshpande, SS. Sathe, SK. Salunkhe, DK.**, 1984. Chemistry and safety of plant polyphenols, In: Friedman M, ed. Nutritional and toxicological aspects of food safety. Plenum Press, New York, Pp: 457-495.
- Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. ve Almeida, L. M.**, 1994. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of

membrane lipid peroxidation and peroxy radicals scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics 315, 161-169.

**Djipa, C. D., Delmee, M. ve Leclercq, J. O.,** 2000. Antimicrobial Activity of Bark Extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston. J. of Ethnopharmacol., 71, 307-313.

**Duval, B., Shetty, K. ve Thomas, W. H.,** 2000. Phenolic compounds and antioxidant properties in the snow alga *Chlamydomonas nivalis* after Exposure to UV light, Journal of Applied Phycology, 11, 559-566.

**Eloff, J. N.,** 1988. Which Extractand Should be Used for the Screening and Isolation of Antimicrobial Components From Plants. J. of Ethnopharmacol., 60, 1-8.

**Emor, T. G. ve Gaynes, R. P.,** 1993. An Overview of Nosocomial Infections, Including the Role of the Microbiol. Laboratory. Clin. Microbiol. Rev., 6, 428-442.

**Eruçar, S.,** 2006. Bazı bitkisel çayların fenolik madde profili ve Antioksidan aktivitelerin incelenmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi Yüksek lisans tezi.

**Fleming, A.** 1929. On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. British Journal of Experimental Pathology. 10, 226-236.

**Foster J. W., Woodruff H. B. ve Mc Daniel L.E.,** 1943. Penisilin mikrobiyolojik Yönleri: III. *Penicillium notatum* yüzey kültürleri penisilin üretimi. J. Bacteriol. 46.(5),421-433.

**Frankel, E. N. ve Meyer, A. S.,** 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multi functional food and biological antioxidants. Journal of the Science of Food and Agricultural, 80, 1925-1941.

- Fröhner, S.**, 1995. Flora Iberica. Plantas Vasculares de la Peninsula Iberica e Isles Balears, Consejo superior de investigaciones científicas, Madrid.
- Gamez-Meza, N., Noriega-Rodriguez Ja., Medina-Juarez La., Ortega-Garcia, J., Cazarez-Casanova R. ve Angulo-Guerrero O.**, 1999. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from thompson grapebagasse J.A.O.C.S., 76, 144.
- Grossheim, A. A., Kavkaza, F. ve Izdatelectvo**, 1952. Akademi Nauk SSSR, Moskva-Leningrad.
- Guillemot, D.**, 1999. Antibiotic Use in Humans and Bacterial Resistance. Curr. Opin. Microbiol., 2, 494-498.
- Gülay, Z.**, 2002. Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Yorumu, Toraks Dergisi, Cilt 3, Sayı 1 Syf:75-88.
- Halliwell, B. H. ve Gutteridge, J. M. C.**, 1989. Free radicals İn biology and medicine, 2nd edn. Oxford: clarendon press.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M.C.**, 1999. Antioxidant Defences, Free Radikal İn Biology And Medicine, Third Edition, Oxford University Pres, sf:105-231.
- Halliwell, B., Cross, C. E. ve Gutteridge, J. M. C.**, 1992. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? J. Lab. Clin. Med. 119, 598 – 620.
- Halvorsen, B.L., Holte, K. ve Myhrstad, M.C.W.**, 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. Journal of Nutrition, 132, 461–471.
- Harrison, K. ve Were LM.**, 2007. Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of Almond skin extracts. Food Chem 102, 932-937.

- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T. ve Okuda, T.,** 1988. ‘‘2 new flavonoids and other constituents in licorice root - their relative astringency and radical scavenging effects.’’ *Chemical and Pharmacological Bulletin* 36, 2090–2097.
- Hayırhođlu, S., Ayaz ve Beyazođlu,** 1997. O., *Turkish Journal of Botany*, 21, 385-389.
- Heywood,** 1978. *Flowering plants of the World*, Oxford University Pres., Oxford, London, Melbourne.
- Hossain M. A. ve Rahman S. M. M.,** 2011. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple, *Food Research International* 44, 672–676.
- Hughes I.,** 2005. *The Pharmageddon Herbal*, New Zealand.
- Isenberg, H. O., Alperstein, P. ve France, K.,** 1999. In vitro Activity of Ciprofloxacin, Levofloxacin and Trovafloxacin, Alone and in Combination With Beta-lactams Against Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia*. *Diagn. Microbiol. Infect Dis.*, 33, 81-86.
- Ito, N., Hirose M. ve Fukushima G.,** 1986. Studies on antioxidant, their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. *Food Chem Toxicol* 24, 1071-1081.
- Izmailow, R.,** 1981. *Acta. Biol. Cracov. Ser. Bot.*, 23, 117-130.
- Jiangning, G., Xinchu, W., Hou, W., Qinghua, L. ve Kaishun, B.,** 2004. Antioxidant from a Chinese Medicinal Herb-*Psoralea corylifolia* L., *Food Chemistry*, 91, 287-292.
- Juzepczuk, S. W.,** 1971. *Flora of the SSSR*, Izd. Akad. Nauk. SSSR., Moskva-Leningrad.



- Kaur, C. ve Kapoor H. C.**, 2001. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*. 37(2), 153-161.
- Ko, Y. J., Wu, Y. W. ve Lin, W. C.**, 2004. Hypolipidemic effect of *Glycyne tomentella* root extract in hamsters. *The American Journal of Chinese Medicine*, 32, 57–63.
- Koncic, M. Z., Kremer, D., Gruz, J., Strnad, M., Bisevac, G., Kosalec, I., Samec, D., Piljac-Zegarac, J. ve Karlovic, K.**, 2010. Antioxidant and antimicrobial properties of *Moltingia petraea* (Tratt.) Griseb. flower, leaf and stem infusions. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1537–1542.
- Larson RA.**, 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochem* 27.969-978.
- Lin, J-T., Liu, S-C., Gregory, J., Tsay ve Yang, D-J.**, 2010. Composition of flavonoids and phenolic acids in *Glycin tomentella* Hayata cultivated in various soils. *Food Chemistry*, 121, 659–665.
- Loy, G., Cottiglia, F., Garau, D., Deidda, D., Pompei, R. ve Bonsignore, L.**, 2001. Chemical Composition and Cytotoxic and Antimicrobial Activity of *Calycotome villosa* (Poiret) Link leaves. *Il Farmaco.*, 56, 433-436.
- Lu, T. C., Ko, Y. Z., Huang, H. W., Hung, Y. C., Lin, Y. C. ve Peng, W. H.**, 2007. Analgesic and anti-inflammatory activities of aqueous extract from *Glycyne tomentella* root in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 113, 142–148.
- Medeiros, J. R., Campos, L. B., Mendonça, S. C., Davin, L. B. ve Lewis, N. G.**, 2003. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils From Invasive Species of the Azores, *Hedychium gardnerianum* and *Pittosporum undulatum*. *Phytochem.*, 64, 561-565.

- Merken, H. M. ve Beecher, G. R.,** 2000. Measurement of food flavonoids by high performance liquid chromatography: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 577–599.
- Middleton, E., Jr., Kandaswami, C. ve Theoharides, T. H.,** 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673–751.
- Mingbo, Z., I. Yoichiro, T. ve Pengfei,** 2005. Isolation of a novel flavanone 6-glucoside from the flowers of *Carthamus tinctorium* (Honghua) by high-speed countercurrent chromatography. *J. Chromatogr. A.*, 1090, 193-196.
- Munoz, P., Bouza, E., Cuenca-Estrella, M., Eiros, J.M., Perez, M.J., Sanchez-Somolinos, M., Rincon, C., Hortal, J. ve Pelaez, T.,** 2005. *Saccharomyces cerevisiae* Fungemia: An Emerging Infectious Disease. *Clinical Infectious Diseases*. 40, 1625–1634.
- Naik, T. R., Kraus, R. N., Ramme, B. W. ve Siddique, R.,** 2003. “Long-term performance of high-volume fly ash concrete pavements.” *ACI Mater. J.*, 100!2", 150–155.
- Oyaizu, M.,** 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, *Japan Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Özkan, G., Sagdic, O. ve Özcelik, H.,** 2004. Some Turkish endemic herb extracts as antibacterial and antioxidant agents. In Fourth international congress environmental micropaleontology, microbiology and meiobenthology (pp. 151–154). Isparta, Turkey.
- Pacheco, P., Sierra, J., Schmedahirschmann, G., Potter, C. W., Jones, B. M. ve Moshref, M.,** 1993. Antiviral Activity of Chilean Medicinal Plant-extracts. *Phytother. Res.*, 7(6), 415-418.

- Pannuti, C. S. ve Grinbaum, R. S.**, 1995. An Overview of Nosocomial Infection Control in Brazil. *Infect Control. Hosp. Epidemiol.*, 16, 170-174.
- Pawlowski B. ve Walters, S.M.**, 1972. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- Pegg, R.B., Amarowicz, R., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. ve Weil, J.A.**, 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from Canadian prairies, *Food Chemistry*, 84, 551-562.
- Pietta, P., Simonetti, P. ve Mauri, P.**, 1998. Antioxidant activity of selected medicinal plants. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4487-4490.
- Pokorny J.**, 1991. Natural antioxidant for food use. *Trends Food Sci Technol* 9, 223-227.
- Prieto, P.M., Pineda, M. ve 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.
- Prior, R. L.**, 2003. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 570S-578.
- Qian, J.-Y., Liu, D. ve Huang, A.-G.**, 2004. The efficiency of flavonoids in polar extracts of *Lycium chinense* Mill fruits as free radical scavenger. *Food Chemistry*, 87, 283-288.
- Ratnakar, P. ve Murthy, P. S.**, 1995. Purification and Mechanisms of Action of Antitubercular Principle From Garlic (*Allium sativum*) Active Against Isoniazid Suceptible and Resistant *Mycobacterium tuberculosis* H37RV. *Indian J. of Clin. Biochem.*, 10, 14-18.

- Re, R., Pellegrini, N., Protrggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C.**1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Madicine*, 26, 1231-1237.
- Rehman, Z., Salariya, A. M. ve Habib, F.,** 2003. Antioxidant activity of ginger extract in sunflower oil, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 624-629
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. ve Paganda, G.,** 1996. Structure-antioxidant activity relation ships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933 956.
- Robinson, C.H., Lawler, M.R., Chenoweth, W.L. ve Garwick, A.E.,** 1997. Roles of Nutrients in Regulation, Normal and Therapeutic Nutrition, Seventeenth Edition, Macmillan Publishing Company New York, pg: 254-255.
- Rothmaler, W.,** 1937. Feddes Repert, 42, 146-173.
- Rothmaler, W.,** 1941. Feddes Repert, 50, 245-255.
- Ruch, J., Cheng, R. S. ve Klaunig, J. E.,** 1989. “ Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea” *Carcinogenesis* vol.10 no.6 pp. 1003-1008.
- Saleem, A., Husheem, M., Harkonen, P. ve Pihlaja, K.,** 2002. Inhibition of cancer cell growth by crude extract and the phenolics of *Terminalia chebula* retz. fruit. *Journal of Ethno-pharmacology*, 81, 327–336.
- Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M. M. ve Toth-Markus, M.,** 2005. Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*, 38, 1023–1029.

- Saxena, V. K. ve Sharma, R. N.,** 1999 Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Lankana aculeata*. Fitoterapia, 70(1), 59-60.
- Shahidi, F., Janitha, P.K. ve Wanasundara, P.** 1992. Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 32,67-102.
- Singleton, V. L., Orthofer , R. ve Lamuela-Raventos, R. M.,** 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299, 152-178.
- Sökmen, A., Sökmen, M., Daferera, D., Polissiou, M., Candan, F., Ünlü, M. ve Akpulat, H. A.,** 2004. The in vitro antioksidant ve Antimicrobial Activities of the Essensial Oil and Methanol Extracts of *Achillea biebersteini* Afan. (Asteraceae), Phytotherapy Research, 18, 451-456.
- Sökmen, M., Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, A. ve Akpulat, A.H.,** 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of essential oil anh methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae), Journal of Ethnopharmacology, 87, 215-220.
- Suja, K.P., Jayalekshmy, A. ve Arumughan, C.,** 2005. Antioxidant aktivty of sesame cake extract, Food Chemistry, 91, 213-219.
- Talaro, K. ve Talaro, A.,** 1993. Foundations in Microbiology, Wm. C.Brown Publishers, Chapter 10, pg: 296-310.
- Tatçı, Ç.,** 1999. Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, P.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli
- Townsend, C.C., Guest, E.,** 1966. Flora of Iraq, Ministry of Agriculture, Republic of Iraq, Baghdad.

- Trappey, A., II, Bawadi, H. A., Bansode, R. R. ve Losso, J. N.,** 2005. Anthocyanin profile of mayhaw (*Cretaeagus opaca*). Food Chemistry, 91, 665–671.
- Tsao, R. ve Akhtar, M.H.,** 2005. Nutraceuticals and functional foods. I. Current trend in phytochemical antioxidant research. Journal of Food, Agriculture and Environment 3, 10–17.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. ve Oomah, B. D.,** 1998. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables and Grain Products. J. Agr. Food Chem., 46, 4113-4117.
- Walters, S. M. ve Pawlowski, B.** 1968. Flora Europaea, Cambridge Univ. Pres. Cambridge.
- Zhang, Y., Vareed, S. K. ve Nair, M. G.,** 2005. Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. Life Sciences, 76, 1465–1472.

## ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Ankara'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Kayseri'de tamamladı. 2005 yılında Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji öğretmenliği Bölümü'nde öğrenime başladı. 2010 yılında bu bölümden mezun oldu. 2011 yılında Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. Halen MEB'de öğretmen olarak görev yapmaktadır.