

***Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* BİTKİ
EKSTRELERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

Mehmet Kadir ERDOĞAN

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŞ

TEMMUZ-2012

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

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*
**BİTKİ EKSTRELERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet Kadir ERDOĞAN

(Enstitü Tez No:.....)

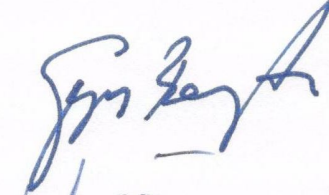
Danışman: Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŞ

TEMMUZ 2012

Onay Sayfası

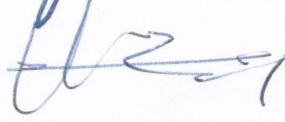
Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŞ danışmanlığında, Mehmet Kadir ERDOĞAN'ın hazırladığı “*Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* BİTKİ EKSTRELERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ” konulu bu çalışma 09/07/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: **Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŞ**



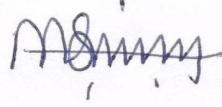
İmza

Üye: **Yrd. Doç. Dr. Metin T. UĞUZ**



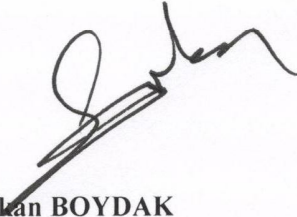
İmza

Üye: **Yrd. Doç. Dr. Mikdat ŞİMŞEK**



İmza

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



İmza

Prof. Dr. Erkan BOYDAK

Enstitü Müdürü

Bu çalışma BÜBAP (BAP-481-73-2011) tarafından desteklenmiştir.

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

ÖNSÖZ

Yüksek lisans süresince benden bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŞ' a,

Hem laboratuvar çalışmaları hem de tezimin yazılması esnasında her türlü desteğini gördüğüm abim Sayın Doç. Dr. İbrahim Y. ERDOĞAN'a

Laboratuvar çalışmalarında ve tezimin hazırlanmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Bülent KAYA'ya ve Arş. Gör. İbrahim Halil GEÇİBESLER'e,

Tez çalışmalarımında kullanılan bitkinin toplanmasında ve teşhis edilmesinde değerli vaktini ayıran Sayın Yrd. Doç. Dr. Alpaslan KOÇAK'a,

Tezimin yazılmasında olumlu katkıları için Sayın Yrd. Doç. Dr. Metin T. UĞUZ ve Yrd. Doç. Dr. Mikdat ŞİMŞEK'e

Laboratuvar çalışmalarımındaki destekleri için Uzman A. Şükrü BENGÜ'ye

İstatistik analizlerindeki yardımından dolayı Arş. Gör. Nurullah DEMİR'e ,

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili annem, babam ve kardeşlerime,

Teşekkür ederim.

Mehmet Kadir ERDOĞAN

Bingöl – 2012

Bu çalışma “*Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* Bitki Ekstrelerinin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi” başlıklı BÜBAP-481-73-2011 no'lu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
ÇİZELGELER LİSTESİ	XI
KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Bitkinin Özellikleri	4
2.1.1. Compositae (Asteraceae) Familyası	4
2.1.2. <i>Tanacetum</i> L. Türlerinin Botanik Özellikleri	4
2.1.3. <i>Tanacetum</i> L. Türlerinin Biyolojik Etkileri ve Halk Arasında Kullanımı	5
2.1.4. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> Bitkisinin Özellikleri	6
2.2. Serbest Radikaller	6
2.3. Antioksidanlar	9
2.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	10
2.3.1.1. Doğal Antioksidanlar	10
2.3.1.1.1. Tokoferoller	11
2.3.1.1.2. Askorbik Asit (C vitamini)	11
2.3.1.1.3. Fenolik Maddeler	12
2.3.1.1.4. Karotenoidler	13
2.3.1.1.5. Antioksidan Enzimler	14
2.3.1.2. Sentetik Antioksidanlar	14
2.3.1.2.1. Gallatlar	14
2.3.1.2.2. Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA)	15

2.3.1.2.3. Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT)	15
2.3.1.2.4. Tersiyer Bütil Hidroki Non (TBHQ).....	15
2.4. Test Mikroorganizmalarının Genel Özellikleri.....	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. Bitkisel Materyal.....	20
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Besiyerleri.....	21
3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar	22
3.1.4. Antioksidan Kapasite Çalışmalarında Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması...22	
3.1.4.1. DPPH giderme aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler.....	22
3.1.4.2. Hidrojen peroksit giderme aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler.....	23
3.1.4.3. Metal şelatlama kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler.....	23
3.1.4.4. Toplam indirgeme kuvveti tayini ile ilgili çözeltiler	23
3.1.4.5. Toplam β -karoten ve likopen içeriği tayini ile ilgili çözeltiler.....	23
3.1.4.6. Toplam fenol içeriği tayini ile ilgili çözeltiler.....	24
3.1.4.7. Toplam flavanoid içeriği tayini ile ilgili çözeltiler	24
3.1.4.8. Fenolik asit içeriğinin saptanması ile ilgili çözeltiler	24
3.1.4.9. Toplam antioksidan aktivite tayini ile ilgili çözeltiler	24
3.1.5. Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Materyallerin Hazırlanması...25	
3.1.5.1. Kullanılan Besiyerleri ve Hazırlanması.....	25
3.1.5.2. Kullanılan Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması.....	25
3.1.6. Kullanılan Test Mikroorganizmaları.....	26
3.2. Yöntem.....	27
3.2.1. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması.....	27
3.2.2. Ekstraksiyon veriminin hesaplanması.....	27
3.2.3. Ekstrelerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	28
3.2.3.1. Metal Şelatlama Kapasitesi Tayini	28
3.2.3.2. Toplam İndirgeme Kuvveti Tayini	29

3.2.3.3. DPPH Giderme Aktivitesi Tayini.....	29
3.2.3.4. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesinin Tayini	29
3.2.3.5. Toplam β -karoten ve Likopen İçeriğinin Belirlenmesi.....	30
3.2.3.6. Toplam Fenol İçeriği Tayini.....	30
3.2.3.7. Toplam Antioksidan Kapasitenin Saptanması	31
3.2.3.8. Fenolik Asit İçeriğinin Saptanması	31
3.2.3.9. Toplam Flavonoid İçeriği Tayini.....	31
3.2.4. Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	32
3.2.4.1. Agar Disk Difüzyon Metodu ile Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi	32
3.2.4.2. Agar Kuyu Difüzyon Metodu ile Antifungal Etkinin Belirlenmesi	32
3.2.5. İstatistiksel analizler	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	34
4.1. Bitki Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Bulguları.....	34
4.1.1. Metal Şelatlama Kapasitesi Tayinine ait Bulgular.....	34
4.1.2. Toplam İndirgeme Kuvveti Tayinine ait Bulgular.....	36
4.1.3. DPPH Giderme Aktivitesi Ölçümüne ait Bulgular	39
4.1.3.1. IC ₅₀ Değerleri	42
4.1.4. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesinin Tayinine ait Bulgular	44
4.1.5. Toplam β -karoten ve Likopen İçeriğinin Belirlenmesine ait Bulgular	47
4.1.6. Toplam Fenol İçeriği Bulguları	51
4.1.7. Toplam Antioksidan Kapasitenin Saptanmasına ait Bulgular	53
4.1.8. Fenolik Asit İçeriğinin Saptanmasına ait Bulgular	56
4.1.9. Toplam Flavonoid İçeriği Tayinine ait Bulgular	59
4.2. Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitelerine ait Bulgular	61
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	68
KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	79

ÖZET

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita* Bitki Ekstrelerinin

Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi

Yüksek Lisans Tezi
Mehmet Kadir ERDOĞAN

Danışman: Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŞ

Bingöl Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışmada *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisinin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri çeşitli yöntemler kullanılarak incelendi. Bu amaçla, bitki kurutulup öğütüldükten sonra toprak üstü kısmının ekstraksiyonu çözücü olarak aseton, etil asetat, diklorometan, metanol ve saf su kullanılarak ayrı ayrı yapıldı. Yaprak, kök, gövde ve çiçek kısımlarının ekstraksiyonu ise metanol kullanılarak yapıldı.

Antioksidan ve radikal giderme aktivitelerinin belirlenmesi için, her bir ekstrenin DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, Folin-Ciocalteu ayracı ile toplam fenol içeriği, toplam antioksidan aktivitesi, metal şelatlama kapasitesi, toplam indirgeme gücü, hidrojen peroksit giderme aktivitesi, toplam β -karoten ve likopen içeriği, toplam flavanoid içeriği ve fenolik asit içeriği tayin edildi. Sonuçlar BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks standart antioksidan maddeleriyle kıyaslanarak değerlendirildi.

Her bir ekstrenin antimikrobiyal etkisi, agar disk difüzyon yöntemi ve agar kuyu difüzyon yöntemi ile *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus spp*, *Salmonella typhimurium*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Aspergillus niger* mikroorganizmalarına karşı denendi.

Kullanılan bütün yöntemlerde *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisinin tüm ekstrelerinin genel standart antioksidan maddeler olarak bilinen BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks'a yakın değerlerde oksidantlara karşı etkili olduğu bulundu. Bitki ekstrelerinin antimikrobiyal aktiviteleri ise en iyi antibiyotiklerden olan Streptomisin'e göre daha düşük çıkmasına rağmen, diğer çalışmalarla kıyaslandığında, sonuçların yeterli derecede iyi olduğu gözlemlendi.

2012, 90 Sayfa

Anahtar Kelimeler: *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*, Antioksidan Aktivite, Antimikrobiyal Aktivite, Bitki Ekstresi

ABSTRACT

Investigation of Biological Activities on Plant Extracts of

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*

Master Thesis

Mehmet Kadir ERDOĞAN

Supervisor: Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŞ

Bingöl University
Institute of Science
Department of Biology

In this study, the antioxidant and antimicrobial activities of *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* were investigated by using different methods. For this purpose, after the plants were dried and ground to fine powder, the soil upper part's extractions were done separately by using acetone, ethyl acetate, dichloromethane, methanol and water as solvents. The leaf, root, aerial and flower part's extractions were done by using methanol.

In order to determine the activities of antioxidant and radical scavenging, each extract were assayed with the various methods including DPPH free radical scavenging activity, total phenol contents by Folin-Ciocalteu reagent (FCR), total antioxidant activity, metal chelating capacity, total reducing power, hydrogen peroxide scavenging activity, total β -carotene and lycopene contents, total flavonoid contents, total phenolic acid contents. The results were evaluated by comparing with the standard antioxidant BHA, BHT, α -tocopherol and trolox.

The antimicrobial effect of each extract was tested by using the agar disc diffusion method and agar well diffusion method, against *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus spp*, *Salmonella typhimurium*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus niger*.

In all methods used, all the extracts of plant *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* were found to be effective against oxidants in closer values to substances known as general standard antioxidants BHA, BHT, α -tocopherol and trolox. Although the antimicrobial activity of plant extracts is lower than that of streptomycin, which is one of the best antibiotics, when compared with other studies, the results were found to be good enough.

2012, 90 Pages

Keywords: *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*, Antioxidant Activity, Antimicrobial Activity, Plant Extract

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Serbest radikallerin oluşturduğu hücresel hasarlar (Onat vd., 2002).....	8
Şekil 3.1. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> bitkisinin genel görünüşü	20
Şekil 3.2. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> bitkisinin generatif yapısının genel görünüşü.....	21
Şekil 4.1. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks'un ferröz iyonlarını (Fe^{2+}) şelatlama kapasiteleri	36
Şekil 4.2. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks'un ferröz iyonlarını (Fe^{2+}) şelatlama kapasiteleri.....	36
Şekil 4.3. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT ve α -Tokoferol'ün, Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeme kuvvetleri.....	38
Şekil 4.4. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT ve α -Tokoferol'ün, Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeme kuvvetleri	39
Şekil 4.5. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks'un, % DPPH giderme aktiviteleri	41
Şekil 4.6. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks'un, % DPPH giderme aktiviteleri	41
Şekil 4.7. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks'un, IC_{50} değerleri.....	43
Şekil 4.8. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks'un, IC_{50} değerleri	44

Şekil 4.9. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks'un, 20 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarının % H_2O_2 giderme aktiviteleri.....	46
Şekil 4.10. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks'un, 20 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarının % H_2O_2 giderme aktiviteleri.....	46
Şekil 4.11. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstrelerinin β -karoten içerikleri.....	48
Şekil 4.12. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın farklı kısımlarının metanol ekstrelerinin β -karoten içerikleri	48
Şekil 4.13. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstrelerinin likopen içerikleri.....	50
Şekil 4.14. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın farklı kısımlarının metanol ekstrelerinin likopen içerikleri.....	51
Şekil 4.15. Toplam fenol içeriği için gallik asit ile hazırlanan standart grafik	51
Şekil 4.16. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstrelerinin toplam fenol içerikleri.....	53
Şekil 4.17. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın farklı kısımlarının metanol ekstrelerinin toplam fenol içerikleri.....	53
Şekil 4.18. Toplam antioksidan kapasite tayini için α -Tokoferol ile hazırlanan standart grafik	54
Şekil 4.19. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstrelerinin toplam antioksidan miktarları.....	55
Şekil 4.20. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın farklı kısımlarının metanol ekstrelerinin toplam antioksidan miktarları	56
Şekil 4.21. Fenolik asit tayini için kafeik asit ile hazırlanan standart grafik	56
Şekil 4.22. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstrelerinin fenolik asit miktarları.....	58
Şekil 4.23. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın farklı kısımlarının metanol ekstrelerinin fenolik asit miktarları.....	58
Şekil 4.24. Toplam flavonoid içeriği tayini için kersetin ile hazırlanan standart grafik.....	59

Şekil 4.25. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstralarının toplam flavonoid içerikleri.....	61
Şekil 4.26. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> 'nın farklı kısımlarının metanol ekstrelerinin toplam flavonoid içerikleri.....	61

ÇİZELGELER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 2.1. Radikaller, simgeler ve kimlikleri.....	7
Çizelge 3.1. Kullanılan mikroorganizmalar ve kodları.....	26
Çizelge 3.2. Toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstre miktarları ve yüzde verimleri.....	28
Çizelge 3.3. Çeşitli kısımlardan elde edilen metanol ekstre miktarları ve yüzde verimleri.....	28
Çizelge 4.1. Ekstrelerin ve standartların % metal şelatlama kapasiteleri	35
Çizelge 4.2. Ekstrelerin ve standartların Fe ⁺³ 'ü Fe ⁺² 'ye indirgeme kapasitesi	37
Çizelge 4.3. Ekstrelerin ve standartların % DPPH giderme aktiviteleri.....	40
Çizelge 4.4. Ekstrelerin ve standartların DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçlarından elde edilen IC ₅₀ değerleri.....	42
Çizelge 4.5. Ekstrelerin ve standartların % H ₂ O ₂ giderme aktiviteleri	45
Çizelge 4.6. Ekstrelerin β-karoten içerikleri (mg/g ekstre).....	47
Çizelge 4.7. Ekstrelerin içerikleri (mg/g ekstre)	49
Çizelge 4.8. Ekstrelerin toplam fenol içerikleri (mg GAE/g ekstre).....	52
Çizelge 4.9. Ekstrelerin toplam antioksidan kapasiteleri (mg α-TE/g ekstre)	54
Çizelge 4.10. Ekstrelerin fenolik asit içerikleri (mg KAE/g ekstre)	57
Çizelge 4.11. Ekstrelerin toplam flavonoid içerikleri (mg KE/g ekstre).....	60
Çizelge 4.12. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> ' nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstrelerinin test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri	62
Çizelge 4.13. <i>Tanacetum balsamita</i> L. subsp. <i>balsamita</i> ' nın farklı kısımlarından elde edilen metanol ekstrelerinin test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri	63

KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ

BHA	: Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksi toluen
DMSO	: Dimetilsulfoksit
DPPH	: 2,2-Difenil 1-pikril hidrazil
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
GAE	: Gallik asit ekivalenti
MHA	: Mueller Hinton agar
NB	: Nutrient Broth
PDA	: Patates Dekstroza agar
QE	: Kersetin ekivalenti
TCA	: Triklorasetik asit
Troloks	: 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-karboxilik asit
α -TE	: α -Tokoferol ekivalenti
A_{Kontrol}	: Kontrolün absorbanansı
A_{Numune}	: Numunenin absorbanansı
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
μm	: Mikrometre
m	: Metre
UV	: Ultraviyole
μg	: Mikrogram
nm	: Nanometre
g	: Gram
μl	: Mikrolitre
mM	: Milimolar
M	: Molar
$^{\circ}\text{C}$: Celcius derecesi

1. GİRİŞ

Bitkiler, tarihin çok eski dönemlerinden beri insanoğlu için hem gıda kaynağı olarak hem de koku ve tat verici, silah ve yakacak gibi pek çok farklı alanda kullanılmıştır. Ayrıca birçok hastalığın tedavisi için şifalı bitkilerden elde edilen özütlerden faydalanılmıştır. Özellikle 19. yüzyıldan itibaren bitkilerdeki etken maddelerin sentetik olarak üretilmeye başlanmasıyla ilaç endüstrisi doğmuş ve eski geleneksel metotlar büyük ölçüde bir kenara bırakılmıştır (Baytop, 1999). Fakat bitkilerden üretilen sentetik ilaçların modern tıpta tedavide istenilen başarıyı sağlayamaması, olumlu etkisinin yanı sıra birçok olumsuz yan etkiye sahip olması gibi nedenlerden ötürü, son 25-30 yılda, “alternatif tıp” adıyla bilinen bitkilerden elde edilen özütlere dayalı tedavi yöntemlerine karşı gittikçe artan bir ilgi ortaya çıkmıştır. Bitki özütlerinden elde edilen doğal ilaçlar, çoğunlukla önemli bir yan etkiye sahip olmamakla birlikte, olumlu birçok etkiyi bünyelerinde taşıdıkları için son yıllarda sentetik ilaçlara göre daha cazip hale gelmiştir. Bundan dolayı, tıbbi etkiye sahip bitkisel ilaç araştırmaları oldukça ilgi duyulan bir bilimsel saha olarak ortaya çıkmaktadır (Başer, 1990).

İnsanoğlunun tedavi amacıyla kullandığı bitki sayısı ve çeşidi, antik çağlardan beri devamlı bir artış halindedir. Mezopotamya uygarlığı döneminde kullanılan bitkisel drog miktarı 250 civarında iken bu sayı Grekler döneminde 600'e ulaşmıştır (Saber, 1982). Arap-Fars uygarlığı döneminde 4.000 civarında bitki tedavi amaçlı kullanılmıştır (Levey, 1973). 19. yüzyıla gelindiğinde ise tıbbi öneme sahip bitki sayısı 13.000'i bulmuştur (Baytop, 1999).

Bitkilerin tedavi amacıyla kullanıldıklarını gösteren en eski eserler Çinlilere aittir. M.Ö. 3217 yılında Shen-Nung tarafından yazılan “Materia Medica” adlı eserde, 200'den fazla tıbbi bitkiden söz edilmektedir. Anadolu insanı Yontma Taş (Paleolitik) Devrinden (M.Ö. 5000) beri bitkileri tedavi amacıyla kullanmaktadır. Hakkari'nin hemen güneyinde yer alan Şanidar Mağarası'nda ortaya çıkartılan Neandertal mezarları içinde bulunan bitki örnekleri bu varsayımın sağlam kanıtlarıdır (Ünal, 2006).

İlaçlar ve tedaviyle ilgili yazmaların en önemlisi M.Ö. 1550 yıllarında yazıldığı tahmin edilen Ebers papirüsüdür. Bu papirüs Teb'de El Assassaif'in mezarında bir mumyanın bacakları arasında bulunmuş olup, 77 kadar bitkisel, hayvansal ve madensel drog ve 800'den fazla reçete taşımaktadır. Acı marul, adasoğanı, ardıç meyvesi, banotu,

çiğdem, hardal, incir, keten tohumu, pelinotu, safran, tarçın v.b. reçetelerde ismi geçen bitkisel droglardır (Bayramoğlu ve Toksoy, 2008).

Bilinen 250.000 bitkinin yaklaşık 35.000-70.000'i tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde halkın yaklaşık %80'i sağlıkları için şifalı bitki kullanmaya devam etmektedir (Mukerji, 1997).

Ülkemiz gerek flora gerekse bu flora içerisindeki endemik türler bakımından çok büyük potansiyele sahiptir. Türkiye, yaklaşık 12.000 bitki taksonu ile bitki zenginliği açısından dünyada önemli bir konumdadır. Yüzölçümü olarak Türkiye'den 25 kat daha büyük olan Avrupa'da ise takson sayısı 11.000 civarındadır. Yine Türkiye Florası'nı oluşturan taksonlardan 3.800'ü endemiktir ve bu sayı Avrupa'da yaklaşık olarak 2.600 civarındadır (Malyer, 1996).

Bitkiler üzerinde yapılan araştırmalarda bitkilerin, ekosistemle olan ilişkisinde, çevresel koşullara uyumunda, savunma, korunma, hayatta kalma, nesillerini sürdürme gibi önemli olaylarda çeşitli avantajlar sağlayan, Sekonder Metabolit olarak tanımlanan kimyasal maddeler içerdikleri saptanmıştır (Bourgaud vd., 2001). Bugüne kadar yaklaşık 100.000 Sekonder Metabolit bitkilerden izole edilerek tanımlanmıştır. Her yıl bu sayıya yaklaşık 4.000 kadar yeni bileşik eklenmektedir (Verpoorte vd., 1999). Bunlar arasında bitkiyi, patojenlere karşı koruyan antibakteriyel, antifungal ve antiviral maddeler (fitoaleksinler); çimlenmeyi önleyici maddeler; doğal yaşamda rekabet gücünü (allelpati) artıran toksik maddeler; UV ışınları, tuzluluk ve kuraklık gibi zararlı çevresel etmenlerin neden olduğu stres koşullarında direnç arttırıcı metabolitler; zararlı hayvanlar ve otlara karşı koruma sağlayan insektisit ve herbisitler; tozlaşma ve tohum dağılımını sağlamak üzere hayvanları cezbedecek renkli ve güzel kokulu metabolitler bulunmaktadır (Charwood ve Rhodes, 1990).

Pek çok bitki ekstraktı ve bitkisel ürünler antioksidan aktiviteye sahiptir. Sağlık problemleri ve farmasötik ürünlerin maliyeti için tıbbi bitkilerin alternatif bir çözüm olabileceği düşünülmektedir ve bu konuda araştırmalar yapılmaktadır (Çoban vd., 2003).

Bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek amacı ile dünya üzerinde birçok bitkiden faydalanılmaktadır. Günümüzde kullanılan ilaçlar, genellikle bakteriyel enfeksiyonlar için etkili antibiyotik tedavi sağlarken aynı zamanda antibiyotik direnciyle ilgili problemleri de gittikçe artırdığından, bu konuda yeni çözümlere sürekli ihtiyaç duyulmaktadır (Martin ve Ernst, 2003). Bu durum bilim adamlarını değişik kaynaklardan yeni antimikrobiyal bileşiklerin araştırılması için teşvik etmiştir. Bitkilerin yeni antimikrobiyal kemoterapotik

maddelerin elde edilebileceği zengin bir kaynak olması, araştırmaları özellikle tıbbi bitkiler üzerinde yoğunlaştırmıştır (Karaman vd., 2003).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bitkinin Özellikleri

2.1.1. *Compositae* (*Asteraceae*) Familyası

Compositae (*Asteraceae*) familyası, yaklaşık 1509 cins ve 20.000 türle dünyada en fazla türü olan familyadır. *Compositae* familyası, yurdumuzda iki alt familya ile temsil edilir: *Asteroideae* (*Tubuliflorae*) ve *Cichorioideae* (*Liguliflorae*). *Tanacetum* L. cinsi *Asteroideae* alt familyasına girmektedir. *Compositae* familyasının Türkiye’de doğal olarak yetişen 133 cins ve 1156 türü bulunmaktadır (Grierson, 1975).

Dünyada ve Anadolu’da geniş yayılım gösteren *Compositae* familyasına ait birçok türün farmakolojik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu familyadaki bitkiler, diterpenler ve flavanoidlerin yanı sıra ağırlıklı olarak antibakteriyel, antifungal, antihelmintik, antienflamatuar, insektisit ve antitümör gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip seskiterpen lakton sekonder metabolitlerini içermektedir (Grierson, 1975; Koçak, 2008).

Compositae familyasına ait *Tanacetum* L. cinsi yeryüzünde kuzey yarım kürede yayılış göstermekte olup, birçok türü bilinmektedir. Türkiye’de Doğu Anadolu başta olmak üzere, İç ve Güney Anadolu’da oldukça yaygındır. Bu cins ülkemizde 44 tür ile doğal yayılış göstermektedir. Ayrıca 23 endemik türü de bulunmaktadır.

2.1.2. *Tanacetum* L. Türlerinin Botanik Özellikleri

Tanacetum taksonları genellikle rizomlu, kısa veya uzun, dik veya yükselici gövdeli, otsu bazen yarı çalimsıdır. Taksonlar çıplak veya tüylü; tüyler basit veya ikiye çatallanmış olabilir. Yapraklar basit, kenarı dişli, bazen pinnatifit veya 1-3 pinnatisekt olabilir. Kapitulum heterogam veya homogam, tek veya genellikle gevşek dizilişli sık korimbus halindedir. İvolukrum yarı küremsi veya çan şeklinde; involukrumu oluşturan brakteler imbrikat, 3-4 sıralı, lanseolat veya oblong, genellikle kenarları ve tepesi zarımsıdır. Çiçek tablası düz ve çıplaktır. Dilsî çiçeklerin petalleri (ligula) beyaz, sarı veya pembe, involukrumdan az çok uzun 3-lopludur. Dilsî çiçekler bazen eksiktir. Tüpsü çiçekler 5 loplulu ve sarıdır. Akenler silindirik veya çomak şeklinde, 5-10 boyuna oluklu

çoğu kez salgı tüylü veya çıplaktır. Korona kısa veya eksik, genellikle kaba dişli veya loplu, bazen tek taraflı ve sadece arkadaki yüzde bulunur (Grierson, 1975).

2.1.3. *Tanacetum* L. Türlerinin Biyolojik Etkileri ve Halk Arasında Kullanımı

Tanacetum türleri yüzyıllardır halk arasında ilaç olarak farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Bu türlerden; *Tanacetum parthenium* adet düzenleyici ve ateş düşürücü olarak, baş ağrısı, kulak çınlaması, baş dönmesi ve doğumlarda karşılaşılan güçlüklerle karşı kullanılmaktadır (Newall vd., 1996; British Herbal Pharmacopoeia, 1996). Söz konusu ekstreler üzerinde yapılan kimyasal, klinik ve biyolojik çalışmalar sonucunda bu bitkinin antimigren, antienflammatuar, antitümör, antiülser, antimikrobiyal ve insektisit özellikler gösterdiği kesinlik kazanmıştır (Palevitch vd., 1997; Ross vd., 1999; Tournier vd., 1999).

Antimigren etkisinden dolayı, bugün drog olarak satılmakta olan *Tanacetum parthenium*, gösterdiği antimikrotubular etki sonucu kanserli hücrelerin büyümesini belirgin olarak inhibe eder (Miglietta vd., 2004). *Tanacetum vulgare*'nin uçucu yağında bulunan çok zehirli β -tuyon bileşiği nedeniyle dahili ve harici kullanımı oldukça sakıncalıdır. Bitkinin bu özelliklerine rağmen halk arasında sinir yatıştırıcı ve adet düzenleyici olarak, romatizma ve karın ağrılarına karşı, bağırsak kurtlarına, uyuza karşı ve bitki böceklerini uzaklaştırmak için kullanılmaktadır. Bitkinin zehirli olmasından dolayı kuru bitkinin suda ya da alkolde infüzyonu yapılarak kullanılmaktadır (Koçak, 2008). Oltu otu olarak bilinen *T. coccineum* bit, pire ve kene gibi vücut parazitlerine, haşere, sivilcelere ve kaşıntılı deri hastalıklarına karşı kullanılmaktadır (Asımgil, 1993). *T. cinerariaefolium* pire otu olarak bilinmekte ve vücut bitini kontrol altında tutmak için kullanılmaktadır (Güven, 1991). Yavşan adıyla bilinen *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum* bitkisinin herbası yakılıp külü vücuda sürülerek uyuza karşı kullanılmaktadır. Halk arasındaki adı marsuvan otu olan *T. balsamita* türünün çiçekli dalları halk arasında idrar arttırıcı olarak, midevi rahatsızlıklara karşı ve safra kesesi taşlarını düşürücü olarak infüzyon halinde kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Tanacetum türlerinin Türkiye'de çok sayıda olması ve kayda değer oranda endemizm göstermesi nedeniyle yeni biyoaktif bileşiklerin bulunması açısından ülkemiz için önemli bir ekonomik kaynak oluşturacağı düşünülmektedir (Kılıç, 2007).

2.1.4. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* Bitkisinin Özellikleri

Ömür: Çok yıllık

Yapı: Yarı çalimsı

İlk çiçeklenme zamanı: 7. ay

Son çiçeklenme zamanı: 9. ay

Habitat: Nemli alan, ekil alan

Minimum yükseklik: 1100 m

Maksimum yükseklik: 2050 m

Endemik: -

Element: -

Türkiye dağılımı: Orta Anadolu, Doğu Anadolu

Genel dağılımı: Avrupa, Kafkasya, Kuzey İran, Orta Asya

Bulunduğu kareler: A7 A8 A9 B4 B5 B7 B8 B9 C5 C9 C10

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita* 35-80 cm boyunda, çok yıllık yarı çalimsı bir türdür. Gövde tüylü, dallanma üst kısma doğrudur. Bazal yapraklar basit, ovat eliptik, 12-20 cm (petioller 8-15 cm arası)×1,5-5 cm, uçta akut veya subobtus, bazalda kordat, trunkat veya krenat, kenar kısım krenat-serrat, her iki yüzeyde hafif basık-pubescent; gövde giderek incelen yapıda, petiol kısa, bazen sesil, bazen pinnatisekt, bazal kısımdaki segmentler oblong 1-2 parçalıdır. Kapitulum genellikle çok yoğun, korimbusun uç kısmı (3-)30-100 çiçekli, involokrum 5-8 mm çapındadır. Fillariler 3-seriat, lanseolat veya oblong, soluk veya koyuya yakındır. Dışarıda kalan kısım 2,5×0,75 mm, içte kalan kısım 3-3,5×1 mm'dir. Dilsî çiçekler 12-15 tane veya mevcut değildir. Ligulalar beyaz ve boyutları 3,5-7×1,75-3,5 mm'dir. Tüpsü çiçekler sarı ve 2 mm boyutundadır. Akenler ± silindirik, 5(-7-) damarlı, 2 mm boyutunda; korona tam veya bazen dişli, 0,2-0,4 mm boyutundadır (Grierson, 1975).

2.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, organizmada gerek normal metabolik faaliyetlerin bir yan ürünü olarak, gerekse radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasalların etkisi sonucu oluşur. Serbest radikaller dış orbitallerinde ortaklanmamış elektron bulunduran, kısa ömürlü,

reaktif moleküllerdir. Serbest radikallerin en önemlileri süperoksit radikali ($O_2\bullet$), hidroksil radikali ($OH\bullet$) olup, bunlar singlet oksijen (O_2^-) ve radikalik olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) ile birlikte “reaktif oksijen türleri (ROS)” olarak bilinirler (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Hücre içi ROS’un % 90’dan fazlası aerobik solunum reaksiyonları zincirinde mitokondrinin iç membranında üretilir (Wei ve Pang, 2005). ROS, düşük dozlarda çeşitli stres tepkilerinde arabulucu olarak rol oynarken, yüksek dozlarda (oksidatif stres gibi) hücrel zararlar açar (Martin ve Barret, 2002). ROS’lar organizmada lipidler, nükleik asitler, proteinler ve karbonhidratlar gibi biyolojik moleküllerle kolayca reaksiyona girebilir. Bu yüzden ROS’lar yaşlanma, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, immün sistem hastalıkları, katarakt, diyabet, böbrek ve karaciğer hastalıkları gibi pek çok hastalıktan sorumlu tutulur (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri insan vücudunda sürekli meydana gelmektedir. Serbest radikaller nötralize edilmediklerinde vücutta hücre membranı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek, membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellemek, çekirdek membranını yararak nükleustaki genetik materyale etki edip DNA’yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek, bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sisteminin etkisini azaltmak yoluyla ciddi hasarlara neden olabilir (Serteser ve Gök, 2003).

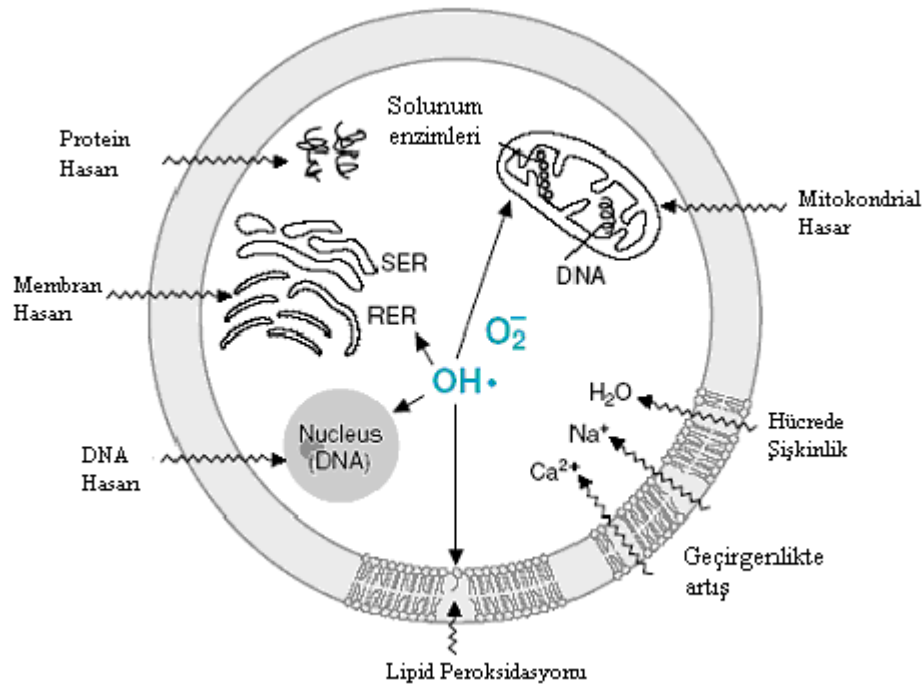
Çizelge 2.1. Radikaller, simgeler ve kimlikleri

Radikal	Simge	Kimlik
Hidrojen	$H\bullet$	Bilinen en basit radikal
Süperoksit	$O_2\bullet$	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil	$OH\bullet$	En toksik oksijen metaboliti radikal
Hidrojen Peroksit	H_2O_2	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	O_2^-	Yarılanma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen formu
Perhidroksi radikal	$HO_2\bullet$	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır
Peroksit radikal	$ROO\bullet$	Perhidroksit daha zayıf etkili lipidlere lokalize olur
Triklorometil	CCl_3	CCl_4 metabolizması ürünü karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyol radikali	$RS\bullet$	Sülfürlü ve esleşmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil	$RO\bullet$	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Azot monoksit	NO	L-arjinin aminoasidinden in vivo üretilir
Azot dioksit	NO_2	NO ’in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

Hüresel koşullarda önemli miktar ve çeşitlilikte serbest radikal üretilir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijen ve azottan oluşan radikallerdir. Bu radikallerin bir listesi Çizelge 2.1’de gösterilmiştir (Çöllü, 2007).

Bilindiği gibi, oksijen canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için mutlak gerekli bir elementtir. Oksijen hücre içinde dört elektron gerektiren bir dizi reaksiyon sonunda indirgenmekte, bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Bu süreçte oksijenin % 1–3’ü tam olarak suya dönüşemez ve bu reaksiyonlarda ara ürün olarak serbest radikaller olan süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^{\bullet}) oluşur (Southorn, 1988).

Serbest radikaller güçlü reaktif özelliğe sahip olduğundan tüm hücre bileşenleriyle kolayca etkileşebilirler. Hücrenin savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılmazlarsa, biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek yeni serbest radikallerin oluştuğu zincirleme bir reaksiyon başlatırlar (Onat vd., 2002). Serbest radikallerin oluşturduğu hüresel hasarlar Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Serbest radikallerin oluşturduğu hüresel hasarlar (Onat vd., 2002)

Reaktif oksijen türlerine en hassas molekülün, hücre membranının ana bileşeni olan lipidler olduğu düşünülmektedir. Organizmada, yeterince reaktif bir atom ya da molekül lipid peroksidasyonunu başlatabilir. Oksijen ya da başka bir radikal, yağ asidinin karbonuna bağlı hidrojenlerden birini elektronuyla birlikte kopararak radikal oluşumuna sebep olabilir. Oluşan bu radikal, komşu yağ asidinden bir hidrojen kopararak yeni bir radikalin oluşumuna da sebep olur. Bu arada oluşan radikalin, oksijenle reaksiyona girmesi halinde peroksil radikali oluşur. Zamanla bu zincirleme reaksiyonlar sonucunda radikal konsantrasyonu artar. Sonuçta lipid peroksidasyonu gerçekleşir (Ünal, 2006).

2.3. Antioksidanlar

Antioksidan maddeler canlılarda serbest radikalleri nötralize ederek hücrelerin onlardan etkilenmesini önleyen veya kendini yenilemesini sağlayan maddelerdir (Gök ve Serteser, 2003). Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona girerek hücre zararını ve tümör gelişimini önleyerek sağlıklı ve yaşlılık etkilerinin minimum olduğu kaliteli bir yaşam sağlarlar (Başer, 2002).

Vücutta kalkan görevi yapan bu kimyasal bileşiklerin özelliği, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize etmeleri ve bu sırada serbest radikal haline gelmemeleridir (Prior ve Cao, 2000). Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir (Kaur ve Kapoor, 2001).

Sağlıklı bireylerde aktif radikallerin süpürülmesi için doğal antioksidan savunma mekanizmaları yeterlidir. Ancak, bu antioksidanların konsantrasyonu yaş ilerledikçe düşmekte ve sonuçta yaşla birlikte oksidasyon ürünlerinin miktarı artmaktadır. Bunlar yaşlanma, kanser, demans, inflamasyon ve ateroskleroz gibi çeşitli hastalıklarda rol almaktadır (Akowuah vd., 2004).

Hidrojen atomu verme kabiliyetine sahip kimyasal bileşenler olan antioksidanlar, birincil radikalleri, radikal olmayan kimyasal türlere çevirerek, okside olmuş antioksidan radikallere dönüştürürler. Antioksidanların molekül yapısı yalnız hidrojen atomu verme açısından değil, aynı zamanda radikalleri düşük reaktiviteli hale getirip lipidler ile reaksiyona girmesini engellemesi açısından da oldukça uygundur (Madhavi, 1996).

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler. Bunlar;

1. Süpürme etkisi (Scavenging): Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve moleküller bu yolla etki eder.
2. Söndürme etkisi (Quenching): Oksidanalara bir hidrojen aktararak inaktive etmesidir. Vitaminler ve flavonoidler bu şekilde etki gösterir.
3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Hemoglobinin, serüloplazmin ve ağır metaller oksidanları kendilerine bağlar ve inaktive eder.
4. Onarma etkisi (Repair): Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar (Gökpınar vd., 2006).

2.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, doğal ve sentetik antioksidanlar olmak üzere iki ana başlık altında toplanır.

2.3.1.1. Doğal Antioksidanlar

Son yıllarda, çoğunluğu bitkisel kaynaklı olan yüzlerce madde gıdalarda antioksidan olarak kullanılabilirlik açısından test edilmektedir. Literatürde böyle doğal maddelerin önemli antioksidan etki gösterdikleri ve bazen sentetik antioksidanlardan daha etkin olduklarına ilişkin çok sayıda rapor bulunmaktadır. Bitkiler (yağlı tohumlar, tahıllar, sebzeler, meyveler, baharatlar ve çay), hayvansal ürünler (peptitler, amino asitler ve karotenoidler), enzimler (glutatiyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz) ve bazı mikroorganizmalar en önemli doğal antioksidan kaynakları arasında yer almaktadır. Bunların antioksidan aktiviteleri C ve E vitamini, fenolik bileşikler ve karotenoidler gibi bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Turhan ve Üstün, 2006).

Gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak kullanılan sentetik antioksidan maddelerin, ortaya çıkan çeşitli yan etkilerinin ve bu yan etkiler üzerinde yapılan klinik çalışmaların neticesinde bu maddelerden bazılarının kanserojen etki yaptığı kuşkusu, son yıllarda üreticileri doğal kaynaklı antioksidanları kullanmaya yöneltmiştir (Kıralan vd., 2004). Örneğin BHT (Bütillenmiş hidroksitoluen) non-toksik olmakla beraber, farelere yüksek dozlarda verildiğinde karaciğerde hasara sebep olduğu görülmüştür. Yine yapılan bazı araştırmalarda, BHT gibi bazı sentetik antioksidanların fazla alınması durumunda

vücuttan atılmadığı ve adipoz dokuda depolandığı bildirilmiştir (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

2.3.1.1.1. Tokoferoller

Hücre zarını, serbest radikallerden kaynaklanan lipid peroksidasyonundan korumada anahtar rol oynayan E vitamini, yağda çözünür bir antioksidandır. E vitaminin biyolojik aktif formuna tokoferol denir. α -, β -, γ - ve δ - formları vardır ve bu formlar antioksidan aktivite için gerekli olan hidroksil grupları içerir. En yüksek antioksidan özelliğe α -tokoferol sahiptir. α -tokoferol gibi antioksidanlar, serbest radikalleri ve lipid peroksil radikallerini temizleyerek onların vücutta yaptıkları hasarı onarır (Tüzün ve Garip, 2005). E vitamini, hemen hemen tüm gıdalarda eser miktarda dahi olsa bulunur. Tokoferollerin gösterdiği antioksidatif aktivite hidroksil grubunun hidrojenini lipid peroksil radikaline aktarma yolu ile gerçekleşir. Tokoferoller ısıya karşı oldukça dayanıklıdır (Görünmezoğlu, 2008). E vitaminin antioksidan özelliğinin yanı sıra hücrede sinyal iletim mekanizmasındaki bazı basamaklar üzerinden hücre çoğalmasını da etkilediği bilinmektedir. E vitamininin kalp hastalığı oluşma riskini azalttığı birçok araştırma ile gösterilmiştir (Chen vd., 1988).

2.3.1.1.2. Askorbik Asit (C vitamini)

C vitamini, süperoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen gibi serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. İnsan plazmasında ve hücre zarında bulunan askorbik asit, aynı zamanda zarı geçebilen major antioksidanlardan biridir. Suda çözünebilir ve düşük moleküler ağırlığa sahiptir. Sulu fazda bulunmasına karşın lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek lipidleri ve zarları oksidan etkisine karşı korur. E vitamininin rejenerasyonunda görev alır ve tokoferoksil radikalinin α -tokoferole indirgenmesini sağlar. Böylece E vitamini ile birlikte etkin bir şekilde LDL'yi (düşük yoğunluklu lipoprotein) oksidasyona karşı korur. Kollojen sentezi, demir absorpsiyonu ve hücrelerin redoks durumunun korunmasında gereklidir. Askorbik asitin antioksidan olarak esas görevi, lipid hidroperoksitlerin oluşumunu engellemektir. C vitamini insanlarda sentezlenmediğinden diyetle alınması gerekir (Frei vd., 1990; Revan, 2007).

2.3.1.1.3. Fenolik Maddeler

Bitkilerde normal metabolizma sırasında ve herhangi bir stres durumunda (yaralanma, enfeksiyon, uv radyasyon) ikincil metabolit ürünleri adı verilen fenolik bileşikler üretilirler. Aromatik yapıya sahip bu fenolik bileşikler basit fenoller, fenolik asitler (benzoik asit, sinnamik asit türevleri), kumarinler, flavonoidler, stilbenler, hidrolizlenebilen kondanse taninler ve ligninler üretilir. Bu bileşiklerin bazıları antimikrobiyal aktivite için, bazıları antioksidan ve bazıları da koku, tat ve renklilik oluşturmak gibi fonksiyonları üstlenirler (Bravo, 1998). Fenol bileşiklerin antioksidan etkileri serbest radikalleri bağlamaları, metallere şelat oluşturmaları ve bazı enzimleri inaktive etmeleriyle açıklanmaktadır (Yang ve Tsao, 2003).

Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluşturur. Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik bileşenlerdir. En yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar flavonoidler ve fenolik asitlerdir. Bunların besinlerde bulunan ve kolaylıkla oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korudukları bilinmektedir. Bu nedenle uzun yıllardır besinlerin koku ve tat gibi özelliklerini arttırmak için katkı olarak kullanılan baharat ve aromatik bitkiler giderek önem kazanmaktadır. Bitki fenoliklerinin birçok araştırmacı tarafından hastalıklara direnç sağladığı belirtilmektedir. Fenolik asitlerin bir çeşit mantar cinsinin in vitro ortamda gelişimine engel olduğu deneylerle ispatlanmıştır. Literatürde fenolik asitlerin ve flavonoidlerin bir grubunun antibiyotik, antifungal ve antienflamatuar olarak görev yaptığı ifade edilmektedir (Diken, 2009).

Bitki fenolikleri, basit fenoller, fenolik asitler (benzoik ve sinnamik asit türevleri), flavonoidler, hidrolize ve kondense tanenler, lignan ligninleri içermektedir (Naczka ve Shahidi, 2004). Bitki fenoliklerinin en geniş kısmını oluşturan flavonoidler grubu altında bilinen 8000'den fazla bileşik mevcuttur (Pietta ve Gardana, 2003).

Flavonoidler tüm bitki dokularında hücre içinde veya çeşitli bitkisel organların yüzeyinde bulunmaktadır (Moco vd., 2007). Flavonoidlerin en önemli biyolojik özelliği, antioksidatif etkiye sahip olmalarıdır. Oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunun, kalp damar hastalıkları, kanser ve kronik iltihaplanma gibi hastalıkların en önemli etkenleri olduğu, flavonoidlerin bir çoğunun lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin ve lipid peroksi radikallerinin oluşumunu engellediği, yapısındaki bazı grupların flavanoid radikallerinin stabilitesini ve böylece antioksidan kapasitesini artırabildiği, flavonoidlerin bunların dışında metal iyonlarını bağlayarak lipidlerin oksidasyonunu önleyebildiği ve

radikallerin oluşumunda görev yapan enzim sistemlerini inhibe edebildiği belirlenmiştir (Karakaya ve El, 1997). Flavonoidlerin doğrudan bağırsak mukozası üzerinde bir etkisi olabileceği ve oksidatif stres, kalp-damar hastalıkları ya da kansere karşı koruma sağladığı düşünülmektedir (Hollman ve Katan, 1999).

Fenolik asitler; suda çözünebilen ve bitkisel besinlerde yaygın olarak bulunan ikincil metabolitlerdir (Mattila ve Hellström, 2007). Fenolik olmayan benzoik ve sinnamik asitlerden türeyen hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asit türevleri olarak iki grupta incelenmektedir. Fenolik asitler genelde bitki hücrelerinde serbest halde bulunmamaktadır. Bunlar, kompleks şeklinde ya vakuollerde çözülmüş ya da hücre duvarı bileşenlerine bağlanmış durumdadır (İbadova, 2006).

Son zamanlarda, diğer fenolik maddeler gibi fenolik asitler de çok sayıda tıbbi faydaları nedeniyle oldukça ilgi çekmeye başlamıştır. Polifenoller olarak, fenolik asitlerin güçlü antoksidanlar oldukları ve aynı zamanda onların antikanserojen, antiviral, antienflamatuar ve antibakteriyal aktivite gibi tıbbi etkiler gösterdikleri rapor edilmiştir (Mattila ve Hellström, 2007).

2.3.1.1.4. Karotenoidler

Doğadaki pigmentlerin çok sayıda ve geniş bir grubunu temsil eden karotenoidler birçok canlıda çeşitli parlak renklere sebep olmaktadır (Pfander, 1992). Karotenoidler, pigmentasyon işlevlerinin yanı sıra, kimyasal özellikleri gereği vücut içerisinde çeşitli reaksiyonlarda görev alırlar. Kimyasal karakterde bulunan değişen tek ve çift bağlar, diğer moleküllerden enerjinin absorbe edilmesini sağlamakta ve bu durum karotenoidlerin antioksidan özelliklerini tanımlamaktadır (Britton, 1995).

Karotenoidler yapılarına göre hidrokarbon karotenoidler ve ksantofiller olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Karotenler olarak da adlandırılan apolar özellikteki hidrokarbon karotenoidlerin başlıcaları α -karoten, β -karoten ve likopendir. Ksantofiller ise, daha polar özellikte olup yapısında metoksi, hidroksi, keto, karboksi ve epoksi formunda oksijen bulundurmaktadır. Karotenoidler içerisinde en etkili antioksidanın likopen olduğu ve bunu sırasıyla β -kriptoksantin ve β -karotenin izlediği, ksantofillerin ise minimum aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Miller vd., 1996).

β -karoten ve bazı karotenoidler, α -tokoferol ve askorbik asit gibi diğer antioksidanlarla birlikte etki gösterebilmekte ve böylelikle hücrelerdeki antioksidan ağının bir parçası olarak görev yapmaktadırlar (Olson, 1994).

Düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) üzerinde taşındığından, karotenoidler LDL'yi oksidasyondan korumak suretiyle kalp-damar hastalıklarının oluşma riskini azaltmaktadır (Basu vd., 2001). Göz retinasında bulunan lutein ve zeaksantin, gözü serbest radikallerin ve ışığın zararlı etkilerinden koruyarak (Mozaffarieh vd., 2003) katarakt ve yaşa bağlı makula bozuklukları gibi göz hastalıklarının oluşumunu engellemektedir (Sommerburg vd., 1998). Karotenoidlerin kanseri önleyici etkisinin, antioksidan özelliklerinin yanı sıra hücreler arası boşluk bağlantı iletimlerini uyarıcı ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Buna ilaveten, karotenoidlerin glutatyon S-transferaz ve glutatyon peroksidaz gibi karsinojenleri detoksifiye eden enzimlerin aktivitelerini de artırdığı bildirilmektedir (Basu vd., 2001; Koca, 2006).

2.3.1.1.5. Antioksidan Enzimler

Organizmalarda bulunan bazı enzimler hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri gibi aktif oksijen türlerini uzaklaştırarak veya lipid hidroperoksitlerini azaltarak antioksidatif aktivite gösterebilmektedirler. Süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz bu gruba giren enzimler arasındadır (Halliwell, 2001).

2.3.1.2. Sentetik Antioksidanlar

2.3.1.2.1. Gallatlar

Gallik asitin en fazla kullanılan esterleri, propil gallat (PG), oktil gallat, dodesil gallat ve lauril gallattır. Bunlar suda çözünmez, yağda sadece oktil ve dodesil gallatlar iyi çözünür. PG, beyaz kristal toz olarak satılır ve suda çok az çözünür. Erime noktası 148°C olup, bu derecenin üzerinde etkisini kaybeder. FDA'nın izniyle gıdalarda 1947'den beri kullanımı giderek yaygınlaşmış sentetik bir antioksidandır. Gallatların kullanılmasında toplum sağlığı ve gıda hijyeni açısından olumsuz hiçbir bilgi ileri sürülmemiştir (Çakmakçı ve Çelik, 2000).

2.3.1.2.2. Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA)

BHA ($C_{11}H_{16}O_2$); ticari olarak 3-*ter*-butil-4 hidroksianisol (%85) ile 2-*ter*-butil-4-hidroksianisol (%15) izomerlerinin karışımı halinde bulunur. BHA beyaz, mumsu katı bir yapıya sahip, 48-63°C erime noktası olan ve hem bitkisel yağlarda hem de hayvansal yağlarda çözünebilen ancak suda çözünmeyen bir antioksidan olarak tanımlanmaktadır. BHA özellikle esansiyel yağların tat ve rengini korumada kullanılmakta ve her çeşit gıdaya katılabilen antioksidan olarak da ilgi görmektedir. BHA, özellikle tahıl ve şekerleme ürünlerinde kullanılan Hindistan cevizi ve palmye özü yağları gibi kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunun kontrolünde etkilidir (İbadova, 2006).

2.3.1.2.3. Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT)

BHT ($C_{15}H_{24}O$); 2,6-*ditert*-butil-4-metil fenol beyaz renkli kristal bir yapıya sahip olup 265°C kaynama ve 70°C erime noktasına sahip olan, yağlarda çözünüp suda çözünmeyen ve oksidasyonu önleyici etkisi, bitkisel yağlara oranla hayvansal yağlarda daha fazla olan tek bir bileşikten oluşan antioksidandır. Bu antioksidan bitkisel yağlarda daha düşük aktiviteye sahip olmasına karşın diğer antioksidanlar ile beraber kullanıldığında, yağın ilave edildiği gıdayı koruma özelliğinden faydalanılmaktadır (Kar, 2008).

BHT, BHA ile sinerjistik etki gösterirken gallatlar ile göstermez (Başoğlu 2006). Özellikle bu antioksidan kombinasyonu, fındık ve ürünlerinin oksidatif reaksiyonlarını önlemede oldukça uygundur. Uçucu yapıya sahip olduklarından dolayı hem BHA hem de BHT kullanıldıkları besin içine nüfuz edebilmektedirler. Bu nedenle, bu maddeler paketleme sırasında da kullanılabilen önemli katkı maddeleridir (İbadova, 2006).

2.3.1.2.4. Tersiyer Bütil Hidroki Non (TBHQ)

TBHQ, kızartma yağlarını oksidasyona karşı korumak için bilinen en iyi antioksidandır. Kızartma işlemi bitmiş ürünleri de korumaktadır. Bej renkli bir toz olan TBHQ, katı ve sıvı yağlarda çözünür. Diğer sentetik antioksidanların aksine bitkisel yağlar için en etkili sentetik antioksidandır. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır (Keskin ve Erkmen, 1987). Tek başına veya BHA ve/veya BHT ile birlikte kullanılmaktadır. Sitrik asit ile

kariştirildiğinde, stabilize edici özellik kazanmaktadır. Ancak, muhtemel sağlığa zararlı etkileri nedeniyle Avrupa Birliği ülkelerinde kullanımı yasaklanmıştır (Çakmakçı ve Çelik, 2000).

2.4. Test Mikroorganizmalarının Genel Özellikleri

Bacillus subtilis: 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. Nadiren insanlarda 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).

Escherichia coli: 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: 1-2 µm boyunda ve 0.5-0.8 µm eninde, spor oluşturmeyen 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).

Staphylococcus aureus: 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, frönkül (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).

Pseudomonas aeruginosa: Genellikle 1.5-3 µm boyunda ve 0.5 µm eninde olan, bazen çift ve bazen de kısa zincirler halinde görülen, sporsuz ve kapsülsüz bakteridir. Çok hareketlidir ve çoğunda 1-3 adet flagella bulunur. Kolay boyanır ve gram negatiftir. Sıcaklığa karşı dayanıklı değildir. 55 °C'de 1 saatte, 60 °C'de 15 dakikada ölmektedir. Oda koşullarında sulu ortamda aylarca canlı kalabilir. Antibiyotiklerden özellikle penisilin ve sefalosporinlerin çoğuna, salgıladıkları Betalaktamaz enzimlerinin aktivitesine bağlı olarak yüksek derecede direnç gösterir. Yanık ve yara enfeksiyonları, idrar yolları enfeksiyonları, menenjitler, göz enfeksiyonları, bronşit, dış kulak yolu iltihapları ve orta kulak iltihabı rahatsızlıklarına 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 bunlar üremeye başlar. *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).

Salmonella typhimurium: Spor oluşturmeyan, gram negatif bakterilerdir. Daha çok böbrekler, eklemler, kemikler, serozalar, menenjler, endokard, karaciğer ve safra yolları ile diğer yerlere yerleşerek yangı ve abse yapma eğilimindedir. Bir tür akut bağırsak enfeksiyonu olan ve salmonellozis olarak bilinen bir insan gastroenterit tipine neden olabilir. (Bilgehan, 2000).

Aspergillus niger: *Aspergillus* türleri doğada yaygın olarak bulunan mantarlardır. Özellikle çürümüş organik maddelerde, samanda, tozda, yiyeceklerde ve suda yaşadıkları gibi havada da bulunabilirler. Yaklaşık 200 çeşit *Aspergillus* türü bulunmasına rağmen, insanlarda hastalık yapanların sayısı oldukça azdır. *Aspergillus niger*, insanlarda en sık enfeksiyon oluşturan *Aspergillus* türlerinden birisidir (Yalçın ve Kiper, 2003). Küçük ve hafif sporları havada kolaylıkla asılı kalıp çevreye yayılabilir. *Aspergillus* enfeksiyonları genellikle bu sporların solunum yolu ile alınması ile bulaşır. *Aspergillus* türleri özellikle bağışıklık sisteminde sorun olan hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olurlar. Bağışıklık sistemini baskılayan ilaçların ve antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılması bu enfeksiyonların önemini giderek arttırmaktadır (Ayberkin ve Çiftçi, 2009). *Aspergillus* türleri 2-3 mm boyutundaki sporların inhalasyonu ile akciğerlere ulaşarak solunum sisteminde; invaziv aspergillozis, aspergilloma, IgE aracılı allerjik rinit ve astım, hipersensitivite pnömonisi, kronik nekrotizan pnömoni ve allerjik bronkopulmoner aspergillozis gibi hastalıklara sebep olur (Yalçın ve Kiper, 2003).

Streptococcus spp: Çeşitli uzunlukta zincirler yapan, gram pozitif, yuvarlak ya da ovoid, sporsuz, hareketsiz mikroorganizmalardır. Streptokoklar hyalüronik asit yapıda bir kapsül bulundurmaktadır. Kapsül, konakçı organizmada ve zengin besiyerlerinde ürediklerinde belirgindir. Streptokoklar hücre çeperinden kaynaklanarak kapsülden dışarı çıkan tüy görünümünde pili oluşturur. Bunlar bakterilerin epitel hücrelerine tutunmasında rol oynar. Genel olarak *Streptococcus*'lar kuruluğa oldukça dayanıklıdır. İrinli ve proteinli maddeler içerisinde kurutulmaları halinde uzun süre dayanırlar. Dezenfektanlara dayanıklı, ısıya dirençsizdirler. 60 °C'de 30 dakikada ölür. İnsan ve hayvanlarda lokal ve genel birçok hastalığın nedeni olan ve onların mukoz membranlarında da normal olarak yaşayabilen bakterilerdir (Bilgehan, 2000).

Saccharomyces cerevisiae: 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 CO₂ oluşturur. *Saccharomyces cerevisiae* başta bira olmak üzere tütülenmiş kuru salam, şarap, şampanya, ekmek 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 *Clostridium difficile* bakterisinin biyolojik kontrolünde bir probiyotik katkı olarak kullanılır. Hastalığı ilerlemiş kişilerde bu uygulamanın sistemik maya iltihabına yol açabileceği gözlemlenmiştir (Munoz vd., 2005).

Bu çalışmanın amacı, *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisinin toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstralarının ve farklı kısımlarının metanol ekstralarının, antioksidan ve radikal giderme aktivitelerinin ve antimikrobiyal etkilerinin incelenmesidir. Bu kapsamda her bir ekstrenin, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, Folin-Ciocalteu ayırıcı ile toplam fenol içeriği, toplam antioksidan aktivitesi, metal şelatlama kapasitesi, toplam indirgeme gücü, hidrojen peroksit giderme aktivitesi, toplam β-karoten ve likopen, toplam flavanoid ve fenolik asit içeriklerinin tayin edilip, sonuçların BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks standart antioksidan maddeleriyle karşılaştırılmasıdır. Ayrıca, her bir ekstrenin antimikrobiyal etkisi, agar disk difüzyon yöntemi ve agar kuyu difüzyon yöntemi ile çeşitli mikroorganizmalara karşı denemeleri amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel Materyal

Bu araştırmada kullanılan *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisi, 2011 yılı Temmuz ayında, Bingöl ilindeki 40°24'45" doğu ve 38°50'10" kuzey koordinatına ve 1755 m yükseltiye sahip yamaçlardan temin edilmiştir. Bitkinin teşhisi, Davis (1975)'e göre yapılmıştır. Teşhis edilen bitki örnekleri Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Herbaryumunda (BIN Herbaryumu) mevcuttur. Bitki serin ve rutubetsiz bir ortamda gölgede kurutulmuştur. Daha sonra bitki toprak üstü kısım, yaprak kısmı, kök kısmı, gövde kısmı ve çiçek kısmına ayrılmıştır. Bitkinin genel görünüşü Şekil 3.1 ve 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.1. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisinin genel görünüşü



Şekil 3.2. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisinin generatif yapısının genel görünüşü

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Besiyerleri

Çalışmada kimyasal madde olarak, bitkilerin ekstraksiyon işlemleri için metanol (Merck), diklorometan (Merck), aseton (Merck) ve etil asetat (Merck) kullanılmıştır. Antioksidan özelliklerin araştırılmasında kullanılan 2,2-Difenil 1-pikril hidrazil (DPPH), Sodyum fosfat (NaH_2PO_4), Sodyum hidroksit (NaOH), Demir-II-klorür ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), Potasyum ferrisiyanür [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$], Demir-III-klorür (FeCl_3), Sodyum karbonat (Na_2CO_3), Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR), Sodyum nitrit (NaNO_2), Hidroklorik asit (HCl), Sülfürik asit (H_2SO_4), α -Tokoferol ve Troloks Sigma Aldrich'den temin edilmiştir. Yine antioksidan özelliklerin araştırılmasında kullanılan Hidrojen peroksit (H_2O_2), Ferrozin, 1,10-Phenanthroline, Triklorasetik asit (TCA), Alüminyum klorit (AlCl_3), Gallik asit, Kersetin, Kafeik asit, Sodyum nitrat (NaNO_3), Sodyum molibdat (Na_2MoO_4), Amonyum molibdat [$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$], Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA) ve Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT) ise Merck'den temin edilmiştir. Çalışmanın antimikrobiyal kısmında ise Nutrient Broth (NB, Himedia), Patates Dekstroz Agar (PDA, Himedia), Mueller Hinton Agar (MHA, Himedia), Streptomisin antibiyogram diskleri (Bioanalyse) ve boş antibiyogram diskleri (6 mm, Bioanalyse) kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Çalışmada, Bingöl Üniversitesi Merkezi Laboratuvarında bulunan aşağıdaki alet ve cihazlar kullanılmıştır.

Buzdolabı	: 4 °C, Arçelik
Dairesel sallayıcı	: Gerhardt
Derin dondurucu	: -86 °C, Hettich/ Nuaire
Dispenser	: Isopenser
Etüv	: Memmert 100-800
Döner evaporatör	: Ika RV06-ML
Hassas terazi	: Precisa/ Denver
Isıtmalı su banyosu	: Wise Clean
Manyetik karıştırıcı	: Ika
Mikrobiyolojik emniyet kabini	: Bilser
Otoklav	: Hirayama
Otomatik pipetler	: Rainin
pH metre	: Hanna
Saf su cihazı	: GFL 2004
Santrifüj	: Hettich Universal 320
Ultrasonik banyo	: Wise Clean WUC-D06H
UV-VIS Spektrofotometre	: Shimadzu/ Jasco V650
Vorteks	: Ika MS3 Basic

3.1.4. Antioksidan Kapasite Çalışmalarında Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

3.1.4.1. DPPH giderme aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler

0,1 mM'lık DPPH çözeltisinin hazırlanması: 4 mg DPPH 100 ml metanol içinde karıştırılarak tamamen çözüldü.

3.1.4.2. Hidrojen peroksit giderme aktivitesi tayini ile ilgili çözeltiler

1. 0,1 M'lık fosfat tamponunun hazırlanması: 3 g NaH_2PO_4 , bir miktar destile suda çözülerek toplam hacim 250 ml olacak şekilde 1 M'lık NaOH ve destile su ile pH metre kullanılarak pH'sı 7,4'e ayarlandı.

2. 40 mM'lık hidrojen peroksit çözeltisinin hazırlanması: %30'luk H_2O_2 'den 204 μl alınarak 50 ml 0,1 M'lık fosfat tamponunda çözüldü.

3.1.4.3. Metal şelatlama kapasitesi tayini ile ilgili çözeltiler

1. 2 mM'lık FeCl_2 çözeltisinin hazırlanması: 0,0040 g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ alınarak 10 ml metanolde tamamen çözülünceye kadar vortekslendi.

2. 5 mM'lık ferrozin çözeltisinin hazırlanması: 0,0246 g ferrozin 10 ml metanolde tamamen çözülünceye kadar vortekslendi.

3.1.4.4. Toplam indirgeme kuvveti tayini ile ilgili çözeltiler

1. %1'lik Potasyum ferrisiyanür $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ çözeltisinin hazırlanması: 1 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 100 ml destile suda çözünene kadar kuvvetli bir şekilde karıştırıldı.

2. 0,2 M'lık fosfat tamponunun hazırlanması: 2,4 g NaH_2PO_4 bir miktar destile suda çözülüp, pH metre kullanılarak pH'sı 6,6'ya ayarlandı ve toplam hacim destile suyla 100 ml'ye tamamlandı.

3. %10'luk Triklorasetik asit (TCA) çözeltisinin hazırlanması: 10 g TCA destile suda çözülüp toplam hacim 100 ml'ye destile suyla tamamlandı.

4. %0,1'lik Demir klorür (FeCl_3) çözeltisinin hazırlanması: 165 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ destile suda çözüldü ve toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı.

3.1.4.5. Toplam β -karoten ve likopen içeriği tayini ile ilgili çözeltiler

Aseton-hekzan çözeltisinin hazırlanması: 40 ml aseton ile 60 ml hekzan balon joje içinde iyice karıştırılarak hazırlandı.

3.1.4.6. Toplam fenol içeriği tayini ile ilgili çözeltiler

1. %2'lik sodyum karbonat çözeltisi: 0,5 g Na_2CO_3 bir miktar destile suda çözülüp toplam hacim destile suyla 25 ml'ye tamamlandı.
2. Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR), ticari olarak satın alındığı şekilde kullanıldı.

3.1.4.7. Toplam flavanoid içeriği tayini ile ilgili çözeltiler

1. %15'lik sodyum nitrit çözeltisi: 1,5 g NaNO_2 destile suda çözüldü ve toplam hacim destile suyla 10 ml'ye tamamlandı.
2. %10'luk alümiyum klorit çözeltisi: 1 g AlCl_3 bir miktar destile suda çözüldü ve hacim destile suyla 10 ml'ye tamamlandı.
3. Standart kersetin çözeltisi: 5 mg kersetin 5 ml metanolde çözüldü.
4. %4'lük NaOH çözeltisi: 2 g NaOH destile suda çözüldü ve toplam hacim destile suyla 50 ml'ye tamamlandı.

3.1.4.8. Fenolik asit içeriğinin saptanması ile ilgili çözeltiler

1. Fenolik asit içeriğinin ölçümü için reaktif hazırlanması: 10 g sodyum nitrat (NaNO_3) ve 10 g sodyum molibdat (Na_2MoO_4) alınarak birlikte balon jøjeye konularak toplam hacim destile suyla 100 ml'ye tamamlandı.
2. %8,5'lik NaOH çözeltisi: 2,55 g NaOH destile suda çözümlenerek hacim 30 ml'ye tamamlandı.
3. Standart gallik asit çözeltisi: 5 mg gallik asit 5 ml metanolde çözüldü.
4. 0,5 M'lık HCl çözeltisi: 4,1 ml HCl alındı ve toplam hacim destile suyla 100 ml'ye tamamlandı.

3.1.4.9. Toplam antioksidan aktivite tayini ile ilgili çözeltiler

1. Toplam antioksidan aktivite tayini için reaktif hazırlanması:
 - 1.a. 0,6 M'lık H_2SO_4 çözeltisi: 3,3 ml H_2SO_4 bir miktar destile suda çözüldü.
 - 1.b. 28 mM'lık NaH_2PO_4 tamponu: 0,34 g NaH_2PO_4 bir miktar destile suda çözüldü.

1.c. 4 mM'lık amonyum molibdat çözeltisi: 0,495 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ bir miktar destile suda çözüldü.

1.d. Daha sonra 1.a, 1.b ve 1.c'deki çözeltiler aynı balon joje içinde karıştırılarak toplam hacim destile suyla 100 ml'ye tamamlandı.

3.1.5. Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Materyallerin Hazırlanması

3.1.5.1. Kullanılan Besiyerleri ve Hazırlanması

1. Mueller Hinton Agar Besiyerinin Hazırlanması: 17 g Mueller Hinton Agar, 500 ml destile su ile karıştırılarak tamamen çözününceye kadar manyetik karıştırıcı üzerinde bekletildi. Daha sonra steril bir kaba aktarılan besiyeri, otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril hale getirildi. Sterilizasyondan sonra 45 °C'ye kadar soğutulan besiyeri, steril şartlarda 9 cm çapındaki petri kaplarına 25'er ml dökülerek soğumaya bırakıldı. Katılaştıran besiyerleri içeren petri kapları, kullanılacağı ana kadar buzdolabında saklandı.

2. Nutrient Broth Besiyerinin Hazırlanması: 6,5 g Nutrient Broth, 500 ml destile su ile tamamen çözülünceye kadar manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra steril bir kaba aktarılan besiyeri, otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilizasyon işlemine tabi tutularak buzdolabına konuldu.

3. Patates Dekstroz Agar Besiyerinin Hazırlanması: 9,75 g PDA, 250 ml destile su ile karıştırıldı ve manyetik karıştırıcıda tamamen çözüldü. Daha sonra steril bir kaba aktarılan besiyeri, otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edildi. 45 °C'ye kadar soğutulan besiyeri, steril şartlarda 9 cm çapındaki petri kaplarına 25'er ml dökülerek soğumaya bırakıldı. Katılaştıran besiyerleri içeren petri kapları, çalışmada kullanılacağı ana kadar buzdolabında saklandı.

3.1.5.2. Kullanılan Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri, Agar Disk Difüzyon metodu kullanılarak belirlendi. Bunun için 6 mm çapındaki steril diskler (Bioanalyse), DMSO'da çözülen 25 mg/ml konsantrasyondaki ekstraktlardan 40'ar µl (20 µl +20 µl) emdirildi. Antimikrobiyal aktivite tayininde, besiyeri olarak Mueller Hinton Agar (Himedia) kullanıldı.

4 °C’de muhafaza edilen stok mikroorganizma kültürleri, Nutrient Broth sıvı besiyeri içeren tüplere aktarıldı ve aktive olabilmeleri için su banyosunda 37 °C’de 6 saat bekletildi. Daha sonra tüplerden alınan mikroorganizma kültürlerinin Mueller Hinton Agar bulunan petri kaplarına ekimleri yapıldı. Bu petriler 37 °C’de 24 saat süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda mikroorganizma kolonileri besiyerlerinden Öze yardımıyla alınarak destile su içerisinde süspanse edildi ve Mc Farland 0,5 bulanıklık tüpleriyle karşılaştırılarak 10⁶ bakteri/ml’lik dilüsyon hazırlandı. Mueller Hinton Agar içeren petrilerin yüzeyine, hazırlanan bu kültürden 200’er µl aktarıldı ve eküvyon çubuğu kullanılarak ekim yapıldı.

3.1.6. Kullanılan Test Mikroorganizmaları

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*’nın antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için 7 bakteri, 2 maya ve 1 fungus türü olmak üzere toplam 10 mikroorganizma kullanıldı. Kullanılan mikroorganizmalar Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü ve Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı’ndan temin edildi. Kullanılan mikroorganizmalar ve kodları Çizelge 3.1.’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan mikroorganizmalar ve kodları

Mikroorganizma	Mikroorganizma Kodu
<i>Bacillus subtilis</i>	IM622
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	EMCS
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538P
<i>Candida spp</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DSM50071
<i>Streptococcus spp</i>	
<i>Salmonella typhimurium</i>	NRRLE4413
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
<i>Aspergillus niger</i>	RSKK04017

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının metanol, aseton, etil asetat, diklorometan ve saf su olmak üzere 5 farklı çözücü kullanılarak ekstreleri hazırlandı. Ayrıca bitkinin yaprak, kök, gövde ve çiçek kısımlarının da ayrı ayrı metanol ekstreleri hazırlandı. Kurutulmuş bitkilerin belirtilen kısımları Blender'da öğütülerek toz haline getirildi. Daha sonra bitkinin öğütülmüş olan toprak üstü kısmından 20'şer g alınıp, içerisinde 150'şer ml metanol, aseton, etil asetat, diklorometan ve saf su bulunan kaplara aktararak oda sıcaklığında Dairesel sallayıcı üzerinde 96 saat süreyle bekletildi. Bu karışımlar süzgeç kağıdıyla süzülerek çözelti içerisindeki çözücü, döner evaporatörde 50°C'de, düşük basınçta uzaklaştırılarak kuru ekstreler elde edildi.

Bitkinin yaprak, kök, gövde ve çiçek kısımlarının metanol ekstreleri ise daha farklı bir yöntem yardımıyla hazırlandı. Öğütülmüş olan yaprak, kök, gövde ve çiçek kısımlarından 20'şer g alınarak, içerisinde 150'şer ml metanol bulunan kaplara aktarıldı ve bu kaplar, oda sıcaklığında 1 saat süreyle ultrasonik banyoda bekletildi. Bu işlem 4 defa tekrarlandı ve her işlemin sonunda elde edilen karışımlar süzildükten sonra farklı kaplara aktarıldı. Daha sonra süzüntüler içerisindeki çözücü, Döner evaporatörde 50°C'de ve düşük basınç altında uzaklaştırılarak kuru ekstreler elde edildi. Elde edilen ekstreler kullanılıncaya kadar buzdolabında saklandı.

3.2.2. Ekstraksiyon veriminin hesaplanması

Çözücüleri tamamen uçurularak kurutulmuş ekstrelerin verimi (kuru ağırlık bazında) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ verim} = (A_1 \times 100) / A_2$$

Formülde A_1 çözücüsü uzaklaştırılarak kurutulmuş ekstrenin ağırlığını, A_2 ise bitki kısmının kuru ağırlığını göstermektedir.

Ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen ekstre miktarları ve yüzde verimleri Çizelge 3.2. ve 3.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstre miktarları ve yüzde verimleri

Kullanılan Çözücü	Bitki Miktarı (g)	Ekstre Miktarı (g)	Verim (%)
Metanol	20	1,79	8,95
Diklorometan	20	1,87	9,35
Aseton	20	0,87	4,35
Etil asetat	20	1,56	7,80
Saf su	20	1,50	7,50

Çizelge 3.3. Çeşitli kısımlardan elde edilen metanol ekstre miktarları ve yüzde verimleri

Bitki Kısım	Bitki Miktarı (g)	Ekstre Miktarı (g)	Verim (%)
Yaprak	20	1,78	8,91
Çiçek	20	1,08	5,39
Kök	20	0,88	4,39
Gövde	20	1,21	6,07

3.2.3. Ekstrelerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.2.3.1. Metal Şelatlama Kapasitesi Tayini

Metal şelatlama özelliği olan antioksidan maddeler serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirir ve böylece fenton reaksiyonları sonucu oluşan hidroksil ve peroksit gibi radikal oluşumunu inhibe ederler. Bu deneyde örneklerin Fe^{+2} şelatlama etkisi incelendi. Bu amaçla $FeCl_2$ çözeltisi kullanıldı. Fe^{+2} iyonu ve ferrozinin oluşturduğu kompleksin 562 nm’de mor renk oluşturmasına dayanılarak şelatlama aktivitesi belirlendi. Örneklerin ve standartların metal şelatlama kapasitesi Dinis ve arkadaşlarının (1994) geliştirdiği yöntemler esas alınarak uygulandı. Örnek ve standart çözeltilerinin konsantrasyonları 25, 50, 75 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ olacak şekilde toplam hacimleri metanol ile 2 ml’ye tamamlandı. Her bir numune 25 μl , 2 mM $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ çözeltisi ile 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 100 μl , 5 mM ferrozin eklenerek 10 dakika oda sıcaklığında

bekletildi. Demir iyonları ve ferrozinin oluşturduğu kompleksin absorbanı 562 nm'de ölçüldü.

3.2.3.2. Toplam İndirgeme Kuvveti Tayini

Antioksidan aktivite belirleme yöntemlerinden biri olan indirgeme gücü Oyaizu (1986)'nın uyguladığı yöntem temel alınarak belirlendi. 50, 100, 150 ve 200 µg/ml konsantrasyonlara sahip örnek ve standart ekstralarının 1 ml'si, 1 ml 0,2 M fosfat tamponu (pH=6.6) ile karıştırıldı. Daha sonra 1 ml %1'lik potasyum ferrisiyanür ($K_3Fe(CN)_6$) eklenerek 50 °C'de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Bu aşamadan sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirilip üzerine 1 ml %10'luk trikloroasetik asit eklenerek 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Bu çözeltinin üst kısmından 1 ml alınarak 1 ml destile su ve 200 µl %0,1'lik $FeCl_3$ eklendikten sonra 700 nm'de absorban okundu.

3.2.3.3. DPPH Giderme Aktivitesi Tayini

Bitki ekstralarının DPPH serbest radikalini süpürücü etkileri 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil stabil radikalini menekşe/mor rengini giderme yetenekleri ile ölçülmektedir. Bu maddelerin DPPH ile oluşturdukları rengin 517 nm'de ölçümüne ve standart madde ile karşılaştırılmasına dayanmaktadır (Blois, 1958). Metot, ekstraktların bir proton veya elektron verebilme yeteneğinin, mor renkli DPPH çözeltisinin rengini açması esasına dayanır. Reaksiyon karışımının absorbanının düşmesi yüksek serbest radikal giderme aktivitesinin göstergesidir. Bu metoda göre, 0,05; 0,10; 0,15 ve 0,20 mg/ml konsantrasyona sahip olan 1 ml'lik örnekler ve standartların çözeltileri, 0,1 mM'lık DPPH çözeltisinin 1 ml'si ile vorteks yardımıyla 30 saniye karıştırıldıktan sonra karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Ardından 517 nm'de kör numuneye karşı spektrofotometrik ölçüm alındı. Kontrol olarak DPPH çözeltisi kullanılırken, kör olarak sadece metanol kullanıldı.

3.2.3.4. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesinin Tayini

Bitki ekstralarının hidrojen peroksit giderme yeteneği Ruch ve çalışma grubunun uyguladığı yöntem esas alınarak ölçüldü (Ruch vd., 1989). Bu yöntem göre, reaksiyon

ortamına eklenen belirli miktardaki hidrojen peroksit çözeltisinin bitki ekstraktı tarafından yıkılması 230 nm'deki absorbans değişimiyle takip edilir. Değişik konsantrasyonlarda (5-20 µg/ml) hazırlanan ve kendi çözücüleri ile seyreltilen bitki ekstraktlarının ve standart çözeltilerin 1 ml'sine 2,4 ml fosfat tamponu (0,1 M pH=7,4) ve 0,6 ml 40 mM H₂O₂ çözeltisi eklendi. Kontrol çözeltisi 3,4 ml fosfat tamponu ve 0,6 ml 40 mM H₂O₂ çözeltisi karıştırılarak hazırlandı. Kör olarak tampon çözelti kullanıldı. Tüpler vortekslenerek oda koşullarında karanlık ortamda 30 dakika inkübasyondan sonra 230 nm'de absorbans ölçüldü.

3.2.3.5. Toplam β-karoten ve Likopen İçeriğinin Belirlenmesi

Karotenoidlerin içeriği Barros ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda yöntem kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmektedir (Barros vd., 2007). Bitki ekstraktlarının herbirinden 50'şer mg alınarak 5'er ml aseton-hekzan (2:3) karışımı içerisine konulup 1 dakika süresince iyi bir şekilde karıştırılarak Whatman No. 4 filtre kağıdıyla süzüldü. Süzütünün absorbans değerleri sırasıyla 453, 505, 645 ve 663 nm dalga boylarında ölçüldü.

3.2.3.6. Toplam Fenol İçeriği Tayini

Toplam fenolik madde analizi yaygın bir metot olan Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmaktadır. Deneyde Singleton ve Rossi (1965)'nin uyguladığı Folin-Ciocalteu metoduna göre fenolik madde tayini yapıldı. Bu yöntemde göre, 250 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde destile suyla seyreltilmiş 200 µl bitki ekstresi ve 200 µl Folin-Ciocalteu reaktifi 5 dakika süreyle karıştırıldı. %2'lik sodyum karbonat çözeltisinden 200 µl eklendikten sonra tüpler vortekste 1 dakika karıştırılarak bu karışımın üzerine 1,4 ml destile su ilave edildi. Daha sonra tüpler tekrar vortekslenerek 25 °C'de karanlıkta 90 dakika bekletildikten sonra UV spektrofotometrede 760 nm'de, destile sudan oluşan kör numuneye karşı absorbans ölçümü yapıldı.

3.2.3.7. Toplam Antioksidan Kapasitenin Saptanması

Bitki ekstralarının toplam antioksidan kapasitesi, spektrofotometrik fosfomolibden yöntemine göre belirlendi. Bu yöntem, ortamda bulunan Mo (IV)'ün ortama konan indirgen tarafından Mo (V)'e indirgenmesi sonucu oluşan yeşil rengin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır (Prieto vd., 1999). 1 mg/ml konsantrasyonda olan stok ekstre çözeltisinden alınan 200 µl bitki ekstresi ve 2 ml reaktif çözeltisi (0,6 M'lık sülfürik asit, 28 mM'lık sodyum fosfat ve 4 mM'lık amonyum molibdat) tüplere konularak ağızları kapatıldıktan sonra 95 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Örnekler buz banyosunda oda sıcaklığına soğutulurak 695 nm dalga boyunda kör örneğe (0,2 ml metanol, 2 ml reaktif çözeltisi) karşı absorbansları belirlendi.

3.2.3.8. Fenolik Asit İçeriğinin Saptanması

Bitki ekstralarının fenolik asit içeriği, Koncic ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda kullanılan metot kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlendi (Koncic vd., 2010). 1 mg/ml konsantrasyonda olan stok ekstre çözeltisinden alınan 0,25 ml bitki ekstresi ve 0,5 ml HCl çözeltisi (0,5 M'lık) deney tüpüne konularak iyice karıştırıldı. Bu karışımın üzerine 0,5 ml reaktif (sodyum nitrat ve sodyum molibdat karışımı), 0,5 ml NaOH çözeltisi (%8,5'lik) ve 2,25 ml destile su eklendi. Karışım 1 dakika süresince vorteks yardımıyla iyice karıştırıldı. Herbir örnek için 0,25 ml ekstre ve 2,25 ml destile su karışımından oluşan kör numuneler hazırlanarak 505 nm dalga boyunda kör numunelere karşı absorbans değerleri belirlendi.

3.2.3.9. Toplam Flavonoid İçeriği Tayini

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toplam flavonoid içeriği Chang ve arkadaşlarının uyguladığı metodlar esas alınarak belirlendi (Chang vd., 2002). Ekstrelerin her birisi 200 µg/ml olacak şekilde seyreltildi. Seyreltilen 250 µl ekstrenin üzerine, litresinde 150 g NaNO₂ olan 30 µl NaNO₂ çözeltisi eklenerek karışım vorteks yardımıyla 5 dakika süresince karıştırıldı. Daha sonra bu karışımın üzerine 15 µl AlCl₃ (% 10'luk) eklendi ve karışım 5 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Karışıma en son 200 µl NaOH (%4'lük) ve 0,5 ml destile su eklenerek 2 dakika vorteksledi. Kör numune, ekstre

dışındaki diğer çözeltilerin karışımıyla hazırlandı. 415 nm dalga boyunda, ekstrelerin absorbanası kör numuneye karşı okutuldu.

3.2.4. Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.2.4.1. Agar Disk Difüzyon Metodu ile Antimikrobiyal Etkinin Belirlenmesi

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın antimikrobiyal aktivite testleri Berghe ve Vlietinck tarafından açıklanan metoda göre gerçekleştirildi (Berghe ve Vlietinck, 1991). Çözücüleri uçurulmuş kuru bitki ekstreleri, 25 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde dimetilsulfoksit (DMSO) içerisinde çözüldü. HPLC saflıkta filtrasyon yapan 0,22 µm'lik Nylon membran filtreler kullanılarak süzülen ekstreler kullanılmıştır. Testte kullanılan mikroorganizmaların kültür süspansiyonundan 200'er µl (yaklaşık olarak Mc Farland 0,5 eşitliğine göre 10⁶ koloni içerir), Mueller Hinton Agar içeren petri kaplarına aktararak eküvyon çubuğu ile yüzeye yayıldı. Daha sonra 6 mm çapa sahip olan ve 40'ar µl (20 µl +20 µl) ekstre emdirilen diskler, steril bir pens yardımıyla üzerine bakteri ekilen petri kapları içerisindeki besiyerine yerleştirildi. Negatif kontrol olarak 40 µl DMSO emdirilen diskler kullanıldı. Streptomisin, referans antibiyotik olarak kullanıldı. Petri kapları 1 saat 4 °C'de daha sonra 24 saat 37 °C'de inkübe edildi. Antimikrobiyal aktivite, ekstre emdirilen disklerin etrafındaki zonların çapının ölçülmesi ile belirlendi (Berghe ve Vlietinck, 1991; Eloff, 1998).

3.2.4.2. Agar Kuyu Difüzyon Metodu ile Antifungal Etkinin Belirlenmesi

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın antifungal etkisinin gözlemlenmesi için Perez ve arkadaşları (1990)'nın kullandıkları agar besiyerlerinde kuyucuk metodu uygulandı (Perez vd., 1990). Bunun için çapı 6 mm olan bir perforatör yardımıyla besiyerlerinde 6 mm çapında kuyucuklar açıldı. PDA'nın içerisine 0,02 ml mikroorganizma kültür süspansiyonu inokulum yapılarak aktarıldıktan sonra bu karışım petri kaplarına döküldü. Katılma tamamlandıktan sonra perforatör ile agar üzerinde kuyular açılarak 40'ar µl bitki ekstreleri bu kuyuların içerisine dolduruldu. Daha sonra bu besiyerleri 48 saat süreyle 28 °C'de antifungal aktivitenin gözlenebilmesi için inkübasyona

bırakıldı. Antifungal aktivite bitki ekstreleri ile dolu kuyuların çevresindeki fungal büyüme zonunun çapı ölçülerek değerlendirildi.

3.2.5. İstatistiksel analizler

Bitki ekstrelerinin antioksidan aktivite bulgularında verilen her değer, 2 ya da 3 ölçüme ait analizlerin ortalamasıdır. Veriler ortalama ve standart sapma ile birlikte verildi. SPSS (SPSS Inc. versiyon 16.0) programı kullanılarak tek yönlü ANOVA varyans analizi uygulanarak ortalamaların farklılıkları Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlendi. $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bitki Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Bulguları

4.1.1. Metal Şelatlama Kapasitesi Tayinine ait Bulgular

Metal şelatlama aktivitesinde azalan absorbands ferrozün bağlanmadan önce metal iyonlarının şelatlandığını gösterir. Şelatlanan metal iyonu miktarı aşağıda verilen denklem ile yüzde olarak hesaplandı.

$$\% \text{ Şelatlama Kapasitesi} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

Formülde verilen A_{Kontrol} değeri ortamda sadece kompleks oluşturan maddeler olan ferrozün ve Fe^{+2} iyonlarının varlığındaki kontrol numunesinin absorbands değeridir. A_{Numune} ise ekstrelerin ya da çalışmada kullanılan standart antioksidanların absorbands değeridir (Gülçin vd., 2004; Köksal, 2007).

Kıyaslama maddesi olarak standart antioksidanlar olan BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm ekstrelerin ve standartların metal şelatlama kapasitesini gösteren konsantrasyona karşı % şelatlama kapasitesi grafikleri çizildi. Her bir örnek ve standart 2 defa çalışıldı ve sonuçlar bu 2 deneyden elde edilen % şelatlama kapasitelerinin ortalaması standart sapma ile birlikte verildi (Çizelge 4.1).

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstreleri ile çalışmada kullanılan standartların 100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda ferröz iyonlarını (Fe^{2+}) şelatlama kapasiteleri sırasıyla; BHA > saf su ekstresi \approx BHT > diklorometan ekstresi > etil asetat ekstresi > Troloks > aseton ekstresi > α -Tokoferol > metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; %57,01 \pm 0,68; %55,91 \pm 0,70; %55,80 \pm 0,70; %52,82 \pm 0,01; % 47,37 \pm 2,91; % 38,08 \pm 0,98; %37,53 \pm 0,76; %34,96 \pm 1,03 ve %25,05 \pm 5,38 olarak bulundu.

Bununla birlikte *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile çalışmada kullanılan standartların 100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda ferröz iyonlarını (Fe^{2+}) şelatlama kapasiteleri sırasıyla BHA > BHT > yaprak metanol ekstresi > Troloks > gövde metanol ekstresi > α -Tokoferol > çiçek metanol ekstresi > kök metanol

ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla %57,01±0,68; %55,80±0,70; %47,34±0,84; %38,08±0,98; %37,42±0,99; %34,96±1,03; %30,55±1,10 ve %22,34±1,23 olarak bulundu.

Çizelge 4.1. Ekstrelerin ve standartların % metal şelatlama kapasiteleri

Numune	25 µg/ml	50 µg/ml	75 µg/ml	100 µg/ml
Aseton*	30,57±1,67 ^d	33,73±1,39 ^c	36,67±0,74 ^d	37,53±0,76 ^b
Etil asetat	38,50±5,60 ^e	41,43±4,94 ^d	46,13±2,07 ^e	47,37±2,91 ^c
Diklorometan	41,35±1,90 ^e	46,72±2,88 ^{ef}	50,29±2,67 ^{ef}	52,82±0,01 ^c
Metanol	25,17±4,73 ^c	25,95±4,64 ^b	26,48±5,08 ^b	25,05±5,38 ^a
Saf su	48,41±0,82 ^f	51,28±0,77 ^{fg}	53,63±0,74 ^{fg}	55,91±0,70 ^c
Yaprak**	42,72±0,90 ^e	45,24±0,87 ^{de}	46,67±0,85 ^e	47,34±0,84 ^c
Kök	11,85±1,40 ^a	15,00±1,35 ^a	21,16±1,25 ^a	22,34±1,23 ^a
Gövde	19,21±1,28 ^b	22,77±1,23 ^b	29,97±1,11 ^{bc}	37,42±0,99 ^b
Çiçek	17,24±1,31 ^b	23,56±1,21 ^b	26,04±1,17 ^b	30,55±1,10 ^{ab}
BHA	50,31±0,79 ^f	53,85±0,73 ^g	55,07±0,71 ^g	57,01±0,68 ^c
BHT	51,00±0,78 ^f	53,49±0,74 ^g	53,87±0,73 ^{fg}	55,80±0,70 ^c
α-Tokoferol	31,70±1,08 ^d	32,23±1,07 ^c	33,52±1,05 ^{cd}	34,96±1,03 ^b
Troloks	33,08±1,06 ^d	34,29±1,04 ^c	35,75±1,02 ^d	38,08±0,98 ^b

a, b, c, d, e, f, g Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

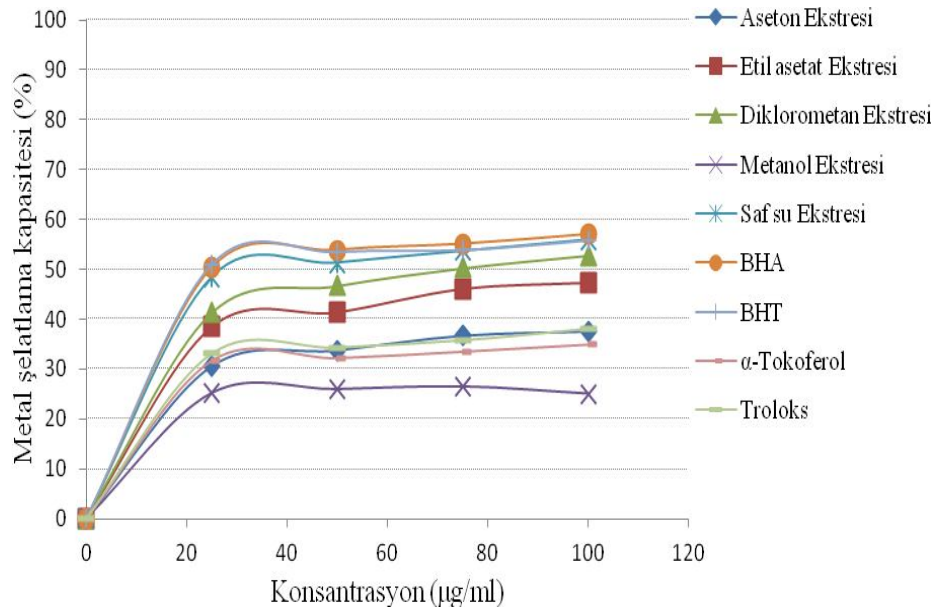
ab, bc, cd, de, ef, fg Aynı sütunda iki harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

± ile verilen değerler ortalama değerlerin standart sapmasıdır.

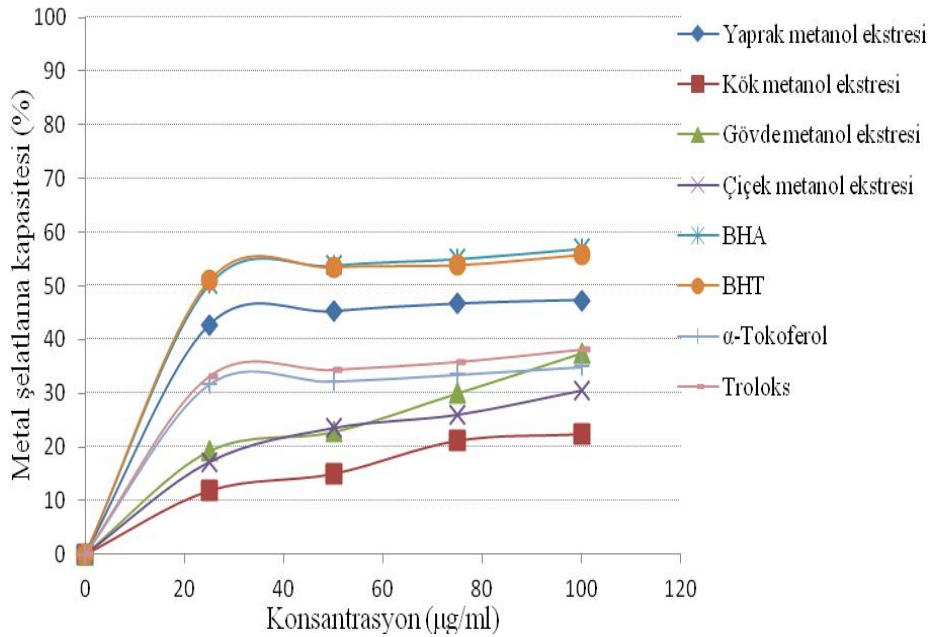
*Aseton, Etil asetat, Diklorometan, Metanol, Saf su; toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstralarını ifade etmektedir.

**Yaprak, Kök, Gövde, Çiçek; farklı kısımlardan elde edilen metanol ekstralarını ifade etmektedir.

Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de görüldüğü gibi, elde edilen sonuçlar standartlar ile kıyaslandığında genellikle BHA ve BHT’den daha düşük metal şelatlama aktivitesi gözlemlendi. α-Tokoferol ve Troloksa göre ise bazı ekstralar daha etkili bir şekilde ferröz iyonlarını (Fe^{2+}) şelatlarken, diğerleri de yakın şelatlama oranları gösterdi. Örnekler arasında en yüksek metal şelatlama oranını toprak üstü kısım saf su ekstresi (%55,91±0,70) gösterirken, en düşük oran kök metanol ekstresinde (%22,34±1,23) gözlemlendi.



Şekil 4.1. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks'un ferröz iyonlarını (Fe^{2+}) şelatlama kapasiteleri



Şekil 4.2. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks'un ferröz iyonlarını (Fe^{2+}) şelatlama kapasiteleri

4.1.2. Toplam İndirgeme Kuvveti Tayinine ait Bulgular

Fe^{3+} iyonlarının indirgenmesi, bir bileşiğin antioksidan aktivite gösterebilmesi için önemli bir mekanizma olan elektron verebilme yeteneğinin göstergesidir ve diğer

antioksidan özellikler ile de yakından ilişkilidir (İşbilir, 2008). Bitki ekstralarının ortamdaki ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kuvvetini belirlemek üzere değişen ekstre ve standart konsantrasyonlarında çalışılarak oluşan komplekslerin absorbanı 700 nm’de ölçüldü. Yüksek absorban değeri yüksek indirgeme potansiyelini göstermektedir.

Kıyaslama maddesi olarak standart antioksidan BHA, BHT ve α -Tokoferol kullanıldı. Çalışmada kullanılan tüm ekstraların ve standartların toplam indirgeme kuvvetini gösteren konsantrasyona karşı absorban grafikleri çizildi (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

Her bir örnek ve standart için 3 analiz işlemi yapılmış olup sonuçlar, bu 3 deneyden elde edilen verilerin ortalaması alınarak standart sapma ile birlikte verilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Ekstrelerin ve standartların Fe^{3+} ’ü Fe^{2+} ’ye indirgeme kapasitesi

Numune	50 μ g/ml	100 μ g/ml	150 μ g/ml	200 μ g/ml
Aseton*	0,139±0,0045 ^c	0,148±0,0048 ^{ab}	0,213±0,0067 ^d	0,345±0,0142 ^e
Etil asetat	0,119±0,0019 ^a	0,126±0,0017 ^{ab}	0,205±0,0102 ^{cd}	0,262±0,0084 ^c
Diklorometan	0,118±0,0027 ^a	0,122±0,0055 ^a	0,130±0,0045 ^a	0,132±0,0038 ^a
Metanol	0,134±0,0048 ^{bc}	0,154±0,0036 ^b	0,205±0,0108 ^{cd}	0,231±0,0089 ^c
Saf su	0,248±0,0038 ^e	0,260±0,0031 ^d	0,262±0,0039 ^e	0,265±0,0188 ^c
Yaprak**	0,323±0,0185 ^g	0,349±0,0441 ^f	0,396±0,0449 ^h	0,482±0,0329 ^f
Kök	0,389±0,0095 ^h	0,417±0,0214 ^g	0,430±0,0186 ⁱ	0,494±0,0289 ^f
Gövde	0,279±0,0135 ^f	0,286±0,0135 ^e	0,298±0,0199 ^f	0,312±0,021 ^d
Çiçek	0,206±0,0107 ^d	0,226±0,0106 ^c	0,348±0,0310 ^g	0,375±0,035 ^e
BHA	0,138±0,0044 ^c	0,155±0,0065 ^b	0,172±0,0121 ^{bc}	0,192±0,0094 ^b
BHT	0,137±0,0028 ^{bc}	0,140±0,0043 ^{ab}	0,147±0,0082 ^{ab}	0,152±0,0100 ^a
α -Tokoferol	0,123±0,0031 ^{ab}	0,128±0,0030 ^{ab}	0,133±0,0039 ^a	0,140±0,0058 ^a

^{a, b, c, d, e, f, g, h, i} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

^{ab, bc, cd} Aynı sütunda iki harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

± ile verilen değerler ortalama değerlerin standart sapmasıdır.

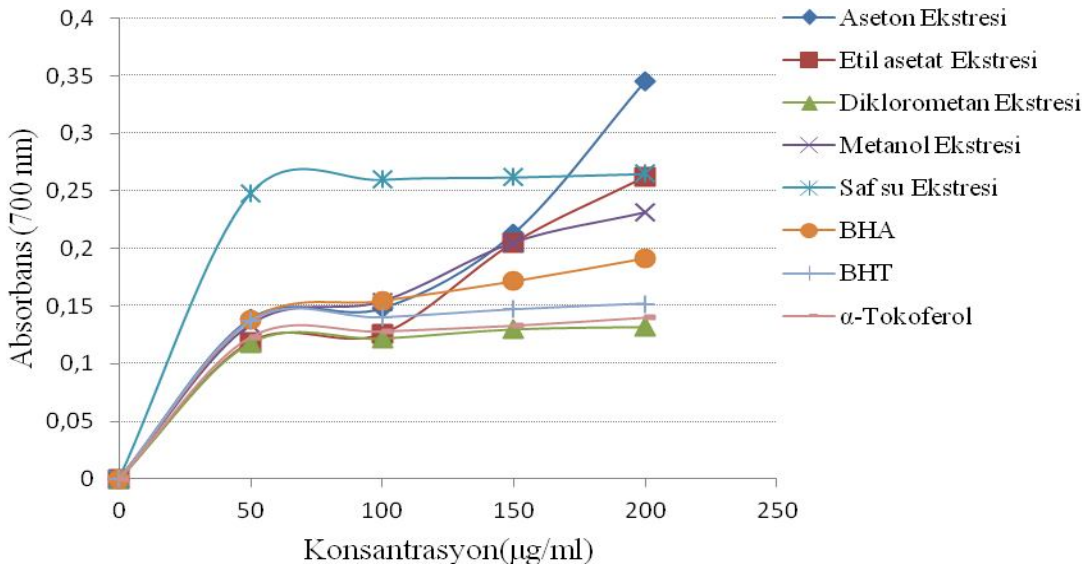
*Aseton, Etil asetat, Diklorometan, Metanol, Saf su; toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstralarını ifade etmektedir.

**Yaprak, Kök, Gövde, Çiçek; farklı kısımlardan elde edilen metanol ekstralarını ifade etmektedir.

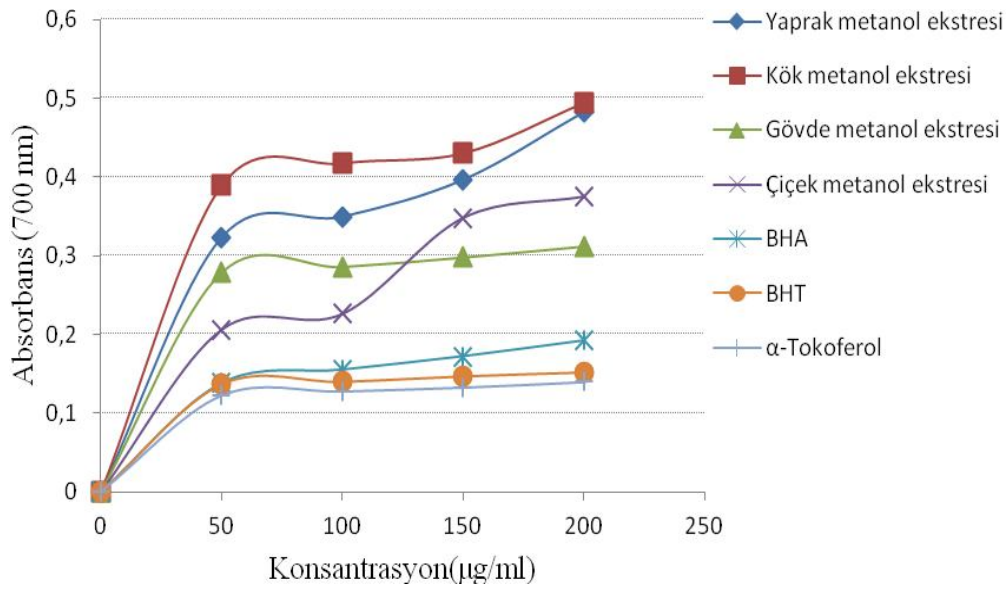
Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstraktları ile çalışmada kullanılan standartların 200 µg/ml konsantrasyonda, ortamdaki ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kuvveti sırasıyla; aseton ekstresi > saf su ekstresi > etil asetat ekstresi > metanol ekstresi > metanol ekstresi > BHA > BHT > α -Tokoferol > diklorometan ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 0,345±0,0142; 0,265±0,0188; 0,262±0,0084; 0,231±0,0089; 0,192±0,0094; 0,152±0,0100; 0,140±0,0058 ve 0,132±0,0038 olarak bulundu.

Bununla birlikte *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstraktları ile çalışmada kullanılan standartların 200 µg/ml konsantrasyonda, ortamdaki ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme kuvveti sırasıyla; kök metanol ekstresi > yaprak metanol ekstresi > çiçek metanol ekstresi > gövde metanol ekstresi > BHA > BHT > α -Tokoferol şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 0,494±0,0289; 0,482±0,0329; 0,375±0,035; 0,312±0,021; 0,152±0,0100; 0,140±0,0058 ve 0,132±0,0038 olarak bulundu.

Şekil 4.3 ve 4.4'de görüldüğü gibi, sonuçlar standartlar ile kıyaslandığında, toprak üstü kısmının diklorometan ekstresi (0,132±0,0038) dışındaki tüm ekstraktlar, BHA, BHT ve α -Tokoferol'den daha yüksek indirgeme kuvveti gösterdi. En yüksek indirgeme kuvveti ise kök metanol ekstresi (0,494±0,0289) tarafından gösterildi.



Şekil 4.3. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstraktları ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT ve α -Tokoferol'ün, Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeme kuvvetleri



Şekil 4.4. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT ve α-Tokoferol'ün, Fe⁺³'ü Fe⁺²'ye indirgeme kuvvetleri

4.1.3. DPPH Giderme Aktivitesi Ölçümüne ait Bulgular

Antioksidan aktivitesi hesaplamada en fazla tercih edilen yöntemlerden birisi de, DPPH serbest radikali giderme yöntemidir. Bu yöntemin temeli, uzun ömürlü bir azot radikali olan DPPH'nin, antioksidan molekülleriyle etkileşip hidrojen vererek indirgenmesi ve böylece absorbansın düşmesine dayanır. Absorbanstaki azalma ne kadar yüksek olursa radikal yakalama aktivitesi o kadar yüksektir (Mathew ve Abraham, 2006).

Çalışmada kullanılan her bir numuneye ait ekstraların serbest radikal giderici etkileri DPPH radikali üzerinden tayin edildi. Standart madde olarak BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks kullanıldı. Serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

Bu formülde A_{Kontrol} , DPPH çözeltisinin absorbans değeridir. A_{Numune} ise bitki ekstresi veya standartın absorbansdır.

Ekstrelerin DPPH serbest radikali giderme aktivitelerinin konsantrasyona karşı % inhibisyon grafikleri çizildi. Her bir örnek ve standart için 2 analiz işlemi yapılmış olup sonuçlar bu 2 deneyden elde edilen % DPPH giderme aktivitelerinin ortalaması alınarak standart sapma ile birlikte verildi (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Ekstrelerin ve standartların % DPPH giderme aktiviteleri

Numune	0,05 mg/ml	0,10 mg/ml	0,15 mg/ml	0,20 mg/ml
Aseton*	69,94±1,33 ^f	72,82±1,15 ^e	74,60±0,85 ^d	75,85±1,21 ^{de}
Etil asetat	48,90±1,27 ^a	62,97±1,37 ^c	68,19±1,70 ^c	74,67±0,47 ^d
Diklorometan	50,56±0,62 ^a	52,32±0,45 ^a	59,14±1,61 ^a	62,73±1,04 ^a
Metanol	69,89±1,26 ^f	79,30±0,42 ^{hi}	80,46±0,75 ^f	81,13±1,22 ^{gh}
Saf su	58,93±1,32 ^{bc}	63,09±0,13 ^c	64,67±0,95 ^b	69,92±1,11 ^c
Yaprak**	56,94±1,33 ^b	60,89±1,26 ^b	64,60±0,86 ^b	68,76±1,07 ^c
Kök	62,82±1,16 ^d	63,98±1,38 ^c	64,64±0,91 ^b	66,40±0,85 ^b
Gövde	65,87±1,23 ^e	70,49±0,70 ^d	72,74±1,04 ^d	77,35±0,91 ^{ef}
Çiçek	61,06±0,08 ^{cd}	63,16±0,22 ^c	64,77±0,31 ^b	66,12±1,25 ^b
BHA	79,26±0,37 ^h	80,28±0,39 ⁱ	80,88±0,17 ^f	82,50±0,70 ^h
BHT	70,43±0,61 ^f	77,14±0,19 ^{fg}	78,74±0,37 ^{ef}	79,83±1,65 ^g
α-Tokoferol	74,40±0,56 ^g	78,16±0,23 ^{gh}	79,36±0,51 ^{ef}	80,26±0,37 ^{gh}
Troloks	75,12±0,17 ^g	75,97±0,04 ^f	77,65±0,49 ^e	79,22±1,10 ^{fg}

a, b, c, d, e, f, g, h, i Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

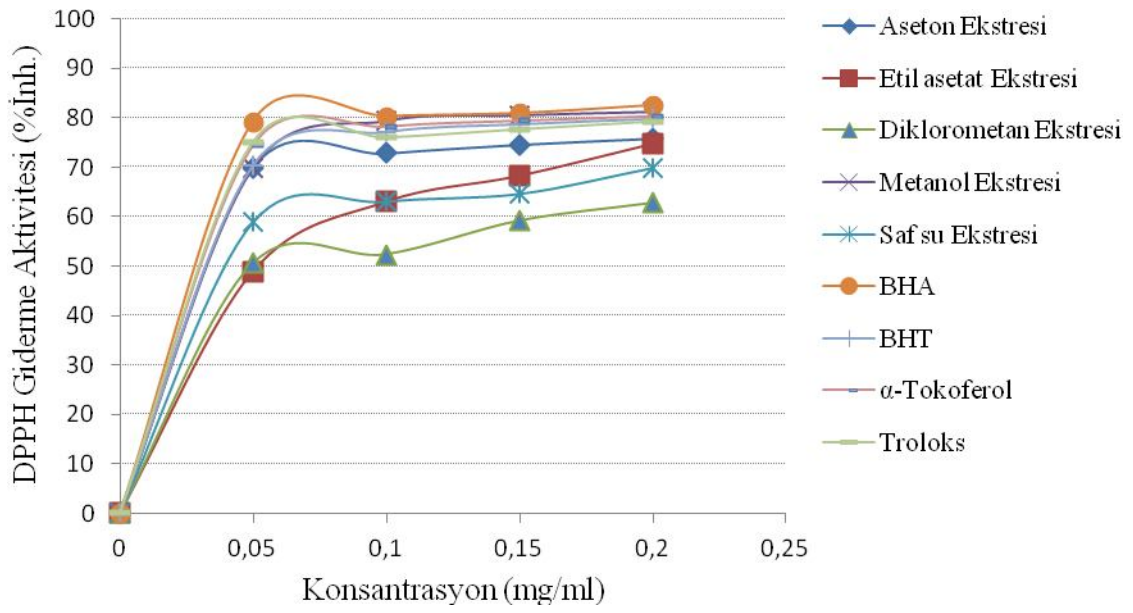
bc, cd, de, ef, fg, gh, hi Aynı sütunda iki harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

± ile verilen değerler ortalama değerlerin standart sapmasıdır.

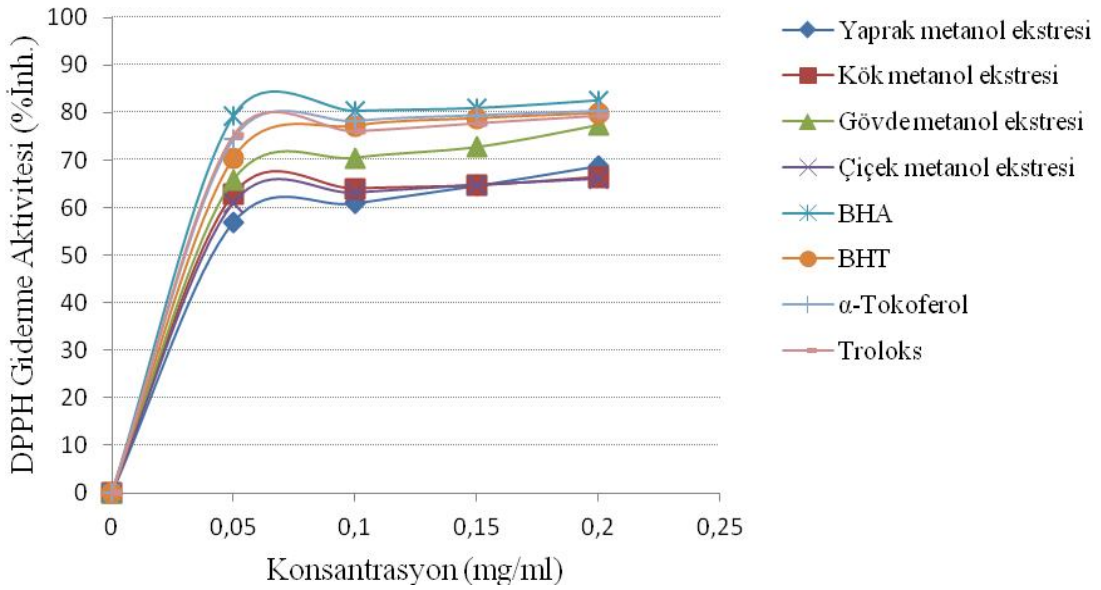
*Aseton, Etil asetat, Diklorometan, Metanol, Saf su; toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstraktlarını ifade etmektedir.

**Yaprak, Kök, Gövde, Çiçek; farklı kısımlardan elde edilen metanol ekstraktlarını ifade etmektedir.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstraktları ile çalışmada kullanılan standartların 0,20 mg/ml konsantrasyonda, % DPPH giderme aktiviteleri sırasıyla; BHA > metanol ekstresi > α-Tokoferol > BHT ≈ Troloks > aseton ekstresi > etil asetat ekstresi > saf su ekstresi > diklorometan ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 82,50±0,70; 81,13±1,22; 80,26±0,37; 79,83±1,65; 79,22±1,10; 75,85±1,21; 74,67±0,47; 69,92±1,11 ve 62,73±1,04 olarak bulundu.



Şekil 4.5. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks'un, % DPPH giderme aktiviteleri



Şekil 4.6. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks'un, % DPPH giderme aktiviteleri

Yine *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile çalışmada kullanılan standartların 0,20 mg/ml konsantrasyonda, % DPPH giderme aktiviteleri sırasıyla; BHA > α-Tokoferol > BHT ≈ Troloks > gövde metanol

ekstresi > yaprak metanol ekstresi > kök metanol ekstresi \approx çiçek metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 82,50 \pm 0,70; 80,26 \pm 0,37; 79,83 \pm 1,65; 79,22 \pm 1,10; 77,35 \pm 0,91; 68,76 \pm 1,07; 66,40 \pm 0,85 ve 66,12 \pm 1,25 olarak bulundu.

Şekil 4.5 ve 4.6'da görüldüğü gibi, sonuçlar standartlar ile kıyaslandığında, 0,20 mg/ml konsantrasyonda toprak üstü kısmın metanol ekstresi (%81,13 \pm 1,22) ile gövde metanol ekstresi (%77,35 \pm 0,91), standartlara yakın % DPPH giderme aktivitesi göstermektedir. En düşük % DPPH giderme aktivitesine ise toprak üstü kısmın diklorometan ekstresinde (%62,73 \pm 1,04) rastlandı.

4.1.3.1. IC₅₀ Değerleri

Çizelge 4.4. Ekstrelerin ve standartların DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçlarından elde edilen IC₅₀ değerleri

Numune	IC ₅₀ değeri (mg/ml)
Aseton*	0,064 \pm 0,001 ^e
Etil asetat	0,078 \pm 0,002 ^f
Diklorometan	0,098 \pm 0,002 ^g
Metanol	0,056 \pm 0,004 ^{cd}
Saf su	0,076 \pm 0,005 ^f
Yaprak**	0,066 \pm 0,004 ^e
Kök	0,060 \pm 0,002 ^{de}
Gövde	0,056 \pm 0,007 ^{cd}
Çiçek	0,061 \pm 0,004 ^{de}
BHA	0,043 \pm 0,003 ^a
BHT	0,047 \pm 0,005 ^{ab}
α -Tokoferol	0,053 \pm 0,001 ^{bc}
Troloks	0,046 \pm 0,003 ^a

a, b, c, d, e, f, g Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

ab, bc, cd, de Aynı sütunda iki harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

\pm ile verilen değerler ortalama değerlerin standart sapmasıdır.

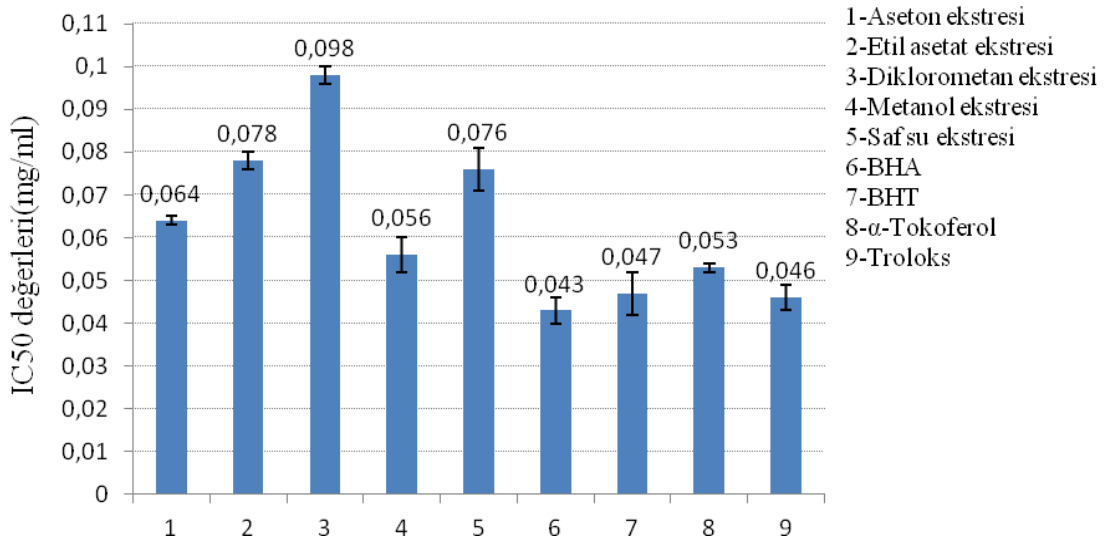
*Aseton, Etil asetat, Diklorometan, Metanol, Saf su; toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstralarını ifade etmektedir.

**Yaprak, Kök, Gövde, Çiçek; farklı kısımlardan elde edilen metanol ekstralarını ifade etmektedir.

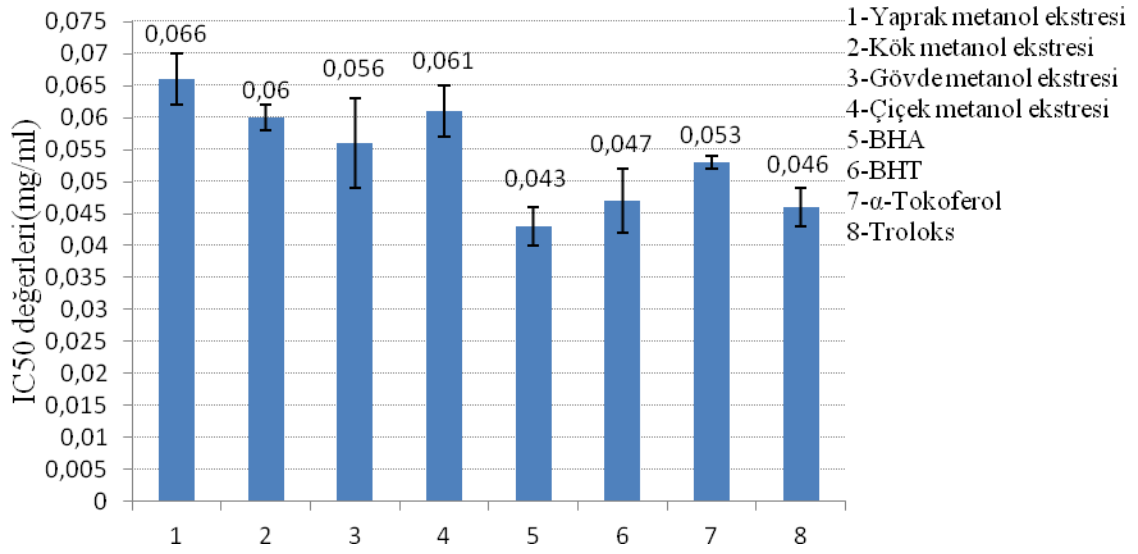
IC₅₀ değeri, reaksiyon ortamında bulunan herhangi bir radikalın ya da oksidan bileşiğin derişimini yarıya düşüren numune konsantrasyonuna denir. IC₅₀ değeri ile

antioksidan aktivite arasında ters orantı vardır. IC₅₀ değeri ne kadar düşükse antioksidan aktivite o kadar yüksektir. IC₅₀ değerlerinin bulunması için farklı konsantrasyonlarda çalışmak gereklidir (Yu vd., 2002). Bu nedenle çalışmalarımızda dört farklı konsantrasyonda ölçüm alındı. Numunelerin yeterli miktarda farklı konsantrasyonları hazırlanıp absorbans ölçümleri yapılır ve absorbanslar konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilir. Maksimum absorbansın yarısına karşılık gelen konsantrasyon miktarı IC₅₀ değerini verir. Bulunan absorbanslar ve karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek IC₅₀ değerleri mg/ml cinsinden hesaplanır (Yu vd., 2002). Bu şekilde elde edilen değerler Çizelge 4.4'de verilmektedir. Çizelge 4.4'e göre, çalışılan ekstreler içinde en düşük IC₅₀ değeri toprak üstü kısmın metanol ekstresinde (0,056±0,004 mg/ml) ve gövde metanol ekstresinde (0,056±0,007 mg/ml), en yüksek IC₅₀ değeri ise toprak üstü kısmın diklorometan ekstresinde (0,098±0,002 mg/ml) ortaya çıktı. Toprak üstü kısmın metanol ekstresinde ve gövde metanol ekstresinde, α-Tokoferol standartı ile kıyaslanabilecek kadar düşük IC₅₀ değerleri olduğu görüldü.

Çalışılan tüm ekstre ve standartların karşılaştırmalı IC₅₀ değerleri, Şekil 4.7 ve 4.8'de verilmektedir.



Şekil 4.7. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks'un IC₅₀ değerleri



Şekil 4.8. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks'un IC₅₀ değerleri

4.1.4. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesinin Tayinine ait Bulgular

H₂O₂, yapısında eşleşmemiş elektron içermediği için radikal değildir, ancak biyolojik membranları geçerek hücrelerin arasına veya içine kolayca difüze olabilir ve uzun ömürlü bir oksidandır (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Bitki ekstralarının H₂O₂ giderme aktivitesi Ruch ve arkadaşlarının uyguladıkları metoda (1989) göre tayin edildi. Örneklerin ve standartların H₂O₂ giderme aktivitesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{H}_2\text{O}_2 \text{ Giderme Aktivitesi} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Numune}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

Formülde verilen A_{Kontrol} değeri ortamda sadece kompleks oluşturan maddeler olan fosfat tamponu ve H₂O₂ varlığındaki kontrol numunesinin absorbans değeridir. A_{Numune} ise ekstraların ya da çalışmada kullanılan standart antioksidanların absorbans değeridir.

Her bir örnek ve standart için 3 analiz işlemi yapılmış olup sonuçlar ise bu 3 deneyden elde edilen % H₂O₂ giderme aktivitelerinin ortalaması alınarak standart sapma ile birlikte verildi (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Ekstrelerin ve standartların % H₂O₂ giderme aktiviteleri

Numune	5 µg/ml	10 µg/ml	15 µg/ml	20 µg/ml
Aseton*	67,11±0,25 ^{ab}	67,70±0,24 ^a	68,64±0,92 ^a	69,77±0,62 ^a
Etil asetat	66,46±1,81 ^a	68,83±0,59 ^b	69,27±0,51 ^{ab}	69,99±0,43 ^a
Diklorometan	68,70±0,35 ^{cd}	68,78±0,63 ^b	69,02±0,95 ^a	70,48±1,13 ^{ab}
Metanol	69,16±0,29 ^{cde}	69,75±0,53 ^{bcd}	70,23±0,82 ^{abcd}	70,76±0,84 ^{ab}
Saf su	70,38±1,27 ^{ef}	71,07±0,86 ^{ef}	71,93±1,03 ^{de}	72,87±1,32 ^c
Yaprak**	68,47±0,12 ^{bc}	69,03±0,59 ^{bc}	69,73±0,72 ^{abc}	70,55±0,92 ^{ab}
Kök	69,75±0,96 ^{cde}	71,12±1,04 ^{ef}	71,35±0,87 ^{cde}	71,64±1,10 ^{abc}
Gövde	69,20±0,58 ^{cde}	69,70±0,14 ^{bcd}	71,17±1,27 ^{bcd}	72,22±0,70 ^{bc}
Çiçek	70,19±0,67 ^{def}	70,40±0,51 ^{de}	71,45±0,94 ^{cde}	71,71±0,96 ^{abc}
BHA	70,05±0,35 ^{cde}	70,54±0,53 ^{de}	71,97±1,25 ^{de}	72,89±1,38 ^c
BHT	68,67±1,21 ^{cd}	70,15±0,45 ^{cde}	70,55±0,95 ^{abcd}	72,91±1,07 ^c
α-Tokoferol	71,68±0,62 ^f	72,00±0,48 ^f	72,60±0,76 ^e	73,19±1,32 ^c
Troloks	70,64±0,78 ^{ef}	70,94±0,90 ^{ef}	70,34±1,73 ^{abcd}	71,39±1,15 ^{abc}

a, b, c, d, e, f Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

ab, bc, cd, de, ef, abc, bed, cde, def, abcd, bcde Aynı sütunda iki, üç ve dört harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

± ile verilen değerler ortalama değerlerin standart sapmasıdır.

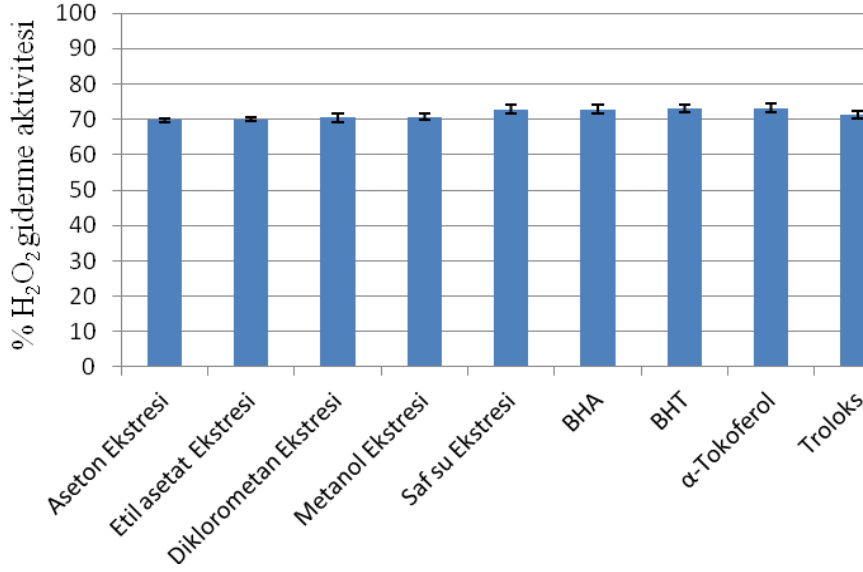
*Aseton, Etil asetat, Diklorometan, Metanol, Saf su; toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstrelerini ifade etmektedir.

**Yaprak, Kök, Gövde, Çiçek; farklı kısımlardan elde edilen metanol ekstrelerini ifade etmektedir.

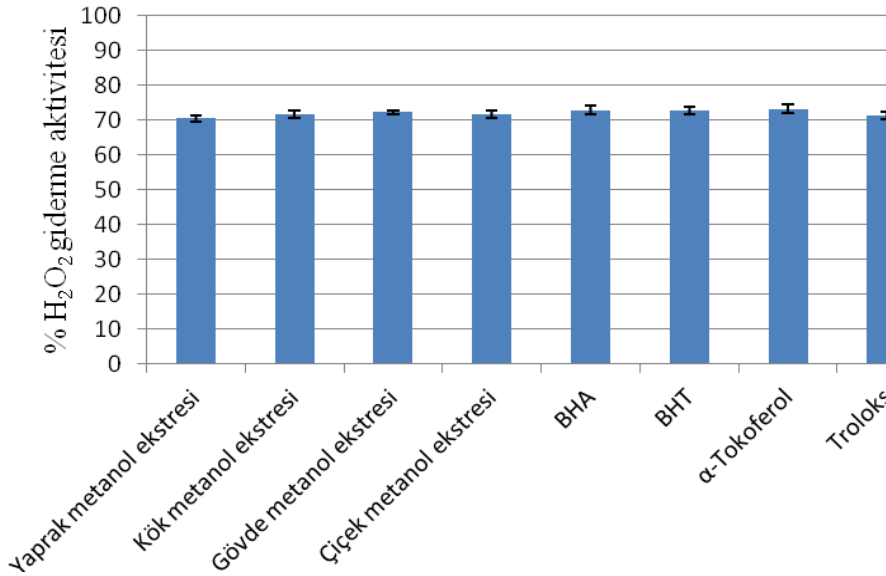
Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstreleri ile çalışmada kullanılan standartların 20 µg/ml konsantrasyonda, % H₂O₂ giderme aktiviteleri sırasıyla; α-Tokoferol > BHT ≈ BHA ≈ saf su ekstresi > Troloks > metanol ekstresi > diklorometan ekstresi > etil asetat ekstresi > aseton ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 73,19±1,32; 72,91±1,07; 72,89±1,38; 72,87±1,32; 71,39±1,15; 70,76±0,84; 70,48±1,13; 69,99±0,43 ve 69,77±0,62 olarak bulundu.

Bununla birlikte *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile çalışmada kullanılan standartların 20 µg/ml konsantrasyonda, % H₂O₂ giderme aktiviteleri sırasıyla; α-Tokoferol > BHT ≈ BHA > gövde metanol ekstresi > çiçek metanol ekstresi > kök metanol ekstresi > Troloks > yaprak metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 73,19±1,32; 72,91±1,07; 72,89±1,38; 72,22±0,70; 71,71±0,96; 71,64±1,10; 71,39±1,15 ve 70,55±0,92 olarak bulundu.

Şekil 4.9 ve 4.10'da görüldüğü gibi, sonuçlar standartlar ile kıyaslandığında, 20 µg/ml konsantrasyonda tüm örnekler standartlara yakın % H₂O₂ giderme aktivitesi göstermektedir. Örneklerden, en yüksek % H₂O₂ giderme aktivitesini toprak üstü kısım saf su ekstresi (%72,87±1,32) gösterirken, en düşük aktivite toprak üstü kısmın aseton ekstresinde (%69,77±0,62) gözlemlendi.



Şekil 4.9. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks'un 20 µg/ml konsantrasyonlarının % H₂O₂ giderme aktiviteleri



Şekil 4.10. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstreleri ile birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-Tokoferol ve Troloks'un 20 µg/ml konsantrasyonlarının % H₂O₂ giderme aktiviteleri

4.1.5. Toplam β -karoten ve Likopen İçeriğinin Belirlenmesine ait Bulgular

Bitki ekstralarının karotenoid içeriği Barros ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda kullanılan spektrofotometrik olarak belirlendi. (Barros vd., 2007). Ekstrelerin β -karoten ve likopen içerikleri aşağıdaki formüllerle hesaplandı.

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

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

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.

Her bir örnek ve standart için 3 analiz işlemi yapılmış ve sonuçlar ise bu 3 deneyden elde edilen β -karoten içeriklerinin ortalaması alınarak standart sapma ile birlikte verildi. Sonuçlar Çizelge 4.6'da verildi.

Çizelge 4.6. Ekstrelerin β -karoten içerikleri (mg/g ekstre)

Numune	mg/g ekstre
Aseton*	9,235±0,080 ^f
Etil asetat	5,454±0,166 ^c
Diklorometan	10,96±0,243 ^h
Metanol	4,322±0,026 ^b
Saf su	5,384±0,086 ^c
Yaprak**	10,36±0,057 ^g
Kök	3,051±0,053 ^a
Gövde	6,861±0,068 ^d
Çiçek	8,273±0,193 ^e

a, b, c, d, e, f, g, h Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

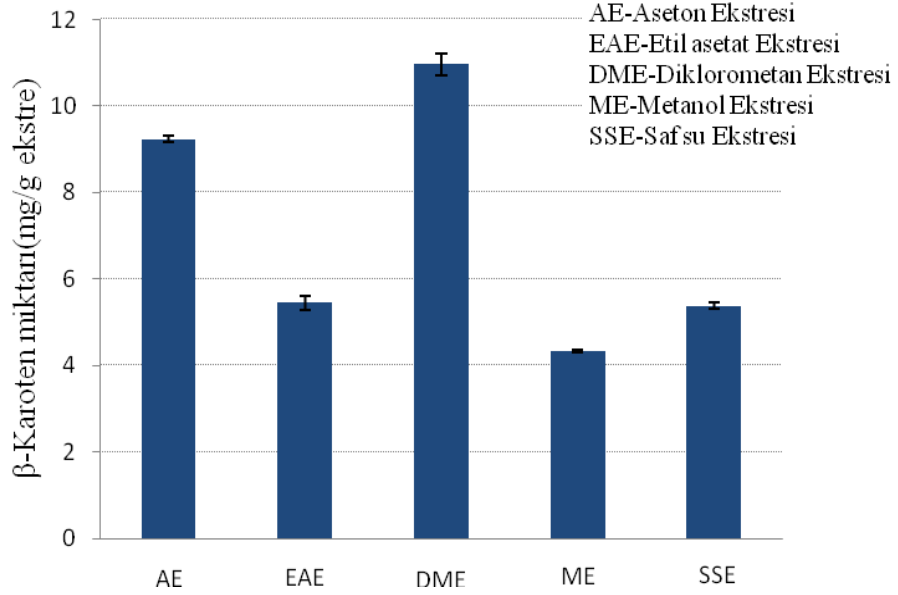
± ile verilen değerler ortalama değerlerin standart sapmasıdır.

*Aseton, Etil asetat, Diklorometan, Metanol, Saf su; toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstralarını ifade etmektedir.

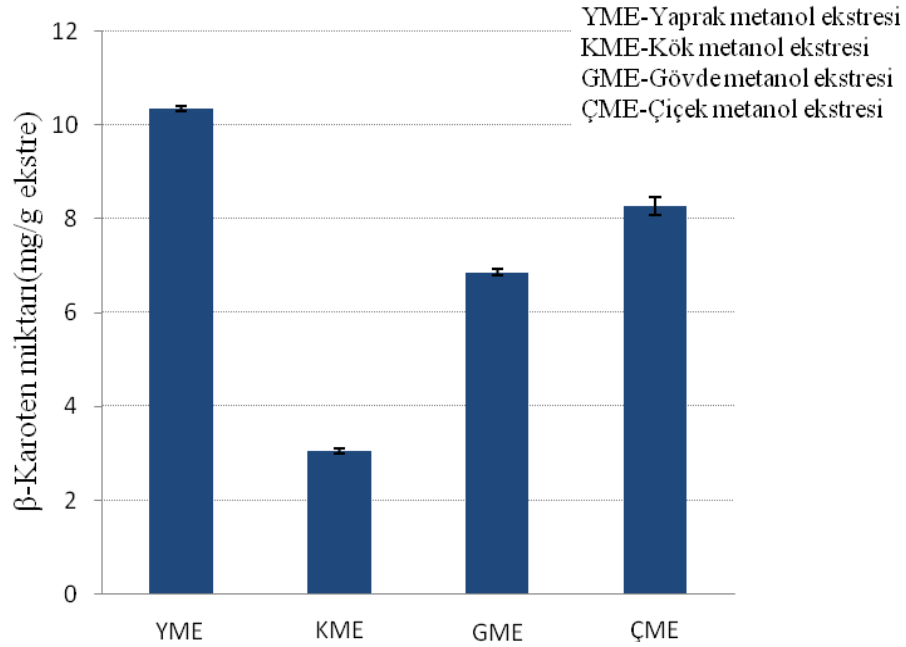
**Yaprak, Kök, Gövde, Çiçek; farklı kısımlardan elde edilen metanol ekstralarını ifade etmektedir.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısım çeşitli çözücü ekstralarının β -karoten içerikleri sırasıyla; diklorometan ekstresi > aseton ekstresi > etil

asetat ekstresi \approx saf su ekstresi $>$ metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; $10,96 \pm 0,243$; $9,235 \pm 0,080$; $5,454 \pm 0,166$; $5,384 \pm 0,086$ ve $4,322 \pm 0,026$ mg/g ekstre olarak bulundu.



Şekil 4.11. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstrelerinin β -karoten içerikleri



Şekil 4.12. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstrelerinin β -karoten içerikleri

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstrlerinin β -karoten içerikleri sırasıyla; yaprak metanol ekstresi > çiçek metanol ekstresi > gövde metanol ekstresi > kök metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 10,36 \pm 0,057; 8,273 \pm 0,193; 6,861 \pm 0,068 ve 3,051 \pm 0,053 mg/g ekstre olarak bulundu.

Şekil 4.11 ve 4.12'de görüldüğü gibi, sonuçlar kendi aralarında kıyaslandığında, toprak üstü kısmın diklorometan ekstresi (10,96 \pm 0,243 mg/g ekstre) ve yaprak metanol ekstresinin (10,36 \pm 0,057 mg/g ekstre) birbirine yakın ve en yüksek β -karoten içeriğine sahip oldukları saptandı. En düşük β -karoten miktarı ise kök metanol ekstresinde (3,051 \pm 0,053 mg/g ekstre) gözlemlendi.

Her bir örnek ve standart için 3 analiz işlemi yapılmış olup sonuçlar, bu 3 deneyden elde edilen likopen içeriklerinin ortalaması alınarak standart sapma ile birlikte verildi. Sonuçlar Çizelge 4.7'de verildi.

Çizelge 4.7. Ekstrelerin likopen içerikleri (mg/g ekstre)

Numune	mg/g ekstre
Aseton*	1,414 \pm 0,1267 ^b
Etil asetat	1,732 \pm 0,0382 ^d
Diklorometan	3,734 \pm 0,0580 ^f
Metanol	0,947 \pm 0,0176 ^a
Saf su	2,322 \pm 0,0646 ^e
Yaprak**	4,849 \pm 0,0536 ^g
Kök	1,522 \pm 0,0182 ^c
Gövde	2,281 \pm 0,0213 ^e
Çiçek	3,717 \pm 0,0364 ^f

a, b, c, d, e, f, g Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

\pm ile verilen değerler ortalama değerlerin standart sapmasıdır.

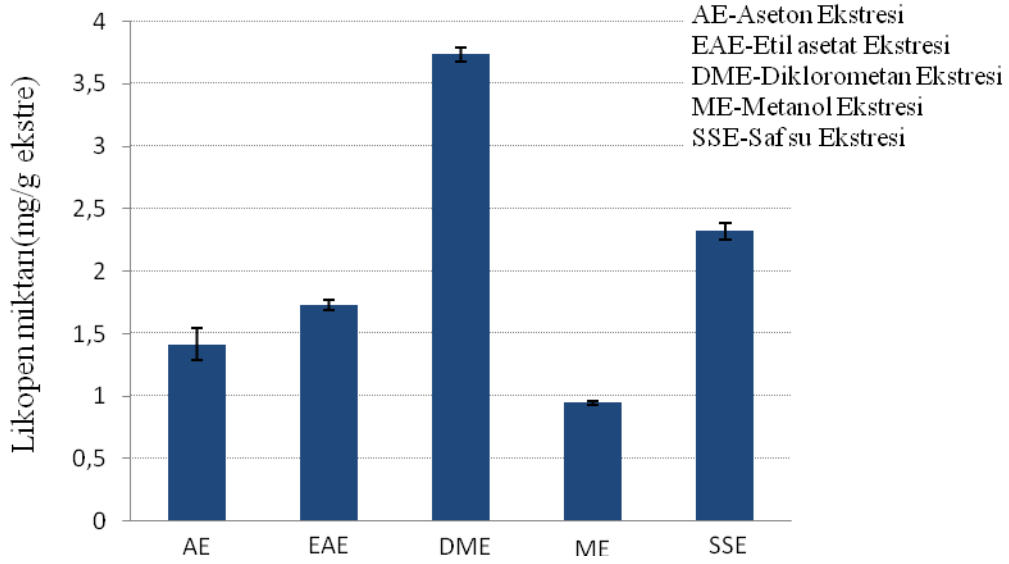
*Aseton, Etil asetat, Diklorometan, Metanol, Saf su; toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstrlerini ifade etmektedir.

**Yaprak, Kök, Gövde, Çiçek; farklı kısımlardan elde edilen metanol ekstrlerini ifade etmektedir.

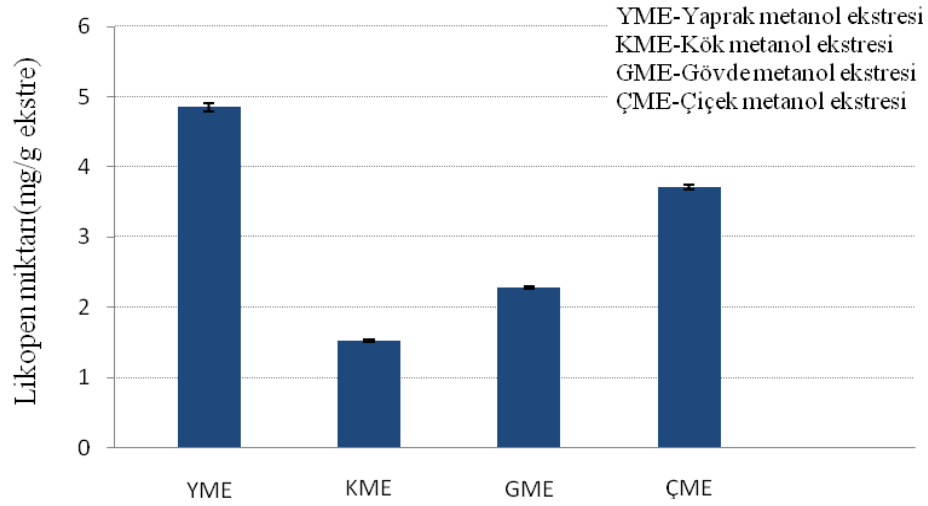
Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısım çeşitli çözücü ekstrlerinin likopen içerikleri ise sırasıyla; diklorometan ekstresi > saf su ekstresi > etil asetat ekstresi > aseton ekstresi > metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 3,734 \pm 0,0580; 2,322 \pm 0,0646; 1,732 \pm 0,0382; 1,414 \pm 0,1267 ve 0,947 \pm 0,0176 mg/g ekstre olarak bulundu.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstrilerinin likopen içerikleri sırasıyla; yaprak metanol ekstresi > çiçek metanol ekstresi > gövde metanol ekstresi > kök metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 4,849±0,0536; 3,717±0,0364; 2,281±0,0213 ve 1,522±0,0182 mg/g ekstre olarak belirlendi.

Şekil 4.13 ve 4.14'de görüldüğü gibi, sonuçlar kendi aralarında kıyaslandığında, yaprak metanol ekstresinin (4,849±0,0536 mg/g ekstre) en yüksek likopen miktarına sahip olduğu bulundu. En düşük likopen miktarı ise toprak üstü kısım metanol ekstresinde (0,947±0,0176 mg/g ekstre) saptandı.



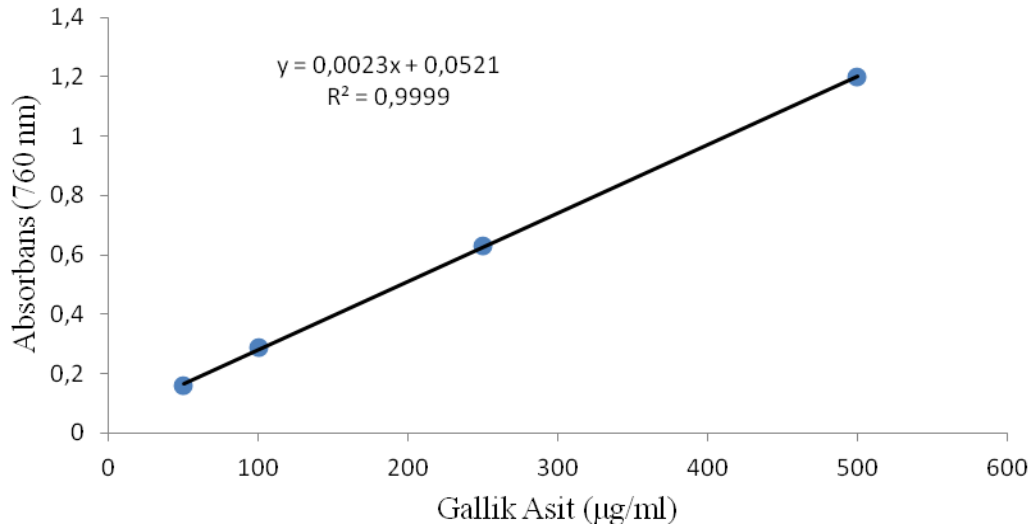
Şekil 4.13. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstrilerinin likopen içerikleri



Şekil 4.14. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstrelerinin likopen içerikleri

4.1.6. Toplam Fenol İçeriği Bulguları

Çalışmada bitki ekstrelerinin fenolik madde tayini, Singleton ve Rossi (1965)' nin uyguladığı Folin-Ciocalteu metoduna göre yapıldı. 50-500 µg/ml konsantrasyonları arasında hazırlanan gallik asit çözeltilerine FCR ile toplam fenol içeriği tayini yapıldı. Okunan absorbans ile konsantrasyon arasında çizilen standart grafiğin denkleminde, örneklerin toplam fenolik bileşik miktarları, mg gallik asit (mg GAE/g ekstre) eşdeğeri şeklinde hesaplandı (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Toplam fenol içeriği için gallik asit ile hazırlanan standart grafik

Deneyle 3 defa tekrar edilerek sonuçlar, bu 3 deneyden elde edilen toplam fenol içeriği miktarlarının ortalaması alınarak standart sapma ile birlikte verildi (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8’de görüldüğü gibi *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*’nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstralarının 1 g’da bulunan toplam fenol içerikleri sırasıyla; metanol ekstresi > aseton ekstresi > etil asetat ekstresi > saf su ekstresi > diklorometan ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 103,25±1,01; 76,81±2,08; 63,90±0,74; 54,70±1,93 ve 46,75±2,09 mg GAE/g ekstre olarak bulundu.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*’nın farklı kısımlarının metanol ekstralarının 1 g’da bulunan toplam fenol içerikleri sırasıyla; kök metanol ekstresi > yaprak metanol ekstresi > çiçek metanol ekstresi > gövde metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 115,29±5,04; 111,32±1,72; 89,23±5,28 ve 67,01±3,07 mg GAE/g ekstre olarak belirlendi.

Çizelge 4.8. Ekstrelerin toplam fenol içerikleri (mg GAE/g ekstre)

Numune	mg GAE/g ekstre
Aseton*	76,81±2,08 ^d
Etil asetat	63,90±0,74 ^c
Diklorometan	46,75±2,09 ^a
Metanol	103,25±1,01 ^f
Saf su	54,70±1,93 ^b
Yaprak**	111,32±1,72 ^g
Kök	115,29±5,04 ^g
Gövde	67,01±3,07 ^c
Çiçek	89,23±5,28 ^e

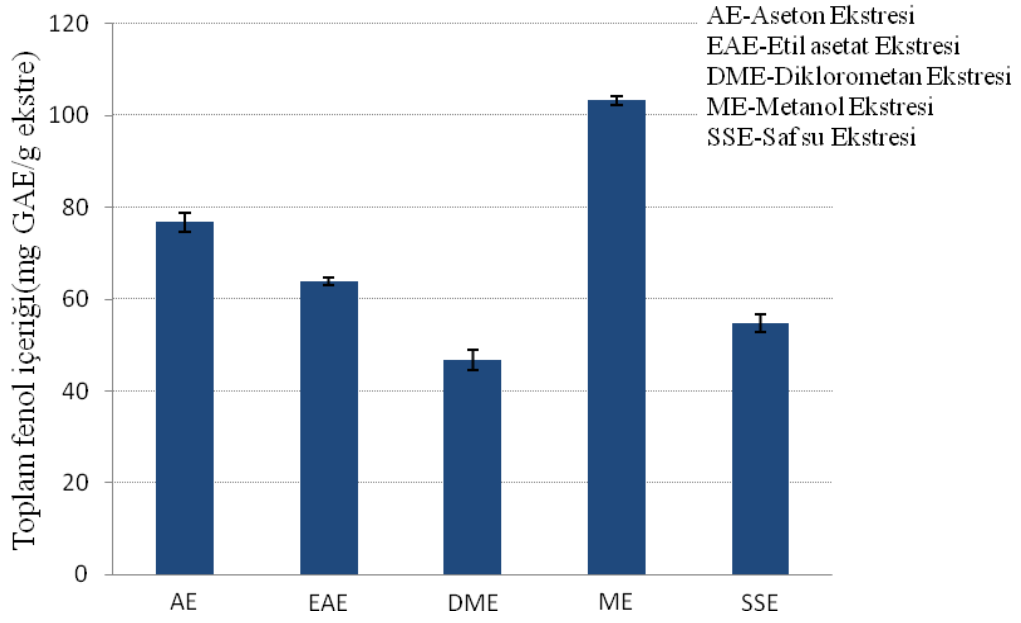
a, b, c, d, e, f, g Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

± ile verilen değerler ortalama değerlerin standart sapmasıdır.

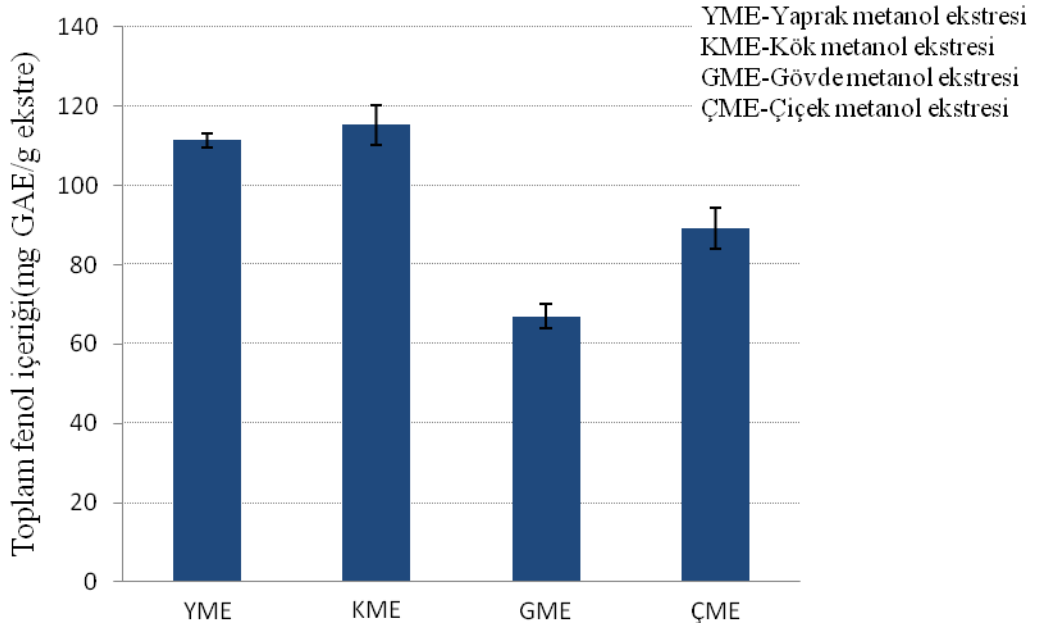
*Aseton, Etil asetat, Diklorometan, Metanol, Saf su; toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstralarını ifade etmektedir.

**Yaprak, Kök, Gövde, Çiçek; farklı kısımlardan elde edilen metanol ekstralarını ifade etmektedir.

Şekil 4.16 ve 4.17’de görüldüğü gibi, en yüksek fenol içeriği kök metanol ekstresinde (115,29±5,04 mg/g ekstre) tespit edildi. En düşük fenol içeriği ise toprak üstü kısım diklorometan ekstresinde (46,75±2,09 mg/g ekstre) saptandı.



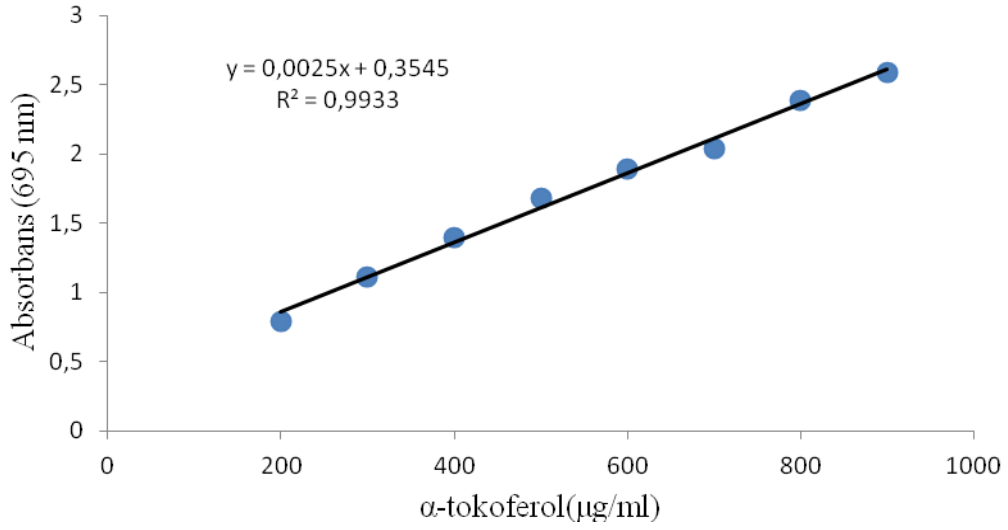
Şekil 4.16. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstralarının toplam fenol içerikleri



Şekil 4.17. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstralarının toplam fenol içerikleri

4.1.7. Toplam Antioksidan Kapasitenin Saptanmasına ait Bulgular

Çalışmada kullandığımız *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın antioksidan kapasitesi spektrofotometrik fosfomolibden yöntemine göre belirlendi. Sonuçlar mg α -TE/g ekstre şeklinde verildi.



Şekil 4.18. Toplam antioksidan kapasite tayini için α-Tokoferol ile hazırlanan standart grafik

Deneyler 3 defa tekrar edilerek sonuçlar, bu 3 deneyden elde edilen toplam antioksidan kapasite miktarlarının ortalaması alınarak standart sapma ile birlikte verildi (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Ekstrelerin toplam antioksidan kapasiteleri (mg α-TE/g ekstre)

Numune	mg α-TE/g ekstre
Aseton*	212,11±9,64 ^d
Etil asetat	163,11±7,47 ^c
Diklorometan	159,05±4,57 ^c
Metanol	161,43±8,92 ^c
Saf su	38,48±3,86 ^a
Yaprak**	91,80±1,69 ^b
Kök	164,76±9,52 ^c
Gövde	85,33±2,40 ^b
Çiçek	64,65±7,01 ^{ab}

^{a, b, c, d} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

^{ab} Aynı sütunda iki harfle gösterilen değer istatistiksel olarak anlamlı değildir.

± ile verilen değerler ortalama değerlerin standart sapmasıdır.

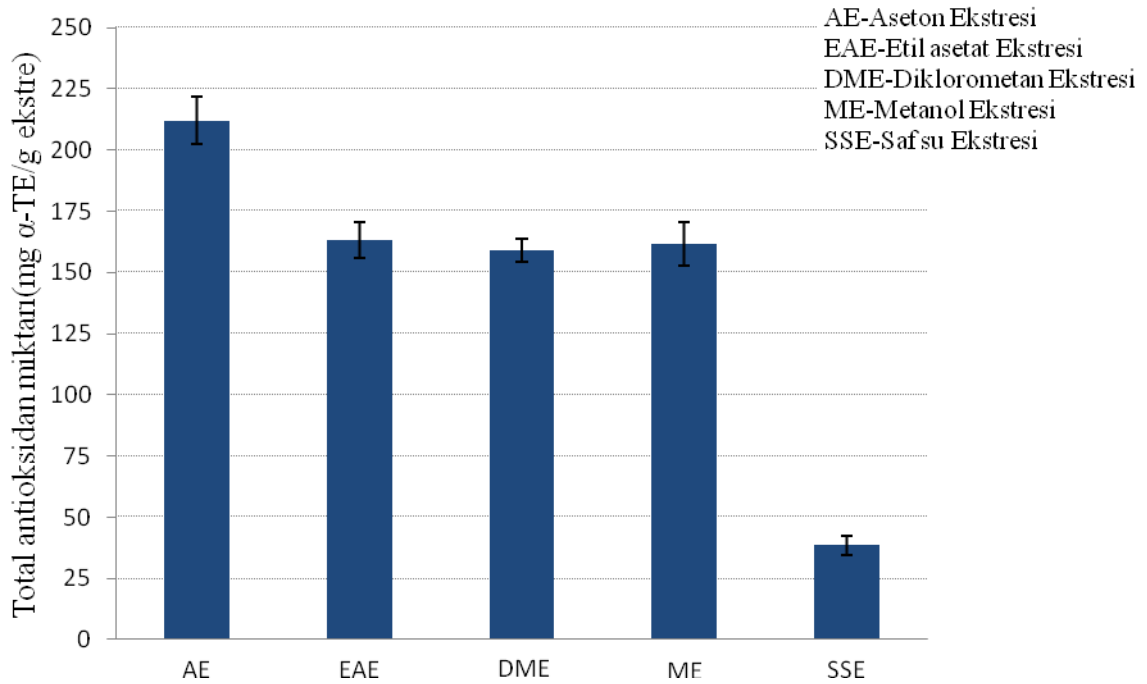
*Aseton, Etil asetat, Diklorometan, Metanol, Saf su; toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstralarını ifade etmektedir.

**Yaprak, Kök, Gövde, Çiçek; farklı kısımlardan elde edilen metanol ekstralarını ifade etmektedir.

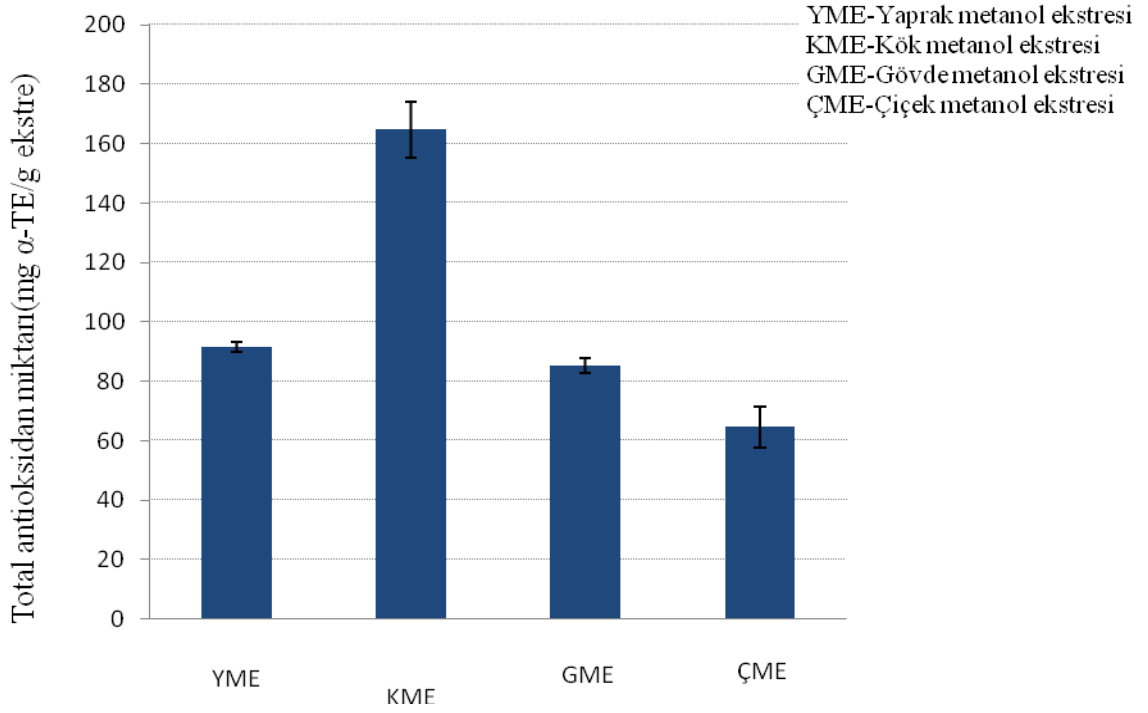
Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstralarının 1 g'da bulunan toplam antioksidan miktarları sırasıyla; aseton ekstresi > etil asetat ekstresi > metanol ekstresi > diklorometan ekstresi > saf su ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 212,11±9,64; 163,11±7,47; 161,43±8,92; 159,05±4,57 ve 38,48±3,86 mg α -TE/g ekstre olarak bulundu.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstralarının 1 g'da bulunan toplam antioksidan miktarları sırasıyla; kök metanol ekstresi > yaprak metanol ekstresi > gövde metanol ekstresi > çiçek metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 164,76±9,52; 91,80±1,69; 85,33±2,40 ve 64,65±7,01 mg α -TE/g ekstre olarak bulundu.

Şekil 4.19 ve 4.20'de görüldüğü gibi, en yüksek toplam antioksidan miktarı toprak üstü kısmın aseton ekstresinde (212,11±9,64 mg/g ekstre) bulundu. En düşük toplam antioksidan miktarı ise toprak üstü kısmın saf su ekstresinde (38,48±3,86 mg/g ekstre) görüldü.



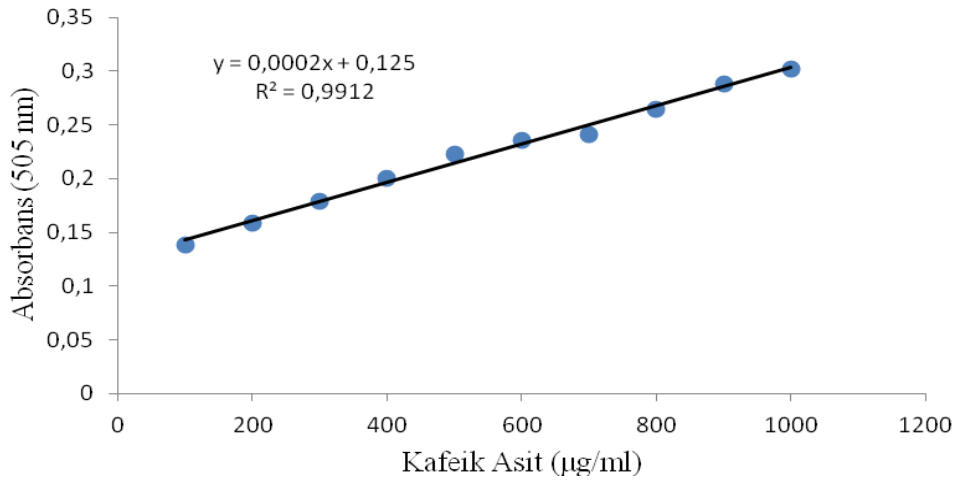
Şekil 4.19. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstralarının toplam antioksidan miktarları



Şekil 4.20. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstraktlarının toplam antioksidan miktarları

4.1.8. Fenolik Asit İçeriğinin Saptanmasına ait Bulgular

Fenolik asitler; suda çözünebilir ve bitkisel besinlerde yaygın olarak bulunan ikincil metabolitlerdir (Mattila ve Hellström, 2007). Fenolik asitler genelde bitki hücrelerinde serbest halde bulunmamaktadır. Bunlar kompleks şeklinde ya vakuollerde çözülmüş halde ya da hücre duvarı bileşenlerine bağlanmış durumdadırlar (İbadova, 2006).



Şekil 4.21. Fenolik asit tayini için kafeik asit ile hazırlanan standart grafik

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın fenolik asit içeriği, Koncic ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalardaki metoda göre belirlendi (Koncic vd., 2010). 100-1000 ppm konsantrasyonlar arasında hazırlanan kafeik asit çözeltilerinin absobansları 505 nm'de ölçüldü. Okunan absorbanlar ile konsantrasyonlar arasında çizilen kafeik asit ile hazırlanan standart grafiğin denkleminde, örneklerin fenolik asit içeriği mg kafeik asit (mg KAE/g ekstre) eşdeğeri şeklinde hesaplandı (Şekil 4.21).

Deneyler 3 defa tekrar edilerek sonuçlar ise bu 3 deneyden elde edilen fenolik asit içeriklerinin ortalaması alınarak standart sapma ile birlikte verildi (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstralarının 1 g'da bulunan fenolik asit miktarları sırasıyla; diklorometan ekstresi > etil asetat ekstresi > aseton ekstresi > metanol ekstresi > saf su ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 0,896±0,0001; 0,685±0,0001; 0,590±0,0001; 0,489±0,0002 ve 0,339±0,0003 mg KAE/g ekstre olarak bulundu.

Çizelge 4.10. Ekstrelerin fenolik asit içerikleri (mg KAE/g ekstre)

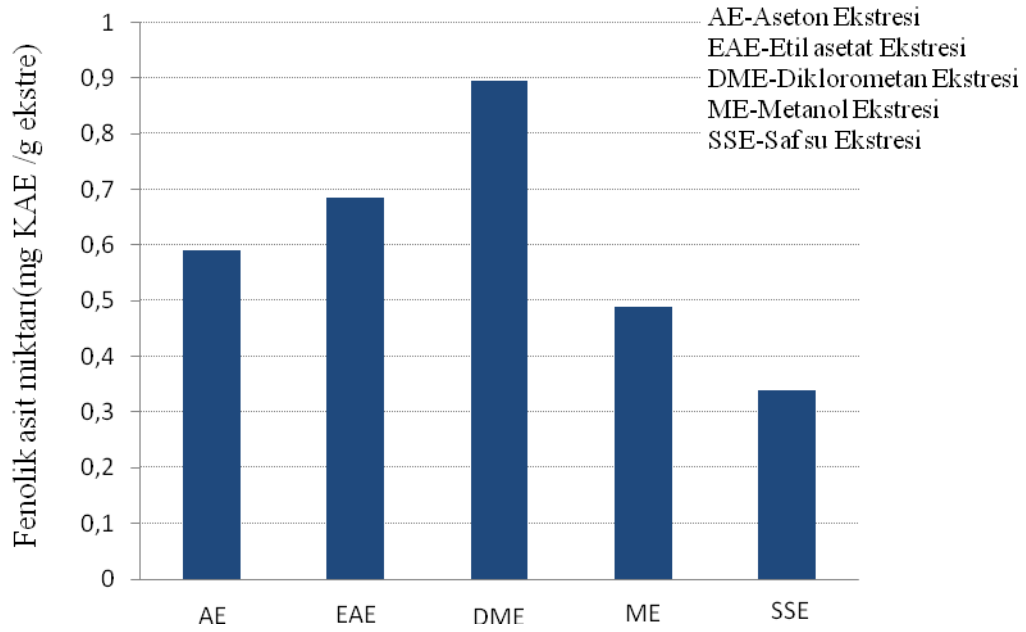
Numune	mg KAE/g ekstre
Aseton*	0,590±0,0001 ^g
Etil asetat	0,685±0,0001 ^h
Diklorometan	0,896±0,0001 ⁱ
Metanol	0,489±0,0002 ^f
Saf su	0,339±0,0003 ^c
Yaprak**	0,391±0,0010 ^d
Kök	0,472±0,0001 ^e
Gövde	0,251±0,0002 ^a
Çiçek	0,262±0,0003 ^b

a, b, c, d, e, f, g, h, i Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

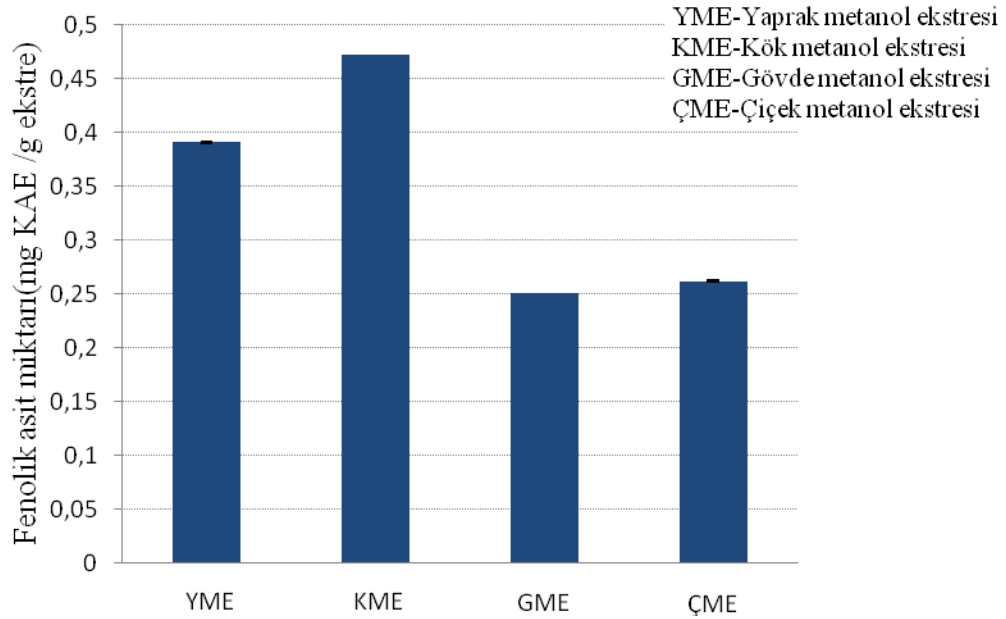
± ile verilen değerler ortalama değerlerin standart sapmasıdır.

*Aseton, Etil asetat, Diklorometan, Metanol, Saf su; toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstralarını ifade etmektedir.

**Yaprak, Kök, Gövde, Çiçek; farklı kısımlardan elde edilen metanol ekstralarını ifade etmektedir.



Şekil 4.22. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstralarının fenolik asit miktarları



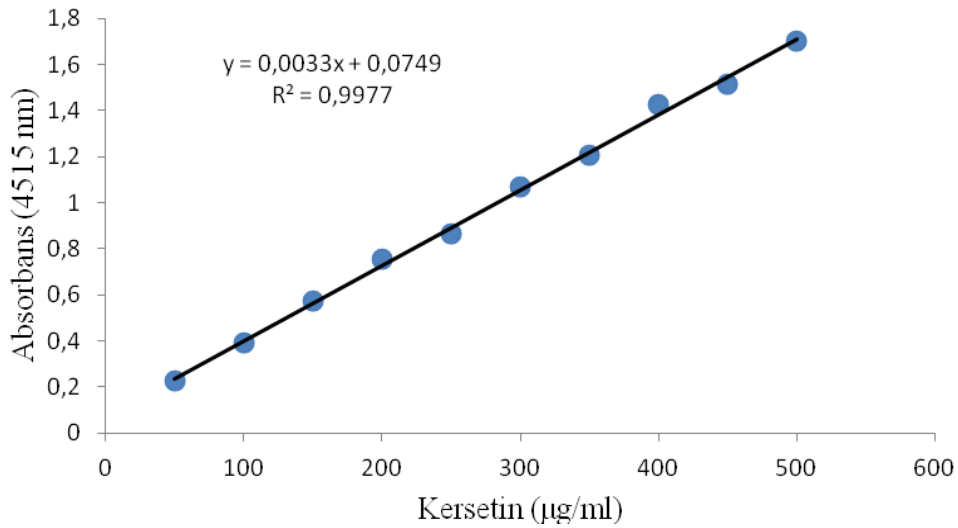
Şekil 4.23. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstralarının fenolik asit miktarları

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstralarının 1 g'da bulunan fenolik asit miktarları sırasıyla; kök metanol ekstresi > yaprak metanol ekstresi > çiçek metanol ekstresi > gövde metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; $0,472 \pm 0,0001$; $0,391 \pm 0,0010$; $0,262 \pm 0,0003$ ve $0,251 \pm 0,0002$ mg KAE/g ekstre olarak bulundu.

Şekil 4.22 ve 4.23’de görüldüğü gibi, en yüksek fenolik asit miktarı toprak üstü kısım diklorometan ekstresinde ($0,896\pm 0,0001$ mg/g ekstre) ve en düşük fenolik asit miktarı ise gövde metanol ekstresinde ($0,251\pm 0,0002$ mg/g ekstre) görüldü.

4.1.9. Toplam Flavonoid İçeriği Tayinine ait Bulgular

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita* bitki ekstrelerinin flavonoid içeriklerinin tayini, Chang ve arkadaşlarının uyguladığı metodlar esas alınarak belirlendi (Chang vd., 2002). Değişik konsantrasyonlarda (50-500 $\mu\text{g/ml}$) hazırlanan kersetin çözeltilerinin 415 nm’de okunan absorbansları ile kersetin konsantrasyonları arasında çizilen standart grafiğin denkleminde örneklerin toplam flavonoid içerikleri, mg kersetin (mg KE/g ekstre) eşdeğeri hesaplandı (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Toplam flavonoid içeriği tayini için kersetin ile hazırlanan standart grafik

Bu çalışmadaki deneyler 3 defa tekrar edilerek sonuçlar, deneylerden elde edilen toplam flavonoid içeriklerinin ortalaması alınarak standart sapma ile birlikte verildi (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Ekstrelerin toplam flavonoid içerikleri (mg KE/g ekstre)

Numune	mg KE/g ekstre
Aseton*	45,67±3,64 ^f
Etil asetat	36,77±1,05 ^e
Diklorometan	60,48±5,48 ^g
Metanol	40,27±2,40 ^{ef}
Saf su	9,39±2,14 ^a
Yaprak**	25,14±2,76 ^{cd}
Kök	28,90±3,23 ^d
Gövde	15,86±1,26 ^{ab}
Çiçek	21,27±1,54 ^{bc}

a, b, c, d, e, f, g Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır ve istatistiksel olarak anlamlıdır.

ab, bc, cd, de, ef Aynı sütunda iki harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

± ile verilen değerler ortalama değerlerin standart sapmasıdır.

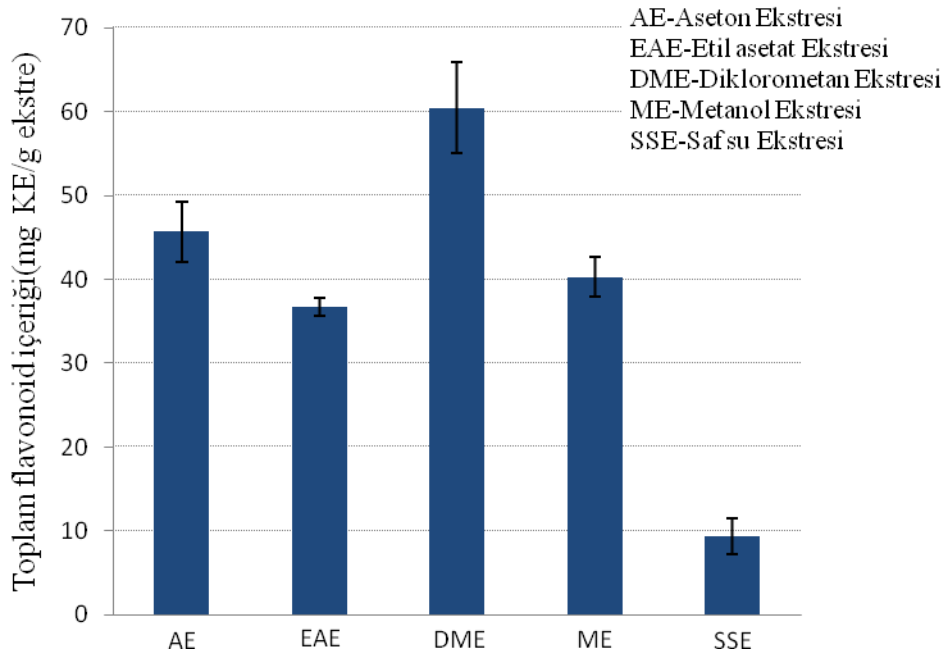
*Aseton, Etil asetat, Diklorometan, Metanol, Saf su; toprak üstü kısımdan elde edilen çeşitli çözücü ekstralarını ifade etmektedir.

**Yaprak, Kök, Gövde, Çiçek; farklı kısımlardan elde edilen metanol ekstralarını ifade etmektedir.

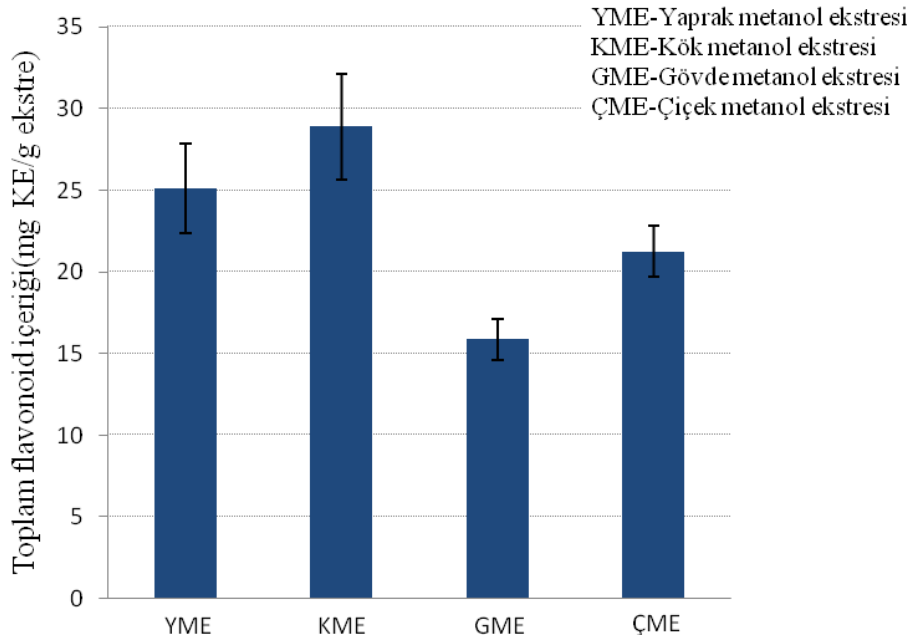
Çizelge 4.11’de görüldüğü gibi *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*’nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstralarının 1 g’da bulunan toplam flavonoid içerikleri sırasıyla; diklorometan ekstresi > aseton ekstresi > metanol ekstresi > etil asetat ekstresi > saf su ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 60,48±5,48; 45,67±3,64; 40,27±2,40; 36,77±1,05 ve 9,39±2,14 mg KE/g ekstre olarak bulundu.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*’nın farklı kısımlarının metanol ekstralarının 1 g’da bulunan toplam flavonoid içerikleri sırasıyla; kök metanol ekstresi > yaprak metanol ekstresi > çiçek metanol ekstresi > gövde metanol ekstresi şeklindedir. Bu değerler sırasıyla; 28,90±3,23; 25,14±2,76; 21,27±1,54 ve 15,86±1,26 mg KE/g ekstre olarak belirlendi.

Şekil 4.25 ve 4.26’da görüldüğü gibi, en yüksek flavonoid içeriği toprak üstü kısmın diklorometan ekstresinde (60,48±5,48 mg/g ekstre) gözlemlendi. En düşük flavonoid içeriği ise toprak üstü kısmın saf su ekstresinde (9,39±2,14 mg/g ekstre) hesaplandı.



Şekil 4.25. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri



Şekil 4.26. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarının metanol ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri

4.2. Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktivitelerine ait Bulgular

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmaların bulguları Çizelge 4.12 ve 4.13'de verildi.

Çizelge 4.12. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmının çeşitli çözücü ekstralarının test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri

Mikroorganizma	İnhibisyon Zonunun Çapı (mm)						
	Aseton ekstresi	Etil asetat ekstresi	Diklorometan ekstresi	Metanol ekstresi	Saf su ekstresi	Negatif kontrol	Pozitif kontrol
<i>B. subtilis</i> *	10	12	11	11	10	-	27
<i>E. coli</i> *	10	-	10	-	9	-	22
<i>K. pneumoniae</i> *	11	12	12	10	9	-	24
<i>S. aureus</i> *	15	13	14	13	12	-	24
<i>Candida spp</i> *	8	9	8	8	8	-	23
<i>P. aeruginosa</i> *	11	9	11	9	8	-	25
<i>Streptococcus spp</i> *	12	11	13	11	10	-	23
<i>S. typhimurium</i> *	11	12	13	11	10	-	26
<i>S. cerevisiae</i> *	12	10	11	10	9	-	21
<i>A. niger</i> **	14	12	11	11	10	-	NT

(NT): Denenmedi

Pozitif kontrol olarak Streptomisin antibiyotik diskleri kullanılmıştır (Bioanalyse).

Negatif kontrol olarak DMSO (Merck) kullanılmıştır.

(*) : Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6 mm çapında olup disklere 40'ar µl ekstre emdirilmiştir.

(**) : Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Kuyucuklar 6 mm çapında olup kuyucuklara 40'ar µl ekstre aktarılmıştır.

Çizelge 4.13. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın farklı kısımlarından elde edilen metanol ekstralarının test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri

Mikroorganizma	İnhibisyon Zonunun Çapı (mm)					
	Yaprak metanol ekstresi	Kök metanol ekstresi	Gövde metanol ekstresi	Çiçek metanol ekstresi	Negatif kontrol	Pozitif kontrol
<i>B. subtilis</i> *	12	10	-	11	-	27
<i>E. coli</i> *	10	7	-	7	-	22
<i>K. pneumoniae</i> *	12	9	10	10	-	24
<i>S. aureus</i> *	16	14	9	12	-	24
<i>Candida spp</i> *	9	9	8	11	-	23
<i>P. aeruginosa</i> *	13	10	-	11	-	25
<i>Streptococcus spp</i> *	9	11	-	11	-	23
<i>S. typhimurium</i> *	13	11	10	11	-	26
<i>S. cerevisiae</i> *	11	7	-	8	-	21
<i>A. niger</i> **	15	9	8	13	-	NT

(NT): Denenmedi

Pozitif kontrol olarak Streptomisin antibiyotik diskleri kullanılmıştır (Bioanalyse).

Negatif kontrol olarak DMSO (Merck) kullanılmıştır.

(*) : Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6 mm çapında olup disklere 40'ar µl ekstre emdirilmiştir.

(**) : Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Kuyucuklar 6 mm çapında olup kuyucuklara 40'ar µl ekstre aktarılmıştır.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısım aseton ekstresinin, mikroorganizma kültürlerinin tamamına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptandı. Toprak üstü kısmı aseton ekstresinin, mikroorganizma kültürlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları sırasıyla; *Staphylococcus aureus* 6538P > *Aspergillus niger* RSKK04017 > *Streptococcus spp* ≈ *Saccharomyces cerevisiae* > *Klebsiella pneumoniae* EMCS ≈ *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071 ≈ *Salmonella typhimurium* NRRLE4413 >

Bacillus subtilis IM622 \approx *Escherichia coli* ATCC25922 > *Candida spp* şeklindedir. Toprak üstü kısmın aseton ekstresi, *Staphylococcus aureus* 6538P'e karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, 15 mm büyüklüğünde inhibisyon zonu oluşturmuştur. Minimum antimikrobiyal aktiviteyi ise *Candida spp*'ye karşı, 8 mm inhibisyon zonu oluşturarak, gösterdi.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmın etil asetat ekstresinin, *Escherichia coli* ATCC25922 dışında kalan mikroorganizma kültürlerinin tamamına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Toprak üstü kısmın etil asetat ekstresinin, mikroorganizma kültürlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları sırasıyla; *Staphylococcus aureus* 6538P > *Bacillus subtilis* IM622 \approx *Klebsiella pneumoniae* EMCS \approx *Salmonella typhimurium* NRRLE4413 \approx *Aspergillus niger* RSKK04017 > *Streptococcus spp* > *Saccharomyces cerevisiae* > *Candida spp* \approx *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071 şeklindedir. Toprak üstü kısım etil asetat ekstresi, *Staphylococcus aureus* 6538P'e karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, 13 mm büyüklüğünde inhibisyon zonu oluşturmuştur. *Escherichia coli* ATCC25922'ye karşı ise antimikrobiyal etki göstermediği belirlendi.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmın diklorometan ekstresinin, mikroorganizma kültürlerinin tamamına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptandı. Toprak üstü kısmın diklorometan ekstresinin, mikroorganizma kültürlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları sırasıyla; *Staphylococcus aureus* 6538P > *Streptococcus spp* \approx *Salmonella typhimurium* NRRLE4413 > *Klebsiella pneumoniae* EMCS > *Bacillus subtilis* IM622 \approx *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071 \approx *Saccharomyces cerevisiae* \approx *Aspergillus niger* RSKK04017 > *Escherichia coli* ATCC25922 > *Candida spp* şeklindedir. Toprak üstü kısmın diklorometan ekstresi, *Staphylococcus aureus* 6538P'e karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, 14 mm büyüklüğünde inhibisyon zonu oluşturmuştur. Minimum antimikrobiyal aktiviteyi ise *Candida spp*'ye karşı, 8 mm inhibisyon zonu oluşturarak göstermiştir.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmın metanol ekstresinin, *Escherichia coli* ATCC25922 dışında kalan mikroorganizma kültürlerinin tamamına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptandı. Toprak üstü kısmın metanol ekstresinin, mikroorganizma kültürlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları sırasıyla; *Staphylococcus aureus* 6538P > *Bacillus subtilis* IM622 \approx *Streptococcus spp* \approx *Salmonella typhimurium* NRRLE4413 \approx *Aspergillus niger* RSKK04017 > *Klebsiella pneumoniae*

EMCS \approx *Saccharomyces cerevisiae* > *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071 > *Candida spp* şeklindedir. Toprak üstü kısım metanol ekstresi, *Staphylococcus aureus* 6538P'e karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, 13 mm büyüklüğünde inhibisyon zonu oluşturmuştur. *Escherichia coli* ATCC25922'ye karşı ise antimikrobiyal etki göstermediği belirlendi.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısmın saf su ekstresinin, mikroorganizma kültürlerinin tamamına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptandı. Toprak üstü kısmın saf su ekstresinin, mikroorganizma kültürlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları sırasıyla; *Staphylococcus aureus* 6538P > *Bacillus subtilis* IM622 \approx *Streptococcus spp* \approx *Salmonella typhimurium* NRRLE4413 \approx *Aspergillus niger* RSKK04017 > *Escherichia coli* ATCC25922 \approx *Klebsiella pneumoniae* EMCS \approx *Saccharomyces cerevisiae* > *Candida spp* \approx *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071 şeklindedir. Toprak üstü kısmın saf su ekstresi, *Staphylococcus aureus* 6538P'e karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, 12 mm büyüklüğünde inhibisyon zonu oluşturmuştur. Minimum antimikrobiyal aktiviteyi ise *Candida spp* ve *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071'e karşı, 8 mm inhibisyon zonu oluşturarak, gösterdi.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın yaprak metanol ekstresinin, mikroorganizma kültürlerinin tamamına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptandı. Yaprak metanol ekstresinin, mikroorganizma kültürlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları sırasıyla; *Staphylococcus aureus* 6538P > *Aspergillus niger* RSKK04017 > *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071 \approx *Salmonella typhimurium* NRRLE4413 > *Bacillus subtilis* IM622 \approx *Klebsiella pneumoniae* EMCS > *Saccharomyces cerevisiae* > *Escherichia coli* ATCC25922 > *Streptococcus spp* \approx *Candida spp* şeklindedir. Yaprak metanol ekstresi, *Staphylococcus aureus* 6538P'e karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, 16 mm büyüklüğünde inhibisyon zonu oluşturur. Minimum antimikrobiyal aktiviteyi ise *Candida spp* ve *Streptococcus spp*'ye karşı, 9 mm inhibisyon zonu oluşturarak gösterir.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın kök metanol ekstresinin, mikroorganizma kültürlerinin tamamına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptandı. Kök metanol ekstresinin, mikroorganizma kültürlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları sırasıyla; *Staphylococcus aureus* 6538P > *Streptococcus spp* \approx *Salmonella typhimurium* NRRLE4413 > *Bacillus subtilis* IM622 \approx *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071 > *Klebsiella pneumoniae* EMCS \approx *Candida spp* \approx *Aspergillus niger* RSKK04017 > *Escherichia coli* ATCC25922 \approx *Saccharomyces cerevisiae* şeklindedir.

Kök metanol ekstresi, *Staphylococcus aureus* 6538P'e karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, 14 mm büyüklüğünde inhibisyon zonu oluşturmuştur. Minimum antimikrobiyal aktiviteyi ise *Escherichia coli* ATCC25922 ve *Saccharomyces cerevisiae*'ye karşı, 9 mm inhibisyon zonu oluşturarak gösterdi.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın gövde metanol ekstresinin, *Bacillus subtilis* IM622, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071, *Saccharomyces cerevisiae* EMCS ve *Streptococcus spp* mikroorganizma kültürlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği saptandı. *Klebsiella pneumoniae* EMCS ve *Salmonella typhimurium* NRRLE4413'e karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, 10 mm büyüklüğünde inhibisyon zonları oluşturmuştur. Minimum antimikrobiyal aktiviteyi ise *Candida spp* ve *Aspergillus niger* RSKK04017'e karşı, 8 mm inhibisyon zonu oluşturarak gösterdi.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita*'nın çiçek metanol ekstresinin, mikroorganizma kültürlerinin tamamına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Çiçek metanol ekstresinin, mikroorganizma kültürlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları sırasıyla; *Aspergillus niger* RSKK04017 > *Staphylococcus aureus* 6538P > *Bacillus subtilis* IM622 ≈ *Candida spp* ≈ *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071 ≈ *Streptococcus spp* ≈ *Salmonella typhimurium* NRRLE4413 > *Klebsiella pneumoniae* > *Saccharomyces cerevisiae* EMCS > *Escherichia coli* ATCC25922 şeklindedir. Çiçek metanol ekstresi, *Aspergillus niger* RSKK04017'ye karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, 13 mm büyüklüğünde inhibisyon zonu oluşturdu. Minimum antimikrobiyal aktiviteyi ise *Escherichia coli* ATCC25922'ye karşı, 7 mm inhibisyon zonu oluşturarak, gösterdi.

Çözücüleri uçurulmuş kuru bitki ekstralarını içinde çözdüğümüz DMSO, negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Çizelge 4.12 ve 4.13'de görüldüğü gibi, DMSO emdirilen disklerin etrafında zon oluşmamaktadır. Bu bulguya göre, çözücünün antimikrobiyal aktivite değerlerine hiçbir katkısının olmadığı sonucu çıkarılabilmektedir.

Yine, Çizelge 4.12 ve 4.13'de görüldüğü gibi, pozitif kontrol olarak kullanılan Streptomisin antibiyotik disklerinin mikroorganizma kültürlerine karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları sırasıyla; *Bacillus subtilis* IM622 > *Salmonella typhimurium* NRRLE4413 > *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071 > *Klebsiella pneumoniae* EMCS ≈ *Staphylococcus aureus* 6538P > *Candida spp* ≈ *Streptococcus spp* > *Escherichia coli* ATCC25922 > *Saccharomyces cerevisiae* şeklindedir. *Aspergillus niger* RSKK04017'ye

karşı pozitif kontrol kullanılmamıştır. Streptomisin antibiyotik diskleri, *Bacillus subtilis* IM622'ye karşı maksimum antimikrobiyal aktivite göstermiş olup, 27 mm büyüklüğünde inhibisyon zonu oluşturmaktadır. Minimum antimikrobiyal aktiviteyi ise *Saccharomyces cerevisiae*'ye karşı, 21 mm inhibisyon zonu oluşturarak göstermektedir.

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin değişik kısımları (kök, yaprak, gövde, kabuk, çiçek ve meyveleri) genellikle fenolik bileşikler (flavonoidler, fenolik asitler, tanninler, lignanlar ve ligninler) bakımından zengindir. Bunlar antikanserojen, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite de dahil olmak üzere pek çok biyolojik etkiye sahiptirler.

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarla, insan vücudunu serbest oksijen radikallerine karşı korumada doğal ve fenolik bileşiklerce zengin bitkisel kaynaklardaki fitonutrientlerin yararlı olduğu; bu bitkisel kaynakların koruyucu etkilerinin, içerdikleri askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini), karotenoidler, flavonoidler ve fenolik asitler gibi doğal bileşiklerden geldiği belirlenmiştir (Halvorsen vd., 2002).

Birçok türü tıbbi öneme sahip olan *Compositae* familyası üzerinde yapılan çalışmalarda birçok sekonder metabolit elde edilmiş ve biyolojik aktivite yönünden çok sayıda çalışma yapılmıştır (Thomas, 1989; Kalodera vd., 1997; Rezende vd., 2000; Candan, 2003).

Tanacetum türlerinin Türkiye’de çok sayıda olması ve kayda değer oranda endemizm göstermesi nedeniyle, bu türlerden elde edilecek yeni biyoaktif bileşikler ülkemiz için önemli bir ekonomik kaynak oluşturacaktır (Kılıç, 2007).

Bitkilerde antioksidan aktiviteden sorumlu binlerce bileşik vardır. Bu bileşiklerin önemli bir kısmı fenolik karakterdedir. Bu nedenle fenolik bileşik içeriği kimi zaman antioksidan aktivitenin bir ölçüsü gibi düşünülebilir. Ancak bu konuda tespit edilmiş bir pozitif korelasyon yoktur ve bu ilişki bitkiden bitkiye hatta aynı bitkinin çeşitleri arasında farklılık göstermektedir. Toplam fenolik bileşik içeriği büyük oranda genetik faktörler ve çevre koşullarına bağlıdır (Heim vd., 2002).

Antioksidan aktivite belirleme çalışmalarında, en yüksek aktivitenin hangi bileşik türlerinden ileri geldiğini gözlemek ve tespit etmek amacıyla, artan polariteye göre çözücü sistemi kullanılması bu tür çalışmalarda çok yaygındır.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita* bitkisinin antioksidan özellikleriyle ilgili genel bir değerlendirme yapılırsa; ekstraler arasında en yüksek metal şelatlama aktivitesi, toprak üstü kısmın saf su ekstresinde (100 μ g/ml konsantrasyonda, % 55,91) görülmüştür. Bu oran BHT, α -tokoferol ve troloks’dan yüksek, BHA’ya ise yakın bir değerdir. İndirgeme kapasitesi en yüksek ekstre ise kök metanol ekstresi olarak bulunmuştur.

Diklorometan ekstresi dışındaki tüm ekstratlar, standart antioksidanlardan daha yüksek indirgeme kapasitesi göstermiştir. DPPH giderme aktivitesine bakılarak hesaplanan IC₅₀ değerleri bakımından en iyi sonuç, toprak üstü kısmın metanol ekstresi (0,056 mg/ml) ve gövde metanol ekstresinde (0,056 mg/ml) bulunmuş ve bu miktarların α - tokoferol'den daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip oldukları tespit edilmiştir. En yüksek H₂O₂ giderme aktivitesi, toprak üstü kısmın saf su ekstresinde (%73) bulunmuş ve genel olarak bu aktivite değerleri standart değerlere yakındır.

Tanacetum balsamita L. subsp. *balsamita* bitki ekstratlarından en yüksek β -karoten içeriği, toprak üstü kısmın diklorometan ekstresinde (10,96 mg/g ekstre) bulunmuştur. En yüksek likopen içeriği ise yaprak metanol ekstresinde 4,85 mg/g olarak belirlenmiştir. Toplam fenol içeriği en yüksek kök metanol ekstresinde (115 mg GAE/g ekstre) bulunmuştur. Toplam antioksidan kapasiteleri kıyaslandığında en yüksek miktar, toprak üstü kısmın aseton ekstresinde (212 mg α -TE/g ekstre) görülmüştür. Toplam fenolik asit içeriği en fazla olan ekstre, toprak üstü kısmın diklorometan ekstresi (0,89 mg KAE/g ekstre); toplam flavonoid içeriği miktarı en fazla olan ise yine toprak üstü kısmın diklorometan ekstresidir (60,48 mg KE/g ekstre).

Shan ve arkadaşları (2007), yapmış oldukları çalışmada toplam 46 tıbbi bitki ve baharat ekstratlarının antibakteriyal etkisini 5 gıda kaynaklı patojen bakteri (*Bacillus cereus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* ve *Salmonella anatum*) üzerinde denemişlerdir. Toplam fenolik madde içerikleri de hesaplanan ekstratlardan, antibakteriyal etkinliği yüksek olanların büyük çoğunluğunda fenolik madde düzeyi de yüksek bulunmuştur. Baharat ekstratlarına karşı gram pozitif bakterilerin gram negatif bakterilerden daha hassas olduğu, çalışılan bakterilerden en dirençlisinin *E. coli*, en hassasının ise *S. aureus* olduğu tespit edilmiştir.

Ali Shtayeh ve arkadaşları (1998), Filistin'de yetişen 20 bitkinin etanol ve su ekstratlarının 5 bakteri (*S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.vulgaris* ve *P.aeruginosa*) ve 1 fungus (*C.albicans*) üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, bitkilerin test mikroorganizmalara karşı %90'ının antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Valsaraj ve arkadaşları (1997), Hindistan'da geleneksel olarak kullanılan 78 bitki türünün etanol ekstratlarının antimikrobiyal aktivitelerini agar dilüsyon metodunu kullanarak incelemişler ve ekstratların *S.aureus*, *B.subtilis*, *E.coli* *P.aeruginosa*, *C.albicans*

ve *A.niger* mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Gören ve arkadaşları (1993), endemik bir tür olan *Tanacetum densum* ssp. *amani* türünün seskiterpen laktonlarını incelemişlerdir. Yeni bir ödesmanolid olan 1 β , 4 α , 6 α -trihydroxyeudesm-11-en-8 α ,12-olid bileşimini izole etmişler ve bu bileşiğin zayıf bir antimikrobiyal aktivite gösterdiğini saptamışlardır.

Gören ve arkadaşları (1996), *T. praeteritum* ssp. *praeteritum* türünden izole ettikleri 10 seskiterpen lakton ve bir seskiterpen bileşiğinin sitotoksik ve antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. İzole edilen tüm bileşiklerin sitotoksik aktivite gösterdiğini; bu bileşiklerden sadece armefolin, armeksifolin, ludovisin A ve tamirin bileşiklerinin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* bakteri kökenlerine karşı orta derecede antibakteriyel aktivite (600-1500 μ g/ml) gösterdiğini belirlediler.

Keleş ve arkadaşları (2001), *Tanacetum vulgare* türünün çiçek etanol ekstresinin *Staphylococcus aureus* (Zon çapı, 14 mm; MİK, 1000 μ g/ml) ve *Salmonella galinarum* (Zon çapı, 7 mm; MİK, 1000 μ g/ml)'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Kalodera ve arkadaşları (1996), *T. parthenium* L. türünün yaprak kısımlarının % 45 ve % 90 oranında hazırladıkları etanol ekstralarının antimikrobiyal aktivitesini inceleyerek % 45'lik etanol ekstresinin 7 mikroorganizmaya (*B. subtilis*, *B. pumilus*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. flava*, *C. albicans* ve *Trychophyton mentagrophytes*) karşı 9-28 mm aralığında inhibisyon zonu oluşturduğunu bulmuşlardır. % 90'lık etanol ekstresinin ise; 14 mikroorganizmaya (*B. subtilis*, *B. pumilus*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. flava*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. morgani*, *P. rettgeri* bakteri kökenleri ile *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* ve *Trychophyton mentagrophytes*) karşı 9-21 mm çapında inhibisyon zonu verdiğini saptamışlardır. % 90 oranındaki etanol çözücüsüyle hazırlanan ekstraların, çok sayıda mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Bağcı ve arkadaşları (2008), *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* ve *T. chiliophyllum* var. *Chiliophyllum* türlerinin kurutulmuş toprak üstü kısımlarının uçucu yağ analizi sonucunda *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın ana bileşenlerinin; K-trans-chrysanthenol (% 22,3), chrysanthenyl asetat (% 19,7), linalool oksit (% 11,5), kamfor (% 7,5), 1,8-sineol (% 2,7) olduğunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi de incelenmiş

ve sonuçlar Amikasin 30 ve Penisilin 10 antibiyotikleriyle kıyaslanmıştır. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın uçucu yağları; *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* NRRLB 4420, *Candida glabrata* ATCC 66032, *Candida tropicalis* ATCC 13803 mikroorganizmalarına karşı sırasıyla; 13mm, 17mm, 15 mm, 13 mm, 15 mm, 14 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu belirtildi. Ölçülen zon çaplarının, antibiyotik maddeler olan Amikasin 30 ve Penisilin 10'e yakın olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu araştırmamızda da *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitki ekstralarının büyük bir kısmının, kullanılan mikroorganizmalara karşı etkili olduğu görüldü. Bununla birlikte mikroorganizmalar arasında ekstrele karşı en hassas mikroorganizma türlerinin *Staphylococcus aureus* 6538P ve *Aspergillus niger* RSKK04017 olduğu görülmüştür.

Bacillus subtilis IM622'ye karşı yaprak metanol ekstresi ve toprak üstü kısmın etil asetat ekstresi, *Escherichia coli* ATCC25922'ye karşı yaprak metanol ekstresi ve toprak üstü kısmın aseton ve diklorometan ekstresi, *Klebsiella pneumoniae* EMCS'ye karşı yaprak metanol ekstresi ve toprak üstü kısmın etil asetat ve diklorometan ekstresi, *Staphylococcus aureus* 6538P'ye karşı yaprak metanol ekstresi, *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071'e karşı yaprak metanol ekstresi, *Streptococcus spp*'ye karşı toprak üstü kısmın diklorometan ekstresi, *Salmonella typhimurium* NRRLE4413'e karşı yaprak metanol ekstresi ve toprak üstü kısmın diklorometan ekstresi, *Candida spp*'ye karşı çiçek metanol ekstresi, *Saccharomyces cerevisiae*'ya karşı toprak üstü kısmın aseton ekstresi ve *Aspergillus niger* RSKK04017'ye karşı ise yaprak metanol ekstresi en yüksek antimikrobiyal aktiviteleri göstermişlerdir.

Çalışmalarımızda *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitki ekstralarının gram pozitif bakteriler üzerindeki etkisinin, gram negatif bakterilerden daha fazla olduğu görülmüştür. Daha önce yapılmış araştırma sonuçlarına göre gram pozitif bakterilerin duyarlılığının daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Rabanal vd., 2002; Dimayuga ve Garcia 1991). Bunun nedeni gram pozitiflerde hücre duvarı tek bir tabakadan ibaret iken gram negatiflerde hücre duvarı en dışta lipopolisakkarit bir tabakanın olduğu çok tabakalı bir yapıya sahip olmasıdır. Dolayısıyla gram negatiflerde hücre duvarı gram pozitiflere göre daha az geçirgen bir yapı oluşturmaktadır. Buda gram pozitif bakterilerin antimikrobik maddelere karşı daha duyarlı, gram negatif bakterilerin ise daha dirençli olmalarını sağlamaktadır (Quattara vd., 1997; Ali-Shtayeh vd., 1998).

Sonuç olarak, bu çalışmada kullandığımız *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisinin toprak üstü kısmının aseton, etil asetat, diklorometan, metanol ve saf su ekstralarının; yaprak, kök, gövde ve çiçek kısımlarının ise metanol ekstralarının, genel anlamda etkili DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, toplam indirgeme gücü, metal şelatlama kapasitesi ve hidrojen peroksit giderme aktivitesi sergilediği gözlemlendi. Fenol içeriği, toplam antioksidan aktivitesi, toplam β -karoten ve likopen içeriği, flavanoid içeriği ve fenolik asit içeriği bakımından da bitki ekstralarının etkin bir aktiviteye sahip olduğu belirlendi. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitki ekstralarının sergilediği aktivitelerin artan konsantrasyona bağlı olarak arttığı görüldü. Kullanılan bütün yöntemlerde *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisinin bazı ekstralarının standart antioksidan maddeler olarak bilinen BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks'a yakın değerlerde oksidanlara karşı etkili olduğu bulundu. Bitki ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri ise iyi bir antibiyotik olan Streptomisin'e göre daha düşük çıkmasına rağmen, diğer çalışmalarla kıyaslandığında, sonuçların yeterli derecede iyi olduğu gözlemlendi. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın antioksidan ve antimikrobiyal açıdan etkin bir aktiviteye sahip olması, sağlığa faydalı muhtemel başka etkilerinin de olabileceğini düşündürmektedir. Yaptığımız bu çalışmalar, ileride yapılacak çalışmalarla desteklenirse, bu bitki yeni sentezlenecek kemoterapötikler için kaynak olabilir ve bitki ekstralarından ilaç geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Yurtdışından milyarlarca dolar harcayarak ilaç aldığımız bu dönemde bu bitkinin çok yönlü olarak araştırılması, ülkemize hem maddi hem de sağlık açısından yarar sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- Akouwah, G.A., Zhari, I., Norhayati, I., Sadikun, A.,** 2004. Radical scavenging activity of methanol leaf extracts of *Orthosiphon stamineus*. Pharm. Biol., **42**, 629–635
- Ali-Shtayah, M.S., Yaghmour, R.M.-R., Faidi, Y.R., Salem, K., Al-Nuri, M.A.,** 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. Journal of Ethnopharmacology, **60 (3)**, 265-271
- Asımgil, A.,** 1993. Şifalı Bitkiler, Timaş Yayınları, **218-219**, İstanbul
- Ayberkin, E. ve Çiftçi, E.,** 2009. Çocuklarda Aspergillus Enfeksiyonları. Çocuk Enf. Derg. **3**, 118-25
- Ayhan, K.,** 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara, 522 s
- Bağcı, E., Kürşat, M., Koçak, A., Gür, S.,** 2008. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* and *T. chiliophyllum* (Fisch. et Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* (Asteraceae) from Turkey. Jeobp, **11 (5)**, 476 - 484
- 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
- Basu, H.N., Del Vecchio, A.J., Flider, F. ve Orthoefer, F.T.,** 2001. Nutritional and potential disease prevention properties of carotenoids. Journal of the American Oil Chemistry Society, **78**, 665–675
- Başer, K. H. C.,** 1990. Tıbbi Bitki ve Baharatların Dünyada ve Türkiye’deki Ticareti ve talep durumu, Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Dergisi, **53**, 18-21
- Başer, K.H.C.,** 2002. Fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler. **14.** Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir
- Baçoğlu, F.,** 2006. Yemeklik yağ teknolojileri. Nobel Yayın Dağıtım, 1. Baskı, ISBN: 975-591-942-2, pp. 343, Ankara
- Bayramoğlu, M.M. ve Toksoy., D.,** 2008. Aktarlar ve Tıbbi Bitki Ticareti Üzerine Bir Araştırma (Doğu Karadeniz Bölgesi Örneği) TMMOB Orman Mühendisleri Odası Dergisi. Yıl: 45 Sayı: **4-5-6**
- Baytop, T.,** 1999. Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi Geçmişte ve Bugün, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul
- Berghe, VA., Vlietinck, AJ.,** 1991. Screening methods for antibacterial and antiviralagents from higher plants. Meth Plant Biochem., **6**, 47–68
- Bilgehan, H.,** 2000. Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları), **10.** Baskı . Barış Yay. Fakülteler Kitabevi, İstanbul
- Blois, M.S.,** 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature, **181**, 1199-1200
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E.,** 2001. Production of Plant Secondary Metabolites; a Historical Perspective, Plant Sci., **161**, 839-851
- Bravo, L.,** 1998. Polyphenol Chemistry, Dietary Sources, Metabolism And Nutritional Significance, Nutrition Review, **56 (11)** 317-333
- British Herbal Medicine Association,** 1996. “ British Herbal Pharmacopoeia” , **4th** edition, 81-82

- Britton, G.**, 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function, **9**, 1551-1558
- Candan, F.**, 2003. Antioxidant and Antimicrobial Activity of The Essential Oil and Methanol Extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium afan* (Asteraceae), J. Of Ethnopharm., **87**, 215-220
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.C.**, 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 10, No. **3**, 178-182
- Charwood, B.V., Rhodes, M.J.C.**, 1990. Secondary Products from Plant Tissue Culture, ISBN: 0-19-857717-6. Clarendon Press., Oxford.
- Chen, L.H., Boissonneault, G.A. ve Glauert, H. P.**, 1988. Vitamin C, Vitamin E and Cancer (Review), Anticancer Research, **8**, 739-748
- Çakmakçı, S. ve Çelik, I.**, 2000. Gıda Katkı Maddeleri. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Notu, 249 s., Erzurum
- Çoban, T., Çitoglu, G.S., Sever, B., Iscan, M.**, 2003. Antioxidant Activities of Plants Used in Traditional Medicine in Turkey. Pharmaceutical Biology., **41 (8)**, 608-613
- Çöllü, Z.**, 2007, *Urtica Pilulifera* L. Bitkisinin Antioksidant Aktivitesinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, .O.M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun
- Davis, P.H.**, 1975. Flora of Turkey and The East Aegean Island, Vol. 5, Edinburgh University Pres.
- Diken, M.E.**, 2009. Bazı Şifalı Bitkilerin Antioksidan İçerikleri, Yüksek Lisans Tezi, B.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir
- Dimayuga R. E., Garcia S.K.**, 1991. Antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California Sur, Mexico. Journal of Ethnopharmacology, **31(2)**, 181-192
- Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C., & Almeida, L. M.**, 1994. Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and peroxy radicals scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics, **315**, 161–169
- Eloff, JN.**, 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. Planta Med., **64**,711–713
- Frei, B., Stocker, R., England, L., Ames, B.N.**, 1990. Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma. *Av Exp Med Biol.*, **264**,155-163.
- Gök, V. ve Serteser, A.**, 2003. Doğal antioksidanların biyoyararlılığı. **3**. Gıda Mühendisliği Kongresi, 2-4 Ekim, 2003, Ankara
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T. ve Durmaz, Y.**, 2006. Algal antioksidanlar. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, **23**: 85-89
- Gören, N., Ulubelen, A., Bozok- Johansson, C., Tahtasakal, E.**, 1993. Sesquiterpene Lactones From *Tanacetum densum* subsp. *amani*, Phytochemistry, **33 (5)**, 1157-1159
- Gören, N., Woerdenbag, H.J., Bozok-Johansson, C.**, 1996. Cytotoxic and Antibacterial Activities of Sesquiterpene Lactone Isolated From *Tanacetum praeteritum* subsp. *praeteritum*, Planta Med., **62 (5)**, 419-422
- Görünmezoğlu, Ö.**, 2008. Kayısı ve İncir Meyvelerinin Antioksidan Kapasitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, A.M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın
- Grierson, A.J.C.**, 1975. In Flora of Turkey and the East Aegan Islands; P.H. Davis, Ed., Edinburgh University Press, Edinburgh, Vol. **5**, 256-292

- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A. and Elias, R., 2004.** Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: a-Hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside F. *Planta Medica*, **70**, 561-563
- Güven, A., Yürekli, A. K., 1991.** Fırat Havzasında Yayılış Gösteren *Tanacetum* Türlerinin Ekonomik Potansiyeli, 6-8 Ekim 1986 Fırat Havzası Tıbbi Endüstriyel Bitkileri Sempozyumu, Editörler: Baltepe., Babaç M. T., Evren H. **251-259**, Elazığ
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1990.** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *In: Methods in Enzymology*, **186**, 1-85.
- Halliwell, B. 2001.** Food-derived antioxidants: How to evaluate their importance in food and *in vivo*. *Handbook of Antioxidants*, 690 p., Los Angeles
- Halvorsen, BL., Holte K., Myhrstad, MCW., Barigmo, I., Hvattum, E., Remberg, SF., 2002.** A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of Nutrition*, **132(3)**, 461-471
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. ve Bobilya, D.J., 2002.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**, 572-584.
- Hollman, PCH., Katan, MB., 1999.** Dietary Flavonoids: Intake, Health Effects and Bioavailability. *Food Chem Toxicology*, **37**, 937-942
- İbadova, S., 2006.** Bazı hypericum türlerinin fenolik bileşimi ile antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkileri, Yüksek Lisans Tezi, A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir
- İşbilir, Ş.S., 2008.** Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne
- Kalodera, Z., Papeljnjak, S., Petrak, T., 1996.** The Antimicrobial Activity of *Tanacetum parthenium* Extract. *Pharmazie*, **52(11)**, 885-886
- Kalodera, Z., Papeljnjak, S., Blazevic, N., Petrak, T., 1997.** Chemical composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* oil”, *Pharmazie* **52,11**, 885-886
- Kar, Y., 2008.** Çörekotu (*Nigella sativa* L.) Tohumunun Doğal Antioksidan ve Alternatif Enerji Kaynağı Olarak İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya
- Karakaya, S. ve El, S.N., 1997.** Flavonoidler ve sağlık. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, **26(2)**, 54-60
- Karaman, I., Şahin, F., Güllüce, M., Öğütçü, H., Şengül, M., Adigüzel, A., 2003.** Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L., *Journal of Ethnopharmacology*, **85 (2-3)**, 231-235
- 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
- Keleş, O., Ak, S., Bakirel, Y., Alpınar, K., 2001.** Türkiye’de Yetişen Bazı Bitkilerin Antibakteriyel Etkisinin İncelenmesi. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, **25**, 559-565
- Keskin, H. ve Erkmn G., 1987.** Besin Kimyası. Güryay Matbaacılık İstanbul, Beşinci basım: **25-35**
- Kılıç, E., 2007.** *Tanacetum zahlbruckneri* (Nâb.) Grierson Bitkisi Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Y.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul
- Kıralan, M., Ercoşkun, H., Işıksal, S., 2004.** Gıda antioksidanları ve etki mekanizmaları. *Akademik Gıda* **2(7)**, 5-14

- Koca, N.**, 2006. Havuçlarda (*Daucus carota* L.) Karotenoidler ve Antioksidan Aktivite, Doktora Tezi, A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Koçak, A.**, 2008. Elazığ ve Çevresinde Yetişen *Tanacetum* L. (Asteraceae) Taksonlarının Taksonomik Yönden Araştırılması, Doktora Tezi, F.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ
- Koncic, M. Z., Kremer, D., Gruz, J., Strnad, M., Bisevac, G., Kosalec, I., Samec, D., Piljac-Zegarac, J., Karlovic, K.**, 2010. Antioxidant and antimicrobial properties of *Moltkia petraea* (Tratt.) Griseb. flower, leaf and stem infusions. *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 1537–1542
- Köksal, E.**, 2007. Karnabahar (*Brassica oleracea* L.) Peroksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu, Antioksidan ve Antiradikal Aktivitesinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum
- Levey, M.**, Early Arabic Pharmacology **173**, Leiden, 1973
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. ve Salunkhe, D.K.**, 1996. Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives. Markel Dekker, Newyork, s **41-50**
- Malyer, H.**, 1996. A New Record for the Flora of Turkey, *Turkish Journal of Botany*, Vol. **20**, 473-475
- Martin, K.R. ve Barret, J.C.**, 2002. Reactive oksijen species as double-edged swords in cellular processes: low-dose cell signaling versus high-dose toxicity. *Hum. Exp. Toxicol.*, **21**, 71-75
- Martin, K. W. ve Ernst, E.**, 2003. Herbal medicines for treatment of bacterial infections: a review of controlled clinical trials. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **51**, 241-246
- Mathew, S. ve Abraham, T.E.**, 2006. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry*, **94**, 520-528
- Mattila, P. ve Hellström, J.**, 2007. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*, **20**, 152-160
- Miglietta, A., Bozzo, F., Gabriel, L., Boca, C.**, 2004. Microtubule-Interfering Activity of Parthenolide, *Chemico-Biol Inter.*, **149**, 165-173
- Miller, N.J., Sampson, J., Candeias, L.P., Bramley, P.M. ve Rice-Evans, C.A.**, 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*, **384**, 240-242
- Moco, S., Capanoglu, E., Tuginov, Y., Bino, R., Boyacioglu, D., Hall, R.D., Vervoort, J., De Vos, R.**, 2007. Tissue specialization at the metabolite level is perceived during the development of tomato fruit. *J Exp Bot*, **58 (15-16)**, 4131- 4146
- Mozaffarieh, M., Sacu, S. ve Wedrich, A.**, 2003. The role of the carotenoids, lutein, zeaxanthin, in protecting against age-related macular degeneration: a review based on controversial evidence. *Nutrition Journal*, **11**, 20–28
- Mukerji, A.K.**, 1997. Importance of Non-Wood Products (NWFP) and Strategies for Sustainable Development, Proceedings of the XI. World Forestry Congress, **3**, Antalya
- Munoz, P., Bouza, E., Cuenca-Estrella, M., Eiros, J.M., Perez, M.J., Sanchez-Somolinos, M., Rincon, C., Hortal, J., Pelaez, T.**, 2005. *Saccharomyces cerevisiae* Fungemia: An Emerging Infectious Disease. *Clin. Infect. Dis.* **40**, 1625–1634
- Naczki, M. ve Shahidi, F. C.**, 2004. Extraction and analysis of phenolics in food, Review, *Journal of Chromatography A*, **1054**, 95-111

- Newall, C. A., Anderson, L.A., Phillipson, J. D.**, 1996. Herbal Medicine “A Guide for health care professionals”, London Pharmaceutical Pres., **119-120**, 254-255
- Olson, J.A.**, 1994. Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans. *Pure and Applied Chemistry*, **66**, 1011–1016
- Onat, T., Emerk, K., Sözmen E.Y.**, 2002. İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara
- Oyaizu, M.**, 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, *Japan Journal of Nutrition*, **44**, 307-315
- Palevitch, D., Earon, G. ve Carasso, R.**, 1997. Feverfew (*Tanacetum parthenium*) as a Prophylactic Treatment for Migrane: A Double-Blind Placebo-Controlled Study, *Phytotherapy Res.*, **11**, 508-511
- Perez, C., Paul, M., Bezique, P.**, 1990. An Antibiotic assay by the agar well diffusion method. *Alta Biomed. Group Experiences*. **15**, 113
- Pfander, H.**, 1992. Carotenoids: An overview. Ed.Packer, L., In: *Methods in Enzymology*. Vol.213, Carotenoids: Part A. Chemistry, separation, quantitation and antioxidation, **3-13**
- Pietta, P. ve Gardana, C.**, 2003. Flavonoids in herbs, in *Flavonoids in Health and Disease* 2nd Ed. Revised and Expanded, **49-69**
- Prieto, P.M., Pineda and M. Aguilar.**, 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, **269**, 337-341
- Prior, R. L. ve Cao, G. H.**, 2000. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: A review. *Journal of AOAC International*, **83 (4)**, 950-956
- Quattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.-P., Begin, A.**, 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, **37 (2-3)**, 155-162
- Rabanal, R.M., Arias, A., Prado, B., Hernandez-Perez, M., Sanchez-Mateo, C.C.**, 2002. Antimicrobial studies on three species of *Hypericum* from the Canary Islands. *Journal of Ethnopharmacology*, **81 (2)**, 287-292
- Revan, S.**, 2007. Farklı Dayanıklılık Antrenmanlarının Oksidatif Stres Oluşumu ve Antioksidan Düzeyleri Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, G.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Rezende, M., Urzua, A., Bortoluzzi, A. J., Vasquez, L.**, 2000. Variation of The Antimicrobial Activity of *Pseudognaphalium vira vira* (Asteraceae): Isolation and X-ray Structure of ent-3 β -Hydroxy-16-Oic Acid, *J. of Ethnopharm.*, **72**, 459-464
- Ross, J. J., Arnason, T. ve Birnboim, H. C.**, 1999. Low Concentrations of the Feverfew Component Parthenolide Inhibits in Vitro Growth of Tumor Lines in a Cytostatic Fashion, *Planta Med.*, **65**, 126-129
- Ruch R.J., Cheng S.J., Klaunig J.E.**, 1989. “Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea.” *Carcinogenesis*, **10(6)**, 1003-1008
- Saber, A.H.**, 1982. Chronological Notes On Medicinal Plants, *Hamdard* **25(1-4)**, 57
- Serteser, A. ve Gök, V.**, 2003. Doğal Antioksidanların Biyoyararlılığı. **3.** Gıda Mühendisliği Kongresi, 2-4 Ekim 2003, Ankara
- Shan, B., Cai, Y., Brooks, J.D. ve Corke, H.**, 2007. The In Vitro Antibacterial Activity of Dietary Spice and Medicinal Herb Extracts. *International Journal of Food Microbiology*. **117**, 112-119

- Singleton, V.L. and Rossi, J.A.**, 1965. Colorimetry of total phenolics with phomolybdisphosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**, 144-158
- Sommerburg, O., Keunen, J.E.E., Bird, A.C. ve van Kuijk, F.J.G.M.**, 1998. Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human eyes. *British Journal of Ophthalmology*, **82**, 907-910
- Southorn, P.A.**, 1988. Free radicals in medicine. 1.Chemical nature and biological reactions. Mayo Cl in. Proc., **63**, 381-389
- Tatçı, Ç.**, 1999. Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, P.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli
- Thomas, O.O.**, 1989. Phytochemistry of the Leaf and Flower Oils of *Tanacetum cilicium* , Fitoterapia, Vol.LX, No.2, 131-134
- Tournier, H., Schinella, G., Balsa, E., Buschiazzo, H., Manez, S. ve Buschiazzo, P. M.**, 1999. Effect of the Chloroform Extracts of *Tanacetum vulgare* and One of Its Active Principles, Parthenolide, on Experimental Gastric Ulcer in Rats, J.Pharm., **51**, 215-219
- Turhan, S. ve Üstün, N.Ş.**, 2006. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu
- Tüzün, Y. ve Garip, F.**, 2005. E vitaminin dermatolojideki yeri. *Dermatose*, **4**, 96-98
- Ünal, L.E.**, 2006. Türkiye Florasında Doğal Olarak Yetişen Bazı Bitki Türlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum
- Valsaraj, R., Pushpangadan, P., Smitt, U.W., Adersen, A., Nyman, U.**, 1997. Antimicrobial screening of selected medicinal plants from India. *Journal of Ethnopharmacology*, **58 (2)**, 75-83
- Verpoorte, R., Van Der Heijden, R., Ten Hoopen, H.J.G., Memelink, J.**, 1999. Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolite Pathways for the Fine Chemical, *Biotec. Lett.*, **21**, 467-479
- Wei, Y.H. ve Pang, C.Y.**, 2005. The Role of Mitochondria in human aging process. *Biotech International*, **17**, 8-13
- Yalçın, E. ve Kiper, N.**, 2003. Allerjik bronkopulmoner aspergillozis. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2003; **46**: 242-248
- Yang, R., Tsao, R.**, 2003. Optimization of a new mobile to know the complex and real polyphenolic composition: Towards a tool phenolic index using high performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, **1018**, 29-40
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. ve Qian, M.**, 2002. Free Radical Scavenging Properties of Wheat Extracts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **50** 1619-1624

ÖZGEÇMİŞ

Mehmet Kadir ERDOĞAN 1985 yılında doğdu. 2004 yılında Erzurum Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandı ve 2008 yılında bu bölümden mezun oldu. 2010 yılında Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans programına başladı. Bingöl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır. Yabancı dili İngilizce'dir.