



GİRESUN
ÜNİVERSİTESİ



FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GİRESUN DAĞLARI ALPİN BÖLGESİNDE YAYILIŞ
GÖSTEREN BAZI ENDEMİK TÜRLERİN
ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Erhan Seyhan GEZEN
Öğrenci no: 20152106002

Temmuz 2018

GİRESUN

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

**GİRESUN DAĞLARI ALPİN BÖLGESİNDE
YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI ENDEMİK TÜRLERİN
ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Erhan Seyhan GEZEN

**Enstitü Anabilim Dalı : Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya
Anabilim Dalı**
Tez Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi Emriye AY

Temmuz 2018

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


GİRESUN DAĞLARI ALPİN BÖLGESİNDE
YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI ENDEMİK TÜRLERİN
ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Erhan Seyhan GEZEN

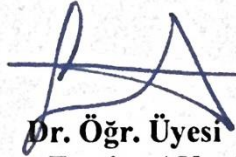
Enstitü Anabilim Dalı : Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya
Anabilim Dalı

Bu tez 12/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.



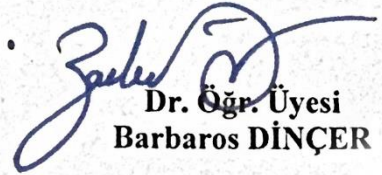
Prof. Dr.
Birsen Şengül OKSAL

Jüri Başkanı



Dr. Öğr. Üyesi
Emriye AY

Üye



Dr. Öğr. Üyesi
Barbaros DİNÇER

Üye

Doç. Dr. Bahadır KOZ
Enstitü Müdürü

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Erhan Seyhan GEZEN

12/07/2018

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca değerli bilgilerinden yararlandığım, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, tez çalışmamın her aşamasında ayırdığı zaman, sabır ve emeğinden dolayı değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Emriye AY'a sonsuz teşekkür ederim.

Tezin oluşum sürecinde beni yönlendiren, olaylara farklı bakış açılarından bakma alışkanlığı kazandıran, değerli bilgilerinden yararlandığım ve örnek aldığım değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Rena HÜSEYİNOĞLU'na katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Yüksek lisansa başladığım andan itibaren her daim varlığını hissettiğim, bilgi ve fikirlerini daima kılavuz olarak kullandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Birsen Şengül OKSAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan, desteğini benden hiç esirgemeyen ve bu yolda yürümemde bana özgüven veren aileme en içten teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ	VIII
ÖZET	X
SUMMARY	XI

BÖLÜM 1. GİRİŞ.....	1
1.1. Botanik Bilgiler	3
1.1.1. <i>Heracleum</i> Cinsi	3
1.1.1.1. <i>Heracleum platytaenium</i> Boiss.	3
1.1.2. <i>Digitalis</i> Cinsi	4
1.1.2.1. <i>Digitalis lamarckii</i> Ivanina.....	5
1.1.3. <i>Geranium</i> Cinsi	5
1.1.3.1. <i>Geranium ibericum jubatum</i>	5
1.2. Serbest Radikaller	6
1.2.1. Endojen Kaynaklar.....	8
1.2.2. Eksojen Kaynaklar	8
1.3. Antioksidanlar	9
1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	11
1.3.1.1. Sentetik Antioksidanlar	12
1.3.1.2. Doğal Antioksidanlar	13
1.3.1.3. Fenolik Bileşikler.....	15
1.4. Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri	16
1.4.1. Hidrojen Transferine Dayanan Reaksiyonları Temel Alan Analizler.....	17

1.4.1.1. Oksijen Radikal Absorbsiyon Kapasitesi Yöntemi (ORAC)	17
1.4.1.2. Toplam Radikal Tuzaklayıcı Antioksidan Parametre Yöntemi (TRAP)	18
1.4.2. Elektron Aktarımına Dayalı Toplam Antioksidan Kapasite Tayini Yöntemleri	18
1.4.2.1. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi (FRAP).....	19
1.4.2.2. Cu (II)'nin Oksidan Olarak Kullanıldığı Toplam Antioksidan Potansiyel Yöntemi (CUPRAC)	19
1.4.2.3. ABTS Yöntemi	19
1.4.2.4. DPPH Yöntemi.....	21
1.4.2.5. Folin Ciocalteu Yöntemi	22
BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	24
BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM	27
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	27
3.3. Çözeltilerin Hazırlanması.....	28
3.4. Bitkilerin Toplanması ve Kurutulması	28
3.5. Bitkilerin Ekstraktlarının Hazırlanması	29
3.6. Toplam Kuru Madde Tayini	30
3.7. Toplam Fenolik Bileşik Tayini	30
3.8. DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi.....	31
3.9. ABTS Serbest Radikali Giderme Aktivitesi	32
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	33
4.1. Toplam Kuru Madde Tayini Bulguları	33
4.2. Toplam Fenolik Bileşik Tayini Bulguları	34
4.3. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları.....	36
4.4. ABTS Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları	36
BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	48

KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	63



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

α -Toc	: α -Tokoferol
ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
ATP	: Adenozin 5'-trifosfat
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
cm	: Santimetre
DAD	: Diode array dedektör
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil
GA	: Gallik Asit
GC	: Gaz Kromatografisi
g	: Gram
GAE	: Gallik Asit Eşitliği
HPLC	: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
M	: Molar
m	: Metre
mbar	: Milibar
MeOH	: Metanol
mg	: Miligram
MS	: Kütle Spektrometresi
μ L	: Mikrolitre
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
OH	: Hidroksil
Troloks	: 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
UV	: Ultraviyole
Vis	: Visible (Görünür Bölge)

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. <i>Heracleum Platyaenium</i> Boiss.....	4
Şekil 1.2. <i>Digitalis lamarckii</i> Ivan.	5
Şekil 1.3. <i>Geranium ibericum jubatum</i>	6
Şekil 1.4 Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu	9
Şekil 1.5. Antioksidanların sınıflandırılması	11
Şekil 1.6. Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT).....	12
Şekil 1.7. Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA)	13
Şekil 1.8. (±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox)..	13
Şekil 1.9. Askorbik Asit (C vitamini)	14
Şekil 1.10. α-tokoferol (E vitamini).....	15
Şekil 1.11 Fenolik Bileşiklerin Temel Yapısını Oluşturan Fenol.....	15
Şekil 1.12. Potasyum persülfat varlığında ABTS ⁺ radikalinin oluşumu.....	20
Şekil 1.13. DPPH [•] serbest radikalinin, antioksidan varlığında DPPH' ye indirgenmesi.....	22
Şekil 2.1. Bitkileri gölgede kurutma aşaması.....	29
Şekil 2.2. Soxhlet düzeneği.....	30
Şekil 2.3. Toplam fenolik bileşik analizinde, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin renk değişimi.....	31
Şekil 2.4. DPPH serbest radikali giderme aktivitesi analizi sırasında çözeltilerin oluşturduğu renk değişimi.....	32
Şekil 2.5. DPPH serbest radikali giderme aktivitesi analizinde, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin renk değişimi	32
Şekil 4.1. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini için gallik asit ile hazırlanan standart grafik.....	34
Şekil 4.2. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Heracleum platyaenium</i> Boiss. ekstrelerine ait DPPH serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.	38

Şekil 4.3. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. ekstrelerine ait ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.	39
Şekil 4.4. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. ekstrelerine ait DPPH serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.	40
Şekil 4.5. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. ekstrelerine ait ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.	40
Şekil 4.6. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Digitalis lamarckii</i> ekstrelerine ait DPPH serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik. .	42
Şekil 4.7. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Digitalis lamarckii</i> ekstrelerine ait ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik. .	42
Şekil 4.8. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Digitalis lamarckii</i> ekstrelerine ait DPPH serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.	44
Şekil 4.9. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Digitalis lamarckii</i> ekstrelerine ait ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.	44
Şekil 4.10. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Geranium ibericum</i> ekstrelerine ait DPPH serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.	45
Şekil 4.11. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Geranium ibericum</i> ekstrelerine ait ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.	46
Şekil 4.12. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Geranium ibericum</i> ekstrelerine ait DPPH serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.	47
Şekil 4.13. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Geranium ibericum</i> ekstrelerine ait ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.	47

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1.1. Fenolik Asitlerin Genel Yapısı	16
Tablo 3.1. Toplanan bitkilerin koordinatları ve rakımları.....	29
Tablo 4.1. <i>Heracleum platytaenium</i> Bölümlerinin Toplam Kuru Madde Miktarları	33
Tablo 4.2 <i>Digitalis lamarckii</i> Bölümlerinin Toplam Kuru Madde Miktarları.....	33
Tablo 4.3. <i>Geranium ibericum</i> Bölümlerinin Toplam Kuru Madde Miktarları.....	33
Tablo 4.4. Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanan <i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri.....	34
Tablo 4.5. Maserasyon ekstraksiyonu ile hazırlanan <i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri.....	35
Tablo 4.6. Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanan <i>Digitalis lamarckii</i> bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri	35
Tablo 4.7. Maserasyon ekstraksiyonu ile hazırlanan <i>Digitalis lamarckii</i> bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri.....	35
Tablo 4.8. Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanan <i>Geranium ibericum</i> bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri	35
Tablo 4.9. Maserasyon ekstraksiyonu ile hazırlanan <i>Geranium ibericum</i> bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri.....	35
Tablo 4.10. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerleri.....	37
Tablo 4.11. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerleri.....	39
Tablo 4.12. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Digitalis lamarckii</i> ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerleri. 41	

Tablo 4.13. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Digitalis lamarckii</i> ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerleri.....	43
Tablo 4.14. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Geranium ibericum</i> ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerleri. 45	
Tablo 4.15. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen <i>Geranium ibericum</i> ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC ₅₀ (µg/mL) değerleri.....	46



GİRESUN DAĞLARI ALPİN BÖLGESİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI ENDEMİK TÜRLERİN ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada, Giresun ili Eğribel geçiti yakınlarında (Alpin Bölgesi) doğal olarak yetişen *Apiaceae* familyasına ait *Heracleum platytaenium* Boiss., *Scrophulariaceae* familyasına ait *Digitalis lamarckii* Ivanina ve *Geraniaceae* familyasına ait *Geranium ibericum* Cav. subsp. *jubatum* (Hand.-Mazz.) P.H.Davis türlerinin MeOH ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) ve 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) serbest radikali giderme analizleri ile toplam fenolik bileşik miktarları ise Folin-Ciocalteu ayracı (FCR) kullanılarak UV-Vis Spektrofotometre ile değerlendirilmiştir. Analizlerde soxhlet ve maserasyon olmak üzere iki ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Bitkiler kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyve bölümlerine ayrılarak gölgede kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Analiz sonucunda *Heracleum platytaenium* Boiss. bitkisinin tüm bölümlerinde, 3 bitki arasında en düşük % inhibisyon değerleri ölçülmüştür. *Geranium ibericum jubatum* bitkisi, kullanılan standart maddeler göz önünde bulundurulduğunda oldukça yüksek % inhibisyon değerleri sergilemiştir. Tez çalışmasında analiz edilen bitkiler dikkate alındığında, *Heracleum platytaenium* Boiss. bitkisinin “çiçek” bölümü en yüksek değerlere sahip iken, *Digitalis lamarckii* Ivan. ve *Geranium ibericum jubatum* bitkilerinde “kök” bölümleri diğer bölümlere göre daha yüksek değerler sergilemiştir. DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitesi analizleri sonucunda elde edilen farklı konsantrasyonlardaki % inhibisyon değerleri, SC₅₀ değerlerine dönüştürülmüştür. Soxhlet ve maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktların analiz sonuçlarının arasında önemli farklılıklar olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: ABTS, Antioksidan Aktivite, *Digitalis lamarckii* Ivanina, DPPH, *Geranium ibericum jubatum*, *Heracleum platytaenium* Boiss., SC₅₀, Toplam Fenolik Bileşik.

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT CAPACITIES OF SOME ENDEMIC SPECIES WHICH SPREAD IN ALPINE REGION OF GIRESUN MOUNTAINS

SUMMARY

In this study, the antioxidant activities of MeOH extracts of *Heracleum platytaenium* Boiss. of the *Apiaceae* family, *Digitalis lamarckii* Ivanina of *Scrophulariaceae* family, and *Geranium ibericum* Cav. subsp. *jubatum* (Hand.-Mazz.) P.H.Davis of *Geraniaceae* family species naturally grown in the vicinity of Giresun-Eğribel passages were evaluated by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), free radical scavenging analyzes and the total phenolic compound quantities by Folin-Ciocalteu reagent (FCR) by UV-Vis spectrophotometer. Soxhlet and maceration methods were used as extraction methods in the analyzes. The plants were separated from root, stem, leaf, flower and fruit parts and subjected to drying process. As a result of the analysis in all parts of the *Heracleum platytaenium* Boiss. plant, the lowest % inhibition values between 3 plants were measured. *Geranium ibericum jubatum* plant exhibited very high % inhibition values when the standard materials used were taken into consideration. When the plants analyzed in the thesis study are taken into account, *Heracleum platytaenium* Boiss. while the "flower" part of the plant were the highest values, *Digitalis lamarckii* Ivan. and "root" parts of *Geranium ibericum jubatum* plants were showed higher values than the other parts. The % inhibition values at different concentrations obtained as a result of DPPH and ABTS free radical scavenging activity analyzes were converted to SC₅₀ values. It has been found that there are no significant differences between the results of analysis of extracts obtained with soxhlet and maceration extractions.

Keywords: ABTS, Antioxidant Activity, *Digitalis lamarckii* Ivanina, DPPH, *Geranium ibericum jubatum*, *Heracleum platytaenium* Boiss., SC₅₀, Total Phenolic Compound.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Doğadaki tüm hayvanlar, bitkiler ve insanlar bir dengenin ürünüdürler. Mitolojide bitkiler tanrıların insana verdiği en değerli armağan olarak ele alınmıştır. Tüm bitkiler insanın hizmetindedir ve insanın varoluşundan itibaren bitkilerle olan ilişkisi başlamıştır. İlk çağlardan kalan arkeolojik bulgulara göre insanlar, besin elde etmek ve sağlık sorunlarını gidermek için öncelikle bitkilerden faydalanmışlardır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Tıbbi amaçlarla bitkilerin kullanılmasının kanıtı, batı ve doğu kültürlerinde 60 000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır (Gossell ve ark., 2006).

Bitkilerin beslenme amaçlı tüketimi yanında ilaç olarak kullanımı insanlık tarihi kadar eskidir. Bununla birlikte günümüzde de hala ilaç hammaddesi olarak pek çok bitki kullanılmaktadır. İnsan sağlığı için oldukça önemli olan bitkilerin bu faydalarının incelenmesi ve araştırılması bazen de optimum koşullarda yetiştirilmesi kimya, biyoloji, eczacılık ve ziraat bilimlerinin ortak alanıdır (Sarı ve ark., 2010).

İncelemenin yapıldığı bölge olan Doğu Karadeniz Bölgesi endemik türler açısından ülkemizde önemli bir yer tutmaktadır. Bu bitkilerden tam olarak faydalanmak için onları tanımak, kullanım alanlarını tespit etmek gerekmektedir. Bu tez çalışmasının temel amacı bölgedeki endemik bitki türlerinin kimyasal analizlerinin yapılmasıdır. Bitki ekstraktlarının (özütlerinin) içerdikleri toplam fenolik madde miktarı antioksidan özelliğinin ana kaynağıdır. Antioksidan özelliklerinin yüksek oluşu bitkilerin ve/veya meyvelerin tüketiminde tercih edilebilir bir unsurdur (Nizamlioğlu ve Nas, 2010).

Bütün bitkiler metabolizmalarında sekonder metabolit olarak, ancak bitkinin kendi metabolizmalarındaki rolleri yeterince bilinmeyen, çok sayıda fenolik madde

oluşturmaktadırlar. Bu nedenle, bitkisel kökenli bütün gıdalarda daima farklı nitelikte ve miktarda çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır. Son yıllarda bitkisel kökenli gıdalarda bulunan fenolik bileşiklerin yoğun bir şekilde incelenmesi, bunların insan sağlığı ile yakından ilişkisi olduğunun saptanmasından ve özellikle de kanser insidansını azalttığı yönündeki epidemiyolojik bilgilerden kaynaklanmaktadır. Buna karşın, bazı çalışmalarda flavonoidlerin karsinogen olduğu savunulsa da diğer birçok çalışmada elde edilen bulgular, flavonoidlerin antimutajen ve antikarsinogen olduğunu desteklemektedir (Topçu ve Çölgeçen, 2015).

Günümüzde patojenlerin yaygın olarak kullanılan birçok antibiyotiğe karşı direnç kazanması, araştırmacıları enfeksiyonlara karşı yeni ve etkili antimikrobiyal maddeler geliştirmeye yöneltmiştir. Bitkilerin biyolojik yönden aktif birçok bileşik içerdiği ve bu bileşiklerin çoğunun antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle mikrobiyal hastalıklarla mücadelede bitkilere yönelme artmıştır (Bektaş ve ark., 2013; Tekeli ve ark., 2007). Bitkilerden elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal (antifungal) aktiviteye sahip olabildikleri literatüre geçmiştir (Iscan ve ark., 2004). Bu bağlamda Giresun Dağları bölgesinde bulunan endemik türlerden bazıları üzerinde literatüre geçen yöntemler kullanılarak bu bitkilerin ekstraktları elde edilmiş ve toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan özellikleri incelenmiştir (Stanković, 2011).

Tez çalışması için 3 farklı bitki türü belirlenmiştir. Bu bitkilerin ortak özellikleri endemik olmalarıdır. Seçilen bitki türleri, *Heracleum platytaenium* Boiss., *Digitalis lamarckii* Ivan. ve *Geranium ibericum jubatum*'dur. Yapılan literatür çalışmalarında *Digitalis lamarckii* bitkisinden günümüzde kalp ilacının etken maddesi (digoxin) elde edilmektedir (Verma ve ark., 2011; Benli ve ark., 2009). Bulduğumuz bölgeden toplanan (Giresun Dağları) *Digitalis lamarckii* bitkisine ait herhangi bir kimyasal analiz çalışmasının yapıldığına dair bir yayın, literatür taramalarından tespit edilememiştir. Yine *Heracleum platytaenium* Boiss. ve *Geranium ibericum jubatum* bitkilerinin şimdiye kadar bu belirlenen bölgelerden toplanan örneklerinin kimyasal analizlerinin yapıldığına dair bir çalışma bulunamamıştır. Ayrıca bitkiler aynı olsa

bile bitkilerin yetiştiği toprak, yükselti vb. gibi önemli etkenlerin bitkilerin sahip oldukları kimyasal içeriklerinin bileşimini değiştirdiği de bilinmektedir.

Bitkiler üzerine yapılan literatür çalışmalarında, antioksidan aktivitesi analizleri için kullanılan çözen aynı olsa dahi farklı ekstraksiyon metodlarının farklı sonuçlar sergilediği gözlemlenmiştir (Utsukarçi ve ark., 2017). Bu sebeple bu tez çalışmasında soxhlet ve maserasyon olmak üzere iki farklı ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır.

1.1. Botanik Bilgiler

1.1.1. *Heracleum* Cinsi

Heracleum cinsi *Apiaceae* familyasının geniş cins sınıflarından biridir. Dünyada yaklaşık 125 türle temsil edilmektedir. Asya'da 109 tür olmakla beraber Türkiye'de 9'u endemik olmak üzere 23 tür ile temsil edilmektedir. Bazı *Heracleum* türleri halk arasında ağrı kesici, antipiretik (ateş düşürücü), diyaforetik, antiseptik, karminatif (bağırsak gazlarını giderici), sindirim kolaylaştırıcı olarak kullanılmaktadır. Bunun dışında yemeklerde tatlandırıcı ajan ve baharat şeklinde de tüketilmektedir (Pimenov ve Leonov, 2004; Dinçel, 2011).

1.1.1.1. *Heracleum platytaenium* Boiss.

Heracleum platytaenium Boiss., bir defa çiçek açıp meyve veren, 1-2 m boyunda, kaba yapılı, keskin aromatik kokulu bir bitkidir. Gövdesi en az 2 cm çapında olup, aşağıda derin oluklu, hemen hemen yumuşak tüylü ya da düzenli ince uzun yumuşak tüylü şeklindedir. Çiçekleri beyaz renkli, meyveleri geniş ters yumurtamsı ile böbreksi şeklinde olup, 8-14 x 6-11 mm ebatındadır. Çiçeklenme mevsimi Mayıs-Ağustos ayları olup, Türkiye'ye endemik bir türdür. Ülkemizde Kaz dağları dışında Kuzeybatı ve Orta Anadolu'da da yayılış göstermektedir. İlk defa 1884'de bilim dünyasına tanıtılmıştır. Halk arasında "baldırgan" ya da "tavşancık otu" olarak bilinmektedir (Dinçel, 2011).



Şekil 1.1. *Heracleum Platyaenium* Boiss.

1.1.2. *Digitalis* Cinsi

Dünyada 19 türle temsil edilen *Digitalis* cinsi, Türkiye florasında 9 türle temsil edilmektedir. *Digitalis* türleri Türkiye’de yüksükotu, İngilizce adı foxglove olarak bilinir. *Digitalis* cinsi, son kemotaksonomik ve filogenetik çalışmalar sonucunda *Scrophulariaceae* familyasından *Plantaginaceae* familyasına taşınmıştır. Günümüzde *Digitalis* cinsinin halk arasında herhangi bir tıbbi amaçlı kullanımı mevcut değildir. Tıbbi amaçlı bazı hastalıklar için yapılan çalışmalar mevcuttur. İlaç olarak ilk kullanımı William Withering tarafından 1785 yılında yapılmıştır. Normalde hücre zarının dışında sodyum, iç kısmında ise potasyum miktarı fazladır. Na-K ATPaz pompası sayesinde sodyum ve potasyum elementleri, hücre zarından geçiş yapabilmektedir. Withering yaptığı çalışmalar sonucunda *Digitalis*’in kalp ve böbrekler üzerinde, Na-K ATPaz pompasının çalışmasında artış gözlemlenmiştir. Bu durum hücrelerin yaşamasını sürdürebilmesi için oldukça önemli bir durumdur (Cantley ve ark., 1977; Kutluay ve Saraçoğlu, 2018).

1.1.2.1. *Digitalis lamarckii* Ivanina

Digitalis lamarckii Ivan. Anadolu'ya özgü *Plantaginaceae* familyasına ait endemik bir türdür (Verma ve ark., 2016). *Digitalis lamarckii* Ivan. Yaygın olarak bodur yüksükotu olarak bilinir. Kalp ritmini düzenleyen kardiyak glikozitleri içerdikleri için tıbbi ve ekonomik açıdan önemli bir bitkidir (Baytop, 1999). İçerdiği digoksin ve digitoksin bileşiklerinin, kanser tedavisinde etkili olduğu yönünde yapılan çalışmalar mevcuttur (Miguel ve Miguel, 2009).



Şekil 1.2. *Digitalis lamarckii* Ivan.

1.1.3. *Geranium* Cinsi

Geranium cinsi, *Geraniaceae* familyasının en önemli cinslerinden birisidir. *Geranium*, yeryüzünde 3 altcinsine ait 24 seksiyonda yaklaşık 430 tür içermektedir. Türkiye'de ise % 24'ü endemik olan 44 tür ve 46 taksonla temsil edilmektedir (Savcı, 2015).

1.1.3.1. *Geranium ibericum jubatum*

Geranium ibericum jubatum, kuzeydoğu Türkiye'den Kafkasya'ya ve kuzeybatı İran'a yayılış gösteren, çok yıllık, otsu ve endemik bir türdür. Halk arasında

turnagagası olarak bilinir. *Geraniaceae* familyasından, 15-40 cm boylanabilen, uzun ve yumuşak tüylü gövdeye sahip bir bitkidir. Rizomları yataydır. Alt yaprakları elsi, 4-9 cm, lobları köşeli baklava dilimi şeklinde olup, derin ve üç parçalıdır. Çiçek sapı belirgin ve glandli tüylü, çanak yapraklar 9-11 mm olup, 2-3 mm uzunluğunda tüylerle örtülüdür. Taç yapraklar 16-24 mm boyutunda, yürek şeklinde ve menekşe rengindedir. Gösterişli bir çiçeğe sahiptir. En uzun brahteler 3-5 mm boyundadır (Aedo 2005; Savcı, 2015).



Şekil 1.3. *Geranium ibericum jubatum*

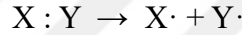
1.2. Serbest Radikaller

Oksijen, insan hayatının devamlılığı için hayati önemi sahiptir. Ancak bazı metabolik olaylar sonucunda açığa çıkan reaktif oksijen türleri vücutta varolan lipid, protein, DNA vb. biyolojik sistemlere zarar verme eğilimindedir. Sistemlere verilen bu zarar sonucunda çok çeşitli kanser türleri, bağışıklık ve sinir sisteminin zayıflaması, kalp damar rahatsızlıkları, görme problemleri gibi pek çok hastalığa sebebiyet verdiği bilinmektedir. Ancak vücudun kendini bu radikallerin zararlı etkilerinden korumak adına geliştirdiği doğal savunma sistemleri vardır. Bu savunma sistemleri hücre içinde ve hücre dışında farklılık göstermektedir. Savunma görevini hücre içinde süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri yerine getirirken;

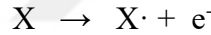
hücre dışında ise E ve C vitaminleri, haptoglobin, seruloplasmin, transferrin, albümin vb. maddeler savunmadan sorumludurlar (Kuşoğlu, 2015).

Serbest radikaller bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektron içeren atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler çiftleşmemiş elektronlarından dolayı oldukça aktiftirler. Serbest radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşurlar:

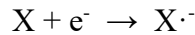
1. Kovalent bağların homolitik kırılması: Bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik yıkılması sonucu bağı oluşturan iki elektronun her birinin ayrı atomlar üzerinde kalması ile serbest radikaller meydana gelmektedir.



2. Bir molekülün elektron kaybetmesi: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülün yapısındaki atomlardan birisinden elektron uzaklaştırılması sonucu oluşmaktadır.



3. Bir moleküle elektron transferi: Bir molekül yapısına elektron eklenmesi sonucu reaktif özellik taşıyan yapılar oluşmaktadır.



Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu oluşurlar. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en önemli radikaller; serbest oksijen radikalleri olmakla beraber; C, N, S türevi olan radikaller ve inorganik moleküller de vardır. Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mo^{5+} gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalizlediklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (Arıcan, 2013).

Serbest radikaller organizmaya günlük yaşamını ve metabolik faaliyetlerini sürdürebilmesi için lazım olan reaksiyonların sonunda oluştuğu gibi, radyasyon ve stres gibi dış etmenlerin etkisiyle de oluşabilmektedir. Dolayısıyla serbest radikal kaynakları eksojen ve endojen olarak iki grupta incelemek mümkündür.

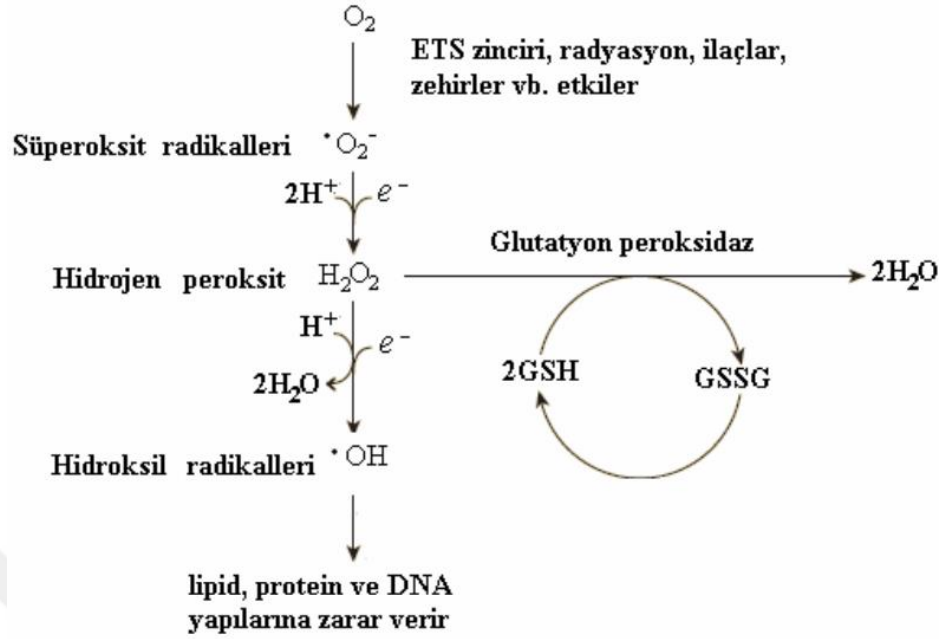
1.2.1. Endojen Kaynaklar

1. Mitokondrial elektron transport zinciri.
2. Redoks tepkimeleri.
3. Endoplazmik retikulum.
4. Araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimi ki; buna "enzimatik lipid peroksidasyonu" denir.
5. Endotelyal ve fagositik (monosit ve makrofajlar vs.) hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar.
6. NADPH Oksidaz, Ksantin Oksidaz vs. enzimler.
7. Otooksidasyon tepkimeleri.

1.2.2. Eksojen Kaynaklar

1. İlaç oksidasyonları.
2. Radyasyon.
3. Güneş ışığı (UV) ışınları.
4. Egzoz gazları ve sigara dumanı.
5. Kükürt dioksit.
6. Çevresel toksik ajanlar: Hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksit, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar gibi ksenobiyotikler.
7. Stres: Stresin katekolamin düzeyini artırması ve katekolaminlerin oksidasyonu ile serbest radikal oluşumu gözlenir (Aras, 2016).

Metabolizmada oluşan ve dış kaynaklı radikal ve reaktiflerin oluşum yolları aşağıda Şekil 1.4.'de gösterilmiştir.



Şekil 1.4. Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu (Aras, 2016)

1.3. Antioksidanlar

Çeşitli mekanizmalar sonucu ortaya çıkan serbest radikallere karşı vücutta doğal bir savunma mekanizması vardır. Bu savunma mekanizmasını oluşturan bileşiklere “antioksidanlar” denir (Gökpınar, 2006). Antioksidanlar serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir (Kahkönen ve ark., 1999). Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler; onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı-aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir. Antioksidanlar vücut hücreleri tarafından üretildikleri gibi gıdalar yoluyla da alınabilmektedir. Gıdalarda mevcut olan ve insan vücudunu zararlı serbest radikallerden koruyan başlıca doğal antioksidanlar esas olarak vitaminler (C, E ve A vitaminleri), flavonoidler, karotenoidler ve polifenollerdir (Yavaşer, 2011).

Antioksidanların insan sağlığı üzerindeki başlıca etkisi serbest radikal süpürücüsü olmasındır. Metabolik faaliyetler sırasında oksijen; reaktif oksijen türleri olarak adlandırılan süperoksit, hidrojen peroksit, tekli (singlet) oksijen ve hidroksil radikallerine çevrilebilir. Bu yüzden oksijen canlı sistemler için oldukça toksiktir. Vücutta antioksidanların varlığında, oksidatif strese bağlı hasarlar büyük oranda azalmaktadır. Antioksidanlar, hidrojen atomu vericisi olarak etki gösterir ve zincir oluşturan radikalleri daha az reaktif türlere dönüştürürler. Antioksidanlar, lipit peroksidasyonunu, proteinlerin çapraz bağlanmasını ve DNA mutasyonunu engeller. Antioksidanlar, dört farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirir:

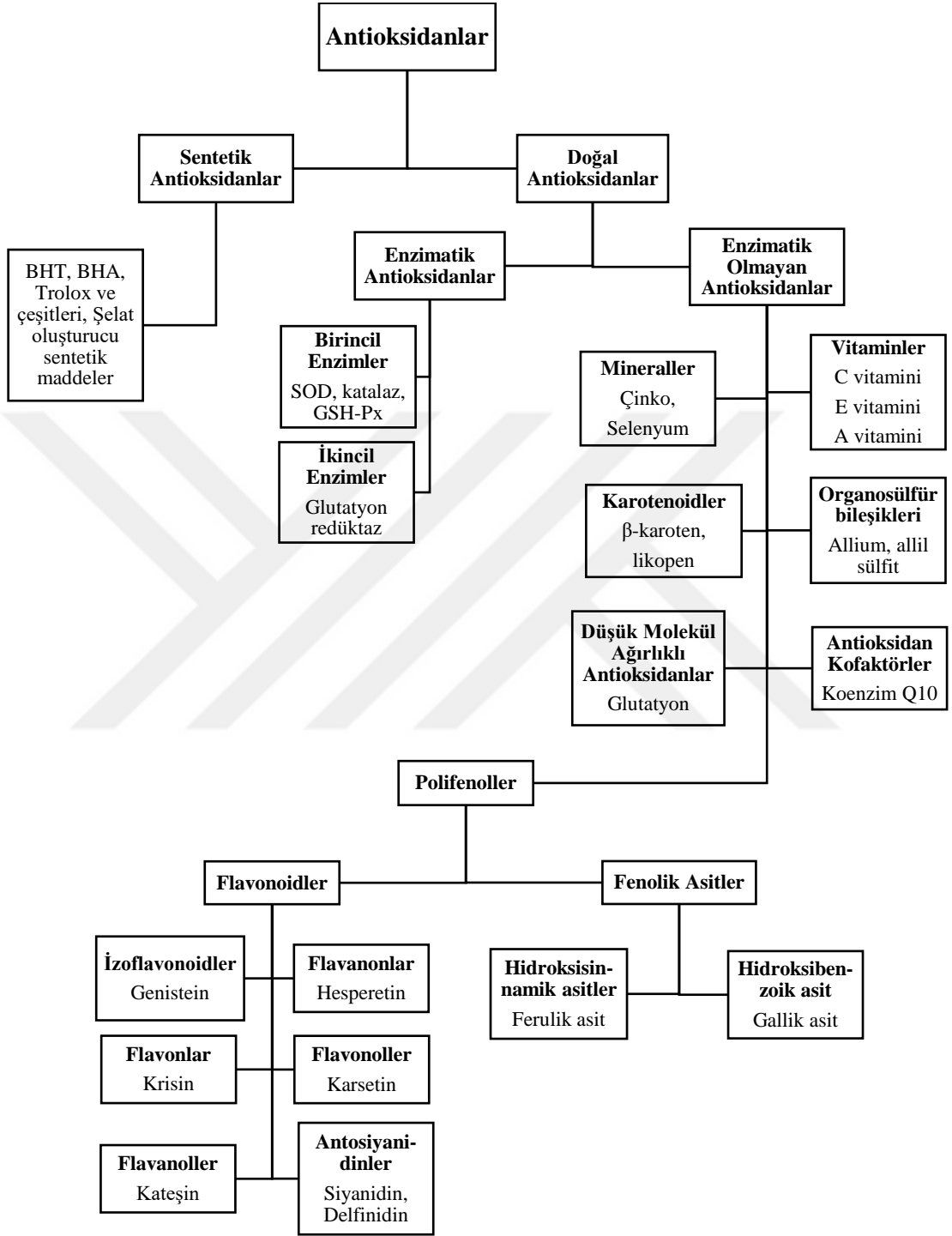
Temizleme (Scavenging) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde meydana gelmektedir.

Baskılama (Quencher) etkisi: Bu etki oksidan maddelere bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olmaktadır ve çoğunlukla flavonoidler tarafından yapılmaktadır.

Onarma etkisi: Oksidanların oluşturduğu hasarı ortadan kaldırma şeklinde etki göstermektedirler.

Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen bu etki hemoglobin ve E vitamini tarafından yapılır (Meral ve ark., 2012).

1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

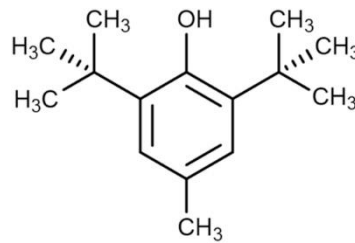


Şekil 1.5. Antioksidanların sınıflandırılması (Yılmaz, 2010; Kasnak ve Palamutoğlu, 2015).

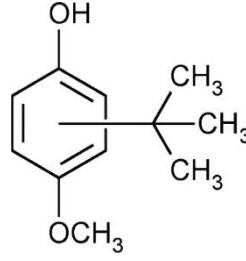
1.3.1.1. Sentetik Antioksidanlar

Yağların oksidasyon mekanizmalarının anlaşılması ile birlikte oksidasyonu önlemek amacıyla antioksidan üretimi konusunda pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla tokoferoller ve askorbik asidin doğala özdeş formları veya türevleri laboratuarda sentezlendiği gibi doğal yapı ile ilgisi olmayan yapay antioksidanlar da üretilmiştir. 1940'lı yıllardan beri yüzlerce yapay antioksidan madde sentezlenmesine karşın, bunların ancak az bir kısmı günümüzde kullanılmaktadır (Eken, 2007).

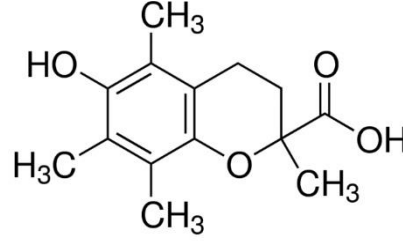
Sentetik antioksidanlar gıdalarda; gıdaların oksidasyonu ile oluşan bozulmalar, tatlarındaki bozulma, koku oluşumu ve ihtiva ettikleri vitamin miktarlarındaki azalmalar vb. gibi sorunları çözmek ve bunların rafta kalma sürelerini uzatmak amacıyla sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Fakat son zamanlarda sentetik antioksidanlar üzerinde yapılan bazı araştırmalarda toksik ve kanserojen olabileceği anlaşıldığından bu maddelerin kullanılmasında ciddi yasak ve sınırlamalar getirilmiştir. Uzun yıllardır antioksidanlar gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadırlar. Bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), tersiyer bütillhidrokinon ve gallatlar gıdalarda kullanımı en sık olan antioksidanlardır. Fakat bu antioksidanların sentetik olmaları, toksik etkileri, yüksek maliyetleri ve tüketicilerin katkı maddeleri hakkındaki endişelerinden dolayı son zamanlarda doğal antioksidan kullanımına yönelim başlamıştır (Aras, 2016). Sentetik antioksidanlar başlığı altında incelenen bazı bileşikler şekil 1.6, 1.7 ve 1.8'de gösterilmiştir.



Şekil 1.6. Bütillendirilmiş Hidroksi Toluen (BHT)



Şekil 1.7. Bütilenmiş Hidroksi Anisol (BHA)



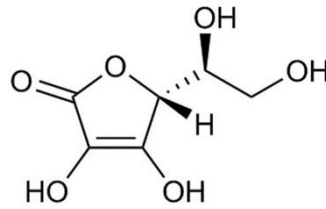
Şekil 1.8. (\pm)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox)

1.3.1.2. Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar, güvenilirliği ve zarar verecek yan etkisinin bulunmaması nedeniyle sentetik antioksidanlara göre daha çok tercih edilmektedir. Enzimatik antioksidanlar sürekli üretilmesinin yanısıra alınan gıdalar sayesinde de savunma sistemimizi güçlendirmektedir. Antioksidanlar, gıdaların yapısında doğal olarak bulunabilirken Maillard gibi birçok kimyasal reaksiyonlar sonucunda da bu özelliğe kavuşabilmektedir. Gıdalardaki mevcut flavonoidler çok güçlü antioksidan aktivite yeteneğine sahip olabilmektedir. Antioksidan aktiviteye sahip vitaminler ve karotenoidler insan vücudunu hastalıklardan korunmasını sağlayan bileşikler içerisinde sayılmaktadır (Küçükyıldırım, 2017).

Organizmanın en çok gereksinim duyduğu C vitamini, diğer adıyla askorbik asit (askorbat), suda çözünebilen, bitkilerin kloroplastlarında ve hayvanların karaciğer veya böbreklerinde glukozdan sentezlenen güçlü bir antioksidan kaynağıdır. Altı karbonlu lakton yapısına sahiptir. C vitamini hücre dışı sıvılarında bulunan, suda çözünebilen önemli bir antioksidan olup, insan vücudunda sentezlenemediğinden bu vitamin dışarıdan besinlerle alınması gerekmektedir. Özellikle çilek, papaya, portakal, kivi, greyfurt, kavun, mango gibi meyvelerde; brokoli, brüksel lahanası,

kırmızı veya yeşilbiber, domates, lahana, patates, karnıbahar gibi sebzelerde; portakal suyu, domates suyu gibi meyve sularında bol miktarda bulunmaktadır. Askorbik asit plazma lipoproteinlerinin (LDL) ve yağların oksidasyonunu önler. Kan plazması ve hücre stozolü gibi vücudun sulu bölgelerinde etkili bir oksiradikal gidericidir. C vitamini reaktif oksijen, reaktif azot ve reaktif klor türlerini kolayca süpürür ve bu sayede diğer substratları oksidatif hasardan korur (Koca ve Karadeniz, 2005; Karaman, 2008).



Şekil 1.9. Askorbik Asit (C vitamini)

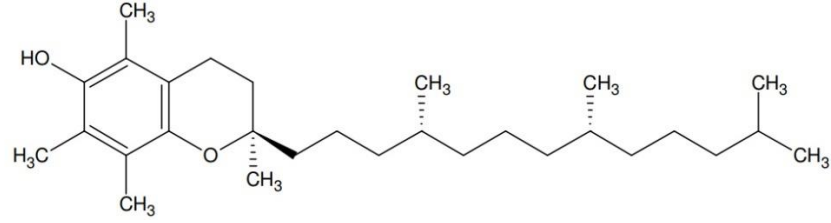
Yağda çözülebilir antioksidanların en yaygını olan E vitamini, başta hücre membranları olmak üzere hücrenin lipid kısımlarını korumaktadır. Tokoferoller ve tokotrienollerin bitkiler tarafından sentezlendiği bilinmektedir. Tokoller, bitkisel dokularda yaygın olarak bulunan monofenolik ve lipofilik bileşiklerdir. E vitamini aktivitesine sahip 8 farklı tokol bulunmaktadır ve farklı yenilebilir yağlarda bu tokollerin tümü veya bazıları mevcuttur.

Tokoferoller hücre çoğalmasının ve trombosis olarak adlandırılan pıhtılaşmanın önlenmesi kadar bağışıklık sistemini koruyucu özelliğe de sahiptir. Ayrıca E vitamini katarakt ve kalp-damar hastalıkları riskini de azaltmaktadır.

E vitamininin kalp-damar hastalıklarını azaltma etkisi 3 yolla gerçekleşmektedir:

1. E vitamini damar duvarında yağ plaklarının oluşum basamaklarından ilkinin bloke ederek LDL formunu serbest radikal zararlarına karşı korumaktadır.
2. Damarda kanın akışını azaltan düz kas hücrelerinin artmasını önlemektedir.

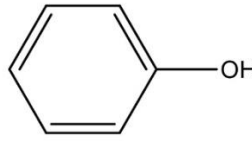
3. Kalp krizine neden olan kanın pıhtılaşma eğilimini azaltmaktadır (Koca ve Karadeniz, 2005).



Şekil 1.10. α -tokoferol (E vitamini)

1.3.1.3. Fenolik Bileşikler

Bitkiler; fenol grubu olan (aromatik halka üzerinde bir fonksiyonel hidroksil grubu olan bileşik) içeren geniş çeşitlilikte sekonder ürünlerdir.



Şekil 1.11. Fenolik Bileşiklerin Temel Yapısını Oluşturan Fenol

Fenolik bileşikler, yaklaşık olarak 10.000 özgün bileşiğin bulunduğu kimyasal olarak heterojen gruplardır. Kimyasal çeşitlilikleri ile uyum sağlayan fenolikler bitkilerde geniş bir rol oynar (Güzel, 2016). Fenolik bileşikler bitkilerde patojenlere ve ultraviyole ışınlarına karşı savunmadan sorumlu olan sekonder metabolitlerdir, bu nedenle de kanser gibi oksidatif stres ile ilgili hastalıklarda antioksidan ve biyoaktif etkilerinin anlaşılmasıyla fenolik bileşiklere olan ilgi artmaktadır (Scalbert ve ark., 2005; Başer, 2013).

Tablo 1.1. Fenolik Asitlerin Genel Yapısı (Güzel, 2016)

Hidroksibenzoik Asit Türevleri				Hidroksisinamik Asit Türevleri			
Asit	R ₁	R ₂	R ₃	Asit	R ₁	R ₂	R ₃
<i>p</i> -hidroksibenzoik	H	OH	H	<i>p</i> -Kumarik Asit	H	OH	H
Protokateşik Asit	H	OH	OH	Kafeik Asit	H	OH	OH
Vanilik Asit	CH ₃ O	OH	H	Ferulik Asit	CH ₃ O	OH	H
Şiringik Asit	CH ₃ O	OH	CH ₃ O	Sinamik Asit	CH ₃ O	OH	CH ₃ O
Gallik Asit	OH	OH	OH				

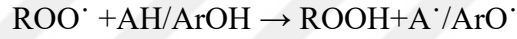
Fenolik bileşikler “fenolik asitler” ve “flavonoidler” olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Fenolik asitler ise “hidroksisinamik asitler” ve “hidroksibenzoik asitler” olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır. Hidroksisinamik asitlerin başlıca örnekleri kumarik, kafeik, ferulik ve sinaptik asittir. Kafeik asit esterleri doğal kaynaklarında bulunduğu düzeylerde yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan en önemli bitki kaynaklı antioksidanlardır. Fındık ve yağlı tohumlarda bulunduğu gibi sebze ve mantarlarda da bulunmaktadır. Hidroksibenzoik asitlerin başlıcaları ise salisilik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, protokateşik, gallik asit, vanilik asit ve şiringik asittir. Bu asitler meyve ve sebzelerde genellikle serbest formda ve düşük miktarda bulunmaktadır (Koca ve Karadeniz, 2005).

1.4. Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri iki temel prensibe dayanır. Bunlardan birincisi hidrojen transferine dayanan reaksiyonları temel alan analizler, ikincisi ise elektron aktarımına dayalı toplam antioksidan kapasite tayini yöntemlerini temel alan analizlerdir.

1.4.1. Hidrojen Transferine Dayanan Reaksiyonları Temel Alan Analizler

Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar mekanizmasına dayanan tayinlerin çoğu yarışmalı reaksiyon kinetiğini izler ve kantasyon kinetik eğrilerinden yapılır. Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlara dayalı metotlar genellikle sentetik bir radikal üreticiden, yükseltgenbilir moleküler probdan ve bir antioksidan bileşikten oluşur. ORAC, TRAP gibi hidrojen transferine dayanan reaksiyon temelli metodlarda peroksil radikali (ROO•) üretmek üzere bir radikal başlatıcı kullanılır. Eklenen antioksidan, radikaller için ortamdaki substrat ile yarışır. ROO• tercihen antioksidandan bir hidrojen atomu alır. Sonuçta ROO• ve hedef molekül arasındaki reaksiyon inhibe edilir veya geciktirilir (Büyüktüncel, 2013; Yavaşer, 2011).



1.4.1.1. Oksijen Radikal Absorbsiyon Kapasitesi Yöntemi (ORAC)

ORAC yöntemi ilk kez Cao ve ark. tarafından önerilmiştir (Cao ve ark., 1993). Bu yöntemde peroksil radikalleri ile oksitlenen bir hedef molekülün, bir antioksidan tarafından ne kadar korunduğu; hedef molekülün bozunması absorbans takibi ile izlenerek, bozunma kinetiği eğrisinin altında kalan alanın değişimi ile ölçülür. Orijinal yöntemde hedef molekül olarak fikoeritrin kullanılmış iken daha sonra bu molekülün yerini fluoressin almıştır. Hem fikoeritrin hem de fluoressin ile yapılan ORAC ölçümleri spektrofotometre gerektirmektedir. Ayrıca test edilen bileşiğin antioksidan aktivitesinin yüksek olması durumunda kesin kinetik veri elde etmek zorlaşmaktadır. Bu nedenle bu reaktiflerin yerine renkli bir reaktif olan pirogallol red (PGR)'in kullanılması önerilmiştir. Pirogallol red kullanılarak elde edilen ORAC değerlerinin antioksidanların peroksil radikallerine karşı reaktivitesini daha doğru gösterdiği de rapor edilmiştir. Pirogallol red kullanılarak ORAC yöntemi ile antioksidan tayini saf antioksidan maddeler ve kompleks antioksidan karışımları için denenmiş ve sonuçların test edilen bileşiklerin reaktivitesi ile daha iyi korelasyon gösterdiği ve görünür spektroskopi uygulanmasının daha kolay olduğu sonucuna varılmıştır (Ardağ, 2008)

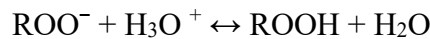
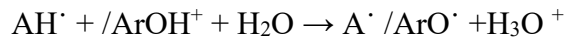
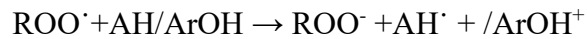
1.4.1.2. Toplam Radikal Tuzaklayıcı Antioksidan Parametre Yöntemi (TRAP)

TRAP yöntemi Wayner ve ark. tarafından geliştirilerek plazmanın antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesi için kullanılmıştır (Wayner ve ark.,1985). Bu yöntem, bir azo bileşiğinin termal bozunmasıyla indüklenen kontrollü bir lipid peroksidasyon reaksiyonu esnasında oksijen tüketiminin ölçülmesi temeline dayanır. Wayner metodunda çözünmüş oksijen tüketimi, lipid peroksidasyon hızının bir göstergesidir ve bundan dolayı plazmanın bu reaksiyonu engelleme kabiliyetinin dolaylı olarak ölçülmesine dayanır. Plazmanın oksijen tüketimi üzerine geciktirme etkisi, bilinen miktarda troloksun geciktirme etkisiyle karşılaştırılır. Bu metot zaman alıcı bir metottur (örnek başına 2 saat) ve dolayısıyla günlük çalışılacak örnek sayısı sınırlıdır (Büyüktüncel, 2013).

1.4.2. Elektron Aktarımına Dayalı Toplam Antioksidan Kapasite Tayini Yöntemleri

Spektrofotometrik elektron transferine dayanan metotlardaki bir reaksiyon karışımında antioksidan ve oksidan olmak üzere iki bileşen vardır. Oksidan antioksidandan bir elektron alır ve bu oksidanda renk değişimine neden olur. Renk değişiminin derecesi antioksidan derişimiyle orantılıdır (Büyüktüncel, 2013; Yavaşer, 2011).

Elektron aktarımına dayalı toplam antioksidan kapasite tayini mekanizmasına dayanan yöntemlerin etki mekanizmasında gerçekleşen reaksiyonlar ise şunlardır:



1.4.2.1. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç Yöntemi (FRAP)

Benzie ve Strain tarafından geliştirilen bu yöntemde demir (III)'in indirgenme kapasitesi yoluyla antioksidanların toplam miktarı belirlenmektedir (Benzie ve Strain, 1996). Düşük pH'larda oluşan Fe(III)'ün, tripiridiltriazin ile reaksiyonu sonucu oluşan [Fe(III)-tripiridiltriazin] kompleksi antioksidanların etkisiyle Fe(II)-tripiridiltriazin [Fe(II)-tripiridiltriazin] kompleksine indirgenmektedir. Meydana gelen Fe(II)-tripiridiltriazin kompleksinin rengi koyu mavidir ve 593 nm'de maksimum absorptans vermektedir (Yıldız, 2007).

1.4.2.2. Cu (II)'nin Oksidan Olarak Kullanıldığı Toplam Antioksidan Potansiyel Yöntemi (CUPRAC)

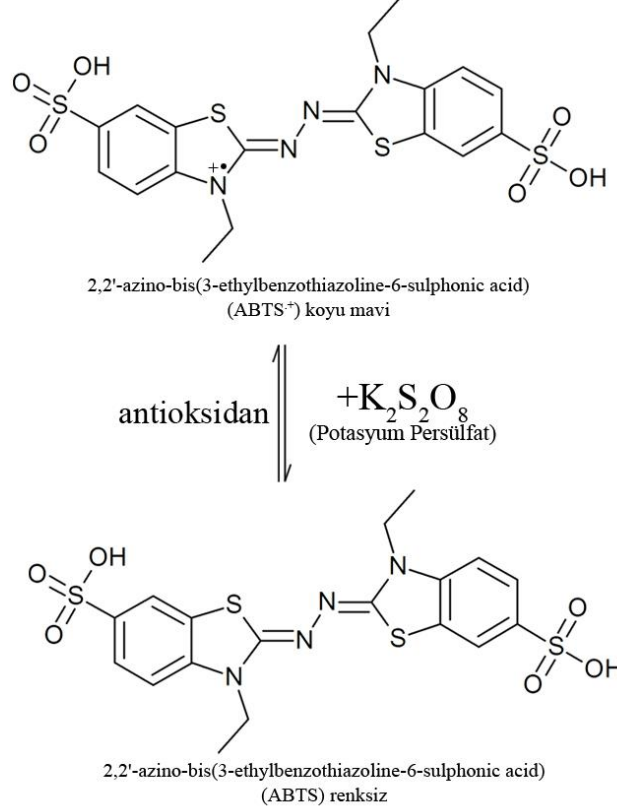
Yöntem, analiz edilecek numunedeki antioksidanlar tarafından Cu(II)'nin Cu(I)'e indirgenmesi temeline dayanır. Apak ve ark.'ın geliştirdiği bu yöntemde 2,9-dimetil-1,10- fenantrolin (Neokuproin veya Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neokuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc), 450 nm'de maksimum absorptans veren bakır(I) neokuproin [Cu(I)-Nc] kelatına indirgenme yeteneğinden yararlanarak antioksidan kapasite hesaplanmaktadır. (Apak, 2004; Büyüktünel, 2013)

1.4.2.3. ABTS Yöntemi

ABTS radikal süpürücü aktivite analizi ilk olarak Miller ve ark. tarafından geliştirilmiştir (Miller ve ark., 1994). Yöntemde ABTS radikal katyonunun antioksidanlar ile inhibe edilerek spektrofotometrede absorptansının değişimine dayanan bir yöntemdir. Yapılan analizde antioksidan içeriğinin mevcut olması durumunda, ABTS radikal katyonunun belirli bir sürede elektron almasından yararlanılarak, toplam antioksidan kapasite % inhibisyon cinsinden bulunur.

Re ve ark. (1999) tarafından modifiye edilmiş ve geliştirilmiş TEAC yönteminde potasyum persülfatla ABTS'nin oksidasyonu sonucu üretilen ABTS radikal katyonları kullanılır. Üretilen ABTS radikalleri, oda sıcaklığında karanlıkta beklediği

zaman 2 gün kararlıdır. Geliştirilen bu yöntem hem lipofilik hem de hidrofilik sistemlerde kullanılabilir (Karaman, 2008; Başer, 2013).



Şekil 1.12. Potasyum persülfat varlığında ABTS⁺ radikalinin oluşumu

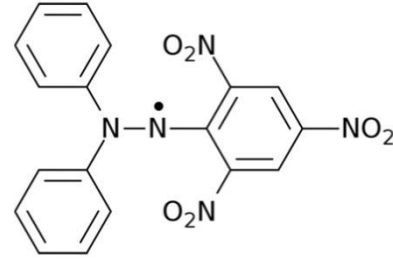
Bu yöntemde test edilecek olan örnek, ABTS radikalleri oluşumundan önce eklenir. Test örneği ABTS radikallerinin oluşumunu azaltır. Bu yöntemin olumsuz yanı, hızlı reaksiyona giren antioksidanların ferrilmiyoglobin radikalini de indirgeyebilmeleridir. İyileştirilmiş şeklinde ABTS, oksidan ABTS'nin potasyum persülfat oksidasyonu ile oluşturulur ve oluşan ABTS radikalinin maksimum absorpsiyonları 415, 645, 734 ve 815 nm dalga boylarında tespit edilmiştir.

Uygulama kolaylığından dolayı ABTS yöntemi antioksidan kapasiteyi araştırmak için sıklıkla kullanılmış; birçok bileşik ve gıda örneklerinin ABTS değerleri kaydedilmiştir. ABTS'nin biyolojik sistemlerde bulunmaması ve bu sistemlerdeki radikallere benzememesi de bir problemidir. Olumlu yanı ise hem sulu hem de lipit fazlarda kullanılabilir olmasıdır. Bu nedenle her fazda da antioksidan kapasiteyi

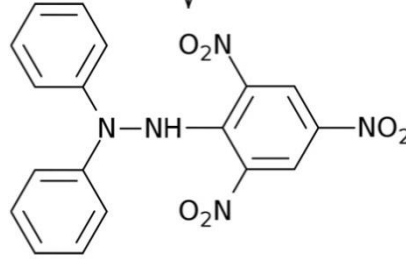
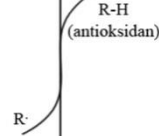
belirlemede kullanılabilir. Ayrıca ticari ABTS yöntem kitleri de kolay elde edilebilir kitlerdir ve yöntem nispeten hızlıdır. Orijinal ABTS yöntemi, bazı eksikliklerine rağmen fitokimyasalların antioksidan aktivitesi ile ilgili kullanışlı bilgi sağlamaktadır (Büyüktuncel, 2013; Albayrak ve ark., 2010).

1.4.2.4. DPPH Yöntemi

DPPH yöntemi antioksidanların radikal süpürme yeteneklerini değerlendiren kolay ve geçerli bir yöntemdir. Sanchez ve ark. tarafından geliştirilen DPPH yöntemi, bitki bölümleri ekstraktlarına uygulanan basit bir yöntemdir (Sanchez ve ark., 1998). Organik azot radikali tayin yöntemlerinden olan DPPH yöntemi, ticari olarak kullanılan yöntemlerden biridir. DPPH yöntemi, organik azot radikali olan DPPH radikalinin antioksidanlar tarafından süpürülme etkilerini ölçmeye dayanır. Bu radikal, hidrojen donörlerle etkileştiğinde hidrazine indirgenir. Mor renkli DPPH radikali 515 nm'de maksimum absorpsiyon verir. DPPH radikalini içeren bu çözeltiye antioksidanın ilave edilmesiyle absorbansta düşüş meydana gelir ve antioksidanların varlığıyla radikalın rengi mordan sarıya döner (Karaman, 2008).



1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH)
(koyu mor renk)



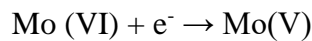
1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH)
(renksiz)

Şekil 1.13. DPPH serbest radikalinin, antioksidan varlığında DPPH' ye indirgenmesi

Molekülde bir serbest elektronun yer değiştirmesi mor rengin oluşmasına neden olur. DPPH solüsyonu hidrojen atomu verebilen madde (antioksidan) ile karıştırıldığı zaman koyu mor rengin kaybı ile indirgenmiş form oluşur. Antioksidan tarafından DPPH serbest radikaline proton transferi reaksiyonu absorbansın azalmasına neden olur. Bu süreç görünür alanda spektrofotometre ile maksimum absorbans değeri olan 517 nm'de absorbans sabitlenene kadar takip edilir. (Albayrak ve ark., 2010).

1.4.2.5. Folin Ciocalteu Yöntemi

Folin-Ciocalteu fosfomolibdik ve fosfotungstik heteropoli asitlerden biçimlenmiş kompleks polimer iyonları içeren sarı asidik bir solüsyondur. Bu ajan fenolikler ile etkileşime girdiğinde reaksiyon ortamında molibden-tungsten mavisi meydana getirir.



Antioksidan kapasite analiz yöntemlerinden birisi olan Folin-Ciocalteu yöntemi orjinal olarak protein analizi için tasarlanmıştır. Daha sonra Singleton ve Rossi (1965) şaraptaki toplam fenollerini ölçmek için bu yöntemi geliştirmişlerdir. Toplam fenolik bileşenlerin tayin yöntemi olarak bilinen Folin-Ciocalteu ayırıcı bazlı yöntem gerçekte örneğin indirgenme kapasitesini tayin etmektedir. Folin-Ciocalteu reaktifi sadece fenolik bileşenlere özgü değil pek çok fenolik yapıda olmayan bileşenleri de indirgeme yeteneğine sahiptir. Fenolik bileşikler Folin-Ciocalteu ile bazik ortamda, Na_2CO_3 ile pH'sı 10'a ayarlanarak reaksiyon verirler. Reaksiyon tamamlandıca 760 nm'de örnek absorbansları ölçülür (Singleton ve Rossi, 1965; Karaman, 2008; Albayrak ve ark., 2010).

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Heracleum platytaenium Boiss. bitkisi ülkemiz açısından geniş bir yayılım göstermekle birlikte son yıllarda kendine has kokusu sebebi ile bu bitki üzerine esansiyel yağlarının içerik analizi, antimikrobiyal analizleri ve enzim aktivite çalışmalarını içeren yayınlar bulunmaktadır (Kılıç ve ark.,2016; Orhan ve ark.,2016).

Akıllılar ve ark. Nisan 2018 yılında yayınladıkları çalışmada Trabzon-Akçaabat'tan toplanılan *Heracleum platytaenium* çiçek ve gövdelerine ait metanol ekstaklarının kanserli hücrelerin yayılması ve büyümesine karşı mücadele konusunda gıda katkı maddesi olarak kullanılması yönünde antioksidan ve sitotoksik etki gösterdiklerini rapor etmişlerdir. (Akıllılar ve ark., 2018)

Dinçel ve ark.'nın 2013 yılında yaptıkları çalışmada, Balıkesir Kazdağları'ndan elde ettikleri *Heracleum platytaenium* bitkisinin petrol eteri ve MeOH ekstraktlarında, DPPH ve ABTS antioksidan radikal süpürücü aktiviteleri analizlerini yapmışlardır. Antioksidan aktivitesi çalışmalarının sonucunda çok düşük radikal süpürücü aktivitesi gözlemlemişlerdir. DPPH radikal süpürücü aktivitesi için yapılan analizde, 100 µg/mL konsantrasyondaki ekstrakt %16,78 gibi düşük bir inhibisyon değeri sergilemiştir (Dinçel ve ark., 2013).

Orhan ve ark.'nın 2016 yılında yapılan çalışmasında, *Heracleum platytaenium* Boiss. bitkisinin MeOH ile maserasyon ekstraksiyonuna uygulanan toplam fenolik madde analizi sonucunda $5,55 \pm 1,16$ mg/g GAE olarak belirlenmiştir. Ayrıca yapılan DPPH radikal süpürücü aktivitesi için yapılan analizde %15 civarlarında düşük bir inhibisyon değeri sergilemiştir (Orhan ve ark. 2016).

Akçin ve ark.'nın 2013 yılında yapılan çalışmasında, *Heracleum platytaenium* bitkisinin GC-MS tarafından esansiyel yağ bileşenleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda 22 bileşik (%95,24) tespit edilmiştir. Başlıca bileşikler; oktil asetat (%85,53), oktil heksanoat (%3,06), (Z)-4-oktil asetat (%1,60) ve oktil oktanoat (%1,24) olarak belirlenmiştir (Akçin ve ark., 2013).

Kök'ün 2000 yılında yapılan yüksek lisans tezinde, Samsun Ondokuzmayıs ilçesi ve Kocadağ mevkiilerinde 4 farklı yükseklikten alınan *Heracleum platytaenium* Boiss. bitkisinin kök/sürgün oranları, yaprak ve %N ve %P içerikleri tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda kök/sürgün oranlarının yaprak N ve P % içeriklerinin gelişme mevsimi içinde tüm lokalitelerde değişime uğradığı tespit edilmiştir (Kök, 2000).

Katanic ve ark.'ın 2017 yılında yapılan çalışmasında, bazı *Digitalis* türlerinin fenolik içerikleri, biyoaktivite ve toksikolojik değerlendirmeler üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Fenolik bileşiklerin kantifikasyonu HPLC-DAD analizi ile gerçekleştirilmiştir. Bitki Ankara ilinin Kızılcahamam ilçesinden, 1473 m yükseklikten toplanmıştır. Ekstraksiyon işlemi, maserasyon yöntemi ile birlikte MeOH kullanılarak gerçekleştirilmiştir. *Digitalis lamarckii* ekstraktında fenolik bileşikler içerisinde en yüksek değer 2,99 mg/g ile klorojenik asit, en düşük değer ise 0,11 mg/g ile p-hidroksibenzoik asit olmuştur (Katanic ve ark., 2017).

Gençaslan'ın 2007 yılında yapılan yüksek lisans tezinde, *Digitalis lamarckii* bitkisi, Ankara/Hasanoğlan - İdris Dağı, 2300 m'den temin edilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısmı analize alınmıştır. Maserasyon yöntemi ile ekstraksiyon işlemi sağlanmış, çözücü olarak MeOH ve etilasetat kullanılmıştır. Antioksidan içeriğin belirlenmesi amacıyla DPPH antioksidan radikal süpürücü aktivitesi analizi uygulanmış ve standart olarak α - tokoferol kullanılmıştır. Analiz sonucunda *Digitalis lamarckii* bitkisinin toprak üstü kısmının MeOH ile gerçekleştirilen ekstraktlarında, 0,025 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,1 mg/mL konsantrasyonlardaki DPPH süpürücü etki (% inhibisyon) sırasıyla; $10,35 \pm 4,40$, $36,18 \pm 3,31$ ve $75,78 \pm 0,87$ olarak belirlenmiştir. Etilasetat ile gerçekleştirilen ekstraktlar için ise 0,1 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0,4 mg/mL konsantrasyonlardaki DPPH süpürücü etki (% inhibisyon)

sırasıyla $28,94 \pm 0,90$, $57,88 \pm 0,71$ ve $65,90 \pm 0,04$ olarak belirlenmiştir (Gençaslan, 2007).

Tosun ve ark.'nın 2006 yılında yaptıkları çalışmada, Ankara'nın kuzeydoğusunda yer alan İdris Dağı'ndan toplanan bazı tıbbi bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Metanol ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilen bitkiler arasında *Digitalis lamarckii* bitkisi de bulunmaktadır. Çalışma sonucunda *Digitalis lamarckii* ekstraktının *Candida krusei* üzerinde antifungal aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Tosun ve ark., 2006).

Geranium ibericum jubatum'a ait şimdiye kadar yapılan bir çalışmada kimyasal içerik belirlemeye dair bir veriye rastlanmamakla birlikte, Aedo ve ark.'nın 2007 yılında yaptığı çalışmada *Geranium* familyasına ait taksonomik bir revizyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışmada *Geranium ibericum* türünün Gürcistan, Azerbaycan ve Türkiye'de tespit edildiğini belirtmişlerdir (Aedo ve ark., 2007).

Hüseyinoğlu ve ark.'nın 2017 yılında yaptıkları çalışmada Giresun Dağları, Eğribel Geçidi alpin çayırların florasının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda 44 familya ve 138 cinse ait toplam 230 takson tespit edilmiştir. Bu türlerin içerisinde *Digitalis lamarckii* Ivanina 2050 m, 21.07.2015, EY 170 Endemic, LR (lc), Ir-Tur., Hcrp. ve *Geranium ibericum* Cav. subsp. *jubatum* (Hand.-Mazz.) P.H.Davis 2550 m, 16.08. 2014, RH 28 Endemic, LR (lc), Eux.(mt), Hcrp. türlerinin de mevcut konum içerisinde tespit edildiği bilgisini de vermişlerdir (Hüseyinoğlu ve ark., 2017)

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Etanol (EtOH): Merck

Metanol (MeOH): Merck

Sodyum Karbonat (Na_2CO_3): Sigma

Folin Ciocalte's Reaktifi: Merck

1,1-difenil 2-pikril hidrazil (DPPH): Sigma

2,2'-azino-bis(3- etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS): Sigma

Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA): Sigma

Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT): Sigma

Gallik asit: Sigma

Askorbik Asit: VDR chemicals

Trolox: Sigma

α -Tokoferol: Sigma

Potasyum Persülfat: Carlo erba

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

UV-Vis Spektrofotometre: Mapada 6100PCS

Evaporatör: Heidolph G3

Hassas terazi: Ohaus PA214C

Vorteks: Heidolph reax top vortex

Manyetik karıştırıcı: WiseStir msh-20A

Saf su cihazı: NUVE ND-12

Ayarlı pipetler: Eppendorf

Etüv: Lab Companion ON-11E

Çalkalayıcı: Edmund bühler

3.3. Çözeltilerin Hazırlanması

Sodyum Karbonat Çözeltisi (%7): 7 g Na₂CO₃ bir miktar distile su ile çözüldü ve hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.

DPPH çözeltisi (0,1 mM): 98,6 mg DPPH, 1 litre etanol içerisinde çözüldü.

ABTS çözeltisi (7 mM): 360 mg ABTS, 100 mL distile su ile çözüldü. Ayrı olarak 66 mg K₂S₂O₈, 100 mL distile su ile çözüldü. Her iki çözelti birleştirilerek spektrofotometrede, 734 nm'de, 700 absorbansta sabitleşinceye kadar distile su ile seyreltildi.

3.4. Bitkilerin Toplanması ve Kurutulması

Deneylede kullanılan *Heracleum platytaenium*, *Digitalis lamarckii* ve *Geranium ibericum* bitkileri, Giresun ilinin Eğribel Geçidinden toplandı. Giresun Üniversitesi, Şebinkarahisar Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü Sayın Dr. Öğr. Üyesi Rena HÜSEYİNOĞLU tarafından teşhis edildi. Toplanan numuneler kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyve bölümlerine ayrıldı. Ayıklama işlemi yapılan bitkilerin bir bölümü toplam kuru madde analizi için etüvde, diğer bölümleri ise toplam fenolik madde ve antioksidan analizleri için oda sıcaklığında gölgede kurutuldu (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Bitkileri gölgede kurutma aşaması

Tablo 3.1. Toplanan bitkilerin koordinatları ve rakımları

Bitki	Koordinatlar		Rakım
	N	E	
<i>Heracleum platytaenium</i>	40° 30' 16"	38° 21' 5"	1669,59 ^m
<i>Digitalis lamarckii</i>	40° 25' 50"	38° 23' 40"	1942,03 ^m
<i>Geranium ibericum</i>	40° 27' 59"	38° 41' 55"	2509,53 ^m

3.5. Bitkilerin Ekstraktlarının Hazırlanması

Analizlerde maserasyon ve soxhlet olmak üzere iki şekilde ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Her iki ekstraksiyon işlemi için de çözücü olarak MeOH kullanıldı. Soxhlet ekstraksiyonu için kurutulmuş bitki bölümlerinden 10 g'lık numuneler blenderde öğütülerek soxhlet kartuşu içerisine alındı ve düzeneğe MeOH (250 mL) eklenerek sistem çalıştırıldı (Şekil 2.2). Damıtma şişesindeki ekstrakt ile birlikte karışan çözücü, evaporatör ile 40 °C'de, 175 mbar'da uzaklaştırılarak ekstrakt eldesi edildi. Maserasyon ekstraksiyonunda da soxhlet sisteminde olduğu gibi kurutulmuş bitki bölümleri 10'ar g'lık numuneler şeklinde, erlen içerisine MeOH (250 mL) ile birlikte çalkalayıcıya alındı. 24 saat bekletildikten sonra süzgeç kağıdından süzüldü ve evaporatör ile 40 °C'de, 175 mbar'da çözücü uzaklaştırması sağlanarak ekstrakt elde edildi.



Şekil 2.2. Soxhlet düzeneği

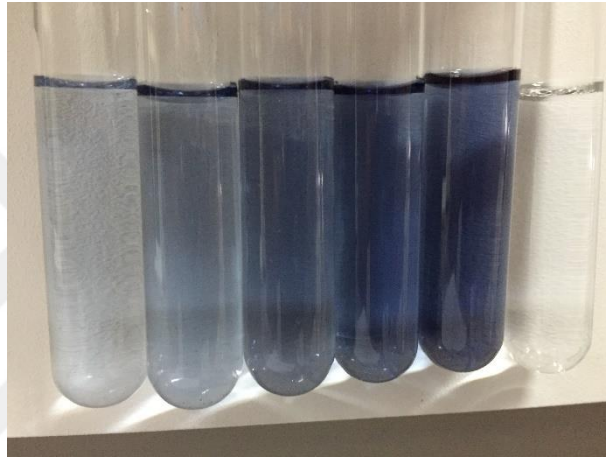
3.6. Toplam Kuru Madde Tayini

Heracleum platytaenium, *Digitalis lamarckii* ve *Geranium ibericum* bitkilerinin bölümlerine ait toplam kuru madde içerikleri Cemeroğlu'na göre belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2013). Tüm bitki bölümlerinin toplam kuru madde miktarlarını belirlemek için örneklerden 20 g alınıp behere konularak 0,0001 g duyarlılıktaki hassas terazi ile tartıldı. Hazırlanan örnekler 70 °C sıcaklıkta sabit ağırlık elde edilinceye kadar bekletildi. Sabit ağırlık noktasında, son tartılan örnek ağırlığı ilk tartılan örnek ağırlığına oranlanarak toplam kuru madde miktarı belirlendi.

3.7. Toplam Fenolik Bileşik Tayini

Heracleum platytaenium, *Digitalis lamarckii* ve *Geranium ibericum* bitkilerinin bölümlerinin MeOH ekstraktlarında bulunan toplam fenolik bileşik miktarı Folin–Ciocalteu reaktifi (FCR) ile belirlendi. (Slinkard ve Singleton, 1999) Standart fenolik madde bileşeni olarak gallik asit kullanıldı. Standart grafiğin oluşturulması amacıyla 20-40-60-80-100 µg konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltileri 5'er ml olarak deney tüplerine alındı. Üzerine sırasıyla 0,5 mL Folin–Ciocalteu reaktifi ve 3 dakika sonra %7'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 5 mL eklendi. Hazırlanan karışım 1 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalayıcıda karıştırıldıktan sonra spektrofotometrede 760

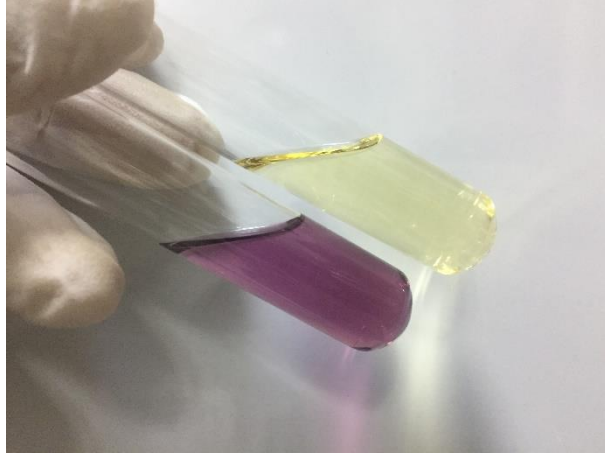
nm’de gallik asit çözeltisi yerine MeOH eklenen köre karşı absorbansı kaydedildi. *Heracleum platytaenium*, *Digitalis lamarckii* ve *Geranium ibericum* bitkilerinin bölümlerinin MeOH ekstrelerinden 0,2 mg/mL’lik stok çözeltiler hazırlandı. Standart grafiğin hazırlanması aşamasında olduğu gibi 5’er mL olarak deney tüplerine alındı. Üzerine sırasıyla 0,5 mL Folin–Ciocalteu reaktifi ve 3 dakika sonra %7’lik Na₂CO₃ çözeltisinden 5 mL eklendi. Karışımların 1 saat boyunca çalkalayıcıda karışmasının ardından 760 nm’de kör/şahit çözeltilere karşı absorbanslarının okumaları gerçekleştirildi.



Şekil 2.3. Toplam fenolik bileşik analizinde, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin renk değişimi (Soldan sağa doğru sırasıyla: 20-40-60-80-100 µg ve kör)

3.8. DPPH Serbest Radikali Giderme Aktivitesi

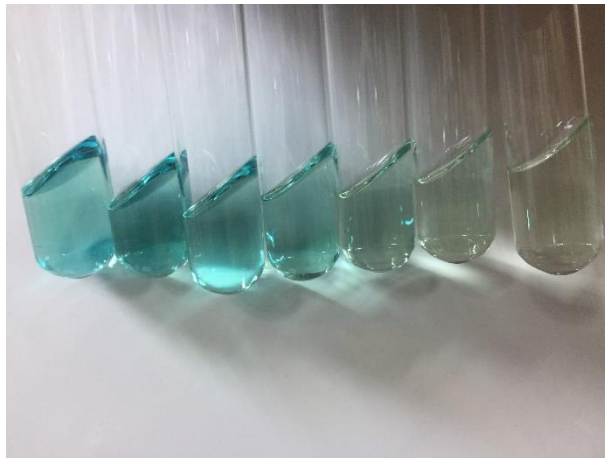
DPPH serbest radikal giderme aktivitesi Zhang ve ark.’ın yöntemine göre yapıldı (Zhang ve ark., 2009). Standart olarak BHT, BHA, gallik asit, vitamin C, trolox ve α -Toc kullanıldı. Analiz için serbest radikal olarak 1 mM’lık DPPH çözeltisi kullanıldı. 20-40-60-80-100-120-140 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan stok çözeltiler toplam hacimleri 4 mL olacak şekilde deney tüplerine aktarıldı. Üzerlerine 1’er mL DPPH çözeltisi ilave edildi. Oda sıcaklığında 30 dakika çalkalayıcıda karıştırıldı ve spektrofotometrede 517 nm’de stok çözelti olarak MeOH kullanılan kör çözeltilere karşı absorbanslarının okumaları gerçekleştirildi.



Şekil 2.4. DPPH serbest radikali giderme aktivitesi analizi sırasında çözeltilerin oluşturduğu renk değişimi

3.9. ABTS Serbest Radikali Giderme Aktivitesi

ABTS serbest radikal giderme aktivitesi Re ve ark.'ın yöntemine göre yapıldı. (Re ve ark., 1999) Standart olarak BHT, BHA, gallik asit, vitamin C, trolox ve α -Toc kullanıldı. Analiz için 7 mM ABTS stok çözeltisi kullanıldı. 20-40-60-80-100-120-140 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda hazırlanan stok çözeltiler toplam hacimleri 4 mL olacak şekilde deney tüplerine aktarıldı. Üzerlerine 1'er mL ABTS çözeltisi ilave edildi. Oda sıcaklığında 30 dakika boyunca çalkalayıcıda karıştırıldı ve spektrofotometrede 734 nm'de stok çözelti olarak MeOH kullanılan kör/şahit çözeltiliye karşı absorbanslarının okumaları gerçekleştirildi.



Şekil 2.5. DPPH serbest radikali giderme aktivitesi analizinde, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin renk değişimi (Soldan sağa doğru sırasıyla: 20-40-60-80-100-120 ve 140 $\mu\text{g/mL}$)

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Toplam Kuru Madde Tayini Bulguları

Tüm bitki bölümlerinin toplam kuru madde miktarlarını belirlemek için aşağıdaki formül uygulanarak hesaplama yapıldı.

$$\text{Toplam Kuru Madde Miktarı (\%)} = \left(100 - \frac{\text{İlk Tartım Değeri} - \text{Son Tartım Değeri}}{\text{İlk Tartım değeri}}\right) \times 100$$

Tablo 4.1. *Heracleum platytaenium* Bölümlerinin Toplam Kuru Madde Miktarları

Bitki Bölümleri	Gövde	Kök	Çiçek	Yaprak	Meyve
% Toplam Kuru Madde Miktarı	%11,51	%19,56	%14,88	%19,95	%15,14

Tablo 4.2. *Digitalis lamarckii* Bölümlerinin Toplam Kuru Madde Miktarları

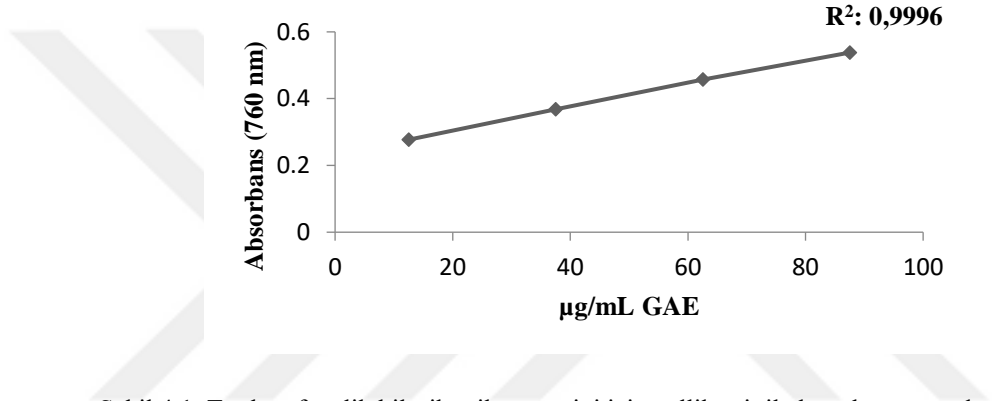
Bitki Bölümleri	Gövde	Kök	Çiçek	Yaprak
% Toplam Kuru Madde Miktarı	%45,51	%76,28	%27,66	%38,07

Tablo 4.3. *Geranium ibericum* Bölümlerinin Toplam Kuru Madde Miktarları

Bitki Bölümleri	Gövde	Kök	Çiçek	Yaprak
% Toplam Kuru Madde Miktarı	%16,98	%44,78	%24,69	%30,63

4.2. Toplam Fenolik Bileşik Tayini Bulguları

Toplam fenolik madde miktarını belirlemek amacıyla standart bileşik olarak gallik asit kullanıldı. Analiz için gallik asitten 20-40-60-80-100 µg/mL konsantrasyonlarda örnekler hazırlanarak standart grafik oluşturuldu. Standart grafikten elde edilen formül ile bitki ekstraktlarında bulunan toplam fenolik bileşik miktarı gallik asit eşdeğer (GAE) olarak hesaplandı (R^2 : 0,9996). Bu amaçla hazırlanan gallik asit standart grafiği şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Toplam fenolik madde miktarını belirlemek amacıyla soxhlet ve maserasyon ekstraksiyonu ile hazırlanmış bitki bölümleri ekstraktlarının gallik asit eşdeğerleri aşağıda gösterilmiştir (Tablo 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9).

Tablo 4.4. Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanan *Heracleum platytaenium* Boiss. bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri

Bitki Bölümleri	Gövde	Kök	Çiçek	Yaprak	Meyve
Toplam Fenolik Madde					
Miktarı	27,0 ±0,19	46,02 ±1,02	130,44 ±0,57	112,42 ±0,00	80,0 ±0,90
(mg GAE/g)					

Tablo 4.5. Maserasyon ekstraksiyonu ile hazırlanan *Heracleum platytaenium* Boiss. bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri

Bitki Bölümleri	Gövde	Kök	Çiçek	Yaprak	Meyve
Toplam Fenolik Madde					
Miktarı (mg GAE/g)	28,16 ±0,00	47,68 ±0,70	129,66 ±0,07	105,04 ±0,00	83,87 ±1,01

Tablo 4.6. Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanan *Digitalis lamarckii* bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri

Bitki Bölümleri	Gövde	Kök	Çiçek	Yaprak
Toplam Fenolik Madde				
Miktarı (mg GAE/g)	72,78 ±0,03	153,42 ±0,50	58,82 ±0,10	70,54 ±0,38

Tablo 4.7. Maserasyon ekstraksiyonu ile hazırlanan *Digitalis lamarckii* bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri

Bitki Bölümleri	Gövde	Kök	Çiçek	Yaprak
Toplam Fenolik Madde				
Miktarı (mg GAE/g)	72,16 ±1,00	159,84 ±0,08	59,84 ±0,80	74,41 ±0,04

Tablo 4.8. Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanan *Geranium ibericum* bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri

Bitki Bölümleri	Gövde	Kök	Çiçek	Yaprak
Toplam Fenolik Madde				
Miktarı (mg GAE/g)	100,72 ±1,44	229,09 ±0,40	193,96 ±0,80	226,38 ±1,25

Tablo 4.9. Maserasyon ekstraksiyonu ile hazırlanan *Geranium ibericum* bölümlerinin toplam fenolik madde miktarı, Gallik Asit Eşdeğeri

Bitki Bölümleri	Gövde	Kök	Çiçek	Yaprak
Toplam Fenolik Madde				
Miktarı (mg GAE/g)	146,18 ±0,48	235,52 ±1,16	226,36 ±0,96	232,97 ±1,03

4.3. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

Yöntemde bitki bölümleri ayrı olarak soxhlet ve maserasyon ile ekstraksiyon yapıldı. Standart olarak BHT, BHA, gallik asit, C vitamini, trolox, α -tokoferol çözeltileri kullanıldı. Standart çözeltiler ve bitki ekstraktları analize hazırlanırken 20, 40, 60, 80, 100, 120 ve 140 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda hazırlandı. Analiz sonucunda ölçülen absorbans değerlerine göre DPPH radikalinin inhibe edildiği değerler aşağıdaki % inhibisyon eşitliğine göre hesaplandı. Spektrofotometrede 517 nm'de absorbans okuması gerçekleştirildi. Ölçülen absorbans değerlerinin azalışı, DPPH radikali uzaklaştırma aktivitesindeki artışı göstermektedir (Zhang ve ark., 2009).

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

A_{kontrol} : İçeriğinde sadece DPPH radikal çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbans değeri.

$A_{\text{örnek}}$: Örnek üzerine DPPH radikali içeren çözeltinin eklenmesinden sonra ölçülen absorbans değeri.

4.4. ABTS Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Bulguları

ABTS radikali giderme aktivitesi yönteminde bitki bölümlerine soxhlet ve maserasyon ile ekstraksiyon yapıldı. Standart olarak BHT, BHA, gallik asit, C vitamini, trolox, α -tokoferol çözeltileri kullanıldı. Analiz 20, 40, 60, 80, 100, 120 ve 140 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlardaki çözeltilere uygulandı. Analiz sonucunda ölçülen absorbans değerlerine göre ABTS radikalinin inhibe edildiği değerler aşağıdaki % inhibisyon eşitliğine göre hesaplandı. Spektrofotometrede 734 nm'de ölçülen absorbans değerlerinin azalışı, ABTS radikali uzaklaştırma aktivitesindeki artışı göstermektedir (Re ve ark., 1999).

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

A_{kontrol} : Sadece ABTS radikal çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbans değeri.

$A_{\text{örnek}}$: Örnek üzerine ABTS radikali içeren çözeltinin eklenmesinden sonra ölçülen absorbans değeri.

SC₅₀ (Süpürme Kapasitesi): Maksimum süpürme kapasitesinin %50'sini elde etmek için yeterli konsantrasyon olarak tanımlanmaktadır (Choi ve ark., 2002). SC₅₀ değerinin bulunabilmesi için farklı konsantrasyonlarda çalışmak gerekmektedir. Bu nedenle de çalışmalarda 7 farklı konsantrasyonda, 3 tekrar ile ölçümler yapılmıştır. Numunelerin yeterli miktarda farklı konsantrasyonu hazırlanıp absorbans ölçümleri yapılmış ve absorbanslar konsantrasyona karşı % inhibisyon cinsinden grafiğe geçirilmiştir. SC₅₀ değeri mg/mL ya da µg/mL cinsinden hesaplanabilir (Priyadharshini ve ark., 2011).

***Heracleum platytaenium* Boiss. bitkisinin ekstraktlarına ait serbest radikal giderme aktivitesi değerleri (SC₅₀);**

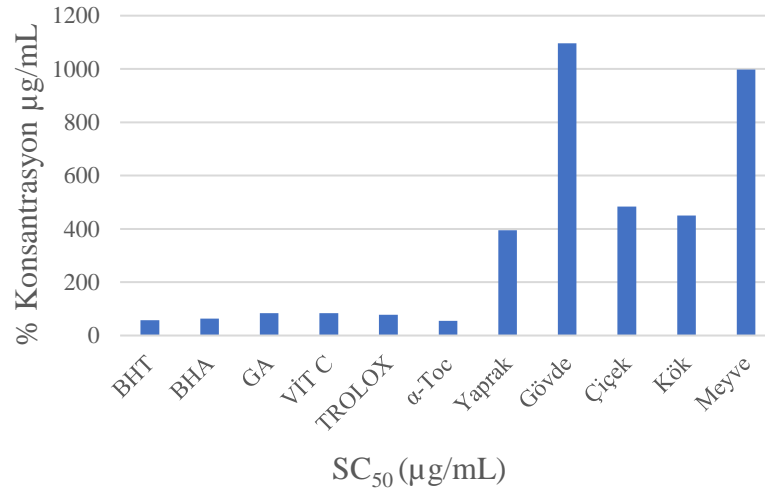
Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanmış *Heracleum platytaenium* Boiss. bölümleri ekstraktlarının, standart maddelerin çözeltileri ile birlikte ölçülen absorbans değerlerine göre hesaplanan SC₅₀ (µg/mL) değerleri ve bu değerlere ait DPPH ve ABTS SC₅₀ (µg/mL) grafikleri aşağıda gösterilmiştir (Tablo 4.10., Şekil 4.2., Şekil 4.3.).

Tablo 4.10. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen *Heracleum platytaenium* Boiss. ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC₅₀ (µg/mL) değerleri.

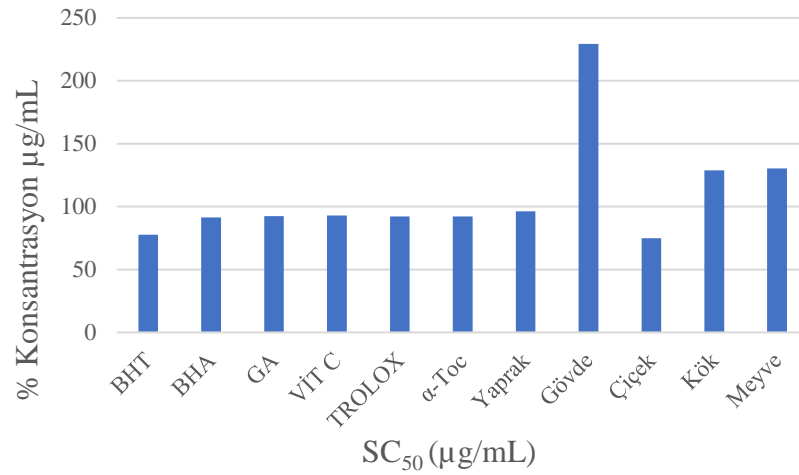
Örnek/Standart İsmi (µg/mL)	DPPH SC ₅₀ (µg/mL)	ABTS SC ₅₀ (µg/mL)
BHT	57,42	77,74
BHA	63,35	91,40

Tablo 4.10. (Devamı)

Örnek/Standart İsmi ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	ABTS SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
GA	84,30	92,42
VİT C	83,92	92,90
TROLOX	77,69	92,28
α -Toc	54,98	92,10
Bitki Bölümü		
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. Yaprak	395,34	96,15
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. Gövde	1096,87	229,34
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. Çiçek	483,34	74,95
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. Kök	450,00	128,82
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. Meyve	998,44	130,45



Şekil 4.2. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen *Heracleum platytaenium* Boiss. ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderme aktivitesi SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerlerine ait grafik.



Şekil 4.3. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen *Heracleum platytaenium* Boiss. ekstraktlarının ABTS serbest radikal giderme aktivitesi SC₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.

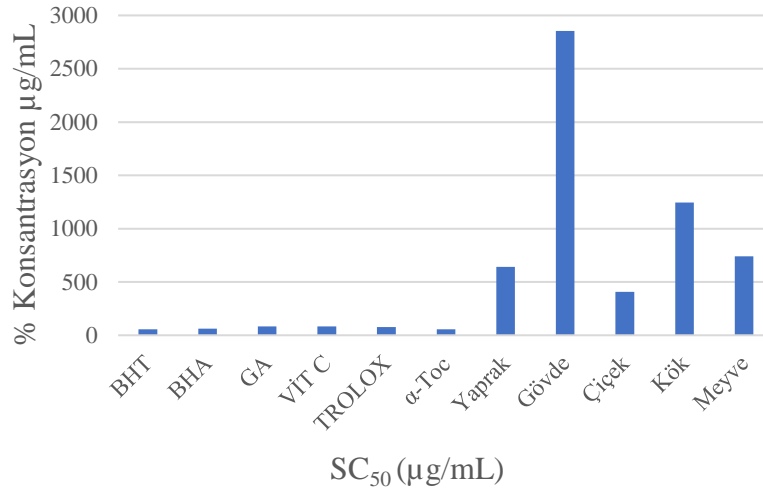
Maserasyon ekstraksiyonu ile hazırlanmış *Heracleum platytaenium* Boiss. bölümleri ekstraktlarının, standart maddelerin çözeltileri ile birlikte ölçülen absorbans değerlerine göre hesaplanan SC₅₀ (µg/mL) değerleri ve bu değerlere ait DPPH ve ABTS SC₅₀ (µg/mL) grafikleri aşağıda gösterilmiştir (Tablo 4.11., Şekil 4.4., Şekil 4.5.).

Tablo 4.11. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen *Heracleum platytaenium* Boiss. ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC₅₀ (µg/mL) değerleri.

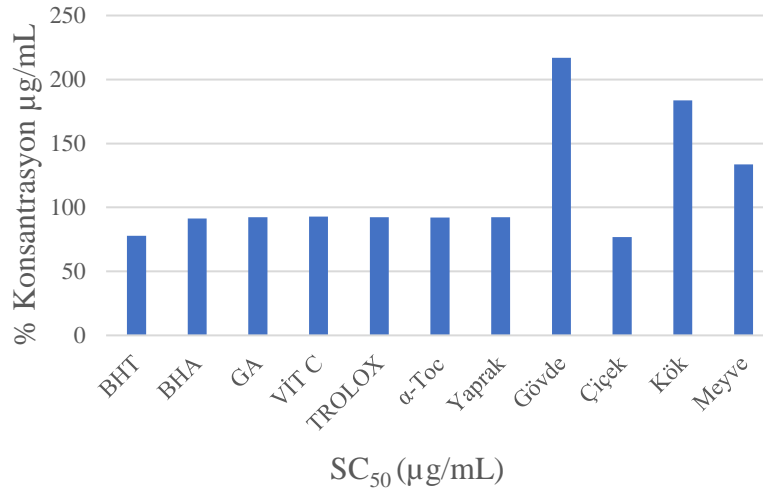
Örnek/Standart İsmi (µg/mL)	DPPH SC ₅₀ (µg/mL)	ABTS SC ₅₀ (µg/mL)
BHT	57,42	77,74
BHA	63,35	91,40
GA	84,30	92,42
VİT C	83,92	92,90
TROLOX	77,69	92,28
α -Toc	54,98	92,10
Bitki Bölümü		
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. Yaprak	640,21	92,41
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss. Gövde	2854,93	217,00

Tablo 4.11. (Devamı)

Örnek/Standart İsmi ($\mu\text{g/mL}$)		DPPH SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	ABTS SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss.	Çiçek	407,09	76,82
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss.	Kök	1246,39	183,59
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss.	Meyve	740,21	133,56



Şekil 4.4. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen *Heracleum platytaenium* Boiss. ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderme aktivitesi SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerlerine ait grafik.



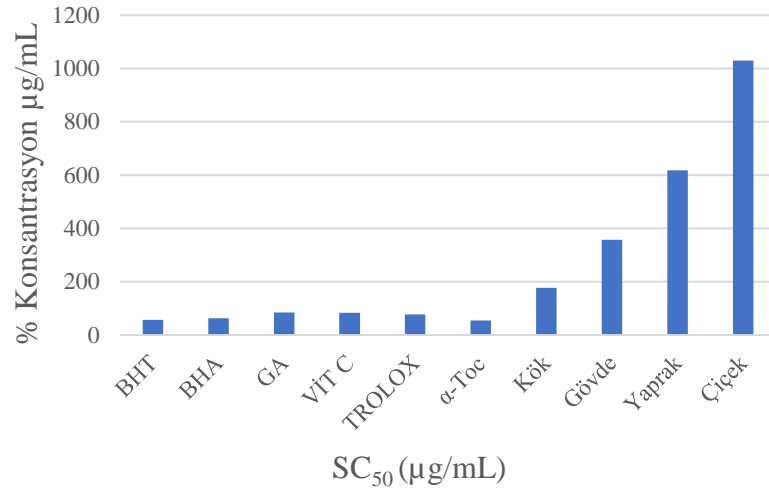
Şekil 4.5. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen *Heracleum platytaenium* Boiss. ekstraktlarının ABTS serbest radikal giderme aktivitesi SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerlerine ait grafik.

***Digitalis lamarckii* Ivan. bitkisinin ekstraktlarına ait serbest radikal giderme aktivitesi değerleri (SC₅₀);**

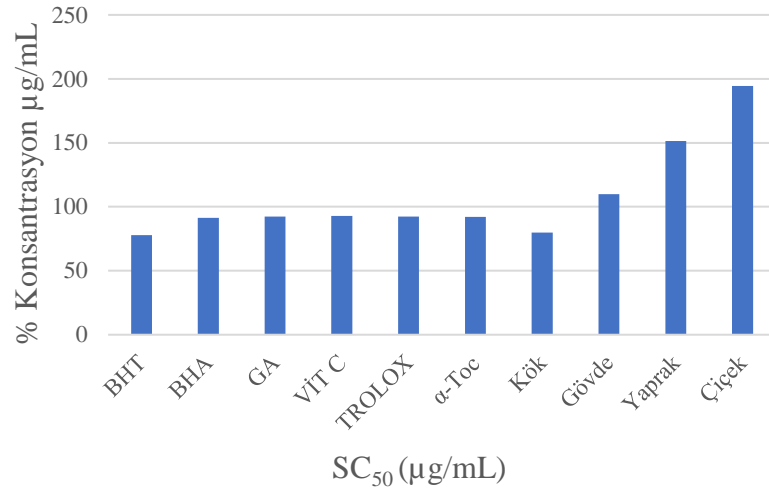
Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanmış *Digitalis lamarckii* bölümleri ekstraktlarının, standart maddelerin çözeltileri ile birlikte ölçülen absorbands değerlerine göre hesaplanan SC₅₀ (µg/mL) değerleri ve bu değerlere ait DPPH ve ABTS SC₅₀ (µg/mL) grafikleri aşağıda gösterilmiştir (Tablo 4.12., Şekil 4.6., Şekil 4.7.).

Tablo 4.12. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen *Digitalis lamarckii* ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC₅₀ (µg/mL) değerleri.

Örnek/Standart İsmi (µg/mL)	DPPH SC₅₀ (µg/mL)	ABTS SC₅₀ (µg/mL)	
BHT	57,42	77,74	
BHA	63,35	91,40	
GA	84,30	92,42	
VİT C	83,92	92,90	
TROLOX	77,69	92,28	
α -Toc	54,98	92,10	
Bitki Bölümü			
<i>Digitalis lamarckii</i>	Kök	177,44	79,86
<i>Digitalis lamarckii</i>	Gövde	357,70	109,85
<i>Digitalis lamarckii</i>	Yaprak	618,50	151,50
<i>Digitalis lamarckii</i>	Çiçek	1029,93	194,56



Şekil 4.6. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen *Digitalis lamarckii* ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderme aktivitesi SC₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.

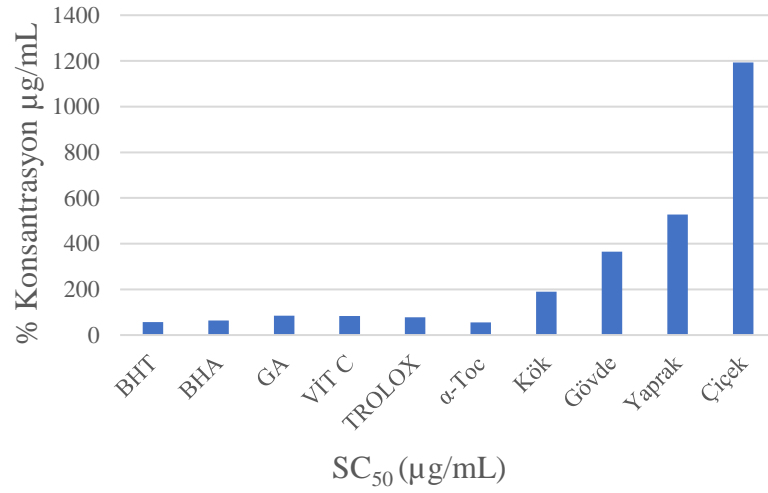


Şekil 4.7. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen *Digitalis lamarckii* ekstraktlarının ABTS serbest radikal giderme aktivitesi SC₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.

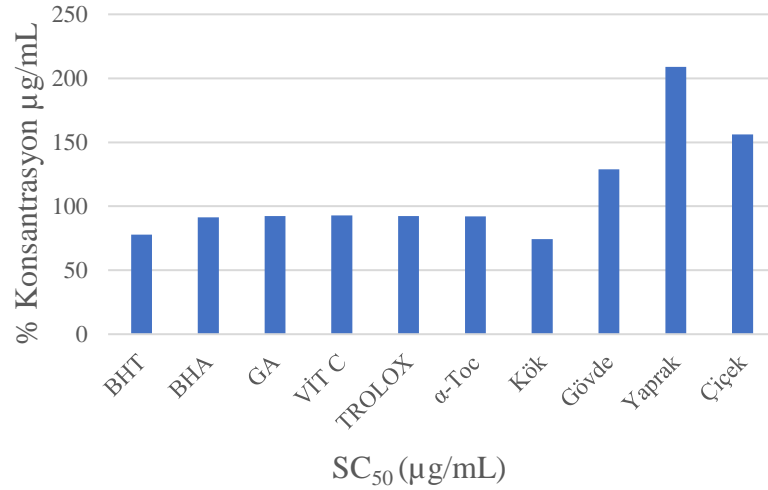
Maserasyon ekstraksiyonu ile hazırlanmış *Digitalis lamarckii* bölümleri ekstraktlarının, standart maddelerin çözeltileri ile birlikte ölçülen absorbans değerlerine göre hesaplanan SC₅₀ (µg/mL) değerleri ve bu değerlere ait DPPH ve ABTS SC₅₀ (µg/mL) grafikleri aşağıda gösterilmiştir (Tablo 4.13., Şekil 4.8., Şekil 4.9.).

Tablo 4.13. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen *Digitalis lamarckii* ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC₅₀ (µg/mL) değerleri.

Örnek/Standart İsmi		DPPH	ABTS
(µg/mL)		SC₅₀ (µg/mL)	SC₅₀ (µg/mL)
BHT		57,42	77,74
BHA		63,35	91,40
GA		84,30	92,42
VİT C		83,92	92,90
TROLOX		77,69	92,28
α -Toc		54,98	92,10
Bitki Bölümü			
<i>Digitalis lamarckii</i>	Kök	189,31	74,22
<i>Digitalis lamarckii</i>	Gövde	365,51	128,97
<i>Digitalis lamarckii</i>	Yaprak	528,26	208,99
<i>Digitalis lamarckii</i>	Çiçek	1192,79	156,12



Şekil 4.8. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen *Digitalis lamarckii* ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderme aktivitesi SC₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.



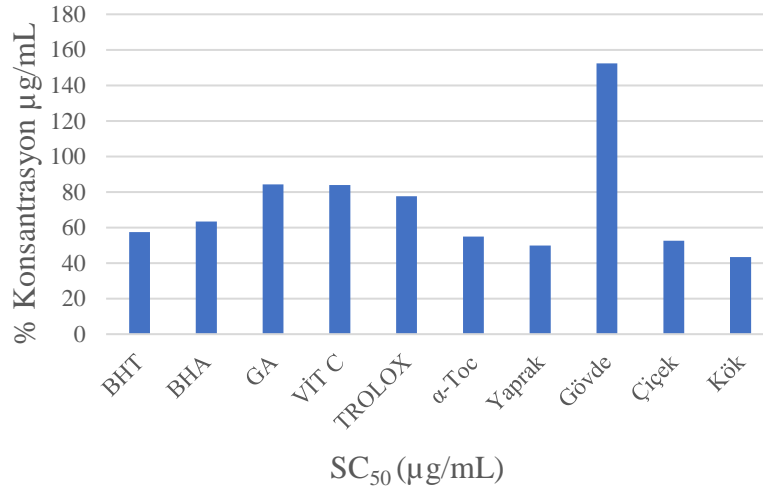
Şekil 4.9. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen *Digitalis lamarckii* ekstraktlarının ABTS serbest radikal giderme aktivitesi SC₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.

***Geranium ibericum jubatum* bitkisinin ekstraktlarına ait serbest radikal giderme aktivitesi değerleri (SC₅₀);**

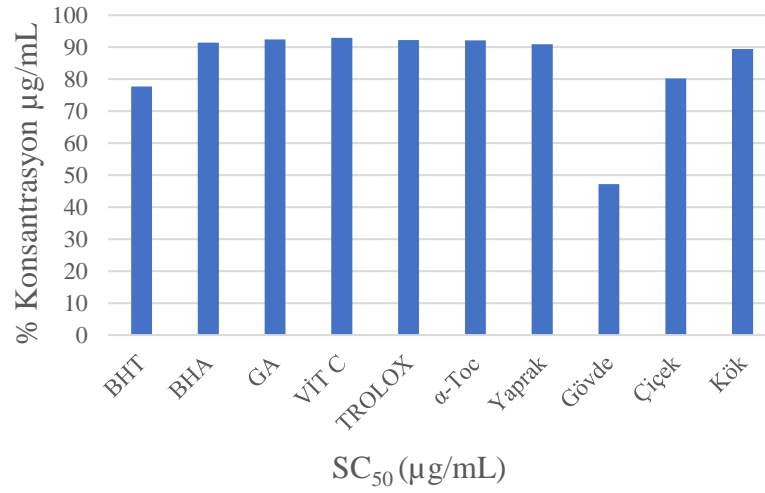
Soxhlet ekstraksiyonu ile hazırlanmış *Geranium ibericum* bölümleri ekstraktlarının, standart maddelerin çözeltileri ile birlikte ölçülen absorbans değerlerine göre hesaplanan SC₅₀ (µg/mL) değerleri ve bu değerlere ait DPPH ve ABTS SC₅₀ (µg/mL) grafikleri aşağıda gösterilmiştir (Tablo 4.14., Şekil 4.10., Şekil 4.11.).

Tablo 4.14. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen *Geranium ibericum* ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC₅₀ (µg/mL) değerleri.

Örnek/Standart İsmi (µg/mL)	DPPH SC ₅₀ (µg/mL)	ABTS SC ₅₀ (µg/mL)
BHT	57,42	77,74
BHA	63,35	91,40
GA	84,30	92,42
VİT C	83,92	92,90
TROLOX	77,69	92,28
α -Toc	54,98	92,10
Bitki Bölümü		
<i>Geranium ibericum</i> Yaprak	49,86	90,93
<i>Geranium ibericum</i> Gövde	152,44	47,24
<i>Geranium ibericum</i> Çiçek	52,58	80,19
<i>Geranium ibericum</i> Kök	43,33	89,47



Şekil 4.10. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen *Geranium ibericum* ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderme aktivitesi SC₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.



Şekil 4.11. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen *Geranium ibericum* ekstraktlarının ABTS serbest radikal giderme aktivitesi SC₅₀ (µg/mL) değerlerine ait grafik.

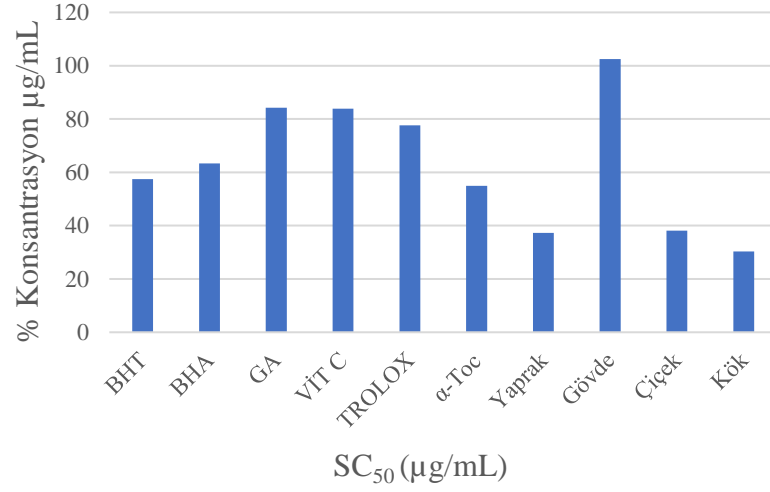
Maserasyon ekstraksiyonu ile hazırlanmış *Geranium ibericum* bölümleri ekstraktlarının, standart maddelerin çözeltileri ile birlikte ölçülen absorbans değerlerine göre hesaplanan SC₅₀ (µg/mL) değerleri ve bu değerlere ait DPPH ve ABTS SC₅₀ (µg/mL) grafikleri aşağıda gösterilmiştir (Tablo 4.15., Şekil 4.12., Şekil 4.13.).

Tablo 4.15. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen *Geranium ibericum* ekstrelerine ait DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin SC₅₀ (µg/mL) değerleri.

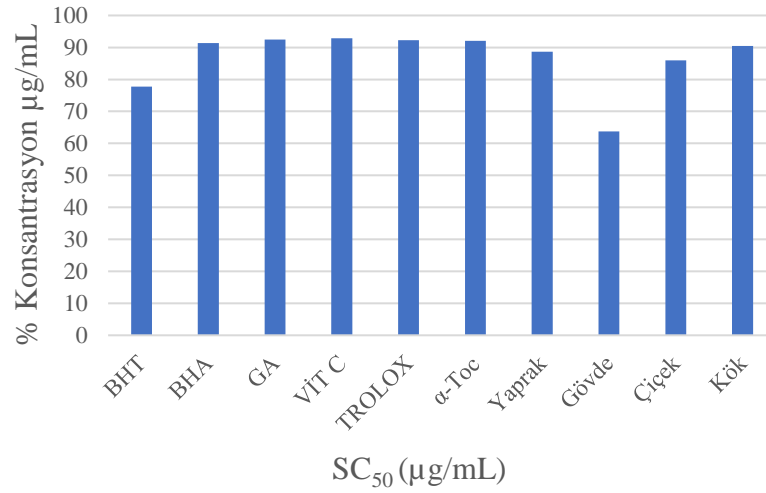
Örnek/Standart İsmi (µg/mL)	DPPH SC ₅₀ (µg/mL)	ABTS SC ₅₀ (µg/mL)
BHT	57,42	77,74
BHA	63,35	91,40
GA	84,30	92,42
VİT C	83,92	92,90
TROLOX	77,69	92,28
α -Toc	54,98	92,10
Bitki Bölümü		
<i>Geranium ibericum</i> Yaprak	37,25	88,62
<i>Geranium ibericum</i> Gövde	102,46	63,71

Tablo 4.15. (Devamı)

Örnek/Standart İsmi ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	ABTS SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Geranium ibericum</i> Çiçek	38,08	85,99
<i>Geranium ibericum</i> Kök	30,36	90,49



Şekil 4.12. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen *Geranium ibericum* ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderme aktivitesi SC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) değerlerine ait grafik.



Şekil 4.13. Maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen *Geranium ibericum* ekstraktlarının ABTS serbest radikal giderme aktivitesi SC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) değerlerine ait grafik.

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bütün bitkiler metabolizmalarında sekonder metabolit olarak, bitkinin kendi metabolizmalarındaki rolleri yeterince bilinmeyen çok sayıda fenolik madde oluşturmaktadırlar. Bu nedenle bitkisel kökenli bütün gıdalarda daima farklı nitelikte ve miktarda çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır. Son yıllarda bitkisel kökenli gıdalarda bulunan fenolik bileşiklerin yoğun bir şekilde incelenmesi, bunların insan sağlığı ile yakından ilişkisi olduğunun saptanmasından ve özellikle de kanser insidansını azalttığı yönündeki epidemiyolojik bilgilerden kaynaklanmaktadır.

Bütün bu temel bilgiler ışığında, tez çalışması kapsamında Giresun ili Eğribel Geçiti yakınlarında (Alpin Bölgesi) doğal olarak yetişen *Heracleum platytaenium* Boiss., *Digitalis lamarckii* Ivan. ve *Geranium ibericum jubatum* bitkilerinin MeOH ekstraktlarına DPPH serbest radikal giderme aktivitesi analizi, ABTS serbest radikal giderme aktivitesi analizi ve toplam fenolik madde miktarı analizi farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak UV-Vis Spektrofotometre ile belirlenmiştir.

Tez kapsamında, literatür taraması göz önünde bulundurulduğunda bitki ekstrelerinin elde edilmesi için son yıllarda ultrasonik banyo, mikrodalga ile çözümsüz ekstraksiyon gibi teknolojik cihazlar ve yöntemler kullanılmaktadır (Falleh ve ark., 2012; Mandal ve ark., 20017). Fakat mevcut laboratuvar imkanları ile soxhlet ve maserasyon olmak üzere iki yöntem kullanılmış ve bu yöntemlerin verileri ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Yöntemlerin aralarındaki fark sadece soxhlet yöntemindeki sıcaklıktır. Ekstraksiyon çözücüsü olarak referans çalışmalar dikkate alınarak polar olması ve çabuk uzaklaştırılabilmesi gibi sebeplerle metanol kullanılmıştır.

Soxhlet ve maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen bitki bölümlerinin MeOH özütleri, DPPH serbest radikal giderme, ABTS serbest radikal giderme ve FCR ile toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesi analizleri ile bitki bölümleri

antioksidan özellikleri bakımından test edilerek, antioksidan kapasiteleri ölçülmüştür. DPPH ve ABTS serbest radikali giderme aktivitesi analizlerinde, standart olarak sentetik antioksidanlar olan BHT, BHA, GA ve Trolox ile doğal antioksidan olan α -Toc, VİT C kullanılmıştır. FCR ile toplam fenolik madde miktarı analizinde ise standart fenolik bileşik olarak GA kullanılmış ve hesaplamaları buna göre yapılmıştır (Zengin ve ark., 2018; Han ve ark., 2018). Analizler, 3 tekrar ile gerçekleştirilip IBM SPSS Statistics 22 programı ile ortalama değerler ve standart sapmalar hesaplanarak, elde edilen tüm verilerden tezin araştırma bulguları kısmında geniş olarak bahsedilmiştir.

Deneysel bölümde elde edilen veriler grafikler ve tablolar halinde sunulmuştur. Toplam fenolik içerik ve toplam kuru madde miktarları belirlemek amacıyla yapılan analizler değerlendirilmiş ve bunun yanında antioksidan aktivite analiz sonuçları SC_{50} (ortamdaki serbest radikallerin konsantrasyonunun yarısını inhibe ettiği konsantrasyon) değerlerine dönüştürülerek her bir bitki türü için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda aşağıda her bir bitki türü için değerlendirmeler yapılmıştır. DPPH'ın kalibrasyon eğrisinden hesaplanan SC_{50} değeri ne kadar küçükse antioksidan aktivitesi de o kadar fazladır yorumu yapılabilmektedir. Bu ters orantının anlamı aynı miktar serbest radikali en düşük konsantrasyonda süpürebilen maddelerin daha kuvvetli aktivite göstermesinden kaynaklanmaktadır.

Deneysel bölümde anlatılan ve elde edilen veriler ışığında DPPH ve ABTS serbest radikali giderme aktivitesi değerleri (Tablo 4.10.-4.15.) çizilen grafiklerden elde edilen veriler daha anlaşılır ve kullanışlı olması sebebi ile SC_{50} değerlerine dönüştürülmüştür. SC_{50} değerleri elde edilirken, ekstraktların 7 farklı konsantrasyonu ile grafikler çizilmiş ve bu grafiklerden yararlanılarak hesaplanmıştır (Şekil 4.2.-4.13.).

***Heracleum platytaenium* Boiss. ile ilgili verileri değerlendirmeleri;**

Heracleum platytaenium Boiss. türünün gövde, kök, çiçek, yaprak ve meyve bölümlerinin toplam kuru madde içerikleri sırasıyla; %11,51, %19,56, %14,88, %19,95 ve %15,14 olarak tespit edilmiştir. Genel olarak tüm bölümlere bakıldığında *Heracleum platytaenium* Boiss. bitkisinin yüksek nem içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Soxhlet ve maserasyon yöntemi verileri dikkate alındığında, *Heracleum platytaenium* Boiss. bitkisi için yapılan tüm analizler sonucunda **en yüksek** fenolik içeriğe sahip kısmın “**çiçek**” olduğu sonucuna varılmıştır. Daha önce farklı ekstraksiyon metodları ile kimyasal analiz yapılan araştırmaların sonucunda da benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır (Cunha ve ark., 2004).

Heracleum platytaenium Boiss. türünün kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyve bölümlerinden hem soxhlet hem de maserasyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların, ABTS ve DPPH serbest radikali giderme aktivitesinde en düşük SC₅₀ değeri (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5), yani en yüksek % inhibisyon değeri, toplam fenolik içerik sonuçlarına paralel olarak “**çiçek**” bölümüne ve en düşük % inhibisyon değeri ise “**gövde**” bölümüne aittir. Daha önce bitki bölümlerinin kimyasal içeriklerini belirlemek amacıyla yapılan bazı çalışmalarda da bitki bölümleri arasında kimyasal içerik bakımından en zengin kısmın çiçek olduğu tespit edilmiştir (Velickovic ve ark., 2003).

Maserasyon ve soxhlet ekstraksiyonlarından elde edilen ekstraktlarla yapılan analizler sonucunda, birbirleri ile çok yakın değerler elde edilmiştir. Her iki ekstraksiyon yöntemi için de DPPH serbest radikali giderme aktivitesi en düşük % inhibisyon değerini “**gövde**” bölümü sergilemiştir. Her iki ekstraksiyon yöntemi sonuçları göz önüne alındığında farklı ekstraksiyon metodlarının, *Heracleum platytaenium* Boiss. bitkisi üzerinde önemli farklılıklar oluşturmadığı sonucuna varılmıştır.

***Digitalis lamarckii* Ivan. ile ilgili elde edilen verilerin değerlendirmeleri;**

Digitalis lamarckii Ivan. bitkisinin gövde, kök, iek ve yaprak kısımlarının toplam kuru madde içerikleri sırasıyla %45,51, %76,28, %27,66 ve %38,07 olarak tespit edilmiştir. Böylelikle taze şekilde elde edilen *Digitalis lamarckii* Ivan. bitkisi bütün olarak değerlendirildiğinde hemen hemen yarısının toplam kuru madde olduğu gözlemlenmiştir.

Toplam fenolik içerik analiz verilerine ait değerler tezin araştırma bulguları kısmında verilmiştir. *Digitalis lamarckii* Ivan. bitkisine ait veriler incelendiğinde en yüksek fenolik içeriğin “**kök**” bölümünde, en düşük fenolik içeriğin ise “**iek**” bölümünde olduğu görülmektedir.

Digitalis lamarckii Ivan. bitkisinin farklı bölümlere ait ekstraktlarına uygulanan ABTS ve DPPH serbest radikali giderme aktivitesi analizi sonucunda her iki ekstraksiyon yönteminde de en düşük SC₅₀ değeri yani en yüksek % inhibisyon değerini “**kök**” kısmı sergilemiştir (şekil 4.6, şekil 4.7, şekil 4.8, şekil 4.9). Araştırma bulguları kısmında verilen değerlerin yine toplam fenolik içerik verilerine paralel olduğu görülmektedir. Kök’ sırasıyla gövde, yaprak, iek takip etmektedir.

***Geranium ibericum jubatum* ile ilgili verileri değerlendirmeleri;**

Geranium ibericum jubatum için toplam kuru madde içeriğini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda gövde, kök, iek ve yaprak bölümleri sırasıyla %16,98, %44,78, %24,69 ve %30,63 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda *Geranium ibericum jubatum* bitkisinin yüksek nem içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarını belirlemek amacıyla yapılan analizlerde gallik asit cinsinden elde edilen veriler araştırma bulguları kısmında verilmiştir. En yüksek edilen ekstraktlara uygulanan toplam fenolik madde miktarı analizinde, en yüksek

değerden en düşük değere kök, gövde, çiçek ve yaprak kısımları sıralaması elde edilmiştir. Yine her iki ekstraksiyon verileri arasındaki fark oldukça azdır.

ABTS ve DPPH serbest radikali giderme aktivitesi sonucunda tüm bitki bölümleri, oldukça yüksek % inhibisyon değerleri sergilemiştir. En yüksek % inhibisyon değeri ve ayrıca en düşük SC₅₀ değeri DPPH için “**kök**” kısmında iken ABTS için “**gövde**” kısmına aittir. Her iki ekstraksiyon yönteminde de, bu bölümlerden elde edilen ekstraktların kullanılan 7 standart antioksidan maddeden daha fazla radikal giderme etkisine sahip olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak analizde kullanılan standart bileşikler dikkate alındığında *Geranium ibericum jubatum* bitkisinin oldukça yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir.(Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13)

Geranium ibericum jubatum bitkisi 2509,53 metreden toplanmıştır. Deniz seviyesinden yükseklerle çıktıkça atmosferin incelmeye sebebi ile bitki daha fazla ultraviyole ışığa maruz kalmakta ve savunma mekanizmasında daha fazla antioksidan üretmektedir. Bunun sonucunda yükselti ile orantılı olarak toplam fenolik madde içeriği artmaktadır (Martz, 2010).

Bitkilerin antioksidan içeriklerini belirlemek için yapılan çalışmaların çoğunda bitkilerin “**kök**” kısmında daha yüksek antioksidan ve fenolik içerik profili gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu durum bitkilerin kök kısımlarının diğer bölümlerine göre daha sert yapıda olarak toprak patojenlerine karşı fiziksel bariyer oluşturması, lignifikasyon ve direnç yapıları ile ilgilidir (Sakihama ve ark., 2002).

Yapılan bu tez çalışmasında analizi yapılan bitkilerin toplandığı araziye ait şimdiye kadar herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bitki türleri aynı olsa da toprak yapısı, yükselti vb. iklimsel koşulların değişmesiyle bitkinin kimyasal içeriği de değişiklik göstermektedir (Tolic ve ark., 2017; Kumar ve ark., 2017).

Gençaslan'ın 2007 yılında yaptığı tez çalışmasında 2300 metreden (Ankara) toplanılan *Digitalis lamarckii* Ivan. bitkisinin metanol ekstraktlarının DPPH için SC₅₀

değeri 6,0 µg/mL olduğunu belirtmiştir. Yapılan bu tez çalışması ile Gençaslan'ın verileri karşılaştırıldığında, Ankara bölgesinden toplanan (2300 m) *Digitalis lamarckii* Ivan. bitkisinin Giresun Alpin bölgesinden toplanan (1942 m) *Digitalis lamarckii* Ivan. bitkisinin antioksidan kapasitesinden daha yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu görülmektedir (kök kısmının SC₅₀ değeri 177 µg/mL).

Çalışılan üçüncü tür olan *Geranium ibericum jubatum* bitkisi ülkemizde Trabzon, Artvin, Bolu, Erzincan, Giresun, Gümüşhane, Ordu ve Rize'de tespit edilmiştir. *Geranium ibericum jubatum* bitkisi üzerine şimdiye kadar yapılan literatür çalışmalarında, bitki ekstraktlarına ait antioksidan kapasite tayinleri de dahil olmak üzere kimyasal içerik ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu sebeple bu tez çalışması *Geranium ibericum jubatum*'un ekstrelerinin antioksidan kapasite tayini hakkında yapılmış ilk bilimsel çalışma olmaktadır. Tez çalışmasının devamında *Geranium ibericum jubatum*'un çiçeklerinin esansiyel yağ içeriğinin belirlenmesi adına yeni çalışmalar da yapılacaktır.

Heracleum platytaenium Boiss., *Digitalis lamarckii* Ivan. ve *Geranium ibericum jubatum* bitkileri kendi aralarında genel bir mukayeseye tabi tutulduğunda ve analizde kullanılan standart maddelerden elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda en yüksek antioksidan kapasiteye *Geranium ibericum jubatum* bitkisinin sahip olduğu buna karşın *Heracleum platytaenium* Boiss. bitkisinin ise oldukça düşük antioksidan kapasiteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tez çalışmasında, bütün bitki türlerinin bölümleri metanol ile ekstrakte edilmiş ve elde edilen ekstraktlar analiz edilerek değerlendirilmiştir. Diğer taraftan bitkilerdeki antioksidan özellik gösteren kimyasal türlerin tamamının metanole geçmemiş olma ihtimali de bulunmaktadır. İki ekstraksiyon yöntemi arasında sıcaklık etkisi sebebi ile bir farklılık beklense de toplam fenolik içeriğe ve toplam antioksidan kapasiteye net bir etkisi görülemedi. Burada iki ekstraksiyon yöntemi arasında kesin bir karşılaştırma yapılmamış sadece elde edilen değerler arasında bir kıyaslama yapılmış ve birbirine yakın değerler tespit edilmiştir.

İki farklı yöntemle elde edilen ekstraktların antioksidan bileşik içeriğinin/çeşidinin belirlenmesi adına yapılacak kromatografik çalışmalar, bu yöntemler arasındaki net farkı ortaya koyabilecektir.

Son olarak; tez çalışmasının devamı için ve yeni çalışmalara rehberlik etmesi bakımından yapılacak/yapılabilecek çalışmalar aşağıda listelenmiştir.

Öneriler:

1. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ve farklı çözücüler ile elde edilecek ekstraktların analizleri ve kromatografik yöntemler kullanılarak yeni veriler elde edilebilir ve böylelikle tez içeriği genişletilebilir.
2. Bitki bölümlerine ait ekstraktlarındaki biyolojik aktif bileşiklerin belirlenmesi yoluna gidilebilir ve bu bileşiklerin aktivite dereceleri deney hayvanlarında *in vivo* deneylerle incelenebilir.
3. Farklı yüksekliklerden elde edilecek aynı tür bitkilerin içerikleri kalitatif ve kantitatif olarak belirlenip karşılaştırılabilir.
4. Apolardan polara farklı ekstraksiyon çözücülerini kullanarak antioksidan kapasite tayinleri tespit edilebilir.

KAYNAKLAR

- Aedo, C., 2005. (1680) Proposal to conserve the name *Geranium ibericum* against *G. montanum* (Geraniaceae) with a conserved type, International Association for Plant Taxonomy, 54/1 207-208.
- Aedo, C., Garcia, M.A., Alarcon, M.L., Aldasoro, J.J., Navarro, C., 2007. Taxonomic Revision of *Geranium* Subsect. *Mediterranea* (Geraniaceae), Systematic Botany, 32(1): pp. 93–128.
- Akçin, A., Seyis, F., Akçin, T.A., Çaycı, Y.T., Çoban, A.Y., 2013. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Endemic *Heracleum platytaenium* Boiss. from Turkey, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 166-171.
- Akıllılar, T. P., Tuğlu, B. Y., Moghaddam, S. N., 2018. Anticancer, antioxidant properties and phenolic, flavonoid composition of *Heracleum platytaenium* plant methanolic extracts, Marmara Pharm J; 22(3): 396-404.
- Albayrak, S., Sağdıç, O., Aksoy, A., 2010. Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 26(4):401-409.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E., 2004. Novel Total Antioxidant Capacity Index For Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in The Presence Of Neocuproine: CUPRAC method, J Agr Food Chem, 52:7970-81.
- Aras, A., 2016. Türkiye’de Yetişen Endemik (*Nepeta Nuda* Subsp. *Lydiae*) Bitkisine Ait Farklı Ekstrelerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi Ve Fenolik Bileşik İçeriklerinin LC-MC/MC İle Analizi, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Doktora Tezi.

- Ardağ, A., 2008. Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Arıcan, N.Ç., 2013. Gıda Maddelerinde Toplam Antioksidan Kapasite Düzeyinin Elektroanalitik Yöntemlerle Tayini, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD., Doktora Tezi.
- Başer, G.M., 2013. Biological And Chemical Characterization of Shalgam Juice, Yeditepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Baytop, T., 1999. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi, Nobel Tıp Kitabevi, Istanbul Turkey.
- Bektaş, E., Cüce, M., Sökmen, A., 2013. In vitro germination, protocorm formation, and plantlet development of *Orchis coriophora* (Orchidaceae), a naturally growing orchid species in Turkey, Turkish Journal of Botany, 37: 336-342.
- Benli, M, Yiğit, N, Geven, F, Güney, K, Bingöl, U., 2009. Antimicrobial activity of Endemic *Digitalis lamarckii* Ivan from Turkey, Indian J Exp Biol., 47(3):218-21.
- Benzie, I. F. F., Strain, J. J., 1996. Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ‘antioxidant power’; the FRAP assay, Analytical Biochemistry, 239, 70-76.
- Büyüktuncel, E., 2013. Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Başlıca Spektrofotometrik Yöntemler, Marmara Pharmaceutical Journal 17: 93-103.
- Cantley, L.VC., Josephson, L., Warner, R., Yanacısawa, M., Lechene, C., Guidotti, G., 1977. Vanadate Is a Potent (Na,K)-ATPase Inhibitor Found in ATP Derived from Muscle, The Journal Of Biological Chemistry, Vol. 252, No. 21, 7421-7423.
- Cao, G., Alessio, H. M., Cutler, R. G., 1993. Oxygen-Radical Absorbance Capacity Assay for Antioxidants, Free Radical Biology and Medicine, 14: 303-11.
- Cemeroğlu, B.S., 2013. Gıda Analizleri, 3. Baskı, Bizim Grup Basımevi, Ankara,1-7.

- Choi, C.W., Kim, S.C., Hwang S.S., Choi, B. K., Ahn, H.J., Lee, M.Y., Park, S.H., Kim, S.K., 2002. Antioxidant Activity and Free Radical Scavenging Capacity Between Korean Medicinal Plants and Flavonoids by Assay-Guided Comparison, *Plant Science* 163, 1161/1168.
- Cunha, A.B.S., Sawaya, A.C.H.F., Caetano, F.M., Sihimizu, M.T., Marcucci, M.C., Drezza, F.T., Povia, G.S., Carvalho, P.O., 2004. Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts., *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 15:6.
- Dinçel, D., 2011. Prangos Ilanae Ve Heracleum Platytaenium Bitkilerindeki Sekonder Metabolitlerin İzolasyonu, Antioksidan Ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin İncelenmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Yüksek Lisans Tezi
- Dinçel. D., Hatipoğlu. S. D., Gören. A. C., Topçu. G., 2013. Anticholinesterase furocoumarins from *Heracleum platytaenium*, a species endemic to the Ida Mountains, *Turkish Journal of Chemistry*, 37: 675 – 683.
- Eken, S. 2007. Bazı Materyallerde Antioksidan Tayinleri. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Falleh, H., Ksouri, R., Lucchessi, M.E., Abdelly, C., Magne, C., 2012. Ultrasound-Assisted Extraction: Effect of Extraction Time and Solvent Power on the Levels of Polyphenols and Antioxidant Activity of *Mesembryanthemum edule* L. Aizoaceae Shoots, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11 (2): 243-249
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M. S., 2011. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin. *Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi*, 52-67.
- Gençaslan, G., 2007. Türkiye’de Tıbbi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Antioksidan Etkilerinin Taranması, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Gossell-Williams, M., Simon, O., West, M., 2006. The past and present use of plants for medicines, *West Indian Medical Journal*, 55:4.

- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal Antioksidanlar, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23/ 85-89.
- Güzel, A., 2016. Satureja hortensis L. Bitkisinin Antioksidan Kapasite Ve Fenolik Bileşik Kompozisyonu Üzerine Lokasyon Ve Hasat Zamanının Etkilerinin Araştırılması, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD., Doktora Tezi.
- Han, H., Yılmaz, H., Gülçün, İ., 2018. Antioxidant Activity of Flaxseed (Linum usitatissimum L.) Shell and Analysis of Its Polyphenol Contents by LC-MS/MS, Records Natural Products, 12:4 397-402.
- Hüseyinoğlu, R., Yalçın, E., Macar, O., 2017. Flora of alpine grasslands of the Eğribel pass in the Giresun mountains (Turkey), Biological Diversity and Conservation, 10/1 6-17.
- Iscan, G., Ozek T., Ozek, G., Duran, A., Baser, K. H. C., 2004. Essential Oils of Three Species of Heracleum. Anticandidal Activity, Chemistry of Natural Compounds, 40, 6.
- Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 3954-3962.
- Karaman, Ş., 2008. Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Elma Çeşitlerinin Toplam Antioksidan Kapasitelerinin Ve Antioksidan Özellik Gösteren Başlıca Bileşenlerinin Karşılaştırılması, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Kasnak, C., Palamutoğlu, R., 2015. Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri, Gıda Bilim ve Teknolojileri Dergisi, 3(5):226-234.
- Katanic, J., Ceylan, R., Matic, S., Boroja, T., Zengin, G., Atakumsek, A., Mihailovic, V., Stanic, S., 2017. Novel perspectives on two Digitalis species: Phenolic profile, bioactivity, enzyme inhibition, and toxicological evaluation, South African Journal of Botany, 109: 50–57.

- Kılıç, S. C., Demirci, B., Coşkun, M., Başer, C. H., 2016. Chemical Composition of *Heracleum platytaenium* Boiss. (Apiaceae) essential oil from Turkey, *Nat. Volatiles & Essent. Oils*, 3(4): 13-23.
- Koca N., Karadeniz F., 2005, Gıdalardaki Doğal Antioksidan Bileşikler, *Gıda Dergisi*, 30 (4):229-236
- Kök, T., 2000. Orta Karadeniz Bölgesi'nde yayılış gösteren *heracleum platytaenium* Boiss.. (umbelliferae) üzerinde otekojik bir araştırma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Kumar, S., Yadav, A., Yadav, M., Yadav, J.P., 2017. Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Aloe vera* (L.) Burm.f., *BMC Res Notes*,10:60.
- Kuşoğlu, E., 2015. Aspir (*Carthamus Tinctorius L.*) Bitkisinin Fenolik Bileşiklerinin Ve Antioksidan Aktivitesinin Tayini, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD., Yüksek Lisans Tezi.
- Kutluay, V. M., Saraçoğlu, İ., 2018. Cytotoxic Effect of Some *Digitalis* Species; A Study of Selectivity, *FABA J. Pharm. Sci.*, 43(1), 25-29.
- Küçükyıldırım, T., 2017. Beyaz Dut Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Mandal, V., Mohan, Y., Hemalatha, S., 2007. Microwave Assisted Extraction - An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research, *Pharmacognosy Reviews*, 1,1.
- Martz, F., Jaakola, L., Julkunen-Tiitto, R., Stark, S., 2010. Phenolic composition and antioxidant capacity of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) leaves in northern Europe following foliar development and along environmental gradients, *Journal of Chemical Ecology*, 36, 9, 1017-1028.
- Meral, R., Doğan, İ.S., Kanberoğlu, G.S., 2012. Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Antioksidanlar, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(2):45-50.

- Miguel, L., Miguel, L., 2009. Digitoxin as an anticancer agent with selectivity for cancer cells: possible mechanisms involved, National Academy of Sciences, 106-9.
- Miller, N. J., Rice Evans, C. A., 1994. Total Antioxidant Status in Plasma And Body Fluids, Methods in Enzymology, 234, 279-293.
- Nizamlioğlu, N., Nas, S., 2010. Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 5(1): 20-35.
- Orhan, İ.E., Tosun, F., Vozniak, K., 2016. Cholinesterase and tyrosinase inhibitory, and antioxidant potential of randomly selected Umbelliferous plant species and the chromatographic profile of *Heracleum platytaenium* Boiss. and *Angelica sylvestris* L. var. *Sylvestris*, J. Serb. Chem. Soc. 81 (4) 357–368.
- Pimenov, M. G., Leonov, M.V., 2004. The Asian umbelliferae biodiversity database(ASIUM) with particular reference to south-west Asian taxa, Turkish Journal of Botany, 28, 139-145.
- Priyadharshini, S. D., and Sujatha, V., 2011. Comparative Study of Antioxidant Activities of *Cassia Auriculata* and *Cassia Siamea* Flowers, International Research Journal of Pharmacy, 2(12), 208-212.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biol. Med., 26, 1231-1237.
- Sakihama, Y., Cohen, M.F., Grace, S.C., Yamasaki, H., 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants, Toxicology 177, 67–80.
- Sanchez, M. C., Larrauri, J.A., Saura, C. F., 1998. A Procedure to Measure The Antiradical Efficiency of Polyphenols, Journal of The Science of Food And Agriculture, 76, 270-276.
- Sarı, A.O., Oğuz, B., Bilgiç, A., Tort, N., 2010. Ege ve Güney Marmara Bölgelerinde Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkiler, Journal of Aegean Agricultural Research Institute, 20(2): 1-21.

- Savcı, G., 2015. Hatay'da Yayılış Gösteren Bazı Geranium L. (Geraniaceae) Türlerinin Anatomik, Morfolojik Ve Palinolojik Özellikleri, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Ramesy, C., 2005. Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45:287–306.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics With Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, American Journal of Enology And Viticulture, 16, 144-158.
- Slinkard, K., Singleton, V.L., 1977. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28,49-55.
- Stanković, M. S., 2011. Total Phenolic Content, Flavonoid Concentration and Antioxidant Activity of Marrubium peregrinum L Extracts, Kragujevac J. Sci. 33,63-72.
- Tekeli, Y., Sezgin, M., 2007. Centaurea Carduiformis (Peygamber Çiçeği)nin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi SDÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi(E-dergi), 2(2), 204-209.
- Tolic, M.T., Krbavcic, I.P., Vujevic, P., Milinovic, B., Jurcevic, I.L., Vahcic, N., 2017. Effects of Weather Conditions on Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Juice of Chokeberries (Aronia melanocarpa L.), Pol. J. Food Nutr. Sci., 67:1, 67–74.
- Topçu, Ş., Çölgeçen, H., 2015. Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoreaktörlerde Üretilmesi, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 8 (2): 09-29.
- Tosun, A., Bahadır, Ö., Altanlar, N., 2006. Antimicrobial activity of Some Plants Used in Folk Medicine Turkey, Turkish J. Pharm Sci., 3(3),167-176.
- Utsukarçi, B.Ş., Gürdal, B., Taşkın, T., Tüysüz, M., Güzel, Ç.B., Tufan, S., Mat, A., 2017. Pedicularis condensata Türüne ait Anatomi ve Aktivite Çalışmaları, Marmara Pharmaceutical Journal, 21/3: 485-492.

- Velickovic, D.T., Randjelovic, N.V., Ristic, M., Velickovic, A.S., Smelcerovic, A.A., 2003. Chemical constituents and antimicrobial activity of the ethanol extracts obtained from the flower, leaf and stem of *Salvia officinalis* L., *J.Serb.Chem.Soc.*, 68(1)17–24.
- Verma, S. K., Yücesan, B. B., Şahin, G., Gürel, S., Gürel, E., 2011. Direct shoot regeneration from leaf explants of *Digitalis lamarckii*, an endemic medicinal species, *Turk J Bot* 35, 689-695.
- Verma, S. K., Das, A. K., Cingoz, G. S., Gurel, E., 2016. In vitro culture of *Digitalis* L. (Foxglove) and the production of cardenolides: An up-to-date review, *Industrial Crops and Products* 94, 20–51.
- Yavaşer, R., 2011. Doğal Ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Yıldız, L., 2007. Bazı Bitki Örneklerinde Antioksidan Kapasitenin Spektrofotometrik ve Kromatografik Tayini, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Yılmaz, K., 2010. Bazı Polifenollerin Nanoboyutta Hazırlanması Ve Antioksidatif Kapasitelerinin Belirlenmesi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD., Yüksek Lisans Tezi.
- Zengin, G., Bulut, G., Mollica, A., Allain, C.M.N., Mahomoodally, A.F., 2018. In vitro and in silico evaluation of *Centaurea saligna* (K.Koch) Wagenitz An endemic folk medicinal plant, *Computational Biology and Chemistry* 73: 120-126.
- Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wu, T., Wang, Z., 2009. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Food Chem.*, 113, 160-165.
- Wayner, D.D., Burton, G.W., Ingold, K.U., Locke, S., 1985. Quantitative Measurement of the Total, Peroxyl Radical Trapping Antioxidant Capability of Human Blood Plasma by Controlled Peroxidation the Important Contribution Made by Plasma Proteins. *Febs Lett*, 187:33-7.

ÖZGEÇMİŞ

Erhan Seyhan GEZEN 1992 yılında Antalya'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Antalya'da tamamladı. 2010 yılında lise öğrenimini okul ikinciliği ile tamamladıktan sonra 2011 yılında başladığı Giresun Üniversitesi Gıda Teknolojisi (Lisans) Bölümü'nü üçüncülük derecesi ile 2015 yılında bitirdi. 2014-2015 eğitim-öğretim yılında pedagojik formasyon eğitimini tamamladıktan sonra 2015 yılında Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı ve Temmuz 2018'de mezun olmaya hak kazandı.