

***ALYSSUM FLORIBUNDUM* BOISS. & BALANSA (BRASSICACEAE)  
BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN ANTİOKSİDAN ve  
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Yüksek Lisans Öğrencisi  
YASEMİN SALIK**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MERSİN  
OCAK-2019**

***ALYSSUM FLORIBUNDUM* BOISS. & BALANSA (BRASSICACEAE)  
BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN ANTİOKSİDAN ve  
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**YASEMİN SALIK**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA  
ANABİLİM DALI**

**Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Pelin EROĞLU**

**MERSİN  
OCAK-2019**

## ONAY

Yasemin SALIK tarafından Dr. Öğr. Üyesi Pelin EROĞLU danışmanlığında hazırlanan "Alyssum floribundum Boiss. & Balansa (Brassicaceae) Bitkisinden Elde Edilen Ekstratların Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Araştırılması" başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği/çokluğu ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Unvanı, Adı ve Soyadı	İmza
	Dr. Öğr. Üyesi Pelin EROĞLU	.....
	Prof. Dr. Fatih Mehmet EMEN	.....
	Doç. Dr. Göktürk AVŞAR	.....

Yukarıdaki jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ...../...../..... tarihi ve ...../..... sayılı kararlarıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Cahit BİLİM  
Enstitü Müdürü

*Bu tezde özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak gösterilmeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.*

## ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
  - Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
  - Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
  - Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
  - Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi
- beyan ederim.

## ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

...../...../ 2019

İmza / Signature

Yasemin SALIK  
Öğrenci Adı ve Soyadı / Student Name and Surname

## ÖZET

### **ALYSSUM FLORIBUNDUM BOISS. & BALANSA (BRASSICACEAE) BİTKİSİNDEN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN ANTIÖKSİDAN ve ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

#### **YASEMİN SALIK**

Bu çalışma kapsamında *Alyssum floribundum* Boiss. & Balansa (Brassicaceae) bitkisinin antioksidan aktivitesi ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Bu amaçla bitkinin kök, gövde ve yaprağın ayrı ayrı, etanol kullanılarak ekstraksiyonları yapıldı. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) serbest radikal giderme aktivitesi yöntemi kullanılarak ekstraktların antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar standart madde olarak kullanılan Bütil hidroksi tolüen (BHT) ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Etanol ile yapılan ekstraksiyonlar sonucunda bitkinin kurutulmuş yaprak, kök, ve gövdesinden ekstrakte edilebilen maddelerin yüzde verimi; % 15,84 - % 74,37 arasında bulunmuştur. DPPH• radikali giderme aktivitesinin tayin sonuçları; etanol ile hazırlanan ekstraktlar arasında en iyi aktiviteyi kök ekstraktı, en az aktiviteyi ise gövde ekstraktı göstermiştir.

*A. floribundum* bitkisinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için rezazurin mikropalak yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde kök, gövde, yaprak ve çiçek ekstraktlarının bakteriyel kültürlerinde antimikrobiyal aktiviteleri standart ilaç olarak kullanılan ampisilin ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri, maviden pembeye renk değişimini engelleyen en düşük konsantrasyon değeri elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Alyssum floribundum*, Endemik, Antioksidan, Serbest Radikaller, Antimikrobiyal, DPPH

**Danışman:** Dr. Öğr. Üyesi Pelin EROĞLU, Mersin Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS OBTAINED FROM *ALYSSUM FLORIDUM* BOISS. & BAL. (BRASSICACEAE) PLANT

YASEMİN SALIK

In this study, *Alyssum floribundum* Boiss. The antioxidant activity and antimicrobial activities of the & Balansa (Brassicaceae) plant were investigated. For this purpose, root, stem and leaf of the plant were separately extracted using ethanol. The antioxidant activity of the extracts was investigated using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH•) free radical scavenging activity method. The results obtained were compared with the butyl hydroxy toluene (BHT) used as standard. Percentage of substances extractable from the dried leaf, root, and bark of the plant as a result of the extractions made with ethanol; 15,84% - 74,37% were found between. Determination results of DPPH• radical scavenging activity; Among the extracts prepared with ethanol, the root extract showed the best activity and the trunk extract showed the least activity.

Resazurin microplate method was used to determine antimicrobial activities of *A. floribundum* plant. In this method, antimicrobial activities of root, stem, leaf and flower extracts in bacterial cultures were compared with ampicillin used as standard drug. As a result of the study, the minimum inhibition concentration (MIC) values were obtained and the lowest concentration value which prevented the pink color change was obtained.

**Keywords:** *Alyssum floribundum*, Endemic, Antioxidant, Free radicals, Antimicrobial, 2,2- diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH)

**Consultant:** Lecturer Dr. Pelin EROĞLU, Mersin University, Department of Chemistry

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca benden bilgi, destek, anlayış ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pelin EROĞLU'na,

Tez çalışmalarımda kullanılan bitkinin toplanmasında, teşhis edilmesinde değerli zamanını ayıran ve kıymetli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Doç.Dr. Rıza BİNZEZ'e,

Tezimin deneysel çalışmaları için laboratuvarında çalışma imkânı sağlayan Sayın Prof. Dr. Belgin GÖZMEN SÖNMEZ'e,

Tez çalışmasında antimikrobiyal aktivite tayini deneyi için kullanılan bakterilerin teminini sağlayan Mersin Üniveristesesi Eczacılık Fakültesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mahmut ÜLGER'e

Tezimle aynı adı taşıyan 2017-1-TP2-2148 kodlu projeme maddi destek sağlayan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan Serkan MUŞTU ve M. Ulaş CİVANER'e, tez çalışmamda kullandığım bitkinin öğütülmesine katkıda bulunan kardeşim Mustafa SALIK'a,

Ayrıca yaşamım boyunca bana maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bana güvenen ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme sonsuz teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ONAY</b>	i
<b>ETİK BEYAN</b>	ii
<b>ÖZET</b>	iii
<b>ABSTRACT</b>	iv
<b>TEŞEKKÜR</b>	v
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b>	vi
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	viii
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	ix
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b>	xi
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</b>	<b>4</b>
2.1. Serbest Radikaller	4
2.1.1. Serbest Radikal Çeşitleri	5
2.1.1.1. Hidroksil radikalleri (HO•)	5
2.1.1.2. Peroksi (ROO•) ve Alkoksi (RO•) radikalleri	6
2.1.1.3. Süperoksit anyonu (•O <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	7
2.1.1.4. Tekli oksijen ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> )	8
2.1.1.5. Azot monoksit (NO•)	8
2.1.2. Serbest Radikallerin Etkileri	9
2.1.2.1. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler Üzerine Etkileri	10
2.1.2.2. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri	10
2.1.2.3. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri	10
2.1.2.4. Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri	11
2.2. Antioksidanlar	12
2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması	13
2.3.1. Doğal Antioksidanlar	14
2.3.1.1. Vitamin A (Retinol)	14
2.3.1.2. Vitamin E (Tokoferol)	14
2.3.1.3. Vitamin C (Askorbik Asit)	15
2.3.1.4. Flavonoidler	16
2.3.1.5. Polifenoller	16
2.3.1.6. Karotenidler	17
2.3.2. Yapay Antioksidanlar	17
2.3.2.1. Bütillenmiş Hidroksianisol (BHA)	17
2.3.2.2. Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT)	18
2.3.2.3. Tersiyerbütil Hidrokinon (TBHQ)	19
2.3.2.4. Propilgallat (PG)	19
2.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	20
2.4.1. Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayalı yöntemler (HAT)	21
2.4.1.1. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Oksidasyonu (LDL)	21
2.4.1.2. Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC)	21
2.4.1.3. Toplam radikal yakalama parametresi (TRAP)	21
2.4.1.4. Luminol yöntemi	22
2.4.1.5. Fikoeritrin esaslı yöntemler (PE)	22
2.4.1.6. Diklorofloresin- diasetat (DCFH-DA) yöntemi	22
2.4.1.7. Krosin yöntemi	22
2.4.1.8. Toplam oksiradikal (TOSC) yöntemi	23
2.4.2. Elektron transferi reaksiyonlarına dayalı yöntemler (ET)	23
2.4.2.1. 2,2- difenil-1- pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürücü Aktivite Tayini	23
2.4.2.2. Demir İyonu İndirgeme Gücü Metodu (FRAP)	24
2.4.2.3. Kuprik İyonu İndirgeme Gücü Metodu (CUPRAC)	25



2.4.2.4. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Yöntemi (TEAC/ABTS)	25
2.5. Antimikrobialler	26
2.6. Çalışma Materyalinin Botanik Özellikleri	27
2.6.1. Brassicaceae Familyası ve <i>Alyssum</i> Cinsi	27
2.6.2. <i>Alyssum floribundum</i> Boiss.&Balansa	28
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b>	<b>30</b>
3.1. Materyal	30
3.1.1. Kimyasallar	30
3.1.2. Cihazlar	30
3.2. Yöntem	31
3.2.1. Bitkinin Kurutulması ve Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması	31
3.2.2. Çözeltilerin Hazırlanması	33
3.2.3. DPPH' Radikal Süpürücü Aktivite Testi	33
3.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	35
3.3.1. Resazurin Mikroplak Yöntemi	35
<b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA</b>	<b>37</b>
4.1. Antioksidan Aktivite Bulguları	37
4.2. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları	42
<b>5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER</b>	<b>46</b>
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	57

---

**TABLÖLAR DİZİNİ**

---

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Serbest radikalın ve radikal üreten türlerin özellikleri.	9
<b>Tablo 3.1.</b> Bitki ekstraktının etanol çözeltisi ile hazırlanan konsantrasyonları	33
<b>Tablo 3.2.</b> Kullanılan bakteriler ve kodları.	35
<b>Tablo 4.1.</b> Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesinin absorptans değerleri	38
<b>Tablo 4.2.</b> Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesinin % inhibisyon değerleri.	38
<b>Tablo 4.3.</b> <i>A. floribundum</i> bitkisinin ekstraktları ve grafik denklemleri	40
<b>Tablo 4.4.</b> <i>A. floribundum</i> bitkisinin ekstraktları ve IC <sub>50</sub> değerleri.	41
<b>Tablo 4.5.</b> Bakteriyal kültürlerine karşı test edilen ekstraktların ve referans ilaçların minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri (µg/mL).	42

---

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Sigma tekli oksijen ve delta tekli oksijen radikalleri.	8
Şekil 2.2. Hidroksil radikalının pürin ve primidin bazlarına etkisiyle oluşan son ürünler	10
Şekil 2.3. Proteinler içerisindeki aminoasitler ile serbest radikallerin tepkimesi sonucu oluşturabildiği yan ürünler	11
Şekil 2.4. Lipid peroksidasyonun reaksiyon aşamaları	12
Şekil 2.5. $\alpha$ - tokoferol'ün kimyasal yapısı.	15
Şekil 2.6. C vitamini (Askorbik asit) kimyasal yapısı.	15
Şekil 2.7. Temel flavonoid yapısı.	16
Şekil 2.8. Polifenol'ün kimyasal yapısı.	16
Şekil 2.9. Yaygın karotenoid türlerinin molekül yapısı.	17
Şekil 2.10. 3-tersiyerbütül-4-hidroksianisol ile 2-tersiyerbütül-4-hidroksianisol izomerlerinin kimyasal yapıları ve oranları.	18
Şekil 2.11. BHT' nin kimyasal yapısı.	18
Şekil 2.12. TBHQ'nun kimyasal yapısı.	19
Şekil 2.13. Propilgallat'ın kimyasal yapısı.	19
Şekil 2.14. Antioksidanların Sınıflandırılması.	20
Şekil 2.15. DPPH'ın antioksidan madde ile reaksiyonu.	24
Şekil 2.16. FRAP yönteminin kimyasal reaksiyonu.	24
Şekil 2.17. CUPRAC yönteminin kimyasal reaksiyonu.	25
Şekil 2.18. ABTS' nin kimyasal reaksiyonu.	26
Şekil 2.19. <i>A. floribundum</i> bitkisinin genel görünüşü ve çiçek yapısı.	28
Şekil 2.20. <i>A. floribundum</i> bitkisinin yayılış gösterdiği bölgeler.	29
Şekil 3.1. <i>A. floribundum</i> bitkisinin kurutulma işlemi.	31
Şekil 3.2. <i>A. floribundum</i> bitkisinin kök, çiçek, gövde ve yaprak kısımlarının soxhlet cihazında ekstraksiyon işlemi ve rotary evaporatörde çözücülerin uzaklaştırılması işlemi.	32
Şekil 3.3. <i>A. floribundum</i> bitkisinden elde edilen yaprak, gövde, kök ve çiçek özütleri.	32
Şekil 3.4. <i>A. floribundum</i> bitkisinin stok çözeltileri.	33
Şekil 3.5. Wellplate de numuneler ve Elisa (Thermo Scientific) cihazı.	34
Şekil 4.1. BHT ekstresinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği.	36
Şekil 4.2. Kök ekstresinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği.	38
Şekil 4.3. Gövde ekstresinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği.	38
Şekil 4.4. Yaprak ekstresinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği.	39
Şekil 4.5. Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal % inhibisyon değerleri.	39
Şekil 4.6. <i>A. floribundum</i> bitkisinden hazırlanan ekstraktların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.	40
Şekil 4.7. <i>A. floribundum</i> bitkisinden hazırlanan ekstraktların IC <sub>50</sub> değerlerinin karşılaştırılması.	41
Şekil 4.8. <i>S. aureus</i> ve <i>E. coli</i> bakteriyel kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon öncesi görüntüsü.	43
Şekil 4.9. <i>S. aureus</i> ve <i>E. coli</i> bakteriyel kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon sonrası görüntüsü.	43
Şekil 4.10. <i>A. baumannii</i> ve <i>A. hydrophila</i> bakteriyel kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon öncesi görüntüsü.	43
Şekil 4.11. <i>A. baumannii</i> ve <i>A. hydrophila</i> bakteriyel kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon sonrası görüntüsü.	44

<b>Şekil 4.12.</b> <i>B subtilis</i> bakteriyal kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon öncesi görüntüsü.	44
<b>Şekil 4.13.</b> <i>B subtilis</i> bakteriyal kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon sonrası görüntüsü.	45
<b>Şekil 4.14.</b> Standart ilacın (Ampisilin) bakteriyal kültürlerine karşı test edilen inkübasyon sonrası görüntüsü.	45

---

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma/Simge	Tanım
µg	Mikrogram
mL	Mililitre
Gr	Gram
Gr (+)	Gram pozitif
Gr (-)	Gram negatif
DPPH	2,2-difenil 1-pikrilhidrazil
BHT	Bütil hidroksi toluen
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
UV	Ultra viyole
HAT	Hidrojen atomu transferi
ET	Elektron transferi
YPSK	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ORAC	Oksijen radikali absorban kapasitesi
TRAP	Toplam radikal yakalama parametresi
DCFH-DA	Diklorofloresin- diasetat
TOSC	Toplam oksiradikal yöntemi
FRAP	Demir iyonu indirgeme gücü metodu
CUPRAC	Kübik azaltıcı antioksidan kapasite yöntemi
TEAC/ABTS	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemi
PG	Propilgallat
TBHQ	Tersiyerbutil hidrokinon
SOD	Süperoksit dismutaz
IC <sub>50</sub>	% 50 inhibisyona ulaşmak için gerekli antioksidan derişimi
MİK	Minimum inhibisyon konsatrasyonu
Ni	Nikel

## 1.GİRİŞ

Gomberg'in trifenilmetil radikalinin varlığını ispatlamasıyla ortaya çıkan serbest radikaller, bir orbitalde bir veya birden fazla ortaklanmamış elektron bulunduran kimyasal bir türdür. Serbest radikaller hava kirliliği, bozulmuş gıdalar ve ilaçlar gibi faktörlerden meydana gelmesi sonucunda oluşan serbest radikaller, vücuttaki hücrelere saldırarak tahribata yol açmaktadır (Özenç, 2011). Serbest radikalleri engellemek ya da zararını en aza indirmek için antioksidanlara ihtiyacımız vardır.

Antioksidanlar radikal oluşumunun azaltılması, radikal reaksiyonlarının sona erdirilmesi, oluşan radikallerin etkisiz hale getirilmesi ve hasarlı moleküllerin ortadan kaldırılmasından sorumlu olan moleküllerdir (Küçükçoban, 2009). Antioksidanlar vücutta çok kısa ömürlü olmasına karşın saldırgan olan serbest radikaller ile savaşır. Eğer serbest radikaller etkisiz hale getirilmezse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler (Yiğit, 2013). Yapılan araştırmalara göre bol miktarda sebze ve meyve tüketilmesi ile hastalıklara yakalanma riskinin azaldığı, kalp damar hastalıklarında, kanser vakalarında ve ölüm oranlarında kayda değer oranlarda azalmalar olduğu tespit edilmiştir (Arıdur, 2013).

Doğal antioksidanların aktiviteleri, kronik hastalıkların, DNA hasarlarının, mutasyonların, kanser oluşumunun azaltılması, patojenik bakteriyel gelişiminin inhibisyonu, biyolojik sistemlerde serbest radikal gelişiminin sonlandırılması gibi etkiler bitkilerin biyofonksiyonları ile yakından ilgili olduğu bilinmektedir. Son yıllarda antioksidan aktivite gösteren bitkilerin ilaç ve gıda gibi alanlarda kullanımları hakkında çok fazla sayıda çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar halen yoğun bir şekilde devam etmektedir. Bunun sebebi ise bitkilerin birer antioksidan olan karotenoit, flavonoit ve fenolik bileşik içeriği bakımından oldukça zengin olmaları ve bu bileşiklerin herhangi bir yan etkiye sahip olmamalarıdır (Silinsin, 2016). Bitkilerin antioksidan aktivite çalışmalarının yanısıra antimikrobiyal aktivite çalışmaları da giderek önem kazanmaktadır. Çünkü mikroorganizmaların ilaçlara karşı dirençliliği artmaktadır. Bu yüzden günümüzde antimikrobiyal aktivite çalışmaları için bitkisel materyallerin kullanılması giderek önem kazanmaktadır.

Antimikrobiyal maddeler ise çok az yoğunlukta bile mikroorganizma gelişimini engelleyen, biyolojik kökenli, sekonder metabolitlerdir (Güdücü, 2014). Antimikrobiyal maddede olması gereken en önemli özellik seçici toksisite olmasıdır (Taşdelen, 2013). Bitkilerin antimikrobiyal bileşikleri genel olarak esansiyel yağ kısmında bulunmaktadır ve bu bileşikler bitki aroma ve flavonlarından da sorumludurlar, genellikle distilasyon yöntemiyle elde edilirler. Antimikrobiyal aktivite; bitkinin türüne, çeşitliliğine,

konsantrasyonuna, hedef mikroorganizmanın türüne ve yüküne, gıdanın çeşitli olmasına, işleme ve depolama koşullarına bağlı olmaktadır (Faydaoğlu, 2013).

Ülkemiz’de yayılış gösteren bitki türlerinin sayısı, Avrupa kıtasının tamamında yayılış gösteren bitki türlerinin sayısına oldukça yakındır. 2012 yılında hazırlanmış olan “Türkiye Bitkileri Listesi Damarlı Bitkiler” adlı çek listede 3649’u endemik olmak üzere toplamda 11707 bitki taksonunun Türkiye’de yayılış gösterdiği belirlenmiştir (Güner, 2012).

Turgiller olarak da bilinen Brassicaceae familyası, daha çok kuzey yarım kürede, nadiren tropiklerde yayılış gösteren 338 cins ve 3700 türün yer aldığı bilinmektedir. Ekonomik öneme sahip olan Brassicaceae familyası, çoğunlukla tek yıllık, bir kısmı çok yıllık ve küçük çalı ya da yarı çalı olmak üzere çok sayıda çeşitliliğe sahip olan geniş bir familyadır (Koch ve ark. 2006; Al-Shehbaz ve ark., 2006; Kılınçarslan, 2016). Brassicaceae familyası Kuzey Amerika, Fransa, Almanya, Avusturya, İtalya, Yunanistan ve Türkiye’den olmak üzere 20 türe ait 40 örnek toplanmıştır. Genom sırasının aday genler arasında en zengin olduğu bilinen tür *Arabidopsis thaliana*'dır. (David, 2005).

*Alyssum* L. cinsi dünyada üç bölüm ve iki alt bölüm altında toplam 517 tür ile temsil edilmektedir (IPNI, 2016). Ülkemizde ise *Alyssum* cinsi 5 bölüme ayrılmış ve toplamda 90 türle temsil edilmekte olup bunlardan 54’ü endemiktir (Güner, 2012). Türkiye’deki yayılışları göz önüne alındığında çoğunluklu olarak yayılış gösterdikleri yer Doğu Akdeniz olarak belirlenmiştir (Babaoğlu ve ark., 2004). Adıgüzel ve ark. (2002) yaptıkları çalışmalarında *Alyssum* türlerinin birçoğunun Anadolu’da yetiştiği ve Ni belirleyicisi olabileceği vurgulanmıştır. *Alyssum* türüne ait cinslerdeki Ni biriktirme oranı göz önüne alındığında 168 *Alyssum* türü incelenmiş ve 45 Ni biriktirici tür olduğu tespit edilmiştir (Eren ve ark., 2017).

Türkiye florasının önemi neredeyse tüm *Alyssum* türlerinin ve yüksek seviyede metal biriktiren türlerinin yarısından fazlasının Türkiye’de yer almasından kaynaklanmaktadır (Eren ve ark., 2017). Türkiye’de bulunan *Alyssum* türlerinden yüksek seviyede metal biriktirenler *A. callichroum* Boiss.& Bal. *A. caricum* T.R. Dudley & Hub.-Mor., *A. cassium* Boiss., *A. cypricum* Nyar., *A. dubertretii* Gomb., *A. floribundum* Boiss. & Bal., *A. murale* Waldst & Kit. subsp. *murale*’ye ait iki ayrı morfolojik özelliğe sahip (var. *murale* ve var. *haradjianii* (Rech) T.R. Dudley, *A. pterocarpum* T.R. Dudley ve *A. samariferum* Boiss & Hausskn.’dur (Reeves ve Adıgüzel, 2008; Eren ve ark., 2017).

Spaniel ve ark. 2015 yılında kromozom sayısı ve poliploidi seviyelerini dikkate alarak Alysseae tribusunu sistematik olarak yeniden sınıflandırmışlar ve yeni sınıflandırmaya göre Alysseae tribusu 24 cins ve 277 tür olarak düzenlenmiştir. Bu yeni sistematik düzende proje konumuzu oluşturan *Alyssum floribundum* Boiss. & Bal. türü

*Odontarrhena floribunda* (Boiss. & Bal.) Spaniel, Al-Shehbaz, D.A.German & Marhold olarak revize edilmiştir (Spaniel ve ark., 2015).

Bu çalışmada, Brassicaceae familyasına ait olan endemik *Alyssum floribundum* Boiss. & Bal. türünün antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri belirlenmiştir. Özellikle *A. floribundum* bitkisinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi üzerine ilişkin literatürde bir çalışma bulunmadığından dolayı bu alandaki bilimsel bilgilere katkı sağlaması açısından önem teşkil etmektedir. Böylece bundan sonraki yapılacak çalışmalara da ilham kaynağı olacaktır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

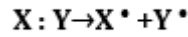


## 2.1. Serbest Radikaller

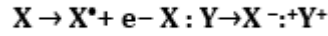
1900'lü yıllarda Gomberg'in serbest radikallerle ilgili yaptığı çalışmada trifenilmetil radikalinin ( $\text{Ph}_3\text{C}\cdot$ ) varlığını kanıtlamasıyla başladı (Gomberg, 1900). Atom ya da moleküllerin dış orbitallerinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron buldurmasına 'serbest radikal' denir (Jensen, 2003). Serbest radikaller, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve oldukça aktif moleküller olarak tanımlanır (Kılınçarslan, 2016).

Serbest radikallerde eşlenmemiş elektron, atom ya da molekülün üst kısmına nokta ile belirtilir. Çevrede ve hücrel koşullarda çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenler nedeni ile devamlı olarak bir radikal yapımı vardır (Arıdurur, 2009). Serbest radikaller üç yolla oluşur (Taşdelen, 2013):

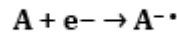
1. Kovalent bağlı bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisini alarak uygun sıcaklık ve enerjiye sahip ışığa maruz kalması sonucunda homolitik bölünür.



2. Bir molekülde bir elektronun kaybı ya da bir molekül heterolitik bölünür, kovalent bağ oluşturan her iki elektron atomlardan birinde kalır ve böylece serbest radikaller yerine iyonlar meydana gelir.



3. Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşur.



Serbest radikaller peroksidasyon denen zincir reaksiyonlarına sebep olduğu için insan metabolizmasını olumsuz etkilemektedir. Kalp-damar hastalıkları, kanser hastalıkları, eklem kireçlenmesi gibi serbest radikallerin olumsuz etkilerine örnek verilebilir (Göç, 2009). Aynı zamanda serbest radikaller hücrenin genetik metaryali olan DNA'yı da olumsuz etkilemektedir. Genetik kodları değişen hücreler ölür ve aşırı hücre ölümü sonucunda ise erken yaşlanmaya neden olur. Ayrıca genetik kodları değişen hücrelerde kanser ve benzer hastalıkların oluşumuna neden olan hücre grupları meydana gelebilmektedir (Floyd, 1990).

Meydana gelen serbest radikaller hücrelerde endojen ve eksojen kaynaklı faktörlere bağlıdır (Pham-Huy ve ark., 2008). Hücrede serbest radikali meydana getiren faktörler aşağıda sıralanmıştır (Arkan, 2011):

### **Endojen kaynaklar**

- Mitokondrial sızıntı

- Solunumsal patlama
- Enzim reaksiyonları
- Otoksidasyon reaksiyonları

### **Eksojen kaynaklar**

- Sigara dumanı,
- Alkol
- Ultraviyole ışını
- İyonize radyasyon
- Ksenobiyotikler
- Çevresel kirlenme
- İlaçlar
- Diet faktörleri

#### **2.1.1. Serbest Radikal Çeşitleri**

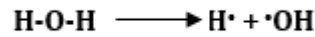
Başlıca serbest radikaller; hidroksi (OH•), peroksi (ROO•), süperoksit anyonu (•O<sub>2</sub>), tekli oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), alkoksi (RO•), azot monoksit (NO•) radikalleridir (Kaur & Kapoor, 2011).

##### **2.1.1.1. Hidroksil radikalleri (HO•)**

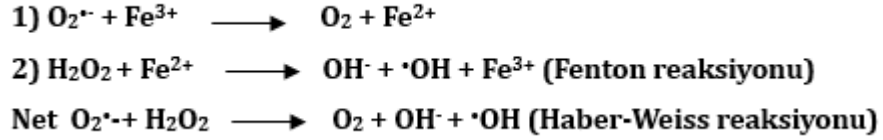
Hidroksil radikalleri oldukça reaktif olmalarına karşın kısa ömürlüdür (Özenç, 2011). Hidroksil radikalleri organizmada hasar verici serbest radikaldir ve hidrojen peroksidin reaksiyonu sonucunda oluşmaktadır (Akagün, 2009). Hidroksil radikali hücre içerisinde 10<sup>-9</sup> sn'lik bir yarılanma ömrüne sahip ve oksijen merkezli bir radikal türüdür. Hidroperoksitlerin (ROOH) parçalanması sonucu veya atomik oksijeninin su ile tepkimesi sonucu kolay bir şekilde meydana gelebilirler (Özenç, 2011).

Hidroksil radikali biyolojik koşullarda aşağıdaki yöntemlerle oluşabilir:

a) İyonlaştırıcı radyasyonun su molekülü ile reaksiyonu sonucu hidroksil radikali oluşur.



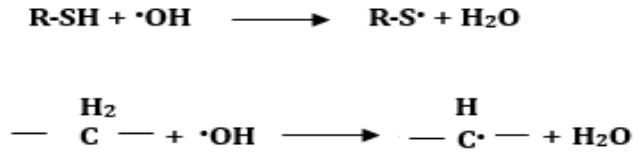
b) Geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonları ve süperoksit varlığında Haber-Weiss reaksiyonları sonucu hidroksil radikali oluşur.



c) Ozona (O<sub>3</sub>) elektron transferi sonucunda hidroksil radikali oluşabilir.

d) Hidrojen peroksitin fotolizi sonucu hidroksil radikali oluşur.

e) Radikal reaksiyonu sonucu oluşan organik radikal ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tepkimeye girmesi sonucu hidroksil oluşabilir.



Biyolojik sistemde güçlü radikaller hemen hemen tüm makro moleküller ile reaksiyon verebilir. Fakat öncelikli hedefi elektronca zengin bileşikler olan hidroksil radikaller, nükleik asit ve proteinler ile çeşitli tepkimeler vermektedir (Akagün, 2009).

#### 2.1.1.2. Peroksi (ROO•) ve Alkoksi (RO•) Radikalleri

Peroksil radikalleri (ROO•), oksijenin alkil radikalleri (R•) ile reaksiyonu sonucumeydana gelmektedir. Peroksil ve alkil radikalleri oluşumu sonucu alkil peroksitlerin (ROOH) bozunması gerçekleşir. Güçlü birer oksidasyon ajanı olan peroksil ve alkoksil radikalleri, indirgeme potansiyelleri ile birlikte diğer moleküllerden hidrojen koparabilirler. Bazı peroksil radikalleri süperoksit anyonunun oluşmasını durdurabilir ya da kendi aralarında reaksiyona girerek tekli oksijeni oluşturabilirler (Halliwell ve Gutteridge 1985; Koç, 2012)

Peroksi radikalleri çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu esnasında meydana gelen ara ürünlerdir. Lipit peroksidasyonu, membranda bulunan araşidonik asit veya linoleik asit gibi çoklu doymamış yağ asitlerinin yan zincirinden bir hidrojenatomunu koparacak kadar reaktiviteye sahip olan herhangi bir bileşik tarafından meydana getirilebilir. Araşidonik asit, prostaglandin, tromboksan ve lökotrienlerin ön bileşiğidir, özellikle hidrojen atomu koparılmaya meyilli olan birçok çift bağ içerir (Özenç, 2011).

Lipit peroksidasyonunun biyolojik önemi ve mekanizması hakkında birçok araştırma olmasına karşın, ölçümüyle ilgili yöntemler için görüş birliği olmadığı görülmektedir. DNA hasarı, hatalı DNA tamiri, proto-onkogen aktivasyon ve lipit

peroksidasyonunun son ürünlerinin bazı özellikleri arasındaki bağlantı, büyük oranda kanser promotörü olarak değerlendirilmektedir (Özenç, 2011).

### 2.1.1.3.Süperoksit anyonu ( $\cdot\text{O}_2^-$ )

Süperoksit radikali, hemen hemen bütün aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşur. Çevredeki ve hücredeki, enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarda kolayca oluşan ve milisaniyelik yarı ömre sahip bir radikaldir. Zayıf bir oksidan olmasına karşın güçlü bir indirgen özelliğine sahiptir (Akagün, 2009).

Süperoksit serbest radikaldir fakat çok toksik etkiye sahip değildir ve direkt olarak zarar vermez. Daha güçlü oksijen metabolitlerini açığa çıkarması sonucu etki gösterir ve en önemlisi de  $\text{H}_2\text{O}_2$  kaynağı olması ile birlikte geçiş metal iyonlarının indirgeni olmasından gelmektedir (Akagün, 2009 ).

Süperoksit radikali başlıca dört tip yöntem sonucunda oluşmaktadır (Kayış, 2010). Bunlar:

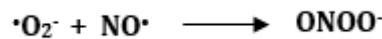
a) İndirgeyici özelliğe sahip biyomoleküller (hidrokinonlar, flavinler, tiyoller gibi), oksijene tek elektron verip, kendileri oksitlenmesi sonucu süperoksit radikali oluşumuna neden olur.

b) Dehidrogenazlar ve oksidazlar başta olmak üzere, enzimlerin katalizörler tarafından hızlandırılması sırasında süperoksit radikali oluşabilir.

c) NADH-dehidrojenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılarından oksijene, elektron transferi olduğundan dolayı, mitokondrideki enerji metabolizmasında tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonuçlanır.

d) Aktive edilen fagositik lökositler çok miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve buldukları ortama verir. Bu radikal yapımı antibakteriyel etki için gerekli olmasına karşın daha reaktif türlerin oluşumunu da katalizlemektedir.

Süperoksit fizyolojik bir serbest radikal olan nitrikoksit ( $\text{NO}\cdot$ ) ile birleşmesi sonucunda reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) meydana gelir ve bu şekilde nitrik oksit normal etkisi inhibe edilmiş olur (Akagün, 2009).

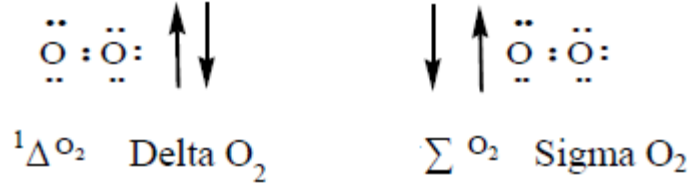


#### 2.1.1.4. Tekli oksijen ( $^1O_2$ )

Tekli oksijen radikal olmayan reaktif bir oksijen molekülüdür ve ortaklanmamış elektronu yoktur. Tekli oksijen, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olduğu gibi, serbest radikal reaksiyonlarının sonucunda da meydana gelir ve oldukça reaktiftir (Akagün, 2009).

Tekli oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal değildir. Oksijenin ortaklanmamış elektronları paralel spinli olduğundan dolayı oksijendeki spin kısıtlaması tekli oksijende yoktur ve oldukça reaktif bir oksijen bileşimidir. Delta ve sigma olmak üzere tekli oksijenin iki şekli vardır (Bektaş, 2011).

1. Sigma tekli oksijen: Enerjisi çok fazla ve kısa ömürlüdür (Özenç, 2011).
2. Delta tekli oksijen: Sigma tekli oksijenden daha uzun ömürlüdür ve özellikle oluşan kimyasal reaksiyonlardan sorumlu tür olduğu kabul edilmektedir (Özenç, 2011).



**Şekil 2.1.** Sigma tekli oksijen ve delta tekli oksijen radikalleri (Aydın, 2011)

Tekli oksijen, diğer moleküllerle reaksiyona girdiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon çift bağları tekli oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Tekli oksijen doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girmesi sonucunda peroksi radikalini oluşturur ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir. Doymamış yağ oranı yüksek bir hidrokarbon olan skualen serbest radikal gidericisi, tekli oksijenise söndürücü olarak görev yapmaktadır (Uğuzlar, 2009).

#### 2.1.1.5. Azot monoksit ( $NO\cdot$ )

Azot monoksit hücrel patofizyolojide çok önemli bir role sahiptir ve suda çözünebilen bir serbest radikal gazıdır. Vazodilatör (damar genişletici) mesajı endotelyumdan düz kasa taşıyan bir enerji taşıyıcısı olarak, santral ve periferel sinirsel aktarımda ve bağışıklıkta aktif rol alır ve parazitlerin öldürmesinde kullanılır (Akagün, 2009).

Azot monoksit organizmada, L-arginin ve oksijenden azot monoksit sentaz (NOS) yardımıyla sentezlenir. Hücreye ve hücre dışına taşınan  $NO\cdot$  miktarı çok hassastır. Çünkü

az miktardaki NO<sup>·</sup> metabolizma için faydalı iken fazlası ise son derece tehlikelidir. (Akagün, 2009).

**Tablo 2.1.**Serbest radikalin ve radikal üreten türlerin özellikleri (Halliwell, 1994).

<b>Serbest Radikalin ve Radikal Üreten Türün Özellikleri</b>		
<b>Adı</b>	<b>Simgesi</b>	<b>Kimliği</b>
Hidrojen radikali	H <sup>·</sup>	Bilinen en basit radikaldir.
Süperoksit radikali	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünüdür.
Hidroksil radikali	OH <sup>·</sup>	En toksik oksijen metaboliti radikaldir.
Hidrojen peroksit	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Reaktivitesi çok düşük ve moleküler hasar yeteneği zayıftır.
Singlet oksijen	O <sub>2</sub> <sup>·</sup>	Yarılma ömrü kısa ve güçlü oksidatif formdur.
Perhidroksil radikali	HO <sub>2</sub> <sup>·</sup>	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırmaktadır.
Peroksil radikali	ROO <sup>·-</sup>	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olma yeteneğidir.
Trikolorometil radikali	CCl <sub>2</sub> <sup>·</sup>	CCl <sub>4</sub> metabolizması ürünü ve karaciğerde üretilen bir radikaldir.
Tiyil radikali	RS <sup>·</sup>	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adıdır.
Alkoksil radikali	RO <sup>·</sup>	Organik peroksitlerin yıkımı sonucu üretilen oksijen metabolitidir.
Azot monoksit	NO <sup>·</sup>	L-argininden laboratuvar ortamında (in vivo) üretilir.
Azot dioksit	NO <sub>2</sub>	Azot monoksitin oksijen ile reaksiyonundan üretilir.

## 2.1.2. Serbest Radikal Etkileri

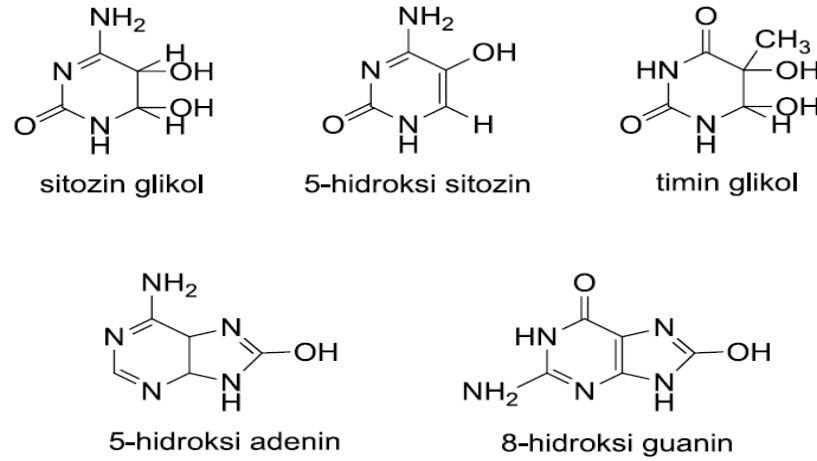
### 2.1.2.1. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisi sonucunda çeşitli ürünler meydana gelir. Bu ürünler patolojik süreçlerde önemli bir rol oynar (Şen, 2011). Fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayan glikoz, mannoz ve deoksi şekerler bunun sonucunda süperoksit, hidrojen peroksit ve okzoaldehytler meydana getirirler (Yeloğlu, 2014). Monosakkaritlerin okside olması protein çapraz bağlanmalarına yol açarak bazal membranın kalınlaşmasına ve katarakt gibi benzer hastalıkların oluşumuna neden olabilmektedir (Belyurt, 2014). Okzoaldehytler, karbonhidratlara, DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturabilme özelliği kazanır. Bu özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanma gibi olaylarda rol oynarlar (Akagün, 2009). Serbest radikalin arttığı durumlarda ya da antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu durumlarda diyabet ve diyabetin ileri safhası, koroner kalp hastalığı, eklem hastalığı, behçet hastalığı, çeşitli deri ve göz

hastalıkları, kanser gibi hastalıklar meydana gelmektedir. Ancak bu durumların serbest radikallerin artışının sebebi mi yoksa sonucu mu olduğu tam olarak bilinmemektedir (Özenç, 2011).

### 2.1.2.2. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere ve DNA' ya Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkilemesi sonucunda hücrede mutasyona ve ölüme neden olurlar. Serbest radikal hidroksil radikali ( $\text{HO}\cdot$ ), deoksiriboz ve bazlar ile kolayca etkileşerek reaksiyona girer ve değişikliklere neden olur (Aydın, 2011). Ayrıca sitotoksit aktivite gösteren nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), hücre zarından kolayca geçerek hücre çekirdeğinde nükleik asit hasarlarına neden olabilmektedir (Belyurt, 2014). Hidroksil radikali ( $\text{HO}\cdot$ ) DNA'nın yakınlarında oluşması durumunda pürin ve pirimidin bazlarına etki eder ve mutasyona neden olabilmektedir (Kayış, 2010).

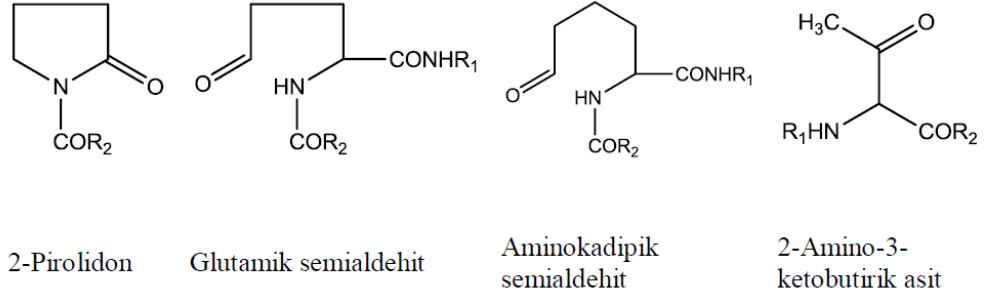


**Şekil 2.2.** Hidroksil radikalinin pürin ve pirimidin bazlarına etkisiyle oluşan son ürünler (Belyurt, 2014).

### 2.1.2.3. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinde karbonil grupların çoğalması ile serbest radikallerin açık hedefi haline gelmesi peptit bağlarını koparabilmektedir ve hücre zarındaki proteinleri yıkması sonucu hücrenin ölümüne sebep olabilmektedir (Bektaş, 2011). Proteinler serbest radikallerin sebep olduğu hasarlardan etkilenme derecesi içeriğindeki aminoasitlere bağlıdır (Kayış, 2010). Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküller serbest radikaller ile daha kolay etkilendiği için triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, ve sistein gibi aminoasitlere sahip olan proteinler serbest radikallerle daha kolay reaksiyona girer

(Karabulut & Gülay, 2016). Bunun sonucunda karbon merkezli radikalleri ve sülfür radikalleri meydana getirirler (Yeloğlu, 2014). Bu reaksiyon sonucunda ise çok sayıda kükürt içeren immünglobülin G ve albumin gibi proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur ve işlevlerini yerine getiremez hale gelir (Akagün, 2009).



**Şekil 2.3.** Proteinler içerisindeki aminoasitler ile serbest radikallerin tepkimesi sonucu oluşturabildiği yan ürünler (Belyurt, 2014 ).

HEM proteinleri de serbest radikallerden önemli ölçüde zarar görürler (Akagün, 2009). Buna en iyi örnek oksihemoglobinin süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) veya hidrojen peroksit ile (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) reaksiyonu sonucunda methemoglobin oluşturmasıdır (Yeloğlu, 2014).

Aminoasitlerin değişime uğraması (modifikasyonu), proteinlerin parçalara ayrılması (fragmantasyonu), proteinlerin çökmesi (agregasyonu) ve çapraz bağlanmalar serbest radikallerin proteinler üzerinde neden olduğu başlıca değişikliklerdir (Erenel ve ark., 1992).

#### 2.1.2.4. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Tüm biyomoleküller serbest radikaller tarafından zarar görmektedir. Ancak bunlar içerisinde en çok zarar gören biyomolekül ise lipidlere (Şen, 2011). Hücre zarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikaller ile reaksiyona girmesi sonucunda peroksidasyon ürünleri oluşmaktadır (Bektaş, 2011). Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu şeklinde ilerlediği için zararlıdır ve sebep olduğu hasarın geri dönüşümü yoktur (Şen, 2011).

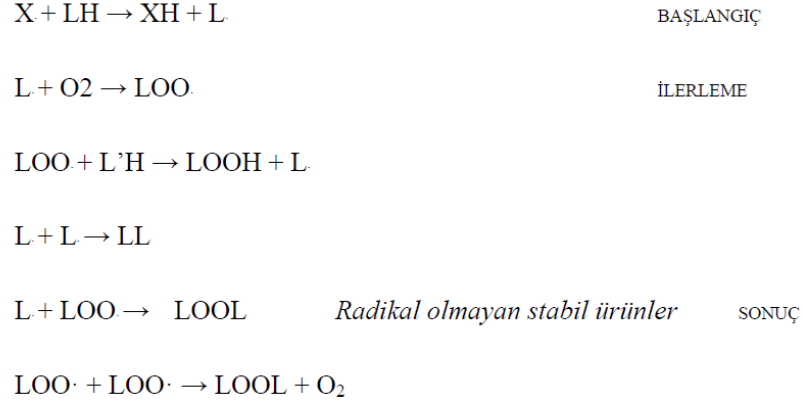
Lipid oksidasyonu başlangıç, ilerleme ve sonuç olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır:

1) Başlangıç reaksiyonunda başlatıcı bir radikal (X<sup>•</sup>) ile yağ asidinin (LH) reaksiyonu sonucunda H atomu transferi ile lipid radikali (L<sup>•</sup>) oluşmaktadır (Yeloğlu, 2014).



2) İlerleme reaksiyonunda oluşan lipid radikaline (L•) oksijen eklenmesi ile peroksi radikali (LOO•) meydana gelmektedir ve bu peroksi radikali diğer bir yağ asidi (L'H) molekülünden ayrılan H atomu ile birleşerek tekrar hidroperoksitlere ve yeni lipid radikallerine dönüşmektedir (Yeloğlu, 2014).

3) Sonuç reaksiyonunda ise oluşan radikaller birbirleri ile reaksiyona girmesi sonucunda radikal olmayan ester, eter, aldehit, keton ve alkol gibi hasara karşı direnç gösteren bozunma ürünlerine dönüşmektedirler (Yeloğlu, 2014).



**Şekil 2.4.** Lipid peroksidasyonun reaksiyon aşamaları (Yeloğlu, 2014).

## 2.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerin zararlı etkilerini nötralize ederek hücrelerin etkilenmesini önlemek veya kendini yenilemesini sağlayan maddelerdir. Antioksidanlar radikal oluşumun sınırlandırılması, radikal reaksiyonların sona erdirilmesi, oluşan radikallerin etkisiz hale getirilmesi ve hasarlı moleküllerin ortadan kaldırılmasından sorumlu olan moleküllerdir (Arıdur, 2013). Antioksidanlar vücutta çok kısa ömürlü olmasına karşın saldırgan serbest radikal olan moleküllerle savaşır. Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler.

Antioksidan bileşikler, bitkilerin tohumlarında, yapraklarında, çiçeklerinde, köklerinde ve kabuklarında bol miktarda bulunmaktadır. Yapılan araştırmalara göre bol miktarda sebze ve meyve tüketilmesi sonucu, hastalıklara yakalanma riskinin azaldığı, kalp-damar hastalıklarında, kanser vakalarında ve ölüm oranlarında kayda değer azalmalar olduğu tespit edilmiştir (Arıdur, 2013).

Canlılar, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların meydana getirdiği zararı engellemek için çeşitli savunma mekanizmalarına sahiptir. Bu mekanizmalara antioksidan savunma sistemleri denir (Taşdelen, 2013). Antioksidan ajanlar oksidan moleküllere karşı etkilerini dört yolla gösterirler. Bunlar:

1. Süpürme (Scavenging) etkisi gösterenler: Radikal oluşumunu engelleyerek oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimler ve metal bağlayıcı bazı proteinler süpürme etkisi gösteren antioksidanlara örnek verilebilir (Arkan, 2011).

2. Giderme/Söndürme (Queching) etkisi gösterenler: Oksidanlar ile etkileşerek, onlara bir hidrojen aktarması sonucunda aktivitelerini söndürerek inaktif hale getiren bileşiklerdir. Buna örnek olarak, vitaminler (A, C ve E vitaminleri), flavonoidler, mannitol ve antosiyanidinler verilebilir (Arkan, 2011).

3. Zincir reaksiyonlarını kırma (Chain Breaking) etkisi gösterenler: Zincirleme olarak devam eden reaksiyonları belli yerlerinden kırarak, oksidan moleküllerini kendilerine bağlaması sonucunda etkisiz hale getirirler. Buna örnek olarak ürik asit, bilirubin ve albümin verilebilir (Arkan, 2011).

4. Onarma (Repair) etkisi gösterenler: Hasara uğrayan biyomolekülü onarması sonucunda oksidan moleküllerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırır. Buna örnek olarak DNA tamir enzimleri, metionin sülfoksit redüktaz gösterilebilir (Arkan, 2011).

Canlılarda reaksiyonlar sonucu oluşan serbest radikaller, çoğu zaman lipid oksidasyonuna ve buna bağlı olarak hücre ölümlerine neden olurlar. Koruyucu özelliğe sahip madde olan, antioksidan bir maddenin oksidasyonunun çeşitli aşamaları yukarıda belirtilen dört yöntem ile gösterilmiştir (Arkan, 2011).

### **2.3. Antioksidanların Sınıflandırılması**

#### **2.3.1. Doğal Antioksidanlar**

Günümüzde sentetik antioksidanların zararlı etkilerinden dolayı pek çok ülkede kullanımına sınırlama gelmiştir. Bu yüzden doğal antioksidanların önemi giderek artmış ve bilim insanları tarafından araştırma konusu olmuştur.

Bitkisel kökenli doğal antioksidanlar reaktif oksijen ve nitrojen reaktiflerini süpürme özelliğine sahiptir. İnsan vücudunda oksidatif hastalıkların başlamasını önleyebilmeleri açısından oldukça önemlidir (Güvenilir, 2016). Başta flavonoidler olmak üzere doğal antioksidanların pek çoğu, antibakterial, antiviral, antiinflamatuvar, antialerjik ve antitrombotik özellikleri ile birlikte geniş bir biyolojik etki sergilemektedir. Başlıca doğal antioksidanlar vitamin A, vitamin E, vitamin C, flavonoidler, polifenoller, karotenoidlerdir (Arkan 2011).

### 2.3.1.1. Vitamin A (Retinol)

15 C'lu doymamış zincirli bir alkoldür ve alkol olduğu için genellikle ester oluşturur, yüksek karbonlu yağ asitleri ile esterleşmiş durumdadır. Bunlar hava oksijeni, sıcaklık, ışık etkisi, katalizörler gibi fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı dayanıklıdır (Metin, 2012).

A vitamininin güçlü bir tekli oksijen temizleyicisi olan  $\beta$  karoten düşük oksijen seviyelerinde etkili olduğu için daha yüksek oksijen seviyelerinde etkili olan vitamin E'nin antioksidan etkisinin tamamlayıcısıdır. Vitamin A ayrıca lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu önler. Bu da hidroksil, peroksil ve alkoksil radikallerinin doğrudan reaksiyona girmesi sonucunda oluşur (Kayış, 2010)

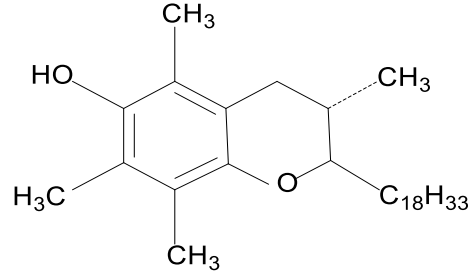
Bu vitaminin özellikle göz sağlığı, cilt ve bağışıklık sistemi üzerinde oldukça önemlidir. Özellikle büyüme çağında çok gerekli olan bu vitamin, hamilelik ve emzirme dönemleri için de önem taşımakta ve hücrelerin yeniden yapılanmasında rol oynamaktadır (Metin, 2012).

Doğal A vitamini bulunan bazı kaynakları; süt ürünleri, ciğer, balık, yumurta, havuç, ıspanak ve brokoli gibi yeşil yapraklı sebzeler ile kayısı ve şeftali gibi meyvelerdir (Metin, 2012; Arıduru, 2013). Günlük alınması gereken doz miktarı, kadınlar için 600 mikrogram, erkekler için 700 mikrogram olarak belirlenmektedir. Örneğin bir porsiyon ciğerde günlük dozun sekiz katı bulunmaktadır (Metin, 2012).

### 2.3.1.2. Vitamin E (Tokoferol)

Tokoferoller bitkilerde oldukça sık rastlanan ancak hayvansal dokularda çok az bulunan antioksidan türevleri olmakta ve ilk kez 1930'lu yıllarda vitamin aktiviteleri ile fark edilmişlerdir (Eken, 2007).

E vitamini doğada  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ -,  $\gamma$ -tokoferoller ve tokotrienoller olmak üzere 8 farklı izomerik yapısı bulunmaktadır. Özellikle  $\alpha$ -tokoferol, yüksek biyolojik aktiviteye sahiptir ve vitaminlerin en güçlüsüdür. Yiyeceklerde ise yaygın şekilde bulunmaktadır (Landvik *et al.*,1998).

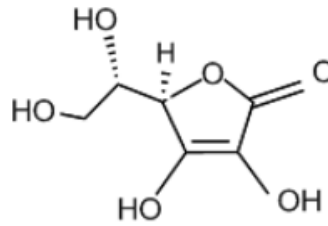


**Şekil 2.5.**  $\alpha$ - tokoferol'ün kimyasal yapısı(Ardağ, 2008).

E vitamini ısıya dayanıklıdır ve böylece pişirilme gibi durumlarda bozunmaz. E vitamini haricinde, farklı maddelerde bulunan tokoferoller ise çoğu zaman bozunabilir. Yağda kızartma ve tahılların öğütülmesi esnasında E vitaminleri de bozunacağından, E vitamini içeren besinler yağda kızartılmadan, tahıl ürünleri ise kepekli olarak tüketilmelidir (Arıdur, 2013). Yapılan çalışmalar sonucunda düzenli olarak E vitamini alınması durumunda çeşitli hastalıkların ( kalp-damar, erken yaşlanma, şeker ve kanser gibi) önlenmesinde önemli katkıları olduğu tespit edilmiştir (Özenç, 2011).

### 2.3.1.3. Vitamin C (Askorbik Asit)

C vitamini (askorbik asit, askorbat) bitkilerde yaygın olarak bulunan, suda çözünen bir vitamindir. Altı karbonlu lakton yapısına sahip ve kolayca bozunabilen bir bileşiktir. Organizmada birçok bileşik için indirgeyici görevi görmekte ve güçlü bir indirgeyici olduğu için güçlü bir antioksidandır (Akagün, 2009 ; Aydın, 2012). C vitamini insanlar için zorunlu bir antioksidan kaynağıdır. Çünkü vücuda sağlamlık veren kolajen üretiminden alyuvarların işlemesine kadar birçok görevi vardır (Özenç, 2011).

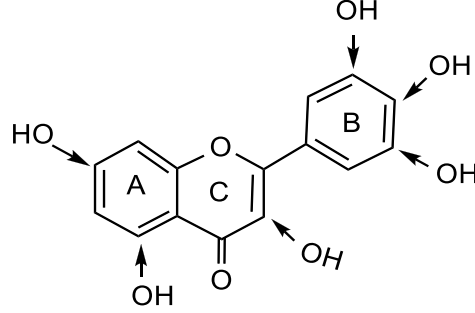


**Şekil 2.6.** C vitamini (Askorbik asit) kimyasal yapısı (Aydın, 2012).

C vitamini hayvansal besinlerde bulunmakla beraber bitkisel besinlerde de bulunmaktadır. En çok yabani gül tohumu, limongiller, kuş üzümünde bulunur. Taze sebze ve meyvelerde, özellikle portakal greyfurt, turuncgillerde, çiğ lahana, domates ve şalgamda bulunur. Vücutta depolanmadığından dolayı, her gün düzenli olarak alınması gerekir (Metin, 2012).

### 2.3.1.4. Flavonoidler

Flavonoidler; önemli bir antioksidan olup, şelatlama özelliğine sahip, düşük molekül ağırlıklı ve yaygın bitki fenolikleri sınıfıdır. 6 karbonlu A, B ve C halkalarından oluşan heterosiklik bileşikler, hetero halkanın yükseltgenme derecesine göre farklılaşmaktadır. A ve B aromatik halkalar, C ise hetero halka olarak ifade edilmektedir (Özenç, 2011).

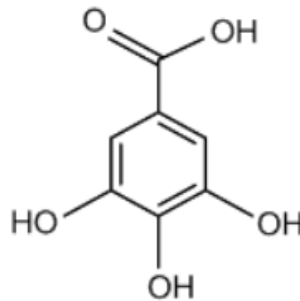


**Şekil 2.7.** Temel flavonoid yapısı (Aydın,2011).

Doğada, birçoğu yaprak, çiçek ve kökte bulunan 4000'den fazla flavonoid çeşidi bulunmaktadır. Flavonoidler meyve, sebze, şarap, kakao ve çayda bol miktarda bulunmaktadır. Antioksidan aktivitelerini belirleyen ve aromatik halkalara bağlı olan birçok fenolik hidroksil grupları içermektedirler. Metal şelatlama, lipid peroksidasyonunu engelleme, reaktif oksijen türlerini içeren diğer prosesleri azaltma özelliklerine sahiptir (Özenç, 2011).

### 2.3.1.5. Polifenoller

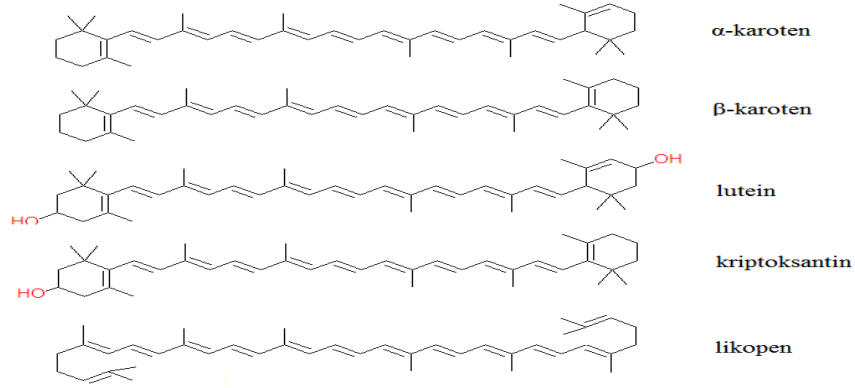
Polifenoller, fitokimyasalların en geniş sınıflarından biridir ve bitki aleminde yaygın şekilde bulunmaktadırlar. Polifenoller güçlü antioksidanlardır ve aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır (Aydın, 2012).



**Şekil 2.8.** Polifenol'ün kimyasal yapısı (Güvenilir, 2016 ).

### 2.3.1.6. Karotenoidler

Bitkilerde yaygın olarak bulunan karotenoidler, yağda çözünebilen doğal renk veren bileşiklerdir (Akagün, 2009). Karotenoidlerin önemli kaynakları sebze ve meyvelerdir. Doğada 600'den fazla karotenoid türü tespit edilmiştir. Ancak yaklaşık olarak 40 tanesi tüketilen besinlerde mevcuttur. Bunların % 90'ı  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten, likopen, lutein ve kriptoksantin bileşiklerini içermektedir (Tünek, 2015).



**Şekil 2.9.** Yaygın karotenoid türlerinin molekül yapısı (Tünek, 2015).

### 2.3.2. Yapay Antioksidanlar

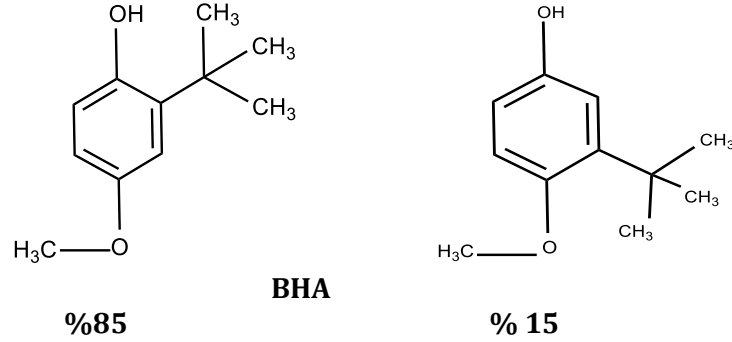
Yapay antioksidanlar genel olarak yiyeceklerin raf ömürlerinin uzatılması amacıyla kullanılmaktadır (Yeloğlu, 2012). Yapay antioksidanların bazılarının insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinden şüphe edilmektedir. Bundan dolayı doğal antioksidanlar üzerindeki çalışmalar daha çok yoğunlaşmıştır.

En çok kullanılan yapay antioksidanlar ise BHA (bütilenmiş hidroksianisol), BHT (bütilenmiş hidroksitoluen), TBHQ (tersiyerbutil hidrokinon) ve PG (propilgallat)' tır (Kırca ve Arslan, 2008; Arkan, 2011). Ekonomik olduğundan dolayı BHA (bütilenmiş hidroksianisol), BHT (bütilenmiş hidroksitoluen) yapay antioksidanlarının kullanımı yaygındır. Ancak BHA ve BHT' nin karsinogenik ve yan etkilerinin olduğu bulunmuştur (Arkan, 2011). Bu nedenle bazı ülkelerde sağlık sorunlarına sebep olan yapay antioksidanların kullanımına kısıtlamalar getirilmiştir.

#### 2.3.2.1. Bütilenmiş Hidroksianisol (BHA)

Bütilenmiş hidroksi anisol (BHA), bitkisel ve hayvansal yağlarda kolayca çözünebilen etkili bir sentetik antioksidandır. Piyasada bulunan BHA başlıca iki izomer

olan 3-terciyer butil-4 hidroksi anisol ve 2-terciyer bütül 4-hidroksi anisol karışımıdır (Aydın, 2012).

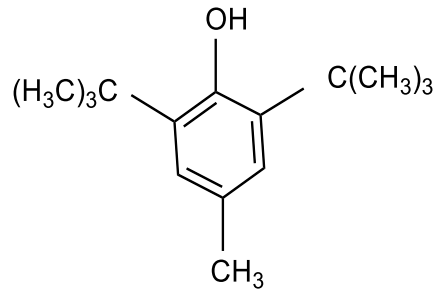


**Şekil 2.10.** 3-terciyerbütül-4-hidroksianisol ile 2-terciyerbütül-4-hidroksianisol izomerlerinin kimyasal yapıları ve oranları (Özenç, 2011).

BHA özellikle uçucu yağların renk ve tat kokularının korunmasında ve kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunun kontrol edilmesinde etkilidir. Genel olarak tahıllarda ve içeriğinde şeker bulunan ürünlerde kullanılmaktadır (Özyürek, 2005).

### 2.3.2.2. Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT)

1954 yılında gliseridler üzerinde etkili ve koruyucu bir antioksidan olduğu belirlenen bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O); 2,6-ditertiaryer butil-4-metil fenol gıda olarak tüketilen yağlarda kullanılmaya başlanmıştır (Eken, 2007). Beyaz kristal görünümlüdür. Önceleri petrol ürünlerinin oksidatif gelişmesini önlemek için kullanılan sentetik yolla elde edilen antioksidan türüdür (Tünek, 2015).

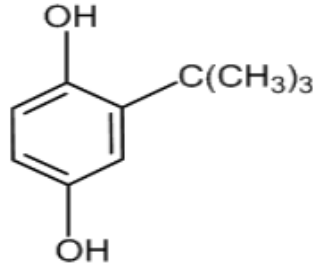


**Şekil 2.11.** BHT'nin kimyasal yapısı (Ardağ, 2008).

BHT, yağlarda iyi çözünebilen fakat suda çözünemeyen, 1 atm basıncında, kaynama noktası 265°C ve kaynama noktası ise 69.7°C özelliklerine sahiptir (Eken, 2007).

### 2.3.2.3. Tersiyerbütıl Hidrokinon (TBHQ)

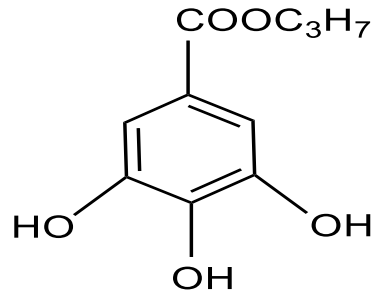
Tersiyerbütıl hidrokinon, beyaz ile açık kahverengi arası renkte kristal yapıdadır ve bitkisel yağlar için oldukça etkili bir antioksidandır. Birçok uygulamada diğer antioksidanlara göre en iyi etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir (Uğuzlar, 2009). Tek başına veya BHA/BHT ile birlikte kullanımı daha uygun olmasına karşın propil gallat ile birlikte kullanımı, etkiyi azalttığından dolayı tavsiye edilmemektedir. Sitrik asit ile karıştırıldığı takdirde, koruyucu özellik kazanmaktadır (Özyürek, 2005).



Şekil 2.12. TBHQ'nun kimyasal yapısı (Babacan, 2014).

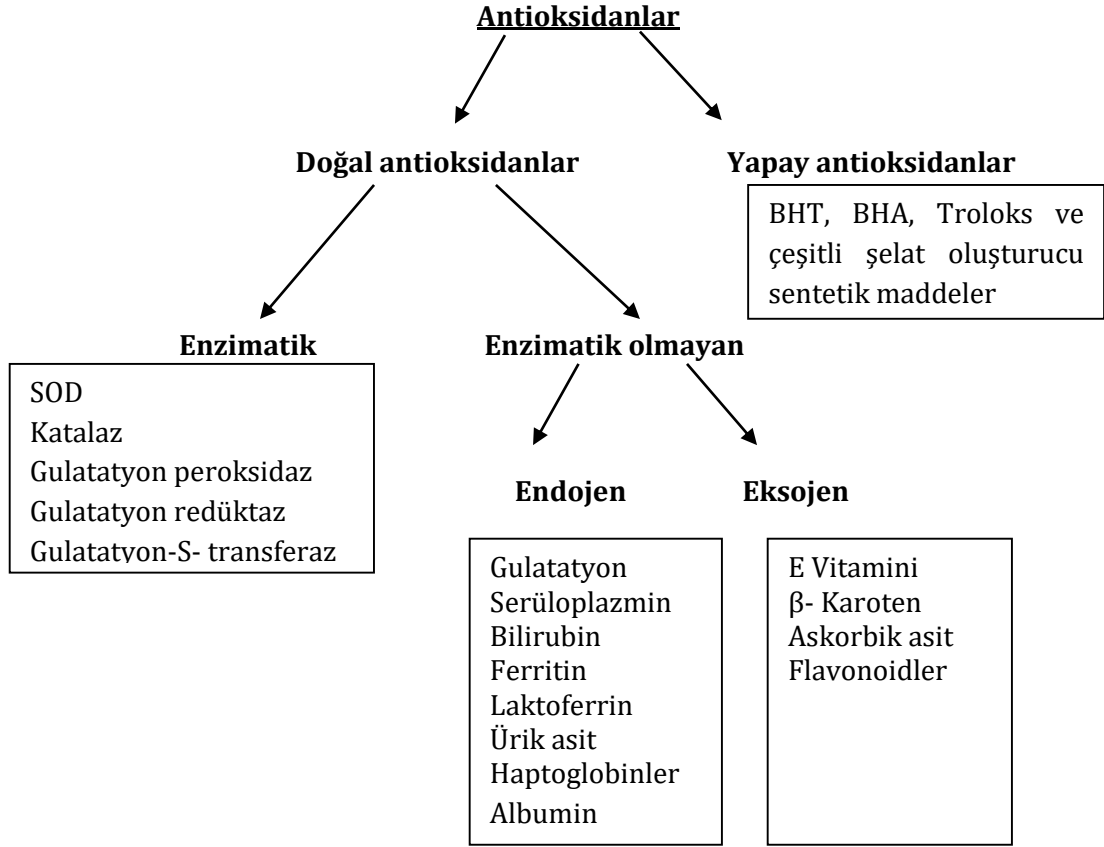
### 2.3.2.4. Propilgallat (PG)

Gallik asitin esteri olan ve beyaz renkte katı kristaller halindeki propilgallat, hayvansal yağlarda ve bitkisel yağlarda en çok kullanılan sentetik antioksidandır (Uğuzlar, 2009; Özenç, 2011). PG, bitkisel yağlarda TBHQ'dan daha az etkilidir. Bu yüzden daima sitrik asitle birlikte kullanılmaktadır. Sitrik asit, demir ve bakır iyonlarının kataliz ettiği prooksidatif reaksiyonları engelleyebilmektedir. PG, BHA ve BHT ile beraber kullanıldığında iyi sonuç vermektedir ancak TBHQ ile kullanımına izin verilmemektedir (Özyürek, 2005; Özenç, 2011).



Şekil 2.13. Propilgallat'ın kimyasal yapısı (Babacan, 2014).





**Şekil 2.14.** Antioksidanların Sınıflandırılması (Arkan, 2011).

#### 2.4. Antioksidanların Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidanların kimyasal aktivitelerinin (hidrojen veya elektron) indirgeme potansiyelleri onların serbest radikal giderici olarak göstermiş oldukları potansiyel ile ifade edilmektedir. Antioksidanın aktivitesi aşağıdaki durumlara bağlıdır:

- Radikal süpürme yeteneği
- İndirgeme potansiyeline bağlı olan hidrojen veya elektronun donör olarak göstermiş olduğu reaktivite
- Metal şelatlama potansiyeli
- Diğer antioksidanlarla olan iletişim şekli (Babacan, 2014).

Antioksidan tayin yöntemleri kimyasal reaksiyonları açısından iki temel prensibe dayanır. Bunlar:

## **2.4.1 Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayalı yöntemler (HAT)**

Antioksidan ve substrat arasında rekabete dayalı reaksiyonlar gerçekleşir. Genel olarak azotlu grup taşıyan maddelerin bozulup peroksil radikalleri oluşumu esasına dayanmaktadır (Kılınçarslan, 2016).

Hidrojen atomu transferine dayanan yöntemler:

### **2.4.1.1. Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Oksidasyonu (LDL)**

LDL yönteminin canlı dışında gerçekleştirilen (ex vivo) oksidasyonu ölçmeye dayanır. LDL yönteminde lionelik asit veya LDL otooksidasyonunu Cu(II) veya azo bir başlatıcı ile suni olarak azaltılması ölçülmektedir. Bu yöntemde görülen yükseltgenme reaksiyonları canlıda görülen yükseltgenme reaksiyonları ile ilişkilidir (Öztan, 2006).

### **2.4.1.2. Oksijen radikali absorban kapasitesi (ORAC)**

ORAC metodu Cutler ve Cao tarafından geliştirilmiştir. Bu metot da yükseltgenme sonucunda oluşan peroksi radikallerinin, antioksidan madde tarafından inhibe edilmesi ölçülmektedir (Öztan, 2006). Bu metodun avantajı, hidrofilik ve lipofilik ekstrelerin antioksidan kapasitesini ölçmesidir. Dezavantajı ise, ORAC reaksiyonunun sıcaklığa duyarlı olduğundan dolayı plaka boyunca sıcaklık kontrolü önemlidir ve küçük sıcaklık farklılıkları tekrar üretilebilirliğini azaltmaktadır. Ayrıca uzun analiz zamanı da önemli bir sorundur (Büyüktuncel, 2013).

### **2.4.1.3. Toplam radikal yakalama parametresi (TRAP)**

TRAP yöntemi Weyner ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemde çoğunlukla biyolojik sıvılardaki antioksidan kapasitesini ölçme işlemi yapılmaktadır (Güvenilir, 2016 ). Plazma antioksidanlarını okside etmek amacıyla ABAP radikal başlatıcı tarafından peroksil radikallerinin üretilmesi ve meydana gelen yükseltgenme sırasında tüketilen oksijenin ölçülerek izlenmesine dayanmaktadır (Aydın, 2011). Bu yöntemin avantajı enzimatik olmayan antioksidanların süpürücü aktivitelerini ölçmektedir. Dezavantajı ise karışık, zaman alıcı, uzmanlık ve deneyim gerektirmektedir (Büyüktuncel, 2013).

#### **2.4.1.4. Luminol yöntemi**

Metsa-Ketela ve ekibi kemilüminesans esaslı TRAP yöntemini geliştirmişlerdir. Daha sonra TRAP yöntemi Alho ve Leinonen tarafından geliştirilmiştir. Luminol yönteminde ABAP'dan üretilen peroksil radikalleri luminolü yükseltger ve bunun sonucunda ışık yayan luminol radikalleri kullanılır. Katalizör kullanılarak reaksiyon hızlandırılır ve bunun sonucunda ışık yayması daha hızlı olması sağlanır (Güvenilir, 2016).

#### **2.4.1.5. Fikoeritrin esaslı yöntemler (PE)**

Fikoeritrin esaslı yöntemler peroksil radikallerinin kullanıldığı diğer yöntemlere benzemektedir. Bu yöntemde ABAP tarafından peroksil radikalleri ve Cu(II)-askorbat tarafından ise hidroksil radikalleri oluşturulur. B- veya R-PE yükseltgenabilir substrat olarak kullanılır. Bu substratların, peroksil veya hidroksil radikallerinin varlığı ile verilen floresans etki zamanla doğrusal bir şekilde azalmaktadır. Bu reaksiyonun gecikme zamanının uzunluğu ve antioksidan kapasitesini troloks eşdeğeri cinsinden vermektedir (Güvenilir, 2016).

#### **2.4.1.6. Diklorofloresin- diasetat (DCFH-DA) yöntemi**

Diklorofloresin-diasetat (DCFH-DA) yöntemi Valkonen ve Kuusi tarafından geliştirilmiştir. DCFH-DA yöntemi TRAP yöntemini esas almaktadır ve ABAP tarafından peroksi radikali üretilir. Bu yöntemin avantajı TRAP yönteminde olduğu gibi enzimatik olmayan antioksidanların süpürücü aktivitelerini ölçmektedir. Dezavantajı ise karışık, zaman alıcı, uzmanlık ve deneyim gerektirmektedir (Büyüktuncel, 2013).

#### **2.4.1.7. Krosin yöntemi**

Krosin yöntemi Lussignoli ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Güvenilir, 2016). Bu yöntem serbest radikal başlatıcı AAPH tarafından, krosin ağarmasını önlemek için antioksidanların inhibisyon kapasitesini ölçmektedir (Aydın, 2011). Krosin yönteminin avantajı mikroplakalar gibi yüksek işlem hacimli yöntem bilimlerine kolaylıkla adapte edilebilir. Dezavantajı ise, gıda örneklerinde uygulanmaları sınırlıdır. Krosin safrandan ekstrakte edilen doğal bir karışım olduğundan çeşitlilik gösterir. Bu

yüzden yöntemin güvenilirliği ve kantitatif endüstriyel uygulamalarda kullanımı kısıtlıdır (Büyüktuncel, 2013).

#### **2.4.1.8. Toplam oksiradikal (TOSC) yöntemi**

Toplam oksiradikal (TOSC) yöntemi Winston ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Güvenilir, 2016). Bu yöntem hidroksil- peroksil ve peroksinitril radikallerine karşı antioksidan reaksiyonunun absorpsiyon ölçümüne dayanmaktadır (Öztaş, 2006). Bu yöntemin avantajı lipofilik ve lipofilik antioksidanları belirleyebilme özelliği vardır. Dezavantajı ise gaz kromatografisine (GC) elle enjeksiyon yapılmasını gerektirmesi ve test için kullanılan çözeltilerin ömürlerinin kısa olmasıdır (Güvenilir, 2016).

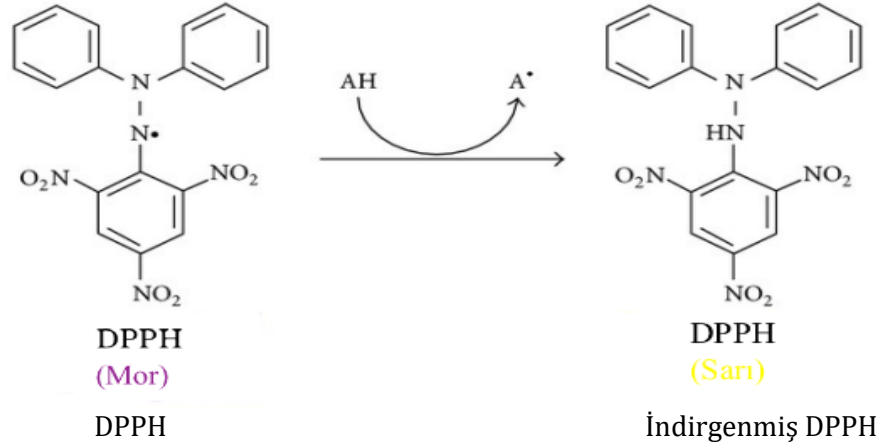
#### **2.4.2. Elektron transferi reaksiyonlarına dayalı yöntemler (ET)**

Oksidan maddenin indirgenmesi sonucunda oluşan renk değişiminin ölçülmesi ile antioksidan maddenin ölçümü yapılmaktadır. Renk değişiminin derecesi örnekteki antioksidan maddenin konsantrasyonuna bağlıdır (Kılınçarslan, 2016). Bu çalışmada kullanılan elektron transferine dayanan yöntemlerden biri olan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal giderim yöntemi aşağıda verilmiştir.

Elektron transferine dayanan yöntemler:

##### **2.4.2.1.DPPH• Serbest Radikal Giderim Yöntemi**

DPPH• radikal süpürücü aktivite tayin yöntemi 1958 yılında ilk kez Blois tarafından öne sürülmüştür. Bitki örnekleri için kullanılan en yaygın yöntemlerden biridir (Yavaşer, 2011). Bu yöntemin amacı antioksidanların 1,1-difenil 2-pikrilhidrazil (DPPH•) radikalini süpürme kabiliyetinin ölçülmeye dayalı bir yöntemdir. Bunun sonucunda DPPH• radikali, antioksidanla etkileştiğinde difenilpikrilhidrazin'e indirgenir (Güvenilir, 2016). Kırmızı renkli DPPH• radikali 515 nm'de maksimum absorpsiyon vermektedir. DPPH çözeltilisine antioksidan çözeltisi ilavesi ile absorpsiyonunda düşüş meydana gelir. Antioksidanların varlığı ile radikalın rengi kırmızıdan sarıya dönüşür (Babacan, 2014).

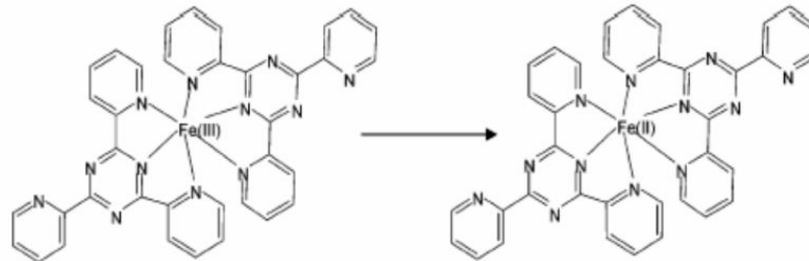


**Şekil 2.15.** DPPH'in antioksidan madde ile reaksiyonu (Kılınçarslan, 2016).

Antioksidan aktivite, başlangıçtaki DPPH derişiminin % 50 azalması için harcanan antioksidan miktarını ifade eden  $IC_{50}$  (etkin derişim) değeri ile verilir (Brand-Williams ve ark., 1995).  $IC_{50}$  değerin düşük olması antioksidan kapasitesinin oldukça güçlü olduğunu gösterir (Yavaşer, 2011).

#### 2.4.2.2. Ferrik iyonu indirgeme gücü metodu (FRAP)

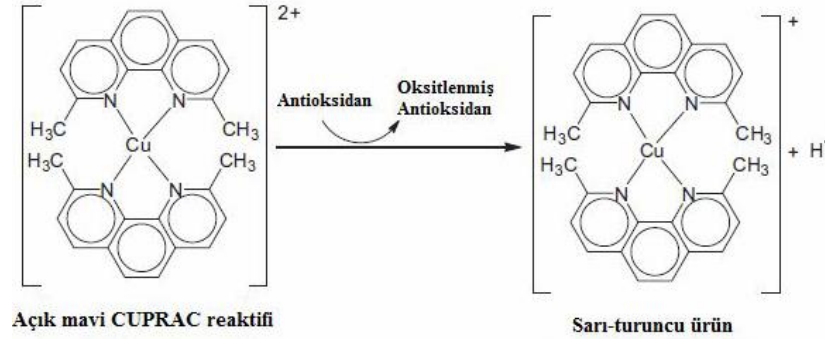
Bu metotta düşük pH'da ferrik tripiridiltriazin kompleksi ( $Fe^{3+}$ -TPTZ) antioksidanların etkisi ile ferröz kompleksine ( $Fe^{2+}$ -TPTZ) indirgenir. Oluşan kompleksin 593 nm'de absorbanısı ölçülür (Aydın, 2011). Bu yöntemin avantajı hidrofilik ve lipofilik antioksidan tayinine uygun, basit, hızlı ve ucuz olmasıdır. Dezavantajı ise reaksiyonu spesifik olmaması, 0,70 V'dan daha düşük redoks potansiyeline sahip olması, in vivo olarak antioksidan özellik göstermeyen herhangi bir bileşimin bile demiri indirgeyebildiği ve glutasyon gibi tiyol antioksidanların FRAP yöntemiyle ölçülememesidir (Büyüktuncel, 2013).



**Şekil 2.16.** FRAP yönteminin kimyasal reaksiyonu (Büyüktuncel, 2013).

### 2.4.2.3. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)

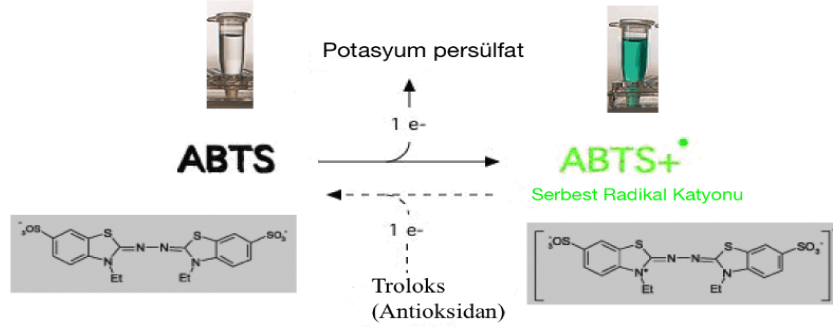
Bu metotta, Cu(II)'nin 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin-Nc) ile oluşturduğu bakır(II)-neokuproin kompleksinin 450 nm'de maksimum absorbans veren bakır(I)-neokuproin [Cu(I)-Nc]'e indirgenme özelliğinden yararlanılarak toplam antioksidan kapasitesi tayin edilmektedir (Güvenilir, 2016). Bu yöntemin avantajı reaktif seçici olmasıdır. Tiyol tipi antioksidanları okside etmek için yeterince hızlı ve kolay temin edilebilir. Renkli Cu(I)-Nc şelatı veren redoks reaksiyonu, hava, güneş ışığı, nem ve pH gibi etkenlerden etkilenmez. Dezavantajı ise kompleks antioksidan karışımında uygun reaksiyon zamanı seçme bakımından sorundur. (Büyüktuncel, 2013).



**Şekil 2.17.** CUPRAC yönteminin kimyasal reaksiyonu (Yavaşer, 2011)

### 2.4.2.4. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Yöntemi (TEAC/ABTS)

2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) (ABTS) radikallerini süpüren bileşiklerin kapasitesinin tayinini sağlayan bir methoddur. Antioksidanların ABTS radikallerini belirli bir zaman dilimi içerisinde süpürmesinden dolayı ABTS radikallerinin absorbansında bir azalma oluşur. Bu azalmadan faydalanılarak toplam antioksidan kapasitesi troloks cinsinden tayin edilir. Bundan dolayı ismi, troloks eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemi olarak adlandırılmaktadır (Güvenilir, 2016). Bu yöntemin avantajı ABTS radikalının geniş bir pH aralığında kararlı olmasıdır. ABTS radikali hem sulu çözücülerde hem de organik çözücülerde çözünebilir bundan dolayı lipofilik ve hidrofilik bileşiklerin antioksidan kapasitesini ölçmek için kullanılabilir. Dezavantajı ise TEAC reaksiyonunun bitiş noktasına ulaşması uzun zaman alabilmesidir (Büyüktuncel, 2013).



**Şekil 2.18.** ABTS' nin kimyasal reaksiyonu (Kılınçarslan, 2016).

## 2.5. ANTİMİKROBİYALLER

1940 yıllarında antibiyotiğin keşfi ile bitkisel maddelerin antimikrobiyal ajan olarak kullanımında düşüş gözlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite bakımından bakteriyel ve fungal kaynaklı antibiyotiklere daha çok güvenildiği için bitkisel ürünlerin çok az bir kısmı antimikrobiyal madde olarak tercih edilmiştir (Cowan, 1999; Aydın, 2012).

Bitki kökenli antimikrobiyal bileşenler bitkinin tohum, kök, çiçek ya da meyvesinden elde edilebilir (Borchardt ve ark., 2008). Yapılan eski çalışmalara göre bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri çoğunlukla kök, gövde, rizom ve yaprak ekstratlarıyla gerçekleştirilmiştir (Tepe ve ark., 2005). Geleneksel tıpta, çeşitli hastalıklar bitkisel ürünler ile tedavi edilmiştir. Başlıca sağlık bakımlarını yapabilmek için dünya nüfusunun yaklaşık %80'i bitkisel ürünleri kullanmıştır (Tünek, 2015).

Tedavi için kullanılan mevcut antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların geliştirdiği direncin artması ve yeni nesil antibiyotiklerin üretilmesinin yüksek maliyeti bakımından ilaç sektörünün yeni antimikrobiyal maddelerin keşfedilmesi ve yapılarının araştırılması zorunluluk haline gelmiştir (Singh vd. 2011; Berber vd. 2013).

Günümüzde hastalıklara sebep olan mikroorganizmaların antibiyotiklere olan duyarlılığının bulunduğu en uygun antimikrobiyal madde ile tedavi edilir. Antibiyotik duyarlılık testleri içinden en sık kullanılan yöntemler (Aydın, 2012):

1. Disk difüzyon testleri
2. Dilüsyon testleri
  - 2.1. Agar dilüsyon testleri (katı besiyerinde sulandırım testi)
  - 2.2. Broth dilüsyon testleri
    - a. Makrodilüsyon (tüp dilüsyon) yöntemi
    - b. Mikrodilüsyon testleri
3. Gradient strip testleri (E-test)

#### 4. Otomatize yöntemler

#### 5. Moleküler yöntemler

*A. floribundum* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için dilüsyon yönteminin resazurin mikropalak yöntemi kullanılmıştır. Dilüsyon yöntemi disk difüzyon yöntemi ile duyarlılık testi yapılmayan zor üreyen bakterilerin test edilmesini sağlamaktadır. Antimikrobiyal madde sıvı veya katı (agarda dilüsyon) besiyerlerinde seri halinde seyreltilip ve her bir seyreltme ortamına ise, duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli sayıda hücre içeren süspansiyonundan eşit miktarda ilave edilmesi ile yapılan bir yöntemdir. Deney serileri uygun sıcaklıkta (35-37°C'de) ve bakterinin üremesi için uygun süre (16-20 saat) bekletilir sonra sonuçlar ile bakterinin üremesini durduran en az antimikrobiyal madde miktarı olan minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) belirlenmektedir (Akyüz, 2010).

Resazurin yöntemi: Resazurin canlı hücrelere zarar vermeyen biyolojik bir boyadır. Mavi-floresan olmayan resazurin boyası (Alamar Blue olarak dabilinir), hücresel metabolizma sonucunda floresan özelliği olan rezorufine dönüşür ve boyanın rengi pembe olarak değişmektedir. İşlem sonunda spektrofotometrik olarak değerlendirilir. Resazurin canlı hücrelerideğerlendirmek için kullanılmaktadır (Pantenella ve ark., 2013).

## 2.6. Çalışma Materyalinin Botanik Özellikleri

### 2.6.1. Brassicaceae Familyası ve *Alyssum*L. Cinsi

Brassicaceae (Cruciferae), hardal ailesi veya lahana ailesinin çiçekli bitkiler türüne aittir. Antartika kıtası hariç dünyanın her yerinde yayılış gösteren Brassicaceae familyası, dünyada 49 grup, yaklaşık 321 cins ve 3660 türden oluşmaktadır (Koch ve Kiefer , 2006; Al-Shehbaz 2012). Bu familya Türkiye'de 210'u endemik tür olmak üzere 88 cins, 539 türe sahiptir (Erik ve Tarıkahya, 2004).

*Alyssum* L. cinsi Türkiye Florası'nın büyük cinsleri arasında yer almaktadır ve 90 türle temsil edilmektedir. Bu türlerin 54'ü endemiktir (Güner ve ark., 2012). Türkiye'de *Alyssum* cinsi sistematik olarak incelenerek kısmen de olsa revizyon çalışmaları yapılmıştır. Bazı *Alyssum* türlerinin kültürü yapılmış olup, park ve bahçelerde süs bitkisi olarak kullanılmaktadır (Davis vd. 1988). Genel olarak *Alyssum* türleri kuraklığa dayanıklı olmaları ve toprak istekleri bakımından çok seçici olmadıklarından dolayı özellikle çok yıllık olanları erozyon çalışmalarında öncü bitki olarak kullanabilir (Baygeldi, 2018).



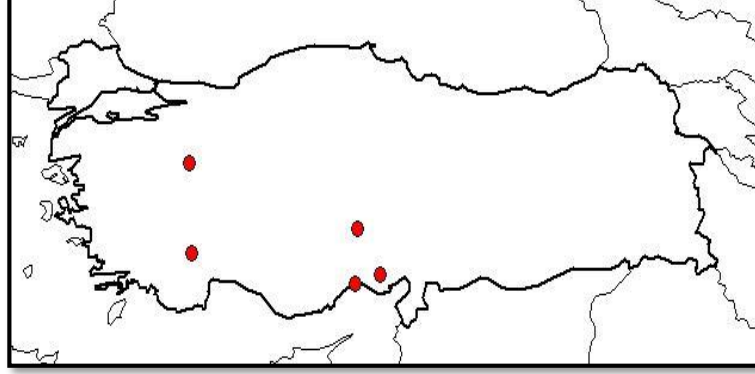
### 2.6.2. *Alyssum floribundum* Boiss. & Balansa

Brassicaceae familyasına ait olan endemik *A. floribundum* çok yıllık, yarıçalı formunda, 60(-100) cm kadar boylanabilen, yapraklar belirgin iki renkli olup 900-1550 m arasında değişen yüksekliklerde yayılış gösteren bir türdür.



Şekil 2.19. *A. floribundum* bitkisinin genel görünüşü ve çiçek yapısı

*Alyssum floribundum* bitkisi Adana, Mersin, Burdur, Kütahya, Niğde taraflarında bulunmaktadır (<http://www.tubives.com>).



**Şekil 2.20.** *A. floribundum* bitkisinin yayılış gösterdiği bölgeler(<http://www.tubives.com>)

Endemik *A. floribundum* bitkisi grid kare sistemine göre B2, C2, C5 karelerinde yayılış göstermektedir. Bu bitki türünün çiçeklenme zamanı haziran-ekim ayları arasında görülür (Orcan & Binzet, 2003). Çalışmamızda kullandığımız *A. floribundum* bitkisi C5 Mersin, Erdemli, Müğlü Deresi Köyü - Mersin 2 km, yol kenarı orman altı ve orman açıklıklarında, 1000 m'de toplanmıştır. Toplanan örnekler Türkiye Florası kullanılarak teşhisleri yapılmıştır (Dudley, 1965).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

##### 3.1.1. Kimyasallar

- **Etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O)**

Sokshlet ekstraksiyonunda çözücü olarak kullanılmıştır. Merck® firmasından (CAS-NO: 64-17-5), temin edilmiştir. %99 saflıktadır.

- **DPPH (1,1-Difenil 2-pikrilhidrazil)**

Antioksidan serbest radikal giderim aktivitesi için kullanılmıştır. Sigma-Aldrich marka (CAS- NO:1898-66-4) kullanılmıştır.

- **BHT (2,6-ditertbütül-4-metil fenol)**

Doğal antioksidan olarak kullanılmıştır. Sigma-Aldrich marka (Cas-NO:489-01-0) kullanılmıştır.

- **Mueller-Hinton broth**

Bakterilerin antibiyotik duyarlılığı çalışmasında kullanılmıştır (Sigma 70192).

##### 3.1.2. Cihazlar

- **Sokshlet aparatı**

Sokshlet ekstraksiyonu için 45/40 boyutunda Isolab marka aparat kullanılmıştır.

- **Rotaryevaporatör**

Sokshlet ekstraksiyonu sonucu, çözücünün uzaklaştırılması işleminde kullanılmıştır. Buchi B-491 marka döner buharlaştırıcı kullanılmıştır.

- **Hassas Terazı**

Bitkinin tartım işlemleri Scaltec SBA 31 terazı ile yapılmıştır.

- **Elisa cihazı**

Antioksidan aktivite tayini için Thermo Scientific marka kullanılmıştır.

- **Vorteks**

Ekstrakt ile DPPH' ın karıştırılması için kullanıldı. Oragonlab MX-S marka kullanılmıştır.

- **Selülozik kartuş**

Sokshlet ekstraksiyonunda 33x94 mm boyutunda ve Macherey-Nagel firmasından temin edilmiştir.

- **Mikro pipetler**

Ekstraktların hacimlerini ölçmek için kullanıldı. Eppendorf research plus marka kullanıldı.

- **Buzdolabı**

Hazırlanan numuneler için kullanılmıştır (Arçelik 2470 CEY).

- **Mantolu ısıtıcıları**

Sokshlet ekstraksiyonu işleminde ısıtıcı olarak kullanıldı. Isolab marka kullanılmıştır.

- **Yapışkan plastik film**

Plaklardaki buharlaşmayı önlemek için kullanılmıştır. (ThermoFisher Scientific MicroAmp® Optical Adhesive Film, 4360954)

- **0.22 µm'lik membran filtre**

Resazurin solüsyonunun steril edilmesi için kullanılmıştır. (Ministar 16534-K, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Goettingen, Germany)

- **96 'lık wellplate**

Numuların antioksidan tayinin elisa cihazında okutulması için kullanılmıştır. ThermoFisher Scientific marka kullanılmıştır.

## 3.2. YÖNTEM

### 3.2.1.Bitkinin Kurutulması ve Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Toplanan *A. floribundum* Boiss. & Bal. (Brassicaceae) bitkisinin toprak üstü ve toprak altı kısımları, doğrudan güneş ışığı almayan ve serin bir ortamda kurutuldu (Şekil 4.1.).Kuruyan bitki kök, gövde, yaprak ve çiçek olmak üzere ayrıştırıldı. *A. floribundum* bitkisinin kök, gövde, yaprak kısımları blender yardımıyla öğütülerek toz haline getirildi.



### Şekil 3.1. *A. floribundum* bitkisinin kurutulma işlemi

*A. floribundum* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından 10' ar gr tartıldı ve sokshlet aparatına yerleştirildi. 300 ml etanol ile ekstrakte edildi. Altı saat süreyle mantolu ısıtıcı ile ekstraksiyon işlemi yapıldı verotary evaporatörde 50-55°C'de etanol çözücüsünün uzaklaştırılması yapılarakişlem tamamlandı.



Şekil 3.2. *A. floribundum* bitkisinin kök, çiçek, gövde ve yaprak kısımlarının sokshlet cihazında ekstraksiyon işlemi ve rotary evaporatörde çözücülerin uzaklaştırılması işlemi.

Behere alınan ekstraktın, etanolünün tamamen uçması için yaklaşık 10 gün bekletildi. Bekleme süresince kontrol edildi.

### 3.2.2. Çözeltilerin Hazırlanması

Beklemeye bırakılan *A. floribundum* Boiss. & Balansa (Brassicaceae) bitkisinden elde edilen kök, gövde, çiçek ve yaprak özütlerinden ayrı ayrı 0,5 gr alındı. 50 ml etanolde çözümlenerek *A. floribundum* bitkisinin çözeltileri hazırlandı.



Şekil 3.4. *A. floribundum* bitki ekstraktlarının etanol ile hazırlanan stok çözeltileri.

### 3.2.3. DPPH• Radikal Süpürücü Aktivite Testi

*A. floribundum* bitkisi ekstratı 515 nm'de ELISA okuyucusu kullanılarak 2,2-difenil-1-pikrilhidrazin (DPPH) 'ın reaktif süpürücü etkileri belirlenmiştir. 0,0060 gr DPPH tartıldı ve 250 mL etanol ile balon jodede çözülerek stok DPPH çözeltisi hazırlandı. Standart olarak 0,5 gr BHT tartıldı ve 50 mL etanol ile balon jodede stok çözeltisi hazırlandı. Etanol çözeltisi ile aşağıdaki gibi hazırlanmıştır:

**Tablo 3.1.** Farklı miktarlarda etanol ile hazırlanan bitki özütünün konsantrasyonları.

Bitki Ekstraktı (Stok Çözelti)	Etanol	Toplam Konsantrasyon
0.5 mL	4.5 mL	5 mL
1 mL	4 mL	5 mL
1.5 mL	3.5 mL	5 mL
2 mL	3 mL	5 mL
2.5 mL	2.5 mL	5 mL
4 mL	1 mL	5 mL
4.5 mL	0.5 mL	5 mL
5 mL	-	5mL

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerden 0,1 mL alınarak, taze hazırlanmış olan  $6 \times 10^{-5}$  mol/L etanolü DPPH çözeltisinden 2,9 mL sırayla ilave edildi. Hazırlanan çözeltiler karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. İnkübe edilen numuneler  $UV_{515}$  nm' de absorpsanları ölçüldü. Elde edilen absorpsanların DPPH• süpürücü etkileri aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\text{DPPH}^\bullet \text{ süpürücü etki (\%)} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

$A_0$  = Kontrolün (DPPH çözeltisi) absorbansı

$A_1$  = Numune varlığında ölçülen absorbansı

Elde edilen % inhibisyon değerleri, mg/mL olarak belirlenen özüt konsantrasyonlarına karşı grafiğe geçirilmiştir.



**Şekil 3.5.** Elisa mikroparka da numuneler ve Elisa (Thermo Scientific) cihazı.

### 3.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Bu araştırmada 5 standart bakteri kültürü kullanıldı. Kullanılan standart bakteritürleri Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edildi. Kullanılan bakteriler ve kodları Tablo 4.1.'de gösterilmiştir. Kullanılan yöntemin kontrolünü ve test edilen bakteri kültürlerinin duyarlılığını belirlemek için Ampisilin standart ilaç kullanıldı.

**Tablo 3.2.** Kullanılan bakteriler ve kodları

Bakteri Türleri	Bakteri Kodları
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25925
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Aeromonas hydrophila</i>	ATCC 95080
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25923
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 02026
Ampisilin	Standart ilaç

### 3.3.1. Resazurin Mikroplak Yöntemi

Antimikrobiyal aktivitesi araştırılacak olan *A. floribundum* bitkisinin kök, gövde, çiçek ve yaprak ekstratları DMSO'da çözüldü ve konsantrasyonları 1 mg/mL'ye ayarlandı. Mikroplağın ilgili kuyularına Mueller-Hinton broth besiyerinden 100 µL konuldu. Mikroplağın birinci kuyularına test edilecek maddeden 100 µL konuldu. Bu kuyudan yine 100 µL alınarak ikinci kuyudan itibaren seri dilüsyon yapıldı ve son kuyudan 100 µL atık kutusuna atıldı. Böylece test edilecek maddelerin konsantrasyonları 500-0.24 µg/mL'ye ayarlandı. Çalışmada standart ilaç olarak ampisilin kullanıldı ve standart ilacın dilüsyonu da aynı şekilde yapıldı. Standart bakteri suşlarından 0.5 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyon daha sonra steril distile su ile 1/20 oranında dilüe edildi. Bu süspansiyondan ilgili kuyulara 10 µL ilave edildi. Böylece kuyulardaki son bakteri yoğunluğu  $5 \times 10^5$  CFU/ml'ye ayarlandı (CLSI, 2012).

Resazurin (Sigma R7017) çalışma solüsyonu %0.01 (w/v) oranında distile su ile hazırlandı ve 0.22 µm'lik membran filtreden geçirilerek steril edildi. Çalışılan kuyulara steril edilen resazurinden 10 µL ilave edildi. Plaklardaki buharlaşmayı önlemek için plaklar yapışkan plastik film ile kapatıldı.

Antibakteriyel aktivite belirlenmesinde dört set kontrol ile çalışıldı. Birincisi ampisilin içeren ilaç kontrolü, ikincisi besiyeri ve bakteri süspansiyonu içeren pozitif kontrol, üçüncüsü antimikrobiyal aktivitesi araştırılan madde ve besiyeri içeren kontrol, dördüncüsü sadece besiyeri içeren kontrol ile çalışıldı. Daha sonra plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Süre sonunda plaklardaki renk değişimi göz ile değerlendirildi. Resazurinin maviden pembe veya renksiz hale dönmesi pozitif yani bakteriyel üreme olarak değerlendirildi.

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değeri resazurinin maviden pembeye veya renksiz hale dönmesini engelleyen en düşük konsantrasyon olarak belirlendi. Bütün antimikrobiyal aktivite tayin işlemleri üç kez tekrar edildi.



## 4.BULGULAR ve TARTIŞMA

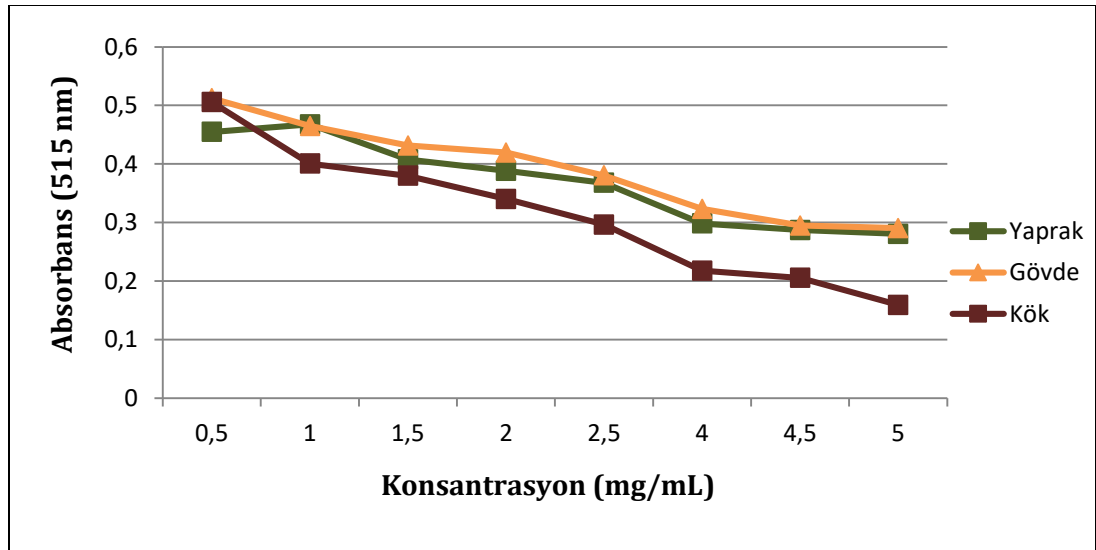
### 4.1. Antioksidan Aktivite Bulguları

*Alyssum floribundum* Boiss. & Balansa (Brassicaceae) bitkisinden elde edilen ekstraktlardan antioksidan aktivite tayinleri DPPH radikali giderim yöntemi ile belirlendi. Bu çalışmada, Mersin ilinde yayılış gösteren endemik bir bitki türü olan *A. floribundum* bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından elde edilen etanol özütlerinin konsantrasyonuna bağlı DPPH serbest radikal giderim aktivitesi artan konsantrasyonlarda (0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 4, 4.5, 5 mg/mL) tayin edilmiştir.

Bitkinin kök, gövde, yaprak kısımlarından elde edilen etanol özütleri ve pozitif kontrolünün (BHT), 0.5-5 mg/mL konsantrasyonlarında 515 nm'de çalışılarak absorbans değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir ve absorbans-konsantrasyon grafiği Şekil 4.1' de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** Bitki özütlerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesinin absorbans değerleri.

Abs.	0.5 mg/mL	1 mg/mL	1.5 mg/mL	2 mg/mL	2.5 mg/mL	4 mg/mL	4.5 mg/mL	5 mg/mL
BHT	0,2014	0,2424	0,2608	0,2362	0,2583	0,2675	0,2686	0,2790
Yaprak	0,4547	0,4676	0,4077	0,3884	0,3677	0,2983	0,2872	0,2806
Gövde	0,5121	0,4650	0,4314	0,4195	0,3803	0,3232	0,2949	0,2905
Kök	0,5055	0,4006	0,3798	0,3402	0,2965	0,2177	0,2054	0,1593



**Şekil 4.1.** Bitki özütlerinin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi absorbans-konsantrasyon grafiği.

Bitki özütlerinin absorbands değerlerinden faydalanarak % inhibisyon değerleri elde edilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2'de elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, 0.5 mg/mL konsantrasyonunda DPPH serbest radikal giderim aktivitesi en yüksek oranda yaprak ekstraktında (% 25.28) saptanmıştır. Aynı konsantrasyonda DPPH serbest radikal giderim aktivitesi en düşük oranda sırasıyla kök (% 16.93) ve gövdede (% 15.84) elde edilmiştir. 0.5 mg/mL konsantrasyonu dışında kalan diğer konsantrasyonlarda DPPH serbest radikal giderim aktivitesi en yüksek kök en düşük ise gövdede tespit edilmiştir.

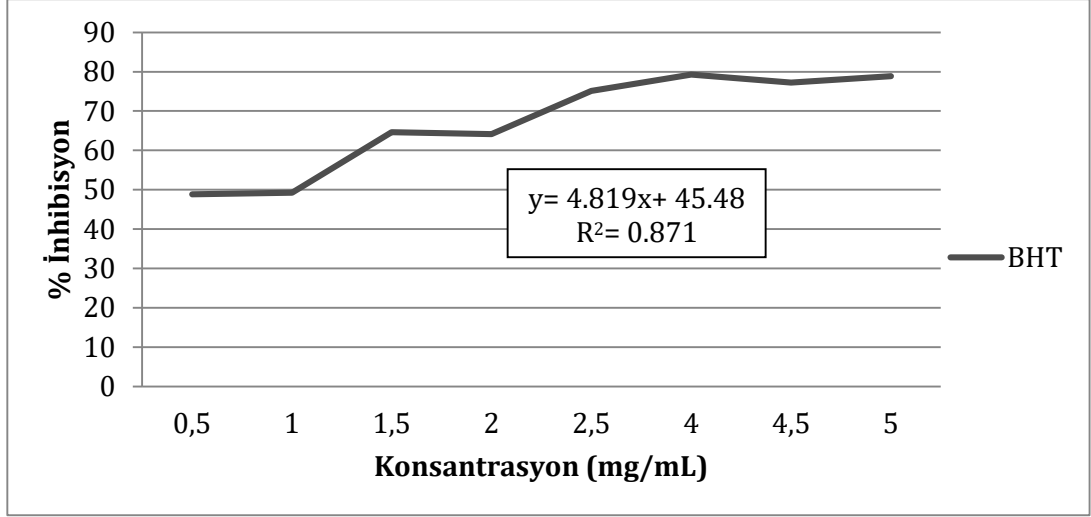
Standart antioksidanların yan etkilere sahip olması sebebiyle, standart antioksidanlardan daha yüksek değerde bulunan örnekler doğal antioksidan kaynağı olarak tercih edilebilir. Bitki ekstratlarının aktiviteleri standartlarla karşılaştırıldığında daha etkili sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

Bu tez çalışmasında, bitkinin toprak üstü kısmı olan yaprak ve gövde, toprak altı kısmı olan kökün etanol ekstraktlarının DPPH süpürme aktiviteleri 5mg/mL konsantrasyonunda standart olan BHT (% 78.84)'ye karşı elde edilen en yüksek aktivitedeğerleri sırasıyla kök için % 73.82, yaprak için % 53.89, gövde için % 52.26 olarak bulunmuştur (Tablo 4.2). Kök, gövde ve yaprak ekstraktlarında, konsantrasyon artışı ile birlikte % inhibisyon oranlarında da artış gözlenmektedir. Tablo 4.2'de görüldüğü üzere ekstraktların antiradikal aktivitelerinin yüksek olduğu belirlenmiştir.

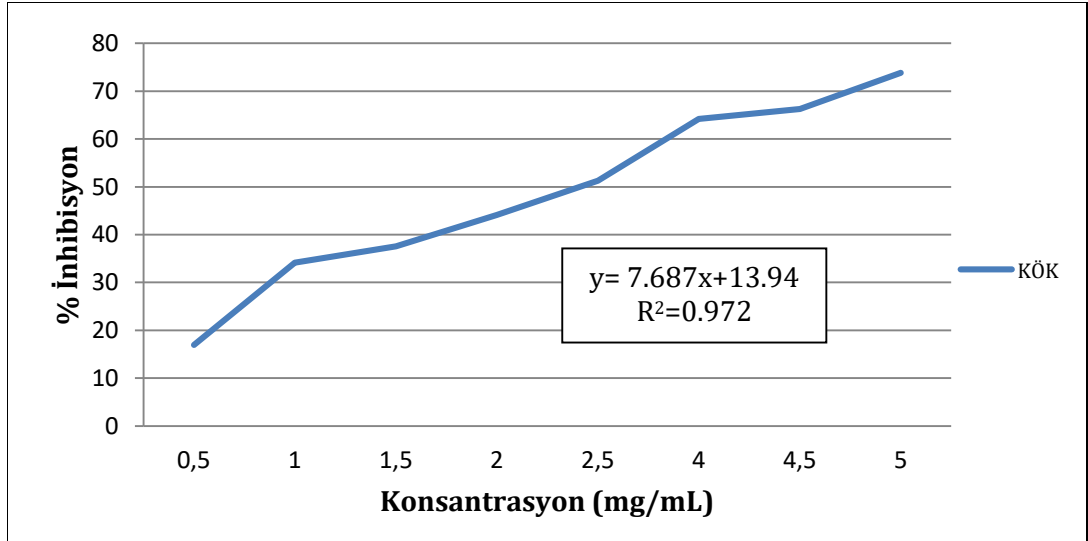
**Tablo 4.2.** Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesinin % inhibisyon değerleri.

Konsantrasyon (mg/mL) Numune	0.5 mg/mL	1 mg/mL	1.5 mg/mL	2 mg/mL	2.5 mg/mL	4 mg/mL	4.5 mg/mL	5 mg/mL
BHT	48.85	49.24	64.64	64.18	75.11	79.27	77.25	78.84
Yaprak	25.28	23.16	32.99	36.17	39.57	50.98	52.80	53.89
Gövde	15.84	23.58	29.10	31.06	37.50	46.89	51.54	52.26
Kök	16.93	34.17	37.58	44.09	51.27	64.22	66.25	73.82

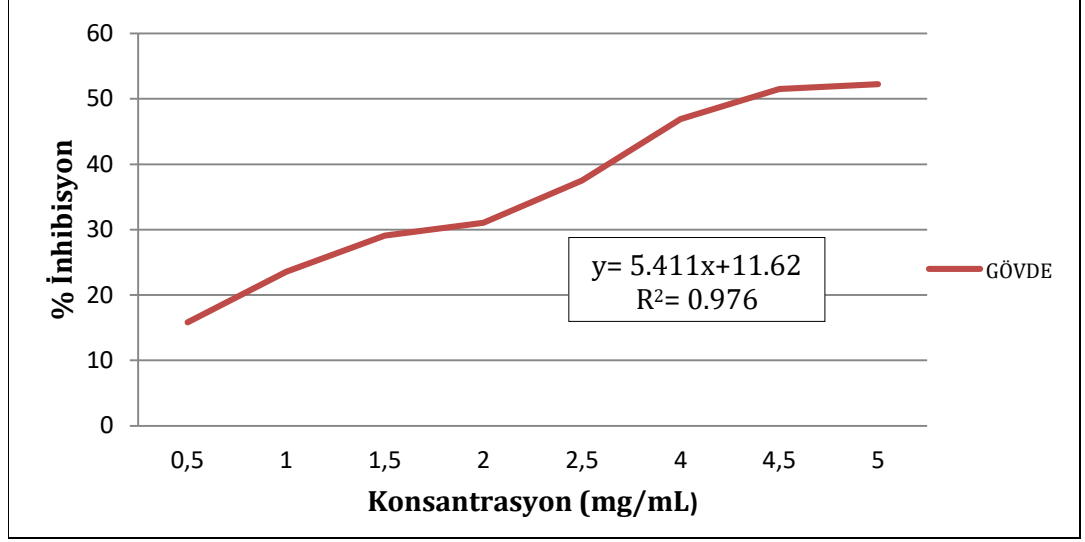
Bitkilerin kök, gövde ve yaprak özütlerinin % inhibisyon grafikleri şekil 4.2-4.5'te gösterilmiştir.



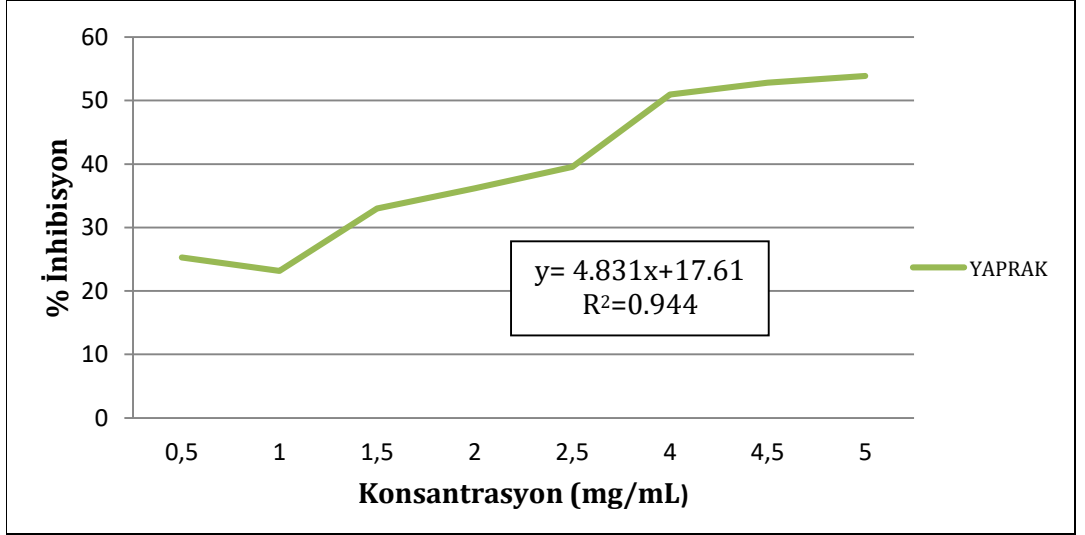
Şekil 4.2. BHT ekstresinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği.



Şekil 4.3. Kök ekstresinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği

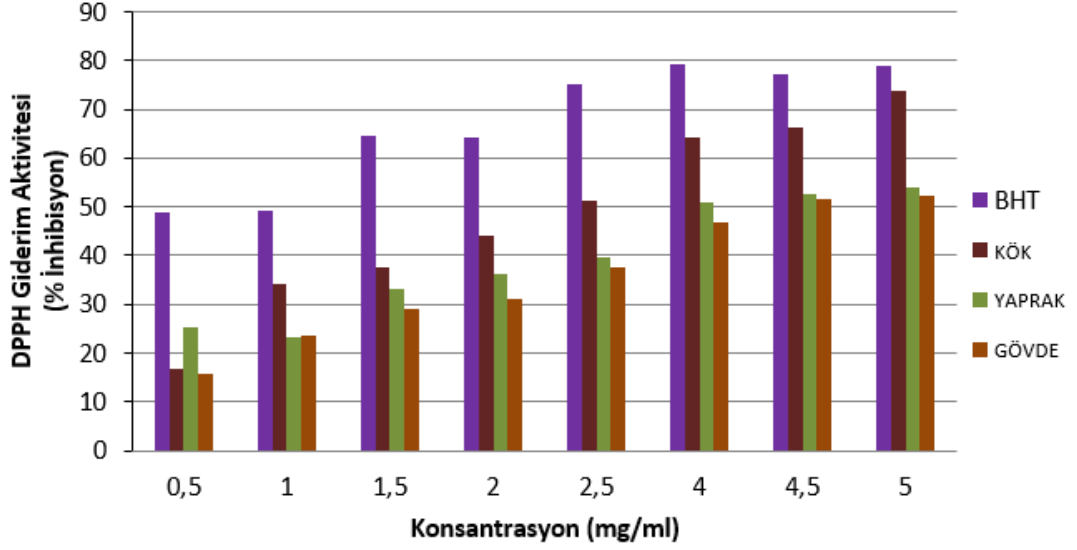


Şekil 4.4. Gövde ekstresinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği



Şekil 4.5.Yaprak ekstresinin DPPH serbest radikal % inhibisyon grafiği

Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesinin konsantrasyon değerlerine karşı % inhibisyon değerleri grafikte (Şekil 4.5) gösterilmiştir.



**Şekil 4.6.** *A. floribundum* bitkisinden hazırlanan ekstraktların DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.

Tablo 4.2'de elde edilen sonuçlar ve Şekil 4.6'deki grafik sonuçları değerlendirildiğinde, konsantrasyonun artmasıyla birlikte DPPH radikal giderim aktivitesinin de paralel olarak arttığı gözlemlenmiştir.

**Tablo 4.3.** *A. floribundum* bitkisinin ekstraktları ve grafik denklemleri.

Ekstraktlar	Denklemler	R <sup>2</sup>
<b>BHT</b>	$y = 4.819x + 45.48$	0.871
<b>Kök</b>	$y = 7.687x + 13.94$	0.972
<b>Gövde</b>	$y = 5.411x + 11.62$	0.976
<b>Yaprak</b>	$y = 4.831x + 17.61$	0.944

Bu tez çalışmasında standart olan BHT'nin (Şekil 4.2.), kök (Şekil 4.3.), gövde (Şekil 4.4.) ve yaprak (Şekil 4.5.) ekstraktlarının konsantrasyonlarına karşı % inhibisyon grafikleri çizilmiştir. Bu grafiklerden elde edilen eğrilerden grafik denklemleri elde edilmiştir (Tablo 4.3.).

Bu denklemlerden DPPH radikalının % 50'sinin yok edilmesi için gerekli antioksidan konsantrasyon değeri olan IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.4.).

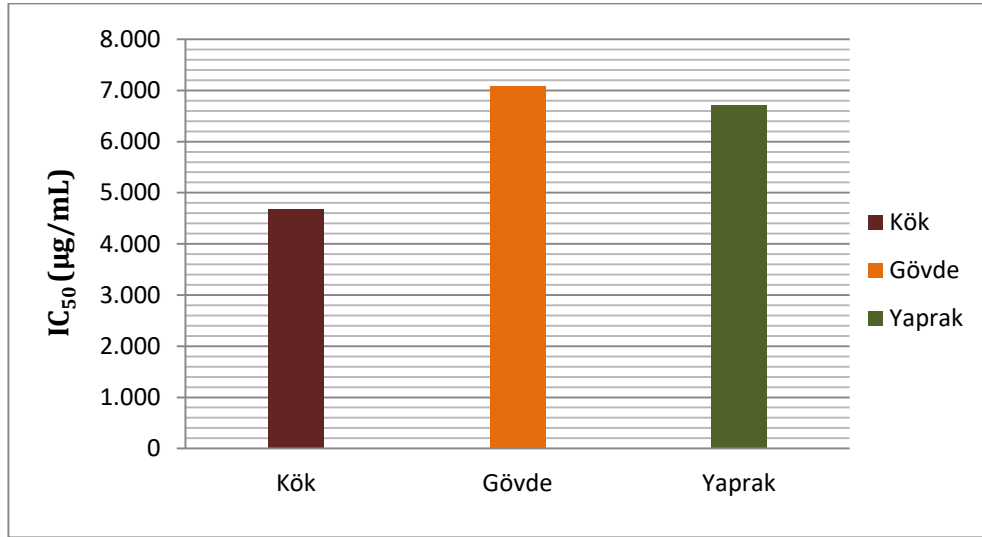
IC<sub>50</sub> değeri reaksiyon ortamındaki DPPH radikalının % 50'sinin yok edilmesi için gerekli ve etkili antioksidan konsantrasyon değeri olarak tanımlanmaktadır. Düşük IC<sub>50</sub> değeri yüksek radikal giderme aktivitesinin bir göstergesidir. Çalışmamızda kullanılan bitkinin toprak altı kısmı olan kök, toprak üstü kısmı olan gövde ve yaprak ekstraktlarının konsantrasyonuna göre % inhibisyon grafiğinden elde edilen verilerle IC<sub>50</sub> değerleri belirlendi. Elde edilen bu değerler Tablo 4.4.'de görülmektedir.

**Tablo 4.4.** *A. floribundum* bitkisinin ekstraktları ve IC<sub>50</sub> değerleri.

Ekstratlar	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
BHT	0.938
Kök	4.691
Gövde	7.093
Yaprak	6.705

Bu yöntemde, bir antioksidan için ölçülen IC<sub>50</sub> değeri ne kadar küçük ise antioksidan aktivitesi o kadar yüksek demektir. Tablo 4.4.'deki değerlerden de görüleceği üzere DPPH radikalini süpürme kapasitesi büyükten küçüğe doğru sırasıyla BHT, kök, yaprak ve gövde olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.4.'deki bitki ekstraktlarının IC<sub>50</sub> değerleri grafikte (Şekil 4.7) gösterilmiştir.

**Şekil 4.7.** *A. floribundum* bitkisinden hazırlanan ekstraktların IC<sub>50</sub> değerlerinin karşılaştırılması.

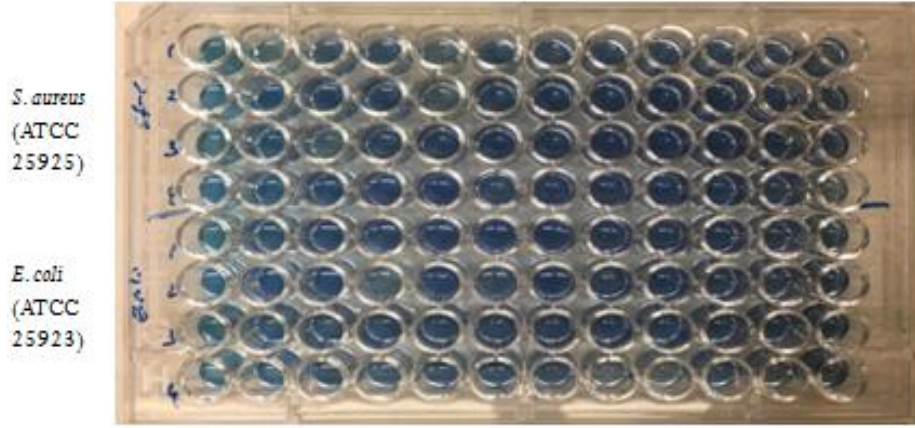
## 4.2. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları için *S. aureus* (ATCC 25925), *B. subtilis* (ATCC 6633), *A. hydrophila* (ATCC 95080), *E. coli* (ATCC 25923) ve *A. baumannii* (ATCC 02026) olmak üzere 5 farklı bakteriyeye karşı aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışılan ekstraktların bakteri kültürlerine karşı MİK değerlerinin 500-0.24 µg/mL olduğu belirlenmiştir. Referans ilaç Ampisilin (MİK değeri: 125 µg/mL) ile karşılaştırıldığında test edilen ekstraktların tamamı Gram (-) bakteri olan *A. baumannii*'ye karşı 62.5 µg/mL MİK değeri ile etkili bulunmuştur. *B. subtilis*'e karşı elde edilen yaprak, kök ve gövde etanol ekstraktları 31.25 µg/mL MİK değeri ile en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Ancak, referans ilaç Ampisilin'le (MİK değeri: 0.9 µg/mL) karşılaştırıldığında aktivite düşük bulunmuştur (Tablo 4.5.).

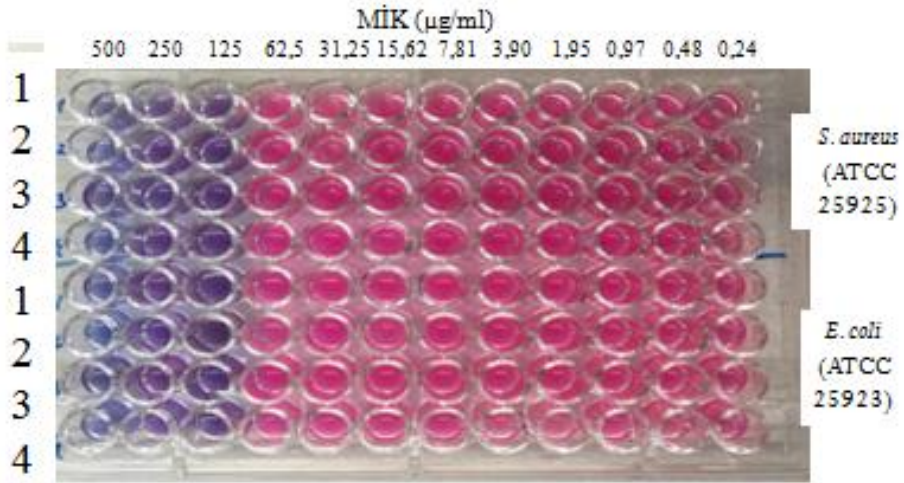
Antimikrobiyal aktivite sonuçları test edilen tüm ekstraktların *A. hydrophila* karşı 62.5 µg/mL MİK değeri ile etkili olduğunu göstermiştir. Fakat etkinlik değeri, 31.25 µg/mL MİK değerlerine sahip referans ilaç olan ampisilin ile karşılaştırıldığında düşük bulunmuştur (Tablo 4.5.).

**Tablo 4.5.** Bakteriyal kültürlerine karşı test edilen ekstraktların ve referans ilaçların MİK değerleri (µg/mL).

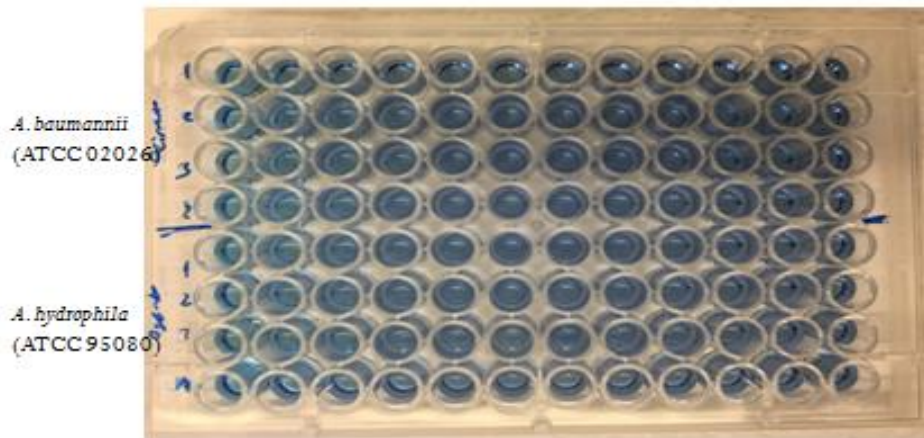
	<i>S. aureus</i> (ATCC 25925)	<i>E. coli</i> (ATCC25923)	<i>A. baumannii</i> (ATCC02026)	<i>B. subtilis</i> (ATCC6633)	<i>A. hydrophila</i> (ATCC95080)
<b>Yaprak</b>	125 µg/mL	125 µg/mL	<b>62.5 µg/mL</b>	<b>31.25 µg/mL</b>	<b>62.5 µg/mL</b>
<b>Gövde</b>	125 µg/mL	125 µg/mL	<b>62.5 µg/mL</b>	<b>31.25 µg/mL</b>	<b>62.5 µg/mL</b>
<b>Kök</b>	125 µg/mL	125 µg/mL	<b>62.5 µg/mL</b>	<b>31.25 µg/mL</b>	<b>62.5 µg/mL</b>
<b>Ampisilin</b>	<b>31.25 µg/mL</b>	<b>15.62 µg/mL</b>	125 µg/mL	<b>0.9 µg/mL</b>	<b>31.25 µg/mL</b>



**Şekil 4.8.** *S. aureus* ve *E. coli* bakteriyal kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon öncesi görüntüsü.

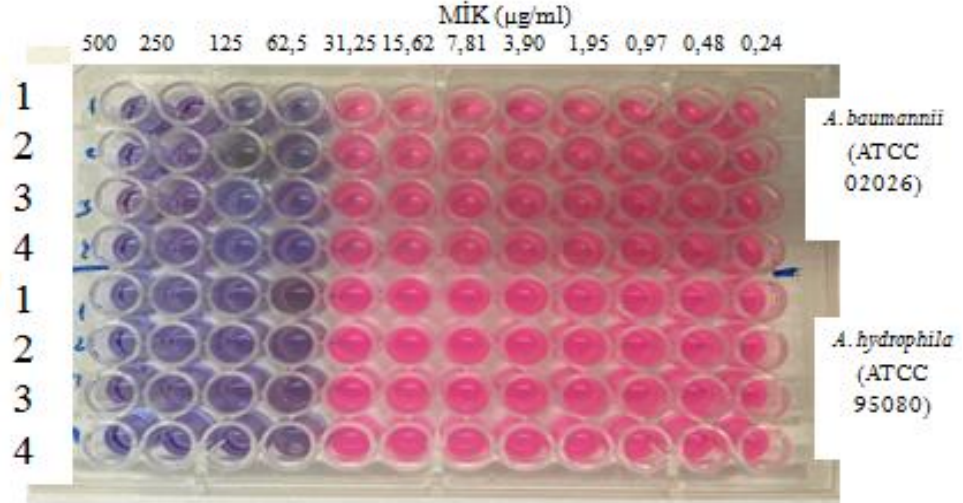


**Şekil 4.9.** *S. aureus* ve *E. coli* bakteriyal kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon sonrası görüntüsü.

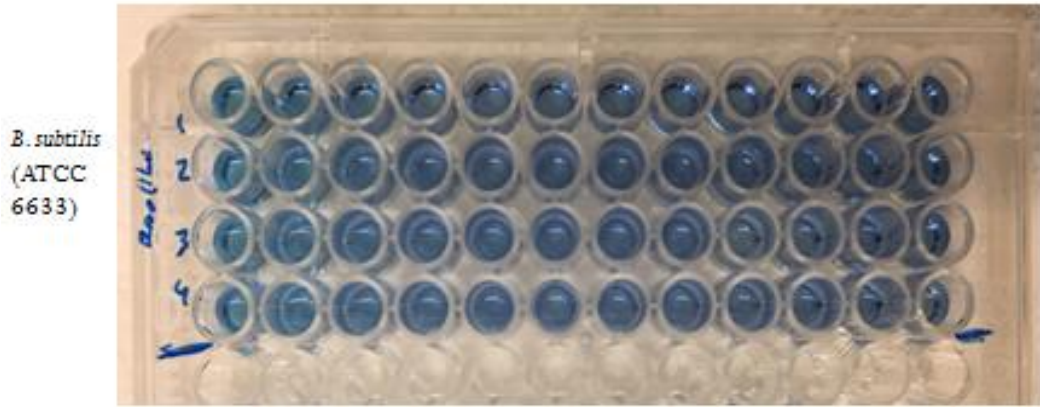


**Şekil 4.10.** *A. baumannii* ve *A. hydrophila* bakteriyal kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon öncesi görüntüsü.

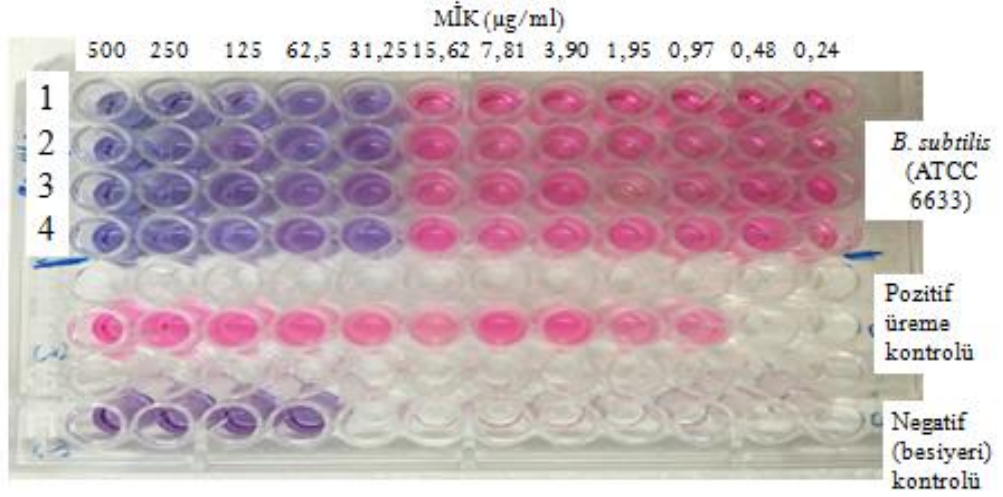




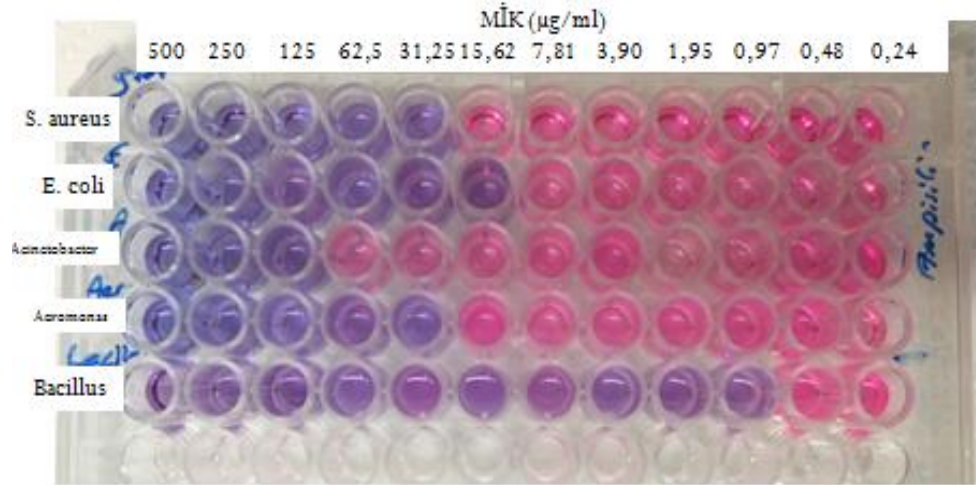
Şekil 4.11. *A. baumannii* ve *A. hydrophila* bakteriyal kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon sonrası görüntüsü.



Şekil 4.12. *B. subtilis* bakteriyal kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon öncesi görüntüsü.



Şekil 4.13. *B. subtilis* bakteriyel kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon sonrası görüntüsü.



Şekil 4.14. Standart ilacın (Ampisilin) bakteriyel kültürlerine karşı test edilen ekstrelerin inkübasyon sonrası görüntüsü.

## 5.SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Yapılan literatür çalışmaları sonucunda, *Alyssum* cinsinin diğer türleri ile ilgili antioksidan ve antibakterial çalışmalar bulunmasına rağmen *A. floribundum* Boiss. & Balansa (Brassicaceae) türünün antioksidan ve antibakterial aktivitesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Literatürlerde Brassicaceae familyası ve *Alyssum* cinsi ile yapılan araştırmalarda bitkilerin özellikle akümülatör ve hiperakümülatör bitkiler olduğu vurgulanmaktadır. Brassicaceae (Lahanagiller) familyasının üyeleri en iyi bilinen hiperakümülatör bitkiler olup, bu tür bitki gruplarının yaklaşık % 25'ini oluşturur. Bu familyaya *Arabidopsis thaliana*'da dahildir. Brassicaceae familyasına ait olan bazı hiperakümülatör bitkilere ait hiperakümülatör görevi gören önemli genler tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışmalarla birlikte günümüzde önemli sorunlardan biri olan topraktaki ağır metal kirliliğinin önlenmesi açısından Brassicaceae familyası ve *Alyssum* cinsi bitkiler hakkındaki araştırmalar büyük önem kazanmaktadır. Bunun sonucunda bu bitki türleri iyi bir çevre dostu olmasının yanında çevredeki ağır metallerin zararlı etkilerini azaltıcı özelliklerinden ve son zamanlarda antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmalarında olumlu sonuçlar vermesinden dolayı bu türdeki bitkiler üzerindeki çalışmalar önem kazanmaktadır.

Brassicaceae familyası antioksidan içeriği bakımından, dengeli beslenme açısından oldukça önemlidir. Brassicaceae familyasına ait taze brokoli yaprak ve gövdesi ile yapılan çalışmada metanol ekstraktları % 43'ten büyük değerler verirken, aseton ekstraktları hiç aktivite göstermemiştir (Guo ve ark., 2001).

Özay ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada *Alyssum foliosum* var.*megalocarpum* bitkisi farklı çözücüler (metanol, etanol, aseton, petrol eteri) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. Kullandığı antioksidan metodlardan biri olan DPPH metoduna göre yapılan radikal süpürme deneylerinde farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerin 517 nm'de ölçülen absorbanlarına göre % inhibisyon değerleri en fazla metanol ekstraktlarında olduğunu belirlemişlerdir (Özay ve ark., 2012).

Özay ve Mammadov' un yaptıkları bir araştırmada, üç adet *Alyssum* L. taksonundan (*A. foliosum* var. *Megalocarpum*, *A. simplex* ve *A. strigosum* subsp. *Strigosum*) elde edilen metanolik ekstraktların fenolik bileşimi ve antioksidan, antibakteriyel ve sitotoksik aktiviteleri ilk kez araştırılmıştır. Ekstraktların antioksidan aktivitesi DPPH, metal şelatlama, fosfomolibden,  $\beta$ -karoten / linoleik asit ve ferrik indirgeme gücü analizleri ile değerlendirilmiştir. Buna ek olarak, ekstraktlarda toplam

fenolik ve flavonoid içeriği belirlenmiştir. Sonuç olarak, üç *Alyssum* taksonundan elde edilen özütler arasında, diğer iki *Alyssum* L. taksonu olan *A. foliosum* var. *Megalocarpum* ve *A. strigosum* subsp. *Strigosum*' a kıyasla *A. simpleks*'ten en yüksek biyolojik aktiviteler elde edilmiştir (Özay & Mammadov, 2016).

Bu tez kapsamında *A. floribundum* bitkisinin kök, gövde ve yaprak kısımlarından elde edilen etanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri DPPH· radikali giderme aktivite tayin yöntemiyle incelenmiştir. Literatürler incelendiğinde antioksidan aktivite tayinlerinde aseton, etil asetat ve metanol gibi çözücülerle yapılan bazı çalışmalar da verimli sonuçlar elde edilmemiştir. Bizim çalışmamızda daha verimli sonuçlar elde etmek amacıyla çözücü olarak etanol kullanılmıştır.

Vale ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, dört Brassica oleracea çeşidinden elde edilen filizlerin antioksidan aktivitesi, "in vitro" yöntemler (toplam fenolik ve flavonoid muhtevası; radikal temizleme deneyleri: DPPH, hidroksil ve peroksil ve Demirli İyonla Şelatlama Yeteneği Deneyi) kullanmışlardır. Işık döngüleri ve filizlenme, filizlerin potansiyel antioksidan aktivitesini etkilemiş ve çeşitler arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Genel olarak, antioksidan aktivite filizlenme ile azaldı ve ışık varlığında artmış, diskriminant etkisi oldukça yüksek bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Işık döngüleri altında üretilen kırmızı lahana filizleri, en yüksek antioksidan aktivitesini göstermiştir (57.11  $\mu\text{g mL}^{-1}$  Demir İyon-şelatlama Yeteneği, 221.46  $\text{lg mL}^{-1}$  Hidroksil radikali temizleme, 279.02  $\text{lg L}^{-1}$  Peroksil radikali süpürme). Geleneksel Portekiz brassica çeşitleri arasında, ışık altında üretilen Penca lahana filizi, daha yüksek antioksidan kapasite ve daha yüksek fenolik ve flavonoid içeriği Galega lahana'ya göre daha yüksek bulunmuştur. Brassica filizlerinin fenolik içeriği antioksidan kapasitesine önemli bir katkı sağlamıştır (Vale ve ark., 2014).

Ayaz ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada kale (süs lahanası) ile yapılan bir çalışmada taze bitkinin metanol ekstraktının tüm fraksiyonlarının DPPH radikali giderme aktivitesi gösterdiği ama hepsinin standarttan düşük olduğu bildirilmiştir (Ayaz ve ark., 2008).  $EC_{50}$  değerlerinin dikkate alındığı bir çalışmada Brassicaceae ailesinde en düşük  $IC_{50}$  brokoli ve İtalyan süs lahanasının gösterdiği bildirilmiştir (Heimler ve ark., 2006; Akagün, 2009).

Yaptığımız çalışmada *A. floribundum* bitkisinin kök, gövde ve yaprak etanollü özütlerinin  $IC_{50}$  değerleri belirlenmiştir. Absorbansın düşmesi radikal ile antioksidan moleküllerin reaksiyonu sonucunda hidrojen bağlanması ile radikalın giderilmesidir. Hesaplanan  $IC_{50}$  değerleri ne kadar düşük olursa radikal süpürücü aktivite o kadar yüksektir. *A. floribundum* bitkisinin  $IC_{50}$  değerleri BHT>kök> yaprak> gövde şeklinde

belirlenmiştir. Bunun sonucunda en yüksek aktivite kök, en düşük aktivite gövde olarak belirlenmiştir.

Kılınçarslan'ın yapmış olduğu bir çalışmada Brassicaceae familyasına ait bir bitki olan *Erysimum kotschyanum* ekstraktlarının bazı biyolojik aktivitelerini araştırmıştır. Buna göre, bitki ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesi (% 80.47± 1.83), DPPH (% 89.39±0.61) ve ABTS (% 96.20±0.12) serbest radikali giderim aktivitesi, demir indirgeme gücü kapasitesi (0.01701±0.001), toplam fenolik (4.883±0.47) ve flavonoid madde miktarları (93.322±1.57) ve YPSK yöntemiyle etanol ekstraktının 9 fenolik bileşenin içerikleri tespit edilmiştir (Kılınçarslan, 2016).

Çalışmamızda ise *A. floribundum* bitkisi ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesi 5 mg/mL konsantrasyonunda kök (%73.82), yaprak (%53.89) ve gövde (%52.26) ile en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Bunun sonucunda konsantrasyonun artması ile DPPH serbest giderim aktivitesinin arttığı gözlenmiştir.

Valadbeigi ve Lemraski yaptıkları bir çalışmada, *Alyssum homalocarpum* (Fisch. & C.A.Mey.) Boiss kullanarak gümüş nanopartiküller sentezi özü elde edilmiştir. *A. homalocarpum*'un metanolik özütleri konsantre edildi. Antioksidan aktivitesi için  $\alpha$ -Glukosidaz inhibisyon analizi,  $\alpha$ -amilaz inhibisyon aktivitesi ve IC<sub>50</sub> testi yapılmış ve sonuçlar rapor edilmiştir. Ekstrenin toplam fenolik ve flavonoid miktarını hesaplamak için Folin-Ciocalteu reaktifi ve alüminyum klorür kolorimetrik yöntemler kullanılmıştır. Ekstrenin antimikrobiyalini ölçmek için altı bakteri ve dört mantar kullanıldı. 9,12,15-octadekatrien 1-ol, n-heksadekanoik asit, 2-pirazolin, 2,4-dekadienal ve 9,12-oktadekadienoik asit gibi en önemli bileşikler tespit edilmiştir. Ekstrakt güçlü  $\alpha$ -glukosidaz inhibitör aktivitesi (18.01  $\mu$ g / mL) ve ayrıca DPPH radikal süpürücü (IC<sub>50</sub>: 64  $\mu$ g / mL) gösterdi. *Salmonella typhi*'ye karşı (30.9 mm) maksimum antibakteriyel aktivite araştırıldı (Valadbeigi & Lemraski, 2018).

Sing ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada ilk kez *Brassica oleracea* var. botrytis ve *Raphanus sativus*'un potansiyel biyoredüktan olarak yeni çeşitlerinin kullanılmasını, son derece kararlı gümüş nanopartiküllerin (AgNP'ler, altı ay boyunca gözlemlenmemiş agregasyon) sentezlenmesini yapmışlardır. Bitki özütüne bağlı gümüş nanopartiküller kendiliğinden kararsızdır ve toplanma eğilimi gösterirler. AgNP'ler, hem Gram negatif (*Escherichia coli*, *Myroides*, *Psuedomonas aeruginosa*) hem de Gram pozitif (*Kocuria* ve *Promicromonospora*) bakterilerine karşı önemli ölçüde düşük konsantrasyonda (5 ppm) güçlü bir antibakteriyel aktivite sergilemiştir (Sing ve ark., 2018).

Kılınçarslan'ın yapmış olduğu çalışmada *Erysimum kotschyanum* bitkisinin ekstraktları disk difüzyon yöntemi ile ekstraktların antibakteriyel aktivitesi, etanol ve su ekstraktlarının sitotoksik aktivitesi ise Brine Shrimp testi ile araştırılmıştır. En etkili

antibakteriyel etki etanol ekstraktlarında *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine (11±1 zon çapı) karşı tespit edilirken, en yüksek sitotoksik etki su ekstraktlarında (LC<sub>50</sub>: 315.48) gözlemlenmiştir (Kılınçarslan, 2016).

Tajbakhsh ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, ilk kez *Alyssum spp.* bitkisinin metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik içeriği araştırılmıştır. Bu ekstraktın antibakteriyel aktivitesi de, MİK yöntemi kullanılarak üç bakteriye (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) uygulanarak belirlenmiştir. *Alyssum spp.*'nin metanol ekstraktlarında antioksidan ve antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. Bitkisel materyalde tespit edilen toplam fenolik madde, kurutulmuş ekstraktın 221 ± 2.5 mg GAE/g'sine ulaşmıştır. Toplam fenolik içerik genellikle serbest radikallerin ve antibakteriyel aktivitenin söndürülmesiyle ilişkili olduğundan, *Alyssum spp.* metanol ekstraktının yüksek antioksidan ve anlamlı antimikrobiyal aktivitesinin, yüksek toplam fenolik içerik ile doğrudan ilişkili olduğu varsayılmıştır (Tajbakhsh ve ark., 2012).

Bu çalışmada *A. floribundum* bitkisinin bitki ekstraktlarının antimikrobiyal özelliği Gram (+) olarak *Staphylococcus aureus* (ATCC 25925) ve *Bacillus subtilis* (ATCC 6633); Gram (-) olarak *Aeromonas hydrophila* (ATCC 95080), *Escherichia coli* (ATCC 25923) ve *Acinetobacter baumannii* (ATCC 02026) standart bakteri kültürleri kullanılarak ve resazurin mikropalak yöntemi ile inhibisyon bölgeleri belirlenmiştir.

Antimikrobiyal aktivite sonuçları, çalışılan özütlerin test edilen tüm bakteri kültürlerine karşı 500-0.24 µg/ml aralığında MİK değerleri ile antimikrobiyal aktiviteli olduğunu göstermiştir. Referans ilaç Ampisilin (MİK değeri: 125 µg/mL) ile karşılaştırıldığında test edilen özütlerin tamamı Gram (-) bakteri olan *A. baumannii*'ye karşı 62.5 µg/mL MİK değeri ile etkili bulunmuştur. *Bacillus subtilis*'e karşı elde edilen çiçek, yaprak, kök ve gövde etanol özütleri 31.25 µg/mL MİK değeri ile en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Ancak, referans ilaç Ampisilin'le (MİK değeri: 0.9 µg/mL) karşılaştırıldığında aktivite düşük bulunmuştur.

Antimikrobiyal aktivite sonuçları test edilen tüm ekstraktların *Aeromonas hydrophila* karşı 62.5 µg/mL MİK değeri ile etkili olduğunu göstermiştir. Fakat etkinlik değeri, 31.25 µg/mL MİK değerlerine sahip referans ilaç olan ampisilin ile karşılaştırıldığında düşük bulunmuştur.

Resazurin renginin maviden pembeye dönmesi resazurinin indirgenmiş olduğunu, yani ilgili kuyuda bakteri üremesi olduğunu göstermektedir. Çalışma sonucunda MİK değerleri, maviden pembeye renk değişimini engelleyen en düşük konsantrasyon değeri olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak MİK değerleri verilen bakteri kültürlerinden en etkili antimikrobiyal aktiviteyi *B. Subtilis* (31.25 µg/mL) bakterisi göstermiştir. *A. baumannii* ve *A. hydrophila* bakterilerinin (62.5 µg/mL) MİK değerlerine bakıldığında benzer sonuçlar göstermişlerdir. Ancak standart ilacın MİK değerine göre *A. baumannii* bakterisinin MİK değeri etkili sonuç elde edilmiştir. *E.coli* ve *S. aureus* bakterilerin (125 µg/mL) MİK değerlerine bakıldığında benzer sonuçlar elde edilmiştir. *E.coli* ve *S. aureus* bakterileri standart ilaca göre düşük aktivite göstermişlerdir. En düşük antimikrobiyal aktiviteyi *E. coli* bakterisi göstermiştir. Bu çalışmada elde edilen veriler sonucunda düşük aktivite göstermelerine karşı bütün bakteriler antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Genel olarak çalışmamızda kullanılan Mersin'in Erdemli ilçesi Müğlü Deresi Köyü civarında toplanan ve endemik bir bitki türü olan *A. floribundum* Boiss. & Balansa (Brassicaceae) bitkisi üzerine yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçlarına göre *A. floribundum* bitkisinin antioksidan ve antimikrobiyal etkinliğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma ile bundan sonra *A. floribundum* ile yapılması düşünülen birçok çalışmaya da yol gösterici olacağını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

**Akagün G.**, Alabaş (Brassica Oleracea Var. Gongylodes) Bitkisinin Antioksidan Aktivitesinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi,Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 2009.

**Akyüz, E.**,Bazı *Anthemis* Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2010.

**Aldık, R.**, Zeolitin *Aeromonas hydrophila* İle Enfekte Edilen Tilapia (*Oreochromis niloticus*)' ların Bazı Organ Ve Dokulardaki Etkilerinin Histopatolojik İncelemeleri, Yüksek Lisans Tezi,Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2010.

**Al-Shehbaz,I.A.**, A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae), Taxon 2012, 61: 931-954.

**Arıdurur R.**, Bazı Şifalı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya, 2013.

**Ardağ, A.** Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açından Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Aydın,2008.

**Arkan, T.**, Daphne Oleoides Subsp. Oleoides ve Daphne Sericea'nın Farklı Çözücülerle Antioksidan Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2011.

**Arslan, S.**, *Lactobacillus rhamnosus* 'un Sünme (Rope) Hastalığı Etkeni Olan *Bacillus* Cinsi Bakteriler Üzerine İnhibitör Etkisinin Unlarda Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2010.

**Ayaz, F.A., Hayırhoğlu Ayaz S., Alpay Karaoğlu Ş., Gruz J., Valentova K.,Ulrichova J.,Strnad M.**, Phenolic acid contents of kale (Brassica oleraceae L. var. acephala DC.) extracts and their antioxidant and antibacterial activities, Food Chemistry, 2008, 107, 19-25.

**Aydın, H.**, Bazı Baharatların Farklı Ekstraktlarının Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 2011.

**Aydın, Ç.**, Denizli İlinde Yayılış Gösteren Bazı Endemik *Allium* L. Taksonlarının Ekstraktlarının Aktif Bileşenlerinin Karakterizasyonu, Antioksidan Ve Antibakteriyal Etkilerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi,Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli,2012.

**Babacan, S.**, Çitlembik (*Celtis australis* L.) ve Karayemiş (*Prunus laurocerasus*) Meyvelerinin Antioksidan Kapasitesinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2014.

**Babaoğlu Aydaş, S.S.**, Doku Kültüründe Yetistirilen *Alyssum Corsicum* (*Brassicaceae*) Bitkisinde Nikel Birikiminin Belirlenmesi Ve Moleküler Analizi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2008.



**Babaoğlu S., Açık L., Çelebi A, Adıgüzel N.,** Türkiye'nin Bazı *Alyssum* L.(Brassicaceae) Türlerinin RAPD-PCR Ve SDSPAGE Yöntemleri İle Molekül Analizleri, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 2004, 17(3): 25-33.

**Baygeldi, Z.,**Türkiye' De Yayılış Gösteren *Alyssum* L. (Brassicaceae) Cinsine Ait Bazı Taksonların Polen Morfolojileri, , Yüksek Lisans Tezi, Bitlis Eren Üniversitesi ve Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitlis&Elazığ, (2018).

**Bektaş, E.,** *Cotinus coggygia* (Scop.) Bitkisinin Antioksidan Ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne (2011).

**Berber, İ., Avşar, C., Çine, N., Bozkurt, N. ve Elmas, E.,** Sinop 'da Yetişen Bazı Bitkilerin Metanolik Ekstratlarının Antibakteriyal ve Antifungal Aktivitelerinin Belirlenmesi, Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, 2013, 3(1) 10-16.

**Borchardt J.R., Wyse D.L., Sheaffer C.C., Kauppi K.L., Fulcher R.G., Ehlike N.J., Biesboer D.D., Bey R.F.,** Antimicrobial Activity Of Native And Naturalized Plants Of Minnesota And Wisconsin" Journal Of Med. Plants Res., 2008, 2, 98- 110

**Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C.,** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie, 1995, 30: 609-615.

**Büyüktuncel, E.,** Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler, Marmara pharmaceutical Journal,2013, 17:93-103.

**Cowan, M. M.,** Plant Products as Antimicrobial Agents", Clinical MicrobiologyReviews, 1999, 12(4): 564-582.

**CLSI,** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Ninth Edition,CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

**Dal T., Dal M.S., Ağır İ.,** Acinetobacter baumannii'de Antibiyotik Direnci ve AdeABC Aktif Pompa Sistemleri: Literatürün Gözden Geçirilmesi, Van Tıp Dergisi: 2012, 19 (3): 137-148.

**David ES,** Genome-Wide Hunt for Metal Hyperaccumulation Genes, [https://www.nsf.gov/awardsearch/showAward?AWD\\_ID=0129747](https://www.nsf.gov/awardsearch/showAward?AWD_ID=0129747)(2005), [Erişim:06/08/2018].

**Davis PH, Mill RR & Tan K (eds),** Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 10 (supplement 1): pp. 29-58, Edinburgh: Edinburgh University Press., 1988.

**Dudley, T.R.,** *Alyssum* L. In: Davis, P.H. (Ed.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol. 1. Edinburgh University Press. Edinburgh. pp.,1965, 362-409.

**Eken, S.,** Bazı Materyallerde Antioksidan Tayinleri, Yüksek Lisans Tezi,Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2007.

**Eren, Y., Akyıl, D., Çalık, İ.,** *Alyssumvirgatum* Nyar. Su Ekstrelerinin Sitotoksik ve Antisitotoksik Özellikleri, Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi,2017, Cilt: 7, Sayı: 3, s. 57-64.

**Erenel, G., Erbaş, D., Arıcıoğlu, A.,** Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler, Gazi Tıp Derg., 1992, 3, 243-250.

**Erik, S. ve Tarıkahya, B.,** Türkiye florası üzerine, Kebikeç İnsan Kaynakları Araştırmaları Dergisi, 2004, 17:139-163.

**Faydaoğlu E, Sürücüoğlu M.S.,** Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Kullanım Olanakları", Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2013, Cilt sayısı 6-2, 233-265.

**Floyd R.,** Role of Oxygen Free Radicals in Carcinogenesis and Brain is chemia Fased J. 1990, 4., 2587-2597.

**Gahlaut A, Chhillar AK.,** Evaluation of Antibacterial Potential of Plant Extracts Using Resazurin Based Microtiter Dilution Assay, Int J Pharm Pharm Sci., 2013, 5(2):372-376.

**Göç, B.,** Türkiye'deki Yenilebilir Soğansı Bitkilerin Toplam Antioksidan İçeriklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2009.

**Guo J.T., Chiang S.H., Lin F.I., Chang C.Y.,** Antioxidant Properties of the extracts from different parts of broccoli in Taiwan, Journal of Food and Drug Analysis, 2001, 9(2), 96-101.

**Gomberg, M.,** An Instance of Trivalent Carbon: Triphenylmethyl, Journal of the American Chemical Society 1900, 20, 757-771.

**Güdücü F.,** Pyrus Alaeagrifolia Bitkisi Ekstrelerinin Fenolik Madde İçerikleri, DPPH Radikali Giderme Aktiviteleri ve İn Vitro Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 2014.

**Güner, A; Aslan S.; Ekim T., Vural M., & Babaç M.T., (eds.),** Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler), Nezahat Gökyüğit Botanik bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul (2012).

**Güvenilir, B.,** Çeşitli Tıbbi Bitkilerin Yapraklarından Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2016.

**Halliwell B, Gutteridge JMC.,** The Importance of Free Radicals and Catalytic Metal Ions In Human Diseases. Mol. Aspects Med., 1985, 8(2), 89-193.

**Halliwell B.,** Free radicals and antioxidants: A personal view., Nutrition Reviews, 1994; 52(8), 253-265.

**Heimler D., Vignolini P., Dini M.G., Vincieri F.F., Pomani A.,** Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties, Food Chemistry, 2006, 99, 464-469.

**Jensen, S.J.K.,** Oxidative stress and free radicals. Journal of Molecular Structure (Theochem), 2003, 666-667, 387-392.

**IPNI.,** International Plant Names Check-list. [(http://www.ipni/. org/ipni/ author search page. do, 2015], (8/11/2017).

**Kaur, C. and Kapoor, H. C.**, Antioxidants in fruits and vegetables the millennium's health.,Int. J. Food Sci. Tech. 2011, 36, 703-725.

**Karabulut, H., Gülay, M.Ş.**, Serbest Radikaller, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2016, 4(1): 50-59.

**Küçükçoban Ç.**, Türkiye'de Yetiştirilen Bazı Erik Çeşitlerinin Toplam Antioksidan Kapasitelerinin ve Başlıca Antioksidan Bileşenlerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi,İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2009.

**Kılınçarslan Ö.**, Erysimum kotschyanum'un Ağır Metal İçeriği İle Ekstraktlarının Bazı Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi,Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 2016.

**Kırca A, Arslan E.**, Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey, Int J Food Sci Tech 2008, 43: 2038–2046.

**Koch MA, Kiefer C.**, Molecules and migration: biogeographical studies in cruciferous plants, Plant Syst Evol 2006, 259: 121-142.

**Koç, L.Y.**, Bazı Bitki Ekstrelerinin Antimikrobiyal, Antioksidan Ve Sitotoksik Etkileriyle, Kansersiz Dokularda Adenozin Deaminaz Enzimi Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2012.

**Landvik, S. V., Diplock, A. T. and Packer, L.**, Efficacy of  $\alpha$ -tokoferol in humanhealth and disease, Journal of Clinical Pathology, 1998, 121: 1123-1137.

**Metin, H.**, *Cyclamen Graecum* Link. Ekstraktlarının Aktif Bileşenlerinin Karakterizasyonu, Antioksidan Ve Histolojik Etkilerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi,Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 2012.

**Mikrobiyoloji org.** *Aeromonas hydrophila*<https://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf>, [20 Temmuz 2018].

**Orcan, N. ve Binzet, R.**, A Study Of Alyssum Floribundum (Brassicaceae), Phytologia Balcanica, 2004, 10 (2-3): 217-225.

**Özay, C., Metin, H., Demirci, M., Mammadov, R.**, *Alyssum Foliosum* Var. *Megalocarpum*'un Antioksidan Kapasitesinin İncelenmesi, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir, 359 s., 2012.

**Özay, C ve Mammadov, R.**, Assessment Of Some Biological Activities Of Alyssum L. Known As Madwort, Acta Poloniae Pharmaceutica- Drug Research, Vol. 73 No. 5 pp. 2016, 1213-1220.

**Özbek K, Cebel N, Ünver İ.**, Extractability and phytoavailability of cadmium in Cd-rich pedogenic soils. Turk J Agric For 2013, 38: 70-79.

**Özenç, B.**, Fumaria officinalis'un Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2011.

**Öztan, T.**,Mor Havuç, Konsantresi, Şalgam Suyu, Nar Suyu Ve Nar Eksisi Ürünlerinde

Antioksidan Aktivitesi Tayini Ve Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2006.

**Özyürek, M.**, Bazı İçeceklerin Antioksidan Aktivitelerinin Tayininde Yeni Bir Yöntem Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2005.

**Pantenella, F., Valenti, P., Frioni, A., Natalizi, T., Coltella, L., Berlutti, F.**, BioTimer Assay, a new method for counting *Staphylococcus* spp. in biofilm without sample manipulation applied to evaluate antibiotic susceptibility of biofilm. *Journal of microbiological methods*, 2008, 75(3): 478-484.

**Reeves, R.D., Adıgüzel, N.**, The nickel hyperaccumulating plants of the serpentines of Turkey and adjacent areas: a review with new data, *Turk Journal Biology*, 2008, 32: 143-153.

**Pham-Huy, L.A., He, H., and Pham-Huy, C.**, Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health, *International Journal of Biomedical Science*, Jun; 2008, 4(2): 89-96.

**Silinsin M.**, *Inula Graveolens* (L.) Desf. Bitki Türüne Ait Su Ve Etanol Ekstrelerinin Antioksidan Aktivitelerinin Değişik In Vitro Metotlar İle Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muş, 2016.

**Singh, B., Dutt, N., Kumar, D., Singh, S., Mahajan, R.**, Taxonomy, Ethnobotany and Antimicrobial Activity of *Croton bonplandianum*, *Euphorbia hirta* and *Phyllanthus fraternus*. *J. Adv. Develop. Res.*, 2011, 2:21-29.

**Singh, A., Deswal, R., Sharma, B.**, Green silver nanoparticles from novel Brassicaceae cultivars with enhanced antimicrobial potential than earlier reported Brassicaceae members, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2018, 47, 1-11.

**Španiel S, Kempa M, Salmerón-Sánchez E, Fuertes-Aguilar J, Mota JF, Al-Shehbaz IA, German DA, Olšovská K, Šingliarová B, Zozomová-Lihová J et al.**, AlyBase: database of names, chromosome numbers, and ploidy levels of Alyseae (Brassicaceae), with a new generic concept of the tribe, *Plant Syst Evol* 2015, 301: 2463-2491.

**Taşdelen G.**, *Oropordum Anatolicum* (Boiss.) Boiss.& Heldr. ex Eig Endemik Türünün Antioksidan Aktivitesi, Antibakteriyal ve Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 2013.

**Tajbakhsh, M., Mehri, N., Azimi, R.**, Phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of methanolic extract of *Alyssum* spp. (Brassicaceae), Bojnourd, Kuzey Khorasan Tıp Bilimleri Üniversitesi, Doğal Ürünler ve Tıbbi Bitkiler NCN PMP Ulusal Konferansı, 5-6 Ekim, 2012.

**Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M.**, Antimicrobial And Antioxidant Activities Of The Essential Oil And Various Extracts Of *Salvia Tomentosa* Miller (Lamiaceae), *Food Chemistry*, 2005, 90, 333-340

**Tübives**, <http://www.tubives.com> [Erişim: 20 Mayıs 2017]

**Tüneç, M.**, Deniz Börülcesinin (*Sarcocornia Perennis* L.) Antioksidan Parametrelerinin Ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2015.

**Torođlu S, Çenet M.**, Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar, KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 2006, 9(2).

**Uğuzlar, H.**, Antalya'da Yetişen *Areceae Arum Dioscorides* Tohumlarının Antioksidan Aktivitesi Ve Toplam Fenolik Madde Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2009.

**Valadbeigi, T. and Lemraski , E. G.**, Evaluation of *in vitro* Antimicrobial, Antidiabetic and Antioxidant Potential of *Alyssum homalocarpum* and Green Synthesis of the Silver Nanoparticles, Journal of Medicinal Plants and By-products, 2018, 1: 1-8.

**Yavaşer, R.**, Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2011.

**Yeloğlu, İ.**, Karayosunlarının Antioksidan Aktivitesinin Araştırılması, Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Bitirme Ödevi, 2012.

**Yiğit Z.**, Sınır Otu (*Plantago Major L.*) Bitkisinin Antioksidan Kapasitesi, Bazı İz Elementler (Cu, Zn, Fe ve Mn) ve Vitamin C Düzeylerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, 2013.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı ve Soyadı** : YASEMİN SALIK  
**Doğum Tarihi** : 04/07/1991  
**E-mail** : yl20152400@mersin.edu.tr  
**Öğrenim Durumu** :

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Kimya Bölümü	Mersin Üniversitesi	2010-2015
Yüksek Lisans	Kimya Bölümü	Mersin Üniversitesi	2015-2019
Doktora	-	-	-