

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENİZLİ İLİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI ENDEMİK *ALLIUM* L.
TAKSONLARININ EKSTRAKTLARININ AKTİF BİLEŞENLERİNİN
KARAKTERİZASYONU, ANTİOKSİDAN VE ANTİBAKTERİYAL
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇİĞDEM AYDIN**

Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Programı : BOTANİK

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Ramazan MAMMADOV

Mayıs, 2012

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 091461004 nolu öğrencisi Çiğdem AYDIN tarafından hazırlanan “Denizli İlinde Yayılış Gösteren Bazı Endemik *Allium* L. Taksonlarının Ekstraktlarının Aktif Bileşenlerinin Karakterizasyonu, Antioksidan ve Antibakteriyal Etkilerinin Belirlenmesi” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV (PAÜ)

(Jüri Başkanı)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN (PAÜ)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK (PAÜ)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 04.07.2012... tarih ve ...17/10... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Nuri KOLSUZ

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.



Öğrenci Adı Soyadı : Çiğdem AYDIN

ÖNSÖZ

“Denizli İlinde Yayılış Gösteren Bazı Endemik *Allium* L. Taksonlarının Ekstraktlarının Aktif Bileşenlerinin Karakterizasyonu, Antioksidan ve Antibakteriyal Etkilerinin Belirlenmesi” adlı yüksek lisans tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV’a, sayın Doç. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN’a, sayın Yrd. Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK’e, sayın Doç. Dr. Olcay DÜŞEN’e ve Doç. Dr. Mehmet ÖZTÜRK’e (Muğla Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü) ve tez çalışmalarım süresince verdikleri destekten dolayı Pamukkale Üniversitesi tüm bölüm hocalarıma, arkadaşım Hülya METİN ve çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmayı maddi yönden destekleyen Pamukkale Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Başkanlığı’na teşekkürlerimi sunarım. Bu tezin hazırlanmasında bana maddi ve manevi en büyük desteği sağlayan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs, 2012

Çiğdem AYDIN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	xi
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ	1
1.1 İnceleme Materyalinin Botanik Özellikleri.....	4
1.1.1 Alliaceae.....	4
1.1.2 <i>Allium</i> L.....	5
1.1.3 <i>Allium stylosum</i> O. Schwarz.....	6
1.1.4 <i>Allium deciduum</i> N.Özhatay & Kollmann.....	7
1.1.5 <i>Allium sibthorpiatum</i> Schultes & Schultes fil.....	8
1.2 Antioksidanlar.....	9
1.3 Antioksidanların Sınıflandırılması.....	12
1.3.1 Doğal Antioksidanlar.....	13
1.3.1.1 C-Vitamini.....	13
1.3.1.2 E Vitamini.....	14
1.3.1.3 Karotenoidler.....	14
1.3.1.4 Polifenolik bileşikler.....	15
1.3.1.5 Flavonoidler.....	17
1.3.2 Yapay antioksidanlar.....	18
1.3.2.1 Butillenmiş hidroksi anizol (BHA).....	18
1.3.2.2 Butillenmiş hidroksi toluen (BHT).....	19
1.3.3 Antioksidanların yapılarına göre sınıflandırılması.....	19
1.3.3.1 Fenolik antioksidanlar.....	19
1.3.3.2 Aromatik antioksidanlar.....	20
1.3.3.3 Organik sülfür bileşikleri.....	20
1.3.4 Antioksidanların etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması.....	20
1.3.4.1 Primer antioksidanlar.....	20
1.3.4.2 Sekonder antioksidanlar.....	21
1.4 Antioksidan Savunma Sistemi.....	22
1.5 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	24
1.5.1 Toplam fenol miktar tayini(Folin-Ciocalteu yöntemi).....	25
1.5.2 Ransimat yöntemi ile lipit peroksidasyon etki tayini.....	25
1.5.3 DPPH süpürücü antioksidan aktivite tayin yöntemi.....	25
1.5.4 Tiyobarbitürik asit metodu (TBA).....	26
1.5.5 Demir-tiyosiyonat metodu.....	26
1.5.6 β -Karoten-linoleik asit yöntemi (total antioksidan aktivite).....	26
1.6 Antimikrobiyal Maddeler.....	27
1.7 <i>Allium</i> Türleri İle Yapılan Kimyasal Araştırmalar ve Aktivite Çalışmaları.....	29
1.8 Çalışmanın Amacı.....	31

2. MATERİYAL VE METOT.....	32
2.1 Materyaller.....	32
2.1.1 Bitkisel materyaller.....	32
2.1.2 Mikroorganizmalar.....	33
2.2 Yöntemler.....	33
2.2.1 Bitkilerin kurutulması ve ekstraksiyon işlemleri.....	33
2.2.2 İçerik tanıma yöntemleri.....	34
2.2.2.1 İnce tabaka kromatografisi analizi (İTK).....	34
2.2.2.2 EI-MS yöntemi.....	35
2.2.3 Antioksidant aktivite analiz yöntemleri.....	35
2.2.3.1 Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi.....	35
2.2.3.2 DPPH serbest radikal giderim aktivitenin belirlenmesi yöntemi.....	36
2.2.3.3 Toplam fenolik bileşik miktarının belirlenmesi.....	36
2.2.4 Antibakteriyal aktivite tayini.....	37
2.2.4.1 Bitki özütlerinin antibakteriyal aktivite deneyleri için hazırlanması.....	37
2.2.4.2 Mikroorganizma kültürlerinin hazırlanması.....	37
3. BULGULAR.....	38
3.1 Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi.....	38
3.1.1 Toplam antioksidant aktivitenin belirlenmesi.....	38
3.1.2 Serbest radikal giderim aktivite sonuçları.....	41
3.1.3 Toplam fenolik madde konsantrasyonu.....	46
3.2 EI-MS Sonuçları.....	47
3.3 Antibakteriyal Aktivite Sonuçları.....	49
4. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	53
KAYNAKLAR.....	59

KISALTMALAR

A1S	: <i>A.stylosum</i> Soğan
A1Y	: <i>A.stylosum</i> Yaprak
A2S	: <i>A.sibthorpiantum</i> Soğan
A2Y	: <i>A.sibthorpiantum</i> Yaprak
A3S	: <i>A.deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i> Soğan
A3Y	: <i>A.deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i> Yaprak
A4S	: <i>A.deciduum</i> subsp. <i>retrosum</i> Soğan
A4Y	: <i>A.deciduum</i> subsp. <i>retrosum</i> Yaprak
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
CUPRAC	: Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikril hidrazil
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetikasit
EI-MS	: Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometrisi
ET	: Tek Elektron Transferi
FCR	: Folin-Ciocalteu Reaktifi
FRAP	: Ferrik İyonu İndirgeme Antioksidan Gücü
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
HAT	: Hidrojen Atomu Transferi
İK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyonunu
MLK	: Minimal Letal Konsantrasyon
MHB	: Mueller Hinton Broth
MHA	: Mueller Hinton Agar
NDGA	: Nordihidroguayaretik Asid
NMR	: Nükleer Magnetik Rezonans
ORAC	: Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
PPH	: Polifenolik Antioksidanlar
ROO.	: Peroksil Radikali
ROOH	: Alkil Hidroperoksit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksitdismutaz
TBHQ	: Tersiyer Butil Hidrokinon
TRAP	: Total Radikal Yakalama Antioksidan Kapasitesi
TEAC	: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite
TBA	: Tiyobarbitürik Asit Metodu

TABLO LİSTESİ

Tablolar

1.1	: <i>Allium</i> genusunun sistematığı.....	6
1.2	: En sık karşılaşılan serbest radikaller ve bazı özellikleri.....	10
1.3	: Antioksidanların sınıflandırılması.....	13
1.4	: Flavonoid sınıflarına ait bileşikler, süstitüsyon konumları ve besin kaynakları.....	16
1.5	: Flavonoidlerin grupları ve bu gruplara ait bileşikler.....	18
2.1	: Bitki materyallerinin toplanma lokaliteleri.....	33
3.1	: <i>Allium stylosum</i> , <i>Allium sibthorpiantum</i> , <i>Allium decuduum</i> subsp. <i>decuduum</i> ve subsp. <i>retrorsum</i> ekstraktlarının β _karoten-linoleik asit sistemindeki antioksidan aktiviteleri (%)......	38
3.2	: <i>Allium stylosum</i> , <i>Allium sibthorpiantum</i> , <i>Allium decuduum</i> subsp. <i>decuduum</i> ve subsp. <i>retrorsum</i> bitkilerinin etanol ekstraktlarının ve standartın DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	42
3.3	: <i>Allium stylosum</i> , <i>Allium sibthorpiantum</i> , <i>Allium decuduum</i> subsp. <i>decuduum</i> ve subsp. <i>retrorsum</i> bitkilerinin metanol ekstraktlarının ve standartın DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	42
3.4	: <i>Allium stylosum</i> , <i>Allium sibthorpiantum</i> , <i>Allium decuduum</i> subsp. <i>decuduum</i> ve subsp. <i>retrorsum</i> bitkilerinin aseton ekstraktlarının ve standartın DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	43
3.5	: <i>Allium stylosum</i> , <i>Allium sibthorpiantum</i> , <i>Allium decuduum</i> subsp. <i>decuduum</i> ve subsp. <i>retrorsum</i> bitkilerinin benzin ekstraktlarının ve standartın DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	43
3.6	: Türlerle ait etanol ekstraktlarının 765 nm'de absorbanları ve gallik aside eşdeğer konsantrasyonları.....	46
3.7	: Türlerle ait metanol ekstraktlarının 765 nm'de absorbanları ve gallik aside eşdeğer konsantrasyonları.....	47
3.8	: <i>Allium stylosum</i> ekstraktlarının antibakteriyal aktiviteleri.....	49
3.9	: <i>Allium sibthorpiantum</i> ekstraktlarının antibakteriyal aktiviteleri.....	49
3.10	: <i>Allium decuduum</i> subsp. <i>decuduum</i> ekstraktlarının antibakteriyal aktiviteleri.....	50
3.11	: <i>Allium decuduum</i> subsp. <i>retrorsum</i> ekstraktlarının antibakteriyal aktiviteleri.....	50
3.12	: Bazı antibiyotiklerin çalışmada kullanılan suşlar üzerindeki inhibisyon zon değerleri.....	50

ŞEKİL LİSTESİ

Şekiller

1.1	: Bitki materyali <i>Allium stylosum</i> O. Schwarz.....	7
1.2	: Bitki materyali <i>Allium deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i> N.Özhatay & Kollmann.....	8
1.3	: Bitki materyali <i>Allium sibthorpiatum</i> Schultes & Schultes fil.....	9
1.4	: Askorbik asit.....	14
1.5	: α tokoferol.....	14
1.6	: β Karoten.....	15
1.7	: Flavonoidlerin temel kimyasal yapıları.....	17
1.8	: Butillenmiş hidroksi anizolün (BHA) kimyasal yapısı.....	19
1.9	: Butillenmiş hidroksi toluenin (BHT) kimyasal yapısı.....	19
1.10	: Sesamol.....	20
1.11	: Dilauril ditiyopropiyonat.....	20
1.12	: İkincil antioksidanlar.....	22
1.13	: Antioksidanların hücresel etki mekanizmasının şematik gösterimi.....	23
1.14	: DPPH antioksidan madde ile reaksiyonu.....	26
2.1	: Kurutma işlemi.....	34
2.2	: Rotary evaporatör ile çözücü uzaklaştırma işlemi.....	34
2.3	: Çözücünün plakta yürüme ve kurutulma aşaması.....	35
3.1	: β -Karoten-Linoleik asit yönteminde etanollü bitki ekstraktların absorbens grafiği.....	39
3.2	: β -Karoten-Linoleik asit yönteminde metanollü bitki ekstraktların absorbens grafiği.....	39
3.3	: β -Karoten-Linoleik asit yönteminde asetonlu bitki ekstraktların absorbens grafiği.....	40
3.4	: β -Karoten-Linoleik asit yönteminde benzinli bitki ekstraktların absorbens grafiği.....	40
3.5	: β karoten-linoleik asit sistemiyle etanol, metanol, aseton ve benzin ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (%).....	41
3.6	: DPPH yöntemi ile etanollü bitki ekstraktların farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri.....	44
3.7	: DPPH yöntemi ile metanollü bitki ekstraktların farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri.....	44
3.8	: DPPH yöntemi ile asetonlu bitki ekstraktların farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri.....	45
3.9	: DPPH yöntemi ile benzinli bitki ekstraktların farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri.....	45
3.10	: Gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	46
3.11	: Plakta lekelerin görüntülenme aşaması.....	47
3.12	: Apigenin 7,4'-di-metil eter.....	48

3.13 :	Apigenin 7,4'-di-metil eter'in EI-MS spektrumu.....	48
3.14 :	<i>Allium stylosum</i> ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 ve <i>Escherichia coli</i> ATCC 11230 suşları üzerine etkisi.....	51
3.15 :	<i>Allium sibthorpiatum</i> ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 ve <i>Escherichia coli</i> ATCC 11230 suşları üzerine etkisi.....	51
3.16 :	<i>Allium deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i> ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 ve <i>Escherichia coli</i> ATCC 11230 suşları üzerine etkisi..	52
3.17 :	Antibiyotiklerin <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 ve <i>Escherichia coli</i> ATCC 11230 suşları üzerine etkisi.....	52

SEMBOL LİSTESİ

°C	: Santigrat derece
gr	: Gram
Gr(+)	: Gram pozitif
Gr(-)	: Gram negatif
M	: Molarite
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Minimetre
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
%	: Yüzde

ÖZET

DENİZLİ İLİNDE YAYILIŞ GÖSTEREN BAZI ENDEMİK *ALLIUM* L. TAKSONLARININ EKSTRAKTLARININ AKTİF BİLEŞENLERİNİN KARAKTERİZASYONU, ANTIOKSİDAN VE ANTİBAKTERİYAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Bu çalışmada, Denizli ilinde yayılış gösteren bazı endemik *Allium* L. taksonlarının (*A.stylosum*, *A.sibthorpiatum*, *A.deciduum* subsp.*deciduum* ve subsp.*retrorsum*) soğan ve yapraklarının etanol, metanol, aseton ve benzin ekstraktlarının etken bileşiğin karakterizasyonu, antioksidan ve antibakteriyal aktiviteleri incelenmiştir. Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde DPPH ve β -karoten-Linoleik asit yöntemi kullanılmıştır. Antibakteriyal aktivite *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı agar kuyu difüzyon metodu kullanılarak belirlenmiştir. En yüksek antioksidan aktivite (%81.38) *A.sibthorpiatum* türünün soğan kısmının metanollü çözücü ile elde edilen ekstraktında görülmüştür aynı zamanda serbest radikal giderim aktivitesi (%74.80) en yüksek çıkmıştır. *A. sibthorpiatum* soğanından elde edilen etanollü ekstraktı her iki bakteri türünde etkili olurken en yüksek antibakteriyal aktivite (7.9 mm çapında inhibisyon zonu) *A. stylosum* türünün yaprak kısmının etanollü ekstraktında görülmüştür. Ayrıca bu ekstraktların toplam fenolik içerikleri de belirlenmiştir. Bu testler sonucunda *A.sibthorpiatum* türünün soğan ekstraktlarının daha güçlü aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Allium*, Antioksidan Aktivite, Antibakteriyal Aktivite, Bitki Ekstraktları

SUMMARY

CHARACTERIZATION OF ACTIVE COMPOUNDS, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL EFFECTS OF EXTRACTS OF SOME ENDEMIC *ALLIUM* L. TAXA DISTRIBUTED IN THE DENIZLI PROVINCE

In this study, the characterization of active compounds, antioxidant and antibacterial activities of ethanol, methanol, acetone and benzine extracts of bulbs and leaves of some endemic *Allium* taxa (*A.stylosum*, *A.sibthorpiatum*, *A.deciduum* subsp.*deciduum* ve subsp.*retrorsum*) in the Denizli province were investigated. DPPH and β _carotene-linoleic acid method were used in determination of antioxidant activity. Antibacterial activities were investigated by using Agar well diffusion method against bacterial *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The highest antioxidant activity (81.38%) was observed in methanol extracts of bulbs *A. sibthorpiatum* species and at the same time *A. sibthorpiatum* species has shown that the highest free radical scavenging activity (74.80 %). It was obtained from ethanol extracts of bulbs *A. sibthorpiatum* effect of type of bacteria while both the highest antibacterial activity (7.9 mm in diameter inhibition zone) was obtained ethanol extracts of leaves *A.stylosum*. In addition, total phenolics contents of these extracts were determined. These tests results indicated that bulbs extracts of *A. sibthorpiatum* have strongest activity.

Key Words: *Allium*, Antioxidant Activity, Antibacterial Activity, Plant Extracts

1. GİRİŞ

Ilıman kuşak içerisinde bulunan Türkiye, sahip olduğu bitki çeşitliliği açısından kendisini çevreleyen birçok ülkeden daha zengindir ve farklı olan özellikleri ile dikkati çeker. Türkiye’de yayılış gösteren bitki türlerinin sayısı, Avrupa kıtasının tümünde yayılış gösteren bitki türlerinin sayısına yakındır. Ülkemiz mevcut bitkisel çeşitliliği yönünden oldukça zengin bir floraya sahiptir. Ülkemiz florası yaklaşık olarak 12.006 taksondan oluşmakta (Erik ve Tarıkahya, 2004) ve bunlardan 650 kadarı halk arasında tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Baytop, 1984). Yurdumuz, üç önemli fitocoğrafik bölgenin kesişim yerinde bulunması ve tür endemizminin yüksek oluşu sebebiyle, floristik açıdan zengin bir ülkedir.

Türkiye zengin bir floraya sahip olduğu gibi, çok sayıda endemik ve endemik olmayan, nadir bitki türlerini de barındırmasıyla dikkat çekmektedir. Özellikle geofitler olarak bilinen soğanlı, yumrulu ve rizomlu bitkiler, gösterişli çiçekleriyle, çeşitli sebeplerle bitki toplayan insanların dikkatini çekmektedirler. Liliaceae ve Alliaceae familyaları da bu türden geofit bitkileri içermektedir (Karaca ve diğ., 2007).

Floramızın bu kadar zengin olmasının başlıca sebepleri olarak; Türkiye’nin birbirinden hem iklim hem de bitki örtüsü yönünden, dolayısıyla floristik yapısı bakımından farklı üç bitki coğrafya bölgesinin kesiştiği bir konumda olması (Bunlar: Kuzey Anadolu’da Avrupa-Sibirya, Batı ve Güney Anadolu’da Akdeniz, İç ve Güney Doğu Anadolu’da yer alan İran-Turan bitki coğrafyası bölgeleridir), Anadolu’nun Avrupa ve Asya kıtası arasında köprü konumunda olması ve buna bağlı olarak iki kıta arasında karşılıklı bitki göçleri ile çeşitliliğin artması, birçok cins ve seksiyonun farklılaşma merkezinin Anadolu oluşu, edafik (topraksal) faktörlerin oldukça çeşitlilik göstermesi sayılabilir (Erik ve Tarıkahya, 2004). Ayrıca ülkemiz sadece flora zenginliği olarak değil endemik tür zenginliği bakımından da çok önemli

bir yerdedir. Türkiye florasındaki tür sayısı 2891'dir. Bu sayıya endemik olan 497 alttürü ve 390 varyeteyi dâhil ettiğimizde endemik takson sayısı 3778'e çıkmaktadır (Erik ve Tarıkahya, 2004).

Yurdumuzun bu denli zengin bir floraya sahip olmasından dolayı geofitler de ülkemizde çok çeşitlilik göstermektedir. 500 civarında tür yurdumuzda doğal olarak yetişmektedir (Ekim ve Koyuncu, 1992). Geofitler toprak altında soğan, yumru ve rizom gibi gıda maddesi depo eden, özelleşmiş toprak altı gövdeleri taşıyan otsu bitkilerdir (Çetik, 1973). Geofitlerin bitkiler aleminde yeri incelendiğinde, bunların Tohumlu Bitkiler (Spermatophyta) bölümünde, Kapalı Tohumlu Bitkiler (Magnoliophyta) alt bölümünde, yer aldığı görülmektedir. Bu grup Bir Çenekli Bitkiler (Liliopsida) ve İki Çenekli Bitkiler (Magnoliopsida) olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Geofitler çoğunluğu "Birçenekli Bitkiler" sınıfında olmak üzere her iki sınıfta da yer alır (Koyuncu, 1994). Yeryüzündeki yaklaşık 400.000'den fazla tohumlu bitkinin % 6-7'si geofit bitkilerden olup, 19 familyaya ait yaklaşık 21.000 tür bulunmaktadır (Sezik, 1984). Yurdumuzdaki geofitlerin büyük bir kısmı; Liliaceae (Zambakgiller), Alliaceae (Soğangiller), Amaryllidaceae (Nergisgiller), İridaceae (Süsengiller), Orchidaceae (Salepgiller), Ranunculaceae (Düğünçiçeğigiller), Araceae (Yılanyastığıgiller), Primulaceae (Çuhaçiçeğigiller) ve Crassulaceae (Damkoruğugiller) familyalarına aittir. Yurdumuzda yetişen geofitlerin çoğu Batı Anadolu, Toroslar ve Kuzey Doğu Anadolu çevresinde toplanmıştır (Koyuncu, 1994).

Geofitlerin soğanlı, yumrulu ve rizomlu toprak altı gövdelerinin gelişmeleri açısından yazın sıcak ve kurak ayları kışın soğuk ve karlı ayları elverişsiz dönemleridir. Bitkiler bu elverişsiz ayları toprak altında uyku halinde geçirirler. İlkbahar ve sonbaharda yağmurların başlaması ve sıcaklığın normale dönmesi ile hızlı bir gelişme göstererek yaprak, çiçek ve tohum oluştururlar. Geofitler en bol olarak ilkbahar ve sonbaharda bulunurlar (Koyuncu, 1994).

Geofitlerin en önemli özelliklerinden biri soğan, yumru ve rizomlarının içerdikleri etken maddeler sayesinde tedavi maksatlı kullanılmasıdır. Geofitlerle tedavi çok eski zamanlara dayanmaktadır (Demirhan, 2001). Türkiye, bitki gen kaynakları yönünden dünyanın en önemli merkezlerinden biri olup, birçok cins ve tür açısından gen merkezi konumundadır. Türkiye'de 9000'i aşkın iletim demetli bitki türü bulunmaktadır. Bu türlerden yaklaşık 3000'i endemik olup sadece Türkiye'ye

özgüdür ve yeryüzünün başka yerlerinde doğal olarak bulunmazlar. Avrupa'nın Türkiye'den sonra en yüksek endemizm oranına sahip ülkesi Yunanistan'da 800 endemik bitki türü bulunmaktadır.

İngiltere'de ise toplam bitki türü sayısı 1850 civarındadır. Türkiye florasında ise sadece soğanlı bitkiler yaklaşık 600 kadar türle temsil edilmektedir (Aksu ve diğ., 2002). Geofit bitkiler, zarif ve gösterişli çiçekleri sayesinde bitki toplayan insanların dikkatini çekmektedirler (Karaca ve diğ., 2007). Bir kısmı erken ilkbaharda bir kısmı da sohbaharda dikkat çekici güzellikte çiçek açan bu bitkilerin yumru ve soğanları, ekonomik ve tıbbi açıdan değerli olup ihraç edilmektedir (Arslan ve diğ., 2002). Çiçekli bitkilerin en büyük familyalarından biri olan Liliaceae familyası dünyada yaklaşık 250 cins ve 3500 tür ile temsil edilirken (Satıl ve Akan, 2006), Türkiye'de 36 cins ve 461 tür ile temsil edilmektedir (Erik ve Tarıkahya, 2004).

Zambakgiller familyasından olan sarımsak, *Allium* cinsi içerisinde yer almaktadır. Tarihi kayıtlar *Allium'* un yetiştirilmesi ve tüketiminin Sümerlerle Mezopotamya'da başladığını göstermektedir (Evren ve diğ., 2006). *Allium*, *Origatum*, *Mentha* ve *Thymus* cinslerinin bazı türlerinde olduğu gibi bitkiler besin maddesi olarak kullanılmalarının yanı sıra koku verici ve tat verici olarak da kullanılmaktadırlar (Baytop, 1984).

Bitkilerin yalnızca besin maddesi olarak değil, pek çok hastalığın tedavisinde kullanılması insanlık tarihi kadar eskidir. Bitkiler içerdikleri maddelerle insan ve hayvan sağlığı yönünden önem taşırlar. Günümüzde insan ve hayvanların tedavisinde birçok ilaç sentetik olarak üretilmekte, buna karşılık son 30-40 yılda özellikle endüstrileşmiş ülkelerde, bitkisel ilaçlara doğru büyük bir yöneliş görülmektedir (Dimayuga ve Garcia, 1991; Özer ve diğ., 2001).

Günümüzde 20000'den fazla bitki alternatif tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Bu gelişmeler ve hastalıklara karşı ilaç veya etken madde keşfi için tıbbi bitkilere ve bu bitkilerden çeşitli maddelerin izole edilerek insanlığın hizmetine sunma çalışmaları da son derece önem kazanmıştır. Antioksidan, okside edilebilen substrata nazaran düşük konstrasyonlarda bulunduğu zaman o substratın oksidasyonunu anlamlı bir şekilde geciktiren yada önleyen bir madde olarak tanımlanabilir. Antioksidanların fizyolojik rolü, kimyasal reaksiyonlar neticesinde ortaya çıkan serbest radikallerin dokuya hasarını önlemektir (Alhan ve Şan, 2002).

1.1 İnceleme Materyalinin Botanik Özellikleri

1.1.1 Alliaceae

Angiospermlerin en eski sınıflandırmasında, Melchior tarafından *Allium*'lar ovaryum üst durumlu olduklarından dolayı Liliaceae familyasına dahil edilirken, sonraki sınıflandırmada çiçek durumlarının şemsiye şekilli olmasından dolayı Amaryllidaceae familyasına sokulmuşlardır. Monokotiledonların en yeni ve kapsamlı taksonomik sınıflandırmasında ise Amaryllidaceae familyasına yakın olduğu belirtilen Alliaceae familyasında kabul edilmişlerdir (Baktır ve Karagüzel, 2004). Otsu ve çok yıllık bir bitkileri kapsayan tek çiçekli bitkiler familyasıdır, tek çenekliler sınıfındaki Asparagales takımının içinde yer alır (Tablo 1.1).

Mutedil ve subtropik bölgelerde yayılmış çok yıllık otsu bitkilerdir. 175 cinse ve 2000'den fazla türe sahip olan çok geniş bir familyadır. Bir çok taksonu süs bitkisi olarak saksılarda ve bahçelerde yetiştirilmektedir (Yaltırık ve Efe, 1989). Bazı türleri gıda maddesi veya baharat olarak da kullanılmaktadır (Seçmen ve diğ., 1998).

Başka bir kaynağa göre de bu familya 250 cins ve 3500 kadar tür içermektedir. Ülkemizde ise Amaryllidaceae dahil yaklaşık 44 cins ve 426 türü bulunur (Seçmen ve diğ., 1998). Bu familyanın yurdumuzda endemik olarak bulunan 35 cinsi ve 398 türü bulunmaktadır (Seçmen, 2004).

Genellikle rizomlu, kormuslu, soğanlı veya tuberli, nadiren yıllık genellikle çok yıllık otsu bitkilerdir. Nadiren spinoz tırmanıcılara sahiptirler. Yapraklar bazal veya kaulin nadiren de equitanttır. Bazen kaulin boyutlarına indirgenmiş ovat veya lineer kladodlara sahiptirler. İnfloresans panikul, umbel, rasem ya da korimb veya çiçek tekdir. Periant biseriattır (yada nadiren daha içteki kısımdaki organların baskısı ile uniseriat) (Davis,1978).

Çiçek parçaları üçlü, P_{3+3} bazen $(3+3) A_{3+3} G_{(3)}$. Çiçekler aktinomorf ve erdişidir (Yaltırık ve Efe, 1989). Segmentler (-4) 6(-8) olarak serbest veya kannattır. Genellikle petaloid stamenler (-4) 6 (-10) bulunur. Nektar salan kısımlar septal, bazal veya perianttır. Ovaryum üç loplulu genellikle üst durumludur ve nadiren de perignos diske sahiptir. Stiluslar 1-3 tane, nadiren tek veya lopludur. Meyve kapsül biçiminde veya tanelidir. Tohumlar triquetroz olarak çevrili veya diskoiddir. *Dracaena* L. ve *Phormium tenax* C. Forster türlerinin bazen üretimleri yapılmıştır (Davis,1978).

1.1.2 *Allium* L.

Allium cinsi Alliaceae familyasının geniş bir cinsidir ve yaklaşık 750 doğal türü kuzey yarım kürede yayılmıştır. Çoğu Akdenizde bulunan 110 türünden fazlası Avrupa kıtasında bulunmasına rağmen, birçok türünün Asya ve Kuzey Amerika'da kendi yayılış alanları vardır. Yayılış alanları çoğunlukla bu türün çeşitliliğinin merkezi olan Orta Asya, Orta Doğu ve Kuzey Amerika'nın küçük bir kısmında mevsimsel kurak olan alanlarla sınırlanır (Baktır ve Karagüzel, 2004).

Allium cinsinin genel özellikleri şunlardır; çok yıllık, soğanlı bazen rizomlu, tipik soğan veya sarımsak kokulu, skapus taşıyan otsu bitkilerdir. Bulblar kabuklu veya rizoma bağlı bir kluster içindedir. Yapraklar tabanda veya skapus üzerinde; tabanda sarı, filiform, linear veya eliptik, düz veya silindirik, çoğunlukla borumsudur. Çiçekler tepede bir umbella durumunda, açmadan önce bir brakte (spata) içindedir. Spata tam iki veya daha çok parçalı, düşücü veya kalıcıdır. Umbella nadiren soğancıklı, pediseller çoğunlukla tabanda, brakteollüdür. Periant stellat, dar kampanulat veya ovoid–urseolattır. Segmentler devamlı, serbest ve tabanda hafifçe birleşmiş, 1 damarlı, beyaz, yeşilimsi beyaz, sarı, pembe mor, mavimsi mor, menekşe renklerindedir. Stamenler 6, serbest veya tabanda bir halka şeklinde birleşik, periant segmentlerinin tabanında başlar ve bazen tabanlarına bağlıdır. Filamentler çoğunlukla basit, bazen içteki ucu trikuspitat; anterler elipsoid-oblong, dorsifiks, içe dönüktür. Ovaryum üç gözlü, her göz iki veya çok ovüllü; stilus 1, filiform, ginobazik; stigma tam, punktiform veya kapitat, nadiren kısa, 3 lobludur. Meyva lokulusit kapsüle, her gözde 1-2 (nadiren çok) tohumlu; tohumlar siyah, basık, üç köşeli, nadiren yuvarlaktır. İçerdikleri kükürtlü, uçucu bileşiklerden ileri gelen özel soğan ve sarımsak kokuları en karakteristik özellikleridir. Çoğu türlerin keskin soğan veya sarımsak kokusu vardır (Davis 1984).

Allium cins adı eski Roma'da sarımsağa verilen *Alium* veya *Allium* isminden gelmektedir. Bu isim bitkinin bilimsel adı olarak ilk defa Linnaeus tarafından 1753 yılında yayınlanan *Species Plantarum*'da kullanılmıştır.

Cinsin yeryüzünde 600 kadar, yurdumuzda ise 146 türü vardır. Yurdumuzda yetişen türlerin 65'i (%40) endemiktir. Bu türlerden 142 tanesi doğal olarak bulunan türler olmakla birlikte, bir takson alien, 3 takson kültür bitkisidir. Türkiye'de yetişen *Allium* türlerinin tamamı 13 seksiyon (*Rhizirideum*, *Schoenoprasum*, *Molium*,

Briseis, *Chamaeprason*, *Porphyroprason*, *Brevispatha*, *Scorodon*, *Codonoprasum*, *Allium*, *Acanthoprasum*, *Melanocrommyum*, *Kaloprasum*) altında toplanmış iken endemik türlerin bulunduğu seksiyon adedi 8'dir (Koyuncu, 1994). Son yayınlanan *Allium ertugruii* (Demirelma ve Uysal, 2008) ile Türkiye'deki toplam *Allium* türü sayısı 169'a ulaşmıştır (Baktır ve Karagüzel, 2004).

Tablo 1.1 : *Allium* L. genusunun sistematığı.

Kingtom	Plantae
Subkingtom	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Class	Liliopsida
Subclass	Liliidae
Order	Asparagales
Family	Alliaceae
Genus	<i>Allium</i> L.

1.1.3 *Allium stylosum* O. Schwarz

Allium seksiyonunda yer alan türün soğanları oblong, ovoid, 0.8-1 cm çapında; dış tunika zarımsı, gri renkli, soğancıklar sarımsı, sivri, saplı, skapusun alt kısımlarında yaprak kını içinde saklıdır. Skapus 35-60 (-80) cm boyundadır. Yapraklar 2-3 adet, yarısilindirik, 1-2 mm genişliğinde, fistuloz, alt kısımları kanalikulattır. Spata 2 valvli, valvlar umbelladan kısa ve kıvrıktır. Umbella küresel, 1.5-2 cm çapında sık ve çok çiçekli; pediseller kısa ve farklı boylarda, perigonun 1-1.5 katı uzunluktadır. Perigon silindirik-ovoid; tepaller koyu erguvanî veya şarap renginde, 4-5 mm dış yüzeyleri ince skarbit; dış petaller geniş ovat, içtekiler eliptik obtustur. Filamentler perigona eşit, sadece anterler dışarda, iç filamentlerin ortada anter taşıyan kuspisleri yan kuspislerden kısa, $\frac{1}{2}$ 'si kadar, yan kuspisler perigondan uzundur. Stilus 4-5 mm, perigondan bariz bir şekilde uzun, kalıcıdır. Meyve kapsül 5 mm çapındadır. Doğu Akdeniz elementidir (Davis, 1984) (Şekil 1.1).

Çiçek açma zamanı: Mayıs-Haziran

Yetiştirme ortamı: Orman açıklıkları, çalılıklar, kuru yamaçlar, boş tarlalar, 50-1800m

Yayılışı: İzmir, Uşak, Kütahya, Isparta, Ankara, Çankırı, Denizli, Muğla ve Antalya.



Şekil 1.1 : Bitki materyali *Allium stylosum* O. Schwarz.

1.1.4 *Allium deciduum* N.Özhatay & Kollmann

Soğan küresel, 1-1.5 cm çapında; dış tunika gri- kahverengi, kabuksu, iç tunika zarımsı, beyazdır. Skapus 15-30(-50) cm, tabanda genellikle kırmızı renklidir. Spata 2 valvli, valvler dar lanseolat, en azından bir tanesi umbelladan çok uzun, genellikle düşüçüdür. Umbella yarı küresel 2.5-5 cm çapında, gevşek; pediseller ince perigonun 3-5 (-10) katı uzunlukta, tabanda brakteollüdür. Perigon dar kampanulat; tepaller soluk erguvani renkli, orta damar yeşilimsi, oblong, 4 mm, obtus veya trunkat, bazen ucu geriye kıvrıktır. Filamentler beyaz veya kırmızı renkli, perigonun 1.5 katı uzunlukta. Ovaryum obovoid, 2 mm uzunlukta, stilus 6 mm, perigondan belirgin olarak uzundur. Kapsül geniş kordat 3-4 mm çapındadır. Doğu Akdeniz elementidir (Davis, 1984) (Şekil 1.2).

Çiçek açma zamanı: Temmuz- Ağustos

Yetiştirme ortamı: Kuru, taşlı yamaçlar, kayalık yerler, 550-2000 m.

Yayılışı: Muğla, Denizli, Antalya çevreleri.

1. Spata daima düşüçü; tepallerin ucu geriye kıvrık değil.....subsp. *deciduum*

1. Spata bazen düşüçü; tepallerin ucu geriye kıvrık.....subsp. *retrosum*



Şekil 1.2 : Bitki materyali *Allium deciduum* subsp. *deciduum* N.Özhatay & Kollmann.

1.1.5 *Allium sibthorpiatum* Schultes & Schultes fil.

Soğan oblong, 0.5-1 cm çapında; dış tunika kabuksu, siyahımsı, gri renkli, boyuna çizgili; iç tunika zarımsı, açık veya koyu erguvani renkli, boyuna çizgili veya kostalıdır. Skapus 5-25 cm boyunda, dik veya eğridir. Yapraklar 2-4 adet, filiform, 0.5-1 mm genişlikte, silindirik veya kanallı, skapustan kısa veya eşittir. Spata 2-valvli, valvler tabanda lanseolat, uca doğru subulat-attenuat, umbelladan kısa veya uzundur. Umbella 1.5-2 cm çapında, 5-20 (25) çiçekli; pediseller 7-15 mm uzunlukta, farklı boydadır. Perigon kampanulat; tepaller 5-6 mm boyunda, koyu veya açık erguvani renkli, orta damar koyu erguvani, oblong-spatulat, akuttur. Filamentler basit, perigondan az kısa, pembe renkli; anterler sarı. Ovaryum obovoid. Kapsül 5-6 mm çapındadır. Doğu Akdeniz elementidir (Davis, 1984) (Şekil 1.3).

Çiçek açma zamanı: Ağustos- Eylül

Yetiştirme ortamı: Kayalık sırtlar, kuru yamaçlar. 700-2300 m.

Yayılışı: Bursa, Kütahya, Denizli, Isparta ve Amasya çevreleri.



Şekil 1.3 : Bitki materyali *Allium sibthorpiatum* Schultes & Schultes fil.

1.2 Antioksidanlar

Vücudumuzdaki ve besinlerdeki lipitler, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler oksidasyona uğrayabilmekte ve böylece canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşabilmektedir. Bu durum “Oksidatif Stres” şeklinde ifade edilmektedir. Bu hasar, serbest radikallerin saldırısı sonucu gerçekleşmektedir. Serbest radikaller; son yörüngelerinde paylaşılmamış elektron içeren atom veya moleküllere verilen isimdir. Oksidatif stresin baş sorumluları reaktif oksijen ve azot türleridir. Serbest radikallerin birçoğu oksijen kaynaklıdır ve dolayısıyla radikal oksijen türleri olarak adlandırılır. Ancak radikal yapıda olmadığı halde reaktif olan oksijen türleri de vardır. Dolayısıyla radikal tanımı yetersiz kaldığı için tüm bu reaktif moleküllere “reaktif oksijen türleri” denilmektedir. Reaktif oksijen ve azot türleri radikalik ve radikalik olmayan türleri içermektedir. Radikalik oksijen türlerine, süperoksit anyon ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil (OH^{\cdot}), peroksit (HOO^{\cdot}) ve alkoksi (RO^{\cdot}) radikalleri; azot türlerine, azot monoksit (NO^{\cdot}) radikalleri örnek verilebilir. Radikalik olmayan oksijen türlerine ise, hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3) ve singlet oksijen (1O_2); azot türlerine ise, nitroz asit (HNO_2), nitrozil katyonu (NO^+) ve nitroksi anyonu (NO^-) örnek olarak verilebilir. Ayrıca bu radikallerin yanı sıra tiyil radikalleri (RS^{\cdot}) ve karbon merkezli radikaller de mevcuttur (Boğa, 2007; Dağdelen, 2010) (Tablo 1.2).

Genelde oksijen, hidrojen ve hidroksi tipinde olan bu serbest radikaller elektron açıklarını elektron verme özelliği yüksek olan antioksidanlardan sağlarlarsa bir başka biomolekülü indirgememiş olurlar ya da serbest radikaller tarafından etkilenmiş biyomoleküller, antioksidanlardan elektron alarak yenilenebilir (Çalışkan, 2007).

Tablo 1.2 : En sık karşılaşılan serbest radikaller ve bazı özellikleri.

Serbest Radikalin ve Radikal Üreten Türün		
Adı	Simgesi	Kimliği
Hidrojen radikali	H^{\cdot}	Bilinen en basit radikal
Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot-}$	Oksijen metabolizmasının ilk ara ürünü
Hidroksil radikali	OH^{\cdot}	En toksik oksijen metaboliti radikali
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf
Singlet oksijen	O_2	Yarılanma ömrü kısa, güçlü oksidatif form
Perhidroksil radikali	HO_2^{\cdot}	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırmaktadır
Peroksil radikali	$ROO^{\cdot-}$	Perhidroksile oranla daha zayıf etkili, lipidlere lokalize olma yeteneği
Trikolorometil radikali	CCl_2^{\cdot}	CCl_4 metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal
Tiyil radikali	RS^{\cdot}	Sülfürlü ve çiftlenmemiş elektron içeren türlerin genel adı
Alkoksil radikali	RO^{\cdot}	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti
Azot monoksit	NO^{\cdot}	L-argininden in vivo üretilir
Azot dioksit	NO_2	NO 'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir

Canlı organizmanın serbest radikallerin etkisinden korunması için antioksidatif korunma sistemine sahip olduğu bilinmektedir. Bazı durumlarda antioksidatif koruyucu sistemin iyi çalışmamasından dolayı, serbest radikallerin vücutta fazlaştığı görülür. Antioksidanlar, hücreye zarar veren serbest radikallerle reaksiyona girerek bunların başlattığı zincir reaksiyonu durduran ve böylece vücudumuzdaki hayati bileşenlerin zarar görmesini engelleyen moleküllerdir. Son yıllarda sentetik antioksidanların yan etkilerinin görülmeye başlaması nedeniyle

besin kimyası ve koruyucu tıbbın bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlara ilgisi artmıştır. Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar (Rice-Evans ve diğ., 1997). En yaygın bitkisel fenolik antioksidanlar flavonoidler, sinamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller ve fenolik asitlerdir.

Antioksidan savunma çeşitli mekanizmalarla etkisini göstermektedir. Bu mekanizmalar:

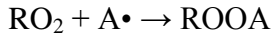
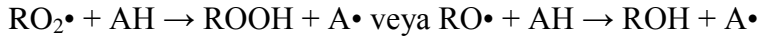
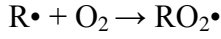
1. Radikal metabolit üretiminin önlenmesi
2. Üretilmiş radikallerin temizlenmesi (radikallerin detoksifikasyonu)
3. Hücre deformasyonunun onarılması
4. Sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması
5. Endojen antioksidan kapasitesinin artırılması

Antioksidanların en önemlileri polifenoller ve bunların türevleridir. Polifenolik bileşikler; kimyasal yapıları basit bileşiklerden yüksek polimerleşmiş maddelere kadar çeşitlenebilen bitkisel maddelerdir. Bu bileşikler oksidatif düzende farklı şekillerde davranırlar. Örneğin oksijen konsantrasyonunu düşürebilirler veya singlet oksijeni durdururlar. Hidroksil radikalleri gibi birincil radikalleri yutucu özelliğini kullanarak zincir reaksiyonların başlamasını önlerler, metal iyon katalizörlerini bağlarlar (Karademir, 2005).

Gıdalarda doğal olarak buldukları gibi, gıda sanayisinde ürünlerin kalitesini korumak ve besinsel değerlerini muhafaza etmek amacıyla sonradan eklenirler. Besinlerin acılaşmasını, çürümesini geciktirici özelliğe sahip bir grup kimyasal maddelerdir. Özellikle yağlarda, havadaki oksijenin sebep olduğu otooksidasyonu yavaşlatmak için kullanılmaktadırlar. Böylelikle yağların, tadını, kokusunu, rengini yani kalitesini ve raf ömrünü uzatırlar. Ortamda pek az miktarda bulunsalar bile etkin olan maddelerdir. Bir antioksidanın, besin maddelerinde kullanılmadan önce sağlığa zararı olmadığı kesin olarak saptanmalıdır (Karademir, 2005).

Zincirleme reaksiyon teorisine göre, oksijen ile otookside olabilen madde, oksijenle birleşmekte ve bu şekilde meydana gelen etkinleşmiş peroksit radikal ve molekülleri, enerjilerini maddenin yükseltgenebilen diğer moleküllerine aktarmakta ve bu suretle besinlerdeki otooksidasyon devam etmektedir. Antioksidanlar bu zincir reaksiyonunu koparıcı rolü oynarlar. Yani bu bileşikler aktivasyon enerjisini kabul ederler, ancak bu enerjiyi başka moleküllere aktaramazlar. Bu şekilde, bir

antioksidan molekülünün araya girmesiyle otookside olabilen maddenin birçok molekülü yükseltgenmekten kurtulur (Shahidi, 1996). Antioksidanların etki mekanizmasını şematik olarak göstermek gerekirse;



(AH : Antioksidan molekülü, A• : Antioksidan etkin molekülü)

Antioksidanlar yükseltgenebilen maddeler olduğundan zincirleme reaksiyonu koparmaları sırasında kendileri yükseltgenerek bozunurlar. Bu nedenle antioksidanlar yalnız sınırlı bir zaman için yükseltgenebilen maddeyi koruyabilir ve belli bir noktadan sonra madde ortamda hiç antioksidan yokmuş gibi yükseltgenmeye devam eder.

Antioksidanların kimyasal aktiviteleri, diğer bir deyişle, hidrojen veya elektron donör araçları olarak indirgeme potansiyelleri onların serbest radikal yutucu olarak göstermiş oldukları potansiyel ile ifade edilir. Bir antioksidanın aktivitesi şu esaslara bağlıdır;

- Radikal süpürme yeteneği
- Hidrojen veya elektron donör aracı olarak göstermiş olduğu reaktivite (redüksiyon potansiyeline bağlı olan)
- Metal kelatlama potansiyeli
- Diğer antioksidanlarla olan etkileşim

1.3 Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanları öncelikle doğal antioksidanlar ve yapay antioksidanlar (ilaçlar) şeklinde sınıflandırmak daha doğru olacaktır. Kimyasal bileşimine göre fenolik yapıda olan, aromatik amino ve organik sülfür bileşiminde olmak üzere üç gruba ayrılır. Etkli mekanizmasına göre ise primer ve sekonder antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Doğal antioksidanlar enzimatik etki gösteren ve enzimatik etki göstermeyen antioksidanlar olarak ikiye ayrılır. Enzimatik etki göstermeyen antioksidanlar ise endojen ve eksojen antioksidanlar olarak ikiye ayrılabilir. Endojen

antioksidanlar buldukları ve etkinliklerini yerine getirdikleri yerlere göre de hücre içi (intraselüler), membranal ve hücre dışı (ekstraselüler) antioksidanlar olarak üç sınıf altında toplanabilir (Akyüz, 2007) (Tablo 1.3).

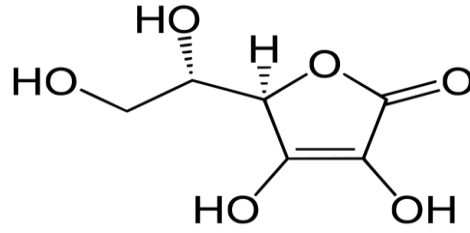
Tablo 1.3 : Antioksidanların sınıflandırılması.

Antioksidanlar		
Doğal Antioksidanlar		Yapay Antioksidanlar
Enzimatik	Enzimatik Olmayan	
	Endojen	Eksojen
SOD		
Katalaz	Glutasyon	E-vitamini
Glutasyon peroksidaz	Serüloplazmin	β _Karoten
Glutasyon transferaz	Bilirubin	Askorbik asit
Sitokrom oksidaz	Ferritin	Flavonoidler
	Laktoferin	
	Ürik asit	
	Haptoglobinler	
	Albumin	

1.3.1 Doğal antioksidanlar

1.3.1.1 C-Vitamini

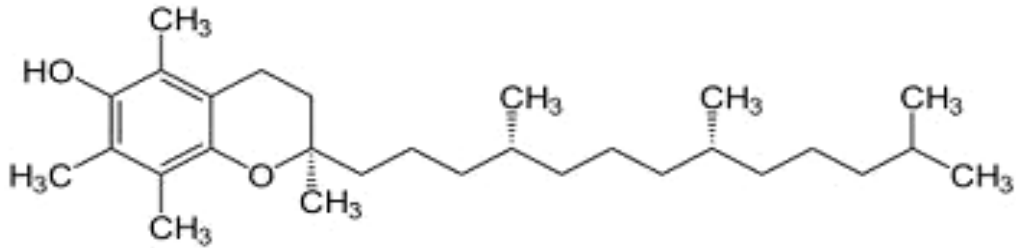
C vitamini (askorbik asit, askorbat) bitkilerde yaygın olarak bulunan, suda çözünen bir vitamindir. Altı karbonlu lakton yapısına sahiptir (Şekil 1.4). Çoğu hayvanın karaciğer veya böbreklerinde glikozdan, bitkilerde ise yaprak kısımlarında özellikle kloroplastlarında sentezlenir. İnsanlar bu vitamini vücutta sentezleyemezler. Bundan dolayı bu ihtiyaçlarını taze sebze ve meyvelerden karşılarlar. Özellikle çilek, papatya, portakal, kivi, greyfurt, kavun, mango gibi meyvelerde, brokoli, brüksel lahanası, kırmızı veya yeşil biber, domates, lahana, patates, karnıbahar gibi sebzelerde, portakal suyu, domates suyu gibi meyve sularında bol miktarda bulunmaktadır. C vitamini, reaktif oksijen (süperoksit, peroksil radikalleri, singlet oksijen, ozon), reaktif azot (peroksinitrit, azot dioksit) ve reaktif klor (hipoklorik asit) türlerini kolayca süpürür ve bu suretle diğer substratları oksidatif hasardan korur (Yıldız, 2007).



Şekil 1.4 : Askorbik asit.

1.3.1.2 E Vitamini

E vitamini α -, β -, γ -, δ - tokoferolleri ve tokotrienolleri içeren grubu kapsamaktadır. α - tokoferol, özellikle D- α -tokoferol, (Şekil 1.5) en yüksek biyolojik aktiviteye sahip tokoferoldür. E vitamini dokularda önemli zincir kırıcı bir antioksidandır ve lipid peroksidasyonuna karşı savunma etkisinin olduğu, hücre membranlarını serbest radikal saldırısına karşı koruduğu düşünülmektedir. Yağca zengin bitkiler, E vitaminin temel doğal kaynaklarıdır. Tokotrienoller, palm yağında ve pirinç kepeğinde yüksek miktarda, hindistan cevizi yağı, kakao yağı, soya fasülyesi, arpa, buğday, kırmızı et ve yumurtada bulunmaktadır. Ayçiçeği, yer fıstığı, ceviz, susam ve zeytin yağı ise sadece tokoferol içermektedir (Yıldız, 2007).

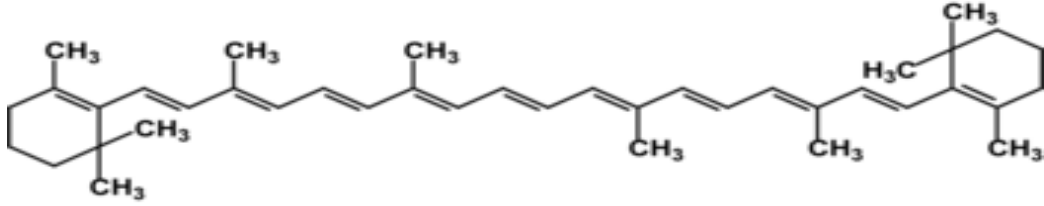


Şekil 1.5: α _tokoferol.

1.3.1.3 Karotenoidler

Doğal pigmentler olan karotenoidler bitkilerde ve çoğu mikroorganizmalarda sentezlenir. Şimdiye kadar doğal kaynaklardan 600'ü aşkın karotenoid izole edilmiştir. Çoğu çiçek ve meyvelerin renkleri gibi birçok kuş, böcek ve deniz hayvanlarının renklerinden de sorumludurlar. Yapıda bulunan çifte bağlardan dolayı sarı, portakal veya kırmızı renktedirler. Karotenoidler, oldukça etkili ROS (reaktif oksijen türleri) süpürücüleridir. Karotenoidlerin antioksidan aktivitesi, yapısındaki konjuge çifte bağlardan ileri gelmektedir. Karotenoidler, yağda çözünen poliizoprenoid bileşiklerdir ve 2 ana gruba ayrılırlar.

(a): Karotenler veya sadece hidrojen ve karbon içeren hidrokarbon karotenoidler
(b): Hidroksi, keto, epoksi, metoksi veya karboksilik asit grubu gibi en az bir oksijen grubu taşıyan oksijenlenmiş hidrokarbon türevleri olan ksantofiller. Likopen, β -karoten ve α -karoten, karotenler olarak adlandırılan; β -kriptoksantin, lutein ve zeaksantin, ksantofiller olarak adlandırılan karotenoid sınıfına örnek olarak verilmektedir (Şekil 1.6). Yapılarındaki konjuge çift bağlar, kimyasal, biyokimyasal ve fiziksel özelliklerini etkiler (Yıldız, 2007).



Şekil 1.6 : β _Karoten.

Hidroksil grubu taşıyan karotenoidler (ksantofiller) doğada genellikle glikozidleri veya uzun zincirli yağ asitleri ile esterleşmiş haliyle bulunurlar ve daha hidrofobik özellik gösterirler. Yapılarındaki konjuge çift bağlar sebebiyle yüksek antioksidan aktivite gösterirler. Bu yapısal özellikleri, bazı molekülleri süpürme veya etkisiz hale getirmeye olanak sağlar. Sonuç olarak, karotenoidler singlet oksijen türlerini giderme ve doğrudan serbest radikalleri süpürme etkisine sahiptirler. Konjuge çifte bağ sistemine sahip karotenoidlerin bazı koşullar altında pro-oksidan (lipid ve benzeri substratların oksidasyonunu hızlandırıcı) aktivite de gösterdiği düşünülmektedir. β -karoten fizyolojik koşullarda, düşük oksijen kısmi basıncı altında serbest radikalleri süpürme özelliği gösterirken, yüksek oksijen basıncında ve özellikle yüksek derişimlerde prooksidan etki göstermektedir.

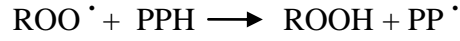
1.3.1.4 Polifenolik bileşikler

Polifenoller, fitokimyasalların en geniş sınıflarından biri olup bitki aleminde geniş çapta yer almaktadırlar. Polifenoller güçlü antioksidanlardır ve aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır. Fenolik bileşikler yapısında en az bir tane fenol halkası ve bunun üzerinde en az bir tane hidroksil grubu taşıyan kimyasal yapılar olup, bitkisel yapılarda sekonder metabolitler olarak ortaya çıkmaktadır. Bu yapıda olan fenolik bileşikler basit fenoller ve fenolik asitler, kinonlar, flavononlar, flavonoidler, flavonoller, taninler ve kumarinler şeklinde sayılabilir. Bitki polifenolleri çok fonksiyonlu olup hidrojen atomu verici, singlet oksijeni süpürücü ve indirgeyici

olarak davranır. Bazı polifenoller ise antioksidan özelliklerini metal iyonlarını kelatlama özelliklerine borçludurlar. Bir polifenolun antioksidan olarak tanımlanabilmesi için iki temel özelliğin sağlanması gerekmektedir. Bunlar,

- a) Okside olabilen substratlara oranla düşük konsantrasyonlarda bulduklarında, otooksidasyonu veya serbest radikal merkezli oksidasyonu erteleyebilmeli, geciktirebilmeli veya önleyebilmelidir.
- b) Süpürme sonunda oluşan radikal, oksidasyon zincir reaksiyonunu kesmekte kararlı olmalıdır.

Polifenolik antioksidanlar (PPH), peroksil radikale (ROO.) hızlı bir şekilde hidrojen atomu vererek denklemde görüldüğü gibi onları alkil hidroperoksit (ROOH) yapısına dönüştürerek lipid peroksidasyonunu inhibe eder (Karademir, 2005).

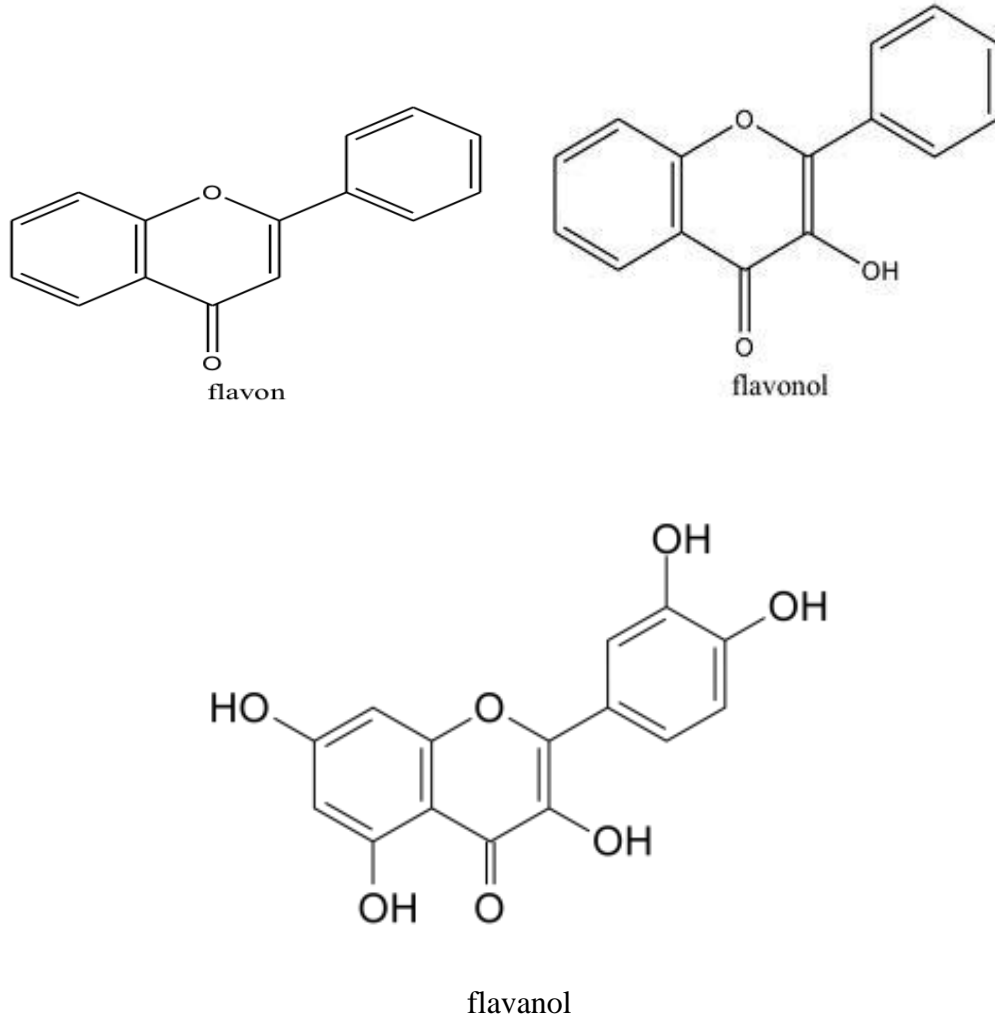


Oluşan polifenol fenoksil radikali bir başka hidrojen atomu vererek ve kinonların oluşumu ile kararlı hale gelmekte veya başka fenoksil radikali gibi bir radikal ile reaksiyona girerek yeni bir zincir reaksiyonu başlanmadan kesilmektedir. Besin fenolikleri; flavonoidler, fenolik asitler, fenolik polimerler (tanenler) olmak üzere üç sınıfa ayrılır (Tablo 1.4).

Tablo 1.4 : Flavonoid sınıflarına ait bileşikler, süstitüsyon konumları ve besin kaynakları.

Alt Sınıflar	Açıklamalar
Antisiyaninler	Kırmızı ve mavi renkli çiçek pigmentleri
Antoklorlar	Sarı çiçek pigmentleri
Benzofuranlar	Bitki ve likenlerde bulunur
Kromonlar	Tedavi edici önemi olan küçük bir grup bileşik
Kumarinler	Bitkilerde 700'den fazla yaygın kimyasal yapı
Minor Flavonoidler	Flavanonlar ve dihidroflavonoller
Flavonlar ve Flavoneller	Genellikle glikozik formda kimyasal yapı
İzoflavonoidler	Baklagillerin karakteristik kimyasal yapısı
Lignanlar	Genellikle odun ve ağaç kabuğunda bulunur
Fenoller ve Fenolik asit	Hemen hemen tüm bitkilerde bulunur
Fenolik ketonlar	Eğrelti ve şerbetçi otunda bulunur
Fenilpropanoidler	Yaygın pekçok yapı
Kinonoidler	Benzokinonlar, naptokinonlar ve antrokinonlar
Stilbenoidler	Dihidrofenantrenleri de içerir
Tanninler	Kondanse ve hidrolizlenebilir formda bulunur
Ksantonlar	Başlıca Gentianaceae ve Guttiferae fam. bulunur

Bu alt sınıflardan flavanoidler üye sayısı itibari ile en büyük grubu oluşturup yaklaşık 5000 üyesinin bulunduğu tahmin edilmektedir. Flavanoidler de flavonoller, flavonlar, flavanoller ve izoflavonlar gibi, temel kimyasal yapıları Şekil 1.7’de gösterilen, alt gruplara ayrılırlar (Karademir, 2005).



Şekil 1.7 : Flavanoidlerin temel kimyasal yapıları.

1.3.1.5 Flavanoidler

Flavanoidler fenolik bileşiklerin alt sınıfıdır. Genellikle bitkilerde bulunan ve günlük diyetle sıklıkla tüketilen difenilpropanlardır. Sebzeler ve meyveler, en önemli flavonoid kaynaklarıdır. Flavanoidler, C₆–C₃–C₆ karbon iskeleti ile karakterize edilmektedirler. İki aromatik halka, üç karbonlu bir alifatik zincir ile birbirine bağlanmaktadır. Chalcone (çalkon), aurone, flavanon, flavon, dihidroflavonol, flavonol, flavan, antosiyanin, isoflavonoid, neoflavonoid, oligoflavonoid ve diğer farklı yapıdaki kompleks flavanoidler olarak sınıflandırılabilirler (Tablo 1.5).

Flavonoidler, antioksidatif aktivitelerini ksantin oksidaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe ederek, metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidanlar ile etkileşime girerek ve süperoksit anyonları, lipid peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri yakalayarak göstermektedirler (Can ve diğ., 2005).

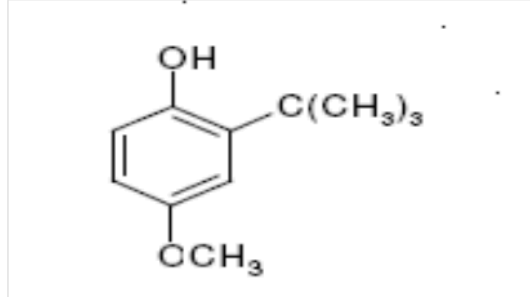
Tablo 1.5 : Flavonoidlerin grupları ve bu gruplara ait bileşikler.

Antosiyanidinler	Flavanonlar	Flavonlar	Flavonoller	Flavan-3-oller (Kateşinler)	İzoflavonlar
Siyanidin Delfinidin Malvidin Pelargonidin Petunidin Peonidin	Diydmin Eriositrin Eriodisitiyol Hesperidin Hesperetin Hesperidin Isosakuranetin Naringenin Naringin Narirutin Neriositrin Neohesperidin Pinosembrin Ponsirin Purinin	Apigenin Baisalein Diosmin Genkwain Isohoifolin Luteolin Riyofilin Tektokrisin	Astragalin Hiperosid Isokuersitrin Isohamnetin Kempferid Kempferol Mirsetin Kuersetin Kuersitrin Ramnetin Rutin	Kateşin Gallokateşin Epikateşin Epigallokateşin Epikateşin-3-gallat Epigallokateşin-3-gallat	BiokemA Daidzein Formomonetin Genistein Glisitein Glisititein Daidzm Genistin Siyertim

1.3.2 Yapay antioksidanlar

1.3.2.1 Butillenmiş hidroksi anisol (BHA)

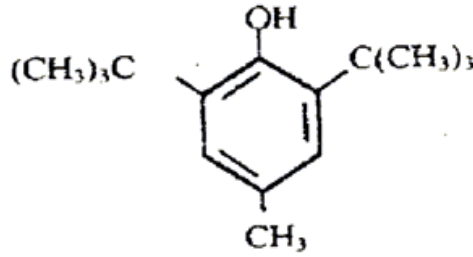
Butillenmiş hidroksi anisol (BHA), bitkisel ve hayvansal yağlarda kolay çözünebilen etkili bir sentetik antioksidandır. Piyasada bulunan BHA başlıca iki izomer olan 3- tersiyer butil-4-hidroksi anisol ve 2-tersiyer butil 4-hidroksi anisol karışımıdır. Zehirli değildir ve katıldığı maddeye hiçbir koku aşmaz. Anizolde benzen halkasındaki yer değiştirenlerin, maddenin antioksidan etkisi bakımından rolü büyüktür. Hidroksi grubunu 5. veya 6. karbon atomunda taşıyan bileşikler antioksidan değilken 4 üzerinde taşıyanlar antioksidan özellik gösterir (Şekil 1.8). Bunun haricinde diğer yer değişenlerin yer ve yapısı da rol oynar. Örneğin; 3-tersiyer butil 4-hidroksi anizol, 3-metil veya 3 n-butil türevlerinden daha etkilidir. Yer değişenin 3 no'lu karbon atomuna bağlı olması da etkiyi artırır. BHA, gıdalarda % 0,02 oranında kullanılır. Özellikle hayvansal yağlar, bu yağlarla yapılan bisküvi, pasta ve patates cipsinde etkili antioksidan olarak kullanılırlar (Karademir, 2005).



Şekil 1.8 : Butillenmiş hidroksi anisolün (BHA) kimyasal yapısı.

1.3.2.2 Butillenmiş hidroksi toluen (BHT)

Butillenmiş hidroksi toluen hayvansal yağlarda ve etlerde çok, bitkisel yağlarda az etkilidir. BHA ile benzer özelliklere sahiptir (Şekil 1.9). Gıdalara ilave edilme işlemleri sırasında uygulanan çok yüksek sıcaklıklara dayanıklı değildir. % 0.01 oranında kullanılır (Karademir, 2005).



Şekil 1.9 : Butillenmiş hidroksi toluenin (BHT) kimyasal yapısı.

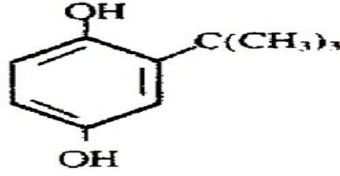
1.3.3 Antioksidanların yapılarına göre sınıflandırılması

1.3.3.1 Fenolik antioksidanlar

Antioksidanların en önemlileri fenol grubu içerenler ve bunlardan dihidroksi türevleridir. Bunların temel örneği hidrokinon olup tersinir olarak kinona yükseltgenir. Yalnız orto ve para polifenoller antioksidan özelliğe sahiptir. Fenolün kendisi antioksidan değilken yerdeğişimli benzenler, birden fazla benzen halkasını içeren aromatik bileşikler veya heterosiklik bileşikler, yapıları orto ve para hidroksi bileşiklerine benziyorsa antioksidan olabilirler. Örneğin, susam yağında bulunan sesamol bir tek serbest hidroksi grubuna sahip olduğu halde, bu grup oksijenlerden birine göre para pozisyonunda olduğundan, antioksidandır (Şekil 1.10).

Bazı flavonoidler, bitkilerde bulunan fenolik antioksidanlardır. Doğal fenolik antioksidanlardan bir diğer grubu, tokoferoller yani E vitaminleri oluşturur.

Antioksidan özelliği en fazla olanı δ -tokoferoldür. Sentetik antioksidanlardan fenolik yapıda olanlar propil gallat, oktil gallat, dodesil gallat, nordihidroguayaretik asid (NDGA), butillenmiş hidroksi anisol (BHA), butillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve tersiyer butil hidrokinon' dur (TBHQ).



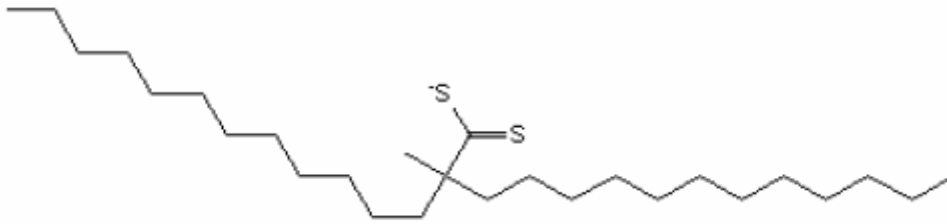
Şekil 1.10 : Sesamol.

1.3.3.2 Aromatik antioksidanlar

Aromatik amino antioksidanlar da genellikle fenollü antioksidanlara benzerler, yalnız hidroksi grupları kısmen veya tamamen amino grupları ile yer değiştirmişlerdir. Bunlardan biri para izo butil amino fenol'dur.

1.3.3.3 Organik sülfür bileşikleri

Kuvvetli antioksidanlardan bir grubu da kükürtlü organik bileşikler oluşturur. β , β' -ditiyo propiyonik asid ve esterleri, özellikle dilauril ve distearil ditiyopropiyonatlar çok etkili antioksidanlardır (Şekil 1.11). Özellikle yağlarda % 0.01 oranında kullanılırlar.



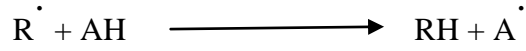
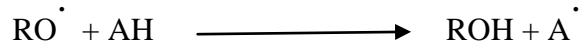
Şekil 1.11 : Dilauril ditiyopropiyonat.

1.3.4 Antioksidanların etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması

1.3.4.1 Primer antioksidanlar

Birincil antioksidanlar (tip-1 veya zincir kırıcı antioksidanlar) otooksidasyonun başlangıç aşamasını erteleyen veya engelleyen ya da otooksidasyonun ileri aşamasını

yarıda kesen serbest radikal alıcılarıdır. Bir lipit (alkil) radikali (R•) oluşturmak için, doymamış yağdan α -metilenik hidrojen ayrıldığında otooksidasyon başlar (Öztürk, 2008). Oluşan lipit radikali çok reaktiftir, ilerleyen aşamalarda peroksi radikali (ROO•) oluşturmak için oksijenle reaksiyona girer. Birincil antioksidanlar (AH) lipit radikali (R•) ve peroksi radikalleriyle (ROO•) reaksiyona girerler ve onları daha kararlı, radikal olmayan ürünlere çevirirler. Birincil antioksidanlar lipit radikallerine hidrojen atomları verirler ve lipit türevleri ile antioksidan radikaller meydana getirirler (A•). Hidrojen verici olarak birincil antioksidanlar peroksi radikallerine lipitlerden daha çok ilgi gösterirler. Bu yüzden otooksidasyon reaksiyonunda oluşan peroksi (ROO•) ve oksil (RO•) serbest radikalleri birincil antioksidanlar tarafından giderilirler. Antioksidanlar lipit radikalleriyle doğrudan da etkileşebilirler (Öztürk, 2008).



Radikal gidermeye ilaveten birincil antioksidanlar, hidroperoksitleri hidroksi bileşiklerine indirgeyebilirler. Bununla beraber birincil antioksidanların esas antioksidatif mekanizması radikal gidermedir. Birincil ya da zincir parçalayan antioksidanlar; elektron vererek serbest radikal zincir reaksiyonunu kıran ve çoğunlukla fenolik yapıdaki bileşiklerdir. Serbest radikallerle reaksiyona girerek, daha kararlı ürünler oluşturup, hidroperoksit oluşumunu engellerler. Sentetik veya doğal yapıda olabilirler. Tokoferoller, flavonoidler, alkali gallatlar, BHA, BHT ve TBHQ en önemlileridir .

1.3.4.2. Sekonder antioksidanlar

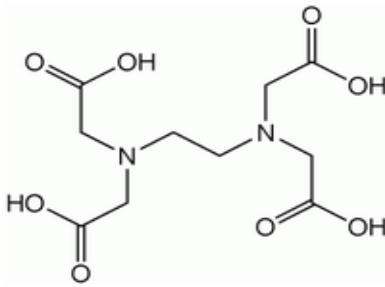
Oksidasyon hızını azaltabilen bileşiklerdir. Etki mekanizmaları; metal iyonlarını yakalamak, oksijen molekülünü tutmak, hidroperoksitleri radikal olmayan bileşiklere parçalamak, ultraviyole ışınlarını absorblamak veya oksijen atomunu etkisiz hale getirmek şeklinde olabilir. Bu antioksidanlar ‘antioksidan sinerjistler’dir. Tek başlarına buldukları ortamlarda antioksidan etkileri çok düşüktür veya hiç göstermezler. Ancak ortamda iki antioksidan madde bulunursa yalnız olarak gösterdikleri etkiden daha çok etkili olurlar. Bu şekilde antioksidan etkisini arttıran

maddelere sinerjist denir. Askorbik asid, limon asidi, birçok aminoasid, polifosfatlar ve tartarik asid gibi maddeler fenollü antioksidanların etkilerini arttırlar (Karademir, 2005) (Şekil 1.12). İkincil antioksidanlar en önemli etki mekanizmalarına göre 3 gruba ayrılabilir (Boğa, 2007):

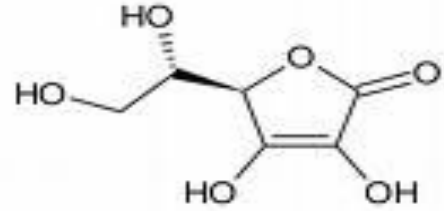
a) Kelat Yapıcılar: Sitrik asit, fosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tartarik asit.

b) Oksijen Gidericiler ve İndirgeme Ajanları: Askorbik asit, askorbul palmitat, eritorbik asit, sodyum entorbat, sülfidler.

c) Singlet Oksijen Gidericiler: Karotenoitler (β -Karoten, likopen ve lutein)



Etilendiamintetraasetikasit (EDTA)



Askorbik asit

Şekil 1.12 : İkincil antioksidanlar.

1.4 Antioksidan Savunma Sistemi

Canlılar, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların meydana getirdiği zararı önlemek için değişik savunma mekanizmalarına sahiptir (Şekil 1.13). Bu mekanizmalar antioksidan savunma sistemleri olarak adlandırılır. Antioksidanların başlıca etki mekanizmaları şunlardır:

1-Reaktif oksijen türlerinin (serbest oksijen radikalleri) enzimatik reaksiyonlar aracılığı ile veya doğrudan temizlenmesi,

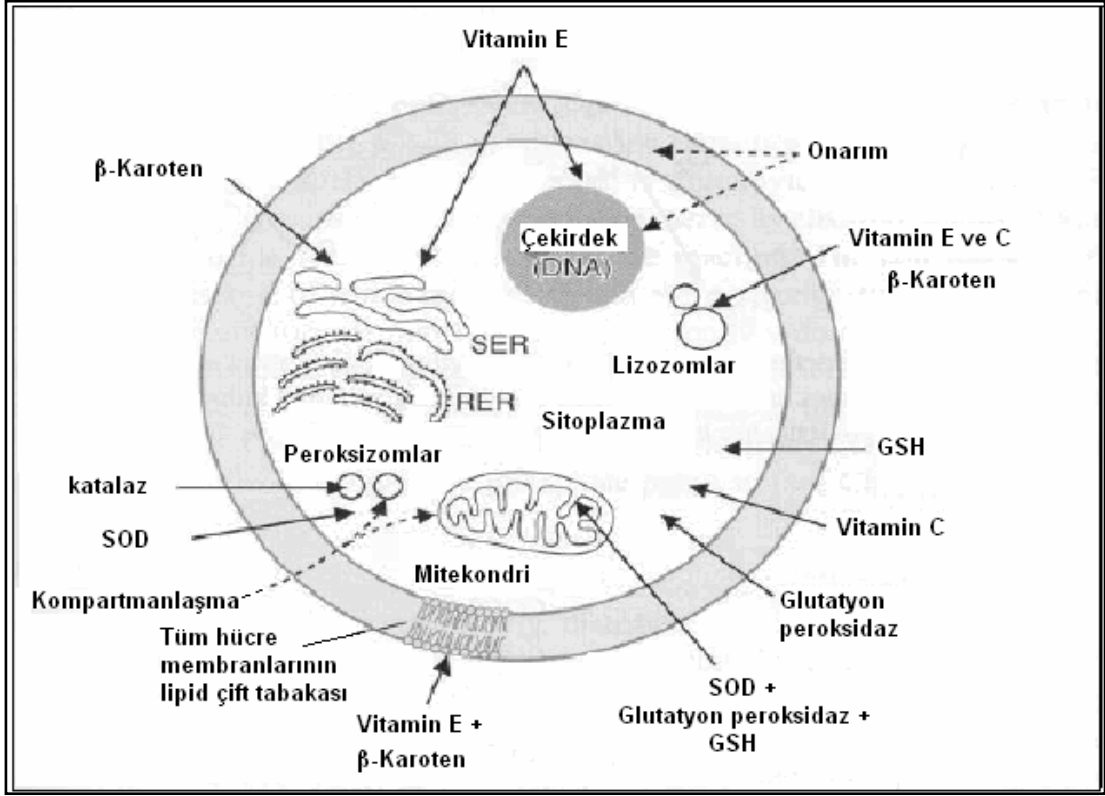
2-Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi,

3-Metal iyonlarının bağlanması ve böylece serbest radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi,

4-Peroksitlerin ayrışmasını sağlayarak başlangıç radikallerinin yeniden dönüşmesinin engellenmesi,

5-Aktif radikaller tarafından süregelen hidrojen uzaklaştırmayı engellemek için zincir kırıcı,

6-Serbest radikallerin bağladığı organik moleküllerin hasar sonrası tamiri ve temizlenmesi (Özkan, 2007).



Şekil 1.13 : Antioksidanların hücresel etki mekanizmasının şematik gösterimi.

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler:

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

1.5 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri, kullanılan kimyasal reaksiyon açısından temel olarak iki sınıfta toplanabilir:

- a) Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT)
- b) Tek elektron transferi reaksiyonlarına dayananlar (ET)

HAT-esaslı analiz yöntemlerinin çoğunda yarışmalı reaksiyon kinetiği izlenir ve kantitasyon kinetik eğrilerden türetilir. HAT-esaslı yöntemler genellikle bir sentetik serbest radikal oluşturucu, bir oksitlenebilen prob ve bir antioksidandan oluşur. ET esaslı yöntemler reaksiyon sonunun indikatörü olarak bir oksidan (aynı zamanda reaksiyonu takip etmek için prob olarak kullanılır) ile redoks reaksiyonunu içerir. HAT ve ET esaslı yöntemler bir örneğin koruyucu antioksidan kapasitesi yerine radikal (veya oksidan) süpürücü kapasitesini ölçmeye dönüktür (Görünmezoğlu, 2008). HAT analiz yöntemleri:

- a) İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,
- b) Oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC),
- c) Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP),
- d) Crocin bleaching deneyleri olarak sıralanabilir.

ET esaslı analiz yöntemleri, antioksidan maddenin indirgendiğinde renk değiştiren bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölçümüne dayanır. Renk değişiminin derecesi örnekteki antioksidan derişimi ile bağlantılandırılır (Görünmezoğlu, 2008). ET esaslı analiz yöntemleri:

- a) Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi,
- b) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü,
- c) Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ölçümü,
- d) Cu (II) kompleksini oksidan olarak kullanılan “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi,
- e) DPPH kullanarak “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi,
- f) CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) yöntemi olarak sıralanabilir.

Çalışmalarda en fazla kullanılan yöntemler ise:

- Toplam fenol miktar tayini (folin-ciocaltaeu assay)
- Ransimat yöntemi ile lipit peroksidasyon etki tayini
- DPPH ile serbest radikal süpürücü etki tayini
- Demir-tiyosiyonat metodu
- Tiyobarbitürik asit metodu (TBA)
- β -Karoten-linoleik asit yöntemi (total antioksidan aktivite)

1.5.1 Toplam fenol miktar tayini (Folin-Ciocalteu yöntemi)

Folin-Ciocalteu reaktifi (Folin Fenol Reaktifi veya Folin-Denis reaktifi) fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımı bir reaktif olup fenolik ve polifenolik antioksidanların kolorimetrik tayininde kullanılır (Singleton ve diğ., 1965). Fenolik bileşikler, Folin-Ciocalteu reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturur ve oluşan mor-menekşe renkli kompleksin 700 nm'de maksimum absorpsiyonunun ölçümüdür.

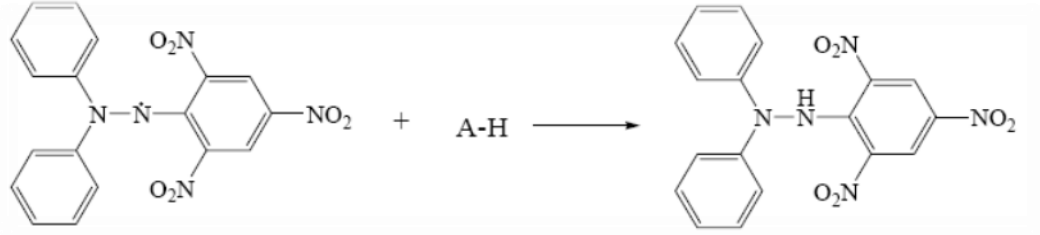
1.5.2 Ransimat yöntemi ile lipit peroksidasyon etki tayini

BHT ve çalışmada elde edilen ekstraların lipit peroksidasyonuna karşı etkileri, yağlarda bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan bozunma ürünlerinin su içine absorbe edilerek suyun iletkenliğinin değişmesi prensibine göre çalışan Ransimat cihazı ile test edilmesidir (Tunalıer ve diğ., 2004).

1.5.3 DPPH süpürücü antioksidan aktivite tayin yöntemi

Bu yöntem ilk kez Blois (1958) tarafından 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) radikallerinin (Şekil 1.14) antioksidan moleküllerin tayininde kullanılabileceğinin önerilmesi ile ortaya çıkmıştır. Antioksidan aktivite ölçümlerinin yoğunlaştığı yıllarda Brand-Williams ve arkadaşları (Brand-Williams ve diğ., 1995) yöntemi geliştirmiş ve bu yöntem pek çok araştırmacı tarafından referans olarak kullanılmıştır. Yöntemin esası; antioksidanların kararlı bir organik azot radikali olan DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) radikalini süpürücü etkilerini ölçmeye dayalı bir yöntemdir. Bu radikal hidrojen donörlerle etkileştiğinde hidrazine indirgenir. Kırmızı renkli DPPH radikali 515 nm'de maksimum absorpsiyon verir. DPPH çözeltisine antioksidanın ilave edilmesiyle absorbansta düşüş meydana gelir ve antioksidanların

varlığıyla radikalın rengi kırmızıdan sarıya döner. Bu yöntem antioksidanların radikal süpürme kabiliyetlerini değerlendiren kolay ve geçerli bir yöntem olarak bilinmektedir. Antioksidan etkinliği araştırılmak istenen bitkisel ekstraların DPPH radikalini temizleyici etkisi ve bu ekstraların DPPH ile oluşturdukları rengin 517 nm de ölçümüne ve standart madde ile karşılaştırılmasına dayanmaktadır (Blois, 1958).



Şekil 1.14 : DPPH antioksidan madde ile reaksiyonu.

1.5.4 Tiyobarbitürik asit metodu (TBA)

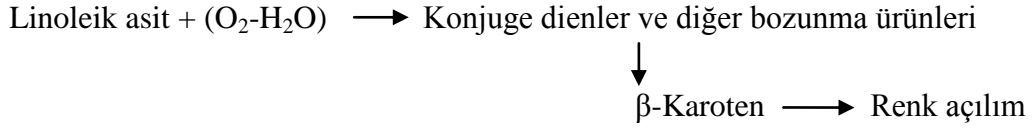
Hazırlanan örnek ekstresine trikloroasetik asit (TCA) ve tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltileri ilave edilerek karıştırılıp, 532 nm de spektrometrede absorbansı okunma esasına dayanmaktadır.

1.5.5 Demir-tiyosiyonat metodu

Uygun çözücü içerisinde hazırlanan örnek çözelti üzerine amonyum tiyosiyonat çözeltisi ilave edilmiştir. Bu karışım üzerine (0.1 ml %3.5'lik) hidroklorik asit çözeltisi içerisinde hazırlanmış (2×10^{-2} M) demir iki klorür çözeltisi konulup bir süre sonunda 500 nm de spektrofotometrede absorbansı okunmuştur.

1.5.6 β -Karoten-linoleik asit yöntemi (total antioksidan aktivite)

β -Karoten renk açılım yöntemi iki şekilde uygulanabilir: Agar difüzyon ve spektroskopik yöntem. Her iki yöntem de linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesine dayanmaktadır. Reaksiyon sonunda çözeltide β -karotenin kaybolan karakteristik sarı renginin absorbansı 470 nm'de UV-spektrofotometrede kaydedilerek sonuçlar standart olarak kullanılan sentetik antioksidanlar ile karşılaştırılarak verilmektedir (Wettasinghe ve Shaididi,1999).



1.6 Antimikrobiyal Maddeler

Antibiyotiğin 1940'larda keşfinden sonra, bitkisel maddelerin antimikrobiyal ajan olarak kullanımında düşüş gözlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite açısından bakteriyel ve fungal kaynaklı antibiyotiklere daha çok güvenildiği için bitkisel ürünlerin çok az bir kısmı antimikrobiyal madde olarak tercih edilmiştir (Cowan, 1999).

Antimikrobiyal maddeler; mikroorganizmaların gelişmesini durdurucu veya onları öldürücü ajanlardır. Bu maddeler çok geniş bir grup olup bunlara antibiyotikler, dezenfektanlar, antiseptikler vb. dahildir. Antibiyotikler, canlılar tarafından meydana getirilen ve çok seyreltik çözeltilerde bile bazı mikroorganizmaların üremelerini durduran veya onları öldüren bileşiklerdir (Temiz, 2000).

Antimikrobiyal maddede olması gereken en önemli özellik seçici toksisitedir. Kemoterapide kullanılan antimikrobiyal madde düşük konsantrasyonlarda bile etkili olup çok az toksik olmalıdır. Böyle bir etkinin ortaya çıkabilmesi için antimikrobiyal maddenin hedef olarak memeli hücrelerinden çok mikroorganizmalar seçilmelidir. Prokaryot hücrede var olan, ancak ökaryot hücrede bulunmayan bir molekülü hedefleyen antimikrobiyal maddeler (örneğin; sefalosporinler, sülfonamidler) yüksek derecede seçici toksisiteye sahiptir. Virüsler konak hücreye entegre olduklarından, konağa zarar vermeden virüsü etkilemek olanaksızdır. Virüslere etkili ilaçların seçici toksisitesinden hiç söz edilemez. Mantarlarda ökaryot hücre yapısındadır ve memeli hücrelerine benzerler. Bu nedenle antimikrobiyal maddeler için seçici toksisiteden söz edilemez (Akyüz, 2007).

Günümüzde enfeksiyon hastalıkları etken mikroorganizmanın antibiyotiklere duyarlılık deneyi sonuçlarına göre, enfeksiyon etkeninin duyarlı bulunduğu en uygun antimikrobiyal madde ile tedavi edilir. Mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılığı temelde iki farklı yöntem (Dilüsyon ve Difüzyon Yöntemi) ile belirlenebilir (Akyüz, 2007). Antibiyotik duyarlılık testleri içinden en sık kullanılanlar:

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

1) Dilüsyon Yöntemi: Bu teknik antimikrobiyal ilaçların MİK (minimal inhibitör konsantrasyonunu) ve MLK (minimal letal konsantrasyonlu) değerlerini belirlemede yardımcı olur. Bu amaçla, Mueller-Hinton buyyonunda antimikrobiyal ilacın 2 veya 10 katlı dilüsyonları yapılarak gittikçe azalan yoğunlukta ilaç içeren dilüsyonları elde edilir. Üzerlerine, izole edilen test mikroorganizmanın 24-48 saatlik sıvı besiyeri kültüründen 0.1 ml miktarında ekilir ve iyice karıştırıldıktan sonra 24-48 saat 37 °C'de inkube edilir. Tüplerdeki üreme gözle değerlendirilir. Böylece üremenin olmadığı son dilüsyon MİK değeri olarak kabul edilir. Ancak, bu noktanın kesin olması için, testin ikili paralel yapılması uygundur. Eğer, süre yetersiz ise uygun bir süre yine inkubasyonda tutulabilir (Akyüz, 2007).

2) Difüzyon Yöntemi: Kirby-Bauer yöntemi olarak da bilinen bu teknikte, test mikroorganizmanın 6-8 saatlik buyyon kültüründen (hafif bulanık) Mueller-Hinton agar plaklarına 0.1-0.2 ml miktarında ekilir ve bir baget'le iyice yayılır (steril swab'ta aynı amaç için kullanılabilir). Agarın yüzeyi oda ısısında kuruduktan sonra (5-10 dk), agarın yüzeyine çeşitli konsantrasyonda değişik antibiyotikleri içeren diskler yerleştirilir ve 24-48 saat inkube edilir. Bu sürenin sonunda diskler etrafındaki inhibisyon zonları kompas veya cetvelle ölçülür ve standart zon tablosu ile karşılaştırılarak duyarlı (S), indermediate (İ) ve duyarsız (R) olarak değerlendirme yapılır.

Disk difüzyon yöntemi az masraflı, az zahmetli ve kolay uygulanırlığı yanı sıra, bir petri kutusunda 5-6 antibiyotiğe karşı duyarlılığı belirlemek ve en etkili olan ilacı saptamak mümkündür. Bu nedenle çok fazla tercih edilmektedir (Akyüz, 2007).

1.7 *Allium* L. Türleri ile Yapılan Kimyasal Araştırmalar ve Aktivite Çalışmaları

Alliaceae ve taksonomik olarak daha önce bünyesinde bulunduğu Liliaceae familyası üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında, araştırmaların anatomik, morfolojik, palinolojik, ekolojik, mikromorfolojik, moleküler, sitotaksonomik ve fitokimyasal alanlarda yapıldığı görülmektedir.

Allium türlerinin soğanlarında özel kokulu uçucu yağlar, şekerler, enzimler, kükürtlü glikozitler, vitaminler (A, B, C ve P), aminoasitler, çeşitli metaller, nikotinamid vardır (Başer ve diğ., 1993). *Allium* türleri hem yemek olarak hem de halk tıbbında kullanımları mevcuttur. Patolojik hastalıklarda, tümör tedavilerinde ve kardiyovasküler hastalıklarda kullanıldığı bilinmektedir. Eskiden beri bilinen sarımsak kolera ve tiroid hastalıklarında kullanılmıştır. Bu önemli bitkinin dönüştürücü enzimi allinazdır. Bu enzim nedeniyle sarımsak kesilince karakteristik sarımsak kokusu ortaya çıkar.

Allium stylosum' un da içinde bulunduğu 23 *Allium* türü üzerinde HPLC ile yapılan içerik analizinde allin ve allisin miktarları belirlenmiştir. *A.stylosum* türünde alliin miktarı %1.98 iken allisiiin miktarı çok az bulunmuştur (Başer ve diğ., 1993).

Kazdağ'ı endemik bitkilerinden *Allium reuterianum* Boiss. ve *Allium sibthorpiatum* Schultes & Schultes fil. türlerinin (Liliaceae) morfolojik, anatomik ve ekolojik özellikleri ortaya çıkarılmıştır (Uysal, 1999).

Allium porrum L. türünün etanolik ekstraktlarının antioksidan aktivitesi (DPPH metodu) ve fenolik içerik belirleme çalışmasında en yüksek antioksidan aktivite ve fenolik içerik (%69.46 mg GAE/g) soğan ekstraktlarında bulunmuştur. IC₅₀ değerleri ise yaprak (98.90 µg/mL) daha yüksek iken soğanda (61.05 µg/mL) daha düşük bulunmuştur (Mladenovic ve diğ., 2011).

Farklı familyalara ait değişik 14 bitkiye ait etil asetat ve metanollü ekstrelerin antioksidant etkileri araştırılmıştır. Bu türlerden biri olan *Allium rotundum* türünün etil asetat ekstreleri içinde (IC₅₀:0.11 mg/ml) en yüksek aktiviteyi gösterdiği tespit edilmiştir (Çoban, 2007).

Allium türleri (*Allium obliquum* L., *A. senescens* L. subsp. *montanum* (Fries) Holub, *A. schoenoprasum* L. subsp. *schoenoprasum*, *A. fistulosum* L. ve *A. ursinum*

L.) üzerinde yapılan çalışmada HPLC metodu ile ondokuz polifenolik bileşik bulunmuştur (Parvu ve diğ., 2010).

Allium tuberosum L. türünde steroidal saponin bileşikleri izole etmişlerdir (Sang ve diğ., 2003). *Allium ursinum* türünde yapılan içerik çalışmasında yedi flavonoid glikozit bileşikleri bulunmuştur (Wu, 2009). *Allium ampeloprasum* var. *porrum* türünde steroidal saponin bileşikleri izole etmişlerdir (Adao ve diğ., 2011).

Allium cepa türünün etilasetat ve metanol ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmalarında etilasetat ekstraksiyonlarında daha yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri saptandı. Gram pozitif bakterilerden *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* ve *Listeria monocytogenes*, gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* karşı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri saptanmıştır (Santas ve diğ., 2010).

Allium sphaerocephalon L. subsp. *sphaerocephalon* türünün uçucu yağ bileşiminin aktivite çalışmasında antioksidan kapasitesi α -tokoferol asetatı eşdeğer olarak $160\ 000 \pm 111\ \mu\text{mol}$ olarak bulunmuştur. Antimikrobiyal aktivitesi beş bakteri ve bir mantar türüne karşı MIC metodu ile belirlenmiştir ve *Pseudomonas aeruginosa* ve *Aspergillus niger* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri saptanmıştır (Lazarevic ve diğ., 2011). *Allium ursinum* soğan, yaprak ve gövdenin antioksidan aktivite çalışmasında en yüksek aktivite yapraklarda gözlenmiştir (Stajner ve diğ., 2008).

Allium cepa (yeşil, sarı ve kırmızı) ve *Allium sativum* antimikrobiyal aktivite çalışmalarında *Staphylococcus aureus*, *Salmomella Enteritidis* ve üç mantar türü *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium* ve *Fusarium oxysporum* karşı *Allium sativum* en yüksek aktivite gösterirken yeşil soğan en düşük aktivite göstermiştir (Benkeblia, 2003).

Allium cepa toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite araştırmasında HPLC ve LC-MS içerik analizinde gallik asit, ferulik asit, protokateşik asit, kuersetin ve kaempferol bileşikleri bulunmuştur (Prakash, 2007).

Allium cepa L. ve *Allium ascalonicum* Hort. HPLC–DAD–ESI–MS–MS metodları ile yedi flavonol glikozid bileşikleri belirlenmiştir (Bonaccorsi ve diğ., 2008).

Allium nevsehirense, *A. sivasicum*, *A. dictyoprosum*, *A. scrodoprosum* subsp. *rotundum* ve *A. atroviolaceum* türleri metanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri DPPH ve β -karoten linoleik asit yöntemi ile yapılan çalışmada en yüksek antioksidan aktivite *A. atroviolaceum* (IC₅₀ 79.0+2.75 μ g/ml) göstermiştir (Tepe ve diğ., 2005). *Allium giganteum* soğan, yaprak ve gövdenin antioksidan aktivite çalışmasında en yüksek aktivite yapraklarda gözlenmiştir (Stajner ve diğ., 2006).

Allium ursinum türünün soğan ve yaprak kısımlarının antioksidan özellikleri incelendiğinde en yüksek antioksidan aktivite yapraklarda gözlenirken SOD antioksidant enzim aktivitesi soğan ekstraktlarında gözlenmiştir (Stajner ve diğ., 2008). *Allium giganteum* türünün antioksidant özelliklerini araştırmışlardır. Çıkan sonuca göre en yüksek antioksidan aktivitenin taze yapraklarda olduğu gözlenmiştir (Stajner ve diğ., 2006).

Allium roseum türünün soğan, yaprak ve çiçek kısımlarının üç çözücü kullanarak yaptığı ekstraktlarda çiçek ve yaprak kısımlarının metanolik ekstraktlarında daha güçlü antioksidan aktivitesi gösterdiğini saptamıştır (Najjaa ve diğ., 2011).

Allium sphaerocephalon L. subsp. *sphaerocephalon* türünün antioksidan ve antibakteriyal aktivitesini araştırmışlardır. Antioksidan aktivitesinin (160 000 \pm 111 μ mol) α -tokoferol asetatı eşdeğer olarak bulunduğu antimikrobiyal aktivitesi için ise beş bakteri suşuna (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* ve *S. abony*) ve iki mantar (*A. niger* ve *C. albicans*) türüne karşılık MIC yöntemiyle test edilmiş olup sonuç olarak MIC değerlerinin 0.08 ve 0.63 mg ml⁻¹ arasında değiştiğini saptamıştır (Lazarevic ve diğ., 2010).

Allium türünün içerdiği kükürtlü bileşenlerinin aktivite çalışmalarına katkıda bulunduğu yapılan çalışmalarla desteklenmiştir.

1.8 Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, Denizli ili içinde yayılış gösteren Alliaceae familyasına ait endemik 4 bitki taksonunun (*Allium stylosum*, *Allium sibthorpiatum*, *Allium deciduum*'un iki alt türünün subsp. *deciduum* ve subsp. *retrosum*) farklı çözücüler kullanılarak (etanol, metanol, aseton ve benzin) elde edilen saf ekstraktlarının antioksidan ve antibakteriyal aktivitelerinin belirlenmesi ile fitokimyasal içerikleri araştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyaller

2.1.1 Bitkisel materyaller

Tez kapsamındaki bitkilerin buldukları bölgeler saptandıktan sonra ilgili lokalitelerden bitkisel materyaller toplandı. Türlerin yayılış popülasyonları Denizli ili çevresinde çok geniş olmadığı için *Allium stylosum* ve *Allium deciduum* subsp. *deciduum* ve *Allium deciduum* subsp. *retrorsum* taksonlarının belli bir miktarını Muğla (Köyceğiz ve Beyobası) ili çevresinden toplanmıştır. Bitkilerin endemik olduklarını ve dar lokalitelerde yayılış gösterdiklerini dikkate alarak popülasyonların çok zarar verilmemesine özen gösterildi. Bu nedenle içerik ve antibakteriyal çalışmalarını sonuna kadar yapabilmek için yeterince bitki materyali toplanamadı. Bu materyallerin tip örnekleri adlandırma için ayrıldı ve arazide gerekli notlar tutuldu. Araştırmada Alliaceae familyasına ait Denizli Honaz Dağı'nda, Kale ilçesinde ve Çivril Akdağ' da yayılış gösteren *Allium* cinsine ait toplam endemik üç tür (*Allium stylosum*, *Allium deciduum*, *Allium sibthorpiatum*) kullanılmıştır. Bitkilerin teşhisleri Davis (1984)'e göre yapılmıştır. Bitki örnekleri 2011 yılı Mayıs-Ağustos aylarında toplanıp, yer altı ve yer üstü kısımları ayrı ayrı kurutulmuş ve analize hazır hale getirilmiştir. Bitki örnekleri, analiz çalışmalarına kadar +4°C'de saklanmıştır. Çalışmada yararlanılan bitkilerin adları ve toplandıkları lokaliteler aşağıda Tablo 2.1' de verilmiştir.

Tablo 2.1 : Bitki materyallerinin toplanma lokaliteleri.

Tür ismi	Lokalite	Yükseklik	Toplanma Tarihi	Bitki Kodu
<i>Allium stylosum</i>	Muğla, Beyobası Süpürgelik Tepe ve Denizli, Çivril Akdağ	1000 m	Mayıs 2011	1
<i>Allium sibthorpiatum</i>	Denizli, Honaz Dağı	2000 m	Ağustos 2011	2
<i>Allium deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i> subsp. <i>retrorsum</i>	Muğla, Köyceğiz Sandras Dağı ve Denizli Kale ilçesi	1200 m	Temmuz 2011	3 4

2.1.2 Mikroorganizmalar

Çalışma kapsamındaki test mikroorganizmaları Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarından temin edilmiştir. Antibakteriyal aktivite deneylerinde gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* ATCC 11230 olmak üzere 2 adet bakteri kullanılmıştır.

2.2 Yöntemler

2.2.1 Bitkilerin kurutulması ve ekstraksiyon işlemleri

Toplanan bitkilerin toprak üstü ve toprak altı kısımları, doğrudan güneş ışığı almayan ve hafif hava akımının olduğu bir ortamda kurutuldu (Şekil 2.1). Kuruyan bitki örnekleri blender yardımıyla toz haline getirildikten sonra 10 g tartılarak 175 ml çözügen içinde sırasıyla etanol, metanol, aseton ve benzin ile altı saat süreyle çalkalamalı su banyosunda 55⁰C' de iki kez ekstre edildi.



Şekil 2.1: Kurutma işlemi.

Ekstraksiyon sonucu elde edilen karışım filtre kâğıdından süzülüş ve çözücüler rotary evaporatör cihazı kullanılarak $+48^{\circ}\text{C}$ ' de uçurulmuştur (Şekil 2.2). Özütte kalan su liyofilizatörde (Thermo, savant) tamamen uzaklaştırıldı. Geride kalan ekstratler -20°C ' de saklanmıştır.



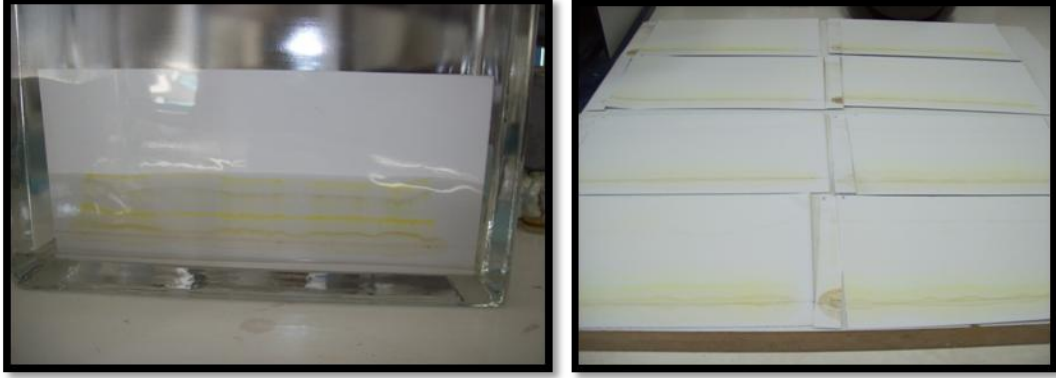
Şekil 2.2 : Rotary evaporatör ile çözücü uzaklaştırma işlemi.

2.2.2 İçerik tanıma yöntemleri

2.2.2.1 İnce tabaka kromatografisi analizi (İTK)

Hazırlanan ekstratler (*A. sibthorpiantum* ve *A. stylosum* metanol ekstratleri) 0.25 mm kalınlığındaki Silikagel 60 HF254 hazır alüminyum plaklara uygulandı. Silika jel üzerine bir çizgi çekilir ve bu çizgi üzerine kılcal pipet yardımıyla düzgünce ekstrakt yayılıp içinde çözücü bulunan kromatografi tankına yerleştirilir. Belli bir süre sonra ekstraktın silika jel tabaka üzerinde yürüdüğü gözlemlenir. En uygun çözücü sistemini bulabilmek amacıyla değişik oranlardaki çözücü karışımı denendi;

Etanol:hekzan (20:30) ve Hekzan:etilasetat (60:40). Kromatografi tankı içinde bulunan çözücü Etanol:hekzan (20:30) sisteminde sürüklendi ve sürüklenme işlemi tamamlandıktan sonra plak tanktan çıkarılıp kurutuldu. Bu sistemde sürüklenen plaklar kurutuldu. Plaklar UV lambası altında incelendiğinde birden fazla lekenin olduğu görüldü (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 : Çözücünün plakta yürüme ve kurutulma aşaması.

2.2.2.2 EI-MS yöntemi

A. stylosum türünün metanol ekstresinin ince tabaka kromatografik ayrımından sonra EI-MS (elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometrisi) yöntemi ile etken bileşiğin tanımlanması yapılmıştır. Kromatografik yöntemle saflaştırılan bileşiğin yapı tayininde EI-MS ve H-NMR spektrumları kullanıldı. Bileşik selüloz plağa tatbik edilip % 30'luk CH₃COOH sisteminde yürütüldü. NA belirteci püskürtülüp UV ışığı altında incelendi. Plaktaki lekenin UV lamba (366 nm) altında ve NH₃ buharına tutulup incelendiğinde koyu mor renkte olduğu görülmüştür.

2.2.3 Antioksidant aktivite analiz yöntemleri

2.2.3.1 Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Ekstraktların antioksidan aktivitesi β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenmiştir (Amin ve Tan, 2002). β -karoten çözeltisi için, 0.2 mg β -karotenin 1 ml kloroformda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu çözeltinin 1 mililitresine cam balon içinde 0.02 ml linoleik asit ve 0.2 ml (%100) Tween 20 ilave edilmiştir. Elde edilen karışımdaki kloroform rotary evaporatörde 40 C' de 10 dk buharlaştırıldıktan sonra 100 ml dH₂O ilave edilerek seyreltilmiştir. Hazırlanan bu emülsiyondan 4.8 ml alınarak içerisinde 0.2 mg örnek içeren 0.2 ml ekstrakt çözeltileri bulunan test

tüplerine aktarılmıştır. Kontrol için test tüpüne β -karoten olmaksızın ekstrakt yerine sadece 0.2 ml çözücü (metanol, etanol, aseton ve benzin) konulmuştur. Emülsiyon test tüplerine ilave edilir edilmez spektrofotometre (Shimadzu UV-1601, Japon) kullanılarak başlangıç absorbansları 470 nm' de ölçülmüştür. Tüpler 50 °C' de su banyosunda tutulmuştur. Örneklerin absorbans ölçümlerine yarım saat aralıklarla 2 sa boyunca β -karotenin rengi kayboluncaya kadar devam edilmiştir (120 dakika). Toplam Antioksidan Aktivite aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$AA: [1 - (A_0 - A_t / A_0^0 - A_t^0) \times 100$$

Burada A_0 : örneğin ilk absorbansı, A_t : kontrolün ilk absorbansı, A_0^0 : örneğin 120 dk sonraki absorbansı, A_t^0 : kontrolün 120 dk sonraki absorbansıdır (Amin ve diğ., 2004).

2.2.3.2 DPPH serbest radikal giderim aktivitenin belirlenmesi yöntemi

Hazırlanan tüm özütlerin antioksidan aktiviteleri literatürde tanımlanan yöntem izlenerek yapılmıştır (Wu ve diğ., 2006). Bu test yöntemi, kararlı serbest radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)'in elektron veya hidrojen atomları veren antioksidan kimyasalların varlığında, bu kimyasallar tarafından süpürülmesi (temizlenmesi) ile karakteristik mor rengin açılmasının, spektrofotometrik olarak belirlenmesi temeline dayanmaktadır. Bu yöntemde 4 mL %0.004'lük (w/v) metanolik DPPH çözeltisi ile 1 ml (0.2-1.0 mg) ekstrakt çözeltileri karıştırılmıştır. 30 dakikalık karanlık ortamda ve oda sıcaklığında inkübasyondan sonra, örneklerin absorbansı 517 nm'de ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır.

Özütlerin absorbans değerleri kullanılarak % inhibisyon değerleri aşağıda verildiği şekliyle hesaplanmıştır:

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

Elde edilen % inhibisyon değerleri, mg/ml olarak belirlenen özüt derişimlerine karşı grafiğe geçirilmiştir. Pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır.

2.2.3.3 Toplam fenolik bileşik miktarının belirlenmesi

Ekstreler içerisindeki toplam fenol miktarı Folin-Ciocaltaeu yöntemine (Tekeli, 2008) göre yapılmıştır. Standart olarak kullanılan gallik asit ve çalışılan bütün örnekler, %70'lik metanol içinde 0.4 mg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. 0.5 ml

örnek, 2.5 ml Folin Ciocalteu reaktifi (%10'luk, suda) ve 7.5 ml sodyum karbonat çözeltisi (%20'lik, suda) deney tüpünde karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda çözeltilerin absorbansları UV Spektrofotometresi'nde 750 nm'de okunarak toplam fenol miktarları; gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg olarak gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır.

2.2.4 Antibakteriyal aktivite tayini

Ekstraktların mikroorganizmalar üzerindeki etkisi 'Agar Kuyu Difüzyon Yöntemi' ile belirlenmiştir (Reinheimer ve diğ., 1990). Çalışmada Mueller Hinton Broth (MHB) ve Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerleri kullanılmıştır. Bu yöntemle göre çalışmada kullanılan standart bakteri suşları Mueller Hinton Broth (MHB) besiyerinde 37⁰ C'de 2 kez aktifleştirildikten sonra steril petri kutularına mikropipet yardımıyla 100'er µl aktarılmıştır. Daha sonra 121 C'de 15 dakika otoklavda steril edilen MHA besiyerinden 25'er ml petrilere dökülerek bakterinin besiyerinde homojen olarak dağılması sağlanmış ve oda sıcaklığında donmaya bırakılmıştır. Donan besiyeri yüzeyinde 8 mm çapında steril bir çubukla kuyular açılmış ve kuyuların tabanı ince bir tabaka steril agar ile kaplanarak 2 saat süre ile buzdolabında bekletilmiştir. Daha sonra kuyulara paralel olacak şekilde 0.2, 0.4, 0.5 ve 0.6 g/ml konsantrasyonlarda hazırlanan her örnekten 100 µl miktarlarda konulmuştur. Kültürler optimum gelişme sıcaklıklarında 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kuyuların çevresinde oluşan zonların çapı mm cinsinden ölçülmüştür. Kontrol olarak penisilin ve azitromisin antibiyotikleri kullanılmıştır.

2.2.4.1 Bitki özütlerinin antibakteriyal aktivite deneyleri için hazırlanması

Bitki ekstraktları konsantrasyonu 1 gr/ml olacak şekilde % 90 dimetilsülfoksit (DMSO) ile çözülerek stok çözeltiler hazırlanmıştır. Daha sonra stok çözeltilerden 0.2, 0.4, 0.5 ve 0.6 gr/ml konsantrasyonlarda dilüsyonlar yapılarak antibakteriyal aktivite çalışmalarında kullanılmıştır.

2.2.4.2 Mikroorganizma kültürlerinin hazırlanması

Tüm mikroorganizmalar 37±0.1 °C (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 11230) 24 saat inkübe edilmiştir. Nutrient sıvı besiyeri 1000 ml'de 3 gr beef ekstrakt, 17.5 gr kazein, 1.5 gr nişasta ve 17 gr agar içermektedir.

3. BULGULAR

3.1 Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi

3.1.1 Toplam antioksidant aktivitenin belirlenmesi

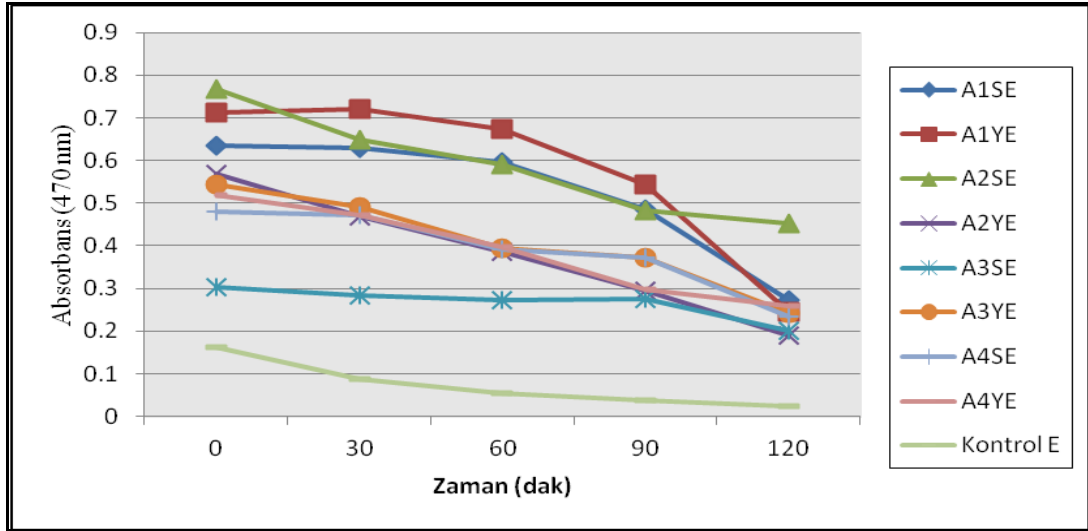
Allium stylosum, *Allium sibthorpiatum*, *Allium deciduum* subsp. *deciduum* ve subsp. *retrosum* bitkilerinin etanol, metanol, aseton ve benzin özütleri ile birlikte β _karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen toplam antioksidant aktiviteleri Tablo 3.1’ de verilmiştir.

Tablo 3.1 : *Allium stylosum*, *Allium sibthorpiatum*, *Allium deciduum* subsp. *deciduum* ve subsp. *retrosum* ekstraktlarının β _karoten-linoleik asit sistemindeki antioksidan aktiviteleri (%).

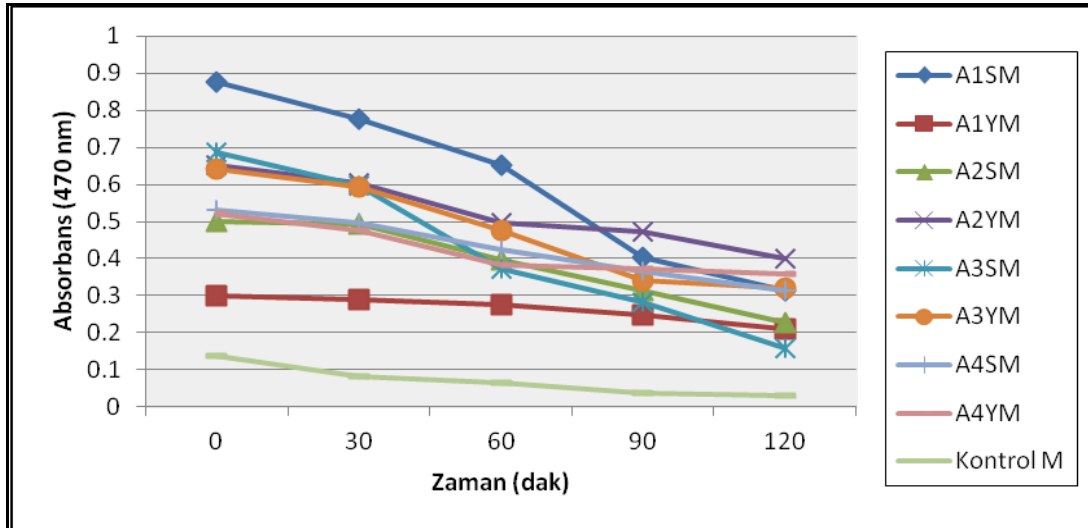
Bitki Materyali	Bitki kısımları	Etanol	Metanol	Aseton	Benzin
<i>Allium stylosum</i>	Soğan	80.96	73.65	72.25	64.35
	Yaprak	75.10	68.75	71.62	62.48
<i>Allium sibthorpiatum</i>	Soğan	80.97	81.38	61.40	53.42
	Yaprak	75.25	71.45	52.75	45.72
<i>Allium deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i>	Soğan	80.21	77.27	49.62	44.12
	Yaprak	76.85	73.70	45.76	42.78
<i>Allium deciduum</i> subsp. <i>retrosum</i>	Soğan	78.54	76.85	47.74	43.22
	Yaprak	73.65	71.73	43.77	41.87

Yukarıdaki Tablo 3.1 incelendiğinde en yüksek antioksidan aktivite *Allium sibthorpiatum* türünün metanollü soğan ekstraktlarının (%81.38), en düşük antioksidan aktivite ise *Allium deciduum* subsp. *retrosum* türünün benzinli yaprak ekstraktlarında (% 41.87) görülmüştür.

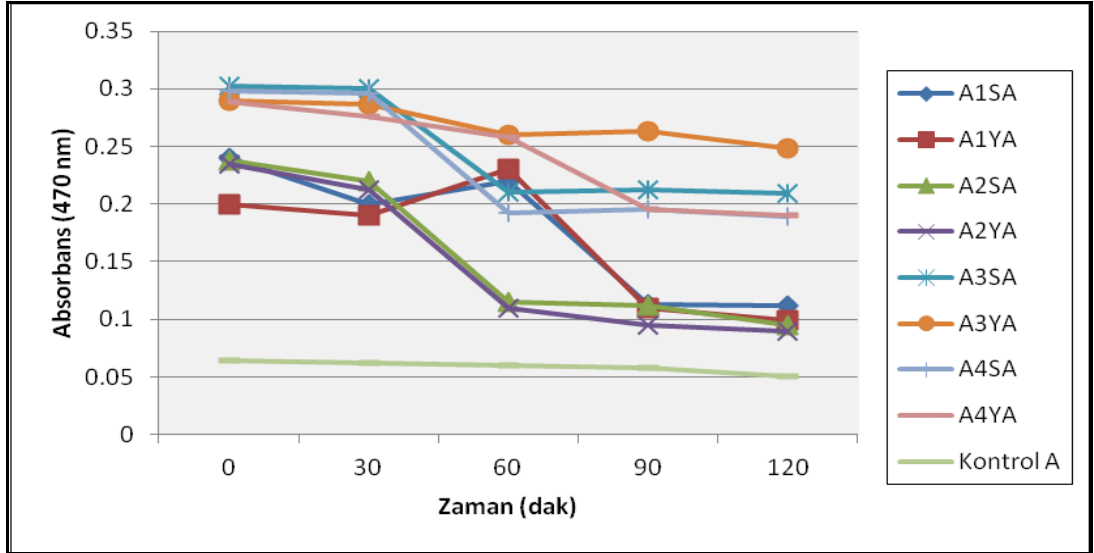
Allium stylosum, *Allium sibthorpiatum*, *Allium decuduum* subsp. *decuduum* ve subsp. *retrorsum* bitkilerinin sırasıyla etanol, metanol, aseton ve benzin özütlerinin β _karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen 30, 60, 90, 120 dk absorbans değerleri Şekil 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4' te verilmiştir.



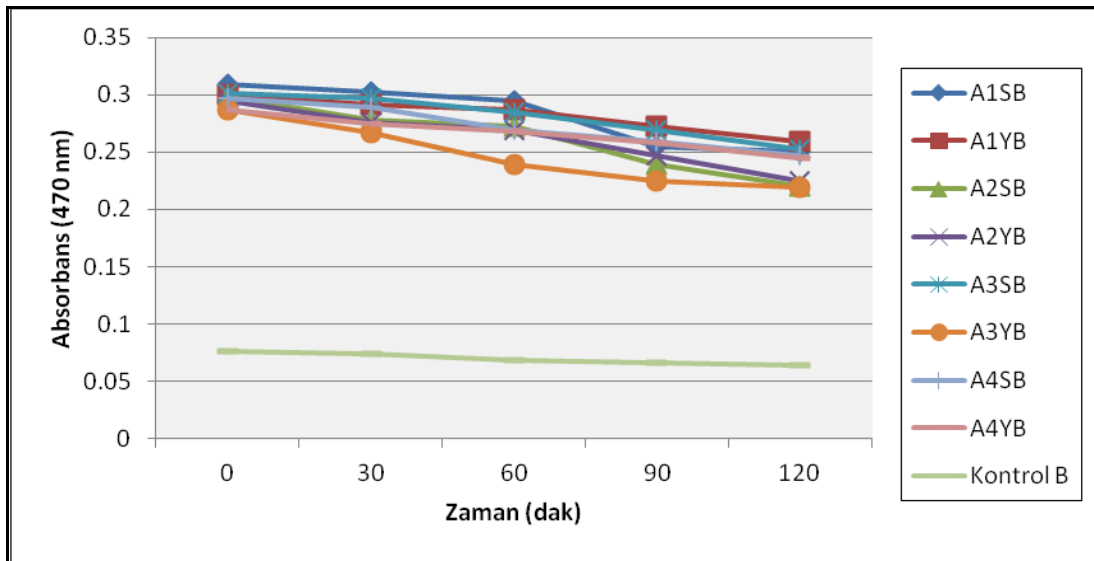
Şekil 3.1 : β -Karoten-linoleik asit yönteminde etanollü bitki ekstraktların absorbans grafiği (A1SE: *A.stylosum* soğan etanol, A1YE: *A.stylosum* yaprak etanol, A2SE: *A.sibthorpiatum* soğan etanol, A2YE: *A.sibthorpiatum* yaprak etanol, A3SE: *A.decuduum* subsp. *decuduum* soğan etanol, A3YE: *A.decuduum* subsp. *decuduum* yaprak etanol, A4SE: subsp.*retrorsum* soğan etanol, A4YE: subsp.*retrorsum* yaprak etanol, Kontrol E: etanol).



Şekil 3.2 : β -Karoten-linoleik asit yönteminde metanollü bitki ekstraktların absorbans grafiği (A1SM: *A.stylosum* soğan metanol, A1YM: *A.stylosum* yaprak metanol, A2SM: *A.sibthorpiatum* soğan metanol, A2YM: *A.sibthorpiatum* yaprak metanol, A3SM: *A.decuduum* subsp. *decuduum* soğan metanol, A3YM: *A.decuduum* subsp. *decuduum* yaprak metanol, A4SM: subsp.*retrorsum* soğan metanol, A4YM: subsp.*retrorsum* yaprak metanol, Kontrol M: metanol).

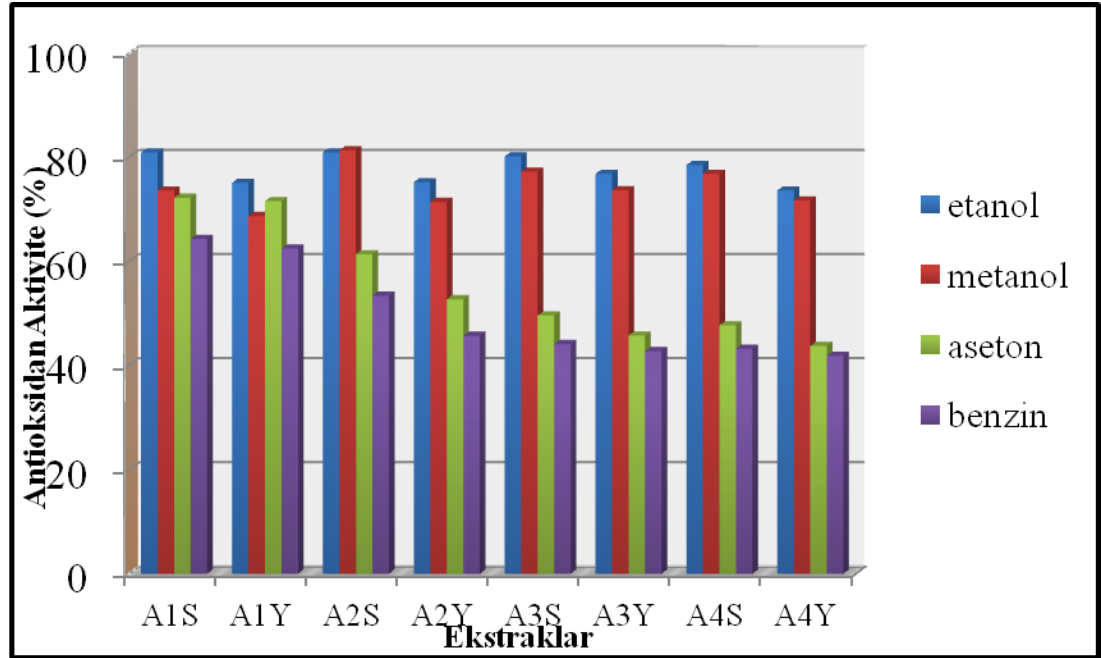


Şekil 3.3 : β -Karoten-linoleik asit yönteminde asetonlu bitki ekstraktların absorbans grafiği (A1SA: *A.stylosum* soğan aseton, A1YA: *A.stylosum* yaprak aseton, A2SA: *A.sibthorpiantum* soğan aseton, A2YA: *A.sibthorpiantum* yaprak aseton, A3SA: *A.deciduum* subsp. *deciduum* soğan aseton, A3YA: *A.deciduum* subsp. *deciduum* yaprak aseton, A4SA: subsp.*retrorsum* soğan aseton, A4YA: subsp.*retrorsum* yaprak aseton, Kontrol A: aseton).



Şekil 3.4 : β -Karoten-linoleik asit yönteminde benzinli bitki ekstraktların absorbans grafiği (A1SB: *A.stylosum* soğan benzin, A1YB: *A.stylosum* yaprak benzin, A2SB: *A.sibthorpiantum* soğan benzin, A2YB: *A.sibthorpiantum* yaprak benzin, A3SB: *A.deciduum* subsp. *deciduum* soğan benzin, A3YB: *A.deciduum* subsp. *deciduum* yaprak benzin, A4SB: subsp.*retrorsum* soğan benzin, A4YB: subsp.*retrorsum* yaprak benzin, Kontrol B: benzin).

Allium stylosum, *Allium sibthorpiatum*, *Allium decuduum* subsp. *decuduum* ve subsp. *retrorsum* bitkilerinin sırasıyla etanol, metanol, aseton ve benzin özütlerinin β _karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen antioksidan aktivite değerleri Şekil 3.5’ de verilmiştir.



Şekil 3.5 : β _karoten-linoleik asit sistemiyle etanol, metanol, aseton ve benzin ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (%) (A1S:*A.stylosum* soğan, A1Y: *A.stylosum* yaprak, A2S:*A.sibthorpiatum* soğan, A2Y: *A.sibthorpiatum* yaprak, A3S: *A.decuduum* subsp. *decuduum* soğan, A3Y: *A.decuduum* subsp. *decuduum* yaprak, A4S:subsp.*retrorsum* soğan, A4Y: subsp.*retrorsum* yaprak).

3.1.2 Serbest radikal giderim aktivite sonuçları

Ekstraktların serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlendi (Wu ve diğ., 2006). DPPH'in %0.004 lük (w/v) metanolik çözeltisinin 4 ml'si, ekstraktların 1 ml (0.2-1.0 mg)'si ile karıştırıldı ve 30 dakikalık karanlık ortamda ve oda sıcaklığında inkübasyon sonrasında, örneklerin absorbansı 517 nm'de ölçülmüştür. Özütlerin absorbans değerleri kullanılarak % inhibisyon değerleri aşağıda verildiği şekliyle hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

Beş farklı derişimdeki özütlerin ve standartın serbest radikal giderim aktiviteleri Tablo 3.2, 3.3, 3.4 ve 3.5’ de verilmiştir.

Tablo 3.2 : *Allium stylosum*, *Allium sibthorpiatum*, *Allium deciduum* subsp. *deciduum* ve subsp. *retrosum* bitkilerinin etanol ekstraktlarının ve standartın DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.

Bitki Örnekleri Konsantrasyon (mg/ml)		DPPH radikalini süpürücü etki (İnhibisyon %)				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
<i>A.stylosum</i>	soğan yaprak	35.22	46.86	53.82	67.78	72.44
		26.74	36.95	43.62	52.32	62.48
<i>A.sibthorpiatum</i>	soğan yaprak	23.25	46.50	53.81	60.24	74.80
		20.32	40.26	46.50	52.46	72.36
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i>	soğan yaprak	17.82	35.64	45.48	52.64	65.46
		15.79	31.58	45.65	50.46	60.58
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>retrosum</i>	soğan yaprak	11.62	23.24	42.36	46.10	56.45
		10.48	20.54	41.08	44.98	54.36
BHT		96.12				

Tablo 3.3 : *Allium stylosum*, *Allium sibthorpiatum*, *Allium deciduum* subsp. *deciduum* ve subsp. *retrosum* bitkilerinin metanol ekstraktlarının ve standartın DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.

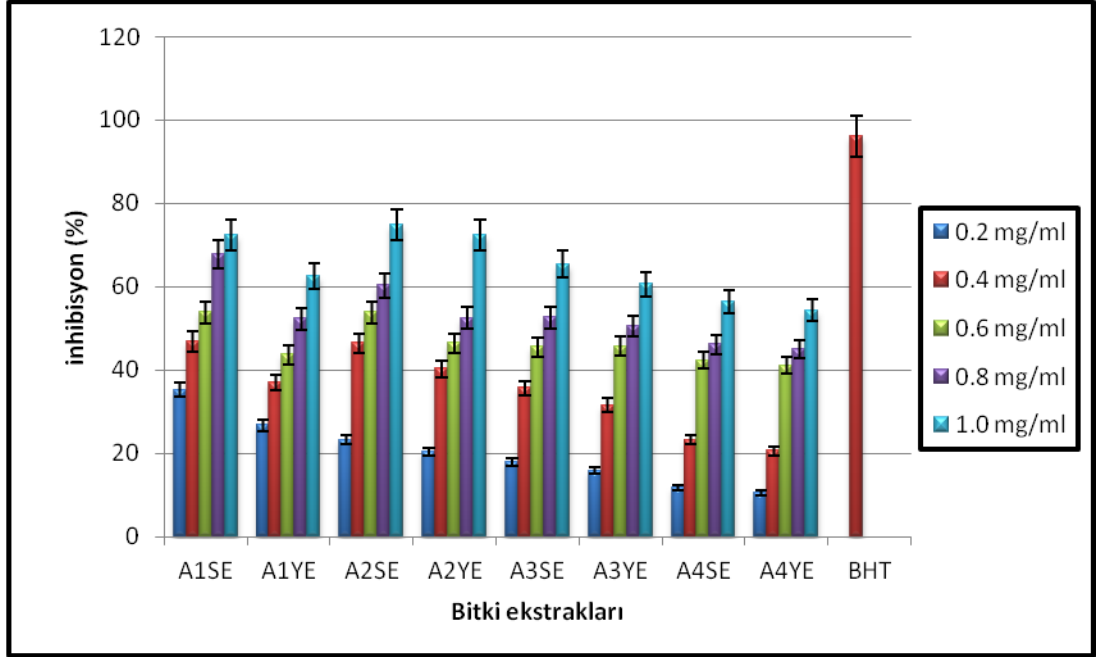
Bitki Örnekleri Konsantrasyon (mg/ml)		DPPH radikalini süpürücü etki (İnhibisyon %)				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
<i>A.stylosum</i>	soğan yaprak	38.28	48.75	55.28	70.87	73.75
		28.75	45.70	52.80	62.69	62.25
<i>A.sibthorpiatum</i>	soğan yaprak	25.74	35.12	46.81	56.25	74.56
		22.25	32.46	45.82	54.28	60.75
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i>	soğan yaprak	20.52	30.47	41.25	50.82	55.86
		17.20	28.75	38.15	48.20	52.36
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>retrosum</i>	soğan yaprak	18.95	28.54	37.15	46.69	52.48
		16.37	26.47	36.49	44.79	50.58
BHT		96.81				

Tablo 3.4 : *Allium stylosum*, *Allium sibthorpiatum*, *Allium deciduum* subsp. *deciduum* ve subsp. *retrosum* bitkilerinin aseton ekstraktlarının ve standartın DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.

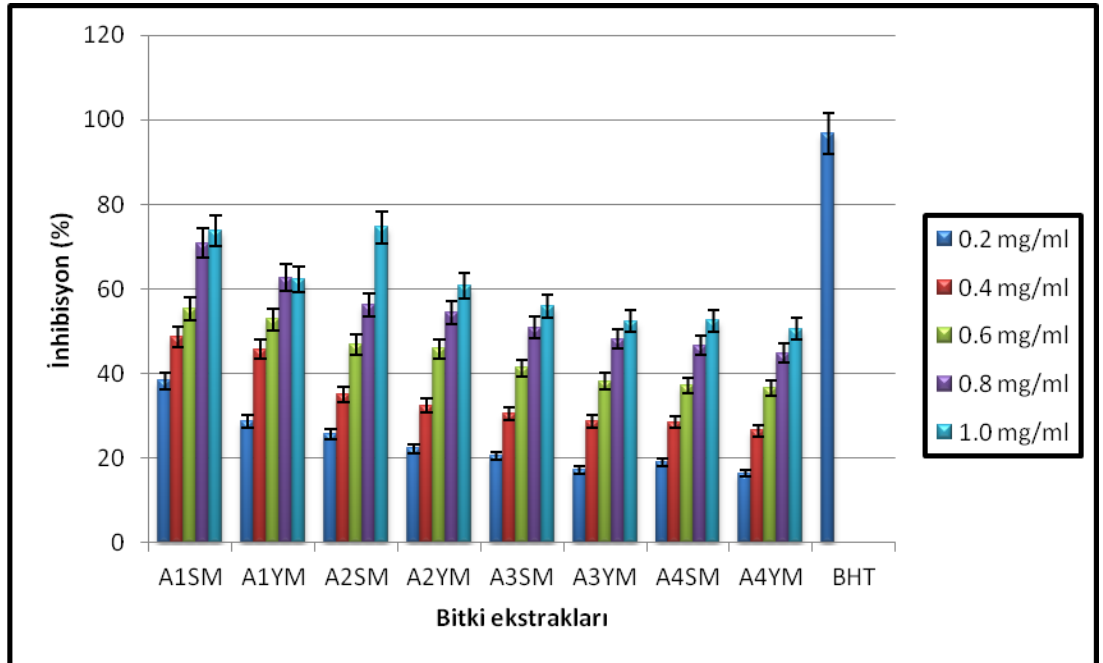
Bitki Örnekleri Konsantrasyon (mg/ml)		DPPH radikalini süpürücü etki (İnhibisyon %)				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
<i>A.stylosum</i>	soğan yaprak	24.71	30.79	35.26	41.34	52.47
		20.48	25.75	32.46	38.96	50.58
<i>A.sibthorpiatum</i>	soğan yaprak	21.48	27.87	33.58	40.96	48.74
		19.89	23.47	30.86	36.56	46.85
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i>	soğan yaprak	15.54	20.47	25.69	35.85	42.58
		11.46	15.49	20.96	32.86	40.16
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>retrosum</i>	soğan yaprak	14.46	18.89	24.48	34.46	40.86
		10.25	13.45	18.46	30.86	38.54
BHT		96.14				

Tablo 3.5 : *Allium stylosum*, *Allium sibthorpiatum*, *Allium deciduum* subsp. *deciduum* ve subsp. *retrosum* bitkilerinin benzin ekstraktlarının ve standartın DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.

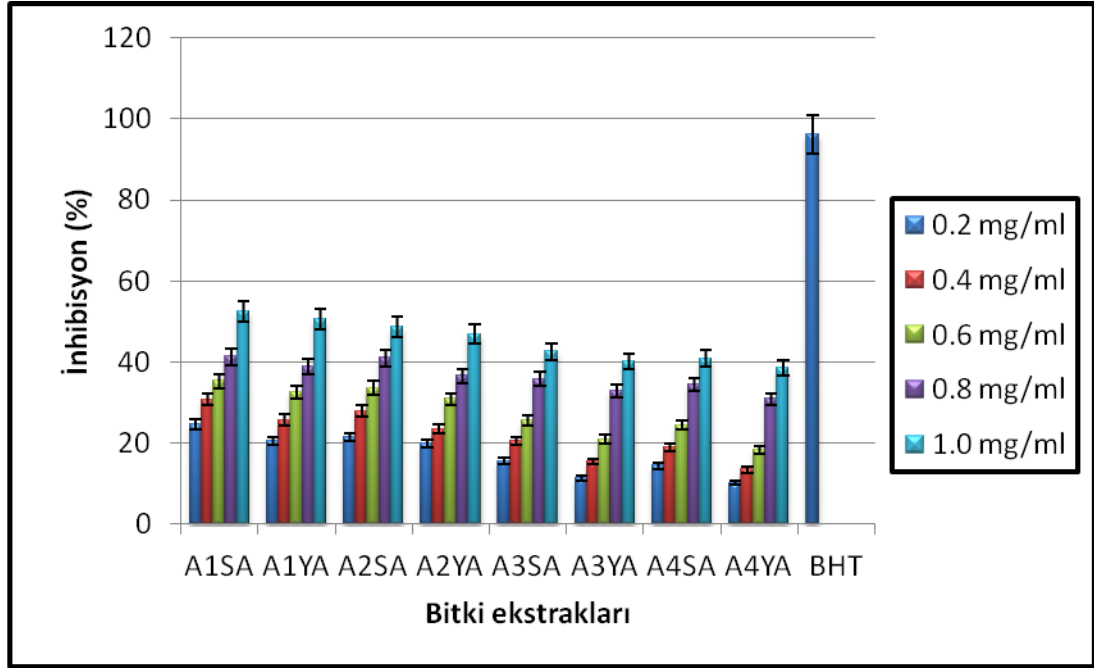
Bitki Örnekleri Konsantrasyon (mg/ml)		DPPH radikalini süpürücü etki (İnhibisyon %)				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
<i>A.stylosum</i>	soğan yaprak	20.86	26.64	31.77	37.87	47.58
		16.47	21.87	28.54	35.56	45.21
<i>A.sibthorpiatum</i>	soğan yaprak	18.26	23.54	33.45	38.56	48.85
		15.45	19.58	26.33	33.87	43.77
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i>	soğan yaprak	11.45	16.67	24.89	31.12	44.56
		8.24	12.56	18.92	28.76	38.54
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>retrosum</i>	soğan yaprak	10.45	14.34	23.12	30.56	42.67
		9.78	10.25	16.67	26.47	36.25
BHT		95.69				



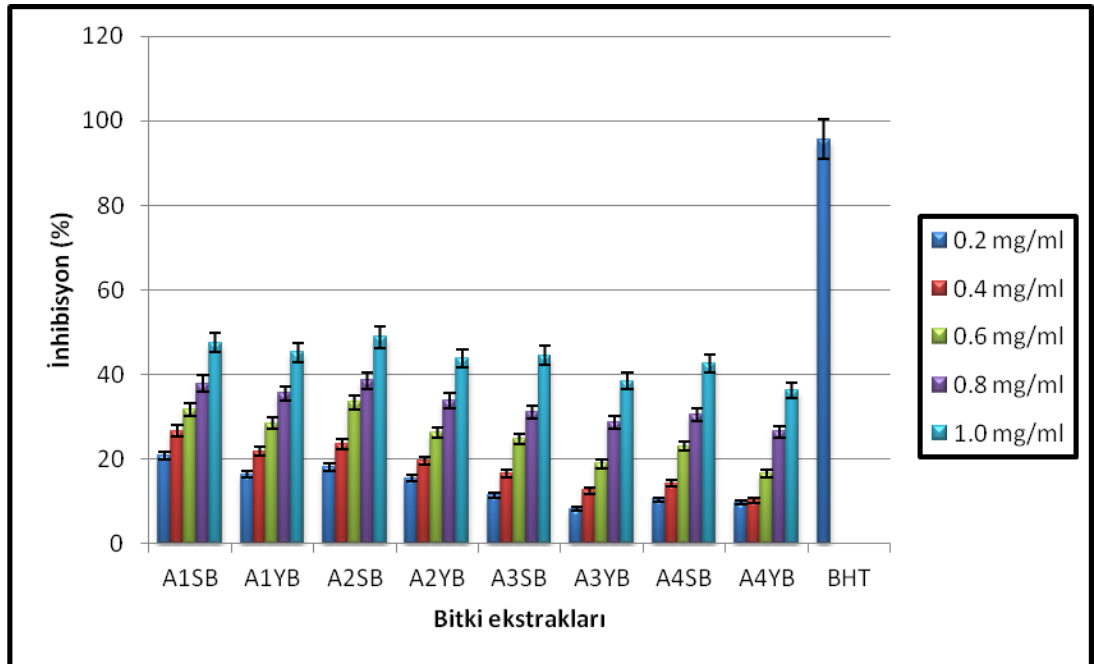
Şekil 3.6: DPPH yöntemi ile etanollü bitki ekstraktların farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri (A1SE: *A.stylosum* soğan etanol, A1YE: *A.stylosum* yaprak etanol, A2SE: *A.sibthorpiantum* soğan etanol, A2YE: *A.sibthorpiantum* yaprak etanol, A3SE: *A.deciduum* subsp. *deciduum* soğan etanol, A3YE: *A.deciduum* subsp. *deciduum* yaprak etanol, A4SE: subsp.*retrorsum* soğan etanol, A4YE: subsp.*retrorsum* yaprak etanol).



Şekil 3.7: DPPH yöntemi ile metanollü bitki ekstraktların farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri (A1SM: *A.stylosum* soğan metanol, A1YM: *A.stylosum* yaprak metanol, A2SM: *A.sibthorpiantum* soğan metanol, A2YM: *A.sibthorpiantum* yaprak metanol, A3SM: *A.deciduum* subsp. *deciduum* soğan metanol, A3YM: *A.deciduum* subsp. *deciduum* yaprak metanol, A4SM: subsp.*retrorsum* soğan metanol, A4YM: subsp.*retrorsum* yaprak metanol).



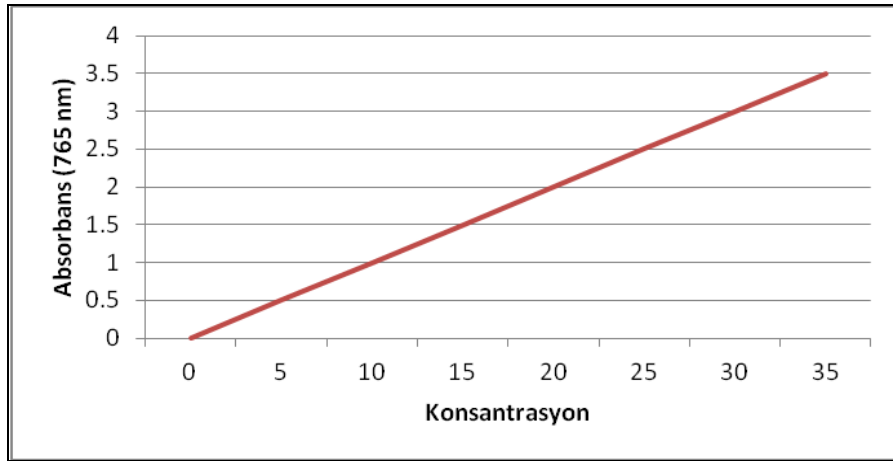
Şekil 3.8 : DPPH yöntemi ile asetonlu bitki ekstraktların farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri (A1SA: *A.stylosum* soğan aseton, A1YA: *A.stylosum* yaprak aseton, A2SA:*A.sibthorpiantum* soğan aseton, A2YA: *A.sibthorpiantum* yaprak aseton, A3SA: *A.deciduum* subsp. *deciduum* soğan aseton, A3YA: *A.deciduum* subsp. *deciduum* yaprak aseton, A4SA:subsp.*retrorsum* soğan aseton, A4YA: subsp.*retrorsum* yaprak aseton).



Şekil 3.9: DPPH yöntemi ile benzinli bitki ekstraktların farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri (A1SB: *A.stylosum* soğan benzin, A1YB: *A.stylosum* yaprak benzin, A2SB: *A.sibthorpiantum* soğan benzin, A2YB: *A.sibthorpiantum* yaprak benzin, A3SB: *A.deciduum* subsp. *deciduum* soğan benzin, A3YB: *A.deciduum* subsp. *deciduum* yaprak benzin, A4SB: subsp.*retrorsum* soğan benzin, A4YB: subsp.*retrorsum* yaprak benzin).

3.1.3 Toplam fenolik madde konsantrasyonu

Ekstreler içerisindeki toplam fenol miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine (Tekeli, 2008) göre yapılmıştır. Standart olarak kullanılan gallik asit ve çalışılan bütün örnekler, %70'lik metanol içinde hazırlanmıştır. *Allium stylosum*, *Allium sibthorpiatum*, *Allium deciduum* subsp. *deciduum* ve subsp. *retrosum* bitkilerinin etanol ve metanol ekstraktlarının içerdiği fenolik bileşik miktarı Tablo 3.6 ve Tablo 3.7'de verilmiştir.



Şekil 3.10 : Gallik asit kalibrasyon eğrisi ($y=0.099x+0.097$ $R^2=0.987$).

Tablo 3.6 : Türler e ait etanol ekstraktlarının 765 nm'de absorbansları ve gallik aside eş değerkonsantrasyonları.

Türler		Absorbans (765 nm)	mg/ml GAE
<i>A.stylosum</i>	soğan	0.598	5.260
	yaprak	0.365	4.180
<i>A.sibthorpiatum</i>	soğan	0.638	5.464
	yaprak	0.596	5.040
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i>	soğan	0.587	4.821
	yaprak	0.233	4.036
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>retrosum</i>	soğan	0.482	4.369
	yaprak	0.212	3.987

Tablo 3.7: Türlerle ait metanol ekstraktlarının 765 nm’de absorbanları ve gallik aside eş değerkonsantrasyonları.

Türler		Absorbans (765 nm)	mg/ml GAE
<i>A.stylosum</i>	soğan	0.587	6.398
	yaprak	0.498	5.589
<i>A.sibthorpiatum</i>	soğan	0.648	6.556
	yaprak	0.546	6.187
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i>	soğan	0.512	5.836
	yaprak	0.446	4.925
<i>A.deciduum</i> subsp. <i>retrosum</i>	soğan	0.487	5.263
	yaprak	0.398	4.569

3.2 EI-MS Sonuçları

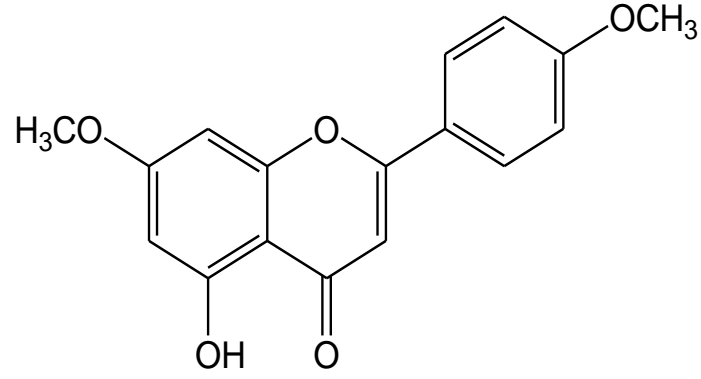
Etken maddenin tayininde ¹H-NMR ve Kütle spektroskopisi (EI-MS) yöntemleri kullanıldı. Bileşik selüloz plağa tatbik edilip %30’luk CH₃COOH sisteminde yürütüldü. Plaktaki lekenin NA belirteci püskürtülüp UV lamba (366 nm) altında ve NH₃ buharına tutulup incelendiğinde koyu mor renkte görülmesi C-5 konumunda -OH, C-4’ konumlarında -OCH₃ gruplarının bulunabileceğini göstermektedir.



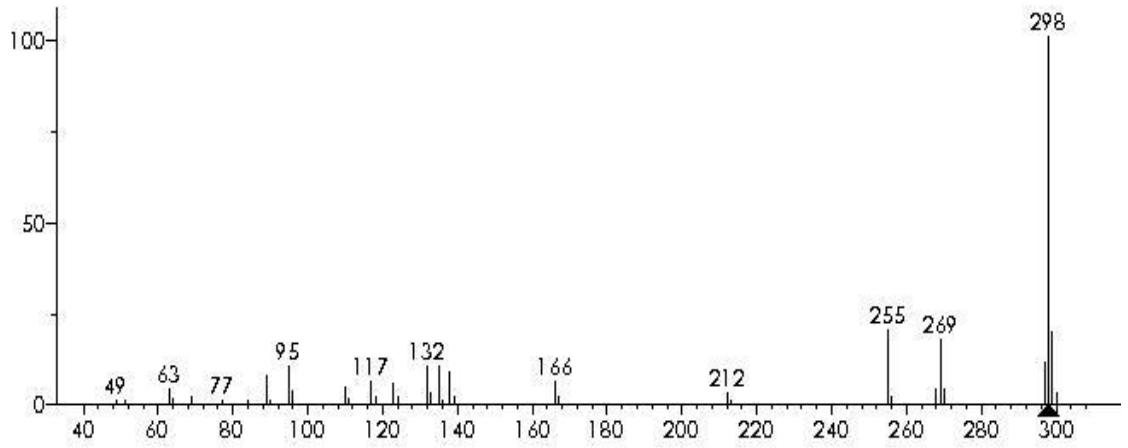
Şekil 3.11 : Plakta lekelerin görüntülenme aşaması.

¹H-NMR spektrumunda (400 MHz, CDCl₃); δ 3,82 (3H, s) ve δ 3,83 (3H, s)’de izlenen sinyaller molekülde iki metoksi grubunun varlığını belirtti. 12,78 ppm’de (1H, s) izlenen pik C-5’deki OH grubuyla C-4’deki karbonil grubunun molekül içi

hidrojen bağı yaptığını gösterdi. 6,52 ppm'deki (1H, s) pik H-3 protonunu, 6,32 ppm'deki (1H, s) pik H-6 ve 6,42 ppm'deki (1H, s) pik H-8 protonlarını göstermektedir. 6.96 ve 7.78 ppmde izlenen dd'ler B halkasındaki H-2', H-3' (2,35; 11,72 Hz) ve H-5', H-6' (2,35; 11,91 Hz) konumlarındaki proton sinyalleridir. (Şekil 3.13). Bu izolasyon yöntemleri sonucunda bileşiğin Apigenin 7,4'-di-metil eter (5-Hidroksi-7,4'-dimetoksiflavon) olduğu tespit edildi. Bileşiğin yapısı Şekil 3.12'de verilmiştir.



Şekil 3.12 : Apigenin 7,4'-di-metil eter.



Şekil 3.13: Apigenin 7,4'-di-metil eter'in EI-MS spektrumu.

3.2 Antibakteriyal Aktivite Sonuçları

Ekstraktların mikroorganizmalar üzerindeki etkisi ‘Agar Kuyu Difüzyon Yöntemi’ ile belirlenmiştir. Bakteriyel gelişmenin inhibisyonu (engellenmesi) her bir disk çevresinde oluşan şeffaf inhibisyon zon çapının ölçülmesiyle değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada gram pozitif bakteri olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, gram negatif bakteri olarak *Escherichia coli* ATCC 11230 suşları kullanılmıştır. *Allium stylosum*, *Allium sibthorpiatum*, *Allium deciduum* subsp.*deciduum* ve subsp. *retrorsum* bitkilerinin etanol ve metanol ekstraktlarının ve kontrol amacıyla kullanılan antibiyotiklerin çalışmada kullanılan suşlar üzerindeki inhibisyon etkileri Tablo 3.8, 3.9, 3.10, 3.11 ve 3.12’de verilmiştir.

Tablo 3.8 : *Allium stylosum* ekstraktlarının antibakteriyal aktiviteleri.

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zon çapı (mm)							
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11230				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213			
<i>Allium stylosum</i>	0.2	0.4	0.5	0.6	0.2	0.4	0.5	0.6
yaprak (Etanol)	-	-	-	-	1.8	3.8	7.9	4.3
soğan (Etanol)	-	2.1	4.0	4.1	-	-	-	-
yaprak (Metanol)	-	-	-	-	-	-	-	-
soğan (Metanol)	-	-	-	-	-	-	-	1.7

D: Denenmedi

-: Antibakteriyal etki yok

Tablo 3.9 : *Allium sibthorpiatum* ekstraktlarının antibakteriyal aktiviteleri.

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zon çapı (mm)							
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11230				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213			
<i>Allium sibthorpiatum</i>	0.2	0.4	0.5	0.6	0.2	0.4	0.5	0.6
yaprak (Etanol)	-	-	-	1.0	-	-	-	-
soğan (Etanol)	2.4	4.3	5.9	D	-	3.7	4.6	D
yaprak (Metanol)	-	-	-	-	-	-	-	-
soğan (Metanol)	-	-	-	-	-	-	-	-

D: Denenmedi

-: Antibakteriyal etki yok

Tablo 3.10 : *Allium deciduum* subsp. *deciduum* ekstraktlarının antibakteriyal aktiviteleri.

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zon çapı (mm)							
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11230				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213			
	0.2	0.4	0.5	0.6	0.2	0.4	0.5	0.6
<i>Allium deciduum</i> subsp. <i>deciduum</i>								
yaprak (Etanol)	-	-	-	D	-	4.2	3.1	D
soğan (Etanol)	-	-	-	-	-	-	-	-
yaprak (Metanol)	-	-	-	-	-	-	-	-
soğan (Metanol)	-	-	-	1.0	-	1.0	3.0	3.9

D: Denenmedi

-: Antibakteriyal etki yok

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zon çapı (mm)							
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11230				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213			
	0.2	0.4	0.5	0.6	0.2	0.4	0.5	0.6
<i>Allium deciduum</i> subsp. <i>retrosum</i>								
yaprak (Etanol)	-	-	-	-	-	3.8	-	-
soğan (Etanol)	-	-	-	-	-	-	3.5	4.1
yaprak (Metanol)	-	-	-	2.0	-	-	-	-
soğan (Metanol)	-	-	-	1.2	-	-	-	-

Tablo 3.11: *Allium deciduum* subsp. *retrosum* ekstraktlarının antibakteriyal aktiviteleri.

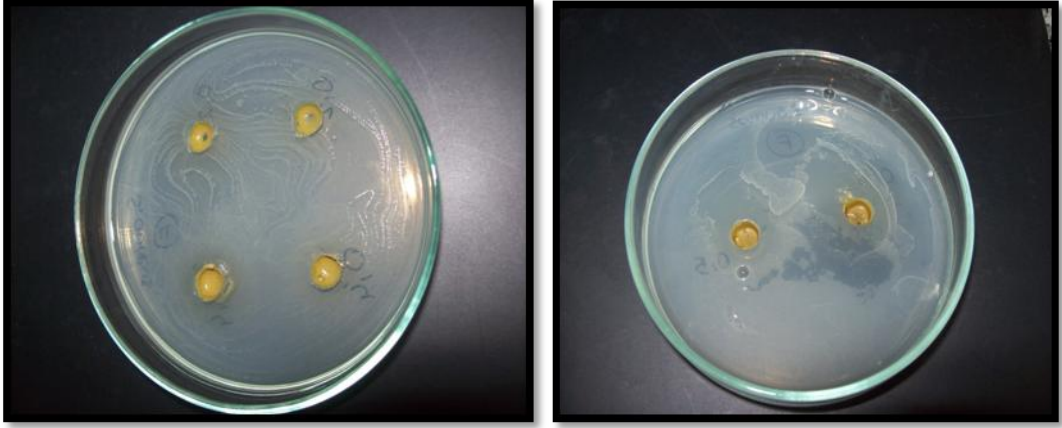
D: Denenmedi

-: Antibakteriyal etki yok

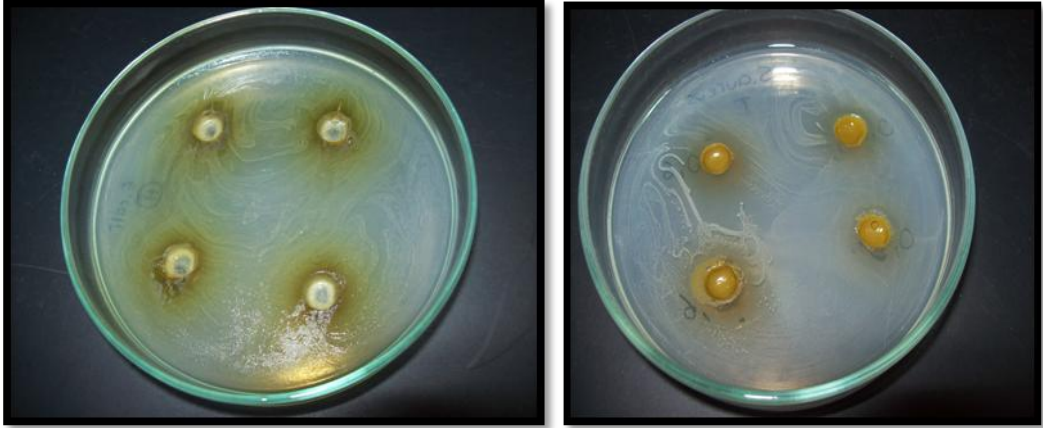
Tablo 3.12 : Bazı antibiyotiklerin çalışmada kullanılan suşlar üzerindeki inhibisyon zon değerleri.

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zon çapı (mm)							
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11230				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213			
	0.2	0.4	0.5	0.6	0.2	0.4	0.5	0.6
Antibiyotikler								
Penisilin	D	5.5 6.3	6.7 8.0	D				
Azitromisin					10.4 9.4	9.5 8.6	13.0 10.0	12.1 11.4

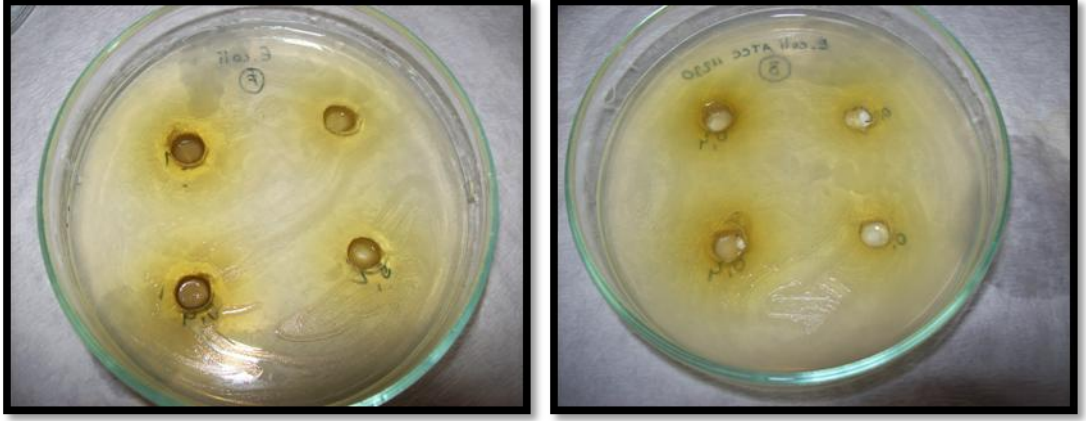
Allium stylosum, *Allium sibthorpiatum* ve *Allium deciduum* subsp. *deciduum* bitkilerinin etanol ve metanol ekstraktlarının ve kontrol amacıyla kullanılan bazı antibiyotiklerin *Escherichia coli* ATCC 11230 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 bakteri suşları üzerine etkisi Şekil 3.14, Şekil 3.15, Şekil 3.16 ve Şekil 3.17’ de verilmiştir.



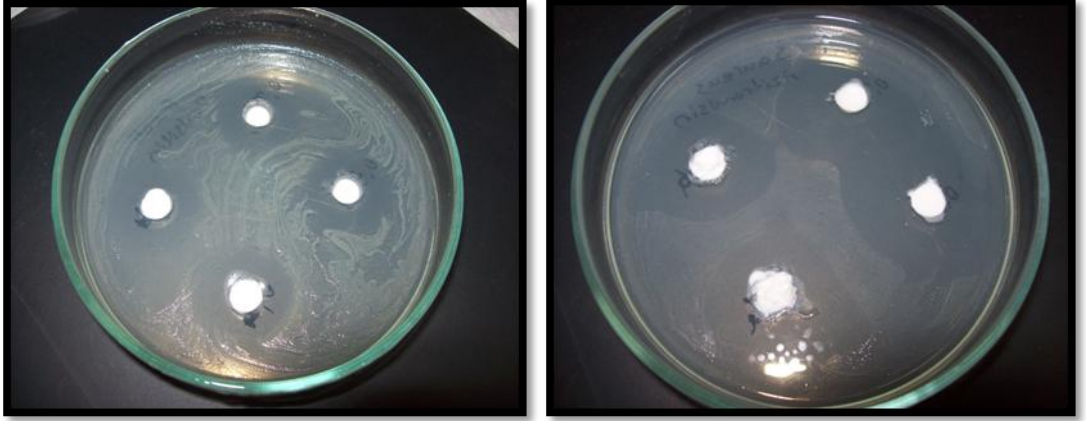
Şekil 3.14 : *Allium stylosum* ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 11230 suşları üzerine etkisi.



Şekil 3.15 : *Allium sibthorpiatum* ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 11230 suşları üzerine etkisi.



Şekil 3.16: *Allium decuduim* subsp. *decuduim* ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 11230 suşları üzerine etkisi.



Şekil 3.17: Antibiyotiklerin (Penisilin ve Azitromisin) *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 11230 suşları üzerine etkisi.

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Allium L. türleri (*Allium stylosum*, *Allium sibthorpiatum*, *Allium deciduum* subsp. *deciduum* ve subsp. *retrosum*) üzerinde yapmış olduğumuz antioksidant ve antibakteriyal aktivite ve içerik tanıma çalışmalarından elde etmiş olduğumuz sonuçlar söz konusu türlerin antioksidan kaynağı olduğunu ortaya koymaktadır.

Allium'un farklı türlerinin antioksidan aktivitelerinin de incelendiği ve saptandığı çalışmalar yapılmıştır. Gençaslan, (2007) yapmış olduğu çalışmada, *Allium rotundum* türünün hem metanollü hem etilasetatlı ekstresinin DPPH radikalini süpürücü etkileri zayıf bulunmuştur. Süperoksit anyon radikalini süpürücü etki bakımından bitkinin metanollü ekstresi etkisiz bulunmuştur, etilasetatlı ekstresinin ise güçlü süpürücü etkisi gözlenmiştir. Bitkinin metanollü ekstresinin lipid peroksidasyon üzerine kuvvetli derecede inhibitör etkisi saptanmıştır, etilasetatlı ekstresinin ise lipid peroksidasyon üzerine çok az etkisi bulunmuştur.

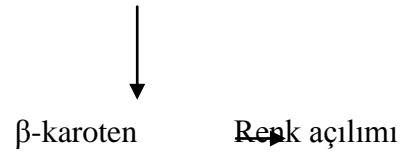
Chehregani ve diğ., (2007) yapmış olduğu çalışmada İran'da yayılış gösteren *Allium* türlerinin (*A. atrovioleaceum*, *A. eriophyllum* var *laceratum*, *A. scabriscapum*, *A. stamineum*, *A. iranicum* ve *A. shelkovnikovii*) antimikrobiyal etkisini *Shigella flexinix*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* mikroorganizmalarına karşı test ettiğinde soğan ekstraktlarının daha güçlü etkiye sahip olduğunu bulmuştur.

Kyung, (2011) yapmış olduğu çalışmada farklı *Allium* türlerinde genel olarak sülfürlü bileşenlerin olduğu (alliin, metil sülfoksit, allisin) ortaya koymuştur. Genel olarak *Allium* cinsinin aktivitesine içeriğindeki kükürtlü bileşenlerin katkıda bulunduğunu saptamıştır.

Bu çalışmada Alliaceae familyasına ait endemik 4 bitki taksonunun çeşitli çözücüler kullanılarak elde edilmiş ekstraktlarının antioksidan, antibakteriyal aktivitesi ve etken bileşiğin karakterizasyonu araştırılmıştır. Bitkisel materyaller endemik olduğu için bu bitkilerin antibakteriyal ve antioksidan aktivitesine ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bitki ekstraktlarının toplam antioksidan

aktiviteleri, β -karoten-linoleik asit model sistemiyle belirlendi. Bu sistem, (serbest linoleik asitin inkübasyonu sırasında oluşan peroksit ürünlerinin β -karotenin karakteristik sarı rengine tepkime vererek gidermesi ve bu renk giderinin spektroskopik olarak takip edilmesi esasına bağlıdır) herhangi bir antioksidan bulunmadığında β -karotenin renginin hızla açılması esasına dayanır. Sisteme antioksidan içerikli ekstraktların ilave edilmesi, linoleik asitten oluşan peroksit ürünlerinin bu antioksidanlarla nötralize edilmesini sağlar ve bunun sonucu olarak da β -karotenin karakteristik sarı rengi korunmuş olur. Dolayısıyla örneklerin daha yüksek absorbansı daha yüksek antioksidan aktiviteyi göstermektedir.

Linolenik asit + $H_2O(O_2)$ \longrightarrow Konjuge dienler ve Bozunma ürünleri



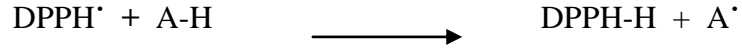
Linoleik asit + $H_2O(O_2)$ + β -karoten + Antioksidant \longrightarrow Rengin korunumu

Allium stylosum, *A.sibthorpiatum*, *A.deciduam* subsp. *deciduam* ve subsp. *retrosum* bitkilerinin etanol, metanol, aseton ve benzin özütlerinin toplam antioksidant aktiviteleri β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen antioksidan aktivite sonuçları Tablo 3.1’de verilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite (%81.38) *A.sibthorpiatum* türünün soğan kısmının metanollü çözücü ile elde edilen ekstraktında görülmüştür. Ekstraktların en düşük antioksidan aktivitesi (%41.87) *A.deciduam* subsp *retrosum* yer üstü kısımlarının benzin ile elde edilen ekstraktında görülmüştür. Aynı bitkilerden farklı çözücülerle elde edilen ekstraktlarının birbirlerinden çok farklı antioksidan aktivite göstermesinin sebebi olarak çözücülerin polariteleri gösterilebilir. Ekstraktların bu çeşitli antioksidan aktiviteleri, etkili hidrojen verme yeteneklerine ve serbest radikal giderişlerine bağlanabilir.

Araştırmacılar tarafından birçok bitki toplam antioksidan aktivite yönünden incelenmiştir. Tepe ve diğ., (2005) yurdumuzda yayılış gösteren 5 *Allium* türünün metanollü ekstraktlarının antioksidan aktivitesini araştırmışlardır. Bu çalışmada bitkilerin toplam antioksidan aktiviteleri % 60–70 arasında çıkmıştır ve BHT’e nazaran daha az inhibisyon gösterdiklerini belirtmişlerdir.

Ekstraktların serbest radikal giderim aktivitesi ekstrakt içerisindeki antioksidan bileşiklerin hidrojenlerini verebilmelerine ve bileşiğin yapısal konformasyonuna

bağlıdır (Eryiğit, 2006). 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH') 517 nm de dalga boyu maksimumuna sahiptir ve bazı doğal bileşiklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde serbest radikal olarak kullanılmaktadır. DPPH' serbest radikali, aşağıdaki tepkime gereği kararlı bir molekül olabilmek için antioksidan moleküllerden bir elektron ya da hidrojen radikalini kolaylıkla alabilmektedir. DPPH ile bitki ekstralarının reaksiyonunun gösterdiği absorbansı ne kadar düşük olursa serbest radikal giderme aktivitesi o kadar büyük demektir. Kararlı DPPH· en yüksek absorbansı 517 nm de verir. DPPH· radikalinin azalması ile absorbansın azalması doğru orantıdır. Absorbansın düşmesinin sebebi; radikal ile antioksidan moleküllerin reaksiyonu sonucu Hidrojen bağlanması ile radikalın giderilmesi sonucudur.



Şekil 3.6, 3.7, 3.8 ve 3.9 incelendiğinde tüm özütlerin derişimin artmasıyla, antioksidant aktivitelerinin de arttığı görülmektedir. *A.sibthorpiantum* türünün soğan kısmının etanollü ekstraktının serbest radikal giderim aktivitesi (%74.80) en yüksek çıkmıştır. Bu sırayı *A.sibthorpiantum* türünün soğan kısmının metanollü (%74.56) ve *A.stylosum* türünün soğan kısmının metanollü (%73.75) ekstraktı izlemektedir. En düşük serbest radikal giderim aktivitesi *A.deciduum* subsp. *deciduum* (%8.24) ve subsp. *retrosum* (%9.78) yaprak kısmının benzinli ekstraktında görülmüştür. Test edilen madde konsantrasyonu ile antioksidan aktivitenin doğru orantılı olduğu görülmektedir. Fenoller, hidroksil grupları içermeleri nedeniyle radikal yok etme yeteneğine sahip bileşiklerdir. Bu önemli bitki bileşenleri hidroksil gruplarından hidrojenlerini radikallere vererek kararlı fenoksil radikalleri oluştururlar ve antioksidant aktivitede önemli rol oynarlar. Bu yüzden bitki özütlerinin antioksidant kapasitelerinin tayininde fenolik bileşik miktarlarının belirlenmesi oldukça önemlidir.

Genel olarak sonuçlara bakıldığında çalışılan dört bitki taksonununun *A.stylosum* ve *A.sibthorpiantum* türlerinde, etanol ve metanol ekstraktlarında antioksidan aktiviteleri daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda bitkilerin soğan kısmından elde edilen ekstraktlar daha etkili sonuçlar vermiştir. Bunun nedeni olarak da içerdiği etken maddeler verilebilir. Ekstraktlarda kullanılan çözücülerin polariteleri arttıkça antioksidan aktiviteleri artmıştır.

A.stylosum, *A.sibthorpiatum*, *A.deciduam* subsp.*deciduam* ve subsp. *retrorsum* bitkilerinin takip eden ekstraksiyon ile elde edilen etanol ve metanol özütlerinin toplam fenolik bileşik miktarları FCR reaktifi kullanılarak, gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Tablo 3.6 ve 3.7’de verilen sonuçlara göre özütler arasında en fazla fenolik madde miktarı *A.sibthorpiatum* soğan metanol ekstresinde (6.556 mg/ml) bulunmuştur. Bunu *A. stylosum* soğan metanol ekstresi (6.398 mg/ml) takip eder. Buradan fenolik madde miktarı fazla olan özütün antioksidant aktivitesinin de fazla olacağı sonucuna ulaşabiliriz. Buradan da toplam antioksidant aktivitenin her zaman fenolik madde miktarına bağlı olmadığı, ancak antioksidant aktivite belirlemede önemli bir parametre olduğu sonucuna ulaşabiliriz.

A. stylosum metanol ekstresinin etken madde izolasyonunda ¹H-NMR ve EI-MS spektrumlarından yararlanılmış ve bu izolasyon yöntemleri sonucunda ‘Apigenin’ isimli flavon grubuna ait bileşik izole edilmiştir. Bitkilerde bulunan flavonoid miktarı da antioksidant aktivitenin belirlenmesinde belirleyici olabilmektedir. *Allium* türlerinin genelinde fenolik bileşiklerin alt sınıfı olan flavonoid grubuna ait bileşiklerin yoğun bulunması antioksidant aktivitesine önemli katkı sağlamaktadır. Ayrıca içeriğindeki kükürtlü bileşenlerden dolayı (özellikle alliin ve allisin bileşenleri) *A. cepa* ve *A. sativum* türlerinde olduğu gibi doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır.

Godevac ve diğ., (2008) *Allium ursinum* L. türünün uçucu yağının GC-MS analizinde toplam yirmi adet bileşik kaydedip bu bileşiklerin sülfür grubu bileşenler olduğunu tespit etmişlerdir.

Fossen ve diğ., (2003) yapmış olduğu içerik çalışmalarında *Allium cepa* türünün 2D NMR ve LC-MS elektroskopi spektrumları analizinde flavonoid grubuna ait 6 adet antosiyanidin bileşiklerini izole etmişlerdir. Yapılan analiz çalışmaları sonucunda flavonoid grubuna ait bileşiklerin daha yoğun bulunduğu saptanmıştır.

Bitkilerin antibakteriyal ve antioksidant aktivitelerini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bitkinin toplandığında hangi dönemde olduğu (çiçeklenme, tohum oluşturma vs.), ekstraksiyon tekniği, çözücülerin polariteleri, bitkisel materyalin taze ya da kuru olması, kullanılan test mikroorganizması ve kullanılan metot gibi değişik faktörler bitkinin aktivitesini etkiler.

Etanol ve metanol ile elde edilen soğan ve yaprak ekstraktlarının antibakteriyal aktivitesi incelendiğinde en etkili olan ekstrakt (7.9 mm) inhibisyon zon çapı ile *S. aureus* bakterisine karşı *A.stylosum* türünün yapraktan elde edilen etanollü ekstrakt olmuştur. *E. coli* bakterisine karşı ekstraktlar antibakteriyal etki göstermemiştir. Gram pozitif bakterilerin, Gram negatif bakterilerden daha hassas olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni olarak Gram negatif bakterilerin dış membranlarında bulunan lipopolisakkaritler gösterilmektedir. Genel olarak özütlerin inhibisyon etkisinin bakteriler üzerine etkisi daha zayıf olduğu tespit edilmiştir. Tüm bitki örneklerinde etanol özütlerinin daha etkili olduğu tespit edilmiştir. *A. sibthorpiatum* soğandan elde edilen etanollü ekstraktı her iki bakteri türünde de etkili olmuştur. Bazı ekstraktlar ise herhangi bir aktivite göstermemiştir. Bu olgu, antioksidatif aktivite konusunda ulaşılan bulgularla da uyumlu olup bu durum ekstraktların içerdiği polifenol miktarının ile bağlantılıdır.

Sasaki ve Kita (2003), agar difüzyon ve tüp dilüsyon metotlarını kullanarak sarımsak tozunun *Bacillus anthracis*'e karşı inhibisyon gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Stajner ve diğ., (2008) yapmış olduğu çalışmada *Allium ursinum* türünün soğan ve yaprak kısımlarının antioksidan özellikleri incelendiğinde en yüksek antioksidan aktivite yapraklarda gözlenirken SOD antioksidant enzim aktivitesi soğan ekstraktlarında gözlenmiştir.

Najjaa ve diğ., (2011) yapmış olduğu çalışmada *Allium roseum* türünün soğan, yaprak ve çiçek kısımlarının üç çözücü kullanarak yaptığı ekstraktlarda çiçek ve yaprak kısımlarının metanolik ekstraktlarında daha güçlü antioksidan aktivitesi gösterdiğini saptamıştır.

Lazarevic ve diğ., (2010) *Allium sphaerocephalon* L. subsp. *sphaerocephalon* türünün antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Antioksidan aktivitesinin (160 000 ± 111 µmol) α-tokoferol asetata eşdeğer olarak bulunduğu antimikrobiyal aktivitesi için ise beş bakteri türüne (*P.aeruginosa*, *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* ve *S. abony*) ve iki mantar (*A. niger* ve *C. albicans*) türüne karşılık MIC yöntemiyle test edilmiş olup sonuç olarak MIC değerlerinin 0.08 and 0.63 mg ml⁻¹ arasında değiştiğini saptamıştır.

Stajner ve diğ., (2006) *Allium giganteum* türünün antioksidant özelliklerini araştırmışlardır. Çıkan sonuca göre en yüksek antioksidan aktivitenin taze yapraklarda olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar *A. stylosum*, *A. sibthorpiatum*, *A. decudum* subsp. *decudum* ve subsp. *retrosum* bitkilerinin çeşitli çözücülerle elde edilen ekstraktlarının, kolayca elde edilebilir bir doğal antioksidan kaynağı, muhtemel gıda katkı maddesi ve farmasotik ve eczacılıkta kullanılabilceğini göstermiştir. Antibakteriyal etkisi ise çok yüksek değildir. Ancak ekstraktların bu aktiviteleri sahip olduğu hangi bileşenlerden dolayı meydana geldiği belli değildir. Bu sebeble daha sonraki çalışmalarda bu bileşenlerin belirlenmesi ve aktivite çalışmalarının yapılması önerilmektedir.

Allium L. türünün içerdii kükürtlü bileşenlerinin aktivite çalışmalarına katkıda bulunduğunu yapılan çalışmalarla desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Adao, C. R., Silva, B. P., Parenta, J.,** 2011. A new steroidal saponin from *Allium ampeloprasum* var. *porrum* with antiinflammatory and gastroprotective effects, *Phytochemistry Letters* **4**: 306-310.
- Aksu, E., Erken, K., Kaya, E.,** 2002. İhracaatı Yapılan Doğal Çiçek Soğanları, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Yayın No: 44, Yalova.
- Akyüz, E.,** 2007. *Polygonum bistorta* ssp. *carneum* Bitki Ekstraktlarının Kromatografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan ve Antibakteriyal Aktiviteleri, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
- Alhan, C. C., Şan, M.,** 2002. Koroner kalp hastalığı tedavisinde anti-oksidanlar yararlı mı?, *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi* **15**: 203-213.
- Altınışık, M.,** 2000. Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar, ([Http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf](http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf)).
- Amin İ, Tan, SH.,** 2002. Antioxidant activity of selected commercial seaweeds, *Malays. J. Nutr.* **8**: 167-177.
- Amin, İ., Zamaliah, MM., Chin, WF.,** 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables, *Food Chem.*, **87**: 581–586.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Gümüşçü, A., İpek, A., Sarıhan, E.O., Özcan, S., Mirici, S., Parmaksız, I.,** 2002. *Sternbergia candida* Mathew Et T.Baytop Türünün Kültüre Alınması Üzerinde Araştırmalar. XIV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Özetleri: S11, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir.
- Baktır, İ., Karagüzel, Ö.,** 2004. Antalya Yöresinde Süs Bitkisi Olarak Kullanılabilecek Endemik *Allium* Türlerinin Kültüre Alınması Ve Çoğaltılabilmesi Üzerine Araştırmalar, Tübitak-Tarp-2538. Antalya.
- Başer, K.H., Koyuncu, M., Koşar, M.,** 1993. Türkiye’ de Yetişen Bazı *Allium* Türlerinin (Sect. *Allium*) Kükürtlü Bileşikleri Yönünden İncelenmesi, Tübitak Projesi, TBAG-1066, Eskişehir.
- Baytop, T.,** 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniv. Yay. No.3255. İstanbul.

- Benkeblia, N.**, 2004. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*), *Lebensm. Wiss. u. Technol.* **37**:263-268.
- Blois, M.S.**, 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**: 1199-1200.
- Boğa, M.**, 2007. Türkiye’de Yetişen *Vinca* Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.
- Bonaccorsi, P., Caristi, C., Gargiulli, C., Leuzzi, U.**, 2008. Flavonol glucosides in *Allium* species: A comparative study by means of HPLC–DAD–ESI–MS–MS. *Food Chemistry*, **107**: 1668–1673.
- Can, A., Özçelik, B., Güneş, G.**, 2005. Meyve ve sebzelerin antioksidan kapasiteleri, GAP IV. Tarım Kongresi Bildirileri, Cilt II, Şanlıurfa.
- Chehregani, A., Azimishad, F., Alizade, H.**, 2007. Study on Antibacterial Effect of Some *Allium* Species from Hamedan-Iran, *International Journal Of Agriculture & Biology*, 1560–853.
- Cowan., M. M.** 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinic Microbiol. Rev.*, 564-582.
- Çalışkan, E.**, 2007. İğde Çiçeği (*Elaeagnus angustifolia*) ve Kedi Nanesi (*Nepeta catoria*) Bitkilerinin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Çetik, R.**, 1973. *Vejetasyon Bilimi*, A.Ü.Fen Fak., Ülkemiz Matbaası, İzmir.
- Çoban, T.**, 2007. Türkiye’de Halk Arasında Kullanılan Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivite Potansiyellerinin Değerlendirilmesi, Ankara Üniversitesi, Tübitak Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu, 2005 08 03 001HPD
- Davis, P.H.**, 1978. *Flora of Turkey and The east Aegean Islands*, University Press, Edinburgh, Vol.6.
- Davis, P.H.**, 1984. *Flora of Turkey and the East Aegeon Islands*. Vol. **8**, Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.
- Dağdelen, Ş.**, 2010. Otlu Peynir Katılan Önemli Ot Türlerinin Antimikrobiyal, Antioksidan Etkileri, Aroma Profili ve Bazı Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Demirhan, E.**, 2001. *Şifalı Bitkiler*. Alfa Basım Yayın Dağıtım Ltd. Sti., İstanbul, 540p.

- Dimayuga, R. E., Garcia, S.K.**, 1991. Antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California Sur, Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, **31(2)** :181-192.
- Ekim, T., Koyuncu, M.**, 1992. Türkiye'den İhraç Edilen Çiçek Soğanları ve Koruma Önlemleri. II. Uluslararası Ekoloji ve Çevre Sorunları Sempozyumu Bildirileri, 42-47, Ankara.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Güner, M., Erik, S., Yıldız, B., Vural, M.**, 1992. Türkiye'nin Ekonomik Değer Taşıyan Geofitleri Üzerindeki Taksonomik ve Ekolojik Araştırmalar, Ankara.
- Erik, S., Tarıkahya, B.**, 2004. Türkiye Florası Üzerine. *Kebikeç*, **17**:139-163.
- Eryiğit, F.**, 2006. *Mentha pulegium* L. ve *Salvia tomentosa* Miller Bitkilerinin Metanol Özütlelerinin İn Vitro Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Isparta.
- Evren, M., Apan, M., Albayram, C.**, 2006. Sarımsağın Antimikrobiyel Özellikleri, Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Fossena, T., Slimestad, R., Andersena, Ø. M.**, 2003. Anthocyanins with 40-glucosidation from red onion, *Allium cepa*. *Phytochemistry* **64**:1367-1374.
- Gençaslan, G.**, 2007. Türkiye'de Tıbbi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Antioksidan Etkilerinin Taranması. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Ankara.
- Godevac, D., Vujisic, L., Mojovic, M., Ignjatovic, A., Spasojevic, I. ve Vajs, V.**, 2008. Evaluation of antioxidant capacity of *Allium ursinum* L. volatile oil and its effect on membrane fluidity. *Food Chemistry*, **107**:1692–1700.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T. ve Durmaz, Y.**, 2006. Algal Antioksidanlar, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, **23**: 85-89.
- Görünmezoğlu, Ö.**, 2008. Kayısı ve İncir Meyvelerinin Antioksidan Kapasitelerinin Araştırılması, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Işık, H. İ.**, 2006. Liliaceae ve Amaryllidaceae Familyasından Olan Bazı Geofit Bitki Türleri Üzerinde Fitokimyasal Çalışmalar, Muğla Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Muğla.
- Karaca, Z., Yaşar, A., Vural, E., Vural, C.**, 2007. Erciyes Dağı'nda (Kayseri) Doğal Olarak Yetişen Bazı Geofit Bitkilerin (Liliaceae, Iridaceae)

Polen Morfolojisi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, **23(1-2)** :37- 46.

- Karademir, S.E.**, 2005. Bazı Polifenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Koyuncu, M., Güvenç, A.**, 1994. Türkiye'nin Endemik *Allium* L.(Soğan) Türleri. Tübitak projesi, TBAG-1089. Ankara.
- Koyuncu, M.**, 1994. "Geofitler". Bilim ve Teknik Tübitak Yayınları Cilt 27, Sayı 321, Pro-Mat Basın Yayını, A.S. Ankara.
- Kyung, K.H.**, 2011. Antimicrobial properties of *Allium* species. Current Opinion in Biotechnology, **23**:1–6.
- Lazarevic J. S., Dordevi A. S., Zlatkovi'c, B. K., Radulovi'c, N.S., Pali'c, R.**, 2011. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Allium sphaerocephalon* L. subsp. *sphaerocephalon* (Liliaceae) inflorescences. J. Sci Food Agric, **91**: 322–329.
- Lu, X., Wang, J., Al-Qadiri, H. M., Ross, C. F., Powers, J. R., Tang, J., Rasco, B. A.**, 2011. Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy, Food Chemistry **129**: 637-644.
- Mladenovic, J. D., Maskovic, P. Z., Pavlovic, R. M., Radovanovic, B. C., Acamovic-Đokovic, G., Cvijovic, M. S.**, 2011. Antioxidant activity of ultrasonic extracts of leek *Allium porrum* L. Hem. Ind. **65 (4)**:473–477.
- Najjaa, H., Zerria, K., Fattouch S., Ammar, E., Neffati, M.**, 2011. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Allium roseum* L. "Lazoul," A Wild Edible Endemic Species in North Africa, International Journal of Food Properties, **14**:371–380.
- Özer, Z., Tursun, N., Önen, H.**, 2001. Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam. 4 Renk Yayın Tanıtım Matbaacılık, 253 s, Ankara
- Özkan, G.**, 2007. Türkiye'de Lamiaceae Familyasına ait Baharat veya Çeşni olarak Kullanılan Bazı Bitkilerin Fenolik Bileşenleri ile Antioksidan ve Antibakteriyal Etkilerinin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi. Konya.
- Öztürk, M.**, 2008. *Micromeria Ciliica* ve *M. Juliana* Türlerinde Antioksidan Bileşiklerin Hplc ile Analizi ve Yapılarının Aydınlatılması. İstanbul

Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi. İstanbul.

- Parvu, M., Toiub, A., Vlasec, L., Parvud, E. A.,** 2010. Determination of some polyphenolic compounds from *Allium* species by HPLC-UV-MS, *Natural Product Research*, **24(14)**:1318-1324.
- Prakash, D., Singh, B. N., Upadhyay, G.,** 2007. Antioxidant and free radical scavenging activities of phenols from onion (*Allium cepa*), *Food Chemistry*, **102**:1389-1393.
- Reinheimer, J. A., Demkow, M. R. and Condioti, M. C.,** 1990. Inhibition of Coliform Bacteria by Lactic Cultures. *The Aust. J. Dairy Technol.*, May. 5-9.
- Rice-Evans, C., Miller, A., Paganga, G.,** 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in Plant Science*, **2**: 152-159.
- Sang, S., Mao, S., Lao, A., Chen, Z., Ho, C. T.,** 2003. New steroid saponins from the seeds of *Allium tuberosum* L, *Food Chemistry*, **83**:499-506.
- Santas, J., Almajano, M. P., Carbo, R.,** 2010. Antimicrobial and antioxidant activity of crude onion (*Allium cepa* L.) extracts, *International Journal of Food Science and Technology*, **45**:403-409.
- Sasaki, J. and Kita, J.** 2003. Bacteriocidal Activity of Garlic Powder against *Bacillus anthracis*, *J. Nutr. Sci. Vitaminol*, **49** : 297-299.
- Satıl, F., Akan, H.,** 2006. Liliaceae Familyasından Bazı Endemik ve Nadir Geofitler Üzerinde Anatomik Araştırmalar, *Ekoloji* **58**: 21-27.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E.,** 1998. Tohumlu Bitkiler Sistematığı. Ege Üniv. Fen Fak. Yayınları, No:116, Ege Üniv. Basımevi, Bornova, İzmir.
- Seçmen, Ö.,** 2004. Türkiye Florası, E.Ü. Fen Fakültesi, Baskı İşleri, Bornova-İzmir, 51p.
- Selvi, S., Erdoğan E., Daşkın, R.,** 2008. *Hyacinthella lineata* (Liliaceae) Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Ekolojik Araştırmalar, *Ekoloji*, **68 (17)**:24-32.
- Shahidi, F.,** 1996. *Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects and Applications.* AOCS Press, Champaign, Illinois, 0-935315-77-2.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A.,** 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**: 144-158.

- Stajner, D., Milic-Demarino, N., Canadanovic-Brunet, J., Stajner, M., Popovic, B.M.,** 2006. Screening for antioxidant properties of *Allium giganteum*. *Fitoterapia*, **77**:268–270.
- Stajner, D., Popovic, B.M., Canadanovic-Brunet, J., Stajner, M.,** 2008. Antioxidant and scavenger activities of *Allium ursinum*, *Fitoterapia*, **79**:303-305.
- Tekeli, Y.,** 2008. Konya Bölgesindeki Bazı *Centaurea* Türlerinin Bazı Kimyasal ve Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Konya.
- Temiz, A.,** 2000. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatipoğlu Yay., Ankara.
- Tepe, B., Sökmen, M., Akpulat, A., Sökmen, A.,** 2005. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey, *Food Chemistry*, **92**:89–92.
- Tunaher, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K.H., Duman, H., Kırimer, N.,** 2002. Bazı *Sideritis* Türlerinin Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir.
- Uysal, İ.,** 1999. Morphological, Anatomical and Ecological studies on the two Turkish endemic species collected from Kaz Dağı (B1 Balıkesir) “*Allium sibthorpiatum* Schultes & Schultes fil. and *Allium reuterianum* Boiss., *Tr. J. of Botany*, **23**:137-148.
- Wettasinghe, M., Shahidi F.,** 1999. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago□cinalis* L.) seeds. *Food Chemistry*, **67**: 399-414.
- Wu, C., Chen, F., Wang, X., Kim, H., He, G., Haley-zitln, V., Huang, G.,** 2006. Antioxidant constituents in fewerfew (*Tanacetum parthenium*) extract and their chromatographic quantification. *Food Chemistry*, **96**: 220–227.
- Wu, H., Dushenkov, S., Ho, C. T. Sang, S.,** 2009. Novel acetylated flavonoid glycosides from the leaves of *Allium ursinum*. *Food Chemistry*, **115**:592-595.
- Yaltırık, F., Efe, A.,** 1989. Otsu Bitkiler Sistematığı, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yayınları, Yayın no:3568, 512p, Dilek Matbaası, İstanbul.
- Yıldız, L.,** 2007. Bazı Bitki Örneklerinde Antioksidan Kapasitenin Spektrofotometrik ve Kromatografik Tayini. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad : Çiğdem AYDIN

Doğum Yeri ve Tarihi : Denizli- 09.04.1986

Adres : Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü/Denizli

Lisans Üniversite : Pamukkale Üniversitesi

Yayın Listesi:

(2010) *Urginea Maritima* (L.) Baker İn J. Türünün Ekstraksiyonları Üzerinde Bazı Araştırmalar. 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, Denizli.

(2011) Antioxidant And DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Free Radical Scavenging Activities Of *Allium Sibthorpiatum* Schultes & Schultes Fil Extracts. Faydalı Bitkilerden İstifadenin Aktual Problemleri Kongresi. Azerbaycan/Bakü.

(2011) *Allium stylosum* O. Schwarz Antioksidan ve Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi Belirlenmesi. ISSMET-First International Symposium on Secondary Metabolites: Chemical, Biological and Biotechnological Properties. Denizli.

(2012) *Allium stylosum* Endemik Türünün Antioksidan Aktivitesi ve Toplam Fenolik Bileşen Miktarının Belirlenmesi” XV. Uluslararası Bilimsel-Uygulamalı Konferansı. Belarus Cumhuriyeti, Grodno Agrar Üniversitesi. Grodno/BELARUS.