

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Gypsophila eriocalyx* Boiss. ve *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var.  
*sphaerocephala* TAKSONLARININ ANTİOKSİDAN ve ANTİBAKTERİYEL  
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
İbrahim Gani ÇONA**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Yrd.Doç.Dr. Mehmet ÇİÇEK**

**HAZİRAN 2012**

## YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 081461005 nolu öğrencisi İbrahim Gani ÇONA tarafından hazırlanan “*Gypsophila eriocalyx* Boiss. ve *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala* TAKSONLARININ ANTİOKSİDAN ve ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÇİÇEK

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ali ÇELİK  
(II. Danışman)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Olcay DÜŞEN

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Emine Nur HERKEN

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 04/07/2012 tarih ve 17/...12..... 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.

İmza

:



Öğrenci Adı Soyadı : İbrahim Gani ÇONA

## ÖNSÖZ

Yüksek lıasns tez çalışmamda görüş ve önerileriyle yardımcı olan danışman hocam Yrd.Doç.Dr. Mehmet ÇİÇEK'e, bilimsel hayatımın devam etmesinde bana önderlik eden her çalışmamda desteğini esirgemeyen engin bilgileriyle beni yönlendiren her konuda yardımını gördüğüm değerli Botanik Anabilim Dalı Başkanı II. danışman hocam Prof.Dr. Ali ÇELİK'e, bakteriyel materyali temin ettiğimiz Prof.Dr. Nevzat ŞAHİN'e, çalışmama katkılarından ve yardımlarından dolayı Yrd.Doç.Dr. Emine Nur HERKEN'e, laboratuvarlarını bize açan Doç.Dr. Kutret GEZER, Prof.Dr. Ramazan MAMMADOV ve Yrd.Doç.Dr. Ramazan DONAT'a, arazi çalışmalarımda beni yalnız bırakmayan değerli arkadaşlarım Oğuzhan KAYGUSUZ, Ahmet ERMİŞ ve Uğur SOYLU'ya, Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden desteğini gördüğüm hocalarıma teşekkürlerimi sunuyorum. Son olarak tüm öğrenim hayatım boyunca beni her zaman destekleyen, maddi ve manevi imkânlarını esirgemeyen kıymetli babam Mehmet ÇONA'ya ve kıymetli annem Hacer ÇONA'ya sabırlarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Mayıs 2012

İbrahim Gani ÇONA

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

<b>ÖZET .....</b>	<b>xi</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>xii</b>
<b>1.GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1 Tezin Amacı.....	4
1.2 Literatür Özeti.....	5
1.3 Hipotez.....	9
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>11</b>
2.1 Antioksidanlar.....	12
2.1.1 Diyetset antioksidanlar .....	15
2.2 Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri.....	18
2.2.1 Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar .....	20
2.2.1.1 Otooksidasyon.....	20
2.2.1.2 Geçiş metal iyonlarının etkisi.....	22
2.2.1.3 Fotooksidasyon.....	23
2.2.1.4 Enzimatik oksidasyonlar .....	24
2.2.1.5 Ksantin oksidaz (XOD) .....	24
2.2.1.6 NADPH oksidaz .....	25
2.2.1.7 Nötrofil miyeloperoksidaz (MPO) .....	25
2.2.1.8 Halojenlenmiş hidrokarbonlar.....	25
2.2.2 Enzimatik ve peptit savunma sistemleri.....	26
2.2.2.1 Katalaz ve peroksidaz .....	26
2.2.2.2. Glutatyon ve glutatyon peroksidaz (GSHPx).....	27
2.3 Fenolik Bileşikler .....	27
2.4 Fenolik Bileşiklerin Kimyasal Yapıları.....	28
2.4.1 Fenolik asitler .....	28
2.4.2 Flavonoidler .....	29
2.4.2.1 Antosiyanidinler .....	30
2.4.2.2 Flavonlar ve flavonollar .....	31
2.4.2.3 Flavanonlar.....	31
2.4.2.4 Kateşinler ve löykoantosiyanidinler .....	32
2.4.2.5 Proantosiyanidinler.....	32
2.5 Beslenmenin Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkisi .....	35
2.6 Bitkilerin Antibakteriyel Ajan Olarak Kullanımı .....	36
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>37</b>
3.1. Materyal.....	37
3.1.1. <i>Gypsophila</i> L. cinsinin genel özellikleri .....	37
3.1.2. <i>Gypsophila eriocalyx</i> Boiss.'in morfolojik tanımı .....	38
3.1.3. <i>Gypsophila sphaerocephala</i> Fenzl. ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i> 'nın morfolojik tanımı .....	39
3.1.4 Antibakteriyel aktivite çalışmasında kullanılan bakteriler .....	40
3.2 Yöntem .....	40
3.2.1 Bitkisel materyalin toplanması.....	40

3.2.1.1 <i>Gypsophila sphaerocephala</i> Fenzl ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i> 'nın toplanması.....	40
3.2.1.2 <i>Gypsophila eriocalyx</i> Boiss'in toplanması.....	42
3.2.2 Bitkisel materyalin ekstraksiyon işlemine hazırlanması.....	45
3.2.3 Bitkisel materyalin ekstraksiyon işlemi.....	47
3.2.4 Toplam fenolik bileşik ve antioksidan kapasite tayini.....	50
3.2.4.1 Toplam fenolik bileşik.....	50
3.2.4.2 Antioksidan kapasite tayini.....	51
3.2.4.3 Troloks eşiti antioksidan kapasite (TEAC) yöntemi.....	51
3.2.5 Bitkisel örneklerin antibakteriyel aktiviteleri.....	52
3.2.5.1 Bakterilerin aktifleştirilmesi.....	53
3.2.5.2 Besi yerlerinin hazırlanması.....	53
3.2.5.3 Bakterilerin besi yerine inokulasyonları.....	53
3.2.5.4 Bitki ekstratlarının petri kaplarına yerleştirilmesi.....	54
3.2.5.5 İnhibisyon zonlarının ölçülmesi.....	55
<b>4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA .....</b>	<b>56</b>
4.1 Sonuçlar.....	56
4.1.1 Toplam fenolik bileşik.....	56
4.1.2 Antioksidan kapasite tayini.....	56
4.1.3 Antibakteriyel aktivite sonuçları.....	58
4.2 Tartışma.....	61
<b>5. KAYNAKLAR.....</b>	<b>66</b>

## KISALTMALAR

<b>ABTS</b>	: [(2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline- sulfonic acid)]
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>RNS</b>	: Reaktif Nitrojen Türleri
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>NAD</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotit
<b>PUFA</b>	: Çoklu doymamış yağ asitleri
<b>Vit</b>	: Vitamin
<b>G.</b>	: <i>Gypsophila</i>
<b>G(+)</b>	: Gram pozitif bakteriler
<b>G(-)</b>	: Gram negatif bakteriler
<b>BHT</b>	: Bütillenmiş Hidroksitoluen
<b>BHA</b>	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>Azm</b>	: Azitromisin
<b>P10</b>	: Penisilin
<b>M</b>	: Molar

## TABLO LİSTESİ

### Tablolar

1.1: Bazı <i>Gypsophila</i> üyelerinin kimyasal analizleri.....	3
2.1: Başlıca reaktif oksijen türlerinin sınıflandırılması .....	19
2.2: Reaktif oksijen türlerinin kaynakları .....	20
2.3: İnsanların en çok tükettikleri bitkisel fenolik antioksidan kaynakları.....	34
3.1: Çalışılan <i>Gypsophila</i> taksonlarına ait lokalite bilgileri.....	38
3.2: Çalışmada kullanılan bakteriler .....	40
4.1: Çalışılan <i>Gypsophila</i> taksonlarının toplam fenol miktarları .....	56
4.2: Çalışılan <i>Gypsophila</i> taksonlarının toplam antioksidan kapasitesi.....	57
4.3: Bazı bitkilerin ABTS metodu ile toplam antioksidan aktivite (Trolox şdeğerliliği) sonuçları .....	57
4.4: Bitkisel ekstratların bakteri inhibisyon zonları .....	61



## ŞEKİL LİSTESİ

### Şekiller

2.1: Fenolik asitlerin yapısı a) benzoik asit türevleri b) sinamik asit türevleri.....	29
2.2: Flavonoidlerin genel yapısı .....	30
2.3: Antosiyanidinler ve antosiyanin pigmentlerinin yapısı .....	30
2.4: Flavonollar ve flavonların kimyasal yapıları .....	31
2.5: Flavanon.....	31
2.6: Yaygın olarak bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları .....	32
2.7: Protosiyonidinlerin kimyasal yapısı .....	33
3.1: <i>G. sphaerocephala</i> Fenzl ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i> 'nın doğal görünüşü .....	41
3.2: <i>G. sphaerocephala</i> Fenzl ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i> 'nın çiçeği .....	41
3.3: <i>G. sphaerocephala</i> Fenzl ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i> 'nın toprak altı kısımları .....	42
3.4: Toplanan <i>G. eriocalyx</i> Boiss. bitkisinin toprak altı kısımları.....	43
3.5: Çorum-Yozgat çöveninin enine kesitinin şeması.....	44
3.6: Bitkinin toprak altı kısımlarının küçük parçalara ayrılmış hali.....	46
3.7: Küçük parçalara ayrılan kurumuş bitki köklerinin toz haline getirilmesi .....	46
3.8: a) <i>Gypsophila eriocalyx</i> Boiss' ve b) <i>Gypsophila sphaerocephala</i> Fenzl ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i> 'nın öğütülmüş hali .....	47
3.9: Sokslet cihazı ile bitkisel materyalin ekstraksiyon işlemi .....	48
3.10: Sokslet cihazı ile elde edilen ekstraksiyon sıvısı.....	49
3.11: Bitkisel ekstraksiyonların evaporatörde kloroformdan uzaklaştırılması .....	50
3.12: Potasyum persülfat oksidasyonu ile ABST <sup>2-</sup> 'den oksidan ABST <sup>-</sup> 'nin meydana gelmesi .....	52
3.13: Ekstartlara emdirilen disklerin yerleştirildiği petri kapları.....	54
4.1: Çalışılan <i>Gypsophila</i> taksonlarının toplam fenol ve antioksidan kapasite rafığı.....	58
4.2: <i>Bacillus pumilis</i> ve <i>Bacillus cereus</i> 'un antibiyotik inhibisyon zonları.....	58
4.3: <i>E. coli</i> ve <i>Staphylococcus aureus</i> 'un antibiyotik inhibisyon zonları.....	59
4.4: <i>G. eriocalyx</i> 'in <i>Bacillus licheniformis</i> 'e (solda) ve <i>G. sphaerocephala</i> Fenzl. ex Tchihat. var. <i>sphaerocephala</i> 'nın <i>E. coli</i> 'ye(sağda) etkisi.....	59
4.5: <i>G. sphaerocephala</i> Fenzl. ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i> 'nın <i>Enterobacter aerogenes</i> bakterisine etkisi .....	60
4.6: <i>G. sphaerocephala</i> Fenzl. ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i> 'nın <i>Bacillus pumilis</i> bakterisine etkisi .....	60

## ÖZET

### ***Gypsophila eriocalyx* Boiss. ve *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala* TAKSONLARININ ANTIOKSİDAN ve ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Ülkemizde Caryophyllaceae familyasının *Silene* (131 tür) ve *Dianthus*'tan (69 tür) sonra 3. büyük cinsi *Gypsophila*'dır. Türkiye Florası'nda *Gypsophila* 10 seksiyon içerisinde 33'ü endemik 56 tür ile tanımlanmaktadır. *Gypsophila* türleri saponin içerdiği bakımından iyi bilinen bitkilerdir ve *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala* ve endemik olan *Gypsophila eriocalyx* Boiss. *Gypsophila* cinsine ait iki taksondur. Tıbbi bitkiler dünyanın birçok ülkesinde çeşitli kültürlerde halk hekimliğinde kullanım alanına sahiptir. Birçok araştırma da göstermiştir ki antioksidanlar, metabolizmamızda serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek hücrelerin zarar görmesini önlerler. *Gypsophila* cinsine ait bitkiler içerdikleri fitokimyasal maddeler nedeniyle kimya sanayide olduğu kadar tıp alanında da kullanıma elverişli bitkilerdir. Bundan dolayı *Gypsophila* cinslerinde çalışılmayı bekleyen *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala* ve *G. eriocalyx* Boiss. lokalitesi belirtilen yerlerden toplandı ve toprak altı kısımlarının kloroform ile ekstraksiyonları yapıldıktan sonra total antioksidan kapasiteleri Trolox eşdeğerliliğine göre ABTS [2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-sulfonic acid)] yöntemi ile ve total fenolik miktarı Folin-Ciocalteu kullanarak gallik asit eşdeğerliliğine göre belirlendi. Ayrıca bu bitkilerin içerdiği bileşiklerden dolayı, 10 farklı bakteri üzerinde antibakteriyel özelliklerine de bakılmıştır.

**Anahtar kelimeler** *Gypsophila*, *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala*, *G. eriocalyx* Boiss., Antioksidan Aktivite, Antibakteriyel Aktivite, Toplam Fenolik Madde

## SUMMARY

### **DETERMINATION of ANTIOXIDANT and ANTIBACTERIAL ACTIVITIES of *Gypsophila eriocalyx* Boiss. and *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala* Boiss. TAXA.**

*Gypsophila* is the 3<sup>th</sup> biggest genus in family of Caryophyllaceae to Turkey. *Gypsophila* is determined with 10 section and it consists of 56 species, of which 33 are endemic to Turkey in Flora of Turkey. *Gypsophila* species are well known due to the fact that they contain saponin chemicals *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala*, and *Gypsophila eriocalyx* Boiss. which be endemic to Turkey are two taxa from *Gypsophila* genera. Plants such as herbs have been used in folk medicine for centuries in most of the cultures throughout the world. Many researches bring up that antioxidants prevent cell-damage neutralizing free radicals. *Gypsophila* species are suitable plants which they have been used by not only chemical industry also medicine. Therefore, *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala* and *G. eriocalyx* Boiss. are two taxa for studying. These plants were gathered from specified localities. Total antioxidant capacities of samples were determined with ABTS [2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline- sulfonic acid)] method in terms of Trolox equivalent. Total fenolic contents were determined with Folin-Ciocalteu reagent in terms of gallic acid equivalent after extraction was obtained with chloroform from their underground parts. Also, the antibacterial activities of these taxa collected from Denizli and Çankırı were evaluated against 10 bacteria because of their phytochemical contents.

**Key words:** *Gypsophila*, *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala*, *G. eriocalyx* Boiss., Antioxidant Activity, Antibacterial Activity, Total Phenolic Compounds

## 1.GİRİŞ

Türkiye, coğrafik konumunun yanı sıra bitki çeşitliliği açısından da bulunduğu coğrafyada dikkati çeken ülkelerin başında gelmektedir. Türkiye 8988'i doğal olmak üzere 9222 iletim demetli bitki türüne sahiptir (Güner ve diğ., 2000). Türkiye'nin floristik anlamda bu olağanüstü zenginlik ve çeşitliliğin sebeplerini farklı iklim tiplerine, jeolojik ve jeomorfolojik çeşitliliğe, değişik habitat tiplerine, Anadolu'nun doğusu ile batısı arasındaki ekolojik farklılıklara sahip olmasına ve üç farklı bitki coğrafyası bölgesinin (Avrupa-Sibirya, Akdeniz, İran-Turan) kesişim noktasında yer almasına bağlayabiliriz.

Caryophyllaceae (Karanfilgiller), esasen Kuzey Yarımküre'nin sıcak ve ılıman bölgeleri ile Akdeniz Bölgesi ve Güney Yarımküre'nin tropik dağlarında, 86 cinse ait yaklaşık 2200 türlü geniş ve kozmopolit yayılış gösteren bir familyadır (Bittrich ve diğ., 1993). Türkiye Florası'nda Caryophyllaceae familyası 35 cins ve 470 tür ile temsil edilmektedir. Ülkemizde Caryophyllaceae familyasının *Silene* (131 tür) ve *Dianthus*'tan (69 tür) sonra 3. büyük cinsi *Gypsophila*'dır (Korkmaz, 2006; Davis,1967).

Türkiye Florası'nda *Gypsophila* cinsi, 10 seksiyon içerisinde 56 tür ile temsil edilmektedir (Huber-Morath, 1967; Davis ve diğ., 1988; Ataşlar ve Ocak, 2005; Hamzaoğlu, 2012). 33'u endemik olan bu taksonların çoğu tip lokalitesinden bilinir (Korkmaz, 2006; Davis,1967; Güner ve diğ., 2000). "*Gypsophila*" adı, üyelerinin jips "gyps" içeren kalsiyumca zengin topraklarda yayılış göstermesinden dolayı verilmiştir.

Halk arasında "Çöğen", "Çöven", "Çuvan" ve "Çöven otu" "Helva kökü", "Tarla çöveni", "Helva çöveni", "Sabunotu", "Şark çöveni" olarak adlandırılan *Gypsophila*'dan çok değişik şekillerde yararlanılmaktadır. *Gypsophila* türleri saponin maddelerini içermesi bakımından iyi bilinen bitkilerdir. Bu nedenden dolayı çeşitli endüstriyel alanlarda da kullanılmaktadır (Acebes ve diğ., 1998). Kökleri toplanan narin gövdeli bitkilerden elde edilen madde, gevreklik kazandırması amacıyla

helvaya katılmaktadır. Yine çoğu türlerinin köklerinden sabun ve likör yapımında kullanıldığı da bilinmektedir. Doğu Anadolu bölgesinde yerli halk tarafından bu kökler yerli bir gıda çeşidi olan otlu peynirin hazırlanmasında da kullanılmaktadır (Özçelik ve Özgökçe, 1995). Bütün bunların yanı sıra çoğu *Gypsophila* türünün kültürü yapılmakta ve çiçekçilerde bolca satılan önemli süs bitkileri arasında yaygın olarak görülmektedir (Huber-Morath, 1967). Doğal *Gypsophila* türlerinin kültüre alınması, çiçekçilik potansiyellerinin araştırılması ve üretilmeleri üzerine yapılan araştırmaların giderek artması beklenmektedir. Bu doğrultuda çalışmalar yapan Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü elemanlarınca çok yıllıkların yanı sıra tek yıllık türlerden bazılarını da kültüre alma çalışmaları bir proje kapsamında yürütülmektedir (Özçelik ve Korkmaz, 2011).

Isparta yöresinden İsrail'e satılan çok yıllık çövenlerin rizomları yangın söndürücü imalatında kullanılmaktadır. Yörede Çevgen, Helva Kökü, Helva Çöveni, Şark Çöveni ve Tarla Çöveni gibi değişik adlarla bilinen *Gypsophila* üyeleri (Özellikle Beyşehir-Isparta çöveni olarak bilinen *G. perfoliata*) son zamanlarda dikkatleri üzerine çeken popüler bir kültür bitkisi olarak görünmektedir. Ayrıca gevreklik ve hoş koku vermesinden dolayı helva ve dondurma yapımında lezzetlendirici ve ağdayı ağartıcı olarak kullanılmaktadır. Her yıl Almanya, Mısır ve Yunanistan gibi ülkelere 200-250 ton çöven ihraç edilmektedir ve 1993 ihracat verilerine göre yılda 267.4 ton olan ihracat payına sahiptir (Anonim, 1993; Sezik, 1982).

*Gypsophila* taksonları saponin içermesinden dolayı iyi köpürme özelliğine sahiptir. Bu nedenle sabun, yangın söndürücü ve deterjan üretimlerinde kullanılmaktadır. Bunun yanında hemolitik aktiviteye sahip oldukları da bilinmektedir. Tablo 1.1'de bazı *Gypsophila* taksonlarının köpürme ve hemoliz indeksleri ile ham saponozit yüzdeleri verilmiştir. Köklerin kaynatılmasıyla elde edilen ılık su ipekli ve narin kumaşların temizlenmesinde kullanılmaktadır. İlaç yapımında ve altın ağartmada da kullanıldığı belirtilmektedir (Anonim, 2006).

Türkiye, endemik bitkilerinin zenginliği bakımından dünyanın önemli ülkelerinden birisidir. Türkiye'deki endemik bitkiler, belirli dağ ve dağ silsilelerine lokalize oldukları gibi, daha geniş yayılışlı endemikler de vardır (Erik ve Tarıkahya, 2004). Belirli bir dağ veya silsile için endemik bitkiler açısından en zengin yer, bizim de bazı *Gypsophila* cinsine ait türlerini ve diğer birçok flora üyesini gözleme şansını bulduğumuz, yaklaşık 250 endemik bitkiye habitat sağlayan Amanos Dağları'dır.

Çalışma konumuzda yer verdiğimiz *G. eriocalyx* Boiss. *Gypsophila* cinsine ait endemik bir türdür.

Tablo1.1: Bazı *Gypsophila* üyelerinin kimyasal analizleri. (Çağlayanlar, 2006)

Takson	Hemoliz indeksi.	Köpürme indeksi.	Ham saponozit (%).
<i>G. bicolar</i>	6.667-6.925	9.000-10.000	20-25
<i>G. arrostii</i> var. <i>nebulosa</i>	5.295-6.667	9.600-10.034	19-22
<i>G. perfoliata</i> var. <i>anatolica</i>	9.778-10.000	4.650-5.000	15-19
<i>G. eriocalyx</i>	3.385-3.659	1.800-2.000	10-14

Bitkilerin tedavi amaçla kullanılmaları çok eski yıllardan beri süregelmektedir. Dünya ülkelerinde olduğu gibi birçok bitki içerdiği kimyasal maddeler bakımından, hastalıkların tedavi edilmesinde önemli rol oynamaktadır. Ülkemizde de deneme yanılma yöntemiyle bulunmuş halk arasında şifalı bitkiler olarak bilinen birçok bitki hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu yüzden günümüzde birçok bilim adamı, bitkilerin yapısında bulunan bitkisel antioksidanları, sekonder metabolitleri ve diğer kimyasal maddeleri araştırmaktadır.

Dünya sağlık teşkilatı (WHO)'nın 91 ülke üzerinde yaptığı araştırmaya göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20.000 civarındadır. Bunlardan 500 kadarının üretiminin yapıldığı kaydedilmektedir. Ayrıca değişik amaçlarla kullanılan bitkilerin çok azı farmokopilerde (Kodeks) kayıtlıdır. Örneğin Türk kodeksinde kayıtlı bitki sayısı 140 civarındadır. Halbuki halk arasında tıbbi amaçla kullanılan bitki sayısı çok fazladır (Kalaycıoğlu ve Öner, 1994).

Birçok bitki içerdiği doğal antioksidanlar sayesinde vücudu serbest radikallerin olası zararlarına karşı koruyucu etkiye sahiptir. Organizmada serbest radikaller gerek normal metabolik faaliyetlerin bir yan ürünü olarak, gerekse radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasalların etkisi ile oluşur. Oluşan bu Serbest radikaller hücrel hasarlara neden olarak hücrenin ölümüne sebebiyet verir. Antioksidanlar vücudumuzda doğal veya dış faktörlerin tetiklemeyle oluşan bu serbest radikallere karşı savunma mekanizmasını üstlenmiştir. (Kazanç, 1997).

Günümüzde antioksidanlar ile ilgili çalışmalar çok önem görmektedir ve birçok bitki içerdiği bileşikler sayesinde önemli düzeyde antioksidan aktiviteye sahiptir (Abascal ve Yarnell, 2002). Çeşitli bitkilerle ilgili antioksidan aktivite çalışmaları mevcuttur

fakat çalışmada kullandığımız bu iki taksonun toprak altı kısımları ile ilgili herhangi bir antioksidan aktivite çalışmasına yapılan literatür taramalarında rastlanmamıştır.

Birçoğu insanlarda denenmiş olan fitokimyasalların kullanılmakta olan ilaç bileşimlerinde yer alma olasılığının yüksek olması antimikrobiyal bitki özütleri konusuna ilginin artmasına neden olmuştur. Bilinen tüm antibiyotiklere direnç geliştirmekte olan bakterilerde, ilaç dirençliliği artmakta ve yayılmaktadır. Bu nedenle ilaçlara alternatif olarak tıbbi bitkilerin kullanılması önerilmektedir ve bazı geleneksel bitkiler antimikrobiyaller olarak kullanılmaktadır. Ortalama olarak her yıl mikroorganizma kaynaklı olarak iki ya da üç antibiyotik etkisiz hale gelmektedir. Ayrıca geleneksel antibiyotiklerin reçetesiz ve yanlış kullanımından kaynaklanan problemler insanlar tarafından artık idrak edilmektedir. Bu nedenle, bitkisel katkılar ve doğal yiyecek kaynakları açısından çoklu bitki karışımları geçerli hale gelmekte ve bunlarla tedavi yaygınlaşmaktadır (Abascal ve Yarnell, 2002). Bu nedenle örneklerimizde toplam antioksidan ve fenolik kapasitesinin yanında antibakteriyel aktivite de çalışıldı.

## 1.1 Tezin Amacı

Bu çalışmada, Caryophyllaceae (Karanfilgiller) familyasından *Gypsophila* cinsine ait *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala* ve *Gypsophila eriocalyx* Boiss. taksonlarının toprak altı kısımlarından elde edilen ekstraktlardan, toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik içerik ve antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi amaçlanmıştır. *Gypsophila* cinsine ait taksonlar; tıp, ilaç sektörü, gıda, kozmetik ve kimya sanayi gibi endüstriyel ve sağlık alanlarında kullanım alanı çok geniş ve ekonomik değeri yüksek olan bitkilerdir. *Gypsophila sphaerocephala* var. Fenzl ex Tchich. *sphaerocephala* ve *Gypsophila eriocalyx* Boiss. de bu bitkiler içerisinde yer alan çalışılmaya bekleyen iki taksondur. Bu taksonların toplam antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik madde miktarları ve antibakteriyel özellikleri belirlenerek bilim dünyasına yeni bilgiler kazandırılması, ekonomik alanda kullanımının bilimsel bilgilerle ve deneylerle desteklenmesi amaçlanmaktadır. Tıbbi bitkiler arasında önemli bir yeri olan ve halk hekimliğinde de kullanılan bazı *Gypsophila* türlerinin insan kolon kanseri ve gastrik kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Bai ve diğ., 2007). Organizmada, oksijen kullanımını sırasında eşlenmemiş elektron içeren serbest radikaller adı verilen atom

veya moleküller oluşur. Bu moleküller hayati öneme sahip hücre elemanlarından elektron alarak eşlenir, böylece hücre zarı ve hücre yapısını bozar. Antioksidanlar hücre koruyucu tedavi sağlamakta ve dejeneratif hastalıklardan korunmada önemlidir. Ayrıca bakterilerin antibiyotiğe karşı geliştirdikleri dirence alternatif olarak bu bitkilerin antibakteriyel özelliklerinin çalışılması da amaçlanmıştır. Bu nedenlerden dolayı çalışma konumuzu oluşturan ve yapılan literatür taramalarında daha önce toprak altı kısımlarında antioksidan çalışmalarına rastlanmayan, *Gypsophila sphaerocephala* var. Fenzl ex Tchich. *sphaerocephala* ve *Gypsophila eriocalyx* Boiss.'in toplam antioksidan aktivitelerinin ve toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi büyük önem arz etmektedir. Bu çalışmayla bilim dünyasına yeni değerli bilgiler kazandırılacaktır. Yapılacak bu çalışma ile literatüre katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

## 1.2 Literatür Özeti

Sezik ve diğ. (1983b), antifungal etkiye sahip *Gypsophila* türlerini, miselyum meydana getirilerek çoğalan çeşitli mantarlara (*Alternari solani*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*, *Fusarium oxysporum* ve *Candida albicans*) karşı kullanmışlardır. Araştırmaları sonucunda; *Gypsophila arrostii*' den elde edilen ham saponozitin miselyum meydana getirilerek üreyen funguslara karşı yüksek konsantrasyonlarda, *G. albicans*'ın 100-200 mg/ml konsantrasyonlarından daha yüksek konsantrasyonlarda *G. eriocalyx* ham saponozitinin araştırmada kullanılan fungusların 3/8'ine, *G. perfoliata* ham saponozitinin ise 1/8'ine antifungal etki gösterdiğini belirmişlerdir.

Sezik ve diğ. (1983a), çeşitli virüslere karşı (*Poliovirüs* tip-1, *Herpes simplex* tip-1 ve tip-2, *Vesicular stomatitis*, *Influenza A2* ve *Parainfluenza* tip-1) *Gypsophila* türlerinin antiviral etkisini araştırmışlardır. *G. arrostii* var. *nebulosa*, *G. bicolor*, *G. perfoliata* ve *G. eriocalyx* türleri *V. stomatitis* virüsü üzerine etkili olurken, *Parafainfluenza* tip-1 virüsüne karşı etkili olmadığını ve *G. bicolor* türünün anılan son virüs hariç bütün virüslere karşı etkili olduğunu saptamışlardır.

Baytop (1983), çöven kökünün Anadolu'da muhtelif *Gypsophila* türlerinden elde edildiği için, ticarete kullanılan köklerdeki saponin miktarının % 5- 20 arasında değişim gösterdiğini, drog kalitesi hakkında bir fikir elde etmek için köklerde köpürme indeksinin 12.000 ile 14.000 arasında olması gerektiğini bildirmiştir.



Köklerdeki saponini elde etmek için petrol eteri ile yağ ve reçinelerinden kurtarılmış olan köklerin kaynar metanol ile tüketilip, ayrılan kısmın yoğunlaştırılıp soğutulması gerektiğini ve daha sonra çöken saponinin süzülerek, kurutulması gerektiğinin üzerinde durmuşlardır.

Sezik ve diğ. (1986), ‘‘Türk Çöveni’’ olarak kullanılan 4 ayrı *Gypsophila* türü bulunduğunu, bunlardan *G. bicolor* (Van Çöveni)'da % 20-25, *G. arrostii* var. *nebulosa* (Konya, Beysehir, Isparta Çöveni)'da %19- 22, *G. eriocalyx* (Çorum-Yozgat Çöveni) de %10-14 ve *G. perfoliata* var. *anatolica* (Niğde Çöveni)'da % 15-19 arasında saponin bulunduğunu yapılan çalışmalar sonunda belirtmişlerdir.

Anonim (1987), çöven köklerinin ilkbahar son yağmurlarından sonra, bitkinin meyveye geçme zamanına kadar (Mayıs- Temmuz ayları arasında) toplandığı, bulunduğu bölgelerde yöre halkının ekonomik olarak kullanılan türleri çok iyi bir şekilde teşhis ettiği bulunmuştur. Çövendeki saponin oranının % 15- 25 arasında, hemoliz indeksinin 3.380- 10.000, köpürme indeksinin de 1.800- 10.030 arasında değişim gösterdiği, hemoliz ve köpürme indeksinin sanayide, köpürme indeksinin ise gıda sanayinde önemli olduğunu ve kalite tespitinde bu değerlere bakıldığı belirtilmektedir.

Baylan (1990), tahin helvası üretiminde, özellikle zamanla yağ sızdırmasını önlemek amacıyla, bir katkı maddesi olarak her zaman çöven kökü ekstraktı kullanılmasına bağlı olarak, bu gıdaların bileşiminde saponin bulunduğunu, helva üreticilerinden aldıkları çöven suyu örneklerinde, ekstraktın % 0.56- 1.62 oranında saponin içerdiğini tespit etmiştir.

Çevrimli (1990), piyasada kullanılan alkil ve aril sülfanat tipi deterjanların çevre kirliliğine ve insan sağlığına olan olumsuz etkileri nedeniyle, çövende (*Gypsophila arrostii*) bulunan saponinin, deterjan yüzey aktif maddesi olarak kullanılmasının daha yararlı olacağını, bitkinin içerdiği saponinin çok rahat bir şekilde yüzey aktif maddesi olarak hem yangın söndürücülerde hem de sabun sanayisinde kullanılabileceği, bu sayede bitkinin üretiminin artması gerektiği, bitki köklerinde % 18 oranında saponin tespit ettiğini bildirmiştir.

Zucker ve diğ. (1997), Avrasya Kıtası'nda tek yıllık, iki yıllık ve çok yıllık olmak üzere 125 *Gypsophila* türü bulunduğunu, bu türlerden bazılarının süs bitkisi olarak kullanıldığını, en önemli türün ise *G. paniculata* türü olduğu, bitkinin çok yıllık

olmasına rağmen tek yıllık olarak yetiştirildiği, çiçekçilikte, ana bitkilere benzer bitkiler elde edilmesi, kısa sürede çiçeklenmeyi sağlama ve genetik açılımın olmaması için dal çeliği ile çoğaltmanın avantajlı olduğunu belirtmişlerdir.

Gaygısız ve Akınerdem (1998)'e göre; "Çöven" olarak bilinen bitkiler, değişik özelliklere sahip olması nedeniyle birçok bilim dalını ilgilendirmekte olup ilaç, gıda ürünü, temizlik ürünü, park ve bahçelerin süslemesinde kullanılabilmesi nedeniyle, ziraatçıların, gıdacıların, kimyacıların, eczacıların, peyzajcılarının, tekstilci ve kuyumcuların ilgi alanı içerisinde yer almaktadır.

Kutluk ve Aytuğ (2000), Türkiye'yi 29 üniteye bölen kareleme sistemini (Türkiye Florası'nda kullanılan ve her biri 42.000 km<sup>2</sup> alanı kapsayan Grid Sistemi) kullanarak, Akdeniz floristik bölgesi ile İran-Turan floristik bölgesinin batı ve doğu sektörleri arasında Türkiye'nin en yüksek endemizm oranına sahip alanlarının yer aldığını belirlemiştir.

Battal ve diğ. (2003), Anadolu kökenli çövenlerde ham saponin miktarının % 10- 25 oranında olduğunu, Türkiye'nin farklı bölgelerinde yayılış gösteren, *G. bicolor* Grosh., *G. perfoliata* var. *anatolica*, *G. venusta* Fenzl., *G. eriocalyx* Boiss., ve *G. arrostii* Guss. var. *nebulosa* türleri ile yaptıkları araştırmalarda, sırasıyla, % 19.58, % 14.44, % 12.65, % 12.39 ve % 11.58 oranında saponin bulunduğunu, protein oranının ise sırasıyla % 8.01, % 7.80, % 8.38, % 8.15 ve % 6.92 olarak tespit edildiğini bildirmektedirler. Çalışmalarında, köklerde öğütme iriliğinin ve ekstraksiyon süresinin saponin oranı üzerinde etkili olduğunu, ekstraksiyon süresi uzadıkça suya geçen saponin miktarında bir artış olduğunu belirtmişlerdir.

Babaoğlu ve diğ. (2004), toksik seviyede bor içeren toprakların bitkisel yolla temizlenmesinde kullanılabilir bitki türlerini araştırdıkları çalışmalarında, *Gypsophila sphaerocephala* var. *sphaerocephala* (köklerde 51±11 mg/kg, yapraklarda 3345± 341 mg/kg) ve *Gypsophila perfoliata* ( köklerde 57±16 mg/kg ve yapraklarda 1490±172 mg/kg) gibi bazı *Gypsophila* türlerinin topraktan yüksek konsantrasyonlarda bor elementini bünyelerine aldığını, bu konsantrasyonun bitkinin toprak üstü aksamında, köklerden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Ataşlar ve Ocak (2005), birçok *Gypsophila* türünün küçük alanlarda yayılış gösterdiğini, bu alanlardan bir kısmının merkezinin Türkiye, Kafkasya, Kuzey Irak ve Kuzey İran olduğunu, dünyadaki 126 *Gypsophila* türünden, 75'nin bu bölgede

bulduğunu ve bu 75 türden 49'nun endemik olduğunu, Türkiye'de 10 seksiyonda 54 *Gypsophila* türü bulunduğunu, ancak belirledikleri *Gypsophila osmangaziensis* E. Ataşlar & A. Ocak, sp. nova yeni türü ile bu sayının 55'e yükseldiğini bildirmişlerdir.

Hebestreit ve diğ. (2006), bazı hücre tiplerinde, *Gypsophila* türlerinin saponin ve agrostin karışımlarının hücrelerde lektinlerin sitotoksitesini artırdığı ve bazı kanser tiplerine karşı sitotoksik aktivitesi olduğunu rapor etmişlerdir.

Valko ve diğ. (2007), reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türlerinin (RNS: örneğin, Nitrik oksit) organizmada DNA, protein, lipid gibi hayati önemi olan moleküllere saldırarak zarar verdiklerini, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, Nörodejenaratif hastalıklar (alzaymır ve parkinson) gibi birçok ciddi hastalıklara yol açtığı belirtilmiştir. Antioksidanların gerek metabolizmanın ürettiği serbest radikalleri gerekse dıştan maruz kalınan çeşitli sebeplerden dolayı oluşan serbest radikallere karşı vücutta bir savunma mekanizması başlattığı vurgulanmaktadır.

Khalaf ve diğ. (2008), çok sık kullanılan bazı tıbbi bitkilerin metanolik ham özütleri ile serbest radikal süpürme aktiviteleri standart antioksidant olarak askorbik asit kullanarak incelenmişlerdir. Serbest radikal süpürücü aktivite için 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil serbest radikali kullanılmıştır. Antioksidant aktivitesi en yüksek, yeşil çayda (*Camellia sinensis* L.) gözlenirken, siyah çay (*Camellia sinensis* L.), *Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bullock & Harrison (Karanfil), *Piper cubeba* L. (Kababe), *Zingiber officinale* Roscoe. (Zencefil) ve *Piper nigrum* L., (Karabiber) onu azalarak takip ettiğini ve DPPH yöntemi ile *Trigonella foenum graecum* L. (Çemen Otu) ve *Elettaria cardamomum* L. Maton (Kakule), zayıf serbest radikal süpürücü aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu çalışma ile incelenen bitkilerin verimli antioksidant aktivite özelliği gösterdikleri belirtilmiştir.

Çevrimli ve diğ. (2007) *Gypsophila simonii* türünün köklerinden ekstraksiyon yoluyla elde edilen saponinin kimyasal ve fiziksel özellikleri çalışılmışlar ve yeni bir Gypsogenin ester olarak saponinin yapısal özelliğini belirlediklerini belirtmişlerdir (C31H51O3).

Serteser ve diğ. (2009), Afyonkarahisar dolaylarında yetişen 38 bitkinin antioksidan aktiviteleri çalışılmışlardır. Bu bitkiler içerisinde *Gypsophila* cinsine ait *Gypsophila*

*ericalyx* Boiss., *Gypsophila parva* Barkoudah, *Gypsophila pilosa* Hudson, *Gypsophila perfoliata* L. ve *Gypsophila tubulosa* (Jaub. & Spach) Boiss. bulunmaktadır. Bu *Gypsophila* türlerinin yaprak ekstraksiyonlarının yoluyla DPPH [di(phenyl)-(2,4,6-trinitrophenyl)iminoazanium)] radikal süpürme etkilerine bakılmıştır. Bu bitkilerin yaprak ekstraksiyonlarının, EC<sub>50</sub> (efficiency coefficient) (mg örnek/mg DPPH) ve AE (antiradikal aktiviteleri) karşılaştırıldığında çok büyük bir fark belirlenmemiştir.

Carlsen ve diğ. (2010), antioksidan bilgi deposu için yaptıkları çalışmada, çok fazla sayıda bitkinin total antioksidan içeriğini FRAP yöntemini modifiye ederek belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda günlük hayatta tükettiğimiz diyetlerin toplam antioksidan içeriğinin çok değişken olduğunu, en büyük antioksidan içeriğine bitkisel kaynaklı yiyeceklerin sahip olduğu bildirilmektedir.

Daha önceden bazı *Gypsophila* türlerinde çeşitli bileşiklerin varlığı bakılmıştır. Yao ve diğ. (2010) yaptığı çalışmada *Gypsophila paniculata* L.'nin köklerinde ve Chen ve arkadaşlarının (2010) *Gypsophila altissima* L. da yaptığı çalışmalarda triterpenoid saponinlerinin varlığı belirlenmiştir.

Hamzaoğlu (2012), "A new species of *Gypsophila* and a new name for *Silene* from Turkey" başlığı ile yayınladığı makalede *Gypsophila turcica* Hamzaoğlu sp. nova adlı yeni türü ile Türkiye'de 55 olan *Gypsophila* tür sayısının 56'ya yükseldiği belirtilmiştir.

### **1.3 Hipotez**

Bitkilerin tedavi amaçla kullanılmaları çok eski yıllara dayanmaktadır. Dünya ülkelerinin birçoğunda bitkiler içerdiği kimyasal maddeler bakımından, hastalıkların tedavi edilmesinde önemli rol oynamaktadır. Ülkemizde de deneme yanılma yöntemiyle bulunmuş halk arasında şifalı bitkiler olarak bilinen birçok bitki hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu yüzden günümüzde birçok bilim adamı, bitkilerin yapısında bulunan bitkisel antioksidanları, sekonder metabolitleri ve diğer kimyasal maddeleri araştırmaktadır. Bitkilerin tedavi edici özellikleri yapısında bulunan antioksidanlar, sekonder metabolitler gibi fitokimyasal maddelerden kaynaklanmaktadır.

Oksijenli solunum yapan canlılarda gerek dış faktörlerin etkisiyle oluşan gerekse doğal bir mekanizmanın sonucu olarak oluşan serbest radikallerin birçoğu canlı sistemlerde rol alan enzimler ve antioksidanlar yoluyla zararsız hale getirilirler. Fakat yüksek dozlarda (oksidatif stres gibi) hücrel zararlar yol açar (Martin ve Barret, 2002). Oksidan ve mutajen özellikte olan bu metabolizma yan ürünleri DNA, proteinler ve diğer makromoleküllerde tahribata hatta hücrenin ölümüne neden olarak kronik hastalıkları başlatır. Çeşitli mekanizmalar sonucu ortaya çıkan serbest radikallere karşı vücutta doğal bir savunma mekanizması vardır. Antioksidanlar oluşan bu serbest radikallere karşı vücutta savunma mekanizmasını üstlenmişlerdir.

Antioksidan hipotezleri, antioksidanların oksidatif zararları engelleyebileceğini, günlük diyetle alınan antioksidan kaynaklarının artırılmasıyla kronik hastalık oluşma risklerinin azalabileceği yönündedir. Bizimde çalışmamızda kullandığımız bitkiler dondurma, helva, sultan lokumu gibi birçok gıda ve kozmetik ürünün içine girmektedir.

Genellikle çoğu ilacın yüksek bitki kökenli olduğu bilinmektedir. Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaktadır (Vonderbank, 1949; Dığrak ve diğ., 1999). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır (Kalaycıoğlu ve Öner, 1994).

Tezin çalışma konusunu oluşturan taksonların (*Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala*, *Gypsophila eriocalyx* Boiss.) toprak altı kısımları, fenolik içeriğe sahip potansiyel bir antioksidan kaynağıdır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Türk tarihinde de Lokman Hekim ile ilgili yazılar ve hatta mitolojik ölüme çare bulduğu inancı insanların doğada kendiliğinden yetişen bitkilere ve bitkilerden yapılan ilaçlara ilgisini arttırmıştır. Birçok bitkinin tedaviye yardımcı olması, içerdikleri antioksidanlar ve fenoller gibi fitokimyasal maddelerden kaynaklanmaktadır. Tıbbi bitkilerin yetiştirilmesi de ilmin gelişmesine paralel olarak artmıştır. 13. yüzyılda Doğu dünyasının tanınmış bilim adamı İbn-i Sina 600'den fazla bitkiden hazırlanan ilaçların reçetelerini vermiştir (Demirhan ve Özdamar, 2001).

İnsanoğlu çok eski zamanlarda beslenmesini sağlamak amacı ile mevcut besin maddelerinden faydalanma, daha sonra planlı bir şekilde üretme yolu seçerken, hastalık etmenlerine karşı da kendini koruma yöntemleri aramıştır. Bu koruma bilinci başlangıçta içgüdülerine dayanan bir yöntem halinde belirmiş aradan geçen çok uzun yıllar içinde çevresinde bulunan hem ekolojik faktörleri hem de biyotik faktörleri kendi tedavilerinde kullanma yoluna gitmişlerdir. Bu artık içgüdüsel bir yaklaşım değil bilinçli bir şekilde yararlanma durumu haline gelmiştir (Demirhan ve Özdamar 2001).

Çöven rizomlarından elde edilen ekstraktı fabrikasyon olarak sabun ve likörlerin imalatında, halk arasında öksürük ve solunum sistemleri rahatsızlıklarında, temizleyicilerde yangın söndürücülerin yapısında ise köpürtücü olarak, aynı zamanda içerdiği saponinlerden dolayı, beyazlatıcı özelliğinin yanı sıra gevreklik kazandırıcı olarak helva üretimlerinde kullanılmaktadır (Özçelik ve Özgökçe 1999).

Baylan (1990)'na göre; ülkemizde, "Çöven kökü" denildiğinde bazı *Gypsophila* taksonlarının toprak altı kısımları (rizom ve kök) anlaşılmaktadır.

Bitki rizomlarının dış yüzünün beyaz veya sarımsı renkte, kolay kırılğan bir yapıda, kokusuz veya hafif kokulu ve acımsı bir tada sahip olduğunu ve rizomların su ile çalkalandığı zaman kalıcı bir köpük oluşturduğunu bildirmektedir (Sezik, 1982).

## 2.1 Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir (Kahkönen ve diğ., 1999). Vücutta kalkan görevi yapan bu kimyasal bileşiklerin özelliği, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize etmeleri ve bu sırada serbest radikal haline gelmemeleridir (Prior ve Cao, 1999).

Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir (Kaur ve Kapoor, 2001). Canlı sistemlerde gerçekleşen bütün fizyolojik süreçler; enzim, hormon ve iz elementler gibi farklı ajanlar tarafından yönetilen oksidasyon ve indirgenme reaksiyonlarının kompleks kombinasyonlarını içerir. Canlılarda redoks dengesinde meydana gelebilecek herhangi bir değişiklik, hücrelerin ve doku fonksiyonlarının bozulmasına sebep olabilir. Antioksidan maddeler dokularda doğal olarak bulunur ve farklı oksidasyon reaksiyonlarını düzenler. Ayrıca, antioksidan maddeler veya antioksidan savunma sistemlerinde bulunan bazı bileşenlerin endojen sentezinde meydana gelebilecek bir yetersizlik, farklı hastalık türlerini meydana getirebilir (Cutler ve Pryor, 1984).

Düzenli çalışan bir metabolizmada mitokondriyel sitokrom sistemi, sitozoldaki organelleri oksidasyonun zararlı etkilerinden korur. Bu sistemin yetersiz kaldığı durumlarda doğal enzimler devreye girer. Enzimlerce etkisiz hale getirilemeyen oksidasyon ilk olarak hücre zarındaki yağları etkileyerek “lipid peroksidasyonu” nu başlatır. Lipid peroksidasyonu, membranlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur ve sonuçta ortaya çıkan biyo-aktif aldehitler hücre hasarına neden olur (Benzer ve Ozan, 2003).

Lipid peroksidasyonu sırasında yeterli düzeyde Vit-E ve Vit-C gibi antioksidan vitaminlerin bulunması halinde bu tip hücresel hasarların önüne geçilebilir. Tokoferoller (E-vitamini), askorbik asit (C-vitamini), karotenoidler, bioflavonoidler ve retinoidler karasal kaynaklı ürünlerde ve alglerde bulunabilen antioksidan bileşiklerdir. Tokoferollerden insan vücudunda en çok  $\alpha$ -tokoferol, daha sonra da  $\gamma$ -tokoferol bulunur. Tokoferol türlerinin antioksidan aktiviteleri arasında farklar

bulunmakta ve tekli oksijeni süpürme kapasitesi alfa>beta>gamma>delta tokoferole doğru gittikçe azalır (Kazanç, 1997).

İnsan vücudunda tokoferol sentezlenemediği için dışarıdan alınmak zorundadır. Vücuda alınan tokoferol incebağırsakta emilir ve lenf yolu ile dolaşıma katılır. E vitamininin antioksidan özelliği, serbest radikallerin başlattığı lipid peroksidasyonunu inhibe etmesinden ileri gelir (Chan ve Decker, 1994).

Suda çözünen bir vitamin olan C-vitamini vücut sıvısında genellikle askorbat olarak bulunur. Kolayca elektron vererek dehidro askorbik asite kendiliğinden okside olur ve superoksit, hidrojen peroksit, hipoklorit, hidroksil radikali, peroksil radikali ve tekli oksijeni süpürücü etki gösterir. C-vitamini lipid peroksidasyonunu başlatmadan, peroksil radikallerini su fazında inhibe ederek, biyolojik membranları peroksidatif hasardan korur.

Diğer önemli antioksidan maddeler arasında karotenoidler gelmektedir. Karotenoidler sadece fitoplankton, algler, bitkiler ve sınırlı sayıdaki mantar ve bakteriler tarafından üretilebilen, 700'ün üzerinde yağda çözünebilir tabiiatta pigmente sahip olan bir ailedir. Karotenoidler genel olarak havuç, domates, greyfurt, portakal, ıspanak gibi sebze ve meyvelerin kırmızı, turuncu, sarı ve yeşil renklerinden sorumludur.

Antioksidanlar doğal antioksidanlar ve ilaçlar veya sentetik olmak üzere iki grupta toplanabilir.

Doğal antioksidanlar arasında enzimler (superoksit dismutaz-SOD, katalaz-CAT, glutation peroksidaz-GP, glutation redüktaz, sitokrom-C-oksidad, hidroksiperoksidaz), makromoleküller (seruloplazmin, transferrin, ferritin, myoglobin, haptoglobilin) ve mikromoleküller ( $\beta$ -karoten, A-vitamini, C-vitamini, E-vitamini, tokoferoller, tiyol içerenler, glutation (GSH), N-asetil sistein, metionin, kaptopril, ubiquinon) sayılabilir (Hilmi, 1994).

Sentetik antioksidanların gıdalardaki kullanımı 1940'lı yıllarda BHA ve gallik asidin esterlerinin oksidasyonu önlediklerinin anlaşılmasıyla başlamıştır. Demir ve bakır gibi transisyon metallerinin zararlı etkileri sitrik asit (CA), etilendiamintetraasetikasit (EDTA) veya onların türevlerine metal deaktivatör veya kelat ajanı olarak etki ettikleri ondan sonra bulunmuştur. 1954'te ABD'de BHT'nin gıdalarda kullanılmasına müsaade edilmiştir. Tersiyer bütül hidrokinon (TBHQ) 1972'de ticari



ölçüde kullanılmaya başlamıştır. Sentetik antioksidanların muhtemel karsinojenik etkileri büyüyen bir tepkiye neden olmaktadır. Böylece Japonya ve çok sayıdaki diğer ülke bütillenmiş hidroksi anisol (BHA)'nın gıdalarda kullanılmasına izin vermemektedir. Ter-bütül hidrokinon (TBHQ)'nun da Kanada, Japonya ve Avrupa ülkelerinde kullanımına izin verilmemektedir. Bu yüzden sentetik antioksidanların yerine doğal antioksidanların kullanımı için genel bir istek mevcuttur. Son yıllarda kanser vakalarının artması ve bunun başlıca sorumlusu olarak sentetik ürünlerin kullanımının deneyler sonucu da açığa çıkması, insanoğlunun doğal ürünlere yönelmeye zorlamıştır.

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler;

1. Süpürme etkisi: Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder. Örnek olarak, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutasyon peroksidaz (GP) gibi enzimleri ve metal bağlayıcı bazı proteinleri verebiliriz.

2. Söndürme etkisi: Oksidanalara bir hidrojen aktararak inaktive etmesine denir. Vitaminler, flavanoidler, timetazidin ve mannitol bu şekilde etki eder.

3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi: Zincirleme olarak devam eden tepkimeleri belli yerlerinden kırarak, oksidan etkiyi durdururlar. Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır mineraller, oksidanları kendilerine bağlar ve inaktive eder.

4. Onarma etkisi: Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar. Bu grupta DNA tamir enzimleri, metionin sülfoksit redüktaz sayılabilir.

Canlılarda metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan serbest radikaller, çoğu zaman lipid oksidasyonuna ve buna bağlı olarak da hücre ölümüne neden olmaktadır. Antioksidan bir madde bu oksidasyonun çeşitli aşamalarında yukarıda özetlenen mekanizmalar yoluyla koruyucu özelliğe sahip maddelerdir. Sentetik olarak üretilmediği gibi doğal kaynaklardan da elde edilebilir. Bu tür maddeler, oluşan serbest radikalleri ya doğrudan temizleyerek yâda bu türlere elektron veya hidrojen aktarımı yaparak etkisiz hale getirir. Genel anlamda iki tür antioksidan madde tanımlanır. Birincil antioksidan maddeler, zincir kırma tepkimeleri oluşturan veya serbest radikal temizleyen türlerdir. İkincil antioksidan maddeler veya koruyucu antioksidan maddeler ise, metallerin aktivasyonunu azaltıcı lipit hidroperoksitlerin istenmeyen uçucu türlere parçalanmasını engelleyen, tekli oksijen yakalayan ya da

birincil antioksidanların yeniden üretimini sağlayan türlerdir. Ayrıca mekanizmalardaki bu çeşitlilik birçok maddenin araştırılmasına olanak sağlamıştır.

Gıdalardaki bitkisel ve hayvansal yağların oksidatif yıkımı, sekonder potansiyel toksik bileşiklerin oluşumuyla besin kalitesini ve güvenilirliğini azaltarak tat ve koku bozunumundan sorumludur. Antioksidanların ilavesi besinlerin lezzetini, rengini korumak ve vitaminlerin yıkımını engellemek için gereklidir. Gıdalarda antioksidan olarak tokoferoller de kullanılır. Raporların BHT ve BHA' nın toksik olduğunu göstermesi ve tüketicinin gıda katkı maddelerinin güvenilirliği hakkında bilinçliliğinin artması nedeniyle; düşük etkisi, yüksek maliyeti olmasına rağmen tokoferol gibi alternatif, doğal ve güvenilir daha fazla gıda antioksidanlarının tanımlanması gerekmiştir (Wanasundra ve diğ., 1998; Shahidi ve Alexander 1998).

### **2.1.1 Diyetel antioksidanlar**

Meyveler, tahıllar, çeşitli bitkisel çaylar, sebzeler ve günlük diyetimiz içine aldığımız birçok yiyecek antioksidanlar bakımından zengindir. Bu besinlerin içerdiği antioksidanlar kardiyovasküler koruma mekanizmalarına önemli bir katkı sağladığı düşünülmektedir. Bu varsayım oldukça mantıklıdır, çünkü oksidatif hasarın genelde vasküler bozukluk ve ateroskleroz patolojisine neden olması ve serbest radikallerin miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarına katıldığı hakkında güçlü kanıtlar vardır (Halliwell, 2000; Halliwell ve Gutteridge, 1990-1999; Paganga ve diğ., 1999; Bolli ve Marban, 1999; Gey, 1999; Lampe, 1999 Rosenfeld, 1998; Mallat ve diğ., 1998; Steinberg ve Lewis, 1997; Frankel ve diğ., 1995). Bitkisel kaynaklı dolayısıyla antioksidan kaynağı olan diyetlerin kardiyovasküler ve diğer mekanizmalar üzerinde koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir.

Günlük diyetimizde almamız gereken C vitamini, E vitamini, flavonoidler gibi polifenoller ve karotenoidler gibi doğal antioksidanların anti-oksidatif özelliklerinin sağlığa yararlı oldukları kabul edilmektedir. Ayrıca antioksidanların yaşlanma üzerinde, kanser hastalıklarında, kardiyovasküler rahatsızlıkların oluşma riskinin azalmasında olumlu etkileri olduğu bilinmektedir ve bu konudaki araştırmalar devam etmektedir (Peto ve diğ., 1981; Block ve diğ., 1992; Ziegler, 1991; Middleton ve Kandaswami, 1994; Rice-Evans ve diğ., 1996; Mayne, 1996; Virtamo, 1996; Stocker, 1999; Pietta, 2000).

Sağlıklı yaşamın vazgeçilmez bir parçası olan diyetel antioksidanları Şu Şekilde gruplandırabiliriz:

- Vitaminler
  - C Vitamini (askorbik asit)
  - E vitamini
- Karotenoidler
- Melatonin
- Glutasyon ve flavonoidler

C vitamini, kapalı formülü  $C_6H_8O_6$  olan ketalaktondur ve suda eriyebilir. Özellikle yeşil renkli sebze, meyvelerde ve turunçgillerde bol miktarda bulunur. C vitamini organizmalarda birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Çok güçlü bir indirgeyici olan askorbik asit semihidroaskorbat radikal ara ürünü üzerinden kolaylıkla dehidroaskorbik aside okside olur. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir “antioksidandır.” Süperoksit ve hidroksil radikali ile tepkimeye girerek onları temizler.

Askorbik asit düzeyinin düşük olması tüm kronik enflamatuvar hastalıklarda ve lipid peroksidasyonunun artmış olduğu durumlarda önemli rol oynar. Kroner arter hastalığı olanlarda ve kanserli hastalarda plazma askorbat düzeyinin normalden daha düşük olduğu kaydedilmiştir (Akkuş, 1995).

E vitamini yapısında fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka bulundurur, bu da vitaminin kimyasal aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır. Yer fıstığı, badem, pamuk yağı, keten tohumu gibi bitkisel yağlar ve tohumlarda bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA) serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur.

E vitamini, süper oksit ve hidroksil radikallerini, singlet (tekli) oksijeni, lipid peroksil radikallerini ve diğer radikal türlerini indirger. Serbest radikallerin kanserin başlamasında rol aldığı ve E vitamini ile diğer antioksidanların antikanserojen etki göstererek kanserin yayılmasını ve tümörün büyümesini önlediği kaydedilmiştir (Akkuş, 1995).

Doğada bulunan 600'ün üzerindeki karotenoidin yaklaşık 40 tanesi tipik insan diyetinde bulunur. Bu karotenoidlerden sadece 10 tanesi ve bazı metabolitleri insan kan ve dokularında belirlenmiştir (Paiva ve Russel, 1999; Graster, 1997).  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten ve likopenlerin antioksidan ve radikal süpürme yetenekleri iyi bir şekilde belgelenmiştir (Miller ve diğ., 1996; Woodall ve diğ., 1997; Mortensen ve Skibsted, 1997; Stahl ve diğ., 1998). Karotenoidlerin antioksidan aktiviteleri, tekli oksijen giderme özelliklerine ve peroksit radikallerini yakalama yeteneklerine dayanır (Paiva ve Russell, 1999). Karotenoidler, havuç, kayısı, bal kabağı, tatlı patates, olgun greyfurt, domates ve karpuz gibi renkli sebze ve meyvelerde bulunur.

Son zamanlarda, melatonin (N-asetil-5metaksitriptamin) ve ilgili indolaminler yüksek antioksidan ve antikaserojenik aktiviteleri sebebiyle dikkat çekmektedirler. Kanserojenin kompleks mekanizması çoğu kez oksidatif stresi içerir. Oksidatif hasarın birçok indikatörü, kanserojenin bir etkisi olarak artar. Bazı antioksidanlar farklı etkileri ile kanserojenlerin neden olduğu oksidatif hasara karşı vücudu korurlar. Bilinen antioksidanlar içersinde melatonin, oluşmuş tümörlerin büyümesini inhibe etme ve kanser başlamasını azaltmada çoğu kez araştırılan deneysel bir ajandır. Kanserojenlerin yol açtığı hücrel hasara karşı melatonin ve diğ. bazı indolamin antioksidanların koruyucu etkileri, kanserin bazı hallerinde tek başına veya birlikte tedavide potansiyel katkı sağlar.

Oksidatif hasara karşı savunmada primer mekanizma, melatoninin serbest radikalleri süpürme yeteneği ile ilgilidir. Süperoksit anyon radikali ile nitrik oksitin bitbirine kenetlenmesi sonucu oluşan ve son derece toksik bir madde olan peroksinitrit anyonları ( $\text{OONO}^-$ ) da melatonin tarafından süpürülür (Karbownik ve diğ., 2001; Blanchard ve diğ., 2000). Melatonin oksidatif-İlgili enzimleri etkileyerek oksidatif stresi dolaylı olarak azaltır.

Glutasyon, Karaciğerde sentezlenen bir tripeptiddir. Çok önemli bir antioksidan olan glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Glutasyon, eritrositleri ve lökositleri oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Eritrosit zarının  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'den, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden korur.

Flavonoidler ve diğ. bitki fenoliklerinin süperoksit ( $\text{O}^-$ ), lipid alkoksil ( $\text{RO}^-$ ) ve peroksil ( $\text{ROO}^-$ ), nitrik oksit ( $\text{NO}$ ) radikal temizleme, demir ve bakır şelasyonu fonksiyonlarına ek olarak; vazodilatatör, immün-stimulan, antiallerjik, östrojenik,

antiviral (HSV, HIV, influenza ve rhinovirüslere) karşı etkileri de söz konusudur. Flavonoidler gibi doğal polifenoller ve bunların yerini tutan glikozitler, meyveler, sebzeler, kuruyemişler, tohumlar, bitkisel çaylar, zeytinyağı ve kırmızı üzüm gibi besinlerin önemli bileşenleridir. Bu bileşiklerin antioksidatif özelliklerinin genelde yaşlanmaya, kanserin bazı çeşitlerine ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkileri olduğu iddia edilir (Middleton ve Kandaswani, 1994; Rice-Evans ve diğ., 1996).

Flavonoidlerin sağlık üzerindeki yararlı etkileri antioksidan olma özelliğinden kaynaklanmaktadır. LDL oksidasyonunu inhibe etme özelliğinden dolayı flavonoidler kalbi koruyucu etki gösterir. Flavonoid bakımından zengin yiyecekler, sıçanlarda miyokardiyal post-iskemik hasarı azalttığı gözlenmiştir (Facino ve diğ., 1999). Orta yaşlılarda yapılan bir çalışmada, çaydaki baskın flavonoid olan katekinin tüketimi ile 806 kişilik bir erkek grubunda iskemik kalp hastalığından kaynaklanan ölüm oranı arasında ters orantı saptanmıştır (Arts ve diğ., 2001).

## **2.2 Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri**

Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, karalı yapıya sahip olmayan bileşiklerdir. Bu eşleşmemiş elektron, serbest radikallere büyük bir reaktiflik kazandırarak protein, lipid, DNA gibi biyolojik açıdan önemli moleküllere zarar vermelerine neden olmaktadır.

Oksijen insan yaşamı için çok elzem olmasına karşın, normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir (Diplock, 1998). Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Diplock, 1998). Canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması, çevre kirleticileri, radyasyon, pestisitler, çeşitli tıbbi tedavi yolları ve kontamine sular gibi birçok etmen kaçınılmaz bir şekilde oksijen türevi serbest radikallerin oluşumuna yol açmaktadır. Bu radikallerin başlıcaları; tekli oksijen ( $^1O_2$ ), süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidroksi ( $OH$ ), peroksi (ROO) ve alkoksi (RO) radikalleridir (Kaur ve Kapoor,

2001). Tablo 2.1’de başlıca reaktif oksijen türleri/partiküllerinin sınıflandırılması verilmiştir.

Mitokondrilerdeki oksijenli solunumda olduğu gibi birçok anabolik ve katabolik işlemler sırasındaki reaksiyonlarda moleküler düzeyde elektron kaçışları olur ve bu sırada reaktif oksijen türleri/partikülleri (ROS) oluşur. Tablo 2.2’de ROS’ ların in vivo ortamda kaynakları görülmektedir. (Carroll, 1987)

Tablo 2.1: Başlıca reaktif oksijen türlerinin sınıflandırılması. (Kaur ve Kapoor, 2001)

<b>1- Radikaller</b>	Süperoksit radikal ( $\cdot\text{O}^-$ ) Hidroksil radikal ( $\text{OH}\cdot$ ) Alkoksil radikal ( $\text{LO}\cdot$ ) Peroksil radikal ( $\text{LOO}\cdot$ )
<b>2- Radikal olmayanlar</b>	Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) Lipid hidroperoksit ( $\text{LOOH}$ ) Hipoklorik asit ( $\text{HOCl}$ )
<b>3- Singlet oksijen</b>	( $^1\text{O}_2$ )

Tablo 2.2: Reaktif oksijen türlerinin kaynakları. (Carroll, 1987)

<b>I- Normal Biyolojik İşlemler</b>	<b>1-</b> Oksijenli solunum
	<b>2-</b> Katabolik ve anabolik işlemler
<b>II- Oksidatif stres yapıcı durumlar</b>	<b>1-</b> İskemi - hemoraji - travma - radyoaktivite - intoksikasyon
	<b>2-</b> Ksenobiotik maddelerin etkisi a) İnhale edilenler b) Alışkanlık yapan maddeler c) ilaçlar
	<b>3-</b> Oksidan enzimler a) Ksantin oksidaz                      b) İndolamin dioksijenaz c) Triptofan dioksijenaz              d) Galaktoz oksidaz e) Siklooksijenaz                      f) Lipooksijenaz g) Monoamino oksidaz
	<b>4-</b> Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu
	<b>5-</b> Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma (nötrofil, monosit, makrofaj, eosinofil, endotelyal hücreler)
	<b>6-</b> Uzun süreli metabolik hastalıklar
	<b>7-</b> Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara
<b>III - Yaşlanma süreci</b>	<b>1-</b> Organizmanın biyolojik yaşlanma sürecinde meydana gelen olaylar

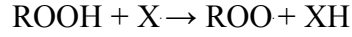
## 2.2.1 Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar

### 2.2.1.1 Otooksidasyon

Otooksidasyon, atmosferik oksijenin katalizlediği tipik bir serbest radikal zincir reaksiyonudur (Nawar, 1996). Serbest radikallerin oksijenle reaksiyonu oldukça hızlıdır ve bu reaksiyonların başlangıcı için birçok mekanizma tanımlanmıştır. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri ve fosfolipidler otooksidasyona eğilimlidir. Otooksidasyonda ilk oluşan ana ürünlerin hidroperoksit (ROOH) ürünleri olduğu

düşünülmektedir (Porter, 1985). Hidroperoksitlerin bir zincir reaksiyonunu başlatabilmesi için üç temel mekanizma önerilmektedir (Foote, 1985).

1. Hidroperoksit, zincir reaksiyonuna katılabilecek bir peroksi radikalini (ROO<sup>•</sup>) oluşturmak üzere bazı kaynaklardan gelen başlatıcı bir radikal (X<sup>•</sup>) ile reaksiyona girebilir.

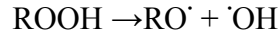


2. Hidroperoksit, bir metal iyonu veya farklı bir indirgenle alkoksi (RO<sup>•</sup>) radikalini (veya daha az bir ihtimalle hidroksi (OH) radikalini oluşturmak üzere indirgenebilir.

[H]

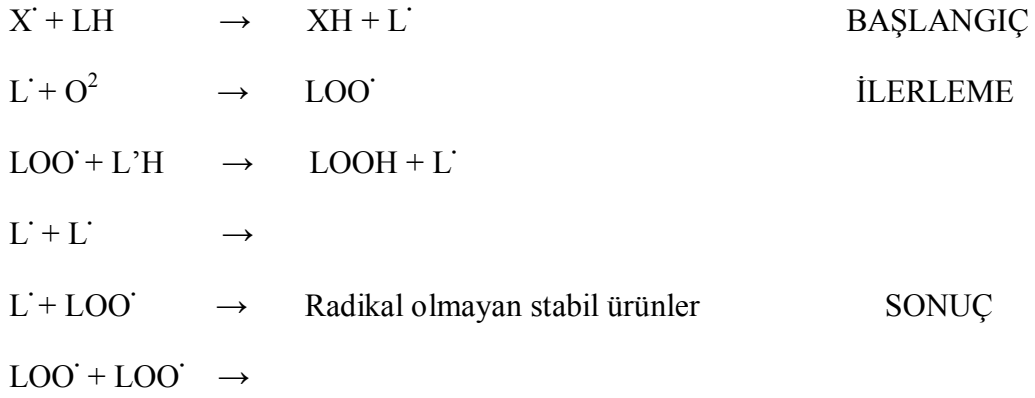


3. Diğer mekanizmalara göre daha az önemli olmakla birlikte, yüksek sıcaklıklardan daha ziyade oda sıcaklıklarında hidroperoksitteki O-O bağı parçalanarak alkoksi ve hidroksi radikallerine dönüşebilmektedir.



Lipid oksidasyonu; aşağıda gösterildiği şekilde, başlangıç, ilerleme ve sonuç aşamalarından oluşmaktadır. Oksidasyonun başlangıç aşamasında, başlatıcı bir radikal (X<sup>•</sup>) ile yağ asidi (LH) substratının reaksiyonu sonucu H atomu transferi yoluyla bir lipid radikali (L<sup>•</sup>) oluşmaktadır. İlerleme aşamasında, oluşan L<sup>•</sup> radikaline oksijen eklenmesiyle peroksi radikali (LOO<sup>•</sup>) meydana gelmekte ve bu peroksi radikali diğer bir yağ asidi (L'H) molekülünden ayrılan bir hidrojen atomu ile birleşerek tekrar hidroperoksitlere ve yeni lipid radikallerine dönüşmektedir. Sonuç aşamasında ise oluşan radikaller birbiriyle reaksiyona girerek radikal olmayan ester, eter, aldehit, keton ve alkol gibi stabil bozunma ürünlerine dönüşmektedir (Porter 1985).





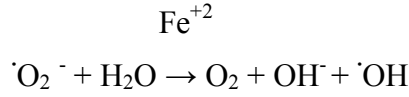
### 2.2.1.2 Geçiş metal iyonlarının etkisi

Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları da canlı sistemde serbest radikal oluşturan güçlü birer oksidatif katalist olarak görev yapmaktadırlar. Fe; oksidatif reaksiyonları teşvik etmede daha etkili bir metal iken, Cu katalizli reaksiyonlar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (Halliwell ve Gutteridge,1990).

Biyolojik sistemlerde oksijen taşınması, ATP üretimi, DNA ve klorofil sentezinde önemli role sahip olan demirin serbest formları canlı hücrelerde toksik etki yapabilmektedir. Bu toksisite sonucunda oluşan aktif oksijen türleri lipid oksidasyonunu teşvik edebilmekte veya DNA moleküllerine saldırabilmektedir. Gerçekte tüm canlı hücreler serbest demirin toksik etkisini yok eden ve demirin fazlasını toksik olmayan formlarda hücre içinde depolayan mekanizmalara sahiptir (Miller, 1996).

Birçok metal doğal olarak vücutta kelat oluşturmuş formda bulunur. Örneğin; Cu çeşitli enzimlerde, Fe ise ferritin gibi proteinlerde veya miyoglobin ve hemoglobinin porfirin halkasında bu formda bulunmaktadır (Lindsay, 1996). Kelat oluşumu antioksidan savunma sistemine önemli katkıda bulunmakla birlikte, vücutta travma, toksinler, hastalık gibi çeşitli nedenlerle oksidatif reaksiyonları katalizleyebilen serbest metal iyon formlarına dönüşümler gerçekleşebilmektedir. Katarakt, ateroskleroz, diyabet gibi patolojik koşullar altında metal iyonlarının serbest ve zararlı formlarda bulunduğu dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır (Lavelli ve diğ., 2000).

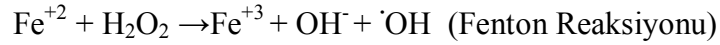
Süperoksit anyonu ( $\cdot O_2^-$ ),  $Fe^{+2}$  katalizörlüğünde  $H_2O$  ile reaksiyona girdiği zaman zararlı hidroksi ( $\cdot OH$ ) radikallerini oluşturan "Haber-Weiss reaksiyonu" meydana gelmektedir (Duthie ve diğ., 1989).



(Haber-Weiss reaksiyonu)



Fe iyonları, hidroperoksitlerin zararlı hidroksi radikaline dönüştüğü “Fenton-tip reaksiyonları” da katalizlemektedir. Hidroksi radikali ise oldukça reaktif bir tür olup, hızlı bir şekilde lipid radikallerini oluşturarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatmaktadır (Miller, 1996).

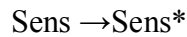


Özellikle yüksek oksijen kullanımı nedeniyle oksidatif strese karşı zayıf olan beyin, aynı zamanda yüksek düzeylerde Fe ve diğer divalent katyonları içermekte ve oluşan Fenton-tip reaksiyonlar reaktif oksijen türleri üreterek nöronlara zarar vermektedir. Nispeten düşük antioksidan savunmasına sahip olan beyin dokusu aynı zamanda oksidatif zararlara karşı dokuyu zayıflatan çoklu doymamış yağ asitlerini de yüksek düzeyde içermektedir. Oksidatif strese maruz kalan beyin dokusunda oluşan hasarların beyin iskemisi, hafıza bulanıklığı, Alzheimer, Parkinson gibi birçok sinirsel bozuklukta önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır (Meydani, 2001).

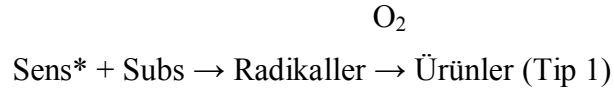
### 2.2.1.3 Fotooksidasyon

Fotokimyasal iz yolları, oksidasyonlarda başlatıcı olarak rol oynayan peroksitlerin oluşumu için oldukça önemlidir. Işığın bir molekül tarafından direkt olarak absorpsiyonu, süperoksit anyonu üretebilen elektron transfer proseslerine neden olabilmektedir. Fotosensitize prosesler ise direkt fotokimyasal reaksiyonlardan muhtemelen daha önemli olup bu tip indirekt oksidasyonlarda sensitizer (Sens) denilen bir molekül ışığı absorbe ederek diğer bazı türlerin oksidasyonuna neden olmaktadır. Bu reaksiyonlarda genellikle sensitizerin kendisi tüketilmemekte, ışığı absorbe eden bu molekül aktif forma (Sens\*) dönüşmektedir (Foote, 1985).

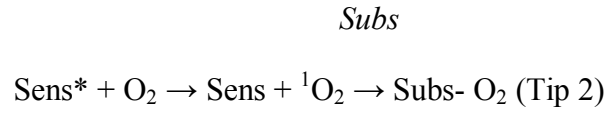
$h\nu$



Klorofil-a, feofitin-a, hematoporfirin, hemoglobin, miyoglobin gibi bazı pigmentler ve sentetik bir boya olan eritrosin tekli oksijen üreten fotosensitizerler arasındadır (Nawar, 1996). Fotooksidasyon reaksiyonları Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Tip 1 reaksiyonda; aktif hale geçen sensitizer, substratla hidrojen atomu transferi ya da elektron vermek suretiyle reaksiyona girerek radikalleri üretmektedir. Bu radikaller de oksijenle reaksiyona girerek oksijene ürünleri meydana getirmektedir.



Tip 2 reaksiyonda ise, aktif sensitizer  $\text{O}_2$  ile direkt reaksiyona girerek tekli oksijen üretmekte ve bu oksijen de oksijene ürünleri meydana getirmek üzere substratla reaksiyona girmektedir.



Riboflavin gibi flavinler Tip 1 reaksiyonlar için uygun bir sensitizer iken, klorofil gibi porfirinler de Tip 2 prosese uyan ve önemli oranda tekli oksijen üreten sensitizerler arasındadır. Fotooksidasyondan zarar gören başlıca biyolojik hedefler arasında; histidin, metiyonin, triptofan, tirozin ve sistein içeren proteinler ve guanidin içeren nükleik asitler bulunmaktadır. Ayrıca, yağ asitleri ve kolesterol gibi doymamış bileşiklerin oksidasyonunun gerçekleştiği lipidler de zarar gören başlıca hedefler arasındadır (Foote, 1985).

#### **2.2.1.4 Enzimatik oksidasyonlar**

Reaktif oksijen türleri, vücutta lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantin oksidaz, miyeloperoksidaz ve sitokrom P-450 gibi birçok enzimin aktivitesinin bir sonucu olarak da üretilmektedir (Meydani, 2001).

#### **2.2.1.5 Ksantin oksidaz (XOD)**

Canlı sistemde ROS oluşturan başlıca enzimatik kaynaklardan biridir. XOD, pürin katabolizmasında bir ara bileşik olan hipoksantini önce ksantine daha sonra da ürik aside okside ederken  $\text{NAD}^+$ 'ye elektron transferini gerçekleştiren bir dehidrogenaz enzimi olmasına karşın, dokuda belli stres koşulları altında tiyol gruplarını okside

eden ve proteolizise neden olan bir oksidaz enzimine dönüşür. XOD'ın faaliyeti sonucunda süperoksit anyonu ve hidroperoksit radikalleri oluşmaktadır. Ksantin oksidazın beyinde ödem, iskemide, damar geçirgenliğinde değişkenlik gibi oksidatif hasarlara neden olduğu ayrıca hepatit ve beyin tümörü vakalarında da XOD'ın serum düzeylerinin arttığı belirtilmektedir (Lavelli ve diğ., 2000).

#### **2.2.1.6 NADPH oksidaz**

Serbest radikal oluşturan bir diğerk enzim olan NADPH oksidaz nötrofillerin plazma zarında bulunmaktadır. Mitokondri tarafından alınan oksijenin yaklaşık %1-4'ü süperoksit anyonu üretimi için kullanılır ve üretilen süperoksit anyonunun yaklaşık %20'si hücrelere verilir. Makrofajlar ve monositleri içeren fagosit hücrelerde O<sub>2</sub> alımının artması ile aktiflik kazanan NADPH oksidaz, bu oksijeni süperoksit anyonuna dönüştürerek ekstraselüler sıvılardaki miktarını artırmaktadır (Duthie ve diğ., 1989).

#### **2.2.1.7 Nötrofil miyeloperoksidaz (MPO)**

Canlı sistemde güçlü oksidan kaynaklarından birisi de, hidrojen peroksit tarafından klorid iyonlarının oksidasyonu yoluyla hipoklorik asit üretimini katalizleyen "Nötrofilik miyeloperoksidaz" enzimidir. Bu reaksiyonun toksisitesi savunma sisteminde bakterilerin öldürülmesinde katkı sağlar. Buna karşılık, oluşan hipoklorik asit aynı zamanda  $\alpha$ 1-antiproteinaz'ı inaktive etmekte ve sağlıklı insan dokusunu zarara uğratarak iltihaplanmalara sebep olmaktadır (Lavelli ve diğ., 2000).

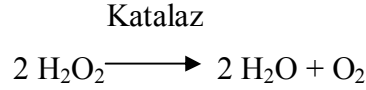
#### **2.2.1.8 Halojenlenmiş hidrokarbonlar**

Serbest radikal meydana getiren diğerk olaylar ise; kontamine içme sularında bulunan toksik etkili halojenlenmiş hidrokarbonlar ve hava kirleticileri olarak bilinen azot oksitleridir. Karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>) ve bromotriklorometan (CBrCl<sub>3</sub>) gibi hidrokarbonların biyolojik sistemlerdeki oksidatif hasarın başlamasında etkili oldukları rapor edilmektedir. Triklorometil, triklorometil peroksil radikalleri gibi oldukça reaktif türler, sitokrom P-450 monooksijenaz enzim sisteminin çeşitli aminoasit ve doymamış yağlarla hızlı reaksiyonu sonucu CCl<sub>4</sub>'ün metabolizması sırasında üretilmekte ve bunun sonucunda protein denatürasyonları ve lipid peroksidasyonu oluşmaktadır (Chen ve Tappel, 1996).

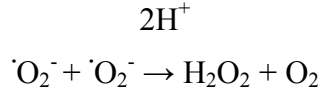
## 2.2.2 Enzimatik ve peptit savunma sistemleri

### 2.2.2.1 Katalaz ve peroksidaz

Katalaz enzimi redoks reaksiyonunu teşvik eden en etkili protein katalistlerinden birisidir (Larson, 1988). SOD enzimi faaliyeti sonucunda meydana gelen toksik hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), “katalaz” enzimi etkisiyle su ve oksijene dönüştürülmektedir (Duthie ve diğ., 1989).



Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), biyolojik önemi olan moleküllerin çoğu ile spesifik olarak reaksiyona girmemekle birlikte,  $\cdot OH$  radikali gibi daha reaktif oksidanların oluşumunda bir ön madde olarak rol oynamaktadır. Peroksidazlar da katalaz enzimiyle aynı özelliklere sahiptir (Larson, 1988).



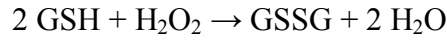
SOD

Bu reaksiyon, süperoksit anyonunun pH 11 ve altında oldukça stabil olmasına rağmen, enzim katalizi olmasa bile normal fizyolojik pH değerlerinde oldukça hızlı yürümektedir. Bununla birlikte, gerçekte tüm aerobik organizmaların SOD içerdiği belirlenmiştir. SOD enzimi reaksiyon hızını artırmak için yeterince güçlü bir katalisttir.

Süperoksit anyonu ( $\cdot O_2^-$ ) da,  $H_2O_2$  gibi bir oksidan olarak çoğu organik bileşikle direkt olarak reaktif değildir. Ancak muhtemelen daha reaktif ve yüksek toksisiteye sahip oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Tütün bitkisinin yaşlı yapraklarında membran dejenerasyonunun bir işareti olarak SOD ve katalaz enzim aktiviteleri azalma göstermektedir. Bu iki enzimin aktivitesi ve yapraklardaki lipid peroksidasyonunun derecesi arasında çok açık bir korelasyon belirlenmiştir. Bu enzimlerin, yaprağı lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerinden korumada önemli rolleri olduğu iddia edilmektedir (Larson, 1988).

### 2.2.2.2. Glutatyon ve glutatyon peroksidaz (GSHPx)

Tiyol grupları, enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak suretiyle görev yapan hücrese antioksidanlardır. Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan glutatyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin substratı olarak görev yapmaktadır. Suda çözünebiyen bir tiyol olan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan glutatyon, biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Bu koruma, enzimatik olarak gerçekleşmektedir (Di Mascio ve diğ., 1991). Aktivitesi için Se mineraline ihtiyaç duyan GSHPx enzimi, glutatyon'un indirgenmiş formunu (GSH), oksitlenmiş hale (GSSG) dönüştürmektedir.



Glutatyon aynı zamanda hücre içinde tekli oksijen ( $^1\text{O}_2$ ), süperoksit anyonu ( $\text{O}_2^-$ ), hidroksi ( $\text{OH}^\cdot$ ) radikalleri gibi birçok zararlı oksidanla enzim katalizi olmaksızın da reaksiyona girmektedir (Larson, 1988).

### 2.3 Fenolik Bileşikler

Bütün bitki metabolizmalarında, sekonder metabolit olarak bulunan ve bitkilerin kendilerini bazı zararlılara karşı korumada rolleri olduğu sanılan çok sayıda farklı nitelik ve miktarlarda çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır (Saldamlı, 2007). Bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanan fenolik bileşikler bitkilerde en yaygın bulunan maddeler grubu olup, günümüzde binlerce fenolik bileşiğin yapısı tanımlanmıştır (Kafkas ve diğ., 2006). Bunlara devamlı olarak bulunan yeni tanımlanan fenolikler eklenmektedir (Cemeroğlu, 2004)

Fenolik bileşikler bitkilerin meyve, sebze, tohum, çiçek, yaprak, dal ve gövdelerinde bulunabilirler (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999; Coşkun, 2006; Aydın ve Üstün, 2007). Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Flavonoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan polifenolik antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşmasında etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, sarı-esmer, kırmızı-mavi tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar. Meyve ve

sebzelerin işlenmelerinde enzimatik esmerleşme gibi değişik sorunlara da neden olmaktadır. Bu özellikler meyve ve sebzeler ile bunlardan elde edilen ürünler için son derece önemlidir (Cemeroğlu, 2004; Zor, 2007; Anonim, 2006). Tablo 2.3' de insanlar tarafından en çok tüketilen önemli bitkisel fenolik antioksidan kaynakları verilmiştir.

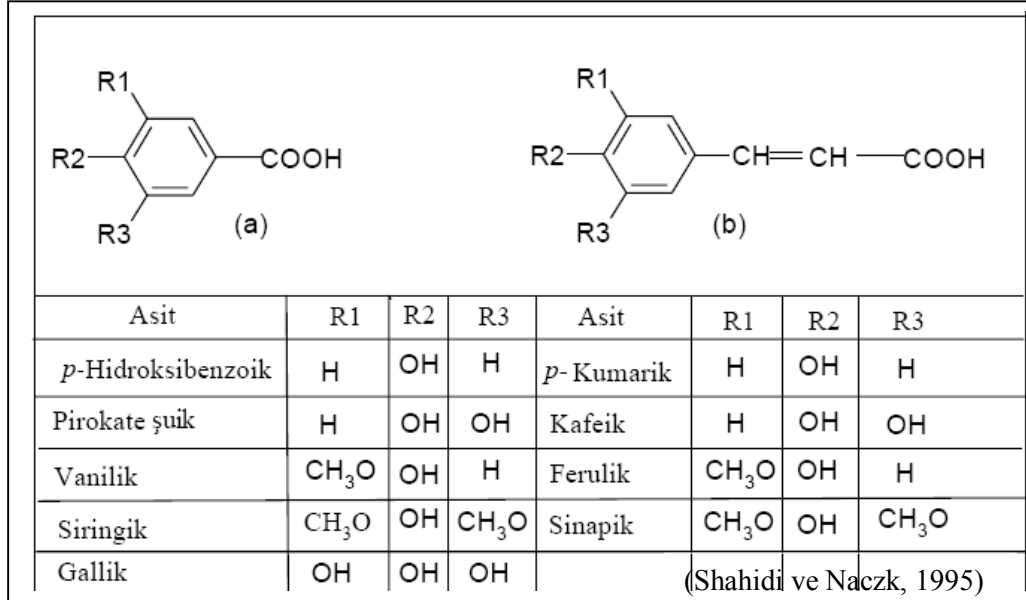
Meyveler, özellikle içerdikleri fenolik bileşiklerin antioksidatif ve antimikrobiyal etkilerine bağlı olarak sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedir (Pehlivan ve Güteryüz, 2004). Fenolik bileşiklere, beslenme fizyolojisi açısından olumlu etkileri nedeniyle "biyo flavonoid" adı da verilmektedir. Bazı kaynaklarda P faktörü (permeabilite faktörü) veya P vitamini olarak da adlandırılmaktadırlar (Saldamlı, 2007; Cemeroğlu, 2004). Ayrıca gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler; enzim inhibisyonuna neden olmaları ve değişik gıdalarda kalite kontrol ölçütü olmaları gibi nedenlerle de önem taşımaktadırlar (Saldamlı, 2007; Anonim, 2006).

## **2.4 Fenolik Bileşiklerin Kimyasal Yapıları**

Bitkisel materyallerde bulunan fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılırlar (Cemeroğlu, 2004).

### **2.4.1 Fenolik asitler**

Hidroksi benzoik ve hidroksisinamik asitler olarak iki gruba ayrılırlar. Hidroksibenzoik asitler C6-C1 fenilmetan yapısında olup, bitkisel gıdalarda genelde iz miktarda bulunurlar. Bunlar salisilik asit, hidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asitler gibi asitlerdir. Hidroksisinamik asitler ise C6-C3 fenilpropan yapısındadırlar. Fenilpropan halkasına bağlanan OH grubunun konumu ve yapısına göre farklı özellik gösterirler. Çok yaygın bulunanları; kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit ve o-kumarik asitlerdir. Bitkilerde büyük bir kısmı organik asitler ve şekerlerle esterleşmiş halde bulunan, fenolik asitlerin kimyasal yapıları Şekil 2.1'de görülmektedir (Saldamlı, 2007; Balasundram ve diğ., 2006).



Şekil 2.1: Fenolik asitlerin yapısı a) benzoik asit türevleri b) sinamik asit türevleri.

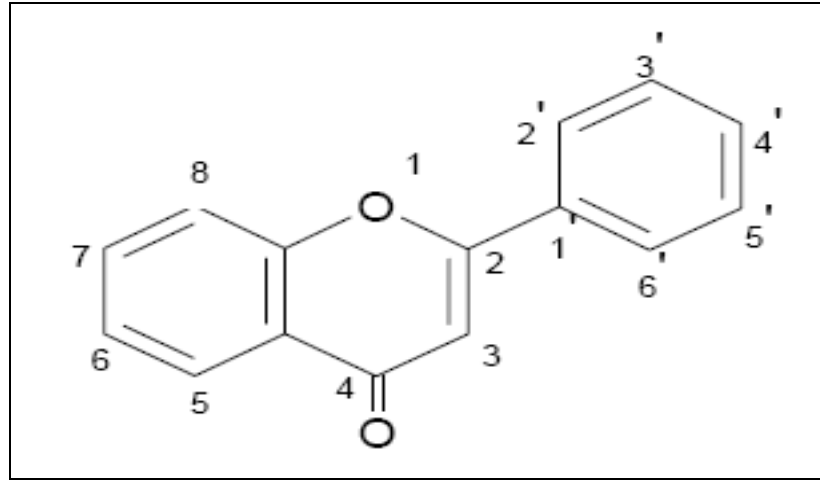
## 2.4 2 Flavonoidler

Flavonoidlerin karbon iskeleti, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren, difenilpropan (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) yapısındadır (Şekil 2.2). Flavonoidlerin yapısındaki OH grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla glikozitlenir (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999). Flavonoidler gıdalarda en yaygın bulunan polifenollerdir. Yaklaşık olarak 6500 farklı flavonoid olduğu bilinmektedir (Saldamlı, 2007).

Flavonoidler yapısal olarak beş grupta toplanır;

- 1- Antosiyanidinler
- 2- Flavonlar ve flavonollar
- 3- Flavanonlar
- 4- Kateşinler ve löykoantosiyandinler
- 5- Proantosiyandinler

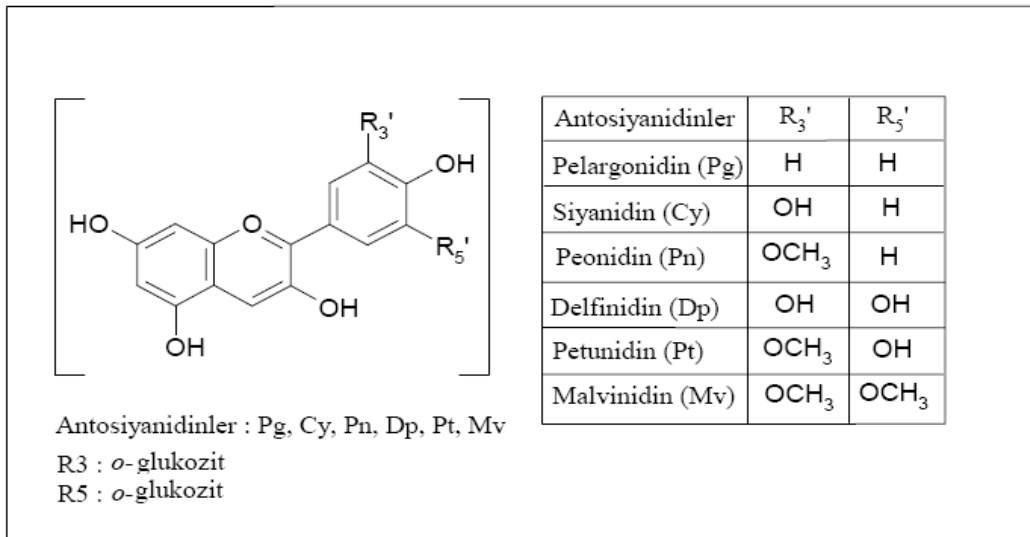




Şekil 2.2: Flavonoidlerin genel yapısı. (Shahidi ve Nacz., 1995)

#### 2.4.2.1 Antosiyanidinler

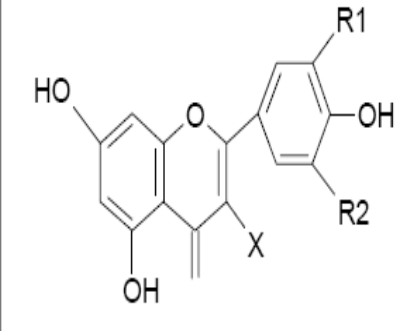
Doğada serbest halde bulunmazlar, şekerlerle glikozit bağ yapmış olarak bulunurlar ve antosiyanin adını alırlar. Antosiyaninler meyve ve sebzelerin pembe, kırmızı ve mor tondaki çeşitli renklerini veren suda çözünebilir nitelikteki renk pigmentleridir (Cemeroğlu, 2004). Bilinen pek çok antosiyanidinden meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan altı antosiyanidinin yapısı Şekil 2.3'de görülmektedir (Göğüş ve Fadıloğlu, 2006). Antosiyaninler bağlanan şekerlere ve bağlanma pozisyonuna göre adlandırılırlar (Shahidi ve Nacz, 1995).



Şekil 2.3: Antosiyanidinler ve antosiyanin pigmentlerinin yapısı. (Cemeroğlu, 2004; Göğüş ve Fadıloğlu, 2006; Fennema, 1985)

### 2.4.2.2 Flavonlar ve flavonollar

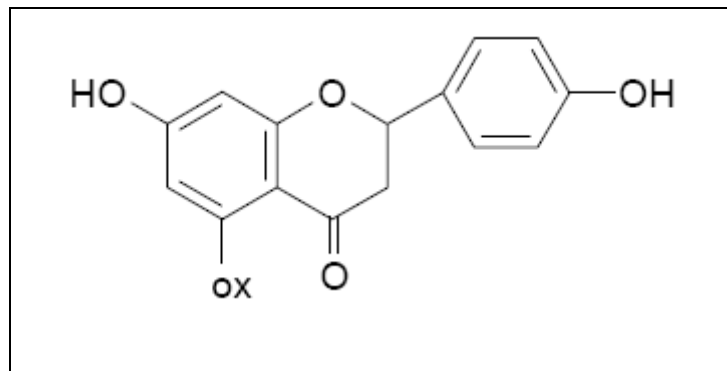
Şekil 2.4'te görüldüğü gibi orta halkanın 3. karbon atomuna flavonlarda (H), flavonollarda (OH) grubu bağlanmıştır. Antosiyanidinler gibi bunlarda şekerlerle glikozit halinde bağlanmış olarak bulunurlar (Saldamlı, 2007).

	Flavonollar (X = OH)	R1	R2	Flavonlar (X = H)	R1	R2
	Kamferol	H	H	Apigenin	H	H
Kuersetin	OH	H	Luteolin	OH	H	
Mirisetin	OH	OH	Krisoeriol	OCH <sub>3</sub>	H	
isoramnetin	OCH <sub>3</sub>	H	Trisin	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	

Şekil 2.4: Flavonollar ve flavonların kimyasal yapıları. (Cemeroğlu, 2004)

### 2.4.2.3 Flavanonlar

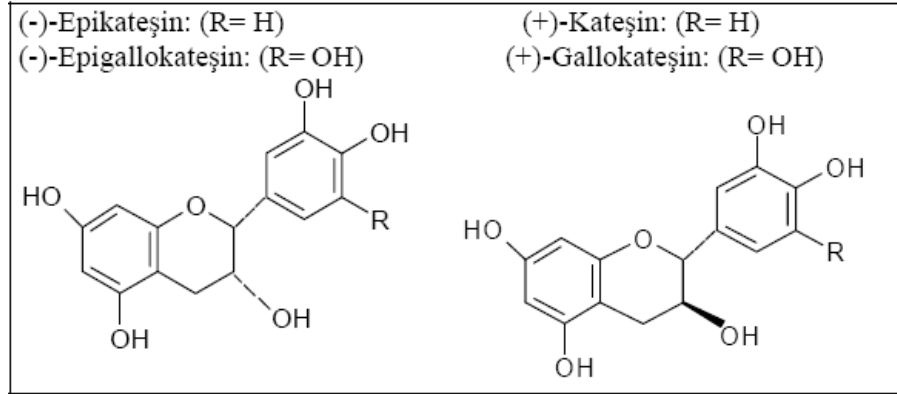
Flavonlardan farklı olarak Şekil 2.5'te görüldüğü üzere ortadaki halkada çift bağ bulunmaz. Bu glikozitler özellikle turunçgillerde yaygın olarak bulunurlar (Cemeroğlu, 2004). En önemlileri naringin, hesperidin ve naringeninidir. Özellikle elma ve armutlarda bulunan dihirokalkon yapısındaki bileşiklerden floretin ve floridzin önemlidir (Saldamlı, 2007).



Şekil 2.5: Flavanon. (Cemeroğlu, 2004)

#### 2.4.2.4 Kateşinler ve löykoantosiyanidinler

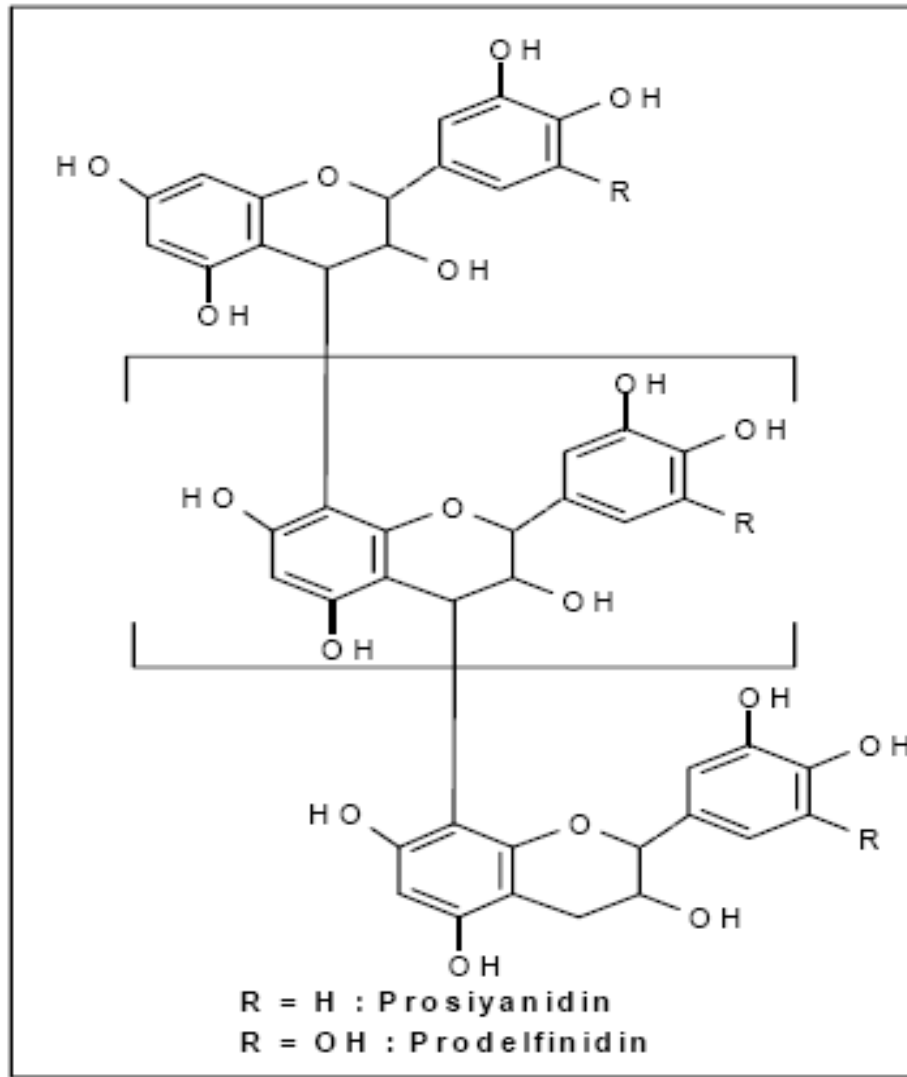
Kateşinler üçüncü karbon atomunda bir OH grubu içerirler. Kimyasal yapıları, “flavon-3-ol” dür. Şekil 2.6’da en yaygın bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları görülmektedir (Shahidi ve Nacz, 1995). Kateşinler gıdalarda yaygın olarak bulunan flavonoid grubunu oluştururlar. Hem kimyasal hem de enzimatik olarak hava oksijeni ile kolaylıkla kondanse olarak proantosiyanidinleri oluştururlar (Saldamlı, 2007).



Şekil 2.6: Yaygın olarak bulunan kateşinlerin kimyasal yapıları. (Shahidi ve Nacz, 1995)

#### 2.4.2.5 Proantosiyanidinler

Kateşinlerden veya löykoantosiyanidinlerden oluşan polimerik yapılara proantosiyanidinler denir. Şekil 2.7’de görüldüğü gibi sadece epikateşin/kateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa prosiyanidin, kateşin/gallokateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa prodelfinidin denir. Bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan proantosiyanidinler; (-) epikateşin ve (+) kateşin kombinasyonlarından oluşan dimerlerdir (Saldamlı, 2007; Shahidi ve Nacz, 1995).



Şekil 2.7: Protosiyonidinlerin kimyasal yapısı. (Shahidi ve Nacz, 1995)

Tablo 2.3: İnsanların en çok tükettikleri bitkisel fenolik antioksidan kaynakları

<b>Bitkiler</b>	<b>Antioksidanlar</b>	<b>Kaynaklar</b>
<b>Meyveler</b> Dut çeşitleri	Flavanoller hidroksisinamikasitler, hidroksibenzoikasitler, antosiyaninler	Hakkinen ve diğ. (1998), Belitz ve Grosch (1999), Wang ve Lin (2000), Yanishlieva-Maslarova ve Heionen (2001), Manach ve diğ., (2004)
Siyah üzümler	Antosiyaninler, flavonoller	Belitz ve Grosch (1999), Yanishlieva-Maslarova ve Heionen (2001), Manach ve diğ. (2004)
Kirazlar	Hidroksisinamikasitler, antosiyaninler	Belitz ve Grosch (1999), Yanishlieva-Maslarova ve Heionen (2001), Manach ve diğ. (2004)
Narenciye meyveleri	Flavanoller, Flavonoller, fenolik asitler	Yanishlieva-Maslarova ve Heionen (2001), Beecher (2003), Manach ve diğ. (2004)
Erik, elma, şeftali, kivi çeşitleri	Hidroksisinamikasitler, Kteinler	Belitz ve Grosch (1999), Yanishlieva-Maslarova ve Heionen (2001), Manach ve diğ. (2004)
<b>Sebzeler</b> Patlıcanlar	Antosiyaninler, hidroksisinamik asitler	Manach ve diğ. (2004)
Hindiba, enginar	Hidroksisinamik asitler	Manach ve diğ. (2004)
Maydonoz	Flavonlar	Manach ve diğ. (2004), Beecher (2003)
Yeşil soğan, kıvrıkcık marul	Flavonoller	Manach ve diğ. (2004)
Fasulyeler	Flavanoller	Manach ve diğ. (2004)
Ispanak	Flavonoidler, p-kumarik asit	Bergman ve diğ. (2001)
Un, buğday, yulaf, prinç	Kafeik asit ve ferrulik asitler	Yanishlieva-Maslarova ve Heionen (2001), Manach ve diğ. (2004)

## 2.5 Beslenmenin Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkisi

Vücudun antioksidan dengesi diyetten büyük ölçüde etkilenmektedir. Besin yetersizlikleri nedeniyle vücudun savunma mekanizmaları tahrip olduğu zaman patolojik koşullar oluşabilmektedir. Reaktif oksijen türlerindeki artış ve savunma sistemlerindeki bir yetersizlik vücuttaki antioksidan dengesinin bozulmasına ve “oksidatif stres” koşullarının oluşmasına sebep olmaktadır.

Antioksidan savunma sisteminin etkinliği; E vitamini, C vitamini ve karotenoidler gibi antioksidan vitaminleri ve esansiyel iz mineralleri içeren gıdaların yeterince alınmasına bağlıdır (Duthie ve diğ., 1989). Bu vitaminler birlikte etkin bir şekilde çalışarak hastalık ve hasarlara neden olan zararlı reaktif oksijen türlerinin etkisini ortadan kaldırmaktadır.

E vitamini (tokoferoller), yağda çözünebilen başlıca antioksidanlardan olup tüm hücre membranlarında bulunmakta ve çoklu doymamış yağ asitlerini oksidasyona karşı korumaktadır (Diplock, 1998). E vitamininin yüksek dozlarda diyetle ilavesinin LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) düzeylerini önemli ölçüde artırdığı ve oksidatif strese karşı oldukça koruyucu olduğu bildirilmektedir (Reaven ve diğ., 1993). Askorbik asit de vücudun ekstraselüler sıvılarında bulunan ve suda çözünebilen önemli bir antioksidandır. Vücutta sentezlenemediği için gıdalarla dışarıdan alınması gerekmektedir. Askorbik asidin indirgen bir ajan olmasının yanısıra E vitaminini rejenere etme özelliği vardır (Diplock, 1998).

Karotenoidler ise; antioksidan aktivitelerini serbest radikal reaksiyonlarına katılarak zararlı hidrojen peroksitlerin oluşum hızını azaltmak suretiyle gösterirler (Di Mascio ve diğ., 1991). Önemli diyet karotenoidlerinden  $\beta$ - karoten; sarı, turuncu sebze ve meyvelerde, yeşil sebzelerde, likopen; domateste ve lutein; brokoli ve lifli yeşil sebzelerin yapısında bulunmaktadır (Diplock, 1998).

Özellikle bitkisel gıdalarda bulunan fenolik bileşikler de indirgen ajan, hidrojen verici, tekli oksijen yakalayıcı ve metal kelatör olmaları nedeniyle önemli antioksidanlar arasında sayılmaktadır (Rice-Evans ve diğ., 1996).

## 2.6 Bitkilerin Antibakteriyel Ajan Olarak Kullanımı

Antibiyotiklerin aşırı kullanımı nedeniyle pek çok mikroorganizma antibiyotiklere direnç kazanmıştır. Antibiyotik direnci küresel bir sorun haline gelmiştir. Bu nedenle de yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Yeni antibiyotiklerin araştırılması farklı kaynaklardan antimikrobiyal maddelerin değişik mikroorganizmalar üzerine test edilmesiyle gerçekleştirilmektedir. Yeni antibiyotikler elde etmenin bir diğer yolu da, tıbbi bitkilerle ilgili tecrübelerden yararlanmaktır (Lauterwein ve diğ., 1995). Bitkiler içerdiği uçucu yağlar ve diğer fitokimyasal maddeler nedeniyle bir çok mikroorganizmanın üremelerinin inhibe etmek amacıyla alternatif tıpta ve gıdaların korunmasında kullanılmaktadır (Hammer ve diğ., 1999).

Kemotörapatiklerin başarısızlığa uğraması ve antibiyotiğe dirençli patojenik mikroorganizmaların enfeksiyonları, antimikrobiyal aktiviteleri açısından pek çok bitki sekonder metabolitinin araştırılmasına neden olmuştur (Parekh ve Chanda, 2007). Dünya Sağlık Organizasyonu (WHO) tarafından gerçekleştirilmiş bir çalışmada, dünya üzerinde hastalıkları tedavi etmede kullanılan tıbbi bitki türlerinin sayısının yaklaşık 20.000 kadar olduğu belirtilmiştir (Aslan ve diğ., 1999).

Günümüzde birçok bitkinin uçucu yağları ve diğer bileşenlerinden antimikrobiyal aktivite çalışmaları önem kazanmıştır. Disk difüzyon yöntemi, kuyucuk yöntemi gibi metodlarla bitkisel ekstratların antibakteriyel aktivitelerine bakılabilmektedir. “*Salvia*”, “*Thymus*”, “*Allium*”, “*Eucalyptus*” gibi daha bir çok cinsin antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu bilinmektedir (Hamburger ve diğ., 1991; Benli ve Yiğit, 2005).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Çalışma materyallerini Caryophyllaceae familyasından *Gypsophila* cinsine ait *G. eriocalyx* Boiss. ve *G. sphaerocephala* Fenzl. ex Tchihat. var. *sphaerocephala* taksonları oluşturmaktadır. Bu taksonların toprak altı kısımları kullanılmıştır.

##### 3.1.1 *Gypsophila* L. cinsinin genel özellikleri

Tüysüz, salgı tüysüz veya daha sık olarak salgı tüylü tek yıllık, iki yıllık ve çok yıllık otlar, çoğunlukla yarı çalimsılar. Yaprakları şeritsi-mızraksı şekilli, nadiren geniştir. Çiçekleri genellikle dikazyum simlerde, panikulalarda veya başçıklarda dizilmiş küçük ve çok sayıdadır. Brakteleri yeşil veya seyrek tüylüdür, brakteoelleri yoktur. Kaliks çan, konik, nadiren tüp şeklindedir, 5 dişlidir, çoğunlukla kalsiyum oksalat kristalleri içerir. Petal sayısı 5, beyazdan pembeye dönüşen renklere, çoğunlukla kırmızımsı morumsu damarlı, şeritsiden baklava dilimine benzeyen şekillerdedir, aya ve genellikle ayrı, korolla pulları yok, claw kanatsız. Erkek organlar (stamenler) 10 tane. Dişi organın boyuncuğu (stilus) 2 tanedir. Meyve küreden dikdörtgensel şekiller arasında 4 bölmeli bir kapsüldür. Tohumlar çıkıntılı nadiren düzdür (Davis, 1967).

Çalışmada kullanılan *Gypsophila* taksonlarına ait toplama ve lokalite bilgileri Tablo 3.1'de verilmiştir.



Tablo 3.1: Çalışılan *Gypsophila* taksonlarına ait lokalite bilgileri.

Takson adı	Lokalite	Toplama tarihi
<i>Gypsophila sphaerocephala</i> Fenzl ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i>	C2 Denizli: Babadağ, Evran tepe, 1985 m, taşlık ve kayalık alanlar, <i>Acantholimon</i> , <i>Sideritis</i> , <i>Astragalus</i> , <i>Verbascum</i> , <i>Dianthus</i> , <i>Thymus</i> , <i>Pinus nigra</i> , <i>Sedum</i> , <i>Festuca</i> , <i>Minuartia</i> , <i>Ziziphora</i> spp. GPS: N 37° 42.976' E 028° 55.229'	29.10.2011
<i>Gypsophila eriocalyx</i> Boiss.	A4 Çankırı: Çankırı'nın 30 km kuzeyi, 710 m, 1. Hemzemin geçidine 1 km kala yolun sağ ve solunda jipsli alanlar ve gevşek topraklar. GPS: N 40° 43.267' E 033° 34.901'	18.09.2011

Toplanan taksonların teşhisleri Flora of Turkey'e göre yapılmış, morfolojik tanımları aşağıda verilmiştir (Davis 1967).

### 3.1.2. *Gypsophila eriocalyx* Boiss.'in morfolojik tanımı

Odunsu taban gövdeli çok yıllık, çok sayıda steril sürgünleri olan ve çoğu dik, tüylü, papil tüylü veya çıplaklaşmış 15-40 cm boyunda gövdeli bitkiler. Yapraklar şeritsi, taze, üç köşeli veya düz, akut uçlu, 10-30 x 0,5-2,5 mm, tüysüz, düz, skabrid-papilloz veya kısa tüylü. Çiçek durumu çok sayıda çiçekli ve dallı dikdörtgensi panikula. Brakteler az çok skarioz, mızraksı. Çiçek sapları 0,5-5 mm. Kaliks çan şeklinde 2-2,5 mm, ovat, obtuz dişli. Yoğun olarak uzun yayık düz papilla gibi tüylerle örtülü. Petaller beyaz, 3-4 mm, şertisi-dikdörtgensi şekilli, obtuz uçlu. Tohumlar yassı çıkıntılı.

*Gypsophila eriocalyx* Boiss.'in taksonomik hiyerarşisi aşağıdaki gibidir;

Alem:	Plantae
Alt alem:	Tracheobionta
Bölüm:	Magnoliophyta
Sınıf:	Magnoliopsida
Alt sınıf:	Caryophyllidae
Takım:	Caryophyllales
Familiya:	Caryophyllaceae

Cins: *Gypsophila* L.

Tür: *Gypsophila eriocalyx* Boiss.

### 3.1.3. *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl. ex Tchihat. var. *sphaerocephala*'nın morfolojik tanımı

Çok yıllık, tamamen tüysüz veya sadece brakteleri ve kaliksleri salgı tüylü bitkiler. Rizom odunsudur. Gövdeler çok sayıda, tabanda odunsu, kırılğan yapıda, 10-70 cm boyundadır. Yapraklar şeritsi, üç köşeli ya da düz, 10-60 x 0,5-3 mm, dar aküminat. Çiçek durumu çok sayıda sapsız çiçeğin kümelenmesiyle oluşmuş 4-18 mm çapında bir küre. Brakteler dikdörtgensi-yumurtamsı şekilli, aküminat uçlu. Kaliks çan şeklinde, 3-4,5 mm, az çok aküminat dişli. Petaller 4,5-7 mm, beyazdan soluk pembe renkler arası (Şekil 3.1 ve 3.2) şeritsi, küt uçlu. Tohumlar akut çıkıntılı.

*Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala*'nın taksonomik hiyerarşisi aşağıdaki gibidir;

Alem: Plantae

Alt alem: Tracheobionta

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Alt sınıf: Caryophyllidae

Takım: Caryophyllales

Familya: Caryophyllaceae

Cins: *Gypsophila* L.

Tür: *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich.

Takson: *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var.

*sphaerocephala*

### 3.1.4 Antibakteriyel aktivite çalışmasında kullanılan bakteriler

Tablo 3.2’de belirtilen bakteriler 19 Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim görevlisi Prof.Dr. Nevzat ŞAHİN tarafından temin edilmiştir. Bu bakteriler, insanlar için patolojik güçlü etkilere sahip olduğu için seçilmiştir.

Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan bakteriler.

Bakterilerin isimleri
<i>E.coli</i> MC.4100
<i>Citrobacter freundii</i> NRRL-B 2643
<i>Providencia stuartii</i>
<i>Proteus vulgaris</i> NRRL-B-123
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NRRL-B-2679
<i>Enterobacter aerogenes</i> NRRL-B- 3567
<i>Bacillus licheniformis</i> NRRL-B- 1001
<i>Bacillus cereus</i> NRRL-B-3711
<i>Bacillus pumilis</i> NRRL-BD-142
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Bitkisel materyalin toplanması

#### 3.2.1.1 *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala*’nın toplanması

*G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala* Tablo 3.1’de belirtildiği gibi Evran Tepe bölgesinden toplanmıştır. (GPS: N 37° 42.976' E 028° 55.229', 1985 m) *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala*’nın toprak altı bölgesini çalışmamızda kullanacağımız için bitkinin bulunduğu yerden etrafı geniş bir açı ile sivri uçlu kazma yardımıyla açılarak toprak altı kısmı görünür hale getirildi. Bitkinin köküne zarar vermeden dip kısma kadar kazılarak (yaklaşık olarak

30-50 cm) kökü ile birlikte topraktan çıkartıldı. Şekil 3.3’de görüldüğü üzere farklı kök büyüklüğüne sahip çok sayıda örnek toplandı.



Şekil 3.1: *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala*'nın doğal görünüşü



Şekil 3.2: *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala*'nın çiçeği.



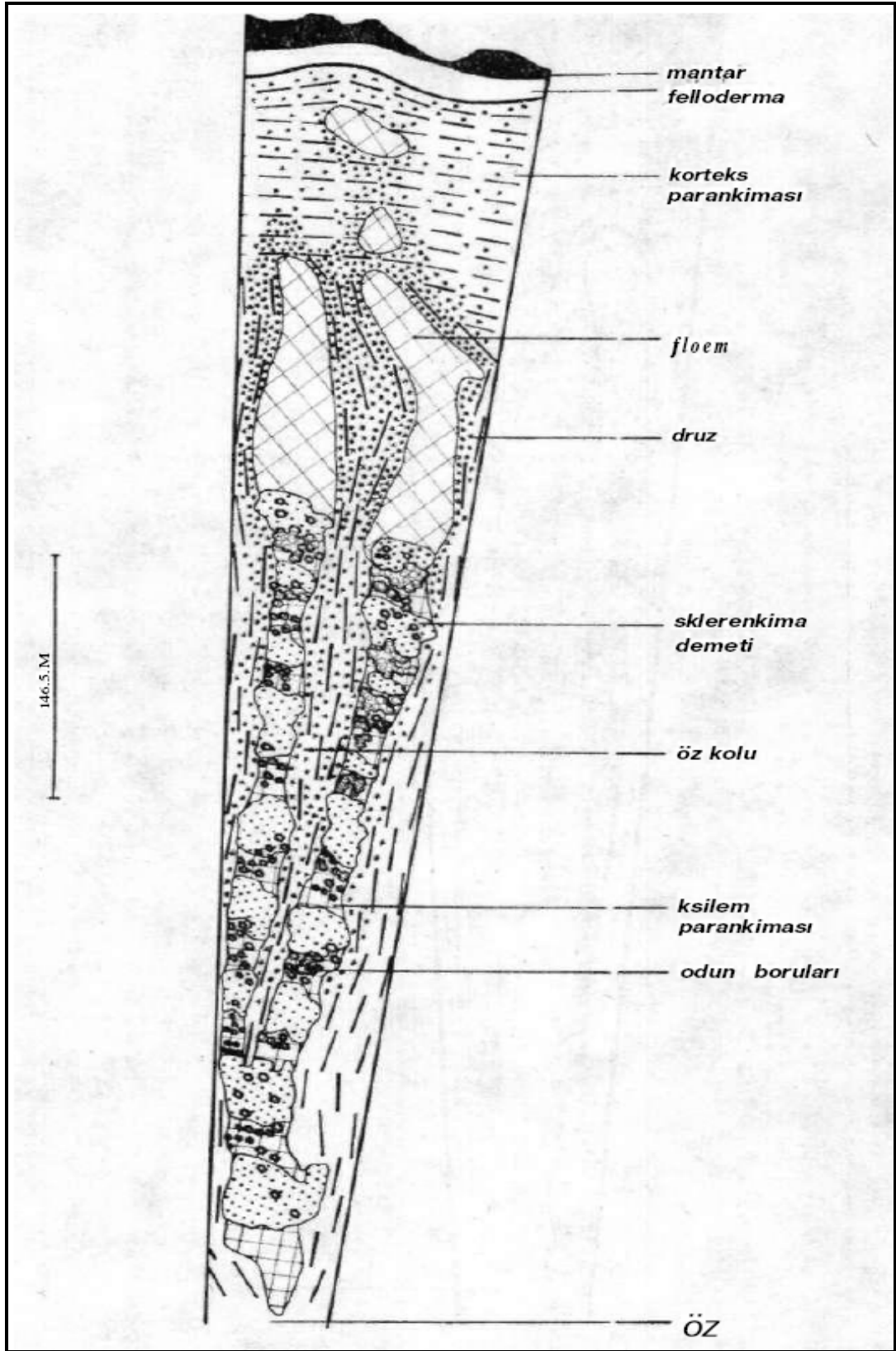
Şekil 3.3: *G. sphaerocephala* var. *sphaerocephala*'nın toprak altı kısımları.

### 3.2.1.2 *Gypsophila eriocalyx* Boiss.'in toplanması

*G. eriocalyx* Boiss. bitkisi Çankırı karayolu Çankırı'ya 30 km kala yâ da 1. hemzeminine 1 km kala yolun sağında ve solunda jipsli olan gevşek topraklardan (GPS: N 40° 43.267' E 033° 34.901' 710 m) toplanmıştır. Bitkinin toprak altı kısımları kazma yardımıyla dikkatli bir şekilde bitkiye zarar vermeden kazılarak çıkartıldı (Şekil 3.4) farklı kök büyüklüklerine sahip *G. eriocalyx* Boiss. bitkisinden çok sayıda örnek homojen bir şekilde toplandı. Bu iki bitkinin de kökü gevrek ve kırılğan olduğu için toprak altı kısımları çıkartılırken dikkatli bir şekilde bitkiye zarar vermeden çıkartılmaya özen gösterildi. Çorum-Yozgat çöveni olarak da bilinen *G. eriocalyx* Boiss.' in enine kesiti Şekil 3.5'te verilmiştir.



Şekil 3.4: Toplanan *G. eriocalyx* Boiss. bitkisinin toprak altı kısımları.



Şekil 3.5: Çorum-Yozgat çöveninin enine kesitinin şeması. (Sezik, 1982)

### 3.2.2 Bitkisel Materyalin ekstraksiyon işlemine hazırlanması

Toplanan *Gypsophila eriocalyx* Boiss. ve *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala* taksonunun ekstraksiyon işlemine hazırlama aşamaları bir biri ile aynı süreçleri içerir. Her iki takson örneğimiz içinde sırasıyla aynı işlemler uygulandı.

Her iki bitkinin toplandıktan sonra toprak üstü kısımları (dal, gövde, çiçek, vd.) temizlenerek sadece toprak altı kısımları elde edildi. Daha sonra bu toprak altı kısımları su ile yıkanarak üzerinde bulundurduğu topraktan arındırıldı. Yıkama işlemi mümkün olduğunca çabuk yapıldı çünkü bu bitkiler içerdiği “saponin” maddesi nedeniyle su ile buluşunca köpürme özelliğine sahiptir.

Bitkilerin suyu kuruyup süzdükten sonra bağ makası yardımıyla kökleri şekil 3.6’ da görüldüğü gibi küçük parçalara ayrıldı. Parçalara ayrılan *G. eriocalyx* Boiss. ve *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala* taksonlarının toprak altı kısımları güneş görmeyen tozdan ve nemden uzak bir ortamda kurumaya bırakıldı. Tamamen kurumuş olan bitkinin toprak altı kısımları pamuklu bez torbalarda muhafaza edildi.

Daha sonra elektrikli değirmende öğütmek için yeterince kuruyan bitkiye ait kısımlar 30-40 gram olmak üzere, azar azar elektrikli değirmene (FRITSCH-Pukverisette) koyularak (Şekil 3.7) 5 ile 8 dakika arasında öğütülerek toz haline getirildi (Şekil 3.8). Toz haline gelen örnekler elek ile elendi ve elek üstü kısımları tekrar öğütücüde toz haline getirildi ve tekrar toz haline gelen numuneler bir kez daha eleme işleminden geçirilerek elendi. Bunu yapmamızdaki amaç substrat yüzeyini arttırmak ve bu sayede etki yüzeyini de arttırmaktı. Böylece ekstraksiyon sırasında kullandığımız kimyasal, bitkiye daha iyi nüfuz ederek, içerdiği bileşenleri daha iyi bir şekilde çözer ve sokslet cihazı ile yaptığımız ekstraksiyon işleminden daha verimli sonuç almamızı sağlar.

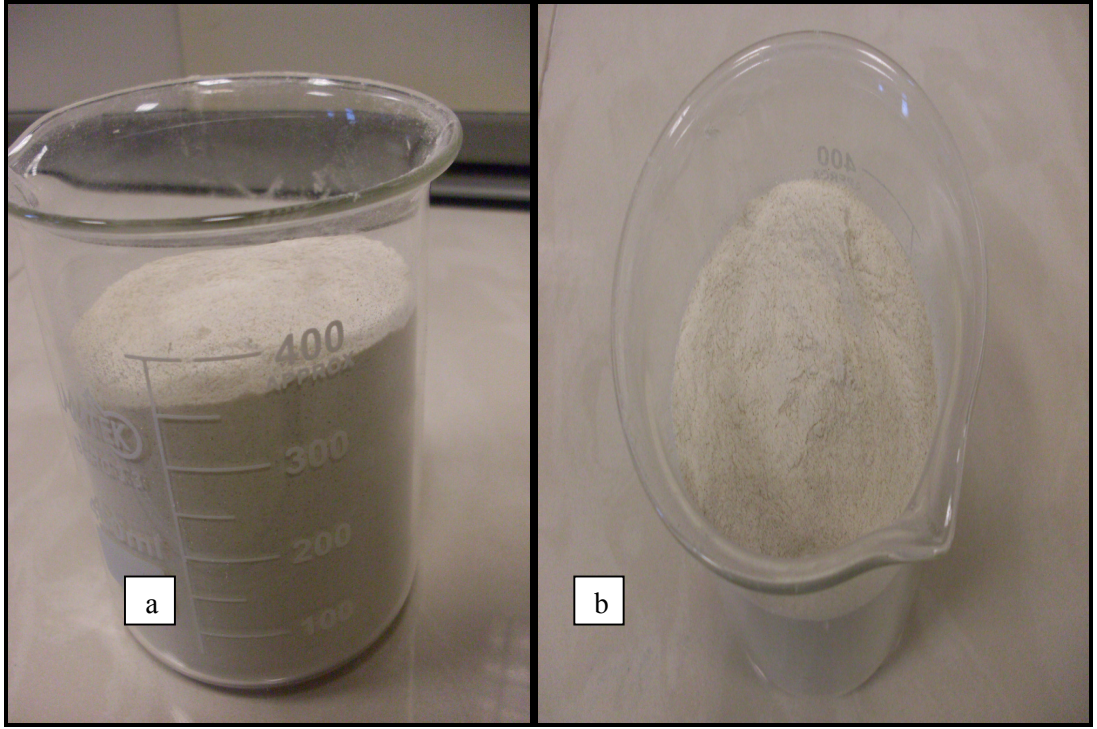




Şekil 3.6: Bitkinin toprak altı kısımlarının küçük parçalara ayrılmış hali.



Şekil: 3.7: Küçük parçalara ayrılan kurumuş bitki köklerinin toz haline getirilmesi.



Şekil 3.8: a) *Gypsophila eriocalyx* Boiss. ve b) *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala*'nın öğütülmüş hali.

### 3.2.3 Bitkisel materyalin ekstraksiyon işlemi

Kurutularak toz haline getirilmiş *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala* ve *Gypsophila eriocalyx* Boiss.'in toprak altı kısımlarının ekstraksiyon işlemi sokslet cihazı (soxhlet extractor) ile yapılmıştır. Cihaz, ekstraksiyonda kullanılacak olan çözücünün konduğu balon, ekstrakte edilecek olan maddenin konduğu gövde ve geri soğutucudan oluşmaktadır.

Ekstraksiyon balonunda ısı ile buharlaşan çözücü geri soğutucu ile tekrar sıvı hale gelir ve gövde de toplanır, sıvı miktarı belli bir seviyeyi aştığında, sıvı sifon yapar ve işlem istenildiği kadar tekrarlanır (Erdik, 1997). Antioksidan bileşikleri, bitkiden ekstrakte etmede ekstra saf kloroform (extra pure chloroform) kullanılmıştır.

Kurutulup toz haline getirilen materyal, toplamda her bir bitkiden 1000 g olmak üzere kartuş içine konularak sokslet cihazında 8 saat süreyle kloroform ile (100 g örneğe, 300 ml kloroform) ekstrakte edildi (Şekil 3.9 ve 3.10). Bu sayede antioksidan bileşikler; flavonoidler, büyük çoğunluğu yağlar olan, reçinemsiz apolar maddeler kloroformda çözülerek “ekstrakt” elde edilmiş oldu. Bundan sonraki aşamayı rotar başlı evaporatör yardımıyla kloroformun uçurulması işlemi izledi (Şekil 3.11).



Şekil 3.9: Sokslet cihazı ile bitkisel materyalin ekstraksiyon işlemi.



Şekil 3.10: Sokslet cihazı ile elde edilen ekstraksiyon sıvısı.

Uçurma işlemi kloroformun kaynama derecesine ulaşmadan 50 °C de 60 rpm de ve her bir ekstraksiyon sıvısını içeren balon için 1-1,5 saat evaporatörde (Şekil 3.10) döndürülerek yapıldı. Bitki ekstratı ayrı bir balonda, kloroform da soğutucu hazneden geçtikten sonra ayrı bir balonda toplandı. Böylece kloroformdan arındırılmış olan ekstrat, içinde bulunduğu balon hazneden alınarak liyofilizatör işlemi uygulanmak üzere buzdolabında +4 °C’de muhafaza edildi.

Liyofilizasyon: Isıya hassas materyallerin kurutulma veya deriştirilmesinde kullanılan en etkili metotlardan biridir. Ayrıca, biyolojik materyallerin taşınması veya depolanması gibi durumlarda da tercih edilmektedir. Liyofilizasyon, donmuş bir materyalden bir çözücünün doğrudan vakum altında buharlaştırma ile uzaklaştırılması işlemiyle yapılan bir kurutma tekniğidir. Böylece ürünün içinde bulunan sıvının (su) süblimasyonla uzaklaştırılması sağlanır. Biz de ekstratta kloroform ve su kalma ihtimaline karşı liyofilizasyon yöntemini uyguladık.

Bu uygulama sonucunda *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala* ve *G. eriocalyx* Boiss. taksonlarının ekstraksiyon işlemi tamamlanmış oldu ve

antioksidan aktivite ve toplam fenolik bileşik tayinleri yapılmak üzere buzdolabında kehribar saklama şişelerinde muhafaza edildi.



Şekil 3.11: Bitkisel ekstraksiyonların evaporatörde kloroformdan uzaklaştırılması.

### 3.2.4 Toplam fenolik bileşik ve antioksidan kapasite tayini

#### 3.2.4.1 Toplam fenolik bileşik

Total fenolik içerik kalorimetrik oksidasyon/ reaksiyon azalmasına dayanan Skerget ve diğ. (2005) metodunun modifiye edilmiş şekline göre belirlenmiştir. Bu amaç ile örneklerden 0.5g tartılarak üzerine çalışma solüsyonu eklendi. 0.5g örneğe 4.5 ml %50-%50 metanol su karışımı eklendi. 24 saat ara ara çalkalama işlemi yapılarak +4 °C’ de buzdolabında bekletildi. 24 saat sonra 5 dakika 5000rpm de santrifüj edildi.

Böylece çözücüsünden uzaklaştırılan süpernatandan 2 ml örnek alındı ve 10 kat seyreltilmiş 10 ml Folin-Ciocalteu reagent (ayıracı) ile karıştırıldı. Folin-Ciocalteu ayıracı yöntemi, gıdaların antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde basit, tekrarlanabilir ve güvenilir bir yöntemdir. 8 ml sodyum bikarbonat solüsyonu (20% w/w) eklendi, oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon işleminden sonra spektrofotometrede 760 nm absorbansta okutuldu. %50-%50 metanol su solüsyonu boş örnek olarak kullanıldı. Standart hazırlamak için “Gallik asit”

kullanıldı. Kalibrasyon için %50-%50 metanol su karışımı ile beraber farklı konsantrasyonlarda gallik asit hazırlandı. Kalibrasyon işlemi tamamlandıktan sonra absorbansları ölçülen numunelerden alınan sonuçlar mmol olarak ve gallic acid equivalent/g (gallik asit eşdeğerliliği)' a Skerget ve diğ. (2005) göre değerlendirildi.

#### **3.2.4.2 Antioksidan kapasite tayini**

Örneklerden 0.5g tartılarak üzerine çalışma solüsyonu eklendi. 0.5g örneğe 4.5 ml %50-%50 metanol su karışımı eklendi ve örnek hazırlama işlemi yukarıda belirtildiği gibi yapıldı.

TAC (Total antioksidan kapasitesi) seviyeleri Erel (2004)' ün yöntemine göre ticari olarak hazır kit (Relassay, Turkey) kullanılarak spektrofotometre ile (734 nm) ölçüldü. Antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde yerleşmiş bir metot olan bu yöntem, çok uzun süre asetat buffer solüsyonu içinde oldukça stabil kalan ABTS [2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline- sulfonic acid)] radikal katyonunun (pozitif yüklü iyon) oldukça kararlı olan karakteristik renginin ağartılmasına dayanır.

ABTS oldukça yoğun konsantrasyonlu, yüksek pH değerindeki asetat bufferı ile dilüe edilirken renkte kendiliğinden ve yavaş bir şekilde açılma (ağarma) meydana gelmektedir. Antioksidanlar asetat örneğinde konsantrasyonlarına uygun/orantılı bir şekilde ağarma/açılma oranı gösteriler. Bu spektrofotometrik olarak tespit edilebilir ve ağarma/açılma oranı numunenin total antioksidan kapasitesi (TAC) ile ters orantılıdır. Reaksiyon oranı, standart TAC ölçüm yöntemi için geleneksel olan, yaygın bir şekilde kullanılan "Trolox" ile kalibre edilmiştir.

Sonuçlar mmol trolox equivalent/g olarak hesaplandı.

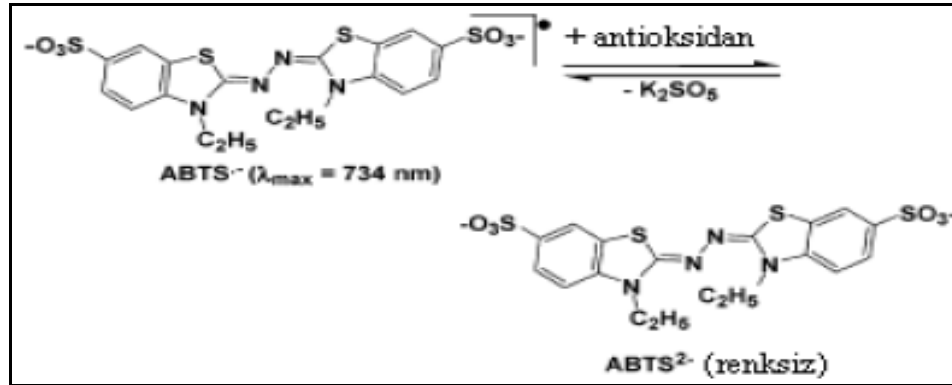
#### **3.2.4.3 Troloks eşiti antioksidan kapasite (TEAC) yöntemi**

"TEAC (Troloks eşdeğer antioksidan kapasite) analizi ilk olarak Miller ve Rice-Evans tarafından 1993 te rapor edilmiştir". Daha sonraları ise bu yöntem geliştirilmiştir (Huang ve diğ., 2005). Bu yöntemde ABTS [2,2'-azonobis (3- etilbenzothiazoline-6-sulfonatperoksil)] veya diğer oksidanlara okside olur ve ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonu oluşur. Oluşan ABTS radikal katyonu oldukça şiddetli bir renge sahiptir. Antioksidan kapasite, test bileşeninin ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonu ile direkt olarak reaksiyona girmesi ile renk şiddetindeki azalma ölçülerek belirlenir (Prior ve diğ., 2005). 1 mM deneysel örneğin absorbansta yaptığı değişim kadar

değişim yapan Troloks konsantrasyonu TEAC değeri olarak tanımlanmaktadır (Huang ve diğ., 2005).

Bu yöntem gıda örneklerinin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için yaygın bir şekilde kullanılmıştır (MacDonald-Wicks ve diğ., 2006; Prior ve Cao, 1999; Huang ve diğ., 2005) 660, 734 ve 820 nm’de maksimum olan karakteristik uzun dalga boylu absorpsiyon spektrumu gösteren ABST radikal katyonun absorbansının antioksidan tarafından inhibisyonuna dayanmaktadır. Bu yöntemin seçilmesindeki amaç ise bu spektrofotometrik yöntem teknik olarak basit bir yöntemdir. Yöntem DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) yönteminin tersine, geniş pH aralığında kullanılabilir ki antioksidan mekanizmasında pH’ın etkisini çalışmayı sağlar. Böylece antioksidan mekanizmasında pH’ın etkisinin çalışılması için kullanılabilir. Lipofilik ve hidrofilik bileşiklerin antioksidan kapasitesini belirlemek için kullanılabilir (Prior ve diğ., 2005; Lussignoli ve diğ., 1999).

Orijinal yöntemde hidrojen peroksit ile metmiyoglobinin aktivasyonu sonucu ferrilmiyoglobin oluşur. Bu bileşik daha sonra ABTS’ den [2,2-azinobis (3- etilbenzothiazollin-6 sulfonik asit)] ABTS<sup>•-</sup> radikal katyonunun oluşmasına neden olmaktadır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12: Potasyum persülfat oksidasyonu ile ABTS<sup>2-</sup>’den oksidan ABTS<sup>•-</sup>’nin meydana gelmesi. (Huang ve diğ., 2005)

### 3.2.5 Bitkisel örneklerin antibakteriyel aktiviteleri

Öğütülerek toz haline getirilen ve kloroform ile ekstraksiyonları yapılan ve liyofilizatör işlemine tabi tutulan her iki bitki örneğinden elde edilen ekstratların antimikrobiyal özellikleri, Tablo 3.2’de adı geçen bakteriler üzerinde drigalski özesi yardımıyla çalışılmıştır. Negatif kontrol olarak otoklavda steril edilmiş su pozitif

kontrol olarak da azitromisin (Azm) ile penisilin (P10), bakteriyel örnekleri içeren petri kaplarına yerleştirilmiştir.

### **3.2.5.1 Bakterilerin aktifleştirilmesi**

Bakterilerin aktifleştirme işlemi Nutrient Broth tüplerinde 37 °C’de ve 24 saatlik inkübasyona bırakılarak yapılmıştır.

### **3.2.5.2 Besi yerlerinin hazırlanması**

Besiyeri hazırlamasında Nutrient Broth (Merck), Agar (Fluka) ve dH<sub>2</sub>O kullanılmıştır. Kullanılan miktarlar şu şekildedir:

Nutrient Broth → 1litre dH<sub>2</sub>O’ya 8g

Agar (katılaştırıcı ajan) → 1litre dH<sub>2</sub>O’ya 15g

Besiyeri içerikleri hassas terazide itinayla tartılarak otoklavlanabilir deney şişelerine aktarılmıştır. Otoklavda 121 °C’de 1 atm basınçta 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besi yeri biraz soğumaya bırakılıp, tek kullanımlık petri kaplarına steril kabinde aktarılmıştır.

### **3.2.5.3 Bakterilerin besi yerine inokulasyonları**

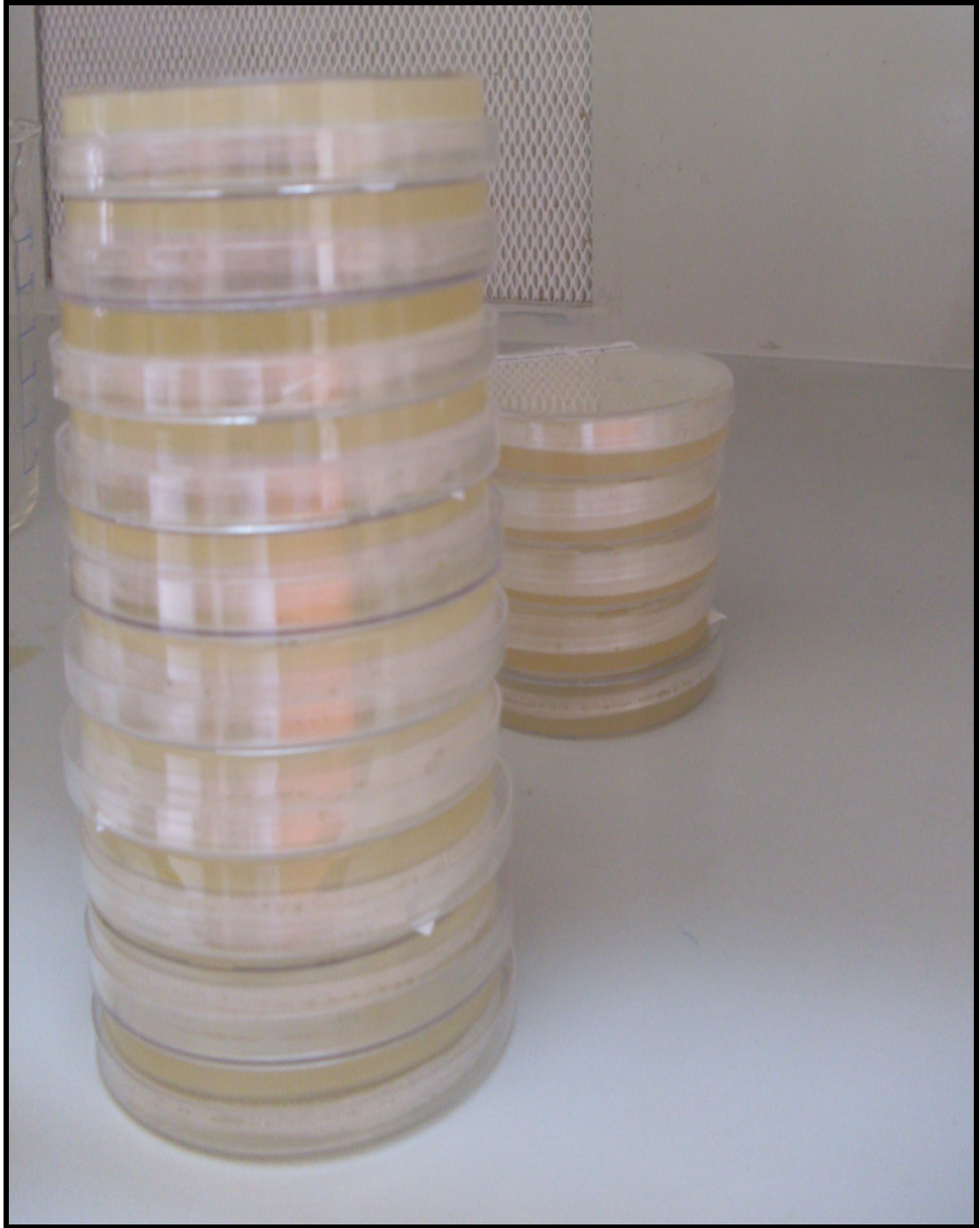
Bilimsel adları, *Escherichia coli* MC.4100, *Citrobacter freundii* NRRL-B 2643, *Providencia stuartii*, *Proteus vulgaris* NRRL-B-123, *Pseudomonas aeruginosa* NRRL-B-2679, *Enterobacter aerogenes* NRRL-B- 3567, *Bacillus licheniformis* NRRL-B- 1001, *Bacillus cereus* NRRL-B-3711, *Bacillus pumilis* NRRL-BD-142, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 olan 10 farklı bakteri, besi yerlerine drigalski özesiyle kullanılarak steril kabinde alev çatısı altında aktarılmıştır.

### **3.2.5.4 Bitki ekstratlarının petri kaplarına yerleştirilmesi**

*G. eriocalyx* Boiss. ve *G. sphaerocephala* Fenzl. ex Tchihat. var. *sphaerocephala*’nın toprak altı kısımlarından elde edilen ekstratlar, otoklavda 121 °C’de 1 atm basınçta 15 dakika steril edilen distile su ile % 10 ve % 20 olacak şekilde iki farklı konsantrasyonda çözeltileri hazırlanmıştır. Steril kabinde, disk difüzyon yöntemi ile hazırlanan ve çözeltilere emdirilen diskler şekil 3.13’de görülen bakteri kültürlerini içeren besi ortamlarına her bir konsantrasyondan eşit aralıkla birer adet adet disk



gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Daha sonra 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.13: Ekstartlara emdirilen disklerin yerleştirildiği petri kapları.

### 3.2.5.5 İnhibisyon zonlarının ölçülmesi

Disk difüzyon yöntemiyle hazırlanan, *Escherichia coli* MC.4100, *Citrobacter freundii* NRRL-B 2643, *Providencia stuartii*, *Proteus vulgaris* NRRL-B-123, *Pseudomonas aeruginosa* NRRL-B-2679, *Enterobacter aerogenes* NRRL-B- 3567, *Bacillus*

*licheniformis* NRRL-B- 1001, *Bacillus cereus* NRRL-B-3711, *Bacillus pumilis* NRRL-BD-142, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 bakterilerinin inokulumlarını içeren petri kaplarının 37 °C’de 24 saatlik inkübasyonu sununda oluşan inhibisyon zonları, milimetrik cetvel yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir. Bitkisel ekstratların uygulandığı petri kaplarının ve antibiyotik disk uygulanan bakteri inokulumlarını içeren petri kaplarının inhibisyon zonlarının ölçümleri Tablo 4.4’de verildiği gibidir.

## 4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

### 4.1 Sonuçlar

#### 4.1.1 Toplam fenolik bileşik

Skergat ve diğ. (2005) metodunun modifiye edilmiş şekline göre yapılan, 760 nm dalga boyunda spektrofotometrede okutulan total fenolik içerik bulguları tablo 4.1’de verildiği gibidir. İşlem 10 kat seyreltilerek yapılmıştır. Yapılan total fenol içeriği deneyleri sonucunda mM olarak hesaplanan spektrofotometre ölçümleri, *G. eriocalyx* ve *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala*’nın verimli ve dikkate değer bir fenolik içeriğine sahip olduğunu göstermiştir.

Tablo 4.1 : Çalışılan *Gypsophila* taksonlarının toplam fenol miktarları.

Bitkisel materyal	Toplam fenol (Gallik asit eşdeğerliliği [mM])
<i>Gypsophila eriocalyx</i> Boiss.	8.648±0.148
<i>G. sphaerocephala</i> Fenzl ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i>	11.264±0.289

#### 4.1.2 Antioksidan kapasite tayini

Toplam antioksidan kapasite tayini yöntem bölümünde belirtildiği gibi yapılarak, mmol Trolox equivalent/g (Trolox eşdeğerliliğine) olarak hesaplanmıştır ve sonuçlar Tablo 4.2’de belirtildiği gibidir. Bu sonuçlar her iki bitki örneğinin verimli antioksidan özelliği olduğunu göstermektedir. Tablo 4.3’de Mantle ve diğ. (1998) yaptığı çalışmalarda mM olarak, trolox eşdeğerliliğine göre ABTS yöntemiyle antioksidan kapasitesi çalışılmış bazı bitki yağ ekstratları ile bu tezde çalışılan *Gypsophila eriocalyx* ve *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala* ekstratlarının antioksidan aktivite sonuçları verilmiştir.

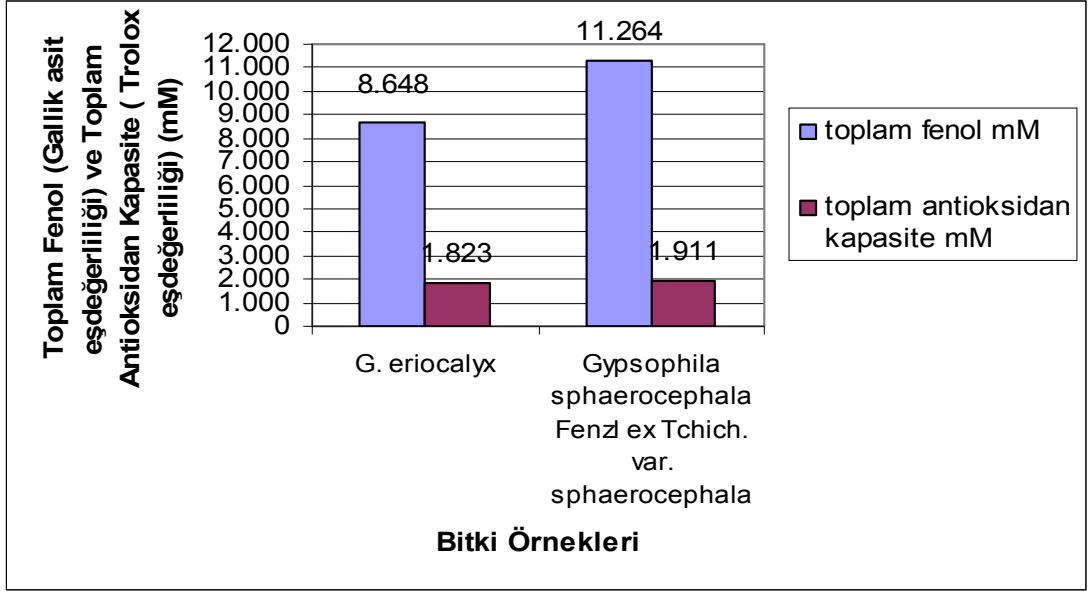
Tablo 4.2 : Çalışılan *Gypsophila* taksonlarının toplam antioksidan kapasitesi.

Bitkisel materyal	Antioksidan kapasite (Trolox eşdeğerliliği [mM])
<i>G. eriocalyx</i> Boiss.	1.823±0.014
<i>Gypsophila sphaerocephala</i> Fenzl ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i>	1.911±0.028

Tablo 4.3 : Bazı bitkilerin ABTS metodu ile toplam antioksidan aktivite (Trolox eşdeğerliliği) sonuçları.

Bitkilerin bilimsel adları	Antioksidan aktivite (Trolox eşdeğerliliği [mM])	Kaynak
<i>G. eriocalyx</i> Boiss. (tez materyali)	1.823	Kaynak
<i>Gypsophila sphaerocephala</i> Fenzl ex Tchich. var. <i>sphaerocephala</i> (tez materyali)	1.911	
<i>Cedrus atlantica</i>	<0.1	(Mantle ve diğ., 1998)
<i>Melissa officinalis</i>	1.14	(Mantle ve diğ., 1998)
<i>Cananga odorata</i>	1.66	(Mantle ve diğ., 1998)
<i>Vervena officinalis</i>	0.78	(Mantle ve diğ., 1998)
<i>Rosemarinus officinalis</i>	0.16	(Mantle ve diğ., 1998)
<i>Cymbopogon nartinii</i>	0.26	(Mantle ve diğ., 1998)
<i>Anthemis nobilis</i>	0.81	(Mantle ve diğ., 1998)
<i>Citrus medica</i>	<0.1	(Mantle ve diğ., 1998)
<i>Hyssopus officinalis</i>	0.86	(Mantle ve diğ., 1998)
<i>Pelargonium roseum</i>	<0.1	(Mantle ve diğ., 1998)
<i>Cinnamomum camphora</i>	<0.1	(Mantle ve diğ., 1998)
<i>Pimpinella anisum</i>	<0.1	(Mantle ve diğ., 1998)

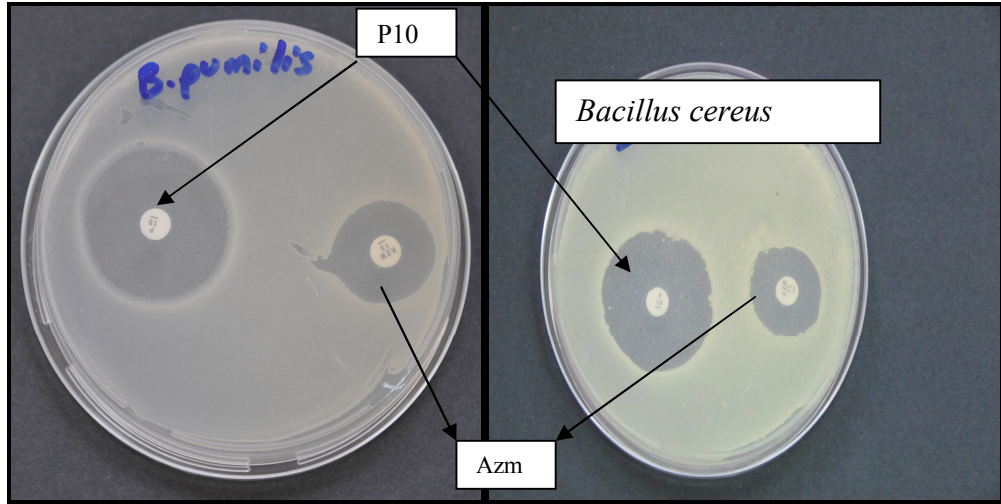
*G. eriocalyx* ve *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchich. var. *sphaerocephala*'nın toplam fenol ve toplam antioksidan kapasitelerinin karşılaştırmaları Şekil 4.1'de verilmiştir.



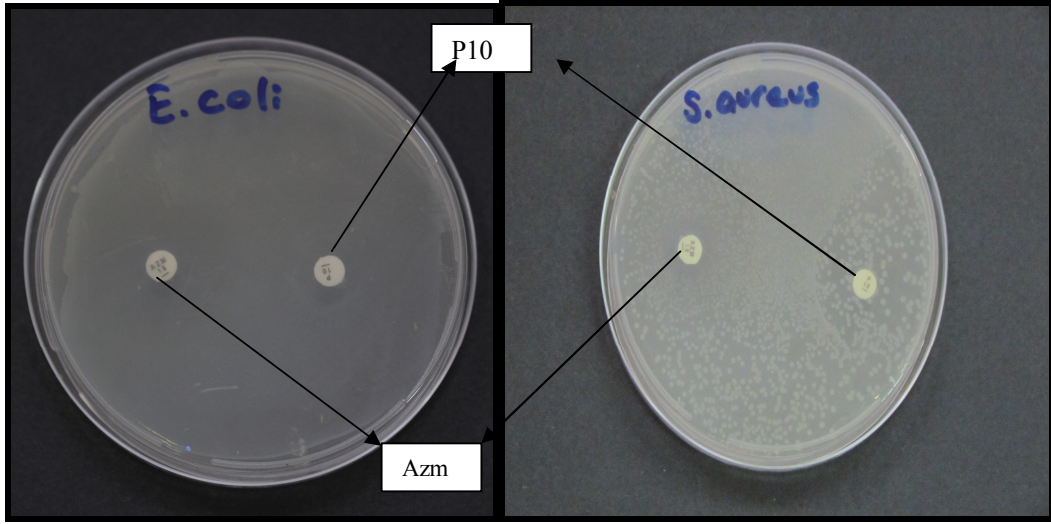
Şekil 4.1: Çalışılan *Gypsophila* taksonlarının toplam fenol ve antioksidan kapasite grafiği.

#### 4.1.3 Antibakteriyel aktivite sonuçları

Beklendiği üzere negatif kontrolde herhangi bir bakteri zonu oluşmamıştır. Pozitif kontrolde kullandığımız P.10 antibiyotinde en yüksek inhibisyon zonunu 14 mm ile şekil 4.1'de *Bacillus cereus* NRRL-B-3711 ve *Bacillus pumilis* NRRL-BD-142 bakterilerinde göstermiştir ve *E.coli* MC.4100, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Citrobacter freundii* NRRL-B 2643 bakterilerinde herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmamıştır.



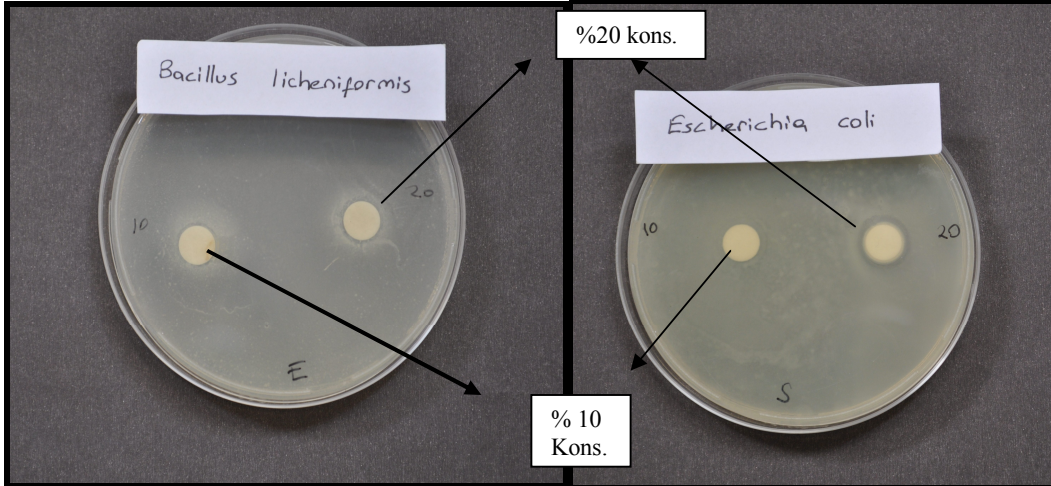
Şekil 4.2: *Bacillus pumilis* ve *Bacillus cereus*'un antibiyotik inhibisyon zonları.



Şekil 4.3: *E. coli* ve *Staphylococcus aureus*'un antibiyotik inhibisyon zonları.

Azm ise en yüksek inhibisyon zonunu 13 mm ile *Providencia stuartii* ve 8 mm ile *Enterobacter aerogenes* bakterilerinde göstermiştir, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 bakterisinde inhibisyon zonu oluşmazken (Şekil 4.2), *Pseudomonas aeruginosa* NRRL-B-2679 bakterisinde 2 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Bitki ekstratlarımız % 10 ve % 20'lik konsantrasyonlarda ile yaptığımız çalışmalarda verimli bir antimikrobiyal aktivite gözlemlenememiştir (Şekil 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6). Bu örnekler ile yapılan bakteri inhibisyon zonları Tablo 4.3'de verildiği gibidir.



Şekil 4.4: *G. eriocalyx*'in *Bacillus licheniformis*'e (solda) ve *G. sphaerocephala* Fenzl. ex Tchihat. var. *sphaerocephala*'nın *E. coli*'ye (sağda) etkisi.



Şekil 4.5: *G. sphaerocephala* Fenzl. ex Tchihat. var. *sphaerocephala*'nın *Enterobacter aerogenes* bakterisine etkisi (% 20 konsantrasyon).



Şekil 4.6: *G. sphaerocephala* Fenzl. ex Tchihat. var. *sphaerocephala*'nın *Bacillus pumilis* bakterisine etkisi (solda % 10 ve sağda % 20 konsantrasyon).

Tablo 4.4 : Bitkisel ekstratların bakteri inhibisyon zonları.

Bakteriler	<i>G. eriocalyx</i> Boiss. İnhibisyon zonları (mm)		<i>G. sphaerocephala</i> Fenzl. ex Tchihat. var. <i>sphaerocephala</i> İnhibisyon zonları (mm)	
	% 10 konsantrasyon	% 20 konsantrasyon	% 10 konsantrasyon	% 20 konsantrasyon
<i>Citrobacter freundii</i> NRRL-B 2643	1	1	1	2
<i>Providencia stuartii</i>	1	2	3	3
<i>Proteus vulgaris</i> NRRL-B-123	1	2	2	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NRRL-B-2679	-	3	1	2
<i>Enterobacter aerogenes</i> NRRL- B- 3567	-	2	1	4
<i>Bacillus licheniformis</i> NRRL-B- 1001	1	2	2	3
<i>Bacillus cereus</i> NRRL-B-3711	1	2	1	2
<i>Bacillus pumilis</i> NRRL-BD-142	1	2	1	2
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862	1	2	-	1
<i>E.coli</i> MC.4100	-	2	-	3

## 4.2 Tartışma

Ülkemizde Caryophyllaceae familyasının *Silene* (131 tür) ve *Dianthus*' tan (69 tür) sonra 3. büyük cinsi olan *Gypsophila* cinsi, Türkiye Florası'nda 10 seksiyon içerisinde 56 tür ile tanımlanmaktadır (Huber-Morath, 1967; Davis ve diğ., 1988; Ataşlar ve Ocak, 2005; Hamzaoğlu, 2012). Ülkemizde *Gypsophila* ile ilgili revizyonel ve diğ. çalışmalara devam edilmektedir.

Halk arasında “Çöğen”, “Çöven”, “Çuvan” ve “Çöven otu” “Helva kökü”, “Tarla çöveni”, “Helva çöveni”, “Sabunotu”, “Şark çöveni” olarak bilinen *Gypsophila*'dan çok değişik şekillerde yararlanılmaktadır (Acebes ve diğ., 1998). *Gypsophila* türleri saponin maddelerini içermesi nedeniyle iyi bilinen bitkilerdir. *Gypsophila* türleri çiçekcilik ve süslemede kullanılmasının yanı sıra bu bitkilerin kökleri gıda ve kimya sanayi gibi alanlarda bu bitkilere ayrı bir önem kazandırır.



Bu tez çalışmasında *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala* ve *G. eriocalyx* Boiss. taksonlarının toprak altı kısımlarını çalışma konusu olarak seçtik ve yaptığımız toplam fenol içeriği ve toplam antioksidan aktiviteleri verimli değerlerde sonuçlar vermiştir. Kullandığımız iki taksonun antioksidan kapasitesi Tablo 4.3'de görüldüğü gibi bu bitkiler arasındaki antioksidan kapasite değerlerinin (mmol Trolox eqv.L<sup>-1</sup>) sonuçlarına bakıldığında tez materyali olan bitkilerin daha yüksek değerler içerdiği görülmektedir.

Çelik ve diğ. (2010), toplam antioksidan kapasite (TAC) ve total fenolik miktar belirlemede bu tez de kullanılan yöntem ile endemik bir bitki olan *Origanum hypericifolium* üzerinde TAC ve total fenolik içerik çalışmışlardır. Bu çalışmada *Origanum hypericifolium*' un total antioksidan aktivitesi 1.5358 mmol Trolox eqv.L<sup>-1</sup> olarak belirtilmiştir ve bu sonuç iyi bir antioksidan aktivite etkinliği olarak rapor edilmiştir. Bu tez çalışmasında kullanılan *G. eriocalyx* Boiss.' in total antioksidan aktivitesi 1.823 mmol Trolox eqv.L<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. Bu iki sonuç karşılaştırıldığında *G. eriocalyx* Boiss.'in iyi bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu anlaşılmaktadır. Diğer tez materyali olan *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala*'nın total antioksidan aktivitesi 1.911 mmol Trolox eqv.L<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçta bize, *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala*'nın iyi bir antioksidan aktivitesi olduğunu göstermektedir. Bu karşılaştırma şekil 4.5 ve 4.6'da görüldüğü gibidir.

Yine bu çalışmada toplam fenolik içeriği çalışılan *Origanum hypericifolium*'un toplam fenolik içeriği 1.2480 mmol GAE L<sup>-1</sup> olarak belirtilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan, *G. eriocalyx* Boiss.'in toplam fenol içeriği 8.648 mmol GAE L<sup>-1</sup>, ve *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala*'nın toplam fenol içeriği 11.264 olarak tespit edilmiştir. Bu iki taksonun toprak altı kısımlarının toplam fenolik içeriğinin aynı yöntemle çalışılmış diğer bitkilerin ve diyetel ürünlerin içerikleriyle karşılaştırıldığında yüksek olduğu söylenebilir.

Öztan (2006), Trolox eşiti ABTS yöntemi kullanılarak yapılan çalışma bölümünde Nar ekşisinin TEAC (trolox eşiti antioksidan kapasite) değerlerini 1.41 ile 3 mM arasında ve Şalgam suyunun TEAC değerlerini 0.65 ile 1.59 mM arasında olduğu tespit edilmiştir. İyi bir antioksidan kaynağı olarak bilinen şalgam suyu ve nar ekşisinin değerlerine bakıldığında, tez materyalimizi oluşturan her iki bitkinin verimli antioksidan değerlere sahip olduğu söylenebilir. Fenolik maddelerin

antioksidan olarak kabul edildiğini bilmekteyiz. Şekil 4.1’de görüldüğü gibi fenolik içerik miktarı *G. eriocalyx* Boiss.’den fazla olan *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala*’nın TEAC değerinden fazla olduğu görülmektedir.

Fenolik bileşikler serbest radikalleri etkisiz hale getirdikleri için antioksidan maddeler içerside yer almaktadır. Gıda sanayide dondurma, helva, lokum yapımı gibi çeşitli gıdaların içersine giren *Gypsophila* rizomlarına (çöven kökleri) *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala* ve *G. eriocalyx* Boiss taksonlarının köklerinin de ilave edilebileceği ve bu sayede bu bitkilerin iyi bir antioksidan özelliği göstermesi ve yüksek fenol içermesinden dolayı yiyeceklere katkı sağlayacağı açıktır.

Düzgün çalışan bir metabolizmada mitokondriyel sitokrom sistemi, sitozoldaki organelleri oksidanların zararlı etkilerinden korur. Fakat sistemin yetersiz kaldığı durumlarda doğal enzimler devreye girer. Enzimlerce etkisiz hale getirilemeyen oksidanlar ilk olarak hücre membranındaki lipidleri etkileyerek “lipid peroksidasyonu”nu başlatır. Lipid peroksidasyonu, membranlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur ve sonuçta ortaya çıkan biyo-aktif aldehitler hücre hasarına neden olur (Benzer ve Ozan, 2003).

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri etkisiz hale getirerek hücrelerin ve dokuların zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir (Kahkönen ve diğ., 1999). Antioksidanlar vücudumuzda doğal veya dış faktörlerin tetiklemesiyle oluşan bu serbest radikallere karşı savunma mekanizmasını üstlenmiştir. Günümüzde antioksidanlar ile ilgili çalışmalar çok önem görmektedir ve birçok bitki içerdiği bileşikler sayesinde önemli düzeyde antioksidan aktiviteye sahiptir. Çeşitli bitkilerle ilgili antioksidan aktivite çalışmaları mevcuttur fakat bu iki taksonun toprak altı kısımları ile ilgili bir antioksidan aktivite çalışmasına yapılan litaretür taramalarında rastlanmamıştır. Bulduğumuz antioksidan aktivite ve fenolik içerik bulguları diğer çalışmalarla da karşılaştırıldığında verimli olduğu ve bu bitkilerin kullanıldığı gıdalarda gevreklik verme özelliğinin yanında bu gıdaların besin değerlerine katkı sağladıkları düşünülmektedir.

Antimikrobiyal aktivite için seçtiğimiz bakterilerin patojenitesi yüksektir, bitkisel ekstratlarda olduğu gibi Azm ve P10 antibiyotiginde bazı bakterilerde de yüksek inhibisyon zonu oluşmamıştır.

Boussaada ve diğ., (2008), *Evax pygmaea* (Asteraceae) üzerinde yaptıkları antimikrobiyal ve antioksidan çalışmalarında; metanolik ektrat ile (TEAC=1.85 mM) etil asetat ekstraksiyonu ile yaptıkları antioksidan değerlerini (TEAC=2.27 mM) güçlü bir antioksidan aktivite olarak yorumlamışlardır ve kloroformik ekstraksiyon değerini TEAC=1.31 mM olarak tespit etmişlerdir. Bu değerler ışığında tez çalışmasında kullanılan her iki bitkinin antioksidan değerlerinin Tablo 4.3'den anlaşılacağı üzere iyi bir antioksidan kapasite aralığında olduğu söylenebilir. Yine bu bitkinin metanolik ve kloroformik ekstratlarıyla yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında, G(-) olan bakterilerden; *Escherichia coli*, ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger* üzerinde herhangi bir antimikrobiyal inhibisyon zonu gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda da yapılan antibakteriyel aktivite sonuçları yüksek verimde zonlar oluşturmamıştır. Özellikle gram negatif bakterileri güçlü patojenler olarak değerlendirebiliriz.

Poslu (2006), *G. eriocalyx*'in kloroform ve petrol eteri ekstraktlarında *Bacillus cereus* G(+), *Micrococcus luteus* G(+), *S. aureus* G(+), *B.subtilis* G(+), *Escherichia coli* G(-), *P. aeruginosa* G(-), *Candida albicans*, *S. cerevisia* mikroorganizmalarında yaptıkları antimikrobiyal aktivite çalışmasında bu ekstratlarda saponin bulunmadığı için bu ekstraktların antimikrobiyal aktivite göstermediğini, etil alkol ekstraktının içinde saponin bulunmasına rağmen saponin derişiminin bu ekstrakt içinde antimikrobiyal aktivite gösterecek miktarda bulunmadığını rapor etmişlerdir. Bu tez çalışmasında kullanılan *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala* ve *G. eriocalyx* Boiss' in kloroform ile elde edilen ekstratlarını stdH<sub>2</sub>O çözücüsü ile çözdüğümüzde göstermiş olduğu antibakteriyel aktivite sonuçları Tablo 4.3'de görüldüğü üzere; Poslu (2006), yapmış olduğu çalışma ile tutarlılık göstermiştir ve yüksek verimde bir antibakteriyel aktivite tespit edilememiştir. Bunun sebebinin ekstratların saponin maddesi içermemesinden veya etkin maddelerinin suda çözünmediğinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Tez çalışmasında kullanılan bitkilerin toprak altı kısımlarından 1 kg kurutulup toz haline getirilmiş ürün elde etmek için yaklaşık olarak 3-3.5 kg kadar yaş kök

kurutulması gerekmektedir. Dekar başına elde edilen kuru ürün miktarı 4-5 tondur. En az dört yıl sonra hasat edilmesi uygundur. Hasat zamanı belirlenirken bitkinin pazar durumu göz önüne alınır. Pazarlaması yapılmaya kadar tarlada bekletilir (Url-1). Ülkemizde de çöven tarımı yapılmaktadır ve bu ürünler yurtdışı ve iç piyasada kullanılmaktadır. Bu nedenle üreticilerin yukarıdaki bilgiyi bilmesinin üretim açısından faydalı olacağı düşünülmüştür.

Aynı zamanda *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat var. *sphaerocephala* ve *G. eriocalyx* Boiss taksonlarının toprak altı kısımlarıyla ilgili yapılan bu çalışmanın, iyi bir literatür bilgisi sağlayacağı ve ileriki çalışmalara ışık tutacak nitelikte olduğu düşünülmektedir.

## 5. KAYNAKLAR

- Abascal, K., Yarnell, E.,** 2002. Herbs and Drug Resistance. Potential of Botanical in Drug-Resistant Microbes. *Alternative & Complementary Therapies*, Part: 1, 237-241
- Acabes B., A. M. Diaz-Lanza and Bernabe, M.,** 1998. A saponin the roots of *Gypsophila bermejoi*, *Photochemistry*, 7-2077.
- Aslan, A., Güllüce, M., Öğütçü, H.,** 1999. Bazı Likenlerin Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Bir Araştırma. *Biyoteknoloji (Kükem) Dergisi*, 22 (2):19-26
- Akkuş, İ.,** 1995: *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri* 62-75
- Ataşlar, E. ve Ocak, A.,** 2005. *Gypsophila osmangaziensis* A New Species From Central Anatolia, Turkey, *Ann. Bot. Fennici* 42: 57-60, ISSN 0003-3847, Helsinki 16 February 2005
- Anonim,** 1987: Ülkemizdeki Bazı Önemli Orman Tali Ürünlerinin Teşhis ve Tanıtım Kılavuzu, Çöven, TC. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü Yayın No: 659, Seri No: 18, s. 22-23.
- Anonim,** 1993: T. C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Çöven İhracatı.
- Anonim,** 2006: Bitkilerde Doğal Renk Maddeleri ve Fenolik Bileşikler. Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, Ankara.
- Arts I.C., Hollman, P.C., Feskens, E.J.,** 2001. Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease, the Zutphen Elderly Study, *Am. J. Clin. Nutr.* 74:227-232
- Aydın, S.A, Üstün, F.,** 2007. Tanenler 1 kimyasal Yapıları, Farmakolojik Etkileri, Analiz Yöntemleri. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 33 (1), 21-31.
- Babaoğlu, M., Gezgin, S., Topal, A., Sade, B., ve Dural, H.,** 2004. *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat.: A Boron Hyperaccumulator Plant Species That May Phytoremediate Soils With Toxic B Levels, *Turk J. Bot.*, 28: 273- 278.
- Bai, H., Zhong, Y., Ying-Xie, Y., Shu-Wang, Y., Liu, L., Zhou, L., Wang, J., Ling-Mu, Y., Xu-Zuo, C.,** 2007. A Major Triterpenoid Saponin from *Gypsophila oldhamiana*. *Chemistry & Biodiversity* Vol. 4: 955-960
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, Samir.,** 2006. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191–203.
- Battal, H., Sarı, F. ve Veliöğlu, S.,** 2003. Çöven Ekstraktı Üretimi Üzerine Bir Araştırma, Anadolu Üniversitesi *Bilim ve Teknoloji Dergisi*, Cilt :4, No :1:S.75-84.

- Baylan, N.**, 1990. *Tahin Helvalarında Saponin Miktarı Üzerinde Araştırma*, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. Gıda Bilimi ve Tekn. Anabilim Dalı Lisans Tezi, T. C. Yükseköğretim Kurulu Dökümantasyon Merkezi Tez No:13001.
- Baytop, A.**, 1983: *Farmakognozi Ders Kitabı*, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:19, s.92-93.
- Beecher, G. R.**, 2003. Overview of dietary flavonoids: Nomenclature, occurrence and intake. *Journal of Nutrition*, 133:3248-3254.
- Belitz, H. D. & Grosch, W.**, 1999: Phenolic compounds, Food Chemistry. *Berlin: Springer*, pp. 764–775.
- Benli, M., Yiğit, N.**, 2005. Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (*Thymus vulgaris*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 8:1-3
- Benzer F., Ozan, S.T.**, 2003. *Fasciola hepatica* ile Enfekte Koyunlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzimler ve Nitrik Oksit Düzeyleri, *Turk J Vet Anim Sci*, 27: 657-661.
- Bergman, M., Vershavsky, L., Gottlieb, H. E., & Grossman, S.**, 2001. The antioxidant activity of aqueous spinach extract: Chemical identification of active fractions. *Phytochemistry*, 58:143–152.
- Bilaloğlu, G. V. ve Harmandar, M.**, 1999: *Flavonoidler*. Aktif Yayınevi, İstanbul, 334-354.
- Bittrich, V. ve Kubitzki K., Rohwer, J.G.** 1993. The families and genera of vascular plants, Flowering plants, Dicotyledons, Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid families. *Springer-Verlag*, Berlin, Germany Vol. 2:206-236.
- Blanchard, B., Pomon, D., Ducrocq, C.**, 2000. Nitrosation of melatonin by nitric oxide and peroxy nitrite, *J. Pineal Res.* 29:184-192
- Block, G., Patterson, B., Subar A.**, 1992. Fruit, vegetables and cancer prevention, areview of the epidomiological evidence. *Nutr. Cancer* 18;1
- Bolli and Marban**, 1999. Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning. *Physiol Rev* 79;609-634.
- Boussaada, O., Chriaa,J., Nabl, R., Ammar,S., Saidana, D., Mahjoub, M.A., Chraeif, I.,Helal, A.N.**, 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extracts of *Evax pygmaea* (Asteraceae) growing wild in Tunisia. *World J Microbiol Biotechnol* 24:1289–1296 DOI 10.1007/s11274-007-9600-7
- Carlsen, M.H., Halvorsen, B.L., Kari Holte1, Böhn, D.K.,Dragland,S., Sampson, L., Carol Willey,C., Senoo,H., Umezono,Y., Sanada,C., Barikmo,I.,Berhe,N., Willett,W.C., Phillips,K.M., David R Jacobs,D.R.,and Blomhoff, R.**, 2010. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutrition Journal* 10.1186/1475-2891-9-3

- Carroll E.**, 1987. Cross. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 107: 526 - 545.
- Cemeroğlu, B.**, 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları* No: 35, Ankara, 77-88.
- Chan K.M., E.A. Decker**, 1994. Endogenous skeletal muscle Antioxidants, Critical Reviews in *Food Sciences and Nutrition*, 34: 403.
- Chen , Q., Luo, J.G., Kong., L.Y.**, 2010. Triterpenoid Saponins from *Gypsophila altissima* L. *Chem. Pharm. Bull.* 58(3) 412-414
- Chen, H. and Tappel, A.L.**, 1996. Protection of multiple antioxidants against heme protein oxidation and lipid peroxidation induced by CBrCl<sub>3</sub> in liver, lung, kidney, heart, and spleen. *J. Agric. Food Chem.* 44(3); 854-858.
- Coşkun, F.**, 2006. Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, (2) 27-33.
- Cuttler, R.G. and Pryor, W.A.**, 1984. In free radical in biology. *Free Radicals in Biology*, 6: 371-423.
- Çağlayanlar, E.**, 2006. Çöven suyu ekstraktının maya performansı, hamur reolojik özellikleri ve ekmek kalitesi üzerine etkisi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Çelik, A., Herken, N.E., Arslan, İ , Özel, M.Z. and Mercan, N.**, 2010. Screening of the constituents, antimicrobial and antioxidant activity of endemic *Origanum hypericifolium* O. Schwartz & P.H. Davis', *Natural Product Research*, 24:16,1568-1577.
- Çevrimli, B.S., Kariptaş, E. and Yücekutlu A.N.**, 2007. Isolation of saponin from Dried Roots of *Gypsophila simonii* Hub.Mor, *Pakistan Journal of Biological Sciences* 1944-1946.
- Çevrimli, B. S.**, 1990: Çöven (*Gypsophila arrosti*) Otundan Yüzey Aktif Maddesi Eldesi ve Bazı Özelliklerinin incelenmesi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilimdalı Yüksek Lisans Tezi, T. C. Yükseköğretim Kurulu Dökümantasyon Merkezi, Tez No: 11638, 1990.
- Davis, P.H., Mill, R., Tan, K.**, 1988: *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 10, Edinburgh, Univ. Press.
- Davis, P. H.**, 1967. *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, Vol. 2, Edinburgh, Univ. Press.
- Demirhan M., Özdamar L.**, 2001. Integrating Expert Knowledge in Environmental Site Characterization, *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*. V 36, 344-351.
- Di Mascio, P., Murphy, M.E., Sies, H.**, 1991. Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.* 53; 194-200.
- Diplock, A.**, 1998: Healty lifestyles nutrition and physical activity: *Antioxidant nutrients*. ILSI Europe concise monograph series, 59 p., Belgium.

- Dığrak, M., İlçim, A., Alma, M.H.,** 1999. Antimicrobial activities of several parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*. *Phytotherapy Research*, 13: 584-587.
- Duthie, G.G., Wahle, K.W.J. and James, W.P.T.,** 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr. Res. Rev.* 2; 51-62.
- Erik, S. ve Tarıkahya, B.,** 2004."Türkiye Florası üzerine" *Kebikeç* 17:139-163
- Erdik, E.,** 1997:"*Genel Organik Kimya*", Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Ankara.
- Erel O.,** 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radicalcation. *Clin Biochem* 37:277-85.
- Facino, R.M., Carini, M., Aldini, G., Berti, F., Rossoni, G., Bombardelli, E.,Morazzoni, P.,**1999. Diet enriched with procyanidins enhances antioxidant activity and reduces myocardial post-ischaemic damage in rats. *Life Sci* 64:627-642
- Fennema, O.R.,** 1995: In "*Food Chemistry*", (Ed), pp: 767-823. Marcel Dekker, New York.
- Foote, C.S.,** 1985: *Chemistry of reactive oxygen species. In "Chemical Changes in Food"*.
- Frankel E.N, Waterhouse A.L, Teisserdre PL.,** 1995. Principal phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low density lipoproteins. *J. Agr Food Chem*, 43;890-894.
- Gaygısız, M. ve Aknerdem, F.,** 1998. Konya Yöresi Çöven Türlerinden (*Gypsophila venusta* Fenzl.)'ın Bazı Bitkisel Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma, *S. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 12 (16): 56-64.
- Gey, K.F.,** 1998: Vitamins E plus C and interacting nutrients required for optimal health. *Biofactors*, 7;113-174.
- Göğüş, F., Fadiloğlu, S.,** 2006: *Food Chemistry*. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 319-339.
- Graster, H.,** 1997. The potential role of lycopene for human health. *J. Am. Coll. Nutr.* 16; 109-126.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. & Başer, K.H.C.,** 2000. *Flora of Turkey and the Aegean islands, Second Suppl.11, Edingburg.*
- Hakkinen, S. H., Karelampi, S. O., Heinonen, I. M., Mykkanen, M. & Torronen, A. R.,** 1998. HPLC method for screening of flavonoids and phenolic acids in berries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77, 543-551.
- Halliwell B,** 2000. Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease how should we move forward? *Cardiovascular Research*, 47:410-418.



- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.**, 1999: *Free radicals in biology and medicine*, ed. 3; Oxford, Oxford University Press, Oxford.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.**, 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Methods Enzymol.* 186:1-85.
- Hamburger, M., Marston, A., Hostettmann, K.**, 1991 *Advances in Drug Research*, Testa B (ed.), Academic Press, London, UK, 20, 167-215.
- Hammer K.A., Carson CF, Riley T.V.**, 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* 86: 985-990.
- Hamzaoğlu, E.**, 2012. A new species of *Gypsophila* and a new name for *Silene* (Caryophyllaceae) from Turkey. *Turk J Bot* 36 135-139 doi:10.3906/bot-1012-112
- Hebestreit, P., Weng, A., Bachran, C., Fuchs, H.M., Melzig, F.**, 2006. Enhancement of cytotoxicity of lectins by *Saponinum album*. *Toxicon*, 47:330-335.
- Hilmi Ş.**, 1994. *Oksidanlar ve antioksidanlar*. THTDrg, 48:1-2,44-49.
- Huber-Morath, A.**, 1967: Beitrage zur Kenntnis der Verbreitung von *Gypsophila* and *Bolanthus* in Anatolien. *Bauhinia* 2, 2: 177-191.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L.**, 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays, *J. Agric. Food Chem.* 53, 1841-1856, 1-9, University press, Edingburg.
- Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M.**, 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47:3954-3962.
- Kahya, E.**, 2009 *El Kanun Fi't Tıbb ikinci kitab İBNİ SİNA* 92-93
- Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S., Cabaroğlu, T.**, 2006. Bazı Üzümsü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyantin İçerikleri. II. *Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, Tokat, 309-312.
- Kalaycıoğlu, A., Öner, C.**, 1994. Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin Amest Salmonella test sistemi ile araştırılması. *Tr. Botany.*, 18:117-122.
- Karownik, M., Gitto, E., Lewinski, A., Reiter R.J.**, 2001. Relative efficacies of indole antioxidant in reducing autoxidation and iron-induced lipid peroxidation in testes, implications for cancer initiation, *J. Cell. Biochem.* 81; 693-699.
- Kaur, C. and Kapoor, H.C.**, 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Tech.* 36:703-725.
- Kazanç M.B.**, 1997. Antioksidan Vitaminler. *Sendrom*, Temmuz; 14-22.
- Khalaf, N.A., Ashok K. Shakya, A.K., Al-Othman, A., Zaha El-Agbar, Z., Farah, H.**, 2008. Antioxidant Activity of Some Common Plants. *Turk J Bio* 132 51-55

- Korkmaz, M.**, 2006. Türkiye’de Yetişen Tek Yıllık *Gypsophila* L. taksonları Üzerinde Biyosistemik Çalışmalar, S. Demirel Üniv. Fen Bilimleri Enst. Biyoloji A.B.D
- Kutluk, H. ve Ayтуğ, B.**, 2000. "Endemik plants of Turkey", plants of the Balkan Peninsula: into the Next Millenium, *Proceedind of 2nd Balkan Botanical Congress*
- Lampe**, 1999: Health effects of vegetables and fruit, assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Clin Nutr*, 70:475-490.
- Lauterwein, M., Oethinger, M., Belsner, K., Peters, T., Marre, R.**, 1995. In Vitro Activities of the Lichen Secondary Metabolites Vulpinic Acid, (+)-Usnic Acid, and (-) Usnic Acid against Aerobic and Anaerobik Microorganisms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39 (11): 2541-2543.
- Larson, R.A.**, 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*. 27(4); 969-978.
- Lavelli, V., Peri, C. and Rizzola, A.**, 2000. Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using Xanthine oxidase, Myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation. *J. Agric. Food Chem.* 48(5);1442-1448.
- Lindsay, R.C.**, 1996. *Food Additives*. In “Food Chemistry”, O.R., Fennema (Ed), 767-823. Marcel Dekker, New York.
- Lussignoli, S., Fraccaroli, M., Andrioli, G., Brocco, G. and Bellavite, P.**, 1999. A microplate-based colorimetric assay of the total peroxy radical trapping capability of human plasma, *Anal. Biochem.*, 269, 38–44.
- MacDonald-Wicks, L.K., Wood L.G and Garg, M.L.**, 2006. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review, *J. Sci. Food Agric.*, 86, 2046–2056
- Mallat Z, Philip I, Lebret M, Chatel D, Maclouf J, Tedgui A.**, 1998. Elevated levels of 8-iso-prostaglandin F2alpha in pericardial fluid of patients with heart failure: a potential role for in vivo oxidant stress in ventricular dilatation and progression to heart failure. *Circulation* 97:1536–1539
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., & Jimenez, L.**, 2004 Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727–747.
- Mantle, D., Anderton, J.G., Falkous, G., Barnes, M., Jones, P., Perry, E.K.**, 1998. Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part B 121;385-391
- Martin K.R., Barret, J.C.**, 2002. Reaktive oxygen species as double-edged swords in cellular processes: low-dose cell signaling versus high-dose toxicity. *Hum. Exp. Toxicol.* 21:71-75.
- Mayne, S.T.**, 1996. Beta-carotene, carotenoids and disease prevention in humans. *FASEB J.* 10:690

- Meydani, M.**, 2001. Antioxidants and cognitive function. *ILSI. Nutrition Reviews.*, 59(8); S75-S82.
- Middleton, E., Kandaswami, C.**, 1994. The impact of plant flavonoids on mammalian biology, implications for immunity, inflammation and cancer. In, Harborne, *J.B. (Ed), The Flavonoids*. Chapman and Hall, London, pp. 619-652.
- Miller, N.J., Sampson, J., Candeias, L.P., Brampley, P.M., Rice-Evans, C.A.**, 1996: Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett.* 384; 240.
- Miller, D.D.**, 1996. Minerals. In “Food Chemistry”, O.R. Fennema (Ed), pp: 617-649. *Marcel Dekker*, New York.
- Mortensen, A., Skibsted, L.H.**, 1997. Importance of carotenoid structure in radical-scavenging reactions. *J. Agric. Food Chem.* 45; 2970
- Nawar, W.W.**, 1996. Lipids. In “Food Chemistry”, O.R. Fennema (Ed), pp: 225-319. *Marcel Dekker*, New York.
- Özçelik, H., Korkmaz, M.**, 2011. Economic importance of *Gypsophila* L., *Ankyropetalum* Fenzl and *Saponaria* L. (Caryophyllaceae) taxa of Turkey. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(47), pp. 9533-9541.
- Özçelik, H. ve Özgökçe, F.**, 1999. *Gypsophila bitlisensis* Bark. ve *Gypsophila elegans* Bieb. Üzerinde Morfolojik, Taksonomik ve Ekolojik Araştırmalar, *1st International Symposium on Protection of Natural Environment and Ehlami Karaçam*.
- Özçelik, H., Özgökçe, F.**, 1995. Taxonomic Contributions to Genus *Gypsophila* L. (Caryophyllaceae) From East Anatolia (Turkey). *IV. th Plant Life of South West Asia Symposium*, 195-209, İzmir.
- Öztan, T.**, 2006. Mor Havuç Konsantresi, Şalgam Suyu, Nar Suyu ve Nar Ekşisi Ürünlerinde Antioksidan Aktivitesi Tayini ve Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü
- Paganga Miller N., Rice-Evans, C.**, 1999. The polyphenolic content of fruits and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute? *Free Rad Res*, 30;153-162.
- Paiva, S.A.R., Russel, R.M.**, 1999 Beta carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. *Journal of American College of Nutrition*, Vol. 18, No. 5; 426-433.
- Parekh, J. and Chanda, S.**, 2007. Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants. *Afr. J. Biotechnol.* 10, 175-181.
- Pehluvan, M., Güleryüz, M.**, 2004. Ahududu ve Böğürtlenlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *Bahçe*,33 (1-2):51-57.
- Peto, R., Doll, R., Buckley, J.D., Sporn M.B.**, 1981. Can dietary beta carotene materially reduce human cancer rates? *Nature* 290;201.
- Pietta, P.G.**, 2000. *Flavonoids as antioxidants*. *J. Nat. Prod*; 1035.

- Porter, N.A.**, 1985. Mechanism of fatty acid and phospholipid autoxidation. In "Chemical Changes in Food During Processing", T. Richardson and J.W. Finley (Eds), pp:73-105. *Van Nostrand Reinhold Company*, New York.
- Prior, R.L. and Cao, G.**, 1999. In vivo TotalAntioxidant Capacity: Comparison of Different Analytical Methods, *Free Radical Bio. Med.*, 27:1173-1181.
- Poslu, H.**, 2006: *Gypsophila eriocalyx* Boiss.' den Saponin ekstraksiyonu ve Kimyasal Yapısının Tayini. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Ankara.
- Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K.**, 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4290-4302.
- Prior, R. L. and Cao, G.** 1999.Variability in dietary antioxidant related natural product supplements: The need for methods standardization. *Journal of the American Nutraceutical Association*, Vol. 2, No. 2, 46 – 56.
- Reaven, P.D., Khouw, A., Beltz, W.F. , Parthasarathy, S. and Witztum, J.L.**, 1993. Effect of dietary antioxidant combinations in humans. Protection of LDL by vitamin E but not by  $\beta$ -carotene. *Arterioscler. Thromb.* 13(4);590-600.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G.**, 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radic. Biol Med* 20;933-956.
- Rosenfeld**, 1998; Inflammation, lipids and free radicals, lessons learned from the atherogenic process. *Semin Reprod Endocrinol*, 16;249-261. the tissue 8-hydroxydeoxyguanosine content in dogs. *Free Rad Res.*
- Saldamlı, İ.**, 2007: *Gıda Kimyası*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 463-492.
- Serteser, A., Kargıoğlu, M., Gök, V., Bağcı, Y., Musa, M., Özcan, M.M. ve Arslan, D.**, 2009Antioxidant properties of some plants growing wild in Turkey. *Grasas Y Aceites*, 60 (2), 147-154, ISSN: 0017-3495.
- Sezik, E.**, 1982 Türk Çöveni' nin Menşei ve Kalitesi (The origin and the Quality of the Turkish Saoproots) *Ankara Ecz. Fak. Mec.* 12.41.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Akdemir, Z., Berkman, Z., Demirezer, Ö., ve Zor, M.**, 1983a. Bazı triterpenik saponozitlerin antiviral aktiviteleri, *IV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Eskişehir, Bildiriler 139.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Akdemir, Z., Berkman, Z., Demirezer, Ö., ve Zor, M.**, 1983b. Bazı saponozitlerin antifungal etkileri üzerinde araştırmalar, *IV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Eskişehir, Bildiriler 137.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Akdemir, Z., Berkman, Z., Demirezer, Ö., ve Zor, M.**, 1986, Türkiye'de yetişen triterpenik saponozit taşıyan bitkilerin değerlendirilmesi, *VI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*. Bildiri Kitabı, 93-98, 16-19, Ankara.
- Shahidi, F. and Alexander**, 1998. Green Tea Catechins as Inhibitors of Oxidation of Meat Lipids. *Journal of Food Lipids* Volume 5, Issue 2, pages 125–133

- Shahidi, F., Naczk, M.,** 1995. *Food Phenolics*. Technomic Publishing Company Book, Lanchester, USA, 199-225.
- Skerget M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hra, A., Simonic, M., & Knez, Z.,** 2005 Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in same plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89, 191-198
- Stahl, W., Junghans, A., De Boer, B., Driomina, E.S., Briviba, K., Sies, H.,** 1998. Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage, synergistic effects of lycopene and lutein. *FEBS Lett.* 427; 305.
- Steinberg and Lewis,** 1997. Oxidative modification of LDL and atherogenesis *Circulation*, 95:1062-1071.
- Stocker, T.,** 1999 The ambivalence of vitamin E in atherogenesis. *TIBS* 24; 219
- Wanasundra, U.N., Shahidi, F., Amarowicz,** 1998. Effect of Processing on Constituents and oxidative Stability of Marine Oils. *Journal of Food Lipids* Vol.5 Issue 1:29-41.
- Wang, S. Y., & Lin, H.-S.,** 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and development stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 140-146.
- Woodall, A.A., Lee, SWM, Weesie, R.J., Jacson, M.J., Britton, G.,** 1997. Oxidation of carotenoids by free radicals, relationship between structure and reactivity. *Biochim. Biophys Acta* 1336;33.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J.,** 2007 Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.*;39(1):44-84.
- Virtamo, J.,** 1996 Vitamins and lung cancer. *Proc. Nutr. Soc.* 58; 329.
- Vonderbank, H.,** 1949. Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberculose. *Pharmazie*, 4: 198-207. Warren, J.R. 1983. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*, 1:1273-1275.
- Yanishlieva-Maslarova, N. N., & Heinonen, M.,** 2001. Sources of natural antioxidants. In J. Pokorny, N. Yanishlieva, & M. Gordon (Eds.), *Antioxidants in food* (pp. 210–249). Boca Raton: CRC Press.
- Yao, Y., Ma, L., Luo, J.G., Wang, J.S., Kong, L.Y.,** 2010. New Triterpenoid Saponins from the Roots of *Gypsophila paniculata* L. *Helvetica Chimica Acta – Vol. 93.* 361-374
- Ziegler,** 1991. R.G., Vegetables, Fruits and carotenoids and the risk of cancer. *Am.J. Clin. Nutr.* 53;251S.
- Zor, M.,** 2007. Depolamanın Ayva Reçelinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri İle Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Zucker, A., Ahroni, A., Shetman, H., ve Vainstein, A.,** 1997. Adventitious Shoot Regeneration From Leaf Explants of *Gypsophila paniculata* L., *Plant Cell Reports* (1997) 16:775-778.

**Url-1,** <<http://www.erzincantarim.gov.tr/tr/index.php/yetirici-bilgileri/451-coeven-otu-yetiricili.html>> alındığı tarih 01.05.2012



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad Soyad:** İbrahim Gani ÇONA  
**Doğum Yeri ve Tarihi:** İzmir/Türkiye-13.03.1985  
**Adres:** Aşağı Mah. Asri Mezarlık Cad. No: 14  
Acıpayam/DENİZLİ  
**E-posta:** [ganicona@hotmail.com](mailto:ganicona@hotmail.com) / [ganicona85@gmail.com](mailto:ganicona85@gmail.com)  
**Lisans Üniversitesi:** Pamukkale Üniversitesi/Denizli  
**Bölüm:** Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü  
**Sempozyum Katılım Belgesi:** International Workshop on Urbansation, Land Use,  
Land Degradation and Enviroment Sempozyumu  
Katılımcı Sertifikası