

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***Saponaria kotschy* ve *Saponaria pumilio*'nun BAZI BİYOLOJİK
AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NURAY SARAÇ

DENİZLİ, TEMMUZ - 2019

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



***Saponaria kotschy* ve *Saponaria pumilio*'nun BAZI BİYOLOJİK
AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NURAY SARAÇ

DENİZLİ, TEMMUZ - 2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

NURAY SARAÇ tarafından hazırlanan *Saponaria kotschy* ve *Saponaria pumilio*'nun Bazı Biyolojik Aktivite Özellikleri adlı tez çalışmasının savunma sınavı 23.07.2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BİYOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

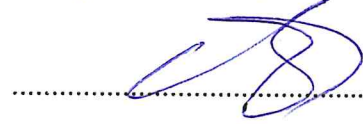
Danışman
Prof.Dr.Ramazan MAMMADOV



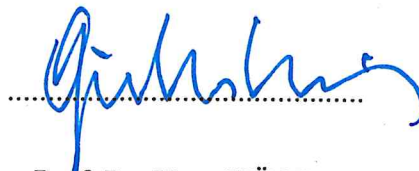
Üye
Prof. Dr. Yeşim KARA



Üye
Dr. Öğr. Üyesi Aydan GÜLSU



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 31/07/2019 tarih ve ..31/17... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof. Dr. Uğur YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü ✓

Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Koordinasyonu tarafından 2018FEBE043 nolu proje ile desteklenmiştir.

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.



NURAY SARAÇ

ÖZET

***Saponaria kotschy* ve *Saponaria pumilio*'nun
BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
NURAY SARAÇ
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF.DR. RAMAZAN MAMMADOV)

DENİZLİ, TEMMUZ - 2019

Türkiye, doğal bitki zenginliği açısından, Dünyada ılıman iklim kuşağındaki ülkelerin ilk sıralarında yer almaktadır. İklim farklılıkları, topoğrafik, jeolojik ve jeomorfolojik çeşitlilikler, değişen yükseklik farklılıkları, ekolojik çeşitlilik gibi bir çok faktörün, floristik çeşitliliğe yansımaları bu zenginliğin sebepleridir. Çalışma, birçok cins ve türe sahip olan Caryophyllaceae familyasının *Saponaria* L. Cinsine ait *Saponaria kotschy* ve *Saponaria pumilio* türlerinden elde edilmiş ekstraktlar üzerinde yapılmıştır. Yapılan literatür çalışmaları sonucunda çalışma materyalimizi oluşturan bu türler üzerinde yapılan çalışmalara ait her hangi bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Buna dayanarak her iki türün biyolojik aktivite potansiyelleri tespit edilmiştir. Bu bağlamda; *S. kotschy* ve *S. pumilio*'dan elde edilmiş olan metanol ve su ekstraktlarının; 6 farklı yöntemle (DPPH ve ABTS serbest radikal giderim kapasitesinin belirlenmesi, fosfomolibdenyum yöntemi, metal şelatlama kapasitesinin belirlenmesi, beta karoten-linoleik asit yöntemi, FRAP) antioksidan kapasitesinin belirlenmesi, toplam fenolik, flavonoid, tanen ve saponin miktarlarının tayini, Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) I testiyle potansiyel sitotoksik etkilerinin belirlenmesi, HPLC ile fenolik bileşenlerinin tespiti amaçlanmıştır. Yapılmış testler sonucu *S. kotschy* ve *S. pumilio*'dan elde edilmiş metanol ve su ekstraktlarının total antioksidan aktiviteye (en yüksek *S. kotschy* su ekstraktlarında %91,95 ±6,56), yüksek saponin miktarına (en yüksek *S. kotschy* su ekstraktlarında 147 µg/g.), zengin fenolik bileşen (15 bileşen) yapısına ve kısmen sitotoksik özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Söz konusu özellikler her iki türün farmakolojide ve gıda sanayinde kullanılabileceğine imkan yaratmaktadır.

ANAHTAR KELİMELER: *Saponaria* L., Caryophyllaceae, Antioksidan aktivite, HPLC,, Sitotoksik etki

ABSTRACT

SOME BIOLOGICAL ACTIVITY PROPERTIES OF *Saponaria kotschy* AND *Saponaria pumilio*

MSC THESIS

NURAY SARAÇ

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
BIOLOGY

(SUPERVISOR:PROF.DR. RAMAZAN MAMMADOV)

DENİZLİ,

Turkey, in terms of the richness of native plants, located in the temperate climate of the country in the first row in the world. Reflection of many factors such as climate differences, topographic, geological and geomorphological variations, changing altitude differences and ecological diversity to floristic diversity are the reasons for this richness. The study was carried out on extracts of *Saponaria kotschy* and *Saponaria pumilio* species belonging to *Saponaria* L. genus of Caryophyllaceae family which have many genera and species. Based on this, biological activity potentials of both species were determined. In this context; Methanol and water extracts obtained from *S. kotschy* and *S. pumilio*; Determination of free radical removal capacity by 6 different methods (DPPH and ABTS, phosphomolybdenum method, metal chelating capacity, beta carotene-linoleic acid method, FRAP) determination of antioxidant capacity, determination of total phenolic, flavonoid, tannin and saponin amounts, Brine Shrimp (*Artemia salina*) L.) I test was used to determine the potential cytotoxic effects and HPLC to determine phenolic compounds. The total antioxidant activity of methanol and water extracts obtained from *S. kotschy* and *S. pumilio* ($91.95 \pm 6.56\%$ in the highest *S. kotschy* water extracts), high saponin content (in the highest *S. kotschy* water extracts). 147 gg / g.), rich phenolic component (15 components) and partially cytotoxic properties. These properties allow both species to be used in the pharmaceutical and food industries.

KEYWORDS: *Saponaria* L., Caryophyllaceae, Antioxidant activity, HPLC,, Cytotoxic effects

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
SEMBOL LİSTESİ.....	viii
ÖNSÖZ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Çalışmanın Amacı ve Önemi	2
1.2 <i>Saponaria kostchyi</i> ve <i>Saponaria pumilio</i> 'nun Türleri	2
1.3 Bitkisel Sekonder Metabolitler.....	7
1.4 Serbest Radikaller.....	9
1.5 Antioksidanlar	10
1.5.1 Fenolik bileşikler	11
1.5.2 Fenolik Asitler	12
1.5.3 Flavonoidler	13
1.5.4 Saponinler	15
1.6 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	18
1.6.1 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Yöntemi	19
1.6.2 Toplam Fenolik Madde Tayini	20
1.6.3 Toplam Flavonoid Madde Tayini	20
1.6.4 β -karoten/Linoleik Asit Emülsiyon Sistemi	21
1.6.5 Folin-Ciocalteu Ayıracağı (FCR) ile Toplam Fenolik Yöntemi	21
1.6.6 Toplam Antioksidan Kapasite Testi (Fosfomolibdat Yöntemi) ..	22
1.6.7 Metal Şelatlama Gücü.....	22
1.6.8 ABTS Antioksidan Kapasite Yöntemi.....	23
1.6.9 Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Yöntemi ...	24
1.6.10 Brine Shrimp (<i>Artemia salina</i> L.) Letalite Testi.....	24
1.6.11 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Fenolik Bileşiklerin Analizi	26
2. MATERYAL VE METOD.....	27
2.1 Bitkilerin Toplanması ve Teşhisi	27
2.2 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması.....	27
2.2 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	30
2.2.1 β -Karoten/ Linoleik Asit Yöntemi.....	30
2.2.2 DPPH Serbest Radikal Giderim Kapasitesi	31
2.2.3 Şelatlama Kapasitesi	31
2.2.4 Fosfomolibdenyum Yöntemi	31
2.2.5 Demir İndirgeme Gücü Deneyi (FRAP).....	32
2.2.6 ABTS Radikal Giderim Aktivitesi.....	32
2.3 Toplam Sekonder Metabolit Miktarlarının Belirlenmesi	33
2.3.1 Toplam fenolik bileşik miktarının belirlenmesi.....	33

2.3.2	Toplam Flavonoid Madde Miktarlarını Belirlenmesi	33
2.3.3	Toplam Tanen Madde Miktarlarını Belirlenmesi	33
2.3.4	Toplam Saponin Madde Miktarlarını Belirlenmesi	34
2.4	HPLC metodu ile Fenolik Bileşenlerin Tayini	34
2.5	Brine Shrimp Sitotoksosite Deneyi	35
3.	BULGULAR	36
3.1	Antioksidan Aktivite Yöntemlerine Ait Sonuçlar	36
3.1.1	β -karoten/Linoleik Asit Testi	36
3.1.2	Fosfomolibdenyum Testi	37
3.1.3	ABTS Serbest Radikal Giderim Aktivitesi Sonuçları	39
3.1.4	FRAP İndirgeme Gücü Kapasitesine Ait Sonuçlar	42
3.1.5	DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesine Ait Sonuçlar	44
3.1.6	Şelatlama Kapasitesi	46
3.2	Sekonder Metabolit Miktar Tayini Sonuçları	47
3.2.1	Folin- ciocalteu Ayırıcı (FCR) ile Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları	48
3.2.2	Total Flavonoid Miktarı Sonuçları	49
3.2.3	Toplam Tanen Madde Miktarları Sonuçları	50
3.3	Toplam Saponin Madde Miktarları Sonuçları	51
3.4	Brine Shrimp Sitotoksosite Aktivite Yöntemi	53
3.5	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Fenolik Bileşiklerin Analizi	54
4.	SONUÇ VE ÖNERİLER	65
5.	KAYNAKLAR	72
6.	ÖZGEÇMİŞ	85

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: <i>Saponaria kostchyi</i> toplandığı yerden bir resim	3
Şekil 1.2: <i>S.kotschyi</i> Türkiye'deki yayılış alanı.....	4
Şekil 1.3: <i>S. pumilio</i> (fotoğraf M. Erdir Erten).....	6
Şekil 1.4: <i>S. pumilio</i> Türkiye'deki yayılış alanı.....	7
Şekil 1.5: Antioksidanların sınıflandırılması (Wootton 2011)	11
Şekil 1.6: Fenolik asitin yapısı a) Benzoik asitin yapısı b) Sınnamik asitin yapısı (Shahidi ve Nacz 1995)	14
Şekil 1.7: Flavonoidlerin yapısı ve çeşitleri	16
Şekil 1.8: Saponinlerin genel yapısı 1. Steroidal saponin 2. Triterpenoid saponin (Oleszek, 2002)	17
Şekil 1.9: DPPH'in antioksidan madde ile reaksiyonu	19
Şekil 1.10: ABTS'nin kimyasal reaksiyonu (Panala ve diğ. 2001).....	24
Şekil 1.11: A) <i>Artemia salina L.</i> B) <i>Artemia salina L.</i> 'nin yaşam şeması	25
Şekil 2.1: Ekstratların su banyosuna koyulmadan önceki hali	28
Şekil 2.2: Su banyosu	28
Şekil 2.3: Rotary evaporatör	29
Şekil 2.4: Liyifilizatör cihazı	29
Şekil 2.5: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> liyifilizatördeki reaksiyonu	30
Şekil 3.1: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri.....	37
Şekil 3.2: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> askorbik aside eşdeğer (mgAE/g) antioksidan kapasiteleri	38
Şekil 3.3: Askorbik asitin görünümü	39
Şekil 3.4: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> bitki ekstraktlarının ABTS serbest radikal giderim aktiviteleri	41
Şekil 3.5: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> bitki ekstraktlarının 700 nm'deki absorbans değerleri.....	42
Şekil 3.6: FRAP reaksiyonu görünümü	43
Şekil 3.7: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> ekstraktlarının DPHH serbest radikali giderim aktivitesi grafikleri	44
Şekil 3.8: DPHH radikali giderim aktivitesi görünümü Şelatlama Kapasitesi	46
Şekil 3.9: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> ekstraktlarının şelatlama kapasitesi grafik	47
Şekil 3.10: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> metal şelatlama renginin görünümü	47
Şekil 3.11: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> bitki ekstraktlarının toplam fenolik bileşen miktarı grafikleri	49
Şekil 3.12: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> bitki ekstraktlarının total flavonoid miktarları grafiği	50
Şekil 3.13: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> toplam tanen madde miktarları grafiği	51
Şekil 3.14: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> toplam saponin miktarının Quillaja kalibrasyon eğrisi	52
Şekil 3.15: <i>S. kotschyi</i> ve <i>S. pumilio</i> toplam saponin miktarları grafiği	52
Şekil 3.16: <i>S. pumilio</i> bitkisinin YPSK'daki metanol ekstraktları için kullanılan standart kromatogramı.....	56

Şekil 3.17: <i>S. kotschy</i> bitkisinin YPSK'daki metanol ekstraktları için kullanılan standart kromatogramı.....	56
Şekil 3.18: Gallik asit kalibrasyon eğrisi	56
Şekil 3.19: 3,4 dihidroksi kalibrasyon eğrisi	57
Şekil 3.20: 4-Hidroksi kalibrasyon eğrisi	58
Şekil 3.21: Chlorojenik asit kalibrasyon grafiği	58
Şekil 3.22: Vanilik asit kalibrasyon grafiği	59
Şekil 3.23: Caffeic asit kalibrasyon grafiği	59
Şekil 3.24: p-Coumaric asit kalibrasyon grafiği	60
Şekil 3.25: Ferulik asit kalibrasyon grafiği	60
Şekil 3.26: Cinnamic asit kalibrasyon eğrisi	61
Şekil 3.27: 2,5-dihidroksi kalibrasyon eğrisi	61
Şekil 3.28: Epicatechin kalibrasyon grafiği	62
Şekil 3.29: Rutin kalibrasyon grafiği	62
Şekil 3.30: Ellegic kalibrasyon grafiği	63
Şekil 3.31: Quercetin kalibrasyon grafiği	63

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: <i>S.kotschy</i> morfolojik özellikleri	3
Tablo 1.2: <i>S. pumilio</i> morfolojik özellikleri.....	5
Tablo 1.3: Bazı sekonder metabolitlerin sınıflandırılması	8
Tablo 1.4: Bazı bitkiler ve saponin içerikleri	17
Tablo 3.1: <i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri ..	36
Tablo 3.2: <i>S. kotschy</i> ve <i>S.pumilio</i> bitkilerinin askorbik aside eşdeğer (mgAE/g) antioksidan kapasiteleri	37
Tablo 3.3: <i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> bitki ekstraktlarının ABTS serbest radikali giderim aktiviteleri	40
Tablo 3.4: <i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> bitki ekstraktlarının konsantrasyonlarına göre absorbans değerleri.....	42
Tablo 3.5: <i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi.....	44
Tablo 3.6: <i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> ekstraktlarının şelatlama kapasitesi değeri.....	46
Tablo 3.7: <i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları	48
Tablo 3.8: <i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> bitki ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları	49
Tablo 3.9: <i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> toplam tanen madde miktarları	51
Tablo 3.10: <i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> bitki ekstraktlarının toplam saponin miktarları	52
Tablo 3.11: <i>S. pumilio</i> bitkisinin <i>A. salina</i> 'ya karşı ortalama ölüm oranları....	55
Tablo 3.12: <i>S. kotschy</i> bitkisinin <i>A. salina</i> 'ya karşı ortalama ölüm oranları	55
Tablo 3.13: <i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> bitkilerinin metanol ekstraktlarının içerisindeki bazı fenolik bileşenlerin içerikleri ve miktarları.....	55

SEMBOL LİSTESİ

ml : Mililitre

°C : Santigrat derece

Gr : Gram

M : Molarite

Mg : Miligram

Mm : Milimetre

µg : Mikrogram

% : Yüzde

µL : Mikrolitre

β : Beta

% : Yüzde

DPPH : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

GAE : Gallik Asit Eşdeğeri

FCR : Folin-Ciocalteu reaktifi

dH₂O : Distile Su

FRAP: Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü

HPLC: High performance liquid chromatography

BHA : Bütilenmiş Hidroksi Anisol

YPSK (HPLC) : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

S. pumilio: *Saponaria pumilio*

S. kotschy: *Saponaria kotschy*

ÖNSÖZ

Hazırlamış olduğum yüksek lisans tezimde gerekli olanakları sağlayarak, değerli bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren danışman hocam Sayın **Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV**'a en içten saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım. Bitkilerin toplanma ve teşhisinde yardımlarını esirgemeyen sayın hocam **Prof. Dr. Olcay DÜŞEN**'e, çalışma materyalimin tespitinde, tezimin şekillenmesinde ve yazım aşamasında değerli yardımlarından dolayı kıymetli hocam **Dr. Cennet ÖZAY**'a, deneyler sırasında beni yönlendiren, desteğini her daim hissettiğim sevgili doktora öğrencisi **Özge Kılınçarslan AKSOY**'a, tüm laboratuvar arkadaşlarıma ve beni bugünlere getiren, çalışmalarımın her aşamasında manevi desteklerini esirgemeyen canım aileme de sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım.

1. GİRİŞ

Türkiye, doğal bitki zenginliği açısından, Dünyada ılıman iklim kuşağındaki ülkelerin ilk sıralarında yer almaktadır. İklim farklılıkları, topoğrafik çeşitlilikler, jeolojik ve jeomorfolojik çeşitlilikler, deniz, göl, akarsu gibi değişik su ortamı çeşitlilikleri, 0-5000 m'ler arasında değişen yükseklik farklılıkları, üç değişik bitki coğrafya bölgesinin birleştiği bir yerde oluşu gibi birçok ekolojik çeşitliliğin, floristik çeşitliliğe yansımaları bu zenginliğin sebepleridir (Ekim 2005). Türkiye ılıman iklim kuşağında ve Batı Palearktık ülkeleri arasında % 34 endemizm ile en zengin floraya sahip ülkedir (Davis ve diğ. 1984).

Davis (1967) ve Güner ve ark.(2000) yaptığı çalışmaya göre Caryophyllaceae familyasının 32 cins ve 500 tür içerdiği kaydedilmiştir. Çalışma materyallerimizin de ait olduğu *Saponaria* L. cinsinin ise Türkiye' de 18 türün 20 taksonuna sahip olduğu ve 10 taksonun ise Türkiye' de endemik olduğu bildirilmiştir (Huber Morath, 1967).

Caryophyllaceae familyasının ve *Saponaria* cinsinin bazı anatomik özellikleri Metcalfe ve Chalk (1950) tarafından rapor edilmiştir. Ayrıca Türkiye'deki bazı *Saponaria* taksonlarının polen morfolojisi Arkan ve İnceoğlu (1992) tarafından belirlenmiştir.

Saponaria türleri saponinleri de kapsayan triterpenoid doğal bileşenlerini içermektedir. Örneğin, *Saponaria officinalis* L. saponince zengin ve sabun olarak kullanılan rizom ve yapraklara sahiptir (Baytop, 1999). Yerel isim olarak kullanılan "sabunotu" sabun benzeri olmalarından ve deterjan özelliği göstermelerinden dolayı saponinlerin anlamını da yansıtmaktadır. Bu türler Türkiye' de süs bitkisi olarak yaygın bir şekilde yetiştirilmektedir. *S. kotschyi*' nin saponinleri ve kimyasal içerikleri Sezik ve Türkoz (1987) tarafından belirlenmiştir. Ek olarak, *Saponaria* türlerinin farmakolojik amaçlarla kullanıldığı kaydedilmiştir (Metcalfe ve Chalk, 1950). "çöven" olarak bilinen *S. officinalis* 30100 cm uzunluğunda çok yıllık bir bitkidir. Bu bitkiler yol kenarları boyunca nemli hendeklerde, çayırarda yetişmektedir ve eski evlerin yakınında süs bitkisi olarak ekilmektedir. *S. officinallis* büyük miktarda saponin içermektedir ve alternatif tıpta Dioscorides zamanından beri terletici, hafif idrar söktürücü, balgam söktürücü, temizleyici ve tonik olarak kullanılmaktadır (Baytop 1984).

Çalışmamızda *Saponaria kotschy* ve *Saponaria pumilio*'nun bazı biyolojik aktivite özelliklerinin metanol ve su ekstraktları alınarak, 6 farklı yöntemle (DPPH ve ABTS serbest radikal giderim kapasitesinin belirlenmesi, Fosfomolibdenyum yöntemi, Metal şelatlama kapasitesinin belirlenmesi, Beta karoten-linoleik asit yöntemi, İndirgeme gücü kapasitesinin belirlenmesi) antioksidan kapasitesinin belirlenmesi, Toplam fenolik, flavonoid, tanen ve saponin miktarlarının belirlenmesi, Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) testiyle potansiyel sitotoksik etkileri belirlenmiştir.

1.1 Çalışmanın Amacı ve Önemi

Teknolojideki gelişmelerle etken maddelerin elde edilmesi ve zaman zaman sentetik türevlerinin yapılmasının hız kazanmasına rağmen, halen bitkisel ilaçlar tedavide kullanılmaktadır. Artık bilim adamları da doğanın bize vermiş olduğu bazı hastalıkların tedavisinde doğa da bulunan çok sayıdaki çeşitli bitki türlerinden faydalanmaktadır. Bitkisel içerikli bileşiklerin, antioksidatif etkileri nedeniyle araştırmalar tüm dünyada sürekli artmaktadır.

Yapılan literatür çalışmaları sonucunda çalışma materyalimizi oluşturan *Saponaria kotschy* ve *Saponaria pumilio* türleri üzerinde planlanan çalışmalara ait her hangi bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Araştırmaya konu olan bitki türlerinin biyolojik aktivite potansiyellerinin tespit edilmesi planlanmıştır.

1.2 *Saponaria kotschy* ve *Saponaria pumilio*'nun Türleri

a.Saponaria kotschy. Boiss., Diagn. ser. 1(1): 16 (1843). Syn: *S. intricata* Freyn in Bull. Herb. Boiss. 3: 77 (1895). (**Endemik** bir türdür.)

Tablo 1. 1:*S.kotschy* morfolojik özellikleri

<i>S. kotschy</i>	Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Davis, 1967)	Monographie Der Gattung Saponaria (Simmler, 1910)	Erdir Erten (2009)
Gövde	Tek ya da iki yıllık bitkiler, tabandan dikey-yayık olarak dallanmış, tüm bitki glandular ve eglandular tüy örtüsü ile kaplı; gövdeler toprak üzerine yatıkveya tabanda meyilli olup, sonra dikleşerek yükselmekte, 20-30 cm	İki yıllık bitkiler, hirsut yapışkan tüy örtüsüne sahip, gövdeler yaprak üzerine yatıkveya tabanda meyilli olup, sonra dikleşerek yükselmekte , uzun internodlu	Tek ya da iki yıllık bitkiler, tabandan dikey- yayık olarak dallanmış, tüm bitki glandular ve eglandular tüy örtüsü ile kaplı; gövdeler toprak üzerine yatık veya tabanda meyilli olup, sonra dikleşerek yükselmekte, 65 cm'e kadar, yapışkan
Çiçek durumu	Korimbus çok çiçekli ve seyrek. Pediseller 2-4 mm, dik-yayık	Korimbus çok çiçekli ve seyrek	Korimbus çok çiçekli ve seyrek. Pediseller 1-5 mm, dik-yayık
Yaprak	Taban yaprakları geniş, obovat, spahulat, petiollü; gövde yaprakları oblong-lanseolat, hemen hemen sapsız	Taban yaprakları oblong-spathulat, akut, 1 damarlı; gövde yaprakları oblong-lanseolat	Taban yaprakları geniş obovat-spathulat, petiollü, 1 damarlı; gövde yaprakları oblong-lanseolat, hemen hemen sapsız
Brakte	-----	-----	-----
Kaliks	Kaliks darca silindirik, çizgili, 9-12 mm, glandular ve eglandular tüylerle kaplı	Kaliks darca silindirik, çizgili, çiçeklenme döneminde yaklaşık olarak 12 mm, meyvede iken şişkin değil	Kaliks darca silindirik, çizgili, yaklaşık olarak 13 mm meyvede iken hafifçe şişkin, glandular ve eglandular tüylerle kaplı
Kaliks dişi	Çok kısa akut dişli	Oblong, akut	Kısa akut dişli, 1-2 mm
Petal	13-15 mm, pembe, lamina obovat ve tam, laminanın tabanında iki parçalı taç pulu bulunmakta ve dar bir	Kaliksten dışarı çıkmakta, açık pembe, ovat-kuneat, laminanın tabanında uzun iki parçalı taç	Yaklaşık olarak 15 mm pembe-kırmızimsı pembe, lamina obovat ve tam, laminanın

Tablo 1. 2:*S.kotschy* morfolojik özellikleri (devamı)

	tırnak kısmı yer almakta	pulu bulunmakta	tabanında iki parçalı taç pulu bulunmakta ve dar bir tırnak kısmı yer almakta
Stamen (sayı)	-----	-----	10
Ovaryum	-----	4-8 ovullü	2 stiluslu
Kapsül	Darca oblong, yaklaşık 7 mm ve uçta daralmakta, 12 tohumlu	Oblong, bir karpoforun üzerinde, 1-2 tohumlu	Oblong yaklaşık olarak 9 mm, bir karpoforun üzerinde, 1-2 tohumlu
Tohum	-----	tüberküllü	Yaklaşık olarak 2 mm, mat, koyu kahverengi, tüberküllü, globular-reniform



Şekil 1.1: *S. kotschy* toplandığı yerden bir resim



Şekil 1. 1: *S.kotschy* Türkiye'deki yayılış alanı

***Saponaria pumilio* Boiss .., Diagn. Ser. 1 (1): 18 (1843) non (L.) Fenzl. ex Braun inFlora 26: 801 (1843).**

Tablo 1.1: *S. pumilio* morfolojik özellikleri

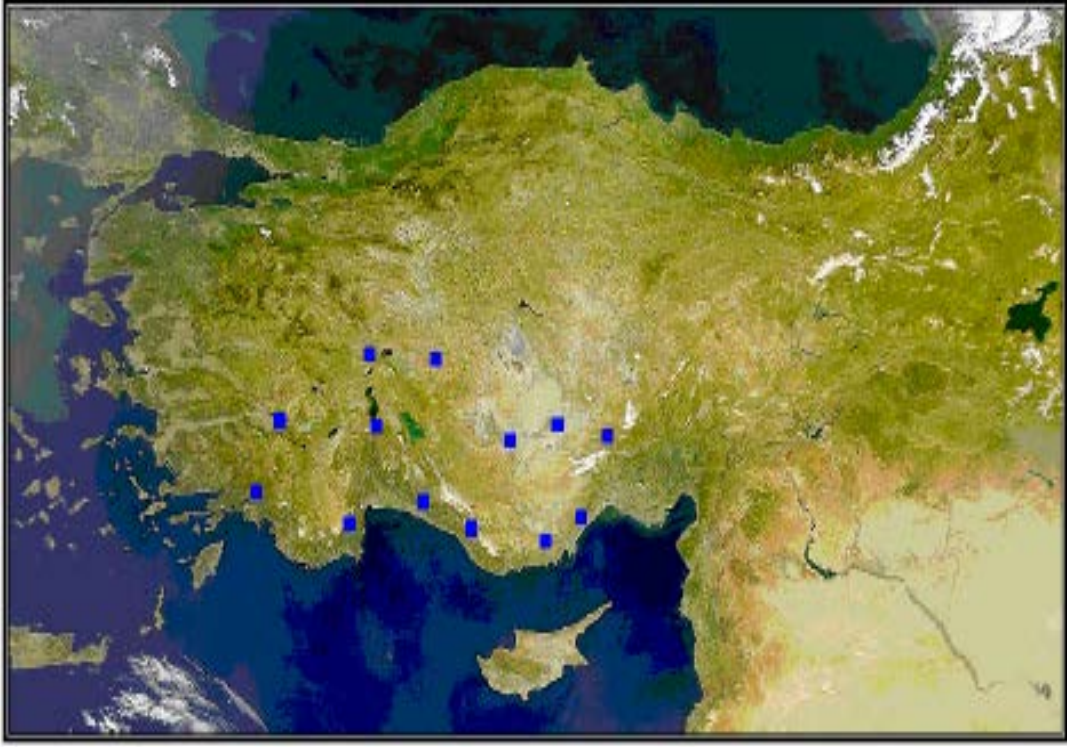
<i>S. pumilio</i>	Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Davis, 1967)	Monographie Der Gattung Saponaria (Simmler, 1910)	Erdir Erten (2009)
Gövde	Çok yoğun kökten itibaren çok gövdeli veya yastık şeklinde, çok yıllık, çiçekli gövdeler 1-4 cm	Çok yoğun kökten itibaren çok gövdeli, yastık şeklinde, çok yıllık	Çok yoğun kökten itibaren çok gövdeli veya yastık şeklinde, çok yıllık, çiçekli gövdeler 4-10 cm
Çiçek durumu	Çiçek durumunun dalları 3-10 çiçekli , uzun, kapitat, glandular tüy örtüsü ile kaplı	Dallar 3-7 çiçekli pediseller hemen hemen kaliks boyu kadar, hirsut-hispid	Çiçek durumunun dalları 3-10 çiçekli, kısa ve uzun glandular tüy örtüsüne sahip
Yaprak	Taban yaprakları 5-7 x 1 mm, linear, tüysüz ya da laminanın üzeri kısa eglandular tüy örtüsüne sahiptir. Gövde yaprakları az sayıda, sapsız ya da bulunmayabilir.	Taban yaprakları linear, tüysüz ya da kenarları sili; gövde yaprakları hirsut, akut	Taban yaprakları 5-7 x 1mm, linear, tüysüz ya da kenarları sili ya da laminanın üzeri kısa eglandular tüy örtüsüne sahip, gövde ve yaprakları az sayıda, linear 6-10 x 1 mm
Brakte	-----	Küçük, gövde yaprakları ile aynı yapıda	Linear, 2-3 mm
Kaliks	Glandular, oblong-silindirik şekilli, yaklaşık 8 mm	Glandular-hispid, silindirik	6-9 mm, oblong-silindirik, glandular tüylerle kaplı, yeşil renkli
Kaliks dişi	-----	Üçgen dişli, aksat	Üçgen dişli aksat
Petal	Koyu kırmızı ya da morumsu kırmızı, lamina dar obovat, uç kısmı girik, iki kısa linear taç pulu bulunmakta ve tırnak kısmı linear-oblong	Morumsu kırmızı, lamina kordat , 2 linear küçük taç pulu bulunmakta	Kızıl ya da morumsu kırmızı-koyu pembe, obovat olan laminanın uç kısmı retus, tabanında 2 taç pulu bulunmakta,

Tablo 1.2: *S. pumilio* morfolojik özellikleri (devamı)

Stamen (sayı)	Stamenler yaklaşık olarak petal uzunluğunun yarısı kadar	Stamenler kısa	Stamenler yaklaşık olarak petallerin 1/3'ü kadar
Ovaryum	Stilus yaklaşık 1 mm	Kısa stiluslu, kapitar stigmalı	2 ya da 3 kısa, yaklaşık olarak 1 mm kadar stiluslu: kapitat stigmalı; çok sayıda ovullü
Kapsül	Kapsül oblong, hemen hemen sapsız ve kaliksle eşit boydadır	Oblong hemen hemen sapsız	Oblong hemen sapsız, 7-12 tohumlu
Tohum	-----	Küçük, tüberküllü	Yaklaşık 1mm, hemen hemen globular-reniform koyu kahverengi



Şekil 1. 2: *S. pumilio* (fotoğraf M. Erdir Erten)



Şekil 1. 3: *S. pumilio* Türkiye'deki yayılış alanı

1.3 Bitkisel Sekonder Metabolitler

Dünyada sekonder metabolitler doğada bitkinin çevresel ortama adapte olmasında, kendini zararlılara karşı korumada, neslini devam ettirebilmesi gibi önemli durumlarda bitkiler tarafından geliştirilmiş mekanizmaların ürünüdür. Bitkisel sekonder metabolitlerin önemli görevleri şöyledir:

a) Kuraklık, tuzluluk, UV ışınlar vs. gibi farklı çevre şartlarının meydana getirdiği stres ortamına karşı koyma,

b) Herbiyorlara (böcek, sürüngen vb.) karşı koruma,

c) Mikroorganizmalara (bakteri, mantar vb.) karşı savunma,

d) Bazı metabolik ve daha gelişmiş ekolojik işlevler (örneğin; tohum dağılımını sağlamak için hayvanları ve diğer taşıyıcıları cezbettirme gibi).

Sekonder metabolitler günlük yaşantımızda kimyasallar ürünler ilk sırada olmak üzere kullandığımız ilaçların hammaddesi olup kozmetik, yiyeceklerde zirai de kullanılan ilaçların içerisinde pek çok kimya sektöründe kullanılmaktadır

Sekonder metabolitler 3 bölüme ayrılmaktadır. Bunlar; terpenler, fenoller ve azot ve/veya kükürt içeren bileşikler olarak ayrılmaktadır.(Agostini- Costa ve diğ. 2012)

Tablo 1.3: Bazı sekonder metabolitlerin sınıflandırılması

	Tip	Örnek
TERPENLER	Hemiterpenler	Prenol
	Monoterpenler	Mentol
	Seskiterpenler	Limonen
	Diterpenler	Taksol
	Triterpenler	Digitanin
	Tetraterpenler	Karoten
	Meroterpenler	Klorofil
	Politerpenler	Dolikol
FENOLİK BİLEŞİKLER	Hidroksibenzoik Asitler	Gallik asit
	Hidroksisünamik Asitler	Ferulik asit
	Fenilpropanoidler	Kumarin
	Naftokinonlar	Juglon
	Antrasenler	Antranol
	Flavonlar	Apigenin
	Flavonoller	Kuersetin
	İzoflavonlar	Genistein
	Antosiyaninler	Petunidin
AZOT ve/veya KÜKÜRT İÇEREN BİLEŞİKLER	Heterosiklik Alkoloidler	Nikotin
	Non-heterosiklik Alkoloidler	Efedrin
	Psödo Alkoloidler	Solanidin
	Siyanojenik Glikozitler	Hidrojen siyanid
	Glukozinolatlar	Sinigrin
	Non-protein Amino asitler	Mimozin

1.4 Serbest Radikaller

Serbest radikaller tek veya pek çok ortaklaşmamış elektron barındıran atom veya moleküllerden oluşmaktadır . Bu radikaller üç farklı yolla meydana gelmektedir. Bunlar:

a. Kovalent şekilde dizilen normal tek molekülün ayrı ayrı parçasındaki ortak elektronlarından her hangi bir tekinin kalarak homolitik bölünmesi ile meydana gelmektedir.

b. Herhangi molekülün bir elektronunun kaybolması veya bir molekülün heterolitik bölünmesi sonucu. Heterolitik bölünme kovalent bağ meydana getiren her iki elektron meydana getiren atomlardan birisinde kalarak böylece serbest radikaller yerine iyonları oluştururlar.

c. Her hangi moleküle yalnız tek elektronun bağlanması ile

Harman ve ark., metabolik reaksiyonların çoğalmasıyla serbest radikallerin oluşumunun giderek arttığını rapor etmiştir.

Biyolojik mekanizmalarda serbest radikaller genellikle elektron alışverişi neticesinde oluşmaktadırlar. Serbest radikaller artı yüklü, eksi yüklü ya da elektriksel olarak nötral bulunabilirler.

Serbest radikaller çevre kirliliği, sigara dumanı, hiperoksi, aşırı egzersiz sırasında, birçok enfeksiyon neden olduğu reaksiyonlarda, fagositler tarafından hücre içine alınan bakteri ve diğer canlıların öldürülmesi ve normal hücre metabolizması esnasındaki oksijen içeren biyokimyasal reaksiyonların etkisi sonucu serbest radikalleri oluşturmaktadır.

Bu radikaller hücrelerin bütün yapısına etki etmektedirler. Bunlar proteinler lipidler, nükleik asitler, karbonhidratlar, enzimler ve DNA üzerinde önemli işlevlere sahiptir. Mitokondrideki oksijenli solunumun bozulmasına neden olurlar. Hücrenin yapısındaki K^+ yok olmasını ve trombosit 21 durumunu çoğaltmaktadırlar.

1.5 Antioksidanlar

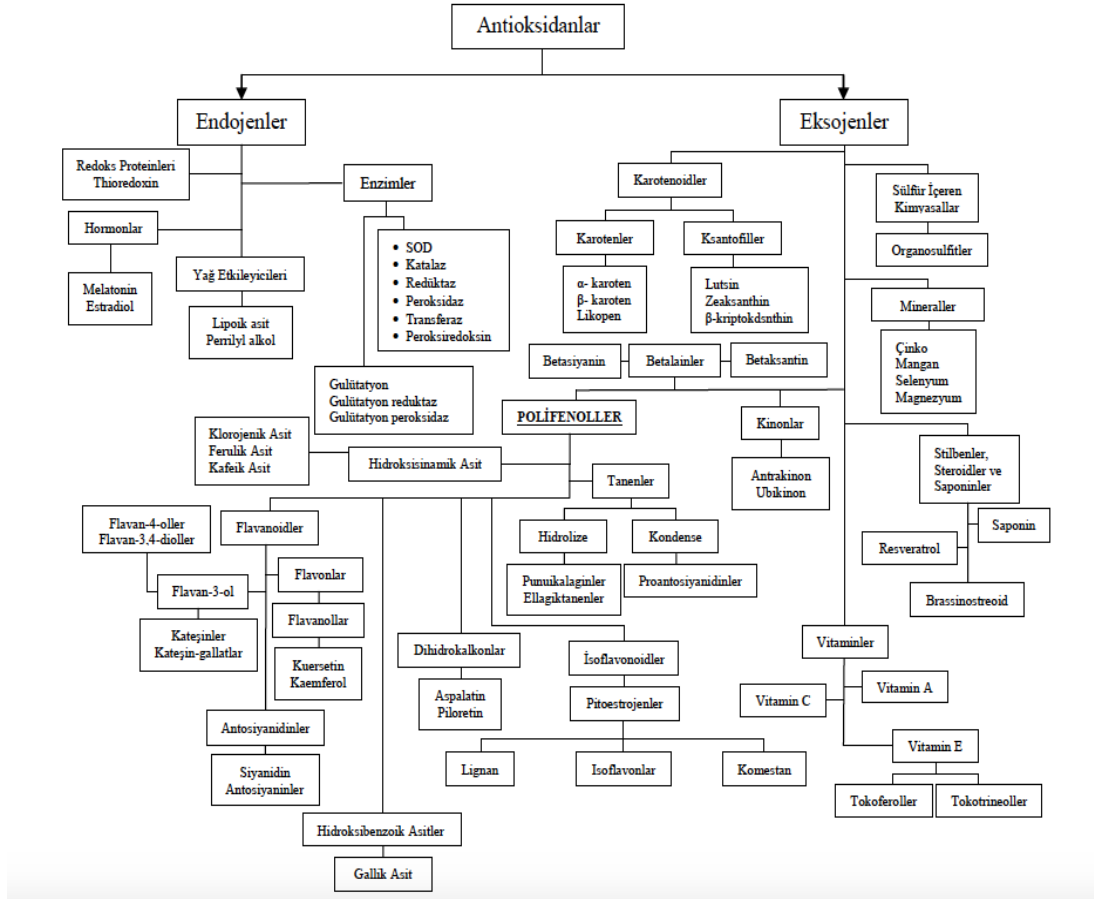
Antioksidan aktivite mekanizması serbest radikalleri yok ederek vücudun serbest radikallerden zarar görmemesini ve kendini geliştirmesine yardımcı olan maddelerdir. Genellikle canlı organizmalarda meydana gelen serbest radikaller, lipid oksidasyonunun oluşmasına ve devamında hücre ölümlerini meydana getirmektedir. Antioksidanların önemli bir kısmını mikroorganizmalar (bakteri, mantar vb.), bitkiler ve organizmanı oluşturan canlı mekanizmalar aracılığıyla doğal olarak üretilmektedir. Doğal antioksidanlar olarak bilinmektedir ve genellikle tercih edilen antioksidan kaynakları olarak öngörülmektedir. (Pokorný 2007).

Antioksidanlar bilindiği üzere birçok vitaminde bulunmaktadır. Bunlar arasında vitamin C, vitamin E ve A vitamini olarak bilinmektedir. Ayrıca birçok kişi tarafından betakarotenin öncü maddesi olarak bilinmektedir. Bitkisel ürünlerde genellikle renkli maddelerini oluşturan flavonoidler ve bunlar arasında elektron alışverişi yapan çinko (Zn) ve selenyum (Se) gibi maddeler bulunmaktadır. (Mammadov 2014).

Antioksidanların etki mekanizmaları şöyledir:

- a. Metal iyonlarının bağlanması ile radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi
- b. Organik moleküllere bağlanan serbest radikallerin oluşturduğu hasar sonrası onarımı ve temizlenmesi
- c. Enzimatik reaksiyonlar aracılığı ile reaktif oksijen türlerinin arındırılması ya da temizlenmesi
- d. Herhangi bir uyarı sonucu reaktif oksijen türlerinin engellenmesi

Ülkemizde bitkiler doğal antioksidanlar açısından oldukça zengin bir çeşitliliğe sahiptir. Antioksidanlar arasında en çok ön plana çıkan fenolik bileşiklerdir. (Shadidi ve Nacz 1995)



Şekil 1. 4: Antioksidanların sınıflandırılması (Wootton 2011)

1.5.1 Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler; bitkiler sayesinde üretilen ve antioksidan özelliği gösteren sekonder metabolitlerdir. Çoğunlukla su içerisinde çözülebilen ve aromatik zincir halkasında en az bir veya birden fazla hidroksil grubu (OH-) içeren, basit fenolik bileşiklerden, yüksek oranda polimerize olmuş çok sayıda fenolik maddeleri içeren gruptur (Canıyılmaz, 2015). Gıdaların içerisinde fenolik bileşikler karşımıza çoğunlukla meyvelerin yapısında bulunmanın yanı sıra meyvenin çeşitlerine göre farklılıklar söz konusudur.

Dünyada bulunan bitkilerin hemen hepsinin metabolizmasında, sekonder metabolit olarak yapısında mevcut olan ve bitkilerin kendilerini savunmada rol oynadığı bilinen farklı özelliklerde ve çeşitli değerlerde fenolik bileşiklerin bulunduğu

kabul edilmektedir. (Saldamlı 2007). Fenolik bileşikler fenolik asitler ve flavonoidler olarak ayrılmaktadır(Mammadov 2014).

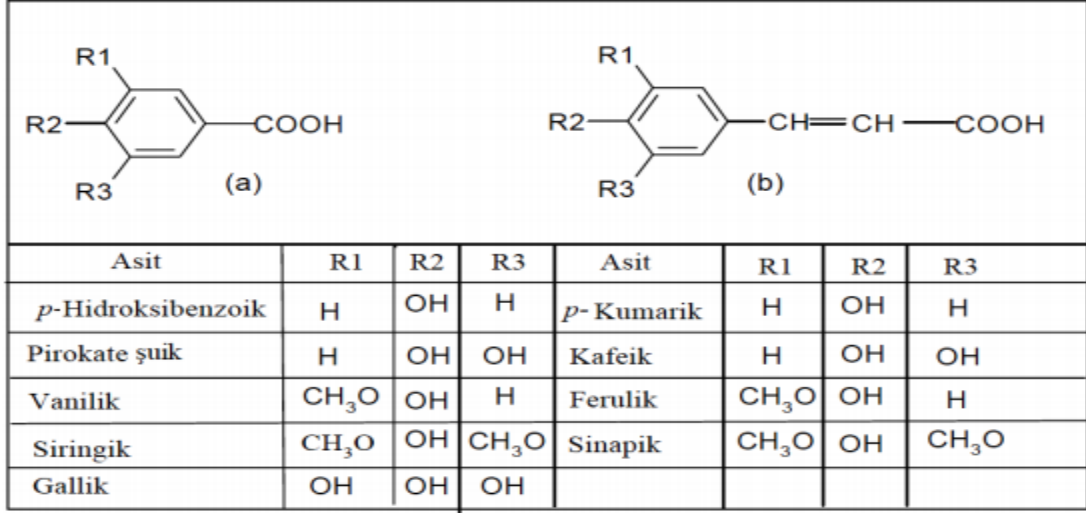
Dünyada her geçen yeni fenolik bileşikler bulunup mevcut olana yenileride aktarılarak birçok fenolik bileşiğin yapısı ve içeriği tespit edilmiştir (Kafkas ve diğ. 2006, Cemeroğlu 2004). Birçok bitkinin meyve kısmında , sebzelerde, tohumlarda, çiçek ve çiçeklerin kısımlarında fenolik bileşikler bulunabilmektedir. (Coşkun 2006, Aydın ve Stün 2007). Sebze ve meyvelerin bir çoğunun lezzetinin oluşmasında oluşmasında rol oynamaktadır. Ayrıca ağızda tuzlu, acı, ekşi ve burukluk gibi tat unsurlarının oluşmasını etkilemektedirler. Fenolik bileşiklerin çoğu meyve ve sebzelerin renginin oluşmasına katkı sağlamaktadır. Örneğin; sarı-esmer, sarı, kırmızı-mavi renk tonlarının oluşmasında (Zor 2007, Güngör 2007). Genellikle meyvelerin yapısında bulunan fenolik bileşiklerin anti-oksidatif ve anti-mikrobiyal özelliklerine sahip olması nedeniyle sağlık üzerinde olumlu etkilerinden dolayı işlevsel gıda olarak değerlendirilmektedir (Pehlivan ve Güteryüz 2004). Beslenme fizyolojisi açısından fenolik bileşiklere önemli etkileri sebebiyle "biyoflavonoid" olarak adlandırılmaktadır. Bazı bulgularda permeabilite faktörü (P faktörü) veya P vitamini olarak isimlendirilmektedir. (Saldamlı 2007, Cemeroğlu 2004).

1.5.2 Fenolik Asitler

Bitkilerin içeriğinde bulunan fenolik asitler, sinnamik ve benzoik asitlerin hidrokillenmesi ile meydana gelen yapılardır. İzoflavinler, flavinler, flavaninler, flavanoller, antosiyaninler ve flavinoller gibi altı gruptan meydana gelen yapılar ise flavonoidler olarak isimlendirilmektedir(Modanlıoğlu, 2012).

Fenolik asitler bilindiği üzere 2 gruba ayrılmaktadır. Bunlar ; Hidroksi benzoik ve hidroksisinnamik asitlerdir. Hidroksibenzoik asitlerin yapısı C6-C1 (fenilmetan) yapısında bitkisel gıdalarda çok az miktarda bulunmaktadır. Bunlar salisilik asit, m-hidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asitler gibi asitlerdir. Hidroksisinnamik asitin yapısı C6-C3 (fenilpropan) şeklindedir. OH grubunun fenilpropan halkasına bağlandığı yeri ve yapısına göre farklı özellikler gösterirler. Genellikle çok fazla

bulunanları kafeik asit, ferulik asit, pkuaririk asit ve o-kumarik asitlerdir. Bitkilerde büyük bir kısmı organik asitler ve şekerlerle esterleşmiş halde bulunan, fenolik asitlerin (Saldamlı 2007, Balasundram ve diğ. 2006) kimyasal yapıları Şekil 1. 6'da görülmektedir.



Şekil 1. 5: Fenolik asitin yapısı a)Benzoik asitin yapısı b)Sinnamik asitin yapısı (Shahidi ve Nacz 1995)

1.5.3 Flavonoidler

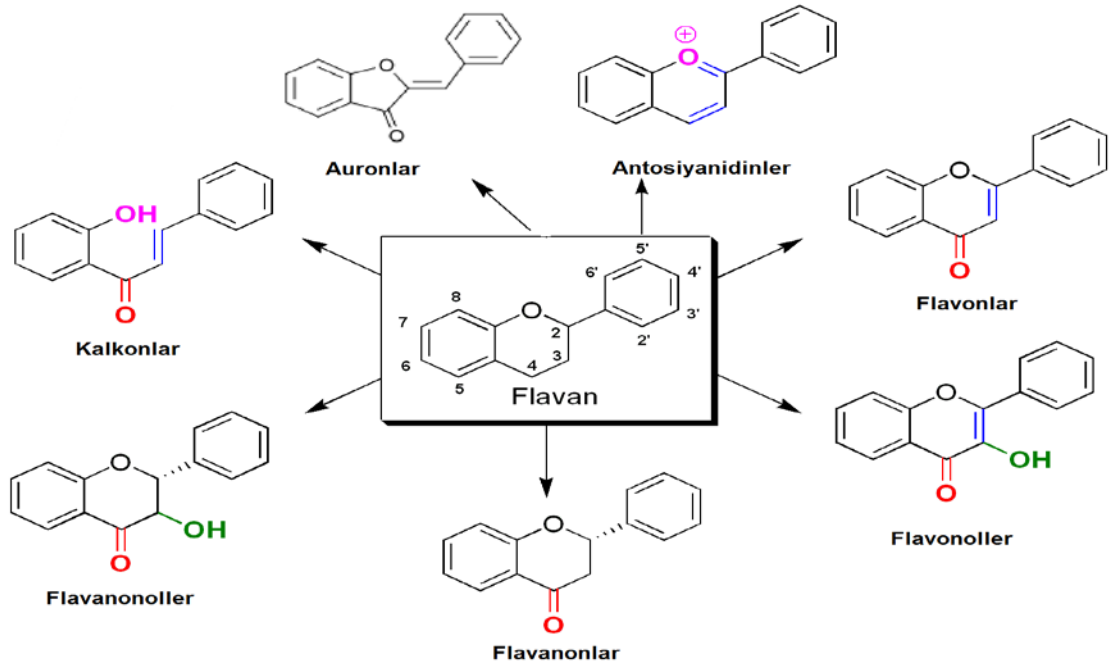
Flavonoidler, bütün damarlı bitkilerin yapısında doğal olarak mevcut olan ve 4000'e yakın grubu bulunan bileşiklerdir. Flavonoidlerin üzerinde yapılan ilk araştırma 1936 yılında Rusznyak ve Szent-Gyorgyi tarafından yayınlanmıştır ve flavonoidlerin biyolojik aktiviteleri rapor edilmiştir.

Bitkiler aleminde sekonder metabolitler içerisinde önemli bir yere sahip olan flavonoidlerin günümüzde 6000'in üzerinde çeşidi olduğu bilinmektedir. Flavonoidlerin fazla sayıda çeşidinin bulunmasının sebebi ana iskelet üzerine farklı şekillerde dizilen yan grupların pozisyonu ve bağlanma şeklinin çeşitliliğinden ve bu grupların sayılarının fazla oluşundan kaynaklanmaktadır. Flavonoidlerin kimyasal yapısını oluşturan ana iskelet 15 karbon atomundan oluşan hetero bir iskelete sahiptir.

Bitkilerin yapısında bulunan flavanoidler bileşiklerin önemli kısmını oluşturmaktadır. Sarı renkte bulunmaları sebebiyle Latince’de ‘‘sarı’’ anlamına gelen ‘flavus’ söz öbeğinden türetilmesi sonucu flavanoid adı verilmiştir. İlk defa flavanoid tipinde bir madde Şevrole tarafından meşe ağacının bir türünün kök kısmından izole edilerek bulunmuştur. Sonradan bu madde kuersetin olarak isimlendirilerek sarı renkli boya olarak kullanılmaya başlanılmıştır.(Mammadov 2014). Flavonoidlerin genel yapısı C6-C3-C6 difenilpropan iskelet yapısından oluşmaktadır. Ortasında bulunan piran halkasındaki değişikliğe bağlı olarak % alt grupta incelenmektedirler (Söylemezoğlu 2003).

Bitkilerin sekonder metabolitleri içerisinde önemli bir sınıf olan flavonoidlerin günümüzde 6000’in üzerinde çeşidi bilinmektedir. Flavonoidlerin çok sayıda çeşidinin bulunması, ana iskelet üzerine bağlanan yan grupların pozisyonu ve bağlanma durumunun çeşitliliğinden ve bu grupların sayılarının fazla oluşundan kaynaklanmaktadır. Flavonoidlerin ana iskeletini oluşturan kimyasal yapı 15 karbon atomundan oluşan hetero bir iskelettir.

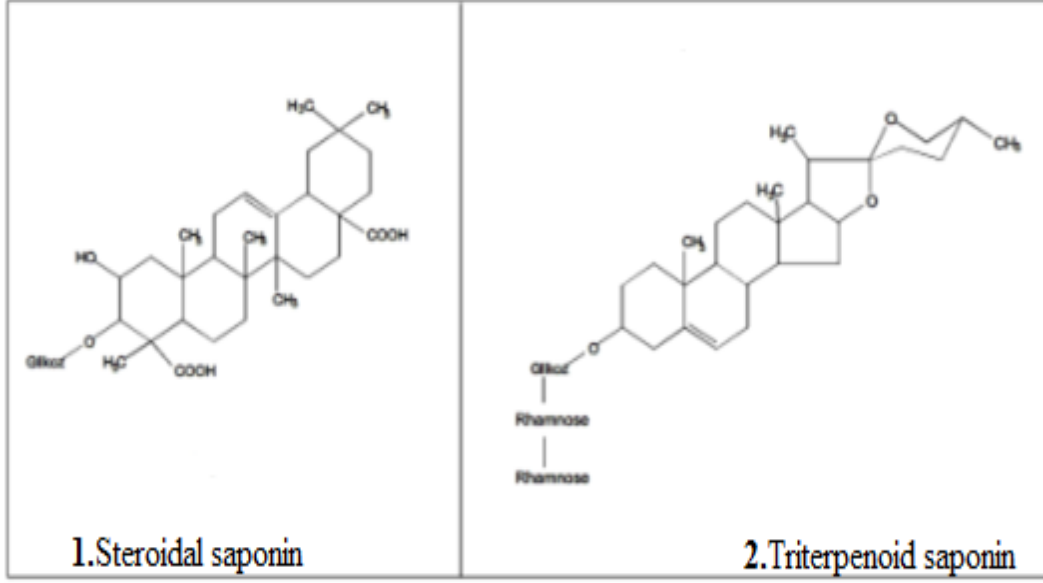
Flavonoidler bitkiler aleminde çok yaygın olarak bulunan sarı pigmentlerdir. Bunlar en çok sekerlerle birleşmiş durumda yani heterozit olarak bulunur (Tanker ve Tanker, 2003). Bunlara Flavonozitler denir. Flavonoidler, bitkiler aleminde çoğunlukla bulunan ve günlük diyetlerde çoğunlukla tercih edilen doğal ürünlerdir. Çiçeklerin renk oluşumunda ve sonbaharda çiçeklerin açmasından sorumlu pigmentleri oluşturur. Uzun yıllardır bitkiler için renk pigmentleri olarak kabul edilmektedir.



Şekil 1. 6: Flavonoidların yapısı ve çeşitleri

1.5.4 Saponinler

Saponinler tek çekirdekli bir veya daha çok yan zincirlere sahip suda çözünebilir karbohidratlardan meydana gelen organik bileşiklerdir (Cheeke, 2001). Saponin ismi Latince sabun anlamına gelen “sapo” kelimesinden türetilerek oluşturulmuştur.. Saponinler iki kısımdan oluşmaktadır. Bunlar; glikan ve aglikandır. Saponinlerin glikan kısmı düz veya dallanmış oligosakkaritler oluştururken, aglikan kısmını ise steroidal veya triterpenoidal yapıya sahip saponinler ile –OH, –COOH ve –CH₃ gibi fonksiyonel gruplar meydana getirmektedir(Olezsek, 2002). Aglikan bölümüne tek şeker grubu bağlanmışsa monodezmodize, iki şeker grubu bağlanırsa bidezmozide, üç şeker grubu bağlanırsa tridezmozide olarak adlandırılmaktadır.. Saponinlerin içerisinde genellikle D-glikoz, Dgalaktoz, D-gliküronik asit, D-riboz, D-ksiloz, Larabinoz, L-fruktoz ve L-ramnoz ve 3-metil glikoz, quinozoze ve apioz gibi çeşitli karbohidratların bulunduğu söylenmektedir. (Francis ve ark., 2002; Oleszek, 2002).



Şekil 1.2: Saponinlerin genel yapısı ;

1. Steroidal saponin
2. Triterpenoid saponin (Oleszek, 2002)

Saponinler bitkiler aleminde çok geniş yayılım gösterirler. Günümüzde 100'den fazla familyada saponin içeren bitkinin varlığı ispatlanmıştır. Bitkilerin ihtiva ettiği saponinlerin miktarı ve çeşidi, bitkinin kültürel ve yabani oluşuna, fizyolojik durumuna, bitkinin yetiştiği bölgenin coğrafik lokalizasyonuna, büyüme peryoduna, bitki kısmına ve mevsime bağlı olarak değişebilir. Genelde saponinler köklerde ve tohumlarda lokalize olurlar (Kolodziejcki ve Stecka, 1965).

Saponinler beyaz amorf kristal toz şeklinde görünürler ve tatları acı ya da acıya yakındır. Örneğin kinoa (*Chenopodium quinoa*, Chenopodiaceae) bitkisinin tohum kabukları yenmeden önce uzaklaştırılmalıdır (Mizui ve diğ. 1988). Alfalfa (*Medicago sativa*, Leguminosae) bitkisinin yapraklarından izole edilen ve bir tridesmozik olan 16 α -hydroxymedicagenic acid (zahnic acid) şimdiye değin tespit edilen en acı bileşiklerden birisidir. Fakat diğer taraftan bazı istisnai durumlar da mevcuttur. Örneğin, glisirizin'in sükrozdan 50 kat daha tatlı olduğu tespit edilmiştir (Oleszek ve diğ. 1992).

Bitkiler içerisinde aşırı derecede saponin içeren acımsı ve ekşimsi tat vermeleri sebebiyle çok az miktarda canlılar tarafından tüketilebilen bazı bitkiler Tablo 1.4' de verilmiştir.

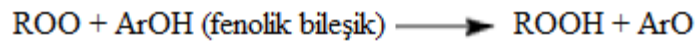
Tablo 1.4: Bazı bitkiler ve saponin içerikleri

Bitki	Saponin (g/Kg)
Nohut (<i>Cicer arietinum</i> L.)	2,3-60
Soya Fasulyesi (<i>Glycine Max</i> L Merrill)	43
Yonca (<i>Medicago sativa</i> L.)	56
Yonca Filizleri	87
Yeşil Fasulye (<i>P. Vulgaris</i>)	13
Maş Fasulyesi (<i>P. Mungo</i>)	0,5-5,7
Fıstık (<i>Arachis hypogaena</i> L.)	6,3
Ispanak (<i>Spinacea oleracea</i> L.)	47
Mercimek (<i>Lens culinaris</i>)	3,7-4,6
Susam Tohumu (<i>Sesamun indicum</i> L.)	3
Yeşil Bezelye (<i>Pisum sativum</i> ssp.)	11
Kuşkonmaz (<i>Asparagus officinalis</i> L.)	15
Sarımsak (<i>Allium sativum</i> L.)	2,9
Yulaf (<i>Avena sativa</i> L.)	1
Pancar (<i>Beta vulgaris</i>)	58
Bakla (<i>Vicia faba</i>)	3,5

1.6 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Günümüzde birçok bitki yapısında antioksidan kapasitesinin ortaya çıkarılmasına yönelik farklı metotlar uygulanmaktadır. Antioksidan kapasiteni belirlemek üzere çok sayıda metot bulunmasına rağmen henüz bütünüyle antioksidan kapasitesini gösteren bir metot bulunamamıştır. Her bitki üzerinde antioksidan kapasitesi, kullanılan metot sisteminin şartları ve ekstraktların farklı yapılarda olması gibi birden fazla sebebe bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Antioksidan üzerine araştırma yapan birçok kişi bitkiler üzerinde antioksidan değerlerinin belirlenmesinde sadece bir yöntemin ya da çalışmanın antioksidan kapasiteni net bir şekilde yansıtmadığını ve çok fazla sayıda farklı antioksidan kapasite tayin yöntemi uygulayarak net bir sonucun ortaya çıkması gerektiğini öngörmektedirler. (Wong ve diğ. 2006). Yapılan çalışmalarda antioksidan kapasite tayin yöntemleri çoğunlukla serbest radikalleri belirtmektedir. Genellikle serbest radikallerin niteliklerine ve yapısına göre farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır.(Prakash 2001).Bu tayin yöntemi elektron alışverişine göre testler ile hidrojen atomu alışverişine göre testler şeklinde ayrılmaktadır.. Elektron alışverişine göre testler antioksidan ile oksidanın reaksiyonunda oksidanın indirgenmesi olayına göre meydana gelen renk değiştirmesi yöntemine dayanmaktadır. DPPH ve Folin-Ciocalteu yöntemi elektron transferine dayalı testlere misal olarak gösterilebilir ve bu testin özeti aşağıda açıklanmıştır:

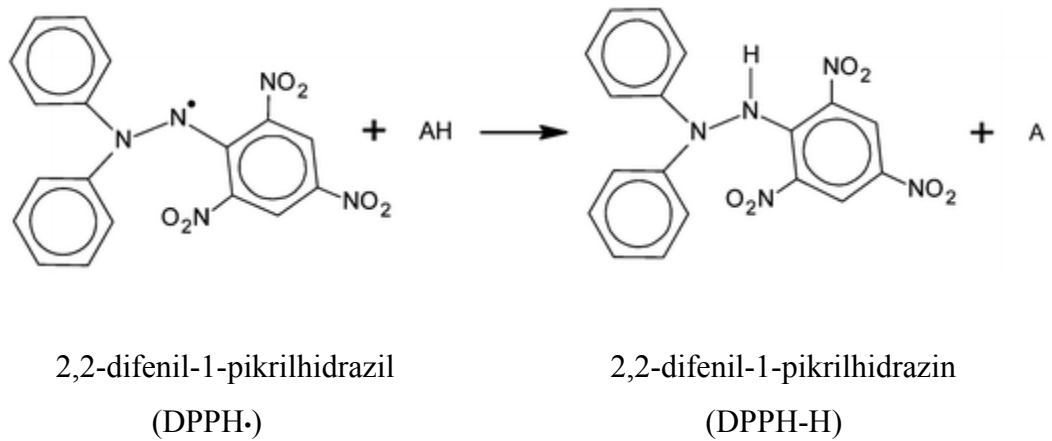
Hidrojen alışverişine bağlı yöntemlerde yapılan işlem sonucunda antioksidanların hidrojen atomu göndererek serbest radikalleri yakalama aktivitesine bağlıdır. Bu yöntemin savunduğu mekanizma ise peroksit radikallerinin antioksidan ve substrat arasında kompetitif bir reaksiyon göstermesi şeklindedir ve şu şekilde açıklanabilir:



β -karoten/linoleik asit emülsiyon yöntemi, hidrojen transferine dayalı testlere örnektir (Apak ve diğ. 2007).

1.6.1 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Yöntemi

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) azot halkasında eşleşmemiş bir elektron bulunduran sabit bir serbest radikal olarak bilinmektedir.(Eklund ve diğ. 2005). Bu yöntemde morumsu bir renge sahip olan DPPH antioksidan veya indirgeyici bir bileşik tarafından indirgenerek sarımsı bir renkte olan difenilpikrilhidrazine çevrilmektedir (Şekil 12). Antioksidanların indirgeme kapasiteleri 515-528 nm aralığındaki absorbanlardaki azalmayla gözlenir (Brand-Williams ve diğ. 1995). Bu metotun genellikle kolay olması, çabuk olması ve spektrofotometre dışında başka herhangi bir araca ihtiyaç duymadan antioksidan kapasite sonuçlarının bulunmasında kullanılan yöntemlerdendir (Fukumoto ve Mazza 2000). Aynı zamanda bu yöntemin bazı yetersiz özelliklerinin olduğu hakkında bildirilmiştir.. Bunlar arasında bilinen DPPH'in doğal çözücülerde genellikle alkolik solüsyonlarda çözünmesine rağmen sulu çözücülerde çözünmemesidir (Huang ve diğ. 2005). Bu mevcut özellik nedeniyle hidrofilik antioksidanların yorumlanmasında belirli özellikler getirilmiştir. Sistemde uygulanan radikalın biyolojik bir radikal olmaması nedeniyle oksijen ve azot radikallerinin süpürme yeteneğini birebir yansıtmamaktadır. Yöntemin sonuçları özellikle IC₅₀ olarak nitelendirilen serbest radikalın yarısını süpüren konsantrasyon belirlenerek yorumlanmaktadır. IC₅₀ miktarı ne kadar düşük olursa o kadar radikal süpürme etkinliğinin yüksek olduğunu belirtir (Brand-Williams ve diğ. 1995).



Şekil 1. 3: DPPH'in antioksidan madde ile reaksiyonu

1.6.2 Toplam Fenolik Madde Tayini

Bitkilerin içerisinde çok sayıda yer alan fenolik bileşikler, antioksidan kapasitesinin meydana gelmesinde önemli katkı sağlayan bileşikler arasında bulunmaktadır.(Apak ve diğ. 2007). Bitki ekstraktların fenolik madde içeriğinin belirlenmesinde sıklıkla başvurulan yöntemlerden biri Folin-Ciocalteu yöntemidir. Metodun içeriğini su ve organik çözücüler sayesinde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin folin reaktifi ile alkali ortamda renkli yapılar meydana getirmesiyle oluşur (Singleton ve Rossi 1965). Metodun basit bir şekilde uygulanabilmesi sebebiyle ve tekrar yapılabilmesi sebebiyle ve diğer yöntemlerle reaksiyon oluşturması gibi özelliklerinden tercih edilmektedir. Ancak folin reaktifi, sadece fenolik maddeler tarafından değil aynı zamanda fenolik olmayan bazı bileşikler tarafından da indirgenebilmektedir. Bu yüzden bu metod spesifik bir metod olarak kabul edilmemektedir. Aynı zamanda uygun olarak metodun total fenolik içeriği bütünüyle göstermediği söylenmiştir. Sonuçlar çoğunlukla standart fenolik maddeler olan gallik asit veya kateşine eş değer şekilde belirtilmektedir.

1.6.3 Toplam Flavonoid Madde Tayini

Flavonoidler, serbest radikal üreten enzimlerin yapmış olduğu reaksiyon sonucu serbest radikallerin süpürülmesi demir ve bakır iyonlarını şelatması gibi birden fazla değişik aktivitesinden dolayı antioksidan özelliği göstermektedirler (Benavente ve Garcia 1997). Genellikle flavonoidler, antioksidan aktivitelerini farklı metodlarla göstermektedir . Bazılarını zincir kırıcı etkileri sebebiyle bazı radikal türlerini doğrudan yakalama özellikleri bulunmaktadır. Aynı zamanda α -tokoferol gibi; diğer antioksidanlara hidrojen atomu göndererek onları tekrar aktif hale getirmekte ve dolayısıyla lipid peroksidasyonunu önleyebilmektedir. Demir, bakır gibi bazı prooksidan metal iyonlarıyla kelat oluşturarak serbest radikal oluşumunu engellemektedir.

Flavonoidlerin kanserin önlenmesi ve antioksidan özellikleri dışında farklı durumlarda da özellik göstermektedir. Bunlar içerisinde DNA'nın yapısının korunması, mutajen genlerin oluşumunun engellenmesi, kanserin meydana gelmesi için yönlendiren enzimlerin ve karsinojenlerin aktivitesinin engellenmesi örnek verilebilir(Kris-Etherton ve diğ. 2002).

Toplam flavonoid madde miktarı, flavon ve flavonollerin C-4 keto grubu ve C-3 veya C-5 hidroksil grupları ile alüminyum klorürün asit içinde kararlı kompleksler oluşturması esasına dayanan, Alüminyum klorür (AlCl₃) kolorimetrik metodu kullanılarak tayin edilmektedir. Bu yöntemde eşdeğer olarak genellikle kuersetin standartı kullanılmaktadır (Chang ve diğ. 2002).

1.6.4 **β-karoten/Linoleik Asit Emülsiyon Sistemi**

Bu yöntem aşırı sıcaklıkta linoleik asitin oksidasyonu durumunda ortaya çıkan peroksit radikallerinin β-karoten molekülünde renk değişimi meydana getirmesine dayanmaktadır (Taga ve diğ. 1984). Ölçümler sonucunda linoleik asidin oksidasyonunu inhibe etme oranının yüksek çıkması bu numunenin güçlü bir antioksidan kapasiteye sahip olduğunu belirtir. Hidrojen transferine dayanan antioksidan kapasite yöntemine sahip olan β-karoten/ linoleik asit yöntemi çözücü ve pH'dan etkilenmeden kısa zamanda gerçekleşmektedir (Apak ve diğ. 2007).

1.6.5 **Folin-Ciocalteu Ayırıcı (FCR) ile Toplam Fenolik Yöntemi**

Bu yöntem; Singleton ve arkadaşları tarafından antioksidanların toplam fenol miktarını ölçmek için geliştirilmiştir (Lussignoli ve ark., 1999). Yöntemin temeli kısaca fenolik bileşikler ve diğer indirgeyici bileşiklerden molibdenyum'a elektron transfer edilmesine dayanmaktadır. Mavi renkli kompleks oluşumu 750-765 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenir (Albayrak, 2010). Standart bileşik olarak genellikle gallik asit kullanılsa ve sonuçlar gallik asit eşiği olarak verilse de son zamanlarda yapılan çalışmalarda gallik asit yerine tannik asit, klorojenik asit, kaffeik asit, protokateşik asit vanilik asit ve ferrulik asit de kullanılmaktadır (Prior ve ark., 2005). FCR yöntemi, gıdaların ve bitkisel ekstraktların antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde basit, tekrarlanabilir ve güvenilir bir yöntemdir. FCR ayırıcı ticari olarak satılmaktadır. Yöntemin olumsuz yönleri; uzun zaman almasının rutin uygulamalarda zorluklar çıkarması, sulu fazda gerçekleştiği için lipofilik bileşikler için uygulanamaması ve fenolik bileşenlerin sadece bazik ortamda reaksiyon vermesi şeklinde sıralanabilir (Prior ve ark., 2005; Yıldız, 2007; Magalhaes ve ark., 2008; Albayrak ve ark., 2010).

1.6.6 Toplam Antioksidan Kapasite Testi (Fosfomolibdat Yöntemi)

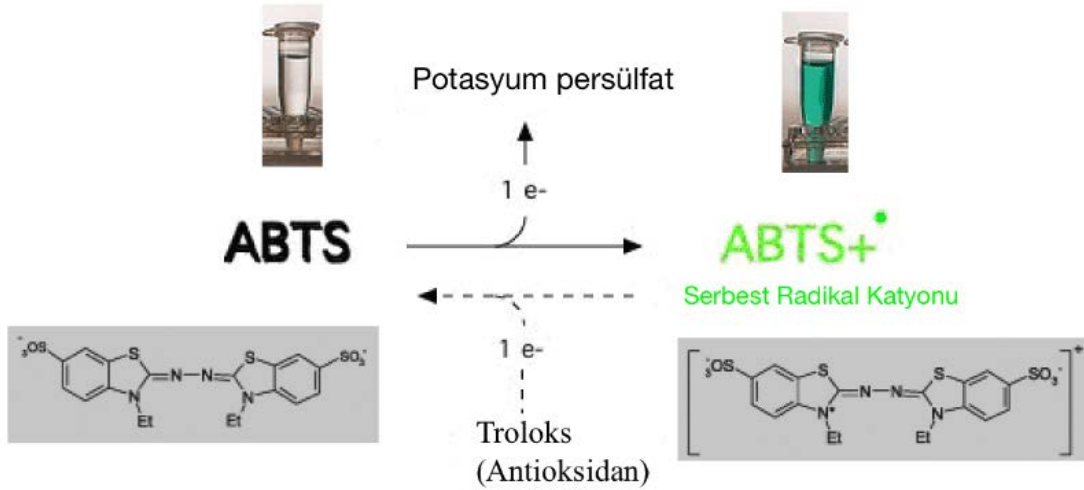
Bu yöntem fosfomolibdat yöntemi olarak da adlandırılmaktadır. Bu metotun yöntemi fenolik bileşiklerin asidik ortamda Molibden 6'yı Molibden 5'e indirgenerek yeşil renkli fosfat/Mo(5) kompleksinin oluşmasından kaynaklanmaktadır. Bu yöntemde 695 nm'de maksimum absorbans gösterilmektedir. Testten çıkan analiz değerleri antioksidan etkinliği olarak bilinen maddelere eşdeğer olarak (mg/g) verilmektedir. Bu yöntemle genellikle iki farklı kimyasal sıvı olan askorbik asit ve α -tokoferol kullanılmaktadır. Genellikle bu yöntem kolay ve kullanılan malzemelerin ucuz oluşundan dolayı total antioksidan kapasitenin tayininde alternatif bir yol olmasıyla tercih edilmektedir (Prieto ve diğ. 1999).

1.6.7 Metal Şelatlama Gücü

Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonlarının serbest radikal oluşturan canlı organizmalarda oksidatif katalizör olarak işlev yapmaktadır. ATP üretimi, DNA ve klorofil sentezinde ve biyolojik mekanizmalarda oksijen taşınması gibi önemli görevlere sahip olan demirin serbest formları canlı organizmalarda toksik etkiyi meydana getirmektedir(Miller 1996). Meydana gelen toksik etki sonucu oluşan aktif oksijen türleri lipid oksidasyonunu teşvik edebilmekte veya DNA moleküllerine saldırabilmektedir. Şelat oluşumu sırasında antioksidan savunma sistemine önemli katkıda bulunmaktadır. Ayrıca vücutta travma, toksinler, hastalık gibi çeşitli nedenlerle oksidatif reaksiyonları katalizleyebilen serbest metal iyon formlarına dönüştürmektedir(Lindsay 1996). Metal şelatlama özelliği olan antioksidan maddeler serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirir ve böylece fenton reaksiyonları sonucu oluşan hidroksil ve peroksit gibi radikal oluşumunu inhibe ederler. Bu nedenle metal şelatlama özelliği antioksidan aktiviteyi belirlemede önemli rol oynamaktadır (Arora ve diğ., 1998). Metal iyonu şelatlama aktivitesi; bitki ekstraktlarının çözeltilerdeki Fe^{2+} iyonlarını bağlayabilmek için güçlü bir demir şelatlayıcı olan ferrozin reaktifi ile yarışmasına dayanır. Şelatlama gücü yüksek ise kırmızı renkli Fe^{2+} /ferrozin kompleksinin oluşumu engellenir. Fe^{2+} /ferrozin kompleksinin inhibisyon yüzdesi hesaplanarak, bitki ekstraktlarının Fe^{2+} iyonlarını şelatlama kapasitesi tespit edilir (Dinis ve diğ. 1994).

1.6.8 ABTS Antioksidan Kapasite Yöntemi

Trolox eşiti olan antioksidan kapasite yöntemi ilk kez Miller ve arkadaşları tarafından önerilerek (Miller ve diğ. 1993) sonrasında Re ve arkadaşları tarafından da geliştirilmiştir (Re ve diğ. 1999). TEAC analizi 2,2'-azinobis (3-etilbezotiazolin 6 sulfonat) (ABTS) radikal katyonunun antioksidanlar tarafından absorpsiyonunun engellenmesi temeline dayanır. TEAC'ın karakteristik dalga boyu 660, 734 ve 820 nm'de maksimum absorpsiyon yapar (Prior ve diğ. 1999). Radikal katyon formunda üretilen ABTS, temel spektrofotometrik olarak çeşitli maddelerin toplam antioksidan aktivitesini ölçmede uygulanır. Deneysel renksiz sıvı potasyum persülfat ile ABTS'nin oksidasyonu teşvikiyle ABTS'deki renk üretimini içermekte olup hem lipofilik bileşenlere hem de hidrofilik bileşenlere uygulanabilir ABTS çözeltisi seyreltilir ve yaklaşık 10 dakika içinde absorpsiyon ölçüldükten sonra 1 ml çözeltiler ile farklı konsantrasyonlardaki ekstraktların ilk karışımı ölçülür. Trolox, vitamin E'nin suda çözünen analogu olup referans standart olarak kullanılır. Analiz geniş bir şekilde bitkilerin antioksidan özelliklerini tespit etmek için kullanılmaktadır (Ali ve diğ. 2008).



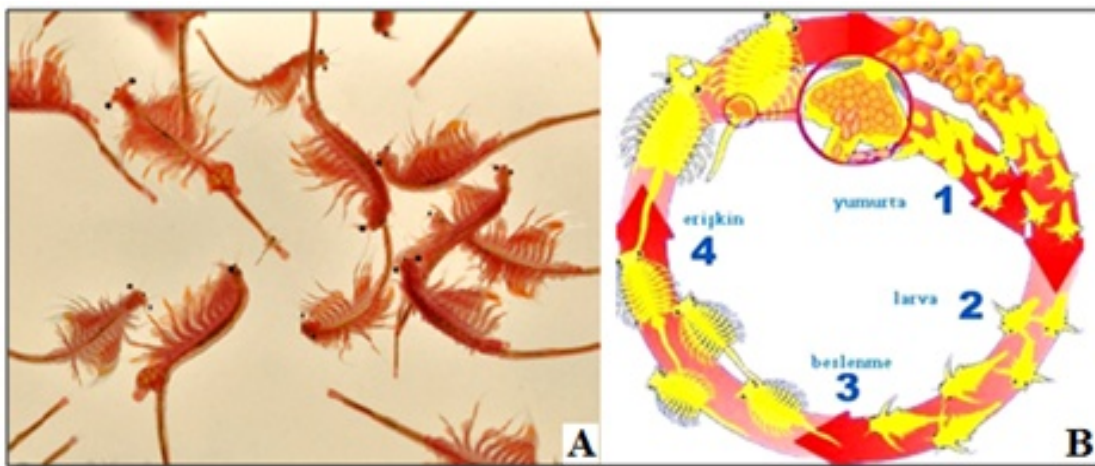
Şekil 1.4: ABTS'nin kimyasal reaksiyonu (Panala ve diğ. 2001)

1.6.9 Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Yöntemi

Antioksidan kapasite tayininde kullanılan diğer bir metot olan indirgeme gücünde yüksek absorbans yüksek indirgeme potansiyelini göstermektedir. Metot, asidik ortamda antioksidan fenolik bileşiklerin $[K_3Fe(CN)_6]$ içindeki Fe (III)'ün Fe(II)'ye indirgenmesine dayanmaktadır. İndirgeme reaksiyonu sonucu oluşan Prusya mavisi renkli kompleks 700 nm'de maksimum absorbans değerini göstermektedir. Antioksidan maddelerin faaliyetlerine bağlı olarak Prusya mavisi renk yeşil ile mavi arasında renk değiştirmektedir. Absorbans değerinin artması indirgeme gücünün yüksekliğini arttırdığını ifade eder(Mathew ve Abraham 2006).

1.6.10 Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) Letalite Testi

Artemia salina L. Crustacea alt şubesinin Branchiopoda sınıfının Anostraca takımına bağlı primitif kabuklular arasında bulunan tuzlu göl sularında yaşayan, tuz karidesi olarak da bilinen bir eklembacaklı türüdür. Dünyanın çeşitli coğrafik bölgelerinde dağılım gösteren kozmopolit bir zooplanktondur. Biyolojik aktivite tayin yöntemlerini belirlemede tercih edilen bir organizmadır. Brine Shrimp (*Artemia salina*) letalite testi, bitki ekstraktlarının biyoaktivitesinin belirlenmesinde basit, güvenilir ve uygun bir metottur. Genellikle en çok üretimi ABD'deki "Büyük Tuz Gölü" (Great Salt Lake) ve San Francisco Körfezi'nde görülmektedir (Treece 2000). Balıklar için yem olarak ve balıklar için kültür çalışmalarında tercih edilmektedir.



Şekil 1. 5: A) *Artemia salina* L. B) *Artemia salina* L.'nin yaşam şeması

Bir maddenin içerisindeki toksisite derecesini ifade etmek için, akut toksisite letalite birimi olan LD₅₀ (Letal Doz) ifadesi kullanılmaktadır. LD₅₀ değerini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Kesin sonuçlar elde etmek için çok miktarda denek (deney hayvanı) kullanılmaktadır. Buna rağmen, doz-cevap ilişkisi ve semptomolojinin araştırılması bugün de toksikoloji ve farmakolojinin temelini oluşturmaktadır. LD₅₀; solunum yolu dışında diğer tüm yollarla vücuda girerek etki gösteren katı veya sıvı haldeki kimyasal maddelerin belirli koşullarda bir kez verildiğinde bir gruptaki deney hayvanlarının %50'sini öldüren dozunu ifade eder ve bu değer mg/kg olarak belirtilir. LC₅₀ (Letal Konsantrasyon) ise havadaki ya da sudaki bir kimyasalın vücuda girerek deney hayvanlarının %50'sini öldüren konsantrasyondur ve birim olarak ppm veya mg/mm³ olarak ifade edilir (Dökmeçi 2001, Lu ve Kacew 2002).

Brine Shrimp Letalite Testi (BSLT), LC₅₀ ve LD₅₀ dozunun belirlenebilmesi için kullanılan toksisite testleri arasında yer almaktadır. Larvalar, günümüzde biyolojik aktiviteleri araştırılan örneklerin ve bitkisel içeriklerin sitotoksitesinin belirlenmesinde etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Ayrıca fungal toksinlerin, ağır metallerin, cyanobacteria toksinlerinin ve pestisitlerin sitotoksik etkilerinin araştırılmasında tercih edilmektedir (Sharififar ve diğ. 2009).

1.6.11 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Fenolik

Bileşiklerin Analizi

Bu yöntem uçucu özelliği olmayan ya da belirli sıcaklıklarda çabuk bozulabilen bileşiklerin analizde tercih edilmektedir.

Kromatografi metotlarının yanı sıra bitkinin içeriğinin ayırımında ve saflaştırılmasında "kapiler elektroforezis" de kullanılan metotlardan birisidir.(Harborne 1998). Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) günümüzde en çok tercih edilen yöntemlerden bir tanesidir. HPLC, karışımda bulunan bileşenlerin birbirinden ayrılmasında sıvı hareketli fazı kullanır. İlk olarak çözgüde çözünürleştirilir ve daha sonra yüksek basınç altında kromatografi kolonundan geçmeye zorlanırlar. Polifenolik maddelerin

belirlenmesinde kolonda alıkonulma süresi temel alınır. Fenolik bileşiklerin ayrılmasında en çok tercih edilen HPLC metotudur. Fenolik bileşiklerin HPLC analizinde Caponio ve diğ.(1999) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Numune hazırlama işleminde ekstraktlardan 0.2 g alınıp 2 mL metanolde çözülmüştür. Gallik asit, protokateşuik asit, 4-hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit,p-kumarik asit, ferulik asit, sinnamik asit, rutin, kuersetin ve kamferol standart olarak kullanılmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1 Bitkilerin Toplanması ve Teşhisi

Tez konusu *Saponaria kotschy* ve *Saponaria pumilio* türlerinin yetiştiği lokaliteleri ilgili bilgilere ilgili kaynaklar (Davis, 1967; Güner, 2012) taranarak tespit edilmiştir.Bitkileri Mayıs-Haziran aylarında çiçeklenme döneminde toplanmıştır. *Saponaria kotschy* Burdur Salda gölü civarında toplanmıştır. *Saponaria pumilio* ise Antalya Akseki civarından toplanmıştır. Bitkiler araziden toplandıktan sonra morfolojik özelliklerini ve kimyasal özelliklerini çok fazla kaybetmeden Pamukkale Üniversitesi, Bitki Sistematigi laboratuvarında teşhis edilmiştir.

2.2. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Bitkiler çiçek açma mevsiminde toplanarak laboratuvarında bitki numuneleri teşhisi yapıldıktan sonra ışık almayan serin gölge olan bir alanda kurutulmuştur. Kuruyan bitkiler küçük parçalara ayırarak blender yardımı ile parçalanıp, her bir erlene 15 gr hassas terazide tartıldıktan sonra erlenlere aktarılmıştır ve üzerlerine 250 ml çözücü (metanol, su) eklenerek çalkalamalı su banyosuna yerleştirilmiştir (6 saat, 55 °C). Süre sonunda su banyosundan çıkarılan örneklerimiz Whatman no.1 filtre kağıdı kullanılarak amber şişelere süzölmüştür. Bu işlem tekrar aynı prosedür tekrarlanarak 2 kez tekrar edilmiştir.

Filtre kağıdı ile süzölen çözeltilerden çözücüyü (metanol) uzaklaştırabilmek için rotary evaporator (48°C, 70 rpm) kullanılmıştır. Farklı çözücülerle (metanol, su) hazırlanan ekstraktların içerisinde kalan su ise liyofilizatör cihazı yardımı ile ekstraktların içerisinden uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstraktlar -20°C' de muhafaza edilmiştir (Mammadov et al 2011).



Şekil 2.1: Ekstratların su banyosuna koyulmadan önceki hali



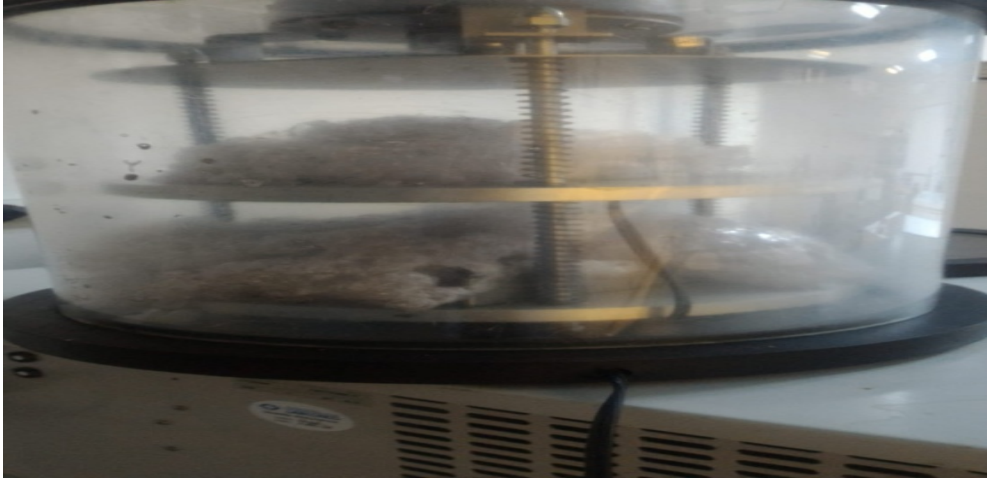
Şekil 2.2: Su banyosu



Şekil 2.3: Rotary evaporatör (Döner bir buharlaştırıcı, kimyasal laboratuarlarda çözücülerin numunelerden buharlaştırma yoluyla etkili ve yumuşak bir şekilde çıkarılması için kullanılan bir cihazdır.)



Şekil 2.4: Liyofilizatör cihazı (Çözelti veya süspansiyon halindeki ürünün dondurulması ve sonrasında süblimasyon ile oluşan gaz fazının uzaklaştırılması sonucu maddenin kurutulmasını sağlayan bir süreçtir)



Şekil 2.5: *S. kotschy* ve *S. pumilio* liyofilizartördeki reaksiyonu

2.2 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

2.2.1 β -Karoten/ Linoleik Asit Yöntemi

Bu yöntem linoleik asidin ısı ve hava oksidasyonunun birleşmesi ile serbest radikal zincir reaksiyonu sonucu oluşan alkil peroksitler tarafından β -karotenin renk açılımının izlenmesi temeline dayanır . Reaksiyon mekanizması ; β -karoten stok çözeltisi, 2 mg β -karotenin 1 mL kloroformda çözülmesiyle hazırlanmıştır . 1 mL β -karoten stok çözeltisine, linoleik asit (20 μ L) ve Tween 20 (200 μ L) ilave edilmiştir. Kloroform rotary evoparatörde buharlaştırıldıktan sonra 100 mL dH₂O ile karıştırılmıştır. 1 mg/mL hazırlanan ekstrakt çözeltilerine 24 mL β -karoten emülsiyonu eklenmiştir. Emülsiyon test tüplerine ilave edilir edilmez spektrofotometre (Shimadzu UV-1601, Japon) kullanılarak başlangıç absorbansları 470 nm' de ölçülmüştür. Tüpler 50°C' de inkübasyona (120 dakika) bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası örneklerin 120. dakikadaki absorbansı 470 nm' de ölçülmüştür. Bu test sisteminde BHT pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Amin et al 2002). Hesaplamalar aşağıdaki formül kullanılarak yapılmıştır:

$$[1-A_0-At/A_0^{\circ}-At^{\circ}] \times 100$$

A₀ ve A₀[°]: örneğin; A_t ve A_t[°]: kontrolün 0. ve 120. dakikadaki absorbanslarını ifade etmektedir.

2.2.2 DPPH Serbest Radikal Giderim Kapasitesi

Ekstraktların serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlenmiştir (Wu et al 2006). Farklı konsantrasyonlarda (0,006 gr) hazırlanan ekstrakt çözeltilerinin üzerine 4 mL DPPH çözeltisi (%0.004 w/v) eklenmiştir. Oda sıcaklığında, karanlık ortamda inkübasyona (30 dk) bırakılmıştır. Bu süre sonunda örneklerin absorbanı 517 nm' de ölçülmüştür. Bu test sisteminde BHT standart olarak kullanılmıştır. Hesaplamalar aşağıdaki formül kullanılarak yapılmıştır:

$$[\text{Akontrol}-\text{Aörnek}/\text{Akontrol}] \times 100$$

2.2.3 Şelatlama Kapasitesi

Örneklerin Fe^{2+} iyonlarını şelatlama kapasiteleri Dinis ve diğ. (1994) t yönteminde birkaç değişiklik yapılarak tespit edilmiştir. İçerisinde 2 mL özüt çözeltisi (1 mg/mL) bulunan test tüplerine 2 mM 0,05 mL FeCl_2 çözeltisi ilave edilmiştir. Tepkime 0,2 mL 5 mM ferrozin ilavesiyle başlatılmıştır. Çözelti karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dk. inkübasyona bırakılmış ve daha sonra 562 nm'de absorban ölçümü yapılmıştır. Örneklerin şelatlama kapasiteleri standart EDTA grafiğinden elde edilen eşitlik kullanılarak belirlenmiş ve EDTA (mgEDTA/g) eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

2.2.4 Fosfomolibdenyum Yöntemi

Bu yöntem, ekstrakt varlığında Mo (VI)'nın Mo (V)'e indirgenmesi sonucunda asidik pH'larda oluşan yeşil renkli fosfat-Mo (V) kompleksinin spektrofotometrik olarak takip edilmesi temeline dayanmaktadır. İçerisinde 0,3 mL (1 mg/mL) ekstrakt bulunan test tüplerine 3 mL reaktif çözeltisi (0,6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) ilave edilmiştir. Tüpler kuvvetlice karıştırılıp 95°C'de 90 dk. inkübe edildikten sonra oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve köre karşı (3 mL reaktif çözeltisi ve 0,3 mL metanol) 695 nm'de absorban değerleri tespit edilmiştir. Ekstraktların toplam antioksidan kapasiteleri standart askorbik asit grafiğinden elde

edilen eşitlik kullanılarak belirlenmiş ve askorbik asit eşdeğeri (mgAE/g) olarak hesaplanmıştır (Prieto ve diğ. 1999).

2.2.5 Demir İndirgeme Gücü Deneyi (FRAP)

FRAP metodu (Fe(III)-TPTZ-2,4,6-tris (2-pyridlyl)-S-triazin) kompleksinin antioksidanlar varlığında indirgenerek mavi renkli kompleks Fe(II)-TPTZ oluşması ve bu kompleksin 593 nm'de maksimum absorbanı vermesi esasına dayanmaktadır. İndirgeme aktivitesi Oyaizu (1986) metoduna göre yapılmıştır. 1 mL bitki ekstraktı, 1 mL fosfat tampon çözeltisi (0.2 M pH=6.6) ve 2.5 mL %1 lik potasyum ferrisiyanat ($K_3Fe(CN)_6$) çözeltisi bir deney tüpüne ilave edilmiştir. Kuvvetlice çalkalıp, 50 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda üzerine 2.5 mL tri-kloro asetik asit çözeltisi (%10 luk suda) ilave edildikten sonra santrifüjlenmiştir. Çözeltinin üzerinden 2.5 mL 33 alınarak 0.5 mL %0.1 lik $FeCl_3$ ilave edildikten sonra 700 nm de absorbanı okunmuştur. Tüm işlemler BHA için de uygulanmıştır. Konsantrasyon arttıkça artan absorbanı değeri indirgeme yeteneğini göstermiştir.

2.2.6 ABTS Radikal Giderim Aktivitesi

ABTS•+ radikali, 7mM ABTS çözeltisi ve 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi arasındaki reaksiyonla oluşturulmuştur. 12 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Kullanmadan önce fosfat tamponuyla (0.1M, pH=7.4), absorbanı 734 nm'de 0.7 ± 0.025 olacak şekilde seyreltilmiştir. 1 mL ABTS çözeltisi, 3mL standart çözeltilerine ve ekstraktlara (25-125 $\mu g/mL$ α -tokoferol) eklenmiştir. 30 dk sonra 734 nm'de absorbanı okunmuştur. Aşağıdaki denkleme göre, % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır.

$$\text{ABTS radikal giderme aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 = Kontrol absorbanı değeri

A_1 = Örnek veya standardın absorbanı değeri

2.3 Toplam Sekonder Metabolit Miktarlarının Belirlenmesi

2.3.1 Toplam fenolik bileşik miktarının belirlenmesi

Ekstreler içerisindeki toplam fenol miktarı Folin-Ciocaltaeu yöntemine (Tekeli, 2008) göre yapılmıştır. Standart olarak kullanılan gallik asit ve çalışılan bütün örnekler, %70'lik metanol içinde 1 mg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. 1 ml örnek, 1000 ml Folin Ciocaltaeu reaktifi (%10'luk, suda) ve 3 ml sodyum karbonat çözeltisi (%20'lik, suda) deney tüpünde karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda çözeltilerin absorbansları UV Spektrofotometresi'nde 760 nm'de okunarak toplam fenol miktarları; gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg olarak gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır.

2.3.2 Toplam Flavonoid Madde Miktarlarını Belirlenmesi

Özütlerin toplam flavonoid bileşik miktarları Arvouet-Grand ve ark. (1994) tarafından belirlenen yöntem kullanılarak quercetin'e eşdeğer olarak belirlendi. İçerisinde 1.0 mL özüt çözeltisi (1.0 mg/mL) bulunan test tüplerine % 2.0'lik 1.0 mL metanolde hazırlanmış AlCl₃ çözeltisi ilave edilip oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Kör örnek 1.0 mL özüt çözeltisi (1.0 mg/mL) ve 1.0 mL metanol içermektedir. Absorbans ölçümleri 415 nm'de gerçekleştirilmiştir. Özütlerin toplam flavonoid bileşik miktarları standart quercetin grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir:

$$\text{Absorbans} = 0.0322 \text{ quercetin } (\mu\text{g}) - 0.005 \text{ (R}^2 : 0,997)$$

2.3.3 Toplam Tanen Madde Miktarlarını Belirlenmesi

Toplam tanen miktarı, Bekir ve diğ. (2013)'nin uyguladığı metotta bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Ekstraktlar (0.5 mL) bir buz banyosu içerisindeki test tüplerinde vanilin ayırıcı (1%'lik 7M H₂SO₄ içinde) ile

karıştırıldıktan sonra, elde edilen çözeltinin absorbansı, oda sıcaklığında 15 dk. inkübasyonun ardından 500 nm’de ölçülecektir.

2.3.4 Toplam Saponin Madde Miktarlarını Belirlenmesi

Bitki ekstraktlarının toplam saponin içeriği vanilin-sülfirik asit metodu kullanılarak belirlenmiştir. 0.25 mL bitki özütü, 0.25 mL % 8’ lik vanilin ve 2 mL % 72’ lik sülfirik asit ile karıştırılacaktır. Karışımlar 60 °C’de 10 dakika inkübe edilecek, tüpler 15 dakika oda sıcaklığında soğutulduktan sonra 538 nm’de absorbansları ölçülecektir. Aynı işlemler standart olarak kullanılan Quillaja için de yapılarak kalibrasyon eğrisi çizilecek ve bitkilerin toplam saponin içerikleri Quillaja eşdeğer olarak verilecektir (Aktümsek ve ark., 2013).

2.4 HPLC metodu ile Fenolik Bileşenlerin Tayini

Fenolik bileşenler, yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak, Caponio et al (1999) metodunda bazı değişiklikler yapılarak analiz edilmiştir. Analiz SP-M20A detektörü, LC-20AT pompası, CTO-10ASVp kolon fırını, SIL-20ACHT otomatik numune cihazı kullanılarak yapılmıştır. Analiz için kolon sıcaklığı 30°C, dalga boyu 280 nm olarak belirlenmiştir. Gradyent, 1 mL/dk akış oranında; 95%A/5%B 5 dakika, 80%A/20%B 15 dakika, 60%A/40%B 10 dakika, 50%A/50%B 10 dakika, 40%A/70%B 10 dakika, 100%B 10 dakika olarak uygulanmıştır. Örnekleri çözmek için metanol kullanılmıştır ve injeksiyon hacmi 20 µL olarak belirlenmiştir. Farklılık ve miktar analizleri gallik asit, 3,4-hidroksibenzoik asit, 4-hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinamik asit, 2,5-dihidroksi benzoik asit, epikateşin, rutin, elajik asit, narinjin, kuersetin standartları ile kıyaslanarak yapılmıştır. Fenolik bileşenlerin miktarı µg/gr olarak ifade edilmiştir.

2.5 Brine Shrimp Sitotoksisite Deneyi

Artemia salina tuzlu su göllerinde yaşayan, tuz karidesi olarak bilinen bir eklembacaklı türüdür. Ayrıca, biyolojik aktivite yöntemlerinde sıkça tercih edilen bir organizmadır. Brine Shrimp (*Artemia salina*) letalite testi, bitki ekstraktlarının biyoaktivitesinin belirlenmesinde kolay, güvenilir ve uygun bir metottur. Deney, ekstraktların dört farklı konsantrasyonda (100 ppm, 250 ppm, 500 ppm ve 1000 ppm) ve üç tekrarlı olarak yapılmıştır. *Artemia salina* yumurtaları (kistleri), içerisinde 2 litre yapay deniz suyu bulunan 5 litre hacmindeki plastik, şeffaf, ağzı açık bir tank içerisine 2 g tartılarak serpilmiştir. Tank içerisindeki yapay deniz suyu, çift çıkışlı bir hava motoru ile çift hortum kullanılarak sürekli havalandırılmıştır. Ayrıca, tank içerisindeki su sıcaklığı 28 °C sabit olacak şekilde termostat ile ısıtılmıştır. Tank, masa üstü bir ışık kaynağının yanında yaklaşık 48 saat süre ile aydınlıkta bırakılarak *Artemia salina* larvalarının yumurtalardan çıkması beklenmiştir. *Artemia salina* larvaları, yumurtadan çıktıktan sonra ışığın yoğun olduğu bölgeye doğru su içerisinde göç etmektedir. *Artemia salina* larvaları, yumurtadan çıktıktan sonra pastör pipet yardımıyla on adet seçilmiş ve 4.5 mL deniz suyu içeren deney tüplerine alınmıştır. Her bir tüpe 0.5 mL bitki ekstratı da eklendikten sonra larvalar ışık altında ve oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. Işık altında geçen 24 saat sonunda bir büyüteç yardımıyla canlı ve ölü (hareketsiz olmalarına göre ölü olarak tanımlanmıştır) larvaların adedi sayılmıştır. Bitki ekstraktı olmayan (kontrol grubu) düzenekteki yaşayan larvalar ile deney grubu karşılaştırılmıştır. Bu ölümlere bakılarak, STATPLUS Pro 5.9.8 programında LC50 (min), LC50 (max), LC50, LC90 ve ki-kare (x2) değerleri hesaplanmıştır.

3. BULGULAR

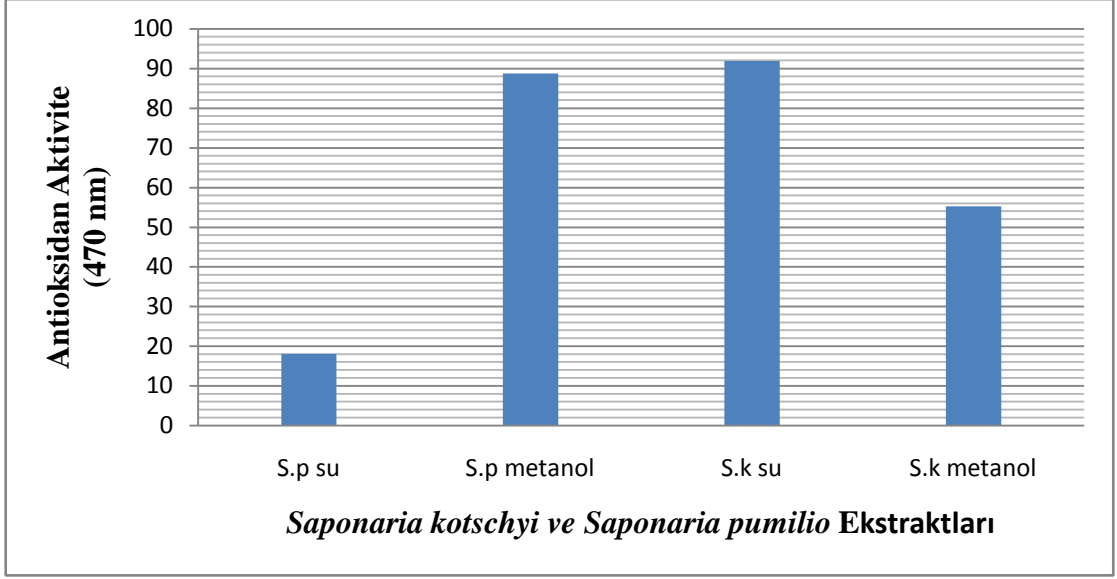
3.1 Antioksidan Aktivite Yöntemlerine Ait Sonuçlar

3.1.1 β -karoten/Linoleik Asit Testi

Ekstraktların β -karoten/Linoleik asit metodu ile tespit edilen linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme oranları Tablo 3.1 ve Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Buna göre linoleik asidin oksidasyonunu %91,95 oranında inhibe eden *S. kotschy* DH₂O (D – distille suyu) en yüksek inhibisyon oranına sahipken, *S. pumilio* DH₂O %18,06 ile en düşük inhibisyon oranına sahiptir. Ekstraktlar arasında istatistiki bakımdan önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 3.1: *S. kotschy* ve *S. pumilio* ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri

<i>Saponaria kotschy</i> ve <i>Saponaria pumilio</i> Bitki Ekstraktları	<i>Saponaria kotschy</i> AA (%)	<i>Saponaria pumilio</i> AA (%)
SU	91,95 \pm 6,565089	18,06 \pm 5,796663
METANOL	55,274 \pm 6,889335	88,754 \pm 1,90164



Şekil 3.1: S. kotschy ve S. pumilio ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri (%)

3.1.2 Fosfomolibdenyum Testi

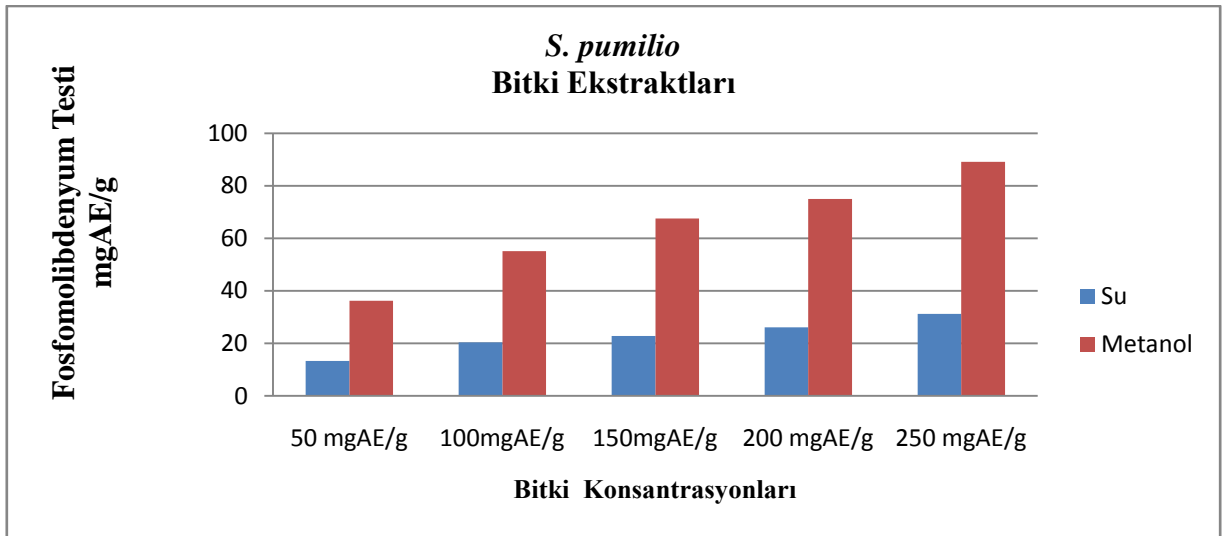
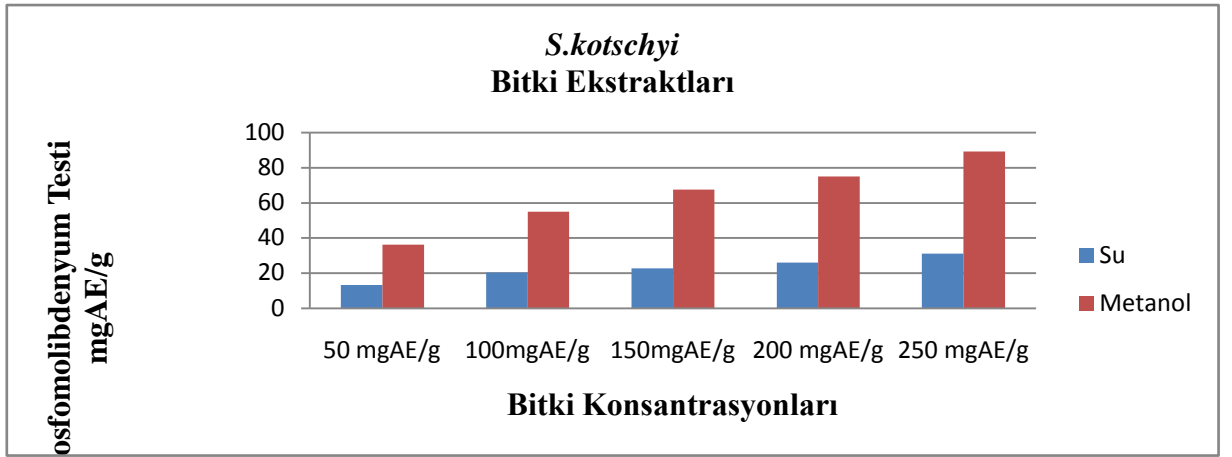
Fosfomolibdenyum yöntemine göre antioksidan kapasiteleri değerlendirilmiş ve sonuçlar askorbik aside eşdeğer (mgAE/g) olacak şekilde Tablo 3.2 ve Şekil 3.2; 3.3'de deney sonuçları verilmiştir. En yüksek antioksidan kapasiteye sahip olan bitki *S. kotschy* metanol (89,17 mgAE/g), en düşük antioksidan kapasiteye sahip bitki ise *S. kotschy* su (13,254 mgAE/g) olarak bulunmuştur.

Tablo 3.2: S. kotschy ve S.pumilio bitkilerinin askorbik aside eşdeğer (mgAE/g) antioksidan kapasiteleri

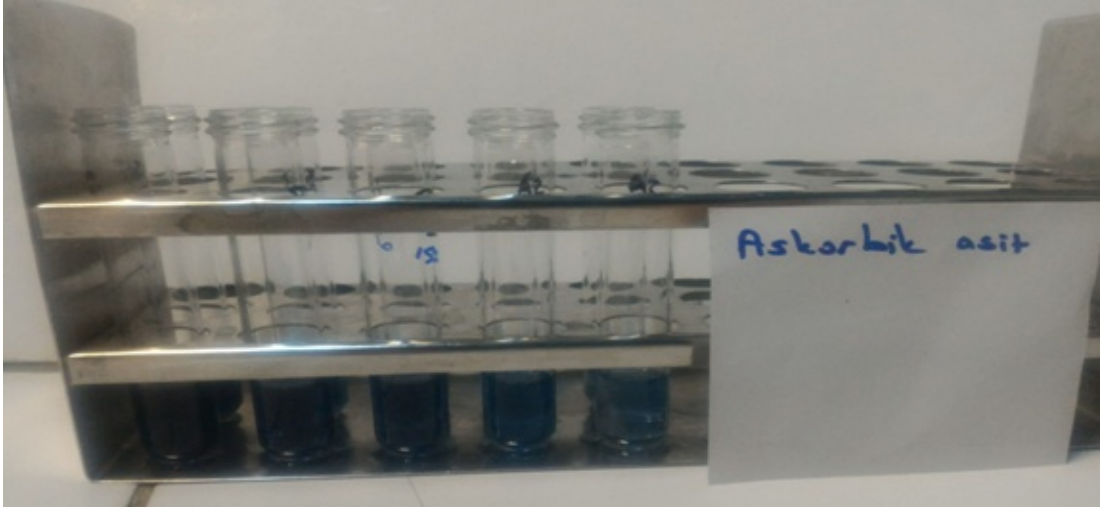
S.kotschy Bitki Ekstraktları	KONSANTRASYONLAR				
	50 mgAE/g	100mgAE/g	150mgAE/g	200 mgAE/g	250 mgAE/g
Su	13,254	20,421	22,837	26,087	31,172
Metanol	36,254	55,087	67,586	75,004	89,174

Tablo 3.2: *S. kotschy* ve *S.pumilio* bitkilerinin askorbik aside eşdeğer (mgAE/g) antioksidan kapasiteleri (devamı)

KONSANTRASYONLAR					
<i>S. pumilio</i> Bitki Ekstraktları	50 mgAE/g	100mgAE/g	150mgAE/g	200 mgAE/g	250 mgAE/g
Su	17,087	24,422	26,087	30,504	31,837
Metanol	33,921	42,504	50,08667	53,254	67,004



Şekil 3.2: *S. kotschy* ve *S. pumilio* ekstraktlarının askorbik aside eşdeğer (mgAE/g) antioksidan kapasiteleri



Şekil 3.3: Askorbik asitin görünümü

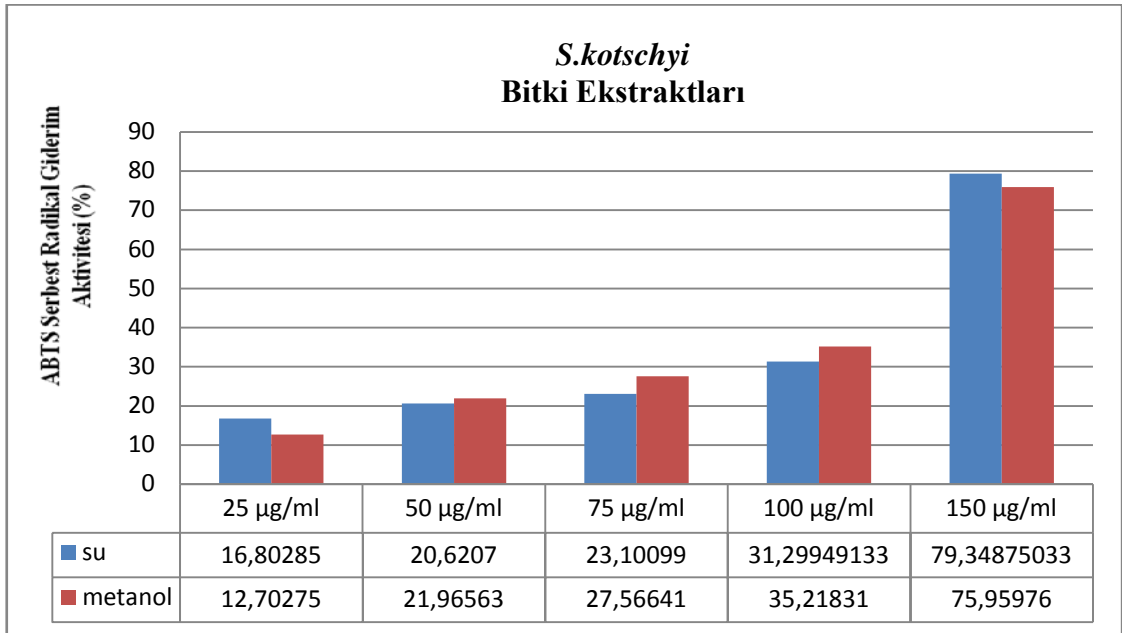
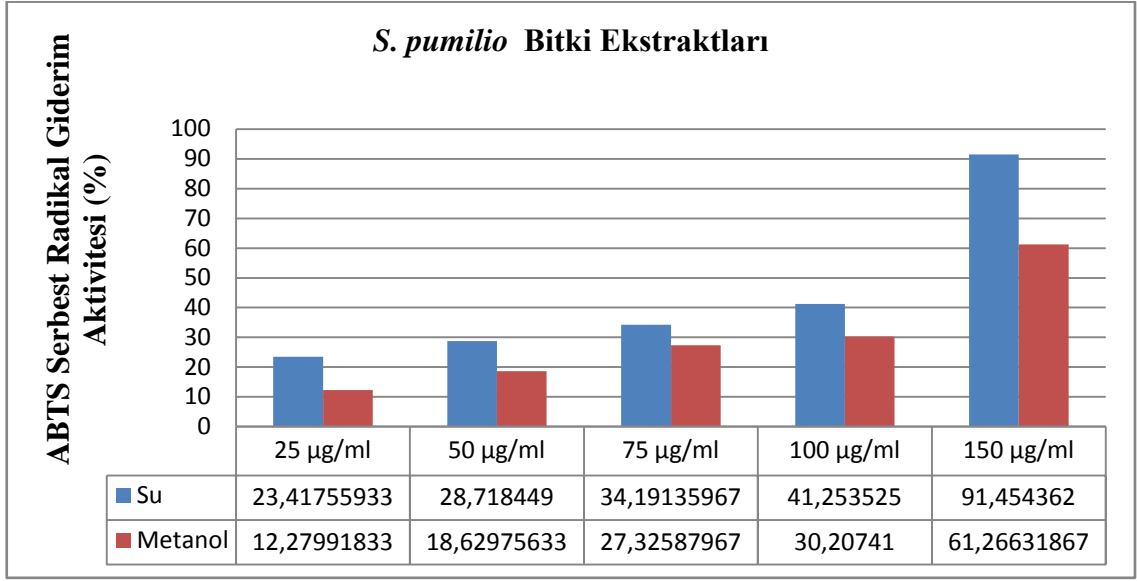
3.1.3 ABTS Serbest Radikal Giderim Aktivitesi Sonuçları

Metanol ve su ile hazırlanan 2 farklı bitki ekstraktlarımızın 5 farklı konsantrasyondaki ABTS serbest radikal giderim aktiviteleri incelenmiştir. Tablo 3.3'de ve Şekil 3.4'de ekstraktların yüzde ABTS serbest radikal giderim aktivite sonuçları gösterilmiştir.

Tablo 3.3: *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitki ekstraktlarının ABTS serbest radikali giderim aktiviteleri

Konsantrasyonlar					
<i>S. kotschy</i> Bitki Eksrakları	25 µg/ml	50 µg/ml	75 µg/ml	100 µg/ml	150 µg/ml
Su	16,80285± 5,84346	20,6207± 5,360495	23,10099± 5,7786	31,29949133± 5,65177525	79,34875033± 13,81149039
Metanol	12,70275 ± 2,424278	21,96563 ± 7,693267	27,56641 ± 10,73232	35,21831 ± 9,764139	75,95976 ± 7,191840287
Konsantrasyonlar					
<i>S. pumilio</i> Bitki Eksrakları	25 µg/ml	50 µg/ml	75 µg/ml	100 µg/ml	150 µg/ml
Su	23,41756 ±2,291653	28,71845 ±2,849201	34,19136 ±2,378591	41,253525 ±2,118278823	91,454362 ±3,633501485
Metanol	12,27992 ±2,594084	18,62976 ±5,767171	27,32588 ±5,582744	30,20741 ±6,887357	61,26631867 ±8,923636869

İki farklı konsantrasyondaki bitki ekstraktlarının yüzde ABTS radikal giderim aktivitelerinin verildiği Tablo 3.3’de, bitki ekstraktının konsantrasyonun artmasıyla serbest radikal giderim aktivitesinin de arttığı görülmektedir. En yüksek ABTS radikal giderim aktivitesi *S. kotschy* ve *S. pumilio* metanol ekstraktlarının 150 µg/ml derişiminde saptanmıştır. Metanol ekstraktlarını takiben, *S. kotschy* ve *S. pumilio* su ekstraktında 150 µg/ml derişimindeki serbest radikal giderim aktivitesi hesaplanmıştır.



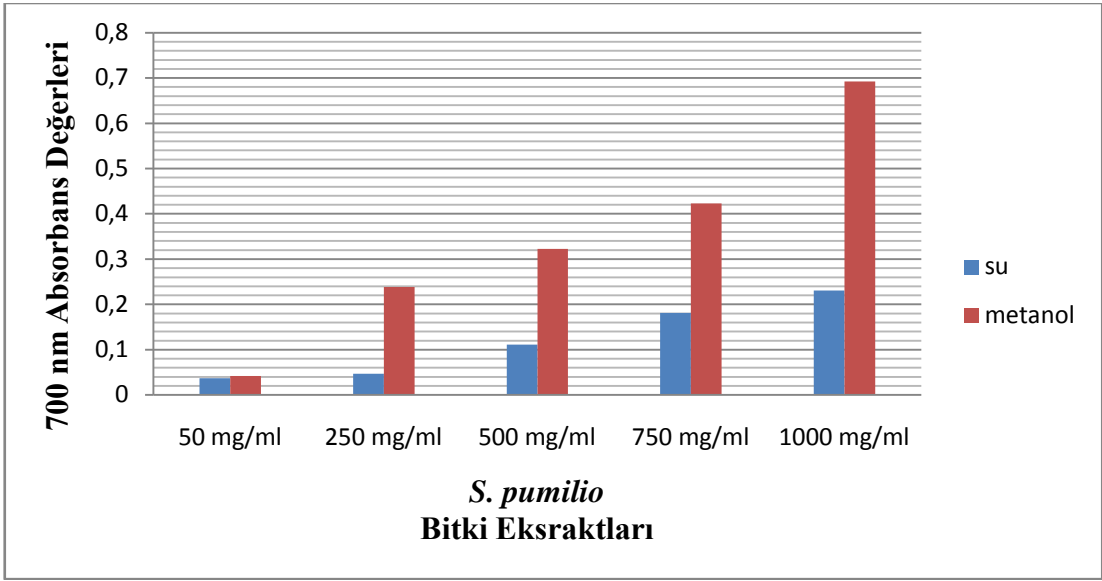
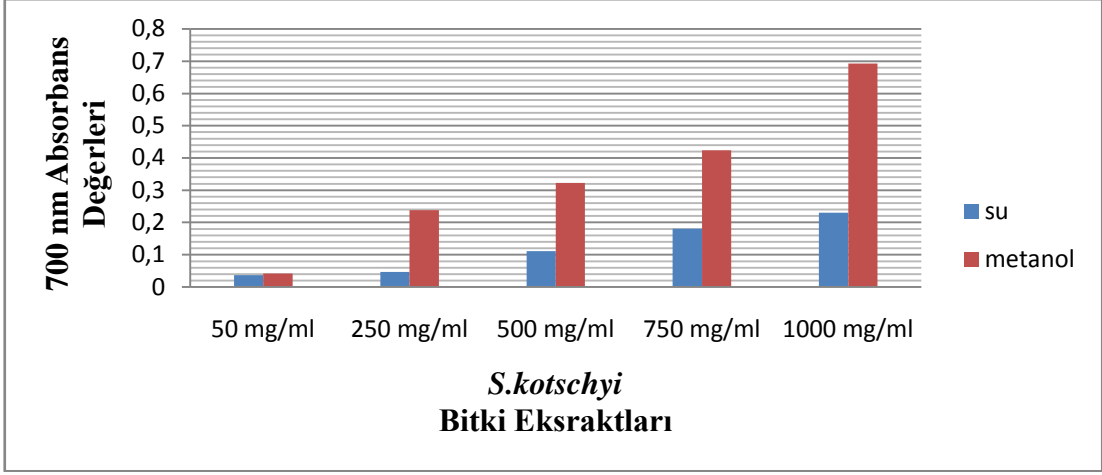
Şekil 3.4: *S. kotschyi* ve *S. pumilio* bitki ekstraktlarının ABTS serbest radikal giderim aktiviteleri

3.1.4 FRAP İndirgeme Gücü Kapasitesine Ait Sonuçlar

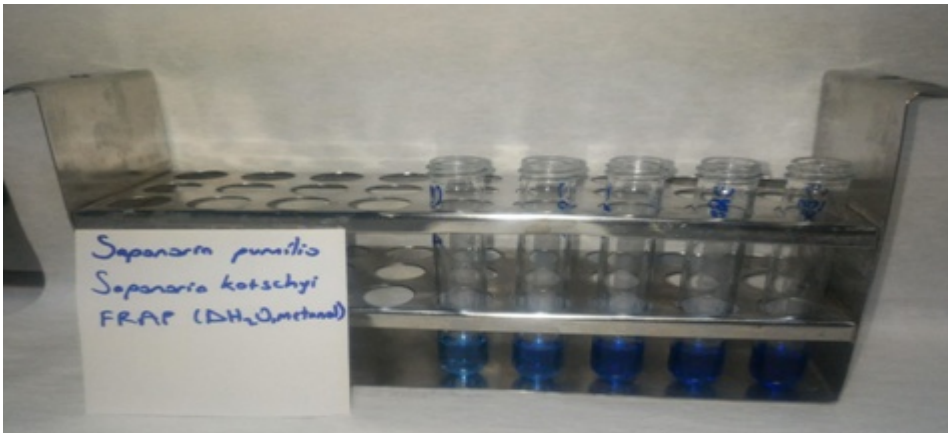
Farklı çözücülerle hazırlanan iki farklı bitki ekstraktlarının demir indirgeme gücü kapasitesi belirlenmiştir. Tablo 3.4 ve Şekil 3.5; 3.6’ da bitki ekstraktlarının ve BHTstandardının 700 nm’ deki absorbans değerleri gösterilmiştir. Absorbans değerinin artması indirgeme gücünün yüksekliğini göstermektedir. Her iki bitkide en yüksek değere 1000 mg/ml derişiminde ulaşılmıştır.

Tablo 3.4. *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitki ekstraktlarının konsantrasyonlarına göre absorbans değerleri (FRAP).

ABSORBANS DEĞERLERİ					
<i>S.kotschy</i> Bitki Eksraktları	50 mg/ml	250 mg/ml	500 mg/ml	750 mg/ml	1000 mg/ml
Su	0,037	0,047	0,112	0,181	0,2304
Metanol	0,0417	0,2387	0,323	0,424	0,6924
ABSORBANS DEĞERLERİ					
<i>S. pumilio</i> Bitki Eksraktları	50 mg/ml	250 mg/ml	500 mg/ml	750 mg/ml	1000 mg/ml
Su	0,228	0,3404	0,5147	0,701	1,0104
Metanol	0,0817	0,0924	0,1514	0,2047	0,292



Şekil 3.5: *S. kotschyi* ve *S. pumilio* bitki ekstraktlarının 700 nm'deki absorbans değerleri



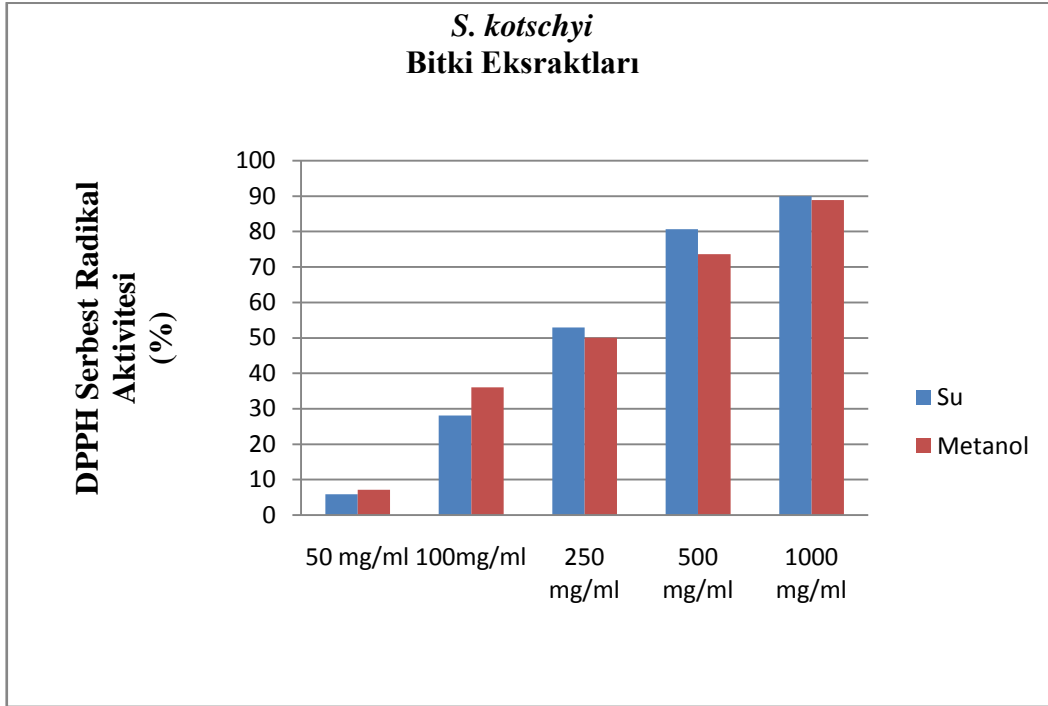
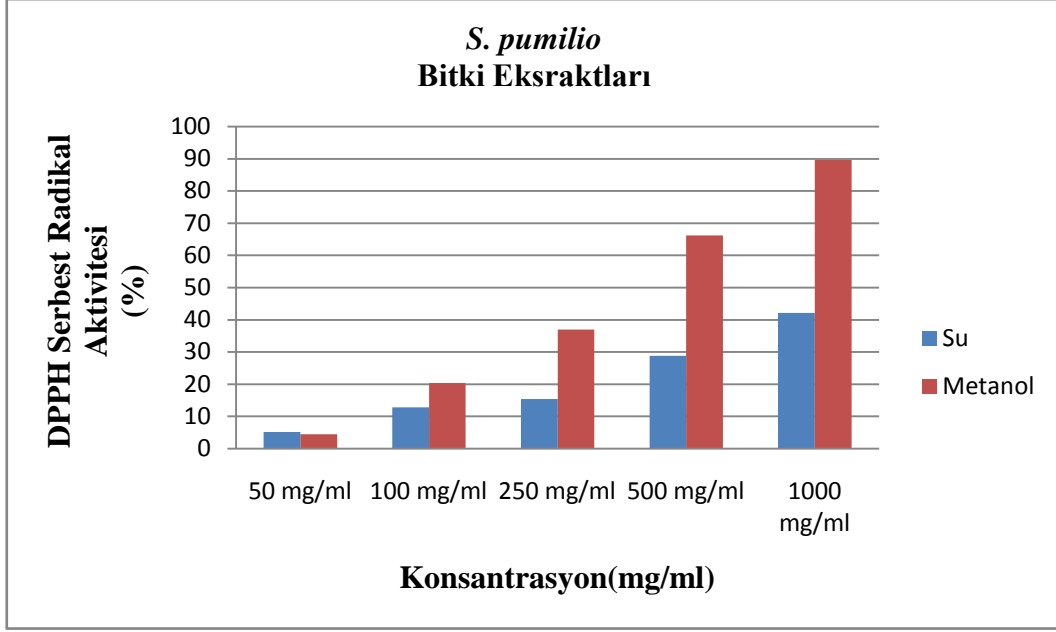
Şekil 3.6: FRAP reaksiyonu görünümü

3.1.5 DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesine Ait Sonuçlar

S. kotschy ve *S. pumilio* ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri, beş farklı konsantrasyonlarda incelenmiştir. Ekstraktların konsantrasyonlara göre inhibisyon değerleri (\pm std sapma) Tablo 3.5 ve Şekil 3.7’de gösterilmiştir.

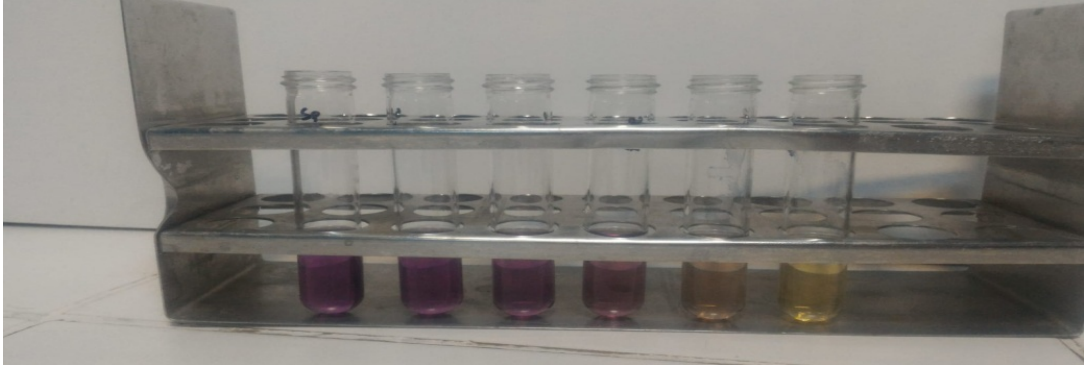
Tablo 3.5: *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi

KONSANTRASYONLAR					
<i>S. pumilio</i> Bitki Eksraktları	50 mg/ml	100 mg/ml	250 mg/ml	500 mg/ml	1000 mg/ml
Su	5,17 \pm 2,390 522955	12,847 \pm 2,547762	15,40667 \pm 4,162166	28,797 \pm 2,5 07592914	42,177 \pm 5,023 122092
Metanol	4,437 \pm 1,35 2388833	20,407 \pm 2,228 622	36,98 \pm 0,9 76661	66,25 \pm 0,63 3456128	89,704 \pm 2,313 616697
KONSANTRASYONLAR					
<i>S. kotschy</i> Bitki Eksraktları	50 mg/ml	100 mg/ml	250 mg/ml	500 mg/ml	1000 mg/ml
Su	5,86 \pm 2,20621848	28,137 \pm 4,536 741366	52,93667 \pm 4,132798	80,69 \pm 1,840887	89,937 \pm 1,307423
Metanol	7,144 \pm 2,53 829777	36,087 \pm 10,20437923	50,02 \pm 7,283754	73,63 \pm 10,27469	88,857 \pm 4,054104



Şekil 3.7: *S. pumilio* ve *S. kotschy* ekstraktlarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi grafikleri

Tablo 3.5 ve Şekil 3.7; 3.8 incelendiğinde, konsantrasyonun artmasıyla DPPH radikali giderim aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir. En yüksek serbest radikal giderim aktivitesi *S. Kotschy* metanol ekstraktlarının 1000 mg/ml (%89,93±1,30) derişiminde gözlenmiştir. En az aktivite ise *S. pumilio* su ekstratı 50 mg/ml (%5,17±2,39) derişiminde tespit edilmiştir.



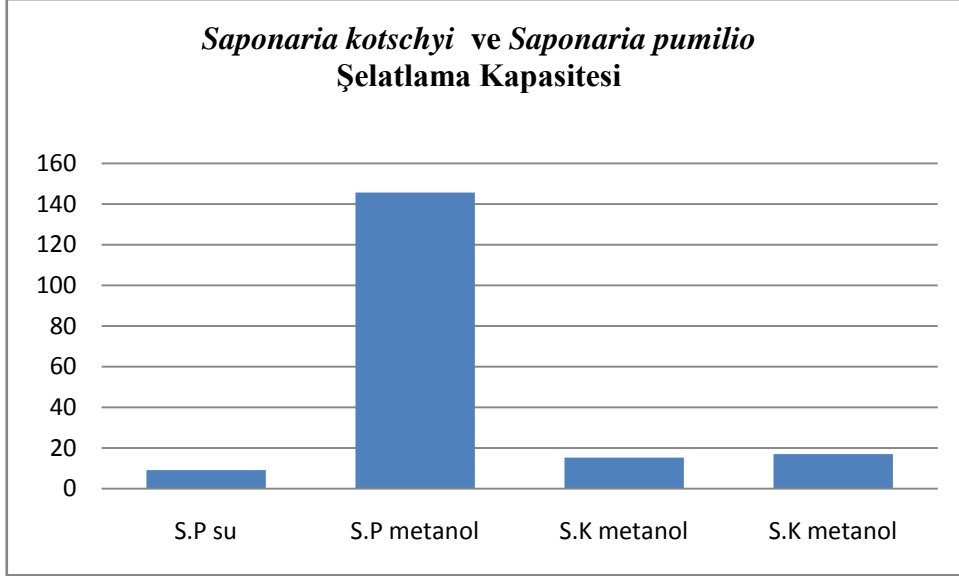
Şekil 3.8: DPHH radikali giderim aktivitesi görünümü

3.1.6 Şelatlama Kapasitesi

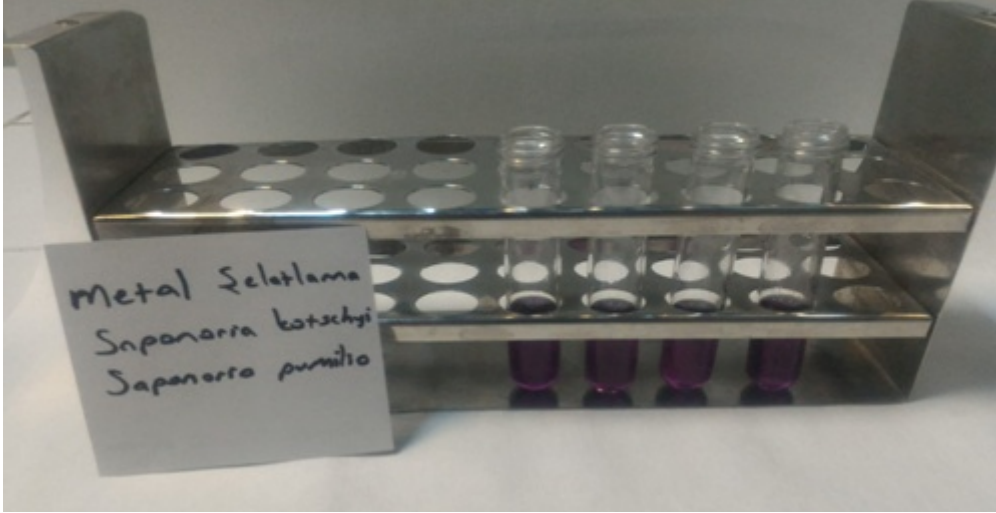
Ekstraktların Fe^{2+} iyonlarını şelatlama kapasiteleri EDTA eşdeğeri (mgEDTA/g) olarak hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 3.6 ve Şekil 3.9; 3.10'de gösterilmiştir. En yüksek şelatlama kapasitesine sahip olan bitki *S. Kotschy* metanol ($17,08 \pm 3,54$ mgEDTA/g), en düşük kapasiteye sahip bitki ise *S. pumilio* su ($9,06 \pm 7,40$ mgEDTA/g) olmuştur.

Tablo 3.6: *S. kotschy* ve *S. pumilio* ekstraktlarının şelatlama kapasitesi değerleri

<i>Saponaria kotschy</i> ve <i>Saponaria pumilio</i> (Bitki Ekstraktları)	<i>Saponaria kotschy</i> mgEDTA/g	<i>Saponaria pumilio</i> mgEDTA/g
SU	$11,30 \pm 6,76961$	$9,06 \pm 7,407078$
METANOL	$17,08 \pm 3,544094$	$15,27 \pm 6,127383$



Şekil 3.9: *S. kotschyi* ve *S. pumilio* ekstraktlarının şelatlama kapasitesi grafikleri



Şekil 3.10: *S. kotschyi* ve *S. pumilio* metal şelatlama renginin görünümü

3.2 Sekonder Metabolit Miktar Tayini Sonuçları

İki farklı bitki ekstraktlarımızın sekonder metabolit tayininde toplam fenolik bileşen ve toplam flavonoid madde miktarlarına bakılmıştır.

3.2.1 Folin- ciocalteu Ayıracı (FCR) ile Toplam Fenolik Madde Miktarı Sonuçları

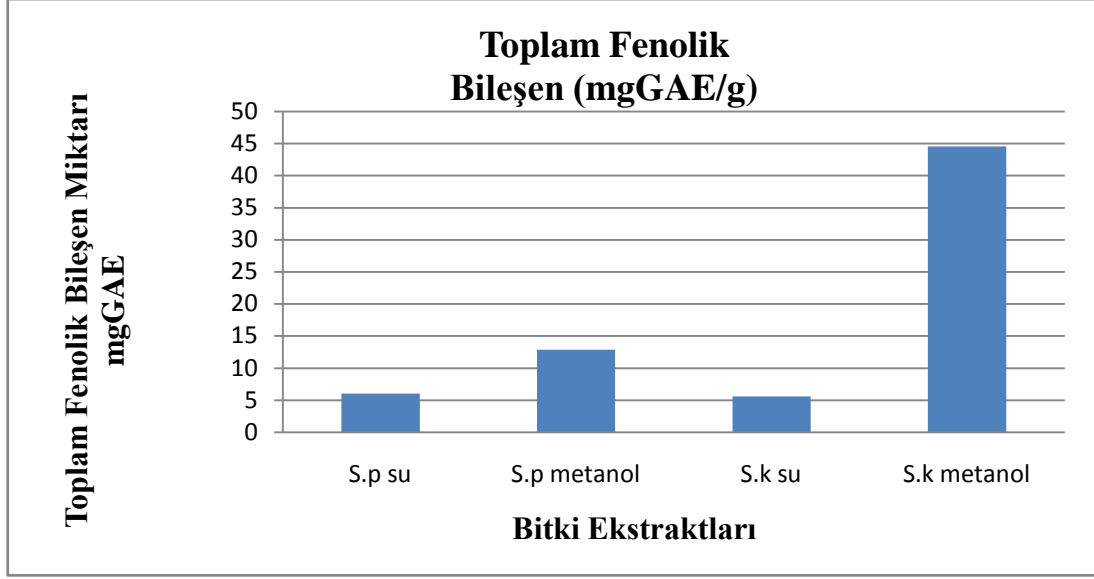
İki Farklı çözücüde (metanol, su) hazırlanan bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Elde edilen Tablo 3.7' de ve Şekil 3.11'de gösterildiği gibidir.

Tablo3.7: *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları

<i>S.kotschy</i> Bitki Eksrakları	Toplam Fenolik Bileşen (mgGAE/g)
Su	5,604167±4,399732
Metanol	44,5625±10,35817

<i>S. pumilio</i> Bitki Eksrakları	Toplam Fenolik Bileşen (mgGAE/g)
Su	6,02084±3,397814
Metanol	12,89583±3,118048

Tablo 3.7'de gösterildiği gibi gallik asite eşdeğer olarak hesaplanan toplam fenolik bileşen içerikleri en fazla *S.kotschy* metanol ekstraktlarında 44,5625±10,35817, en az ise *S.kotschy* su ekstraktlarında 5,604167 olarak tespit edilmiştir. Şekil 3.7' de toplam fenolik madde miktarlarının metanol ve su ekstraktlarına göre artışı gösterilmiştir.



Şekil 3.11: *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitki ekstraktlarının toplam fenolik bileşen miktarı grafikleri

3.2.2 Total Flavonoid Miktarı Sonuçları

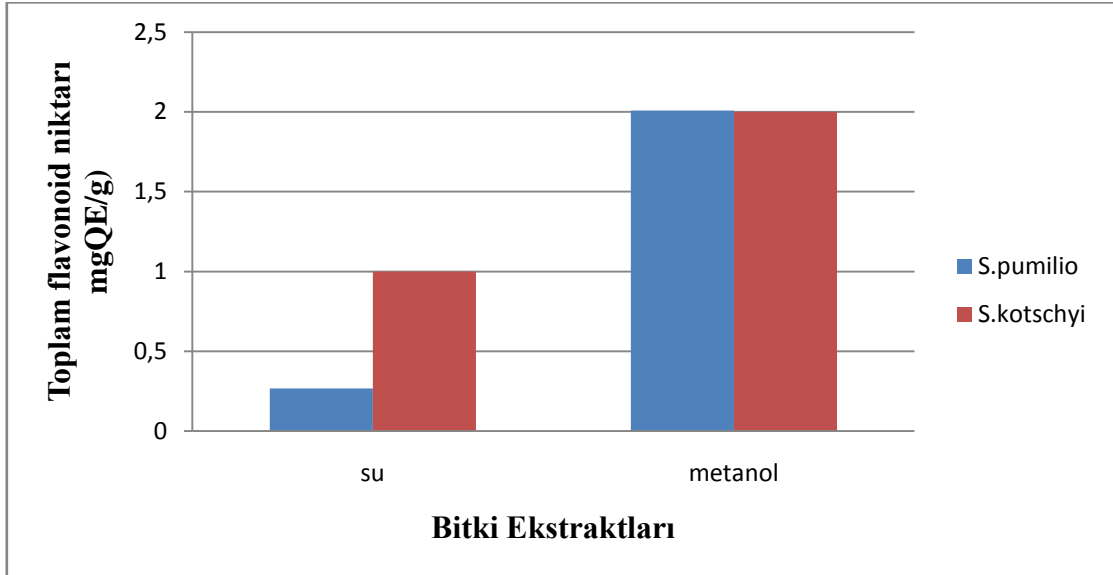
Farklı çözücülerde (metanol, su) hazırlanan bitki ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları kuersetine eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Elde edilen veriler ve standart sapmaları Tablo 3.8’de ve Şekil 3.13’ de belirtilmiştir.

Tablo3.8: *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitki ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları

<i>S.kotschy</i> Bitki Eksrakları	Toplam Flavanoid Miktarları (mgQE/g)
Su	1±0,002944
Metanol	2±0,593192

Tablo3.8: *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitki ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları (devamı)

<i>S. pumilio</i> Bitki Eksrakları	Toplam Flavanoid Miktarları (mgQE/g)
Su	0,2677±0,067123435
Metanol	2,0094±0,097687711



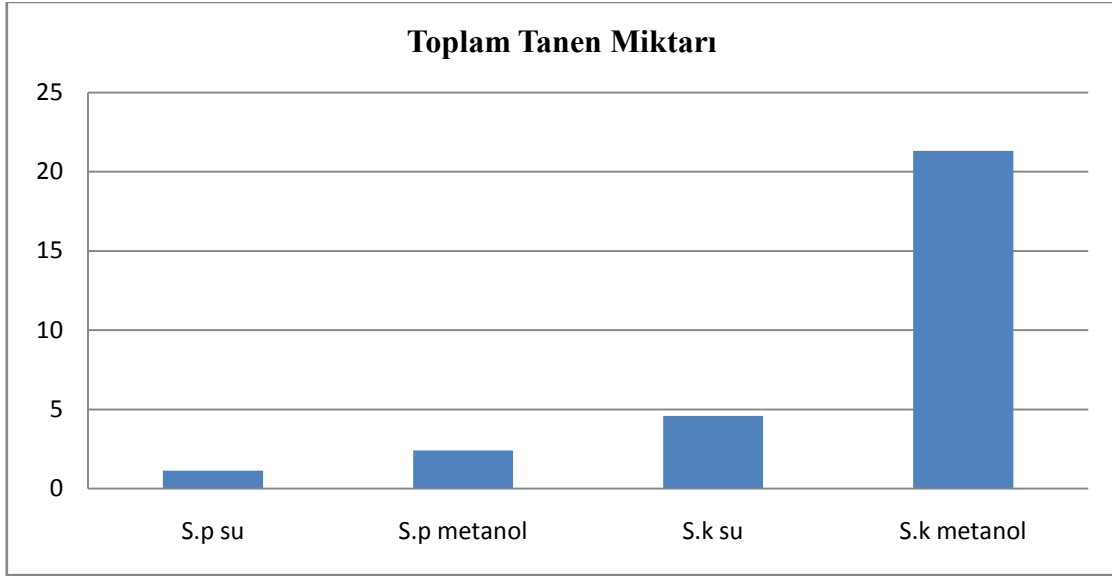
Şekil 3.12: *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitki ekstraktlarının total flavonoid miktarları grafiği

3.2.3 Toplam Tanen Madde Miktarları Sonuçları

Farklı iki çözücüde (metanol, su) hazırlanan bitki ekstraktlarının toplam tanen madde miktarı belirlenmiştir. Toplam tanen madde miktarına sahip olan en yüksek bitki *Saponaria kotschy* metanol(% 21,32), en düşük toplam tanen madde miktarına sahip bitki ise *Saponaria pumilio* su (% 1,12) olarak bulunmuştur.Elde edilen veriler Tablo 3.9 ve Şekil 3.10'da gösterilmiştir.

Tablo 3.9: *S. kotschy* ve *S. pumilio* ekstraktlarındatoplam tanen madde miktarları

<i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> Bitki Ekstraktları	<i>S. kotschy</i> mg CE/g	<i>S. pumilio</i> mg CE/g
Su	4,597	1,124
Metanol	21,327	2,407



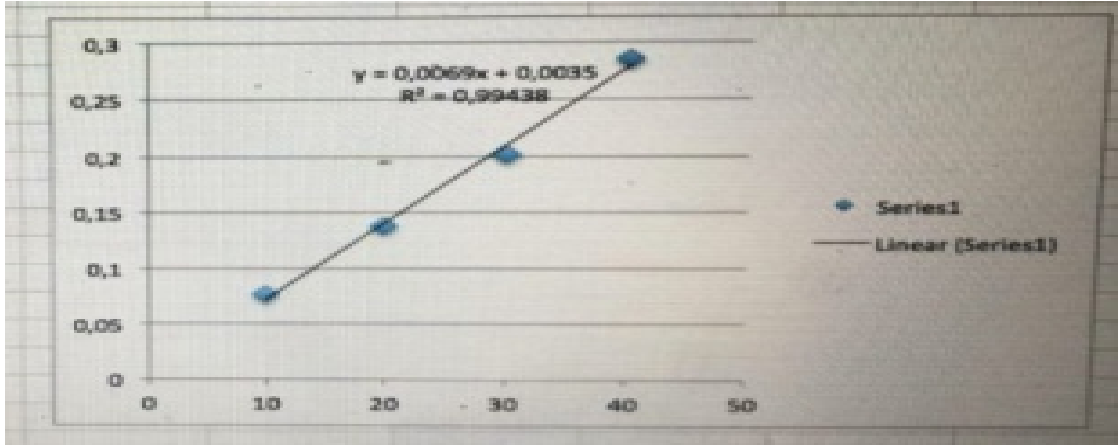
Şekil 3.13: *S. kotschy* ve *S. pumilio* toplam tanen madde miktarları grafiği

3.3 Toplam Saponin Madde Miktarları Sonuçları

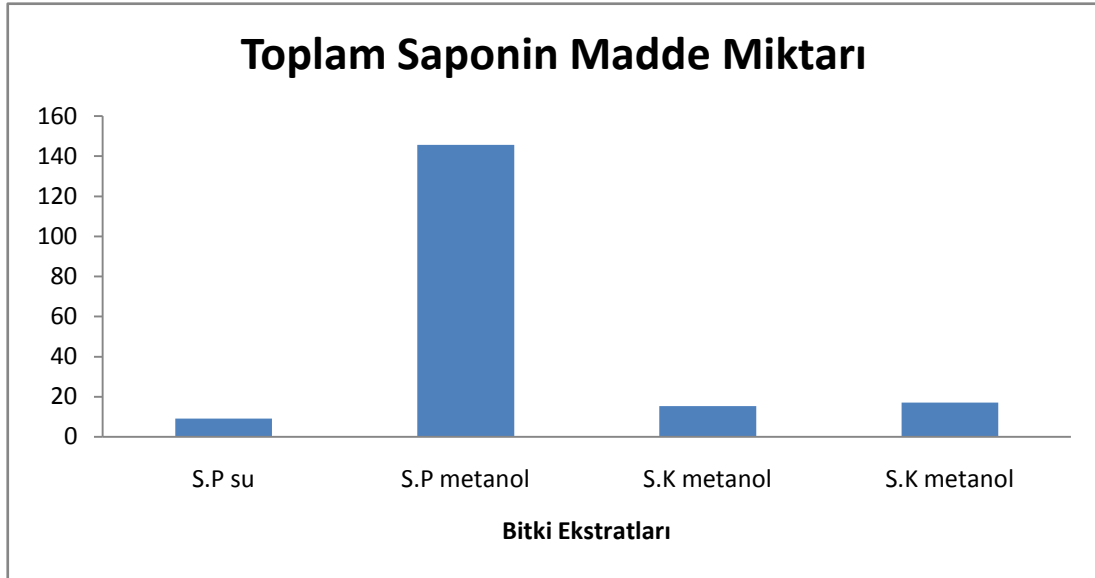
Bitki ekstraktlarının toplam saponin içeriği vanilin-sülfirik asit metodu kullanılarak belirlenmiştir.Yapılan deney sonucunda elde edilen değerlerimiz ve standart olarak kullanılan Quillaja için de yapılarak kalibrasyon eğrisi çizilerek şekil 3.5 ve Tablo 3.5 'de gösterilmiştir.

Tablo 3.10: *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitki ekstraktlarının toplam saponin miktarları

<i>S. kotschy</i> ve <i>S. pumilio</i> Bitki Ekstraktları	<i>S. kotschy</i>	<i>S. pumilio</i>
Su	147	105,63
Metanol	91	145,62



Şekil 3.14: *S. kotschy* ve *S. pumilio* toplam saponin miktarının Quillaja kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.15: *S. kotschy* ve *S. pumilio* toplam saponin miktarları grafiği

3.4 Brine Shrimp Sitotoksosite Aktivite Yöntemi

Bitkinin beş farklı konsantrasyonda hazırlanan metanol ve su ekstraktlarının sitotoksik aktivitesi, *Artemia salina* larvalarının kullanıldığı Brine Shrimp Letalite (BSLT) ile belirlenmiştir. Deney sonucunda elde edilen % ölüm oranları Tablo 3.11 ve Tablo 3.12 'de belirtildiği gibidir.

Tablo 3.11: *S. pumilio* bitkisinin *A. salina*'ya karşı ortalama ölüm oranları (%)

	Su	Metanol
10 ppm	75	77.5
50 ppm	83.33	80.5
100 ppm	80.5	88.83
500 ppm	100	100
1000 ppm	100	100
Kontrol (dH ₂ O)	27.75	27.75
LC₅₀ (min) (ppm)	0.12	0.02
LC₅₀ (ppm)	2.54	1.55
LC₅₀ (max) (ppm)	8.02	6.34
LC₉₀ (ppm)	96.97	86.33

Tablo 3.11 incelendiğinde konsantrasyonun artmasıyla % ölüm oranlarının arttığı gözlemlenmiştir. Metanol ve su ile hazırlanan bitki ekstraktlarımızın sitotoksosite sonuçlarında en az LC₅₀ değeri dolayısıyla en yüksek sitotoksik etki metanol ekstraktında (LC₅₀ = 1.55 ppm) tespit edilmiştir.

Tablo 3.12: *S. kotschy* bitkisinin *A. salina*'ya karşı ortalama ölüm oranları (%)

	Su	Metanol
10 ppm	75	66.66
50 ppm	80.5	72.16
100 ppm	86.08	86.08
500 ppm	100	100
1000 ppm	100	100
Kontrol (dH ₂ O)	27.75	27.75
LC₅₀ (min) (ppm)	0.17	1.42
LC₅₀ (ppm)	2.80	6.49
LC₅₀ (max) (ppm)	8.27	13.79
LC₉₀ (ppm)	83.80	122.91

Tablo 3.12 incelendiğinde konsantrasyonun artmasıyla % ölüm oranlarının arttığı gözlemlenmiştir. Metanol ve su ile hazırlanan bitki ekstraktlarımızın sitotoksosite sonuçlarında en az LC₅₀ değeri dolayısıyla en yüksek sitotoksik etki su ekstraktında (LC₅₀ = 2.80 ppm) tespit edilmiştir.

3.5 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Fenolik

Bileşiklerin Analizi

S. kotschy ve *S. pumilio* bitkilerimizin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Fenolik Bileşikleri Analizleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü Laboratuvarları içerisinde yapılmıştır. *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitkilerinin metanollü ekstraktlarının HPLC’de fenolik bileşik tayini verilen yönteme göre belirlenmiştir. Numuneden 0.2 g tartılıp mobil fazda çözülmüş ve 0.45 µm filtreden geçirilip HPLC sistemine enjekte edilmiştir (Gomes ve diğ. 1999)

Fenolik bileşik tayini için gallik asit, 3,4-dihidroksi, 4-dihidroksi, klorojenik asit, kafeik asit, vanilik asit, p-coumarik asit, ferulik asit, sinnamik asit standartları kullanılmıştır.

HPLC Metodu: Kullanılan Sistem: Shimadzu Prominence Marka HPLC

CBM: 20ACBM

Dedektör: DAD (SPD-M20A)

Kolon Fırını: CTO-10ASVp

Pompa: LC20 AT

Autosampler: SIL 20ACHT

Bilgisayar Programı: LC Solution

Kolon: Zorbax C18 (250*4,6 mm, 5 mikron)

Mobil Faz: A: %3 Formik asit B: Metanol

S. kotschy ve *S. pumilio* bitkilerimizin metanollü ekstraktlarının bazı fenolik bileşen içeriklerini belirlemek amacıyla YPSK yöntemi kullanılmıştır. Bitkilerimizdeki fenolik bileşen içeriklerinin belirlenmesinde gallik asit, 3,4 hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve sinnamik asit olmak üzere 15 farklı standart madde kullanılmıştır. Fenolik bileşen içeriklerine ait elde edilen veriler Tablo 3.13’de gösterilmiştir

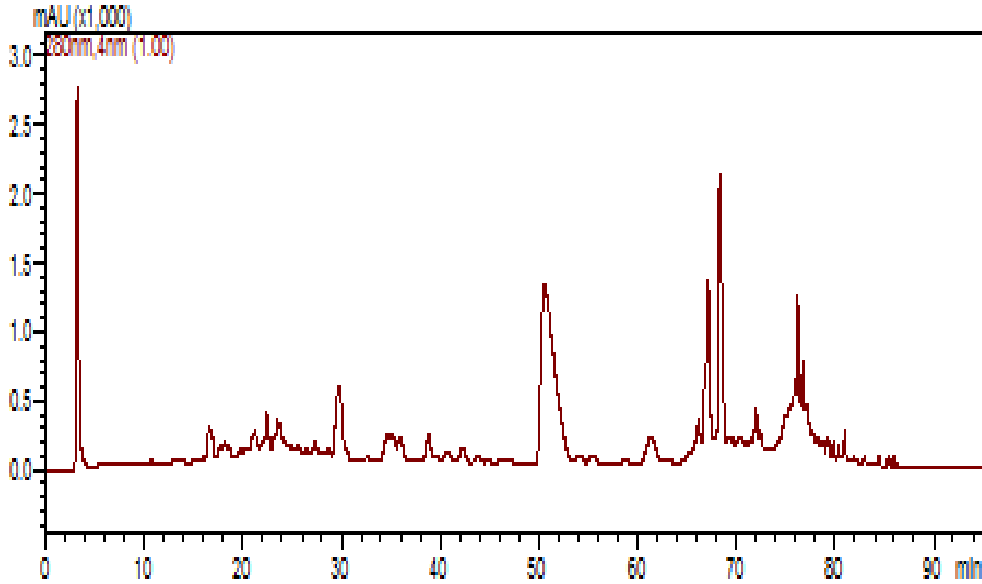
Tablo 3.13: *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitkilerinin metanol ekstraktlarının içerisindeki bazı fenolik bileşenlerin içerikleri ve miktarları

No	Fenolik Bileşikler	<i>S. pumilio</i> (µg/g ekstrakt)	<i>S. kotschy</i> (µg/g ekstrakt)
1	Gallik asit	61,192	08,878
2	3,4-dihidroksibenzoik asit	20,218	05,374
3	4-hidroksibenzoik asit	22,729	38,327
4	2,5- dihidroksibenzoik asit	5213,873	4192,725
5	Klorojenik asit	71,716	379,852
6	Vanilik asit	398,877	648,078
7	Epikateşin	3063,793	2917,869
8	Kafeik asit	10564,699	3377,459
9	<i>p</i> -kumarik asit	12,836	15,796
10	Ferulik asit	05,042	97,956
11	Rutin	448,644	391,664
12	Ellagic asit	697,491	411,025
13	Naringin	20,019	33,195
14	Sinamik asit	169,722	52,738
15	Kuersetin	1101,959	230,376

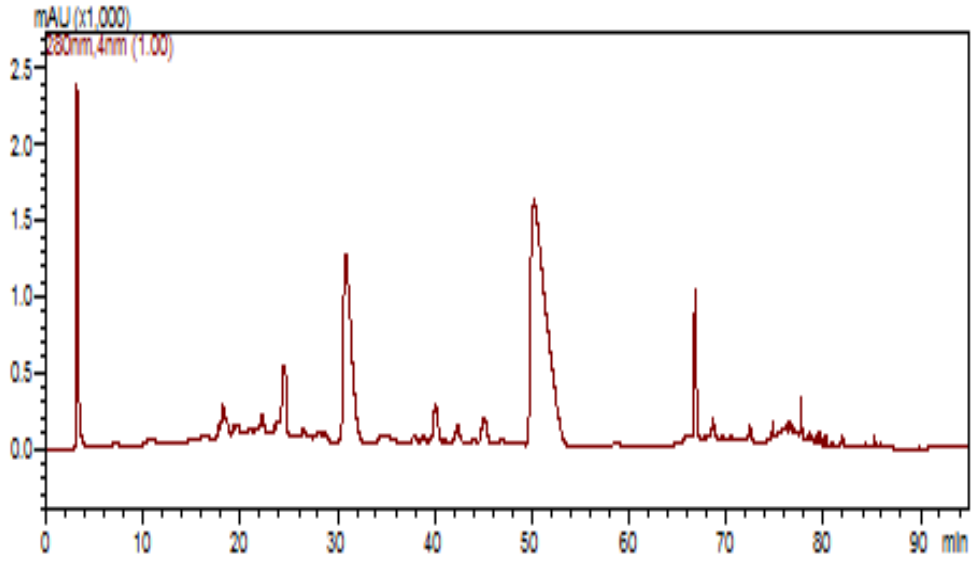
Yukarıdaki tabloya gözattığımızda metanol ekstraktlarında en yüksek fenolik bileşen içeren numunemiz *Saponaria pumilio* Caffeic asit (10564,699 µg/g), *Saponaria pumilio* 2,5 dihidroksi (5213,873), *Saponaria kotschy* 2,5 dihidroksi (4192,725), *Saponaria kotschy* Caffeic asit (3377,459 µg/g), *Saponaria pumilio* epicatechin (3063,793), *Saponaria kotschy* epicatechin (2917,869), *Saponaria pumilio* quercetin (1101,959), *Saponaria pumilio* ellagic (697,491), *Saponaria kotschy* Vanilic (648,078), *Saponaria pumilio* rutin (448,644), *Saponaria kotschy* ellagic (411,025), *Saponaria pumilio* Vanilic (398,877), *Saponaria kotschy* rutin (391,664), *Saponaria kotschy* Chloro (379,852), *Saponaria kotschy* quercetin (230,376), *Saponaria pumilio* Cinnamic (169,722), *Saponaria kotschy* Ferulic (97,956), *Saponaria pumilio* Chloro (71,716), *Saponaria pumilio* Gallik (61,192), *Saponaria kotschy* Cinnamic (52,738), *Saponaria kotschy* 4-hidroksi (38,327), *Saponaria kotschy* naringin (33,195), *Saponaria pumilio* 4-hidroksi (22,729), *Saponaria pumilio* 3,4dihidroksi (20,218), *Saponaria pumilio* naringin (20,019), *Saponaria kotschy* *p*-Coumaric (15,796), *Saponaria pumilio* *p*-Coumaric (12,836),

Saponaria kotschy Gallik (8,878), *Saponaria kotschy* 3,4dihidroksi (5,374) ve *Saponaria pumilio* Ferulic (5,042) gözlenmiştir.

Şekil 3.16 'da standartların kromatografisi ve Şekil 3.17'de bitkilerimizin metanol ekstraktının kromatogramları gösterilmiştir. Bu kromatogramlarda standart madde ve metanol ekstraktlarının dalga boyları ve alıkonma süreleri belirtilmiştir. Şekil 3.18' de gallik asitin, Şekil 3.19'da 3,4-hidroksibenzoik asitin, Şekil 3.20'de 4-hidroksibenzoik asitin, Şekil 3.21'de klorojenik asitin, Şekil 3.22'de vanilik asitin, Şekil 3.23'de kafeik asitin, Şekil 3.24'de p-kumarik asitin, Şekil 3.25'de ferulik asitin ve Şekil 3.26'da sinnamik asitin, 3.27'de 2,5-dihidroksiin 3.28' de epicatechinin, 3.29'de rutin, 3.30'da ellegicin, 3.31'de ise guercetin kalibrasyon eğrileri verilmiştir.

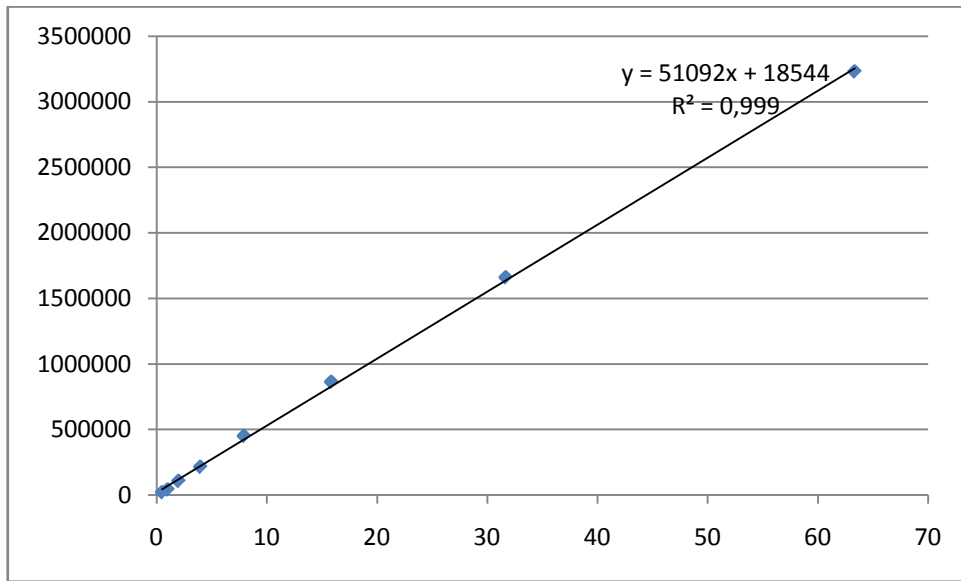


Şekil 3.16: *S. pumilio* bitkisinin YPSK'daki metanol ekstraktları için kullanılan standart kromatogramı

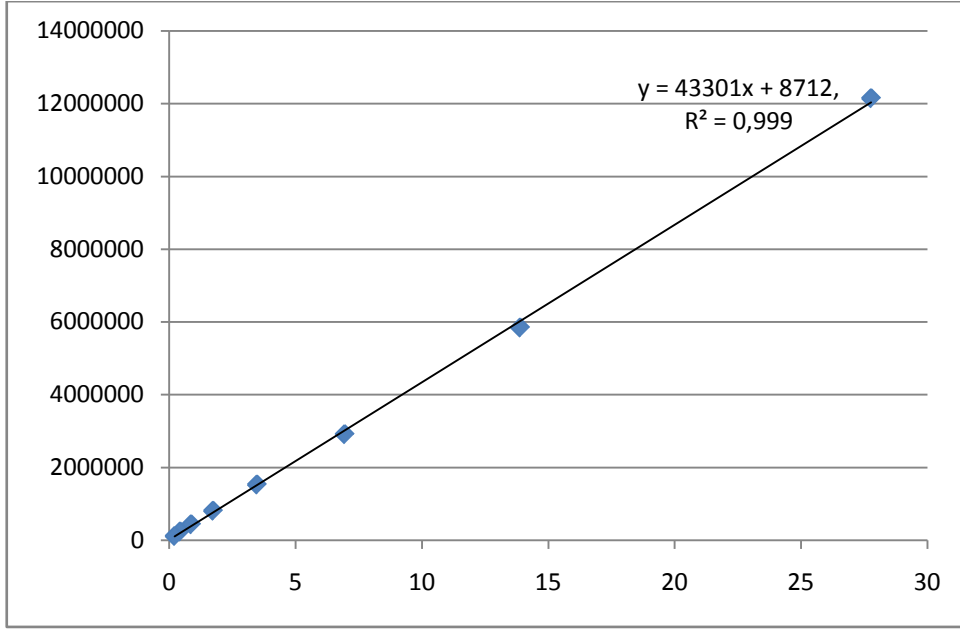


Şekil 3.17: *S. kotschyi* bitkisinin YPSK'daki metanol ekstraktları için kullanılan standart kromatogramı

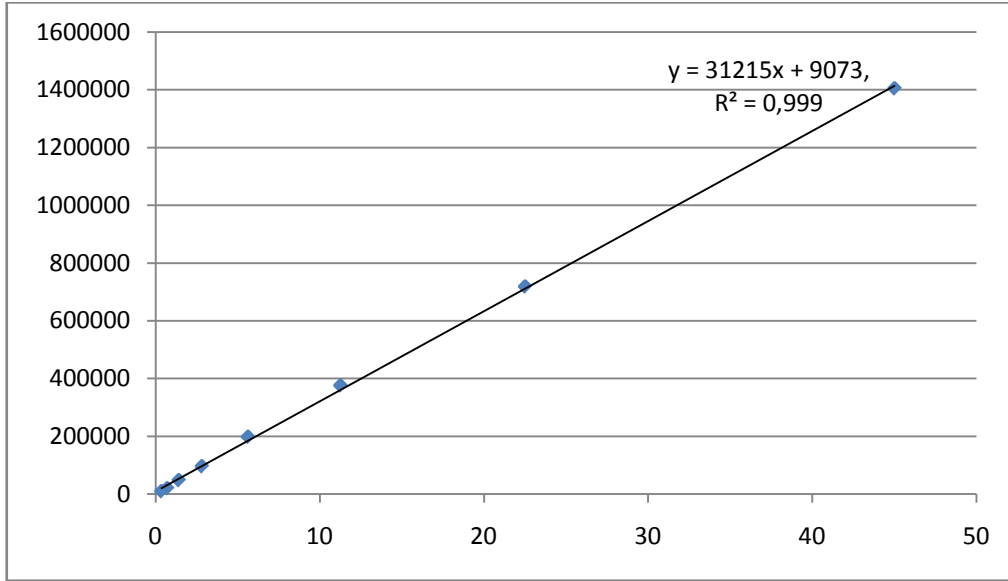
Aşağıda ise kullanılan standartlar şekil 15-28 arasında HPLC çıkan değerler grafikleri verilmiştir.



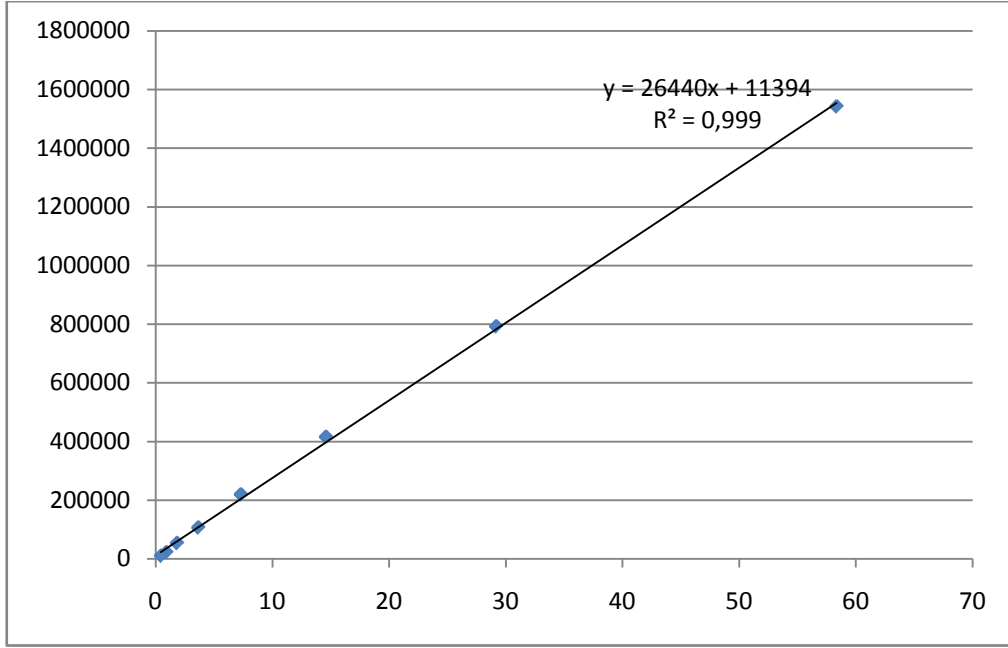
Şekil 3.18: Gallik asit Kalibrasyon Grafiği



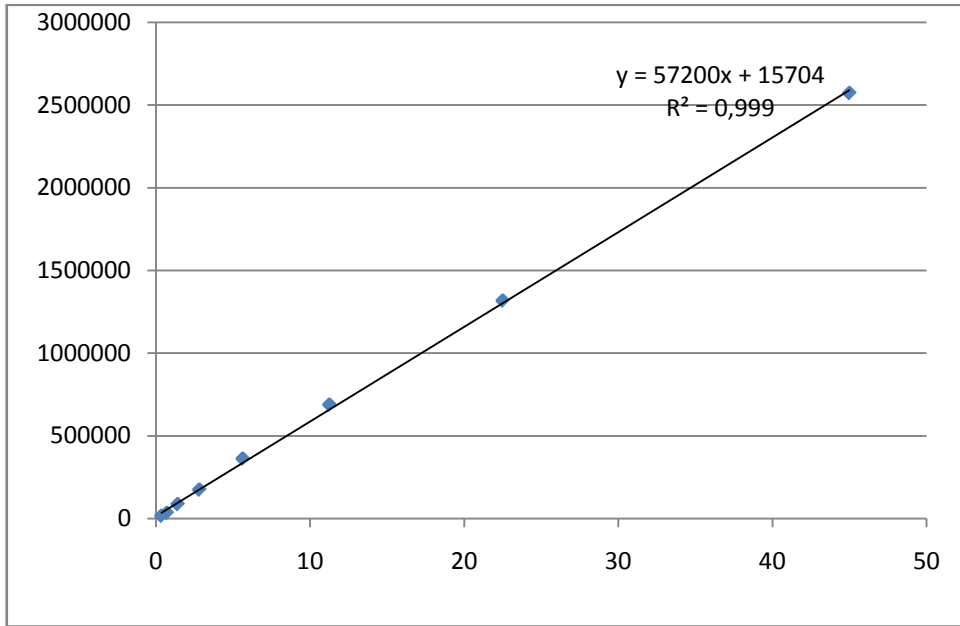
Şekil 3.19: 3,4 - dihidroksi kalibrasyon eğrisi



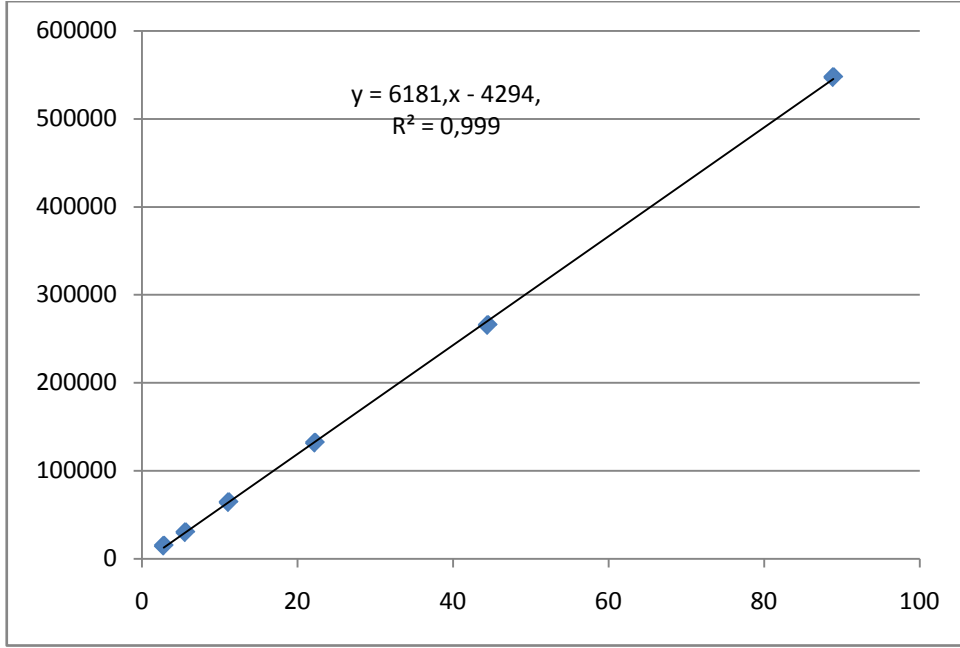
Şekil 3.20: 4-hidroksi Kalibrasyon Grafiği



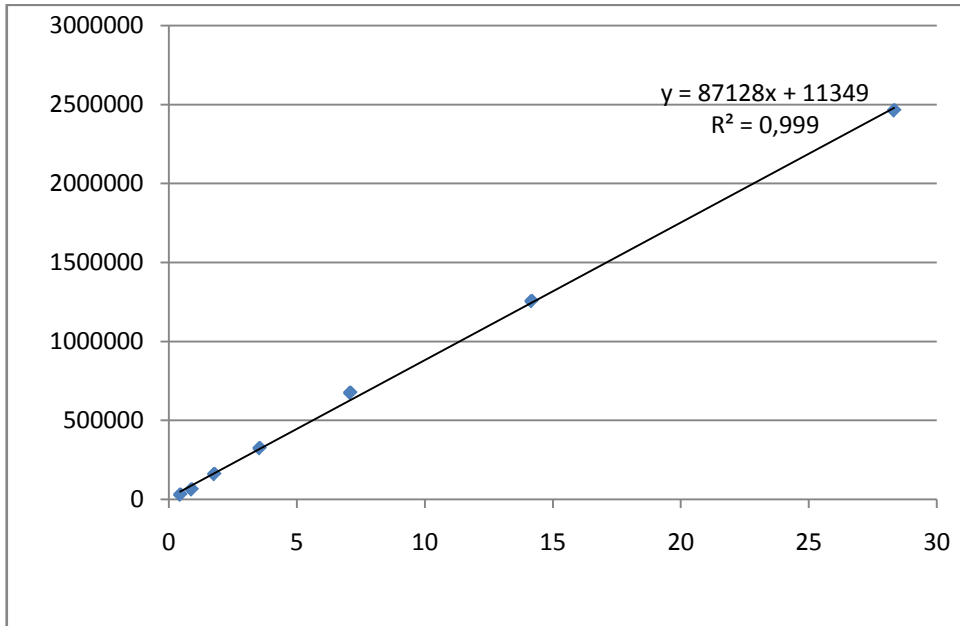
Şekil 3.21: Chlorojenik asit kalibrasyon grafiği



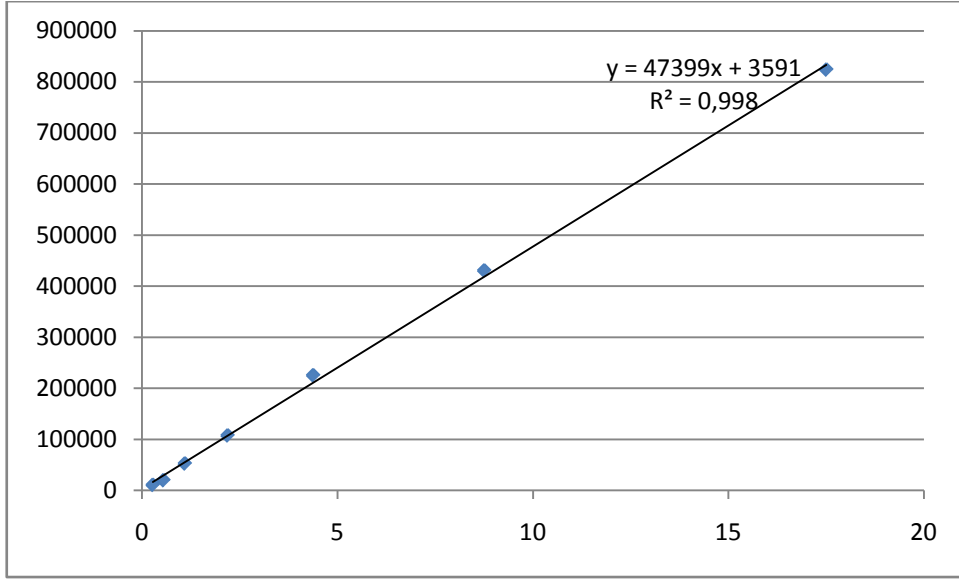
Şekil 3.22: Vanilik asit kalibrasyon grafiği



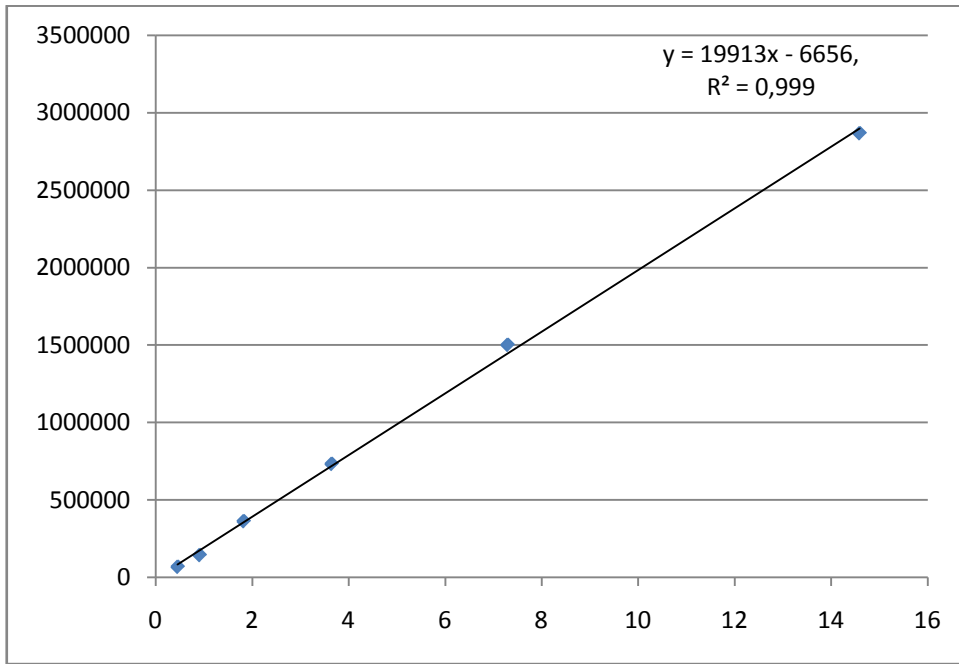
Şekil 3.23: Vanilik asit kalibrasyon grafiği



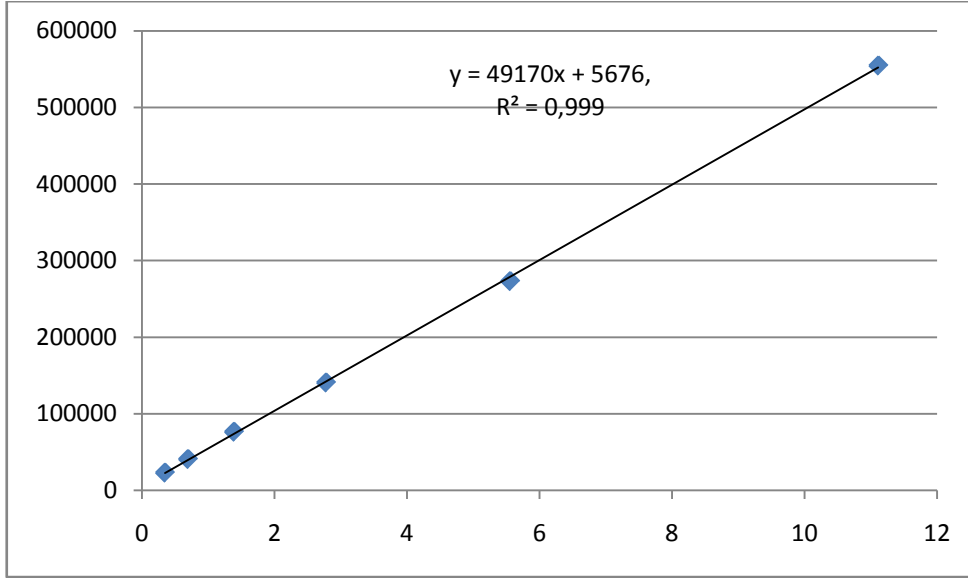
Şekil 3.24: p-Coumaric asit kalibrasyon grafiği



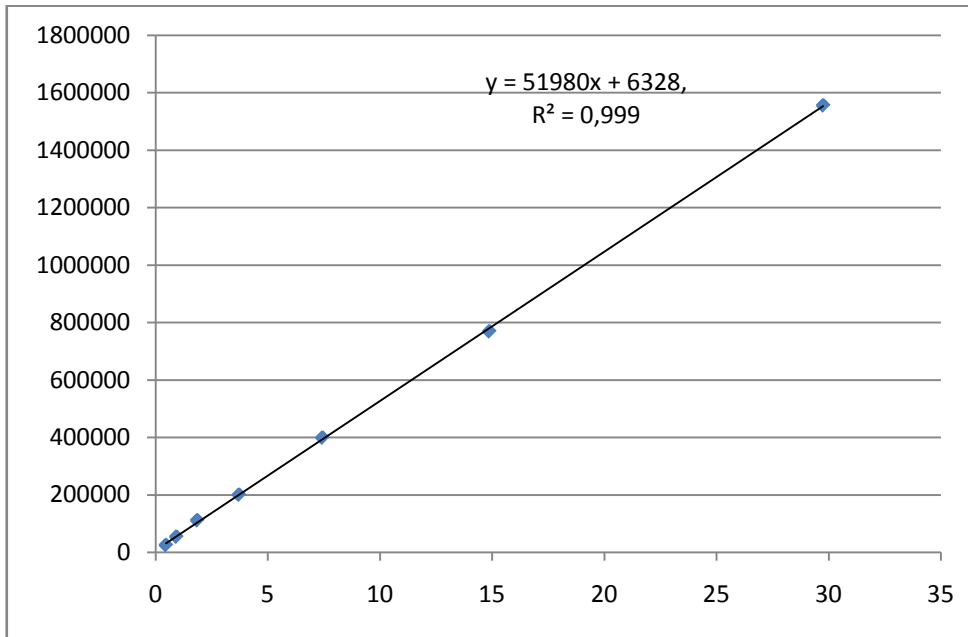
Şekil 3.25: Ferulik asit kalibrasyon grafiği



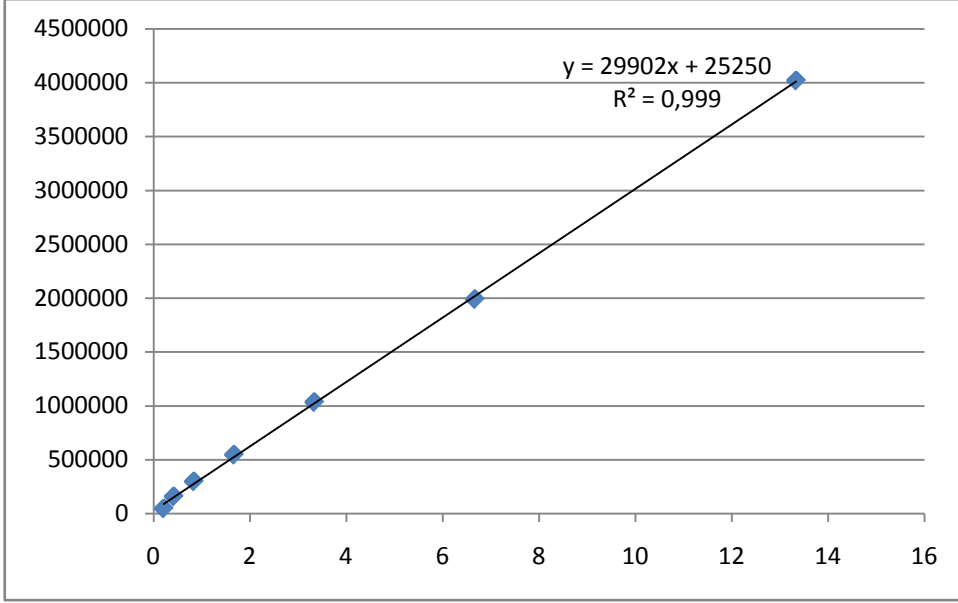
Şekil 3.26: Cinnamic asit kalibrasyon eğrisi



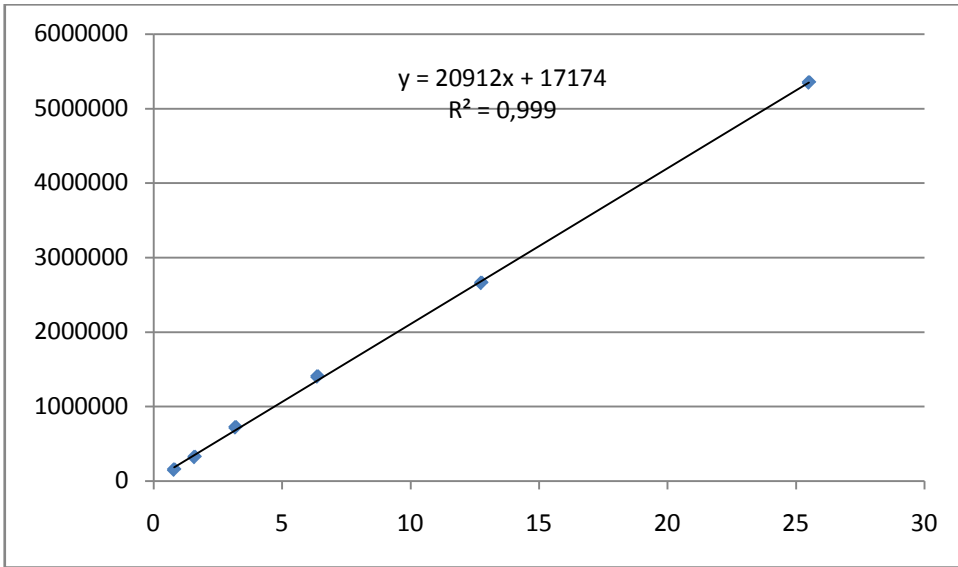
Şekil 3.27: 2,5-dihidroksi kalibrasyon eğrisi



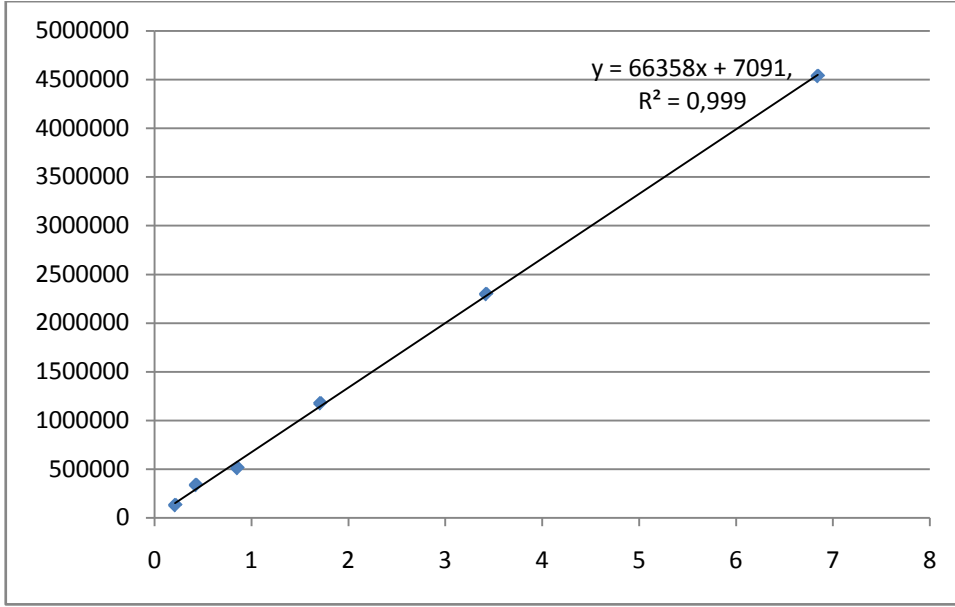
Şekil 3.28: Epicatechin kalibrasyon grafiği



Şekil 3.29: Rutin kalibrasyon grafiği



Şekil 3.30: Ellegic kalibrasyon grafiği



Şekil 3.31: Quercetin kalibrasyon grafiği

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Serbest radikaller, yapılarında eşleşmemiş elektron olan, açık elektron kabuğu konfigürasyonuna sahip atom veya moleküllerdir. Başka bir deyimle bunlar çevrede ve canlı organizmalarda endojen ve eksojen kaynaklar tarafından sürekli üretilen, enerjisi yüksek ve hızla reaksiyona girebilen atom ve molekül parçacıklarıdır. Bu tür atom veya moleküllerin canlı organizmalarda farklı üretim mekanizmaları vardır. Serbest radikaller, temizleyici bileşiklerin etkisi ile ya kısmen veya tamamen ortadan kaldırılabilmektedirler. Bu tür temizleyici bileşenler antioksidanlar olarak adlandırılmıştır.

Bu çalışmada ülkemizde yayılış gösteren *Saponaria* cinsinin iki türü, *S. kotschyi* ve *S. pumilio* bitkilerinin su ve metanol ekstraktları biyolojik aktivite kapasitesinin belirlenmesi amacıyla incelenmiştir.

Saponaria officinalis türünün antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde miktarı ve antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği bir çalışmada, topraküstü kısmının metanol ekstraktı beta karoten-linoleik asit test yöntemiyle araştırılmış ve antioksidan aktivite %70 olarak, toplam fenolik madde miktarı ise 6.57 µg GAE/mg olarak belirlenmiştir (Sengul ve diğ., 2011). Ayrıca diğer bir çalışmada *S. officinalis* türünün gövde ve çiçeklerinden elde edilen uçucu yağ GC ve GC/MS'te analiz edilmiştir (Petrović ve diğ., 2018).

Antioksidan aktivite değerlerini ortaya çıkarmak için literatürde yer alan çeşitli metodlar kullanılarak farklı sonuçlar elde edilmiştir. Her bitkinin kendine özgü ekstraktları farklı fonksiyonel gruplara sahip onlarca bileşiğin karışımı halinde olması sebebiyle, içerdiği bileşiklerin polaritesine ve kimyasal davranışlarına bağlı olarak, ekstraktlara uygulanan testler sistemde farklı sonuçlar vermektedir. Bu nedenle ekstraktların antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesinde farklı metodlar kullanarak test sonucuna göre değerlendirme yapılması gereklidir. Bu çalışmada *S. kotschyi* ve *S. pumilio* bitkilerinin metanol ve su ekstraktlarının toplam antioksidan aktiviteleri; β-karoten linoleik asit, DPPH serbest radikal giderim aktivitesi, ABTS (katyon giderim aktivitesi) Şelatlama kapasitesi, Fosfomolibdenyum ve FRAP gibi birbirinden farklı 6 değişik yöntemle ve 3 defa tekrarlanarak belirlenmiştir.

S. kotschy ve *S. pumilio* bitkilerinin metanol ve su ekstratında toplam antioksidan aktivite değerleri linoleik asitin inkübasyonu sırasında oluşan peroksitli ürünlerin β -karoten ile reaksiyona girip çıkmasıyla karakteristik olarak oluşan sarı rengin açılması olayına dayanarak β -karoten linoleik asit metotuna göre gözlenmiştir. *S. kotschy* ve *S. pumilio* bitkilerinin su ve metanol ekstratında Tablo 3.1 ve Şekil 3.1 incelendiğinde en yüksek antioksidan aktivite *S. kotschy* su ekstraktlarında $91,95 \pm 6,56$ olarak tespit edilmiştir. En düşük antioksidan aktivite değeri ise *S. pumilio* su ekstraktlarında $18,06 \pm 5,79$ olarak tespit edilmiştir.

DPPH ve ABTS her iki serbest radikal giderim aktivitesi sulu karışımların, içeceklerin, ekstrelerin veya saf maddelerin radikal giderim aktivite çalışmalarında sürekli kullanılmaktadır (Miller ve diğ. 1996, Gülçin ve diğ. 2007). DPPH serbest radikal giderim kapasitesi metodunda serbest radikalin yarısının süpürüldüğünü gösteren IC_{50} değerinin düşük olması antioksidan kapasitenin yüksekliğini gösterir. DPPH radikali uzun ömürlü bir azot radikali olup oldukça koyu mor bir renge sahiptir. Yöntemin esası; antioksidanların kararlı bir organik azot radikali olan DPPH radikalini süpürücü etkilerini ölçmeye dayanır. Bu radikal hidrojen donörlerle etkileştiğinde hidrazine indirgenir. Mor renkli DPPH radikali 517 nm'de maksimum absorpsiyon verir. DPPH çözeltisine antioksidanın eklenmesi sonucu absorbansta bir düşüş oluşmaktadır ve antioksidanların varlığıyla radikalin rengi mordan sarıya döner. DPPH deneyinde ekstraktların serbest radikal giderim aktivitesi ekstrakt içerisindeki antioksidan bileşiklerin hidrojenlerini verebilmelerine ve bileşiğin yapısal konformasyonuna bağlıdır (Huang ve diğ. 2005). Bu metoda göre en yüksek süpürücülük değeri *S. kotschy* su ($89,93 \pm 1,30$), en düşük değer ise *S. pumilio* su ($5,17 \pm 2,39$) ekstraktlarında tespit edilmiştir.

Ekstrelerin katyon radikali giderim aktivitesi ABTS metodu kullanılarak belirlenmiştir. Bu metoda göre katyon radikal giderim aktivitesi en yüksek *S. pumilio* su ekstratında ($91,45 \pm 3,633 \mu\text{g/ml}$) iken, en düşük katyon radikal giderim aktivitesi *S. pumilio* metanol ($12,27 \pm 2,594 \mu\text{g/ml}$) ekstratında elde edilmiştir.

Fosfomolibdenyum metotunun temeli, fenolik bileşiklerin asidik çevrede Mo (VI)'yı Mo (V)'e indirgemesi nedeniyle yeşil renkli fosfat/Mo(V) kompleksinin meydana getirmesine dayanmaktadır. Oluşan bu kompleks 695 nm'de maksimum absorbans değerlerini vermektedir. Sonuçlar, antioksidan aktivitesi bilinen bir maddeye (askorbik asite) eşdeğer olarak verilmiştir. Her iki tür ekstraktlarının 695 nm'deki

absorbansları değerlendirildiğinde en yüksek antioksidan kapasiteye sahip *S. kotschy* metanol (89,17 mgAE/g) bulunurken, en düşük antioksidan kapasitesine sahip ekstrakt ise *S. kotschy* su (13,254 mgAE/g) ekstratı belirlenmiştir..

Metal şelatlamada yönteminde kullanılan demir daha çok flavonoidlerle bileşik oluşturmaktadırlar. Bilindiği üzere fenolik ve flavonoid maddeler bitkilerin antioksidan özellikleriyle doğrudan bir ilişki içerisinde yer almaktadır. Araştırmacılar İşbilir ve diğ., (2008) bazı bitkilerin şelatlama kapasitelerini EDTA (% 90,66) ile karşılaştırılarak, terenin su ekstraktı (% 54,49) ve rokanın etanol ekstraktının (% 60,86) şelatlama değerlerini tespit edilmişlerdir.

S.kotschy ve *S.pumilio* bitki ekstraktlarının Fe²⁺ iyonlarını şelatlama kapasitesi standart şelatlayıcı madde olan EDTA'ya eşdeğer olacak şekilde tespit edilmiştir. En yüksek şelatlama kapasitesine sahip olan *S. kotschy* metanol (17,08±3,54 mgEDTA/g) iken en düşük ise *S.pumilio* su (9,06±7,40 mgEDTA/g) tespit edilmiştir. Metal şelatlama aktivitesi bitkilerin sahip oldukları flavonoid miktarı ile doğru orantılıdır.

Bir grup bilim adamı Hindistanın çeşitli yerlerinde yetişmekte olan 4 tıbbi (*Trichosanthes dioica*, *Moringa oleifera*, *Emblica officinalis* ve *Ficus bengalensis*) bitkinin antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Bitki ekstraktları FRAP deneyine tabi tutularak, indirgeme gücü kapasitesi belirlenmiştir. *Emblica officinalis* ekstraktında en yüksek antioksidan (85 Å ± 5.0 M Fe²⁺ / gm) etki elde edilmiştir (Sharma, 2009). Tez konusu ile ilgili her iki bitkinin metanol ve su ekstraktlarının demir indirgeme gücü (FRAP) incelenmiştir (Tablo 3.4 ve Şekil 3.5) . Sonuçlar bitki ekstraktlarının ve BHT standardının 700 nm' deki absorbans değerleri ölçülmüştür. Söz konusu deneyde absorbans değerinin artması indirgeme gücünün yüksekliği anlamına gelmektedir. Her iki bitkide en yüksek değere 1000 mg/ml derişiminde ulaşılmıştır.

Çalışmalarda pozitif kontrol noktası olarak BHA ve BHT kullanılmıştır. BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanların çok etkili olmaları ve gıdaların işlenmesi sırasında yaygın olarak kullanılmasına rağmen bunların insan sağlığı için toksik ve bazı yan etkilerinin olduğu bilinmektedir (Ito,1986).

Fitokimyasalların önemli bir grubunu oluşturan fenolik bileşiklerin serbest radikal temizleme ve antioksidan aktivitesi genellikle fenolik moleküllerin aromatik halkasında bulunan hidrojen verici –OH gruplarının sayısına ve pozisyonuna bağlıdır ve aglikonların glikolizasyonu ve diğer H verici gruplar (-NH, -SH) gibi çeşitli

faktörlerden etkilenmektedir. Bu özellik serbest radikallerin absorbe edilmesinde ve nötralize edilmesinde, tekil ve üçlü oksijenin yakalanmasında veya peroksitlerin ayrıştırılmasında önemli rol oynamaktadır (Panovska *et al.*, 2005). Fenolik bileşikler antioksidan, anti-kanser (Lee *et al.*, 2004), antiviral (Betancur-Galvis *et al.*, 2002) ve antimikrobiyal (Oskay ve ark., 2007) aktiviteye de sahiptir. Çalışmalar sonucunda her iki bitki ekstraktlarındaki toplam fenoliklerin miktarı FCR yöntemi ile hesaplanmıştır. En yüksek toplam fenolik madde miktarına *S. kotschy* metanolde (44,5625 mg/ml) rastlanmıştır. En düşük toplam fenolik madde miktarına ise *S. kotschy* su ekstraktında (5,604167 mg/ml) rastlanmıştır.

Bitki ekstraktları flavonoid madde miktarı açısından değerlendirildiğinde en yüksek flavonoid madde miktarına *S. pumilio* metanol (2,00) ekstraktında, en düşük flavonoid madde miktarı ise *S. pumilio* su (0,26) ekstraktında elde edilmiştir.

İnan ve ark (2006) yaptığı çalışma sonucunda *Gypsophila* taksonlarından elde edilmiş saponin miktarının *G. paniculata* ekstraktlarında %8.89 ve *G. pallida* ekstraktlarında ise %12.34 olarak bulmuştur. Saponin miktarı *S. kotschy* su ekstraktlarında 147 µg/g, *S. kotschy* metanol ekstraktında ise 91 µg/g olarak tespit edilmiştir. *S. pumilio* su ekstraktında 105,63 µg/g ve *S. pumilio* metanol ekstraktlarında ise 145,62 µg/g tespit edilmiştir. Bu değerler sonucunda en yüksek saponin miktarı *S. kotchy* metanolde belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada *Crocus speciosus* ve *C. antalyensis*'in çiçek ekstraktlarından yeni bir kaempferol elde edildiği rapor etmişlerdir (Norbaek ve Kondo, 1999). Diğer bir çalışmada ise; araştırmacılar *Crocus*'a ait 70 tür ve alt türden elde edilen çiçek pigmentleri HPLC ile analizi ederek tespit edilen 9 farklı antosiyanin içerisinde sadece *Crocus* cinsine özgü bazı antosiyaninlerin olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar bu maddelerin kemotaksonomi çalışmalarında cinsi tanımlayıcı bir karakter olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (Norbaek ve diğ. 2002). Başka bir çalışmada süperkritik karbondioksit ekstraksiyon metodu ile safra bezi içerisindeki bileşenleri analiz edilmiş ve analiz sonucunda biyolojik olarak aktif temel metabolitlerin krosinler olduğu belirlenmiştir (Lozano vd 2000).

S.kotschy ve *S.pumilio* bitki ekstraktlarında fenolik bileşik dağılımına ait kromotogramlardaki piklerin tanımlanması için bir seri fenolik asit standardı (gallik asit, 3,4 dihidroksi benzoik asit, 4-hidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinnamik asit) HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Türlerle ait kromotogramlardaki piklerin geliş zamanları ve spektrumları bu standartlarla karşılaştırılarak türlerin içerdiği fenolik asitler tanımlanmaya çalışılmıştır. Standart maddelere ait kalibrasyon eğrileri ve denklemleri kullanılarak tanımlanan fenolik bileşiklerin miktarları hesaplanmıştır. *S. kotschy* ve *S. pumilio* metanol ekstraktlarının YPSK“da fenolik içerik tayinini belirlemek için 15 adet standart madde baz alınarak (Caponio ve diğ. 1999) fenolik bileşikler tespit edilmiştir. Ayrıca 2,5 dihidroksi, epicatechin, rutin, ellagic, naringin ve quercetin baz alınarak fenolik bileşikler de tespit edilmiştir. *S. pumilio* için YPSK yöntemi ile elde edilen fenolik bileşiklerden en yüksek (10564,699 µg/g) değer gaffeic asitte gözlenirken, en düşük değer *S. pumilio* (5,042 µg/g) ile ferulic asitte gözlenmiştir. *S. kotschy* için YPSK yöntemi ile elde edilen fenolik bileşiklerden en yüksek (4192,725 µg/g) değeriyle 2,5 dihidroksi asitte, en düşük değer ise (5,374 µg/g) ise 3,4 dihidroksi asitte gözlenmiştir.

Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) Letalite testi, bitki ekstraktlarının biyoaktivitesinin belirlenmesinde basit, güvenilir ve uygun bir metottur (Meyer *et al.*, 1982). *Artemia salina*, tuzlu göl sularında, yaşayan bir tür eklembacıklıdır. Tuz karidesi olarak da bilinir. Yapılan birçok çalışmada bitki ekstraktlarının potansiyel sitotoksik aktivitesinin bu yolla belirlendiği tespit edilmiştir (Oturgan, 2007; Pourfraidon ve Sharma, 2009; Sökmen, 2001). Brine Shrimp testi bitkilerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi ve sonrasında geleneksel tıpta kullanılıp kullanılmayacaklarının belirlenmesi çalışmalarında başlangıçta kullanılması uygun olan, ön değerlendirme için çok güzel veriler sunan bir yöntemdir.

S. pumilio metanol ve su ile hazırlanan bitki ekstraktlarının sitotoksisite sonuçlarında en az LC₅₀ değeri, dolayısıyla en yüksek sitotoksik etki metanol ekstraktında (LC₅₀ = 1.55 ppm) tespit edilmiştir. *S. kotschy* metanol ve su ekstraktlarının sitotoksisite sonuçlarında en az LC₅₀ değeri, dolayısıyla en yüksek sitotoksik etki su ekstraktında (LC₅₀ = 2.80 ppm) tespit edilmiştir.

Saponaria türlerinin özellikle kökleri ve hatta yaprakları saponin içermektedir. Bitkinin kökleri suda köpürme özelliği gösterdiği için deterjan olarak kullanılmakta ve bu nedenle halk arasında 'sabun otu' olarak bilinmektedir (Baytop, 1999). Bazı *Saponaria* türlerinin kimyasal yapıları ve saponinler Sezik ve Turkoz (1987) tarafından çalışılmıştır. Ayrıca *Saponaria* türleri farmakolojik amaçlar için de kullanılmaktadır (Metcalf ve Chalk, 1950). Whitehead ve ark. (1981) da saponinlerin karaciğer lipid ve plazma trigliserit konsantrasyonunu değerlerini düşürdüğünü ama karaciğer kolesterol ve plazma yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyini ise hiç etkilemediğini sabit kaldığını saptamışlardır.

Whitehead ve ark. (1981) 1g/kg saponinin yumurtlayan tavukların performansına hiçbir şekilde etki etmediğini, 4-5 g/kg de ise canlıların yem tüketimini ve yumurta ağırlığını azalttığını belirtmiştir. Diğer taraftan Ishaaya ve ark. (1969) Soyada bulunan saponinlerin, yüksek konsantrasyonlarda bile tavuklarda büyümeyi tetikleyici etkisinin bulunmadığını ama yoncadaki saponinlerin zararlı etkilerinin rasyondaki saponin konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğunu belirtmişlerdir. *Yucca schottii* yumurta tavuklarında saponinlerin yumurta sarısının kolesterolünü etki etmediğini savunmasına rağmen yonca veya *Yucca schidigera* saponinlerinin yumurta kolesterolünü azalttığı belirlenmiştir (Sim, 1984)

Saponin içerikli bitkilerin az alındığında sindirim kanalı üzerinde lipit ve glikoz miktarlarının emilimini düşürdükleri ve bu yolla etkili olduğu çalışmaları bulunmaktadır (Mahato 1988). Saponin içerikli bitkilerin özellikle antiinflamatuvar, antiprotozoal, hipoglisemik ve hipokolesterolemik etkilerine ilişkin çalışmalar sıklıkla bulunmaktadır (Cheeke 1999). Hayvanlar saponin içeren bitkilerin yedirildiği ya da insanlara saponin ekstraktı verilen çalışmalarda yağ metabolizmasının ve serum kolesterol miktarını değiştirdiği belirtilmiştir. (Morehouse, 1999).

Yucca schidigera ekstratı ile beslenen tavşanlardaki γ -radyasyonunun antioksidan sistemi ve lipit peroksidasyonu üzerine etkisi üzerine araştırılma yapılmış yapılan çalışma sonucunda çalışmada düşük radyasyonun dahi vücutta lipit peroksidasyonuna sebep olduğu, saponinlerin lipit peroksidasyonunu engellediği gösterilmiştir (Enginar vd. 2006).

Yukarıda anlatılanları dikkata alarak, *S.kotschy* ve *S.pumilio* bitkilerinin metanol ve su ekstraktlarının birçok biyolojik özelliğe sahip olduğunu söylemek mümkündür. Öncelikle, yapılmış olan antioksidan ve miktar çalışmaları bu bitki ekstraktlarının antioksidan özelliğe sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Her iki bitkinin metanol ve su ekstraktlarının; metal şelatlama, demir indirgeme, radikal süpürücülük vd. bu gibi deneylerle antioksidan gücü belirlenmiştir.

Antioksidan kapasite ile direkt olmasa da, dolaylı yoldan bağlantılı olan madde miktar belirlenmesi çalışmalarında fenolik bileşenler, flavonoidler, tanen ve saponinlerin *S.kotschy* ve *S.pumilio* ekstraktlarında miktarları belirlenmiştir. Bulunan madde miktar sonuçları her iki bitkinin saponin içeren bitki olduğu bir daha kanıtlanmıştır. Her iki türün ekstraktları üzerinde Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) Letalite testi yapılmış ve bunların düşük değerlerde de olsa sitotoksik etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Antioksidan, içerik tanıma ve sitotoksisite özelliği *S.kotschy* ve *S.pumilio* ekstraktlarının farmakolojik özelliklere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Her iki türün ekstraktlarından sağlık ve gıda sanayinde yararlanmak mümkündür. Bu konularda bir takım çalışmalar yapılmış ve Saponaria L. cinsinin diğer türleri üzerinde bu konularda bazı çalışmalar bulunmaktadır. *S.kotschy* ve *S.pumilio* bitki türleri bilimsel çalışmalar açısından geleceği olabilecek türlerdir.

5. KAYNAKLAR

Agostini-Costa T, Vieira R, Bizzo HR, Silveria D, Gimenes MA., *Secondary Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4505-4515, (1997).

Albayrak S., Sağdıç O., Aksoy A., Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri. Enstitüsü Dergisi*, 26(4):401-409, (2010).

Ali S.S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sha anabasava H., Sahu A., Bora U., Amsterdam. *Analysis*, 10, 178-182, (2002).

Apak, R., Kubilay, G., Demirata, B., Özyürek, M., Celik, E.S., Bektaşođlu, B., Berker, I.K., Özyurt, D., “Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay”, *Molecules*, 12, 1496-1517, (2007).

Arasimowicz, M., Floryszak-Wieczorek, J., Milczarek, G., Jelonek, T., “Nitric oxide, induced by wounding, mediates redox regulation in pelargonium leaves”, *Plant Biol (Stuttg)*, 11, 650-663, (2009)

Arkan O & İnceoğlu . Türkiye'nin Bazı Saponaria L. Taksonlarının Polen Morfolojisi. *Doğa-Tr. J. of Botany* 16: 253-272. (1992).

Arora, A., Nair, M.G. and Strasburg, G.M., 1988. Structure activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radical Biology and Medicine*, 24, 1355-1363. (1988).

Artajo, L.S., Romero, M.P., Morelloa, J.R., Motilva, M.J., “Enrichment of refined olive oil with phenolic compounds; evaluation of their antioxidant activity and their effect on the bitter index”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6079-6088, (2006).

Asada, K. Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions. *Plant Physiology*, 141, 391–396. (2006)

Aydın, S.A., Stün, F., “Tanenlerin kimyasal Yapıları, Farmakolojik Etkileri, Analiz Yöntemleri”, *İstanbul Üniv, Vet. Fak. Derg.*, 33, 1, 21-31, (2007).

Balasundram, N., Sundram, K., Samman Samir., “Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses”, *Food Chemistry*, 99, 191–203, (2006).

Baytop T. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Üstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. (1999)

Betancur-Galvis, L.A., Morales, G.E., Forero, J.E. and Roldan, J. Cytotoxic and antiviral activities of Colombian medicinal plant extracts of the *Euphorbia* genus. *Mem. Inst.Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 97(4), 541-546. (2002).

Boissier, P.E., *Flora Orientalis*, Vol. 1, 478-479, A.Asher & Co B.V., (1975).

Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E., Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161, (5), 839-851. (2001).

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., “Use of free radical method to evaluate antioxidant activity”, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28, 1, 25-30, (1995).

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., “Use of free radical method to evaluate antioxidant activity”, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28, 1, 25-30, (1995).

Briksin, D.P., “Medicinal Plants and Phytomedicines, Linking Plant Biochemistry 37 and Physiology to Human Health”, *Plant Physiology*, 124, 507–514, (2000).

Cam, M., Hışıl, Y., “Gıdalardaki flavonoidler ve önemleri”, 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, Ankara, 67-82, (2003).

Canıyılmaz, A., *Phillyrea latifolia*, *Cistus creticus* ve *Arbutus andrachne* türlerinin kimyasal içeriğinin ve fenolik ekstraktiflerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi,

Süleyman Demirel Üniveristesi, Fen Bilimleri Enstürüsü. Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta, (2015).

Caponio, F., Alloggio, V. and Gomes, T., “Phenolic Compounds of Virgin Olive

Cemeroğlu, B., “Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi”, 1. Cilt, *Gıda Teknolojisi Derneđi Yayınları*, 77-88, Ankara, (2004).

Chang, C., Yang, M., Wen, H., Chern, J., “Estimation of total flavonoid content in Cheeke, P.R. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *Proceeding of the American Society of Animal Science*. 1-10. (1999).

Chemotxonomic Investigation”, *Biochem. Syst. Ecol.*, 30: 763-791, (2002).

Chromatography”, *Food Chem.*, 69, 87-95, (2000).

Coşkun, F., “Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 27-33, (2006).

Çaylak, E., “Hayvan ve bitkilerde oksidatif sters ile antioksidanlar”, *Tıp araştırmaları dergisi*, 9(1), 73-83, (2011).

Das, D. K. Naturally occuring flavonoids: Structure, chemistry and high performance liquid chromatography methods for separation and chracterization. *Methods in Enzymo.*, 234, 410-419. (1994).

Davis, PH., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. 2. Edinburgh University Press. (1967).

Deniz, N. “*Crocus cancellatus* Herbert subsp. *mazziaricus* (Herbert) Mathew ve *Crocus pallasii* Goldb. subsp. *pallasii* Goldb. taksonları ekstraktlarının aktif bileşenleri ve bazı biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı*, Denizli, (2016).

Derviř, E., “Oral antioksidanlar”, *Dermatoz*, 2(1), 263-267, (2011).

Development of an Improved Procedure for Extraction and Quantitation of
Dewick, P.M., “Medicinal Natural Products”, *A Biosynthetic Approach. 2nd ed.* 6-12,
Wiley & Sons, Chichester, England, (2002).

Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., Almeida, L.M., “Action of phenolic derivates
(acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid
peroxidation and as peroxy radical scavengers”, *Archives of Biochemistry and
Biophysics*, 315, 161-169, (1994).

Dökmeci, İ., “Toksikoloji, Zehirlenme Tanı ve Tedavileri, *Nobel Tıp Kitabevi*, İstanbul,
(2001).

Ekim, T., *Türkiye'nin Biyolojik Zenginlikleri*, Ankara: Türkiye Çevre Vakfı, (2005).

Eklund, P.C., Langvik, O.K., Warna, J.P., Salmi, T.O., Willfor, S.M., Sjöholm, R.E.,
“Chemical studies on antioxidant mechanisms and free radical scavenging properties of
lignans”, *Organic and Biomolecular Chemistry*, 21, 3336-3347, (2005).

Enginar, H., Eryavuz A., Gülcan A., Kaya, E., Küçükkurt İ., Fidan F., “Effect of *Yucca
schidigera* extract on lipid peroxidation and antioxidant activity in rabbits exposed to g-
radiation, *Revue Méd. Vét.*, 157, 415-419. (2006).

Erdir Erten, M., “Türkiye *Saponaria* L. (Caryophyllaceae) cinsi üzerinde taksonomik,
morfolojik ve anatomik çalışmalar”, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, *Fen Bilimleri
Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi*, 339 (2009).

Fenwick DE, Oakenfull D, Saponin content of food plants and some prepared foods. *J
Sci Food Agric.*, 34, 186-191. (1983).

Fenwick DE, Oakenfull D., Saponin content of food plants and some prepared foods. *J.
Sci. Food Agric.*, 34:186-191.,(1983).

Francis G., Kerem Z., Makkar HPS., Becker K., The biological action of saponins in animal systems. *Br. J. Nutr.*, 88, 587-605. (2002).

Fukumoto, L.R., Mazza, G., “Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 8, 3597-3604, (2000).

Güngör, N., “Dut Pekmezinin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri İle Antioksidan Aktivitesi Üzerine Depolamanın Etkisi”, *Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Erzurum, (2007).

Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. 11. Edinburgh University Press. (2000).

Güner A., Türkiye Bitkileri Listesi. İstanbul, (2012).

Harman, D., *Journal of Gerontology*. (1956).

Hegeman, A.D., “Plant metabolomics-meeting the analytical challenges of comprehensive metabolite analysis”, *Briefing in functional genomics*, 9, 2, 139-148, (2010).

Hostettmann K, Marston A. Saponins. In: Phillipon, J.D., Ayres, D.C., Baxter, H., editors. Chemistry and pharmacology of natural products. Cambridge: Cambridge University Press; UK. (1995).

Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., “The chemistry behind antioxidant capacity assays”, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, 1841-1856, (2005).

Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., “The chemistry behind antioxidant capacity assays”, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, 1841-1856, (2005).

Huber-Morath A. Gypsophila L., Ankyropetalum Fenzl in Davis, P.H.(ed.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press. p. 147-171. (1967).

Ishaaya I, Birk Y, Bondi A, Tencer Y, . Soyabean saponins; Studies of their

effect on birds, mamals, and cold blooded organisms. *J Sci Food Agric.*, 20:433-436. (1969).

Ito, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shirai, T., Tatematsu, M.,

İnan, M., Çukurova Koşullarında Farklı Kökenli Çöven (*Gypsophila* sp.) Türlerinde Kök Verimleri ve Saponin İçeriklerinin Araştırılması, Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı*, Adana. (2006).

İşbilir, Ş.S., “Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi”, Trakya Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD*, Doktora Tezi, Edirne, (2008).

Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S., Cabaroğlu, T., “Bazı Üzümsü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri”, *II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, Tokat, 309-312, (2006).

Kaska, A., Çiçek, M., Deniz, N., Mammadov, R., “Investigation of Phenolic Content, Antioxidant Capacities, Anthelmintic and Cytotoxic Activities of *Thymus zygoides* Griseb”, *Journal of Pharmaceutical Research International*, 21(1), 1-13, (2018).

Kayaalp, S.O., *Tıbbi Farmakoloji*, 11, Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık, 613-620, (2005).

Khris-Etherton, P.M., William, Harris, W.S., Appel, L. J. Fish Consumption, Fish oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Journal of the American Heart Association*. (2002).

Kocaoğlu Güçlü B, Uyanık F, Saponinler ve Biyolojik Önemi, *Erciyes Üniv. Vet Fak. Derg*, 1(2), 125-131., (2004).

Kocataş, A., “Oseanolji”, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları*, İzmir, (2002).

Kolodziejski, J. and Stecka L., Occurrence of saponins in various parts of *G. paniculata* and *Gypsophila altissima*. I. *Farm. Pol.*, 21, 751-754. (1965).

Lavelli, V., Peri, C., Rizzola, A., “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, (2000)

Lee J., Koo N., Min DB., “Reactive Oxygen Species, Aging, And Antioxidative
Lee, J.Y., Hwank, W.I. and Lim, S.T. Antioxidant and anticancer activities of organic extracts from *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle roots. *Journal of Ethnopharmacology*, 93: 409-415. (2004).

Lindsay, R.C., “Food Additives”, In: *Food Chemistry* (Fennema, O.R. Ed.), Marcel Dekker, pp.767-823, New York, (1996).

Loskutov, A. V., Beninger, C. W., Hosfield, G. L. and Sink, K. C.,”

Lu, F.C., Kacew, S., “Lu’s Basic Toxicology: fundamentals, target organs, and risk assessment”, *Taylor & Francis*, New York, (2002).

Mahato, S.B., Sarkar, S.K. And Poddar G. Triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, 27 (10), 3037-3067. (1988).

Mammadov, R., *Tohumlu Bitkilerde Sekonder Metabolitler*, Nobel Press, 428, (2014).

Mathew, S., Abraham, T.E., “Studies on the antioxidant activities of cinnamon
Med, 26,1231-1237, (1999).

Metabolites”, *Chromatography and Its Applications*, Brazil, 131-164, (2012).

Metcalf CR & Chalk L. *Anatomy of the Dicotyledons*, 42. Caryophyllaceae. 1: 147-152. London: Oxford University Press. (1950).

Metcalf, C.R. and Chalk, L. *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. 1, Clarendon Press, Oxford, 243-245. (1950).

Meyer, B.N., Ferrign, R.N., Putnam, J.E., Jacobson, L.B., Nicholas, D.E., McLaughlin, J.L., Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents, *Planta Medica*, 45, 31- 34, (1982).

Miller N.J., Rice E.C., Davies M.J., Gopinathan V., and Milner A., “A novel method Miller, D.D., “Minerals”, In: *Food Chemistry*, (Fennema, O. R. Ed), Marcel Dekker, pp.617-649, New York, (1996).

Mizui, F., Kasai, R., Ohtani, K., and Tanaka, O., Saponins from brans of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) I. *Chem Pharm Bull*, 36, 1415–1418. (1988)

Modanlıoğlu, Ş.N., *Inula peacockiana* (Aitch. & Hemsl.) krovin türünün farklı ekstralarında antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. (2012).

Morehouse, L.A. And Bangerter, F.W. Comparison of synthetic saponin cholesterol absorption inhibitors in rabbits; evidence for a nonstoichiometric, intestinal mechanism of action. *J. Lipid Research*.40,464-74. (1999).

Norbaek, R., Brandt, K., Nielsen, J. K., Orgaard, M. and Jacobsen, N., “Flower Nutraceuticals” , *Food Science and Food Safety*, 3, 21- 33, (2004).

Oil:Influence of Paste Preparation Techniques”, *Food Chemistry*, 64: 203-209,
Oleszek W., Chromatographic determination of plant saponins. *J. Chromatography A*., 967, 147-162. (2002).

Oleszek, W., M. Jurzysta, M. Ploszynski, I. J. Colquhoun, K. R. Price, and R. G. Fenwick., 1992:. Zanhic acid tridesmoside and other dominant saponins from alfalfa (*Medicago sativa* L.) aerial parts. *J. Agric. Food Chem.* 40, 191-196.

Oskay, D., Oskay, M., “ Bitki sekonder metabolitlerinin biyolojik önemi”, *Ecological Life Sciences*, 4(2), 31-41, (2009).

Oskay, M., Aktaş, K., Sarı, D., Azeri, C. *Asphodelus aestivus* (Liliaceae)'un antimikrobiyal etkisinin çukur ve disk diffüzyon yöntemiyle karşılaştırmalı olarak belirlenmesi. *Ekoloji Dergisi*, 16, 62-65. (2007).

Oturgan, M.H. Cruciferae Familyasına Ait Bazı Türlerde Biyolojik Aktivite Çalışmaları, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi ABD, Yüksek Lisans Tezi, (2007).

Pacher, P., Beckman, J.S., Liaudet, L., “Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease”, *Physiological Reviews*, 87, 315-424, (2007).

Panovska, T.K., Kulevanova, S. and Stefova, M. In vitro activity of some *Teucrium* species (*Lamiaceae*). *Acta Pharm.*, 55: 207-214. (2005).

Pehlivan, M., Gülerüz, M., “Ahududu ve Böğürtlenlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi”, *Bahçe*, 33, 1-2, 51-57, (2004).

Petrović GM, Ilić MD, Stankov-Jovanović VP, Stojanović GS, Jovanović SČ. “Phytochemical analysis of *Saponaria officinalis* L. shoots and flowers essential oils”, *Natural Product Research*, 32(3), 331-334. (2018).

Pigment Composition of *Crocus* Species and Cultivars Used For a
Pokorný, J., “Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidants?”, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 629-642, (2007).

Pourfraidon, Z., Sharma, C. Biological activity of prominent anti-cancer plants using Brine Shrimp Lethality Test, *Journal of Microbial World*, Volume 2, No. 3, (2009).

Prakash, A., “Antioxidant Activity, Analytical progress report of Medallion Laboratories”, 19, 2, 1-2, (2001).

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., “Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphor molybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E”, *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341, (1999).

Prior R.L., Wu X., Karen S., Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Food and Dietary Supplements. *Journal of Agriculture. Food Chemistry*, 53:4290-4302. (2005).

Rao AV, Sung MG. Saponins as Anticarcinogens. *The Journal of Nutrition*, 125: 717-724. (1995).

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., “Antioxidant activity Ruznyak S.P, Szent-Gyorgyi A., “Vitamin P: Flavonols as vitamin.”, *Nature*, 138, 27, (1936).

Saldamlı, İ., “Gıda Kimyası”, *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*, 463-492, Ankara, (2007).

Sanjust, E., Mocci, G., Zucca, P., Rescigno, A. “Mediterranean Shrubs As Potential Antioxidant Sources”, *Natural Product Research*, 22 (8). 689–708, (2008).

Sebahattin, Nas., Saldamlı, İ., “Gıda Kimyası.” *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*. Ankara, 463-492, (2007).

Sellapan, S., Akoh, C.C., Krewer, G., 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia grown blueberries and blackberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2432-2438.(1986).

Sengul, M., Ercişli, S., Yıldız, H., Gungor, N., Kavaz, A., Çetin, B. Antioxidant, antimicrobial activity and total phenolic content within the aerial parts of *Artemisia absinthum*, *Artemisia santonicum* and *Saponaria officinalis*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 49-56. (2011).

Sezik E & Türkoz S. Separation of some triterpenic saponins by column chromatography. *Acta Pharmaceutica Turcica* 29: 87-93. (1987).

Shahidi, F., Naczk, M., “Food Phenolics”, *Technomic Publishing Company Book, Lancaster, USA*, 199-225, (1995).

Shahidi, F., Naczk, M., "Food Phenolics". Technomic Publishing Company Book, Lanchester, USA, 199-225, (1995).

Sharififar, F., Moshafi, M.H., Dehghan-Nudehe, G., ve diğ., "Bioassay screening of the essential oil and various extracts from 4 spices medicinal plants", *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22, 3, 317-322, (2009).

Sharma, R.K., Chatterji, S., Rai, D.K., Mehta, S., Rai, P. K., Singh, R.K., Geeta Watal, G., Sharma, B. Antioxidant activities and phenolic contents of the aqueous extracts of some Indian medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 3(11), pp. 944-948. (2009).

Sim JS, Kitts WD, and Bragg DB, Effect of dietary saponin on egg cholesterol level an laying hen performance. *Can J Anim Sci.*,64:977-984. (1984).

Singleton, V.L., Rossi, J.A., "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents", *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158, (1965).

Sökmen, A. Antiviral and Cytotoxic Activities of Extracts from the Cell Cultures and Respective Parts of Some Turkish Medicinal Plants, *Turk J Biol.*, 25: 343-350 (2001).

Söylemezoglu G., "Üzü mdeki fenolik bileşikler" , *Gıda*, Vol. 28(3) pp. 277-285,
Sparg SG., Light ME., Staden J., Biological activities and distribution of plants saponins. *J. Ethnopharmacol.*, 94, 219-243. (2004).

Sparg, S.G., Light, M.E., Staden, J., Biological activities and distribution of plant saponins. *J. Ethnopharmacology*, 94, 219-243. (2004).

Sur, P., Chaudhuri, T., Vedasiromoni, J.R., Gomes, A., Ganguly, D.K., Antiinflammatory and antioxidant property of saponins of tea". *Biol Pharm Bull.* 24(3), 209–213. (2001).

Taga, M.S., Miller, H.E., Pratt, D.E., "Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61, 928-931, (1984).

Taiz L, Zeiger E., *Plant Physiology*, Santa Cruz, Los Angeles. Vol. 5, pp. 322, (2008).

Taiz, L., ve Zeiger, E., “Plant Physiology”, Fifth Edition, *Sinauer Associates*, Sunderland, MA., (2010).

Tanker, M., & Tanker, N. “Farmakognazi”. Cilt 1-2, Ankara Üniv. Ecz. Yayinlari No :66, Ankara Üniversitesi Basimevi, Ankara, 347p. (2003).

Treece, G.D., “Artemia production for marine larval fish culture”, *Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) Publication*, No: 702, (2000).

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., “Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress- induced cancer”, *Chemico_Biological Interactions*, 160(1), 40, (2006).

Vanisree, M., Lee, C.Y., Lo, S.F., Nalawade, S.M., Lin, C.Y., Tsay, H.S., “Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue culture”, *Botanical Bulletin Academia Sinica*, 45, 1–22, (2004).

Vincken, J.P., Heng, L. Groot A and Gruppen H., Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68, 275-297. (2007).

Virginoliveoil:influence of pastepreparation techniques”, *Food Chemistry*, 64, Vol. 8, (1984).

Waterman, P.G., Evolution of Secondary Plant Metabolism, *Encyclopedia of Life Sciences*,20, Glasgow: Nature Publishing Group, (2001).

Whitehead CC, McNab JM, Griffin HD, The effects of low dietary concentrations of saponin on liver lipid accumulation and performance in laying hens. *Br Poult Sci.*, 22 (3):282-288. (1981).

Willcox, J.K., Ash, S.L., Catignani, G.L., “Antioxidants and prevention of chronic disease-Review”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 275-295, (2004).

Winston, G.W., “Oxidant and antioxidants, in aquatic animals”, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 100, 173-176, (1991).

Wong, C.C., Li, H.B., Cheng, K.W., Chen, F., “A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay”, *Food Chemistry*, 97, 705-711, (2006).

Zor, M., “Depolamanın Ayva Reçelinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri İle Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı*, Erzurum, (2007).

6. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : NURAY SARAÇ
Doğum Yeri ve Tarihi : FETHİYE 10.03.1993
Lisans Üniversite : PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
Elektronik posta : nuraysarac@hotmail.com