

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

**TÜRKİYE VE KAZAKİSTAN'DA YAYILIŞ GÖSTEREN *LILIUM*
MARTAGON TÜRÜ EKSTRAKTLARININ BAZI BİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILARAK ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

AKGUL RAKHIMZHANOVA

DENİZLİ, HAZİRAN 2020

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



TÜRKİYE VE KAZAKİSTAN'DA YAYILIŞ GÖSTEREN *LILIUM*
MARTAGON TÜRÜ EKSTRAKTLARININ BAZI BİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILARAK ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

AKGUL RAKHIMZHANOVA

DENİZLİ, HAZİRAN 2020

Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2017FEBE013 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.



AKGUL RAKHIMZHANOVA

ÖZET

TÜRKİYE VE KAZAKİSTAN'DA YAYILIŞ GÖSTEREN *LILIUM MARTAGON* TÜRÜ EKSTRAKTLARININ BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILARAK ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

AKGUL RAKHIMZHANOVA

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. RAMAZAN MAMMADOV)

DENİZLİ, HAZİRAN - 2020

Bu çalışmada Türkiye ve Kazakistan'da yayılış gösteren *Lilium martagon* türünün yer altı ve yer üstü kısımlarının toprak, bitki ilişkileri etanol, metanol, aseton ve distile su ekstraktlarının antioksidan, toksik, antihelminth aktiviteyi ile fenolik bileşen kompozisyonları araştırılmıştır. Ekstraktların antioksidan aktivitesi DPPH, ABTS, metal şelatlama etkisi, fosfomolibdenyum, β -karoten/linoleik asit ve demir indirgeme (FRAP) metotlarıyla belirlenmiştir. Ekstraktlar içerisinde en yüksek toplam antioksidan aktiviteye sahip Türkiye yer altı metanol ekstraktları (%99.28±0.77) olmuştur. Ayrıca toplam fenolik, flavonoid ve tanen madde miktarları da Folin-Ciocalteu, alüminyum klorür ve vanilin reaktifini kullanılarak tespit edilmiştir. Bitkinin fenolik bileşenleri HPLC yöntemi ile tayin edilmiştir. Her iki ülke örneklerinde en yüksek fenolik bileşen kafeik asit olmuştur. Brine shrimp (*Artemia salina* L.) letalite testi ile ekstraktların olası toksik etkisi incelenmiştir. En yüksek sitotoksik etkiyi 64.43 $\mu\text{g/mL}$ LC₅₀ değeri ile Türkiye yeraltı etanol ekstraktı göstermiştir. Antihelminth aktivite testi parazit nematod ile dört farklı dozda yapılmıştır ve ölüm süreleri kaydedilmiştir. En etkili ekstrakt en kısa zamanda (11 dk) ölüm veren Kazakistan yer üstü ekstraktı olmuştur. Bunlara ilaveten distile su ekstraktlarının sıçanların kan örnekleri üzerindeki etkileri de değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre bitki ekstraktı verilen gruplarda ALT ve ALP değerleri artış göstermiştir. Bitki ve toprak örnekleri alınarak, bu örneklerde toprak ve bitki analizi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucu Türkiye topraklarının orta kuvvetli asit, az kireçli, tuzsuz, organik maddece orta seviyede, mineralce zengin; Kazakistan toprakları ise hafif alkali, tuzsuz, az kireçli, organik madde ve mineralce zengin toprakları olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma sonuçlarının gıda, eczacılık, alternatif tıp ve doğal tedavi gibi birçok alanda doğal ürünlerin kullanılmasına yönelik son zamanlarda artan araştırmalara katkı sağlayacağına inanılmaktadır.

ANAHTAR KELİMELER: Antioksidan, toksisite, antihelminth, HPLC

ABSTRACT

DISTRIBUTED IN TURKEY AND KAZAKHSTAN LILIUM MARTAGON TYPE EXTRACTS SOME OF THE BIOLOGICAL FEATURES COMPARATIVE RESEARCH

Ph.D THESIS

AKGUL RAKHIMZHANOVA

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
BIOLOGY

(SUPERVISOR: PROF. RAMAZAN MAMMADOV)

DENİZLİ, JUNE - 2020

In this study, showing the distribution in Turkey and Kazakhstan antioxidant, toxic, antihelminth activities and phenolic component compositions, soil, plant relations ethanol, methanol, acetone and distilled water extracts of underground and above ground parts of *Lilium martagon* species of were investigated. The antioxidant activity of the extract was determined by DPPH, ABTS, metal chelating, phosphomolybdenum, β -carotene/linoleic acid and ferric reducing power (FRAP) assays. The highest total antioxidant activity among extracts were found Turkey underground methanol extract ($99.28 \pm 0.77\%$). Total phenolic, flavonoid and tannins contents of each extract were also investigated by using both Folin-Ciocalteu reagent, aluminium chloride and vanillin reagent. Phenolic compounds compositions of plants were determined by HPLC method. Caffeic acid was the highest phenolic component in both countries examples. The brine shrimp (*Artemia salina* L.) lethality test was used to screen for the possible toxic effect of the extracts. Turkey underground ethanol extract demonstrated highest cytotoxic effect with the $64.43 \mu\text{g/mL}$ LC_{50} . Antihelminthic activity test was performed with parasitic nematodes in four different doses and death times of parasitic nematodes were recorded. The most effective extract was Kazakhstan above ground which gave death the shortest time (11 min). The effects on rat blood tissues of distilled water extracts species were determined. According to the results, plant extract treated group increased ALT and ALP values. Soil and plant analysis were performed in these samples plants and soil samples were taken from where the plants were collected. The analysis result of acid medium of Turkey's soil, less lime, without salt, medium in organic matter, mineral-rich; Kazakhstan's soil is slightly alkaline, without salt, less calcareous, rich in organic matter, mineral rich soils.

It is believed that the results of this study will contribute to recently increasing research on using natural products in many areas such as food, pharmacy, alternative medicine and natural therapy.

KEYWORDS: antioxidant, toxic, antihelminthic, HPLC

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
SEMBOL LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR	ix
ÖNSÖZ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Türkiye ve Kazakistan Toprak Yapısı.....	3
1.2 Türkiye ve Kazakistan İklimi	4
1.2.1 Sıcaklık.....	6
1.2.2 Yağış.....	6
1.2.3 Rüzgar	7
1.3 Liliacea Familyası ve <i>Lilium</i> L. Cinsi	7
1.3.1 <i>Lilium martagon</i> L.	8
1.4 Bitkisel Sekonder Metabolitler	10
1.5 Serbest Radikaller	13
1.5.1 Serbest Radikal Kaynakları	14
1.6 Antioksidanlar.....	16
1.6.1 Antioksidanların Sınıflandırılması.....	16
1.6.2 Fenolik Bileşikler.....	18
1.6.2.1 Fenolik Asitler.....	19
1.6.2.2 Flavonoidler.....	20
1.7 Antioksidan Aktivite ve Miktar Tayin Yöntemleri.....	21
1.7.1 β -Karoten/Linoleik Asit Renk Açılım Yöntemi	22
1.7.2 Fosfomolibden Antioksidan Aktivite Yöntemi	23
1.7.3 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi	23
1.7.4 ABTS Yöntemi (Katyon Radikali Giderim Aktivitesi)	24
1.7.5 Metal Şelatlama Aktivitesi	24
1.7.6 FRAP: Demir (III) İndirgeyici Antioksidan Aktivitesi	25
1.8 Sekonder Metabolit Miktar Tayini.....	26
1.8.1 Folin-Ciocalteu Ayırıcı (FCR) ile Toplam Fenolik Yöntemi.....	27
1.8.2 Toplam Flavonoid Madde Tayini Yöntemi.....	27
1.8.3 Toplam Tanen Madde Tayini Yöntemi	28
1.9 Toprak ve Bitki İlişkisi.....	28
1.10 Kan ile İlgili Biyokimyasal Çalışmalar	29
1.10.1 Serumda Bulunan Enzimler.....	29
1.10.2 ALT (Alanin aminotransferaz) ve ALP (Alkalin fosfataz) Enzimleri.....	29
1.10.3 Kreatinin.....	32
1.11 Tuzlu su Karidesi (<i>Brine-Shrimp Artemia salina</i> L.) Toksikite Testi	33
1.12 Antihelmint Aktivite.....	34
1.13 Çalışmanın Amacı ve Önemi.....	35
2. MATERYAL VE YÖNTEM	37
2.1 Materyal.....	37

2.1.1 Çalışmada Kullanılan <i>Lilium martagon</i> L. ve Toprak Materyalleri	37
2.1.2 Bitkilerin Kurutulması.....	37
2.1.3 Kullanılan Kimyasallar.....	38
2.2 Yöntemler	39
2.2.1 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması.....	39
2.2.2 Antioksidan Aktivite Analiz Yöntemleri	39
2.2.2.1 β -Karoten/Linoleik Asit Yöntemi.....	39
2.2.2.2 Fosfomolibden Yöntemi Kullanılarak Toplam Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi.....	40
2.2.2.3 DPPH Serbest Radikal Giderim Kapasitesinin Belirlenmesi	41
2.2.2.4 ABTS Katyon Radikali Giderme Aktivitesi.....	42
2.2.2.5 Metal Şelatlama Kapasitesinin Belirlenmesi.....	42
2.2.2.6 Demir (III) İndirgeme /Antioksidan Kuvvet (FRAP) Kapasitesi	43
2.2.3 Sekonder Metabolit Miktar Tayini.....	43
2.2.3.1 Folin-Ciocalteu Ayırıcı (FCR) ile Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	43
2.2.3.2 Toplam Flavonoid Madde Miktarı.....	44
2.2.3.3 Toplam Tanen Miktarı	45
2.2.4 Bitki Ekstraktlarındaki Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Analizi	46
2.2.5 Toprak ve Bitki Örneklerinin Analizi	47
2.2.6 Tuzlu Su Karidesi (<i>Brine shrimp-Artemia Salina</i>) Yöntemi ile Toksosite Belirlenmesi	47
2.2.7 Sıçan (<i>Rattus norvegicus</i>) Kullanılarak Elde Edilen Biyokimyasal Parametreler	48
2.2.8 Antihelmint Aktivitesinin Belirlenmesi	50
2.2.9 İstatistik Hesaplamalar	51
3. BULGULAR.....	52
3.1 Antioksidan Aktivite Tayini Bulguları.....	52
3.1.1 Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	52
3.1.2 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi	53
3.1.3 ABTS Radikal Katyonu (ABTS•+) Giderme Aktivitesi	58
3.1.4 Metal Şelatlama Kapasitesi	62
3.1.5 Demir İyonu İndirgeme Gücü Kapasitesi.....	65
3.1.6 Fosfomolibden Metodu ile Toplam Antioksidan Aktivite Tayini	67
3.2 Sekonder Metabolit Miktar Tayini Sonuçları	70
3.2.1 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi	71
3.2.2 Toplam Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi	72
3.2.3 Toplam Tanen Miktarının Belirlenmesi	73
3.3 HPLC ile Fenolik Bileşiklerin Analiz Sonuçları	74
3.4 Bitki ve Toprak Analizi	76
3.4.1 Toprak Analizi Sonuçları	76
3.4.2 Bitki Örneklerinde İçerik Analiz Sonuçları.....	80
3.5 Tuzlu su Karidesi (<i>Brine-Shrimp Artemia salina</i> L.) Toksikite Testi Bulguları.....	85
3.6 Biyokimyasal Parametre Çalışma Sonuçları	87
3.7 Antihelmint Aktivite Sonuçları.....	89
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	90
5. KAYNAKLAR	102
6. ÖZGEÇMİŞ	102

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: <i>Lilium martagon</i> türü ve sistematigi.....	9
Şekil 1.2: Fenolik asitlerin kimyasal yapısı (Jackson 2000).....	20
Şekil 1.3: Flavonoidlerin sınıflandırılması (Çıkrıkçı 2005).....	21
Şekil 1.4: DPPH radikalinin kimyasal yapısı.....	23
Şekil 1.5: DPPH molekülünün antioksidan madde ile reaksiyonu (Blois 1958)	23
DPPH + Antioksidan-H → DPPH-H + A.....	23
Şekil 1.6: ABTS' nin kimyasal reaksiyonu (Pannala ve diğ. 2001)	24
Şekil 1.7: Fe (III)- TPTZ + indirgen antioksidan → Fe (II) – TPTZ (595 nm de şiddetli mavi renk).....	26
Şekil 1.8: Eriositrin yapısı	26
Şekil 1.9: Kreatinin molekülün metabolik yolağı (Tietz 1987).	33
Şekil 1.10: <i>Artemia salina</i> ve larva sayımı	34
Şekil 2.1: Bitki materyali <i>Lilium martagon</i> L.....	38
Şekil 2.2: A. Çözücü ile ekstrakte B. Rotary evaporatörde çözücü uçurma C. Liyofilizatörde dondurularak su çekme	39
Şekil 2.3: Antioksidan deneylerin yapılması	41
Şekil 2.4: Troloks kalibrasyon grafiğı	43
Şekil 2.5: Gallik asit kalibrasyon grafiğı	44
Şekil 2.6: Quercetin kalibrasyon grafiğı	45
Şekil 2.7: Kateşin kalibrasyon grafiğı	46
Şekil 2.8: A. Deney hayvanları B. Hayvandan kan alma işlemi	50
Şekil 2.9: Helmint örneklerinin gruplandırılması	51
Şekil 3.1: <i>L.martagon</i> ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri (%).....	53
Şekil 3.2: Metanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)	54
Şekil 3.3: Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)	55
Şekil 3.4: Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)	56
Şekil 3.5: Distile Su ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)....	57
Şekil 3.6: Metanol ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%).....	58
Şekil 3.8: Aseton ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%).....	60
Şekil 3.9: Distile Su ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%) ..	61
Şekil 3.11: Etanol ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri	64
Şekil 3.12: Aseton ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri	65
Şekil 3.13: Distile Su ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri	65
Şekil 3.14: Ekstraktların FRAP yöntemiyle indirgeme gücü kapasiteleri (mg TE _s /mL özüt)	67
Şekil 3.15: Metanol ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri	68
Şekil 3.16: Etanol ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri	69
Şekil 3.17: Aseton ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri	69
Şekil 3.18: Distile Su ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri	70
Şekil 3.19: Ekstraktların toplam fenolik madde miktarları (mg/mL GAE).....	71
Şekil 3.20: Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları (mgQE/g)	72

Şekil 3.21: Ekstraktların toplam tanen madde miktarları (mgCE/g).....	73
Şekil 3.22: Fenolik Standartların HPLC kromatogramı: 1.gallik asit, 2.3,4-dihidroksi benzoik asit, 3. 4-hidroksi benzoik asit, 4. 2,5-dihidroksi benzoik asit, 5. klorojenik Asit 6. Vanilik asit, Kafeik asit, 7. Epikateşin, 8. Kafeik asit, 9. p-Kumarik asit, 10. Ferulik asit,11. Rutin, 12. Ellajik, 13. Narinjin, 14. Sinamik asit, 15. Kuersetin	74
Şekil 3.23: Ekstraktların Brine Shrimp Toksikite Testi sonuçları.....	87

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Sekonder metabolitlerin sınıflandırılması	11
Tablo 1.2: Reaktif oksijen türleri (ROS).....	14
Tablo 1.3: Reaktif nitrojen türleri (RNS)	14
Tablo 1.4: Antioksidanların sınıflandırılması.....	16
Tablo 1.5: α -Lipoik asit ve Dihidrolipoik asitin reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri üzerindeki süpürücü etkileri (Packer ve diğ. 2001).....	18
Tablo 1.6: In vitro koşullarda uygulanan antioksidan aktivite tayin metodları.....	22
Tablo 2.1: Bitki materyalinin toplanma lokaliteleri.....	37
Tablo 3.1: Ekstraktların β -karoten/Linoleik asit testinde antioksidan aktiviteleri (%)	52
Tablo 3.2: Metanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%).....	54
Tablo 3.3: Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%).....	55
Tablo 3.4: Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%).....	56
Tablo 3.5: Distile Su ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%) ..	56
Tablo 3.6: Ekstraktlara ait IC ₅₀ değerleri (mg/mL)	57
Tablo 3.7: Metanol ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%) ...	58
Tablo 3.8: Etanol ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%).....	59
Tablo 3.9: Aseton ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%).....	59
Tablo 3.10: Distile Su ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%)	60
Tablo 3.11: Ekstraktlara ait IC ₅₀ değerleri (mg/mL).....	61
Tablo 3.12: Metanol ekstraktlarının % metal şelatlama kapasiteleri.....	62
Tablo 3.13: Etanol ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri.....	63
Tablo 3.14: Aseton ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri.....	64
Tablo 3.15: Distile Su ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri	65
Tablo 3.16: Ekstraktların FRAP yöntemiyle indirgeme gücü kapasiteleri (mg TEs/mL özüt).....	66
Tablo 3.17: Metanol ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri	68
Tablo 3.18: Etanol ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri	68
Tablo 3.19: Aseton ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri	69
Tablo 3.20: Distile Su ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri	70
Tablo 3.21: Ekstraktların toplam fenolik madde miktarları (mg/mL GAE)	71
Tablo 3.22: Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları (mgQE/g).....	72
Tablo 3.23: Ekstraktların toplam tanen madde miktarları (mgCE/g)	73
Tablo 3.24: Türkiye’den toplanan bitki ekstraktlarındaki fenolik bileşen madde miktarları (μ g/g)	74
Tablo 3.25: Kazakistan’dan toplanan bitki ekstraktlarındaki fenolik bileşen madde miktarları (μ g/g)	75
Tablo 3.26: Türkiye toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	76
Tablo 3.27: Kazakistan toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	78

Tablo 3.28: Türkiye ve Kazakistan toprak örneklerinin özelliklerinin karşılaştırılması.....	79
Tablo 3.29: Türkiye'den toplanmış bitki örneklerinin yeraltı kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması.....	80
Tablo 3.30: Türkiye'den toplanmış bitki örneklerinin yerüstü kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması.....	81
Tablo 3.31: Kazakistan'dan toplanmış bitki örneklerinin yeraltı kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması.....	82
Tablo 3.32: Kazakistan'dan toplanmış bitki örneklerinin yerüstü kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması	83
Tablo 3.33: Kazakistan ve Türkiye'den toplanmış bitki örneklerinin yeraltı kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması.....	84
Tablo 3.34: Kazakistan ve Türkiye'den toplanmış bitki örneklerinin yerüstü kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması.....	84
Tablo 3.35: <i>L.martagon</i> türünün <i>Artemia salina</i> 'ya karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) ve istatistik değerleri.....	85
Tablo 3.36: <i>L.martagon</i> türünün <i>Artemia salina</i> 'ya karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) ve istatistik değerleri.....	86
Tablo 3.37: <i>L.martagon</i> distile su ekstraktı uygulanan sıçanların serum enzim düzeyleri.....	87
Tablo 3.38: Metanol yerüstü ekstraktına ait antihelmint aktivite testi sonuçları.....	89

SEMBOL LİSTESİ

LC₅₀	Letal Konsantrasyon
IC₅₀	%50 İnhibisyon Konsantrasyonu
mL	Mililitre
mg	Miligram
nm	Nanometre
β	Beta
%	Yüzde
ppm	Milyonda bir (mikro)
μl	Mikrolitre

KISALTMALAR

KZ	Kazakistan
TR	Türkiye
YA	Yeraltı
YÜ	Yerüstü
ET	Tek elektron transferi
FCR	Folin-Ciocalteu reaktifi
ALT	Alanin aminotransferaz
ALP	Alkalin fosfataz
HAT	Hidrojen atomu transferi
EDTA	Etilen diamin tetraasetikasit
ABTS	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
CUPRAC	Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite
FRAP	Demir İyonu İndirgeme Antioksidan Gücü
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Toluen

HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
BSLT	Brine Shrimp Letalite Testi
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
QE	Kuersetin Eşdeğeri
DPPH	1,1-difenil-2-pikril hidrazil
dH₂O	Distile Su

ÖNSÖZ

“Türkiye ve Kazakistan’da Yayılış Gösteren *Lilium martagon* Türü Ekstraktlarının Bazı Biyolojik Özelliklerinin Karşılaştırılarak Araştırılması” adlı doktora tez çalışmamda hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen danışmanım, her zaman bilgisini ve desteğini aldığım sayın danışman hocam Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV’a;

Çalışmalarım süresince beni yönlendiren ve tecrübeleriyle ufkumu genişleten sevgili hocam Doç. Dr. Arzu KASKA ve PhD. Çiğdem AYDIN’a;

Arazi ve laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımları ile hep yanımda olan arkadaşlarım Murat TURAN, Nahide DENİZ ve Özge KILINÇARSLAN’a;

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde, projenin maddi desteğini sağlayan Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne;

Bana bu güzel dünya’yı sunan, tüm hayatım boyunca bana olan inançlarını asla kaybetmeyip maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen, beni bu günlere getiren aileme; sevgili babam Mahmethan RAKHIMZHANOV ve annem Sandugash KYNAUBAEVA’ya sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Son olarak, Türkiyedeki hayatım boyunca beni sonsuza kadar hep destekleyen, her anımda yanımda olan ve böylece başarılı bir sona gelmeme büyük katkı sağlayan “İkinci Ailem” olan; sevgili manevi babam Hasan BAYSAL, manevi annem Şefika BAYSAL sevgili Mustafa BAYSAL, Ayşe BAYSAL, Kamil BAYSAL ve Sefa BAYSAL’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Dünya, oluşumundan günümüze kadar sürekli bir değişim içerisinde. Kıtaların kayması, karaların dağılışı, durumu ve iklim değişmelerine bağlı olarak bitki örtüsünün morfolojik ve fizyolojik yapısında da değişimler olmuştur. Türkiye jeomorfolojik görünüm ve barındırdığı zengin bitki örtüsü, çeşitliliğiyle çevresinde bulunan birçok ülkeden farklı özellikler taşımaktadır. Öyle ki, Türkiye’de toplam bitki türlerinin sayısı tüm Avrupa kıtasında bulunan bitki türlerinin sayısı kadardır. Jeomorfolojik yapıların farklılık göstermesi, kısa mesafelerde bile iklim tipleri, toprak türleri ve bitki örtüsü türlerinin çeşitlilik göstermesini sağlamıştır (Avcı 2005, Atalay 2008). Türkiye orta enlemlerde yer alan bir ülkedir. Bulunduğu konum itibariyle fiziki özellikler bakımından çok renkli bir ülkedir. Farklı hava kütlelerinin çarpıştığı bir konumda olması, üç tarafının denizlerle çevrili olması, topoğrafik açıdan engebeli ve yüksek dağ silselerini barındıran bir ülke olması, onu birbirinden farklı iklim tiplerinin ve zengin bir bitki örtüsünün oluşumunu sağlamıştır. İklim farklılıkları, coğrafik özellikleri, jeolojik geçmişi, deniz, göl, akarsu gibi çeşitli ortamların varlığı ve yükselti farklılıkları Türkiye’deki biyolojik zenginliğin nedenlerindedir. Ülkede, buzul ve buzullar arası dönemlerde bitki göçleri meydana gelmişti. Bu da ülkenin bazı bölümlerinde birbirinden çok farklı özellikler gösteren bitkilerin bir arada bulunmasını sağlamıştır. Bu etkenlerin hepsi de ülke bitki örtüsü üzerinde çok önemli rol oynayarak çok çeşitli ve zengin bir bitki örtüsünün oluşmasını sağlamıştır. Türkiye bitki örtüsü açısından ekvatorial bölgeden sonra dünyanın en zengin bölgelerinden bir tanesidir. Yaklaşık olarak 12.000 bitki taksonuna ev sahipliğini yaparak tüm Avrupa kıtasında bulunan bitkilerin %75’ sine yakınına barındırır. Bunun 1/3’ ni, endemik ve relik bitkiler oluşturur (Avcı 2005, Türkeş 2004). Avrupa kıtasında 11557 bitki türü, Britanya Adaları’nda 2000 bitki türü mevcutken (Heywood ve Tutin 1981) Türkiye’nin yaklaşık 12.000 adet taksona (tür, alttür ve varyete düzeyinde) sahip olduğu bilinmektedir (Erik ve Tarikahya 2004). Ülkede, dört mevsimin belirgin bir şekilde görüldüğü, orta enlemlerde yer alır. Bu nedenle yıl boyunca farklı hava kütleleri buralarda karşılaşır ve iklimin çeşitlilik göstermesini sağlar. İklim etmeninin yanında topoğrafik yapıyı ve toprak çeşitliliğini de düşündüğümüzde ülkenin bu kadar zengin bir bitki örtüsüne neden

sahip olduğu daha kolay bir şekilde anlaşılır. Özellikle de yükseltinin fazla olduğu doğu ve batı bölümleri bol yağış almaktadır. Dağların uzanış şekli ve bitki gelişimi için uygun sıcaklık koşullarının görülmesi gür orman topluluklarının gelişmesini sağlamıştır. Türkiye Holarktık flora alemi içinde olup bu alemin alt bölümleri olan Avrupa Sibiryası, Akdeniz ve İran-Turan bölümlerinin kesiştiği bir yerdedir. Dolayısıyla bu alt bölüme ait bitki örtüsüyle kaplanmıştır. Bu durum ülkenin endemizm açısından zengin bir bitki örtüsüne sahip olmasını sağlamıştır (Avcı 2005).

Kazakistan jeomorfolojik açıdan, genelde sade bir görünüme sahiptir ve ülke toprakları, batıdan doğuya doğru gidildikçe yükselir. Ancak toprakların büyük bir kısmı, kimi zaman hafif engebelerin bulunduğu düzlüklerle kaplıdır ve bu topraklar, 'Kazak Bozkın' adını alır. En alçak noktası Vpadina Kaundy' de, deniz seviyesinin 132'in altında iken, en yüksek yeri Han Tengri Zirvesi'nde 6.995 metreye ulaşır. Kazakistan topraklarının %40'ı çöl, %23'ü yarı çöl, %20'si bozkır, %7'si orman-bozkır ve %10'u dağlardan oluşmaktadır (Altay, Tarbagatay, Cungar dağları). Kazakistan arazisi yeknesak değildir. Ülke topraklarının ancak üçte birinden biraz fazlası ovalardan oluşur. Arazinin hemen yarısına yakını tepelik düzlükler ile platolardan meydana gelmiştir. Kazakistan topraklarının kalan %20'lik bölümünü dağlık bölgeler teşkil eder. Ülkedeki en alçak bölge Hazar Denizi sahillerindeki topraklar olup, Hazar'ın güneybatısında Aral ve Hazar arasındaki bölgede, yüksek Üst-Yurt ve Mangışlak ovaları vardır. Mangışlak'ın kuzeyinde ise yaklaşık 56 m yüksekliğe sahip olan Karatav (Karadağ) ve Aktav (Akdağ) yer almaktadır. Turan ovasının da bir kısmını teşkil eden Kazakistan ovasının orta bölümü kumluk bir sahadır. Doğu Kazakistan ovası ise Balkaş'a doğru alçalır ve güneydoğuda Tanrı dağlarına dek uzanır. Kazakistan'ın doğusunu Sibiryası ovasından ayıran dağlar bulunmaktadır ve bunlar 1.470 m yükseklikteki Kızıl Ray, 1.340 m yüksekliğe sahip Karkaralı dağları ile Bayan Aul, Gökçetav (Gökçedağ), Ulutav (Uludağ) dağlarıdır. Kazakistan'ın coğrafik konumunu göz önüne getirildiğinde arazi büyük olmasına rağmen takson sayısının (tür, alttür ve varyete düzeyinde) yaklaşık 6.000 adet olduğu bilinmektedir. Kazakistan ve Türkiye'nin zengin bitki çeşitliliğini tanımlamak için yapılan ilk ciddi ve kapsamlı çalışmalar E.Boissier'in *Flora Orientalis* (Boissier 1867-1888) ve Davis'in, *Flora of Turkey and East Aegean Islands* (Davis 1965) adlı eserlerinde görülmektedir. 1965 yılından günümüze kadar geçen süreçte yapılan çalışmalarla pek çok yeni tür tanımlanırken, mevcut türlerin yeni yayılış alanları

tespit edilmiş, bazı cinslerin yeteri kadar örneğe dayandırılmadan floraya işlendiği ortaya çıkmıştır (Işıksal 2013).

Bitkiler, insan yaşamının sürdürebilmesi için gerekli olan oksijeni sağlar ayrıca besin olarak alınarak sağlığı korurlar. Bitkilerin tedavide kullanımları insanlık tarihiyle birlikte başlamıştır. Binlerce yıl önce insan, bitkilerin tedavi edici gücünü tanımış ve sağlıklı yaşayabilmek için bitkilerden yararlanmıştır. Halk hekimliği uygulamalarında yaygın olarak rastlanan Anadolu'da halk ilaçları, uzun tecrübeler sonunda günümüze kadar gelmiş uygulamalardır. Modern tıpta kullanılan pek çok ilaç da bitkilerden elde edilmektedir. Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır. Bundan ancak 500 kadarının tarımsal üretiminin yapıldığı kaydedilmektedir. Ayrıca değişik amaçla kullanılan bitkilerin çok azı farmokopelerde kayıtlıdır. Örneğin Türk kodeksinde kayıtlı bitki sayısı 140 civarındadır. Halbuki Türkiye' de tıbbi amaçla tüketilen bitki sayısı çok fazladır, hatta bazı yayınlarda bunun en az 500 civarında olduğu kaydedilmektedir (Baytop 1984). Kazakistanda ise yaklaşık 250 tür bitki tıbbi amaçla kullanılmaktadır.

1.1 Türkiye ve Kazakistan Toprak Yapısı

Türkiye toprak çeşitliliği açısından çok zengin bir ülkedir. Atalay'a (2011) göre, Türkiye'de laterit, çöl ve tundra toprakları dışındaki toprakların tümü vardır. Toprak çeşitliliğinin bu kadar fazla olmasının nedeni, ülkenin zengin bir doğal ortama sahip olmasıdır. Ülke, morfolojik açıdan engebeli ve yüksek bir yapıya sahip olup, farklı özellikteki iklimlerin görüldüğü bir yerdedir. Buna zengin bitki örtüsünün varlığı ve farklı jeolojik olayların eseri olan ana materyallerini de eklediğimizde toprak çeşitliliğinin bu kadar zengin olmasının nedeni daha kolay anlaşılacaktır. İklimin temel rol oynadığı Zonal, taşınmaya bağlı oluşan introzonal ve anakayanın etkisinde oluşan Azonal toprakların tamamına yakını ülkede görülmektedir. Bu toprakların dağılımlarına baktığımızda Karadeniz bölgesinde yağışın fazla olmasından dolayı topraktaki asit oranı fazladır. Daha çok Kahverengi orman toprakları, özellikle Batı Karadeniz taraflarında Podzol topraklar yaygındır. Akdeniz ve Ege bölgelerinin bazı bölümleri ile Marmara bölgesinin güneyinde

Terra-Rossa dediğimiz kırmızı topraklar yaygındır. Bu topraklar kireç taşı, jips, marn, kil ve gnayslar üzerinde gelişmektedir. Güneydoğu'da Kırmızımsı Kahverengi topraklar, İç Anadolu'da Kireçsiz Kahverengi topraklar, Kahverengi bozkır topraklar, Doğu Anadolu bölgesinin Kars-Ardahan bölümünde çernezyom (kara topraklar) türü topraklar yaygın bir şekilde görülmektedir. Yıllık yağış miktarının 400-600 mm arasında değiştiği yerlerde Kestane renkli topraklar İç Anadolu bölgemizde görülmektedir. Bunun yanında Azonal ve introzonal toprakların örneklerini tüm bölgelerinde görmek mümkündür (Şahin ve diğ. 2005, Atalay 2011).

Yüzölçümü 2.724.900 km² olan Kazakistan, dünyada kapladığı alan bakımından 9. sırada yer almaktadır.

Alçak Sarıarka Dağları Orta Kazakistan'da yükselir. Altay, Tarbagatay ve Cungar dağ sıraları, Tien Şan dağ sıralarının batı kolları da ülkenin doğusunda ve güneydoğusunda yer almaktadır.

Kazakistan'ın toprak türleri oldukça çeşitlidir. İklimin çeşitliliği ve yükseltiye bağlı olarak, toprak tipleri de değişmektedir. Kuzeydeki bölgelerde çernozyom topraklar (%7), güneyde kestane rengi topraklar (%26) ve alkali topraklar (%35), kuzeydoğudaki steplerde ise kestane renkli topraklar bulunmaktadır. Humus miktarının %6 ile %8 arasında değiştiği çernozyom toprakları daha verimlidir. Kestane renkli topraklarda ise humus miktarı %3.5-%4.5 oranında değişmektedir (İsakov ve Medeu 2007). Kazakistan'ın toprakları yaklaşık % 60 oranında erozyona uğramıştır. Petrol faaliyetleri, nükleer denemeler ve aşırı gübre kullanımı toprak kirliliğine neden olmuştur. Bazı bölgelerde tuzlanma ve çoraklaşma gibi sorunlar ciddi boyutlara ulaşmıştır (Akkoskarov 1997).

1.2 Türkiye ve Kazakistan İklimi

Orta enlemlerde yer alan Türkiye dört mevsim belirgin bir şekilde kendini göstermektedir. Yaz kış farklı karakterdeki hava kütleleri ülkede etkili olmaktadır. Kışın kuzey ve kuzeybatı tarafından gelen maritim polar ile güneyden ülkemize sokulan tropikal hava kütlelerin buralarda karşılaşması sonucu cephe yağışları meydana gelir. Yazın ise polar hava kütlesi daha kuzeye çekilir ve Türkiye kıtasal tropikal hava kütesinin etkisi altına girer. Bunların yanında ülkenin engebeli, yüksek bir yapıya sahip olması ve etrafının denizlerle çevrili olması iklim çeşitliliğini

arttırmıştır. Bulutluluk, güneşlenme süresi, sıcaklık, yağış ve enlem gibi diğer iklim elemanları da ülkenin ikliminin belirlenmesinde çok önemli parametrelerdir. Belli bir yükseltiden sonra bu nemli hava kütlesi yoğunlaşarak buralara bol yağış bırakır.

Yıl içinde ortalama en yüksek sıcaklıklar İç Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde görülmektedir. Kars-Ardahan bölümü, Doğu Karadenizin yüksek bölümleri ortalama düşük sıcaklıkların görüldüğü alanlardır. Özetle, Türkiye subtropikal kuşakta olup, tipik Akdeniz iklim özelliklerinin egemen olduğu bir ülke olmakla beraber, morfolojik ve sahip olduğu özel konumdan dolayı Karasal iklim ve Karadeniz iklim özelliklerini de taşımaktadır (Türkeş 2012, Atalay 2011, Bahadır ve Yakar 2013).

Denizlerden çok uzaklarda bulunan Kazakistan' da kara iklimi belirgin bir şekilde hissedilir. Ülkenin kuzeyinde kış hem soğuk, hem de uzun geçer. Orta bölgelerde soğuklar azalır. Güneye inildikçe, kışın kısaldığı ve ısının yükseldiği görülür. Kazakistan'ın güney sınır bölgelerinde kış yumuşak geçer. Dağlarda yaz kısa ve serin, kış ise sert olur. Kazakistan'ın okyanuslardan uzak olması ve deniz tesirinin iç kısımlara girmesini engelleyen büyük dağların bulunması, Kazakistan iklimini sert kıtasal kara iklimi yapmaktadır. Ülke genelinde yaz ve kış ayları arasında ısı farkı çok büyüktür. Sıcaklık, ocak ayında ortalama -35° dereceden -4° dereceye kadar; temmuz ayında ise, $+19$ dereceden $+35$ dereceye kadar farklılık göstermektedir. Yıllık yağış ortalaması ormanlarda 300-400 mm, bozkırlarda 250 mm ve dağlarda 400 mm ile 1600 mm arasında değişmektedir. Sıcaklıklar, ilkbahar ve sonbaharda ılımandır ve sıcaklığın en yüksek olduğu ay temmuzdur. Kar yağışı kasım ayında gözlemlenir, dağlık bölgelerde ise nisana dek sürer. Çeşitli oranlarda birbirleriyle ilişkili olarak, bir yerin iklimini oluşturan iklim elemanları (iklim değişkenleri) sıcaklık, basınç, rüzgar, nem ve yağıştır (Şahin ve diğ. 2005).

Bununla birlikte, ülkenin sınırları içinde dağ tundra ikliminden kuru subtropiklere kadar çeşitli iklim tiplerine rastlamak mümkündür.

Anakaranın ortasında yer alması ülke ikliminin karasal ve kuru olmasına neden olmuştur. Rusya'nın aynı enlemde yer alan bölgelerine göre burada kışlar sert, yazlar ise daha sıcaktır. Ülkenin en sıcak noktası Güney Kazakistan vilayetinde yer alan Tasty kasabasıdır ($\pm 50^{\circ}\text{C}$). En düşük sıcaklık 1969 yılında ülkenin doğusunda (Orlov kasabasında) kaydedilmiştir (-62°C). En düşük yıllık ortalama sıcaklık (0°C) Kazakistan'ın düzlük arazilerinde (Astana'nın doğusunda) görülmektedir. En yüksek

ortalama sıcaklık ise ülkenin en güneyinde bulunan Kızılkum istasyonunda (13,7°C) kaydedilmiştir (Vilesov 2009).

1.2.1 Sıcaklık

Sıcaklık, bir maddenin ısı veya moleküler hareketinin derecesinin ölçüsü olarak tanımlanabilir. Güneşten alınan ısı enerjisinin insana ve çevreye etki biçiminde olan sıcaklık, insanı ve çevreyi en fazla etkileyen ısı elemanıdır. Sıcaklık aynı zamanda sıcaklığın veya soğukluğun bir derecesi olarak da değerlendirilebilir. Yer gözlemlerinde sıcaklık değeri serbest hava içerisinde, gölgede ve yere yakın bir çevrede ölçülmektedir (Şahin ve diğ. 2005).

1.2.2 Yağış

İklim açısından, önemli göstergelerden birisi de yıllık yağış miktarıdır. Geniş alana sahip Kazakistan'da bu gösterge bölgeler arasında önemli farklılıklar göstermektedir. Ülkenin tüm bölgelerinde, özellikle güneyde nem miktarı yetersizdir. Düzlük arazilerde yıllık ortalama yağış 370 mm'nin altındadır; çöllerde ise 100-150 mm'dir. Dağlık alanlarda yağış miktarının daha fazla olduğu görülür. Örneğin, Tyan-Şen'de 1.000 mm'ye, Altay Dağları'nda 1.500-2.000 mm'ye ulaşmaktadır (Vilesov 2009).

Yağmur, kar, çisenti, dolu, buz parçacıkları ile bunların değişik şekillerini de içeren ve nemin yere doğru düşen tüm şekli için kullanılan genel bir terim olarak adlandırılır. Suyun gaz hali olan ve hava nemi olarak ifade edilen su buharının yoğunlaşarak yeryüzüne düşmesi olayı olan yağışta iklimin çok önemli bir elemanıdır. Diğer bir deyişle; bulutlardan düşen, yere kadar ulaşan suyun sıvı veya katı haldeki her türlü şekli için kullanılan terimdir. Birçok ülkede belirli bir periyot için ölçülen yağış miktarı inç olarak verilirken, ülkemiz meteorolojisinde santimetre olarak ölçülür ve metrekarede kilogram olarak ifade edilir. Yağış esnasında eğer hava sıcaklığı 0 °C'nin üstünde ise yağış genellikle sıvı halde meydana gelir ve bu yağış çeşidine yağmur denir. Yurdumuzda görülen yağışların çoğu, yağmur şeklindedir. Bu kapsamda Aylık Toplam Yağış, Devlet Meteoroloji İşleri (DMİ)

tarafından bir ay boyunca ölçümleri yapılan yağış (kar, dolu, yağmur) değerlerinin o ay içerisinde toplam cinsinden çıkan değeri, maksimum yağışta ay içerisinde yeryüzüne düşen yağışın en fazla olduğu değeri ifade etmektedir.

1.2.3 Rüzgar

Dünyanın kendi etrafında dönmesi ile güneş atmosferin farklı bölümlerini farklı sıcaklıklarda ısıtır. Atmosferin bir kısmı güneşin etkisiyle ısınırken diğer kısmı soğumaya başlamaktadır. Bu olay atmosferde ısı potansiyeli farklı hava kütleleri meydana getirmektedir. Yüksek basınç (antisiklon) alanlarından alçak basınç (siklon) alanlarına doğru olan yatay yönlü hava akımlarına rüzgâr denir. Rüzgâr basınç farkından doğar, basınç farkı bitene kadar devam eder. Hava hareketinin yönü daima yüksek basınçtan alçak basınca doğrudur. Rüzgarlar havanın yoğunluğunu ve sıcaklığını etkileyerek atmosfer basıncını değiştirir. Enlem-sıcaklık ilişkisine bağlı olarak yüksek enlemlerden alçak enlemlere doğru esen rüzgarlar, sıcaklık değerlerini düşürürken alçak enlemlerden yüksek enlemlere doğru esen rüzgarlar sıcaklığı arttırıcı etki yaparlar. Fön karakteri kazanmış rüzgarlar da en son ulaştıkları alanlarda sıcaklığı arttırırlar.

1.3 Liliacea Familyası ve *Lilium L.* Cinsi

Dünyada Liliacea familyası 250 cins ve 3500 tür içermektedir ve bu türlerin yaklaşık %12.8'i Türkiye'de bulunmaktadır. Liliaceae (Zambakgiller) familyasından olan *Lilium sp.* insanların tanıdığı en eski bitkilerdendir. Türkiye'de *Lilium sp.* Zambak, Beyaz Zambak, Ak Zambak, Kokulu Zambak, Misk Zambağı, Orak Zambağı ve Türk zambağı olarak isimlendirilir. Dünya üzerinde başlıca 10-60° kuzey enlemleri arasında olmak üzere Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'da, Türkiye'de ise Doğu ve Batı Anadolu'da doğal olarak yayılış gösterir. Liliaceae familyasına üye olan *Lilium* cinsi, ağırlıklı olarak kuzey yarım kürenin ılıman bölgelerinde yayılış gösteren yaklaşık 100 tür içermektedir (Dhyani ve diğ, 2009). *Lilium L.* Cinsi, farklı yazarlar tarafından 5 ile 10 arasında bölüme ya da altcinsine ayrılmıştır. Bu cinsin, biri endemik, 6 türü doğal olarak yetişir. Bu türlerden sarı veya pembe çiçekli olup

Kuzeydoğu Anadolu'da yetişen *L. martagon* L. (Türk Zambağı) ve Güneybatı Anadolu'da *L. candidum* L. (Ak Zambak) bulunur (Mammadov ve diğ. 2017). *Lilium* cinsinin Avrupa florasında 10 türü tanımlanmıştır (Tutin ve diğ. 1980). *L. candidum* ve *L. martagon* türleri hem Türkiye'de hem de Avrupa'da yayılış göstermektedir (Davis 1984, Tutin ve diğ. 1980).

Zambaklarla ilgili tarihsel kayıtlar, *Lilium* yetiştirilmesinin antik Girit uygarlığında M.Ö. binlerce yıl önceye dayandığını, Mısırlıların cenazelerde çelenk yapımında *Lilium* kullandıklarını ve Romalıların saray bahçelerinin yapımında nergis ve sümbüllerle beraber zambakları ekdiklerini göstermektedir. 5000 yıl öncesine dayanan Sümer tabletlerinden İran'daki Susa şehrinin zambak bahçeleri ile çevrili olduğu ve şehrin bu bitkiden sonra isimlendirildiği tespit edilmiştir. Son yıllarda *Lilium*'un gerek kesme çiçek, gerekse saksılı çiçek olarak yetiştiriciliğinde; birim alandan oldukça yüksek kar getirmesi, yıl boyu yetiştirilebilmesi, yeni çeşitlerin bulunması, çiçeğe talebin artması gibi nedenlerle önemli bir artış dikkati çekmektedir (Mammadov ve diğ. 2017).

Lilium cinsi hem bahçe bitkileri hem de kültüre alınan çiçekleriyle en önemli süs bitkileri grubu olarak konumlarını korumaktadırlar. *Lilium* türleri soğanlı ve çok yıllıktır. Gösterişli çiçeklerinden dolayı park ve bahçelerde süs bitkisi olarak yetiştirilen *Lilium* türleri ayrıca birçok alanda kullanılmaktadır. Bazı *Lilium* türleri, aromatik ve parfüm endüstrisinde kullanılmaktadır. Etken maddelere sahip olan bazı *Lilium* türleri cilt hastalıkları, apse, sivilce tedavisinde ilaç hazırlamada kullanılmaktadır (Baytop 1998). Bazı *Lilium* türleri ise yapıstırıcı ve boya olarak kullanılmaktadır (Özçelik ve diğ. 1990). Dünya çiçek pazarında bu cinsin hibritlerinin ve kültürlerinin genişliği ve çeşitliliği ticari olarak çok önemlidir (De 1974). Ayrıca bazı türler, tıbbi ve gıda değeriyle bilinmektedir (Wawrosch ve diğ. 2001, Dhyani 2007).

1.3.1 *Lilium martagon* L.

L. martagon, Kuzey Asya ve Avrupa'da yaygın olarak dağılan *Lilium* cinsine ait Liliaceae familyasının bir üyesidir. Halk arasında "Türk zambağı" olarak bilinir hem güneşte hem de gölgede aynı zamanda hem ağır killi ve tebeşirli topraklarda ve

diğer toprak türlerinde yetişebilir. Bununla birlikte, *L. martagon*'un sekonder metabolitlerinin sistematik bir araştırması yapılmamıştır.

Türkiye’de doğal olarak yayılış gösteren *Lilium* taksonları arasında *L. martagon* L. en geniş yayılış alanına sahip olmakla beraber günümüze kadar ulaşmış en eski *Lilium* türü olarak kabul edilmektedir (Dubouzet ve Shinoda 1999).

Doğal florada bulunan bitkilerin halk arasında tedavi amaçlı, gıda, çay, baharat, boya, insektisit, hayvan hastalıklarının tedavisi, reçine, zambak, uçucu sabit yağlarından faydalanma, meşrubat ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011). Pekçok yüksek bitki, ekonomik açıdan önem taşıyan organik kimyasalları (alkoloid, terpen, fenolik bileşikler, nadir amino asitler, bitki aminleri ve glikosidler, vb) bünyesinde biriktirerek çeşitli bilimsel, teknolojik ve ticari uygulamalara ham madde oluşturur (Anonymous 2009). Doğal bitki ürünleri (fitokimyasallar) çok sayıda endüstride doğrudan ya da dolaylı olarak kullanılır, özellikle yağlar, resinler, taninler, saponinler, doğal plastikler, yapışkanlar, balmumu, boyalar, ilaçların kaynağı halindedir (Balandrin ve diğ. 1985, Han 2001, Anonymous 2009). Şu anda ilaç endüstrisinde kullanılan önemli bitki bileşikleri salisin, taxol ve morfindir (Anonymous 2003).



Kingtom	Plantae
Subkingtom	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Class	Liliopsida
Subclass	Liliidae
Order	Liliales
Family	Liliaceae
Genus	<i>Lilium</i> L.
Species	<i>Lilium martagon</i> L.

Şekil 1.1: *Lilium martagon* türü ve sistematığı

1.4 Bitkisel Sekonder Metabolitler

Sekonder Metabolitler bitkiler tarafından üretilen ve günümüzde birçok sektörde hammadde olarak kullanılan bitkinin temel yaşamsal işlevleri ile doğrudan ilişkisi olmayan, buna karşılık en az bitkinin yaşamsal işlevleri ile doğrudan ilişkili primer metabolitler (protein, yağ, karbonhidrat) kadar önemli olan kimyasal maddelerdir. Bu kimyasal maddelerin önceden hiçbir işe yaramadığı bitkiler tarafından üretilen atık madde olduğu varsayılıyordu. Ancak daha sonraları anlaşıldı ki bu maddelerin bitkide; savunma, korunma, ortama uyum, hayatta kalma ve nesillerini devam ettirmek için bitkiler tarafından geliştirilmiş oldukça karmaşık mekanizmaların ürünleri olduğu anlaşıldı. Sekonder metabolitler, primer metabolitlerden biyosentetik yolla üretilmiş olup (Tablo 1.1) bitkiler alemindeki dağılışı özel olan bir taksonomik grup (tür, cins, familya) ile sınırlandırılmıştır. Sekonder metabolitlerin, bitkinin primer metabolizmasındaki fonksiyonları tartışmalı olup, genelde tozlaşmada, çevresel koşullara uyum, mikroorganizma, böcek ve diğer predatörlere (avcılara) karşı kimyasal savunma, diğer bitkilerle yarışma gibi rollere sahip oldukları düşünülmektedir (Vanisree ve diğ. 2004, Vanisree ve Tsay 2004). Bitki bünyesinde oldukça az miktarlarda biriktirilirler. Özelleşmiş hücre tiplerinde ve bitkinin farklı büyüme evrelerinde sentezlendiklerinden dolayı ekstraksiyonları ile saflaştırılmaları zordur (Özgen ve diğ. 2005). Bu maddelerin bitkilere kazandırdığı avantajlar şunlardır (Babaoğlu ve diğ. 2001):

1. Kuraklık, tuzluluk, UV ışınları gibi değişik çevresel faktörlerin oluşturduğu stres ortamına karşı koyma
2. Herbivorlara (böcek, sürüngen vb.) karşı savunma
3. Mikroorganizmalara (bakteri, mantar vb.) karşı savunma
4. Bazı metabolik ve ekolojik işlevleri yerine getirme (örn; tohum dağılımını sağlamak için hayvanları ve diğer taşıyıcıları cezbetme gibi)

Bitkiler metabolizmalarında henüz rolleri tam olarak bilinmesede sekonder metabolit olarak çok sayıda fenolik madde oluşturmaktadır. Söz konusu maddeler aşağıdaki şekilde gruplandırılmaktadır (Tablo 1.1).

Tablo 1.1: Sekonder metabolitlerin sınıflandırılması

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

Bitkilerde sekonder metabolitlerin yapısına çevre faktörlerinin, coğrafi, iklim, edafik (toprak), orografik (relyef) ve biyolojik faktörlerin etkisi büyüktür. Dünyanın güney kısmında yetişmekte olan bitkilerde genelde eterik yağlar ve alkaloidler, soğuk bölgelerde ise flavonoidler ve tanenler daha çok bulunmaktadır. Sıcak ve soğuk iklim sekonder metabolitlerin oluşumunu etkiler. Sıcak ve nem oranlarının artması sonucunda karotenoidler, düşük sıcaklıklarda glikozitler, nemin düşüşünde ise flavonoidler oluşmaktadır.

Sekonder metabolitlerin yapısı toprak koşullarından (toprağın yapısından, nem miktarından, asit miktarından, kimyasal yapısından ve mineral madde miktarından) da etkilenmektedir. Örneğin; toprağın asit miktarı yükseldiğinde, datura (*Datura sp.*) bitkisinin yapraklarındaki alkaloid miktarında düşüş ortaya çıkmaktadır. Sert kireçli topraklarda yetişmekte olan bitkilerde tanenler fazla ise, siyah ve kumlu topraklarda azdır. Topraklarda fosfor miktarının artışı flavonoid, tanen ve glikozitlerin oluşumuna neden olmaktadır. Toprakta azot miktarının yükselişi ile birlikte alkoloidlerin biyosentezi aktivite olurken, tanenlerin miktarında ise düşüş ortaya çıkmaktadır. Toprağın kimyasal elementleri ile bitkinin sekonder metabolit grupları arasındaki bağlantı, deneylerle kanıtlanmıştır. Örneğin; glikozitlerin

salgılanmasında bitkiler sürekli olarak topraktan mangan, molibden ve krom, alkaloidlerin biyosentezinde bakır ve kobalt, saponinlerin oluşmasında ise molibden ve vanadium elementlerini absorbe etmektedirler (Mammadov 2014).

Orografik faktörler (yükseklik, siklonların hareketi) sekonder metabolitlerin sağlanmasını etkilemektedir. Örneğin; Kore ginsengi (*Panax ginseng*) bitkisi biyolojik aktif bileşenlerini, doğu ve batı kuşağında, sedir (*Cedrus* sp.) veya geniş yapraklı ormanlarda, 700 m yüksekliklerde daha iyi salgılamaktadır. Kanaryaotu (*Senecio platyphylloides*) bitkisi en yüksek alkaloid miktarına 1600-2000 m yüksekliklerde ulaşabilmektedir. Başka bir çalışmada; müge (*Convallaria majalis*) bitkisinin biyolojik aktif bileşenlerinin geniş yapraklı orman ortamında, huş ağacı bölgesinde daha yüksek, aşağı tayga çam ormanları bölgesinde ise düşük olduğu kanıtlanmıştır. Kavak ormanlarında ise bu türün biyolojik aktif bileşenlerinin miktarı daha düşüktür. Sekonder metabolitlerin salgılanmasında bitkinin yaşı da etkili olabilmektedir. Doğal ortamdan kültüre alınmış olan beşparmak otu (*Potentilla erecta*) bitkisinde tanenlerin miktarı bitki 4 yıllık olduğu zamanda en büyük düşüşü göstermektedir. Sekonder metabolitlerin salgılanması ontogenez döneminde değişikliğe uğrayabilir. Örneğin; eterik yağların maksimum salgılanması çiçek tomurcuklarının ve çiçeklerin olduğu safhada görülmektedir. Sekonder metabolitlerin salgılanmasının günlük akışı çok dikkat çekicidir. Yağ gülü (*Rosa damascena*) bitkisinin çiçeklerinde eterik yağlar, gün doğumundan önce, sabah saat 4-6 sularında maksimum düzeyde salgılanmaktadır (Mammadov 2014).

Dış faktörlerin de hücre içi faktörler kadar sekonder metabolitlerin salgılanması üzerinde etkili olduğu deneylerle kanıtlanmıştır. Örneğin; flavonoidlerin yapısına dış faktörlerin etkisini göstermek için Su mercimeğigiller' den (Lemnaceae) olan *Spirodela oligorrhiza* bitkisi kullanılmış ve ışık şiddeti, sıcaklık, besin maddeleri vb. gibi 52 dış faktörün etkisi izlenmiştir. Bu faktörlerin etkisi ile söz konusu bitkide 15 flavonoid türünün yapısının değiştiği bildirilmiştir (Mammadov 2014).

1.5 Serbest Radikaller

Biyolojik serbest radikaller oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktif moleküller olup, elektronları hücredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek oksidatif stres (hasar) meydana getirirler. Serbest radikaller normal hücrel metabolizma sırasında oluşabildiği gibi, çeşitli dış etkenler aracılığı ile de meydana gelebilir. Oksidatif stres, organizmadaki pro-oksidan ve antioksidan dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır. Radikaller; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi temel hücrel bileşenlerde hasara yol açabilme özelliğine sahiptir. Oluşan bu hasarın kanser, ateroskleroz, amiloidoz, yaşa bağlı bağışıklık yetersizliği, senil demans ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkili olduğu ve biyolojik yaşlanma sürecinde rol oynadığı bilinmektedir (Kopani ve diğ. 2006).

Serbest radikaller dış orbitalinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjili atom veya moleküller olarak tanımlanmaktadır (Bast ve diğ. 1991, Halliwell ve Gutteridge 1985, Nawar 1996). Serbest radikaller eşlenmemiş elektron bulundurduklarından dolayı diğer maddelerle kolaylıkla reaksiyona girebilirler. Elektronlarını çiftler halinde (eşlenik) bulduran atomlar veya moleküller ise kararlı bir yapıya sahip olduklarından, başka moleküller ile reaksiyonlara girme eğilimleri serbest radikaller kadar yüksek değildir. Bu yüzden kararlı yapıda bulunan, eşlenmemiş elektronu bulunmayan ve diğer maddeler ile radikallerden daha zayıf bir şekilde reaksiyona giren moleküller nonradikaller olarak tanımlanır. Serbest radikaller oksijen (Tablo 1.2) ve nitrojen kaynaklı olabilir (Tablo 1.3). Oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrojen kaynaklı olanlar reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak isimlendirilir (Halliwell ve Gutteridge 1999; Valko ve diğ. 2007). Reaktif oksijen türleri arasında süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil (OH^{\cdot}), peroksil (ROO^{\cdot}), lipid peroksil (LOO^{\cdot}), ve alkoksil (RO^{\cdot}) radikalleri sayılabilir. Reaktif nitrojen türlerini ise nitrik oksit (NO^{\cdot}) ve nitrojen dioksit (NO_2^{\cdot}) oluşturur. Reaktif oksijen türleri ve RNS diğer nonradikal reaktif türlere kolay bir şekilde dönüşebilir. Genellikle oksidanlar olarak adlandırılan hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), singlet oksijen (1O_2), hipokloröz asit ($HOCl$), nitrik asit (HNO_2), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve lipid peroksit ($LOOH$) ise serbest radikaller arasında gösterilmezler. Bu oksidan türleri patolojik ve fizyolojik durumlar altında canlılar tarafından üretilir ve canlı organizmada kolaylıkla serbest radikal

reaksiyonlarına yol açabilirler (Fang ve diğ. 2002, Halliwell ve Gutteridge 1999, Pham-Huy ve diğ. 2008, Valko ve diğ. 2007).

Tablo 1.2: Reaktif oksijen türleri (ROS)

Radikaller		Nonradikaller	
Süperoksit	O ₂	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Hidroksil	OH	Hipokloröz asit	HOCl
Peroksi	ROO	Hipobromöz asit	HOBr
Alkoksil	RO	Singlet oksijen	¹ O ₂
Hidroperoksil	HO ₂	Ozon	O ₃
Lipid peroksil	LOO		

Tablo 1.3: Reaktif nitrojen türleri (RNS)

Radikaller		Nonradikaller	
Nitrik oksit	NO [·]	Nitrik asit	HNO ₂
Nitrojen dioksit	NO ₂ [·]	Nitrosil katyonu	NO ⁺
		Nitroksil anyonu	NO ⁻
		Dinitrojen tetroksid	N ₂ O ₄
		Dinitrojen trioksit	N ₂ O ₃
		Peroksinitrit	ONOO ⁻
		Peroksinitrik asit	ONOOH
		Nitronyum katyonu	NO ₂ ⁺
		Nitril klorid	NO ₂ Cl
		Alkil peroksinitrit	ROONO

1.5.1 Serbest Radikal Kaynakları

Organizmadaki serbest radikaller hem endojen hem de eksojen kaynaklar tarafından meydana getirilebilir. Serbest radikaller hücrede ve çevrede sürekli olarak üretilir (Ali ve diğ. 1996, Bagchi ve Puri 1998, Nagendrappa 2005, Sarma ve diğ. 2010, Sen ve diğ. 2010).

Endojen kaynaklar

- Mitokondride aerobik solunum sırasında elektron transport sistemi tarafından katalize edilen oksijenler serbest radikalleri yan ürün olarak üretirler.
- Yangı durumunda sitokinler serbest bırakılır ve bunun sonucunda nötrofiller ve makrofajlar serbest radikalleri üretmeye başlar.
- Serbest radikaller lipit peroksidasyonu, ksantin oksidaz ve mitokondriyel sitokrom oksidaz gibi çeşitli kaynaklardan oluşabilir.
- Düz kas hücreleri, plateletler ve araşidonik asit metabolizması tarafından serbest radikaller üretilebilir.
- Otoksidasyon reaksiyonları sırasında ksantin oksidaz (XO) ile nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz gibi enzimlerle endoplazmik retikulumda sitokrom p450 sisteminde meydana gelen elektron kaçaklarından oluşabilir.
- Zihinsel stres veya vücut yorgunluğundan kaynaklanan stres toksik yan ürün olarak serbest radikal üretebilir. Ayrıca kortizol ve katekolamin gibi hormonlar vücutta stres reaksiyonlarına yol açarlar. Aynı zamanda bu hormonların kendileri de serbest radikallere dönüşebilirler.
- İmmun sistem hücreleri patojenlere yanıt olarak ROS ve oksidatif radikaller üretebilir.

Eksojen kaynaklar

- UV ışınlar, X-rays, gamma ışınları, mikrodalga ışınları,
- Pişirme sırasında organik maddelerin yakılması,
- Orman yangınları, volkanik faaliyetler,
- Asbest, benzen, karbonmonoksit, formaldehit, ozon ve toluen gibi hava kirleticiler,
- Temizlik ürünleri, tutkal, boya, tiner, parfümler ve böcek ilaçları gibi kimyasallar,
- Kloroform ve diğer trihalometanlar gibi su kirletici maddeler,
- Alkol ve sigara kullanımı, sigara dumanı, egzoz dumanı, eksojen olarak serbest radikal üretimine katkıda bulunabilir.

1.6 Antioksidanlar

İnsan vücudunun serbest radikaller tarafından oluşturulabilecek oksidatif stresi ortadan kaldırmak için en önemli silahı antioksidanlardır. Antioksidanlar serbest radikalleri temizleyebilen ve hücre hasarını engelleyebilen maddelerdir. İnsanda bulunan antioksidanlar ya vücut tarafından doğal olarak üretilirler ya da dışarıdan ilave olarak alınırlar. Hem endojen hem de eksojen antioksidanlar serbest radikal süpürücü olarak hareket ederler. Bundan dolayı savunma sisteminin etkisini arttırarak hastalık riskini de azaltırlar (Shinde ve diğ. 2012).

Antioksidanlar, normal hücre metabolizmasının toksik yan ürünü olan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek koruyucu etki gösterirler (Sen ve diğ. 2010).

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek, bu maddelerin meydana getirdiği hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” adı verilir (Şener ve Yeğen 2009). Antioksidanlar, radikallerle oldukça hızlı bir şekilde reaksiyona girerek ootoksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddelerdir (Dündar ve Aslan 1999). Antioksidanların rolleri arasında serbest radikallerin fazlasını etkisizleştirmek, serbest radikallerin toksik etkilerine karşı hücreleri korumak ve hastalıkları önlemede katkı sağlamak sayılabilir (Pham-Huy ve diğ. 2008).

1.6.1 Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, endojen ve eksojen olmak üzere iki grup altında toplanabilir (Tablo 1.4). Endojen ve eksojen antioksidanlar, oksidan/antioksidan dengesini sağlamak için serbest radikallerden vücudu korur ve serbest radikalleri etkisizleştirmek için kullanılırlar (Sen ve Chakraborty 2011).

Tablo 1.4: Antioksidanların sınıflandırılması.

Endojen Antioksidanlar		
Enzimatik Antioksidanlar	Nonenzimatik Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q 10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum

Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
Eksojen Antioksidanlar		
Vitamin Eksojen Antioksidanlar	İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar	
α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)	
	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)	
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Folik asit (Vitamin B9)	Trolox-C (vitamin E analogu)	
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)	
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)	
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)	
	Nötrofil adezyon inhibitörleri	
	Sitokinler (TNF ve IL-1)	
	Barbitüratlar	
	Demir şelatörleri	

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak iki alt grupta sınıflandırılabilir (Sen ve diğ. 2010, Pham-Huy 2008, Aydemir ve Karadağ 2009).

Enzimatik antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Glutasyon redüktaz (GR) enzimatik savunma hattını oluşturan enzimsel antioksidanlardır (Karabulut ve Günay 2016).

Nonenzimatik Antioksidanlar: Enzimsel olmayan antioksidanlar arasında glutasyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin sayılabilir (Sen ve diğ. 2010, Pham-Huy 2008, Sen ve Chakraborty 2011, Valko 2007, Droge 2002, Willcox ve diğ. 2004).

Tablo 1.5: α -Lipoik asit ve Dihidrolipoik asitin reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri üzerindeki süpürücü etkileri (Packer ve diğ. 2001).

Serbest radikal	α -Lipoik asit	DHLA
Süperoksit radikali	-	+
Hidroksil radikali	+	+
Hipokloröz asit	+	+
Hidrojen peroksit	+	+
Singlet oksijen	+	-
Nitrik oksit radikali	+	+
Peroksinitrit	+	+
Peroksil radikali	-	+

Eksojen Antioksidanlar: Eksojen kaynaklı antioksidanları, vitamin eksojen antioksidanlar ve ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar olmak üzere iki grupta sınıflandırabiliriz.

α -Tokoferol (Vitamin E), β -karoten (Vitamin A), askorbik asit (Vitamin C) ve folik asit (Vitamin B9) dışarıdan alınan vitamin kaynaklı antioksidanlardır (Şener ve Yeğen 2009, Dündar ve Aslan 1999, Aydemir ve Karadağ 2009).

1.6.2 Fenolik Bileşikler

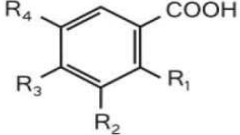
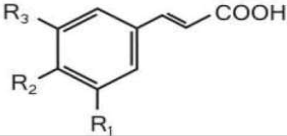
Bütün bitki metabolizmalarında, sekonder metabolit olarak bulunan ve bitkilerin kendilerini bazı zararlılara karşı korumada rolleri olduğu sanılan çok sayıda farklı nitelik ve miktarlarda çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır (Saldamlı 2007). Bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanan fenolik bileşikler bitkilerde en yaygın bulunan maddeler grubu olup, günümüzde binlerce fenolik bileşiğin yapısı tanımlanmıştır (Kafkas ve diğ. 2006). Bunlara devamlı olarak bulunan yeni tanımlanan fenolikler eklenmektedir (Cemeroğlu 2004). Fenolik bileşikler bitkilerin meyve, sebze, tohum, çiçek, yaprak, dal ve gövdelerinde bulunabilirler (Bilaloğlu ve Harmandar 1999, Coşkun 2006, Aydın ve Üstün 2007). Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Flavonoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan polifenolik antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşmasında etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, sarı-esmer, kırmızı-mavi tonlardaki renklerinin

oluşmasını sağlamaktadırlar. Meyve ve sebzelerin işlenmelerinde enzimatik esmerleşme gibi değişik sorunlara da neden olmaktadır. Bu özellikler meyve ve sebzeler ile bunlardan elde edilen ürünler için son derece önemlidir (Cemeroğlu 2004, Zor 2007, Güngör 2007, Anonim 2006).

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

1.6.2.1 Fenolik Asitler

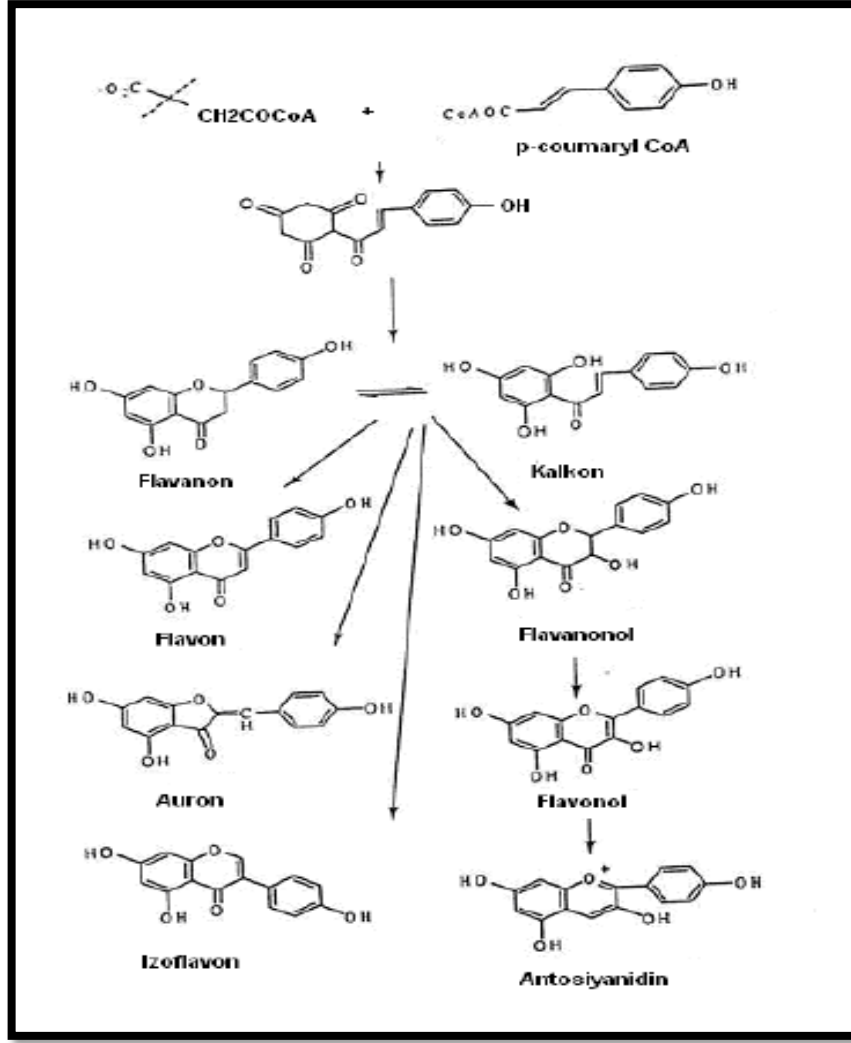
Hidroksi benzoik asit ve hidroksisinamik asitler olarak iki gruba ayrılırlar. Hidroksibenzoik asitler C₆-C₁ fenilmetan yapısında olup, bitkisel gıdalarla genelde iz miktarda bulunurlar. Bunlar salisilik asit, m-hidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asitler gibi asitlerdir. Hidroksisinamik asitler ise C₆-C₃ fenilpropan yapısındadırlar. Fenilpropan halkasına bağlanan OH grubunun konumu ve yapısına göre farklı özellik gösterirler. Benzoik asit türevlerine örnek olarak, protokatesuik asit, p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, salisilik asit ve gensitik asit verilebilir. Kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit ise sinamik asit türevlerindedir (Ribéreau-Gayon ve Glories 2006, Yücel ve Ötles 2001, Nizamlioğlu ve Nas, 2010).

	Benzoik Asit	R₁	R₂	R₃	R₄
	<i>p</i> -hidroksibenzoik asit	H	H	OH	H
	protoketeşuik asit	H	OH	OH	H
	vanilik asit	H	OCH ₃	OH	H
	gallik asit	H	OH	OH	OH
	şirincik asit	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	salisilik asit	OH	H	H	H
	gentsik asit	OH	H	H	OH
	Hidroksisinamik Asit	R₁	R₂	R₃	
	<i>p</i> -kumarik asit	H	OH	H	
	kafeik asit	OH	OH	H	
	ferulik asit	OCH ₃	OH	H	
	sinapik asit	OCH ₃	OH	OCH ₃	

Şekil 1.2: Fenolik asitlerin kimyasal yapısı (Jackson 2000)

1.6.2.2 Flavonoidler

Flavonoidler, bitkilerde ve bitkisel gıdalarda bulunan bileşiklerin en önemli grubunu oluşturmaktadır. Bitkilerin sekonder metabolitlerindedir. Sarı renkli olmaları nedeniyle latince ‘sarı’ anlamına gelen ‘flavus’ sözcüğünden türetilerek flavonoid adını almışlardır. İlk defa olarak flavonoid tipli madde Şevrole tarafından meşe ağacının bir türünün köklerinden izole edilmiştir. Daha sonraları bu madde kuersetin olarak adlandırılmıştır ve sarı renkli boya olarak kullanılmaktadır. Flavonoidler, fenolik bileşenler olup, temel yapısı C₆-C₃-C₆ iskeletinden oluşmuştur. Bu yapı 15 C atomlu 2-fenil-1,4-benzopiron (difenil propan) yapısıdır. Yapı üçlü bir karbon köprüsü (C halkası) ile bağlı olan iki fenil (A ve B halkaları) halkasından oluşur. Flavonoidler çoğu kez 3, 5, 7, 2', 3', 4', 5' pozisyonlarında hidroksillenmişlerdir (R. Mammadov 2014).



Şekil 1.3: Flavonoidlerin sınıflandırılması (Çıkrıkçı 2005)

1.7 Antioksidan Aktivite ve Miktar Tayin Yöntemleri

Antioksidanlarla ilgili bilimsel makaleler incelendiğinde farklı araştırmacılar tarafından antioksidan kapasiteyi tanımlamak için farklı terimlerin kullanıldığı görülür. Karşılaşılabilecek terimler total antioksidan “kapasite” veya “etkinlik”, “güç”, “parametre”, “potansiyel”, “potens” ve “aktivite” dir. Bir kimyasalın “aktivitesi” basınç, sıcaklık, reaksiyon ortamı, diğer reaktifler gibi spesifik reaksiyon koşulları belirtilmedikçe anlamsızdır. Tek bir analiz yöntemi ile ölçülen “antioksidan aktivite” o yöntemde uygulanan spesifik koşullardaki kimyasal reaktiviteyi yansıttığından verileri “total antioksidan aktivitenin” göstergesi olarak genellemek uygun olmayabilir ve yanıltıcıdır. Bu nedenle “aktivite” terimi yerine farklı

deneylerde elde edilen sonuçları “kapasite” olarak sunmak önerilmektedir. Ya da “peroksil radikal süpürücü kapasite”, “süperoksit süpürücü kapasite”, “demir iyonu indirgeme kapasitesi” gibi ölçüm yöntemini daha spesifik olarak belirten terimlerin kullanılması da önerilmektedir (Koleva ve diğ. 2002).

Tablo 1.6: *In vitro* koşullarda uygulanan antioksidan aktivite tayin metodları

HAT-temelli metodlar	ET-temelli metodlar	Diğer metodlar
$ROO\cdot + AH \rightarrow ROOH + A\cdot$ $ROO\cdot + LH \rightarrow ROOH + L\cdot$	$M^n + e^- (AH'den) \rightarrow AH + M^{(n-1)}$	Tiyobarbitürik asit ile oksidasyon ürünlerinin tayini (TBARS)
Oksijen radikalinin absorblama kapasitesi (ORAC)	Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC, ABTS)	Peroksit değeri (POV)
Linoleik asit oksidasyonunun inhibisyonu (TRAP)	Fe (III) iyonu indirgeme gücü (FRAP)	Ransimat metodu Çeşitli serbest radikalleri yakalama metodları
LDL oksidasyonunun inhibisyonu (TRAP)	DPPH radikali giderme aktivitesi	
Crocın ağartma metodu	FCR ile toplam fenolik bileşik tayini	
	Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC)	

1.7.1 β -KAROTEN/LINOLEİK ASİT RENK AÇILIM YÖNTEMİ

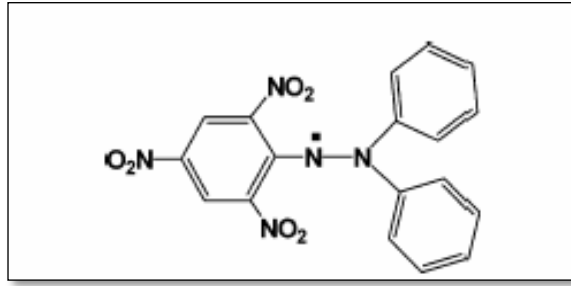
Bu yöntemde, linoleik asit, β -karoten ve antioksidan içeren bir sistem oluşturulur. Isı veya ışık etkisi ile oksidasyon ya da otooksidasyona uğrayan karotenoidlerin renginde açılma gözlenir. Oksidasyon sonucunda peroksit radikali oluşur (Prior ve diğ., 2005). β -karoten/linoleik asit yönteminde önceden oksijen ile doyurulmuş suya linoleik asit ve β -karoten koyulur. Linoleik asitten oluşan radikaller (.OH, .OR, .OOR, vs.), 490 nm dalga boyunda maksimum absorbans veren β -karoteni parçalayarak renginin açılmasına neden olurlar. Antioksidanlar, oluşan radikalleri söndürerek β -karotenin renginin açılmasını önlerler (Miller ve diğ. 1996, Huang ve diğ. 2005). β -karoten/linoleik asit sistemi yüksek sıcaklıkta linoleik asitin oksidasyonu sırasında meydana gelen peroksit radikallerinin β -karoten molekülünde renk açılımına neden olması durumuna dayanır (Taga ve diğ. 1984).

1.7.2 Fosfomolibden Antioksidan Aktivite Yöntemi

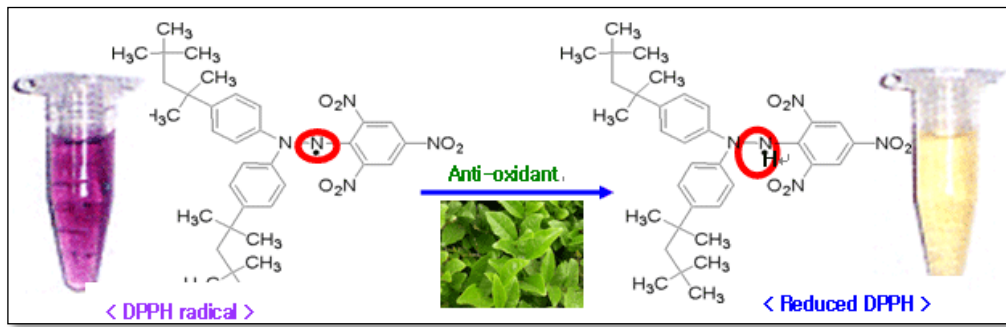
Metodun esası Mo (VI)'nın Mo (V)'e indirgenmesi ve asidik ortamda yeşil renkli fosfat/Mo (V) kompleksinin oluşumuna dayanır. Sonuçlar askorbik asid ile eşdeğer olarak hesaplanır. 95 dakika 90°C sıcaklıkta bekletilip 695 nm absorbansta okunur (Prieto ve diğ. 1999).

1.7.3 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

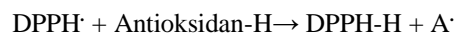
DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal yakalama yönteminde, kararlı ve sentetik bir radikal olan DPPH kullanılır ve antioksidanın bu serbest radikali yakalama yeteneği ölçülerek antioksidan aktivite tanımlanır (Pokorny 2001).



Şekil 1.4: DPPH radikalinin kimyasal yapısı



Şekil 1.5: DPPH molekülünün antioksidan madde ile reaksiyonu (Blois 1958)



DPPH, koyu mor renkte bir radikaldır. Antioksidandan bir proton alarak renksiz α, α -difenil- β -pikrilhidrazil molekülüne dönüşür. Antioksidan madde tarafından indirgenmesi sonucu rengi açılır. DPPH analizinde genellikle belirli

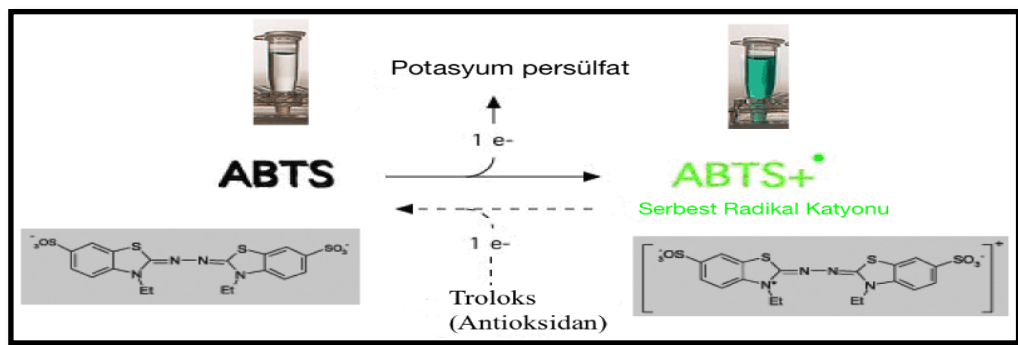
miktarda DPPH çözeltisi ve örnek çözeltisi karıştırıldıktan 30 dk yada absorbands sabit oluncaya kadar geçen süre sonra 517 nm de absorbands okunur. İndirgenme reaksiyonu boyunca çözeltinin rengi solmaya devam eder (Huang ve diğ. 2005).

1.7.4 ABTS Yöntemi (Kasyon Radikali Giderim Aktivitesi)

TEAC analizi ilk olarak Miller ve Rice-Evans tarafından 1993'te rapor edilmiştir. Daha sonraları ise bu metot geliştirilmiştir (Huang ve diğ. 2005). Bu metotta ABTS [2,2'-azonobis(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonat)] peroksit veya diğer oksidanlara okside olur ve ABTS^{•+} radikal kasyonu oluşur. Oluşan ABTS radikal kasyonu oldukça şiddetli bir renge sahiptir. Antioksidan kapasite, test bileşeninin ABTS^{•+} radikal kasyonu ile direkt olarak reaksiyona girmesi ile renk şiddetindeki azalma ölçülerek belirlenir (Prior ve diğ., 2005). ABTS^{•+} radikal kasyonundaki azalma denklem aşağıda verilmiştir (Wettasinghe ve diğ. 2002).

$$\% \text{ ABTS}^{\bullet+} \text{ azalması} = \frac{[(\text{Abs}_{\text{başlangıç}} - \text{Abs}_{\text{son}}) / \text{Abs}_{\text{başlangıç}}] \times 100}{}$$

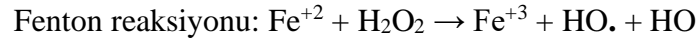
ABTS^{•+} radikal kasyonu 415, 645, 734, 815 nm de maksimum absorpsiyona sahiptir. Bunlardan 415 ve 734 nm bir çok araştırmacı tarafından ABTS^{•+} radikal kasyonu ve antioksidan arasındaki reaksiyonu spektrofotometrik olarak gözlemlemek için seçilmiştir (Prior ve diğ. 2005). TEAC yöntemi kullanılması basit ve kolay ve hızlı olduğundan bir çok laboratuarda AOK tayininde sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir (Huang ve diğ. 2005).



Şekil 1.6: ABTS' nin kimyasal reaksiyonu (Pannala ve diğ. 2001)

1.7.5 Metal Şelatlama Aktivitesi

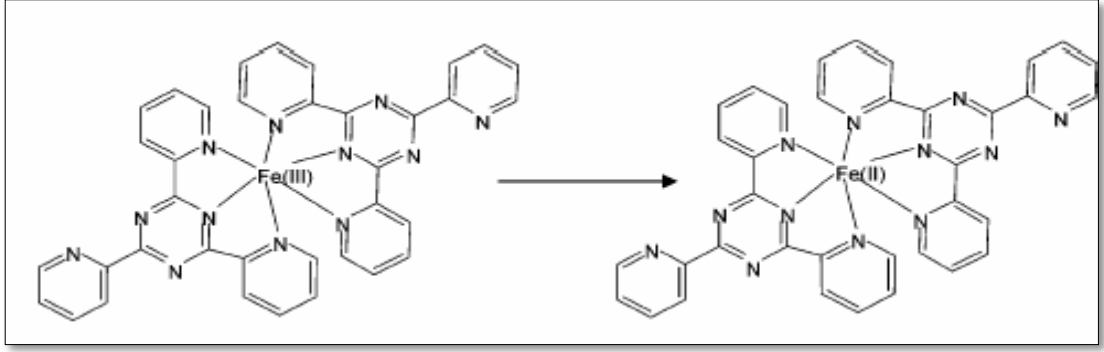
Yaşamamız için temel elementlerden biri olan demir, aynı zamanda lipit, protein ve diğer bileşenlerle istenmeyen oksidatif reaksiyonlara neden olabilmektedir. Ayrıca demir fenton reaksiyonları sonucunda serbest radikal oluşturma kabiliyetindedir. Bu nedenle Fenton reaksiyonlarındaki Fe^{+2} konsantrasyonunun azalması ile oksidatif hasara karşı koruyucu etki görülmektedir (Rival ve diğ. 2001). Geçiş metalleri içerisinde Fe^{+2} iyonlarının yüksek reaktivitesinden dolayı lipit oksidasyonuna yol açan en önemli pro-oksidan olduğu bilinmektedir (Gülçin 2005).



Metal şelatlama özelliği olan antioksidan maddeler serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirirler 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). Bir başka deyişle, metal şelatlama aktivitesi, ortamda bulunan Fe^{2+} iyonlarının inhibisyonuna dayanır. Aktivite kendini şelat ajanlarının demir iyonlarını şelatlaması sonucu kırmızı renkteki azalmayla gösterir. Metal şelatlama aktivitesi lipit peroksidasyonundaki katalize olmuş geçiş metallerini indirgediği için önem taşımaktadır. Şelatlama ajanları redoks potansiyelini indirgeyerek metal iyonlarının oksidasyonunu stabilize edebilirler. Bu nedenle şelatlama ajanları ikincil antioksidanlardır. (Mathew ve Abraham 2006).

1.7.6 FRAP: Demir (III) İndirgeyici Antioksidan Aktivitesi

Bu metotta Fe (III) tripiridiltriazin (TPTZ) kompleksinin antioksidanlar varlığında renkli Fe (II) şelatına indirgenmesinden yararlanmaktadır (Şekil 1.7) (Apak 2004). Reaksiyon bileşenleri 0-7 V redoks potansiyelde dedekte edilir. 0.7 V= (Fe^{+3} -TPTZ redoks potansiyeli) (Prior ve diğ. 2005).

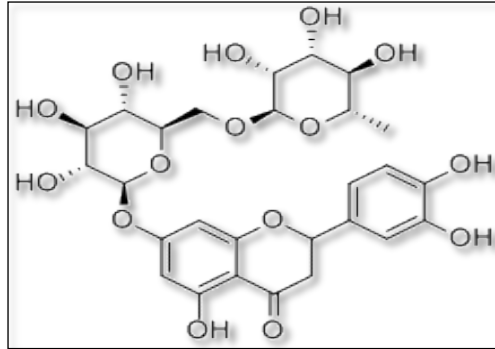


Şekil 1.7: Fe (III)- TPTZ + indirgen antioksidan → Fe (II) – TPTZ (595 nm de şiddetli mavi renk)

Reaksiyon süresi kısadır (yaklaşık olarak 4 dk) ancak bazı polifenoller daha yavaş reaksiyon verebilirler. FRAP sadece ferrik iyonları indirgeyebilen maddeleri ölçer (Prior ve diğ. 2005).

1.8 Sekonder Metabolit Miktar Tayini

Eriositrin, Limon ve Misket Limonu meyve sularında bol miktarda bulunmaktadır ancak her iki meyvenin tohumunda bu maddeye rastlanmamıştır. Eriositrin yapısı Şekil 1.8’de verilmiştir.



Şekil 1.8: Eriositrin yapısı

Eriositrin’in Limon’dan izole edilmesi ve antioksidatif aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada asit oto-oksidasyon sistemi üzerinde E vitamini ile birlikte denenmiş ve aynı antioksidatif etkiye sahip oldukları, sitrik asit ile birlikte kullanıldığında daha da etkili sonuçlar elde edildiği ifade edilmiştir (Yoshiaki ve diğ. 1997).

1.8.1 Folin-Ciocalteu Ayırıcı (FCR) ile Toplam Fenolik Yöntemi

Bu yöntem 1965’de Singleton ve Rossi tarafından önerilmiş ve daha sonra farklı uygulayıcılar tarafından geliştirilmiştir. Toplam fenolik madde miktarlarının hesaplanmasında kullanılan Folin-Ciocalteu metodu, yönteme adını veren reaktif aracılığıyla oluşan renk yoğunluğuna göre 760 nm’de spektrofotometrik olarak belirlenir. Yöntemin esası, suda ve diğer organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin Folin reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturmasına dayanır. Genellikle standart bileşik olarak gallik asit kullanılır ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak verilir. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda gallik asit yerine, vanilik asit, kafeik asit, ferulik asit, klorojenik asit, protokateşik asit ve tannik asit de kullanılmaya başlanmıştır (Prior ve diğ. 2005).

Folin-Ciocalteu reaktifi ile total fenolik bileşik miktarı tayini hemen hemen tüm antioksidan çalışmalarında örnekteki fenolik içeriğinin tayininde kullanılan standart bir yöntemdir. Ayrıca bu reaktifin ilaç analizinde, idrar gibi biyolojik örneklerde (Rao ve diğ. 1978), gıda ürünlerinde (Mogalhaes ve diğ. 2006) fenolik bileşik düzeyi veya indirgeme kapasitesi ölçümleri için genişletilmiş veya modifiye edilmiş uygulamaları bulunmaktadır.

1.8.2 Toplam Flavonoid Madde Tayini Yöntemi

Serbest radikal üreten enzimlerin inhibisyonu, serbest radikallerin süpürülmesi, demir ve bakır iyonlarını şelatlaması gibi birçok farklı aktivitesinden dolayı flavonoidler antioksidan özellik göstermektedirler (Benavente 1997). Flavonoidler, antioksidan aktivitelerini değişik yollarla göstermektedir. Zincir kırıcı etkileriyle bazı radikal türlerini doğrudan yakalama özellikleri vardır. Bununla birlikte α -tokoferol gibi; diğer antioksidanlara hidrojen vererek onları yeniden aktif hale getirmekte ve dolayısıyla lipid peroksidasyonunu önleyebilmektedir. Demir, bakır gibi bazı prooksidan metal iyonlarıyla kelat oluşturarak serbest radikal oluşumuna engel olabilmektedir. Flavonoidler, kanserin engellenmesinde antioksidan özellikleri dışında farklı şekillerde de etkili olabilmektedir. Bunlar arasında DNA’nın oksidatif zarardan korunması, mutajen genlerin oluşumunun engellenmesi, kanser oluşumunu teşvik eden enzimlerin ve karsinojenlerin aktivitesinin önlenmesi sayılabilmektedir (Kris-Etherton ve diğ. 2002). Antioksidan aktivitelerine ek olarak

flavonoidler; prostaglandin sentaz, lipoksigenaz ve siklogenaz gibi enzimleri inhibe ederler ve glutathion-S-transferaz gibi detoksifiye edici enzimleri teşvik ederler (Lee ve diğ. 1995). 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 ($AlCl_3$) kolorimetrik metodu kullanılarak tayin edilmektedir. Bu yöntemde eşdeğer olarak genellikle kuersetin standartı kullanılmaktadır (Chang ve diğ. 2002).

1.8.3 Toplam Tanen Madde Tayini Yöntemi

Fenolik polimer diğer bir deyişle tanen veya proantosiyanidin, molekül ağırlıkları yüksek olan bileşikler olup flavonoidlerin oligomer veya polimer halleridir. Bitkilerin sekonder metabolitleri olup, bu bitkileri zararlılardan korumaya yardım ederler (Aydın ve Üstün 2007). Fenolik polimerlerin en çok; çileklerde, elmalarda, narda, üzümde ve şaraplarda, üzüm çekirdeklerinde, kakao, çay, tarçın ve *Ginkgo biloba*'da bulunduğu bilinmektedir. Renkleri koyu ve tatları buruk yapıda bir maddedir. Proantosiyanidin içeriği yüksek gıda ya da gıda takviyelerini kısa/uzun süreli kullananlarda ateroskleroz, bazı kanser türleri ve enflamasyonun görülme oranlarının azaldığı bildirilmiştir (Cadenas ve Packer 2002, Beecher 2004).

1.9 Toprak ve Bitki İlişkisi

Ekologlar, topraktaki elementlerin varlığını değerlendirmek için sıklıkla bitki bünyesindeki kimyasal element konsantrasyonlarından yararlanarak, bitki toprak ilişkilerini açıklamaya çalışırlar (Golley 1986, Carter ve diğ. 2003). Toprakta element eksikliği ya da fazlalığı bitkiler için bir stres kaynağıdır (Böçük 2010). Bu nedenle doğal ortamlarında meydana gelen çevresel değişimlere karşı bitkiler çeşitli içsel ve mekanik tepkiler gösterirler. Bunun sonucunda bitkilerde biyokimyasal ve fizyolojik olarak çeşitli reaksiyonlar, gen/genlerin fizyolojik etkileri ile hücresel metabolizma değişimlerinin, büyüme oranları ve ürün miktarlarının değişimine kadar çok çeşitli tepkilere neden olabilirler (Bray ve diğ. 2000).

1.10 Kan ile İlgili Biyokimyasal Çalışmalar

1.10.1 Serumda Bulunan Enzimler

Organizmada bulunan ve hücre içinde sentezlenen yüzlerce farklı enzim, işlevlerini hücrede sürdürmektedir. Hücrelerde işlev gösteren enzimlerden ayrı olarak bazı enzimler inaktif bir formda salgılanmakta ve aktive olduktan sonra ekstrasellülerde işlev göstermektedirler. Kanda bulunan enzimler üç gruba ayrılmaktadır.

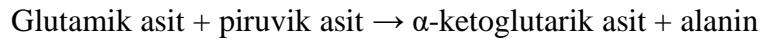
1- Plazma spesifik enzimler: Salgılandıktan sonra plazmada fonksiyonel aktivite kazanan enzimler grubudur. Kanın pıhtılaşması ile ilgili serin proteaz prokoagülanları olan trombin, faktör XII (Hageman faktör), faktör V (Stuart Prower faktör) ve diğerleri, plazminojen proaktivatör gibi fibrinoliz enzimleri ve öncülleri bu grupta yer almaktadır.

2 - Salgılanan enzimler: Bunlar genel olarak gastrointestinal kanala salgılanan proteaz ve hidrolaz grubu enzimlerdir. Lipaz, α -amilaz, kolinesteraz, tripsinojen bu grupta yer almaktadır. Prostattan kaynaklanan prostatik asid fosfataz da salgılanan enzimler arasında bulunmaktadır.

3 - Hücresel enzimler: Laktat dehidrogenaz, aspartat transaminaz, alanin aminotransferaz ve daha pek çok enzim bu grupta yer almaktadır. Ekstrasellülere oranla hücresel enzim düzeyleri çok yüksek olduğu için plazma veya serum enzimatik aktivitesinde görülen en küçük artış hücresel hasarın duyarlı bir göstergesidir. İntrasellüler yerleşim gösteren, normal koşullarda serumda çok düşük düzeylerde saptanan hücresel enzimlerin, hastalıkta serum veya plazmaya yansıyan aktivite değişiklikleri klinik biyokimyada önem taşımaktadır. Enzimlerdeki aktivite değişiklikleri ölçülerek hastalıkta vücut dokularındaki patolojik değişikliğin doğası ve bu patolojik olayın oluşturduğu doku konumu belirlenmeye çalışılmaktadır (Ersöz 2002).

1.10.2 ALT (Alanin aminotransferaz) ve ALP (Alkale fosfataz) Enzimleri

Karaciğer hücrelerinin önemli bir kısmını teşkil eden hepatositler, enzim açısından zengin hücrelerdir, çünkü organizmanın en aktif ve çeşitlilik gösteren enzimatik aktivitesine sahiptirler. Hepatositlerin herhangi bir nedenle yaralanmaları ve nekroza uğramaları halinde bu enzimlerin sirkülasyondaki düzeyleri de artmaktadır. Bu enzimlerin en klasik olanı sitozolik fraksiyonda yer alan ALT'dir (Şentürk ve diğ. 2004). Daha önce glutamik piruvat transminaz şeklinde bilinen Alanin aminotransferaz (Stokol ve Erb 1998), glutamik asitten amino grubunu piruvat aside transfer ederek bir α -asit olan α -ketoglutarik asit ve alanin meydana getirir. Bu reaksiyonda tersinirdir.



Alanin aminotransferaz diğer transaminazlarla birlikte amino asit katabolizmasında ve organlararası azot taşımada rol oynar (Hoffman ve Solter 2008). Alanin aminotransferaz sitoplazmatik bir enzimdir. Hepatoselüler membrane permeabilitesinin artışında hücre dışına salınımı artar. Yüksek serum alanin aminotransferaz seviyesi hepatoselüler hasarın şiddetli olduğunu gösterir. Alanin aminotransferaz transferazlar grubunda yer alır ve albumin metabolizmasında aspartate aminotransferaz ile birlikte görev alır.

Alanin aminotransferaz, hücre sitoplazmasında L-alanin ve α -ketoglutarat'ın piruvat ve glutamata geri dönüşümlü transaminasyonunu katalize eder. Piridoksal 5'-fosfat, alanin aminotransferaz ve pek çok aminotransferazlara sıkı şekilde bağlanan bir kofaktördür ve aspartat aminotransferazda olduğu gibi B₆ vitamininin alınımındaki yetersizlik enzim aktivitesinde azalmaya sebep olur. Serum ve spinal sıvıda alanin aminotransferaz aktivitesi olmasına rağmen, çok düşük renal spesifik aktivitesi nedeniyle idrarda alanin aminotransferaz aktivitesi yoktur. Spesifik izoenzimleri yoktur (Jansonius 1998, Turgut 2000). Serum ALT 1950'lerden beri hepatoselüler hasarın bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (Chimsky ve diğ. 1956).

ALT'nin etki mekanizması: Alanin aminotransferaz enziminin sistematik ismi E.C.2.6.1.2., 2-Oksoglutarat aminotransferazdır. Bu transaminaz, L-alanin'in amino grubunu α -ketoglutarat'a aktarır, bir yandan glutamat, diğer yandan da piruvat meydana getirir (Mengi 1991).

Ratlarda ALT enzim düzeylerinin değiştiği durumlar: Serum ALT 1950'lerden beri hepatoselüler hasarın bir göstergesi olarak kabul edilmiş ve bir tanı aracı olarak kullanımı yaygınlaşmıştır (Chimsky ve diğ. 1956). Yapılan çalışmaların sonucunda, karaciğer harabiyeti, kimyasal ajanlara bağlı zehirlenmeler, böbrek

harabiyeti, kronik ve akut hepatitis, beslenme bozuklukları, yüksek ısı, stres ve açlık gibi durumların ratlarda serum ALT düzeyini değiştirdiği belirtilmiştir (Hayashi ve diğ. 1993, Lecavalier diğ. 1994).

Alkalen fosfataz (ALP), pek çok fosfat esterlerini hidrolize eden spesifik olmayan enzimlerin bir izoform grubudur. ATP'nin defosforilasyonunu katalize eder. Alkalen fosfataz vücutta yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Kemik doku (osteoblastlarda), intestinal mukoza, renal tübüler hücreler, karaciğer (safra kanalı epiteliyal hücreler ve hepatositler) ve plasentada yüksek konsantrasyonda bulunur. Her doku farklı Alkalen fosfataz izoenzimine sahiptir (Dziedziejko ve diğ. 2005). Fosfat gruplarının transferinde gerekli bir izoenzimler grubundan oluşan Alkalen fosfataz, karaciğer, kemik, plaseenta, barsak, böbrek ve lökositlerde bulunmasına karşın %80'den fazlası karaciğer ve kemik kaynaklıdır (Aranda-Michel ve Sherman 1998).

ALP'nin etki mekanizması: Alkalen fosfataz enziminin sistematik ismi E.C.3.1.3.1.'dir. Fosforilasyon ve defosforilasyon metabolizmalarında önemli işlevleri olan ALP, Mg⁺⁺ varlığında p-nitrofenil ve inorganik fosfatın hidrolizini katalizler. Sonuçta p-nitrofenol ve inorganik fosfor oluşur (Mengi 1991).

ALP enzim düzeylerinin değiştiği durumlar: Yapılan çalışmaların özellikle karaciğer ve böbrek harabiyetlerinde, hepatitis, yüksek ısı, açlık, stres ve kimyasal ajanlarla olan zehirlenmelerde beslenme bozukluklarında ve büyüme çağında serum ALP düzeyinin değiştiğini ortaya koymaktadır (Hayashi diğ. 1993, Lecavalier diğ. 1994).

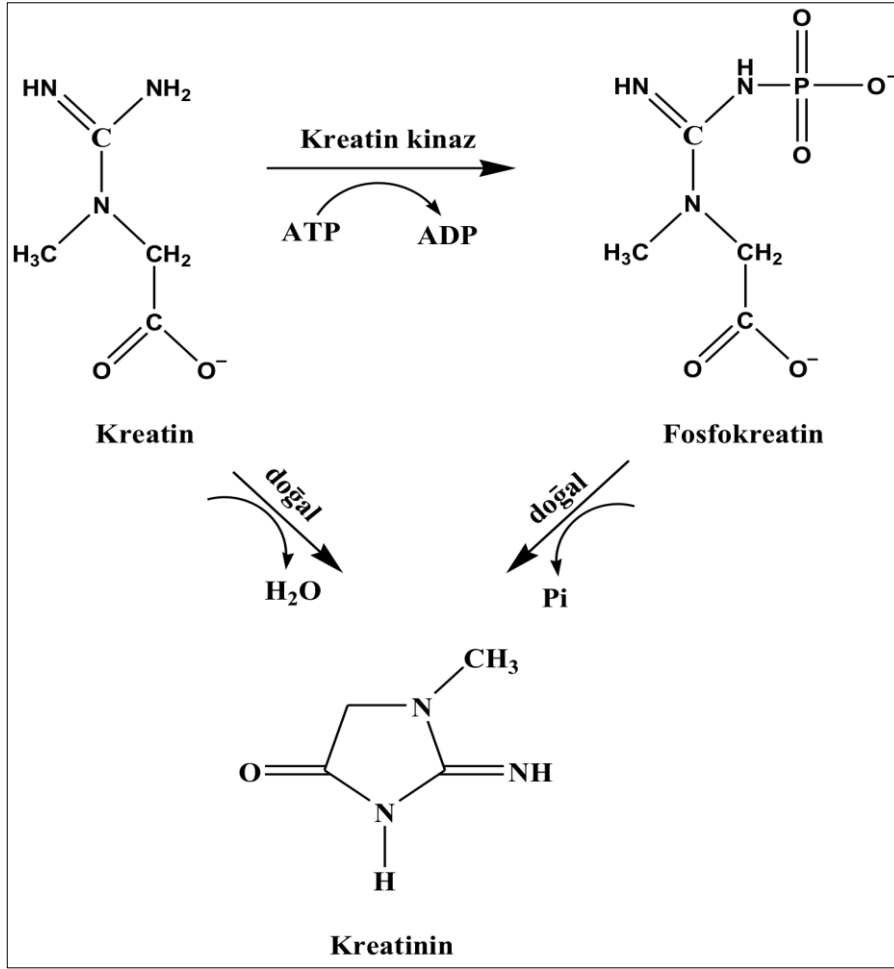
Ratlarda karaciğer hasarının belirlenmesinde önemli enzim olan ALP dikkate alınmaktadır. Glutamat ve ALT ile pirüvat oluşur. ALT yoğun olarak yalnızca karaciğerde bulunur. ALT'nin predominant formu non mitokondrial olanıdır. Bu nedenle hafif hepatosellüler hasarda, hepatosit membranı hasara uğramış ancak mitokondrial membranı sağlam ise sitoplazmik ALT seruma salınır (Fickert ve Zatloukal 2000, Aşcıoğlu 2005).

Karaciğer hastalıklarında ALT seviyesi sağlıklı bireylere göre çok artış gösterir. Orta şiddette ve ağır alkolik karaciğer harabiyetinde de bu enzim miktarlarında artış olur ancak bu artış nonalkolik hastalıklara nisbeten oldukça azdır. Serum aminotransferazları kronik hepatitlerde ve akut viral hepatitlerinin hafif vakalarında ve ilaca bağlı hepatitlerde orta derecede artar (Fickert ve Zatloukal 2000).

Sirozda, nonalkolik hepatosteatozda kolestatik karaciğer hastalıklarında karaciğer yağlanmasında ve karaciğer tümörlerinde serum aminotransferazları hafifçe artar. Daha ciddi hepatosellüler hasarlarda mitokondri membranında da hasar olur ve mitokondrial AST salınımı ile sonuçlanır. Böylece AST/ALT oranı yükselir (Fickert ve Zatloukal 2000).

1.10.3 Kreatinin

Kreatinin, normal kas metabolizmasının enzimatik olmayan bir ürünüdür. Kreatinin bütün vücut sıvılarına yayılır fakat tekrar kullanılmaz. Böbreklerden başlıca glomerular filtrasyon yoluyla uzaklaştırılır. Kreatinin, kas metabolizmasının bir ürünü olduğundan kas miktarı serum konsantrasyonunu etkileyebilir. Kreatin aminoasit metabolizması bir yan ürünü ve kas dokuları için enerji kaynağıdır. Kanda dehidrojenize formu olan kreatinin şeklinde taşınır. Kreatin karaciğer böbrek ve pankreasta sentezlenir ve kan yoluyla kas ve beyin gibi organlara taşınır, fosforillenir ve fosfokreatin şeklini alır. Fosfokreatin yüksek enerjili bir bileşiktir. Kreatinfosfatın ve kreatinin molekül içi değişimi bu bileşiklerinin kas derişiminin metabolik yolunun bir özelliğidir. Kaslardaki kreatin'in bir kısmı anhidrat formu olan kreatinine dönüşür. Bu oran günde %1-2 civarlarındadır. Endojenik kreatinin üretim oranı kas kütlesiyle yaş ve cinsiyetle doğrudan orantılıdır. Erkeklerde idrarla atılan kreatinin miktarı 1,5g/dl iken kadınlarda bu oran 1,2g / dl dir. (Tietz 1987) Kreatin, genellikle kırmızı etten günde ortalama 1,2g alınır. Kırmızı etteki kreatin içeriği yaklaşık 4g/kg. (Hulmant ve diğ. 1996) Tamamen kreatin yokluğunda vücut besinlerle alınan kreatin içeriğinin yalnızca %70 ile %80 alır. Kreatin enzimatik olmayan dehidrasyon tepkimeyle sabit bir oranda kreatinine dönüşür, bu oran vücut kas kütlesiyle orantılıdır. Kreatin ihmal edilebilir düzeyde idrarla atılabilir. Ancak kreatinin glomerüler filtrasyonunun (25mg/kg/gün) derişimi analiz ve renal fonksiyonlar hakkında fikir edinilmesini sağlar. Bu günlerde popüler bir hile olarak kas performansını arttırmak amaçlı kreatin katkı diyeti sporcular tarafından kullanılmaktadır. Burada amaçlanan dokulardaki fosfokreatin değerini büyük oranda arttırmak ve ATP nin rejenarasyonunu hızlandırmak ve bu yolla kas aktivitesinde bir patlama yaratmaktadır (Culpepper 1998).



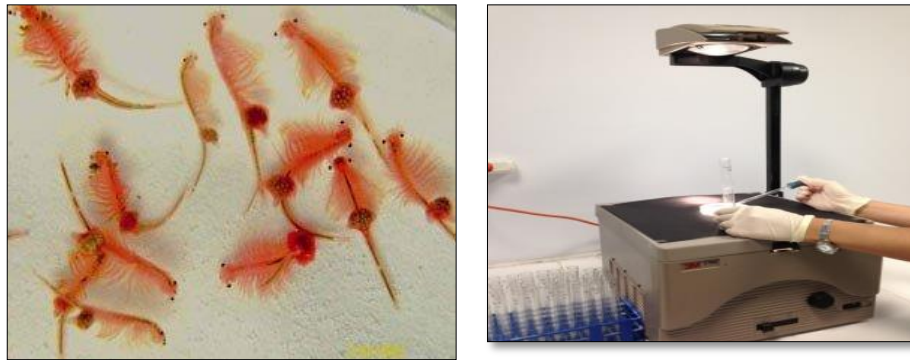
Şekil 1.9: Kreatinin molekülün metabolik yolağı (Tietz 1987).

1.11 Tuzlu su Karidesi (*Brine-Shrimp Artemia salina* L.) Toksikite Testi

Bitkilerde bulunan fitokimyasalların biyolojik aktiviteleri ile bitki bileşiklerini taramak için geliştirilmiş basit biyo-testler, bitki ekstraktları için bir kılavuz olarak kullanılabilir. Biyo-testlerin pratik kullanımında seçilecek olan canlı modelin yaşam döngüsünün herhangi bir aşamasının olası kontaminantlara karşı dayanıklı olması, kolay elde edilebilir olması ve kolay kültüre edilebilmesi gerekmektedir (Wells 1999). Bitkisel ilaçların olası advers (yan) etkilerinin hızlı sonuç veren bir belirteci olarak (*Artemia salina*) Brine Shrimp Lethality (BSLA) Assay, uygun bir test yöntemidir. Brine shrimp (*Artemia salina*), kültürünün kolay yapılabilmesi, kısa jenerasyon zamanı, kozmopolit yayılım ve ticari olarak dormant yumurtalarının elde edilebilmesi nedeniyle kısa süreli toksisite testi için bir test organizması olarak popülaritesini arttırmıştır (Persoone ve diğ. 1989).

BSLA, LC₅₀ düzeyinin tespitinde de kullanılan toksisite testlerindedir. Bu larvalar, günümüzde biyolojik aktiviteleri araştırılan örneklerin ve bitkisel içeriklerin sitotoksitesinin belirlenmesinde etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Sharififar ve diğ. 2009). Ayrıca fungal toksinlerin, ağır metallerin, cyanobacteria toksinlerinin, pestisitlerin ve diş hekimliğinde kullanılan bazı maddelerin, sitotoksik etkilerinin araştırılmasında kullanılmaktadır. *Artemia salina* Crustacea alt şubesi, Branchiopoda sınıfı, Anostraca takımına bağlı primitif kabuklular arasında yer alan, doğada tropik ve ılıman bölgelerde 500'ün üzerinde doğal ve yapay tuz gölünde yaşayan bir kabuklu türüdür (Şekil 1.12).

Artemia salina larvaları, günümüzde biyolojik aktiviteleri araştırılan örneklerin sitotoksitesilerinin tayininde, oldukça geniş bir şekilde kullanılmaktadır ve toksik maddelerin in-vivo olarak *Artemia salina* larvalarına olan öldürücü etkisi, hızlı ve basit bir yöntem olarak “Brine-Shrimp Lethality Assay”in kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Choudhary ve Thomsen 2001).



Şekil 1.10: *Artemia salina* ve larva sayımı

1.12 Antihelmint Aktivite

Helminthler (solucanlar) hücreleri, dokular ve organlar yapmak üzere özelleşmiş bilateral simetrik kasları çizgisiz eklemli eklemli bulunmayan hayvanlardır. Annelida, Nematoda, Nematomorfa, Acanthocephala, Plathelminthes gibi şubelere ayrılırlar. Helminthler farklı sinir sistemi ve organları ile kompleks çok hücreli organizmalardır. İnsanlar için patojen olan parazitik helminthler yuvarlak (nematodlar) ve yassı kurtlar olarak sınıflandırılır. Yassı kurtlar ayrıca yaprağımsılar (trematodlar) ve şeritler (sestodlar) olmak üzere iki tipe ayrılır (Korkmaz 2006).

Solucanlar insan ve hayvanların vücudunda parazit olarak yaşarlar ve bunlarla ilgili hastalıklara neden olurlar. Sindirim sisteminde bulunan parazitlerin kontrol edilmesi için genellikle antihelmintik ilaçlar kullanılmaktadır (Jackson 1993). Antihelmintikler solunum yolları, karaciğer, göz, kalp, sindirim kanalı gibi yerlerde bulunan iç parazitlere etki eden ilaçlardır. Bu nedenle dış parazitlere etki eden ilaçlardan farklıdır. Parazit nematodlarla savaş yöntemleri içinde kimyasal savaşın uygulamada önemli bir yeri olmasına rağmen, kullanılan sentetik nematisitlerin yüksek toksisiteleri sebebiyle çevre, doğal yaşam ve insan sağlığına olumsuz etkileri olduğu belirlenmiştir (Stirling 1991). Entomolojik araştırmalar kapsamında yüksek öldürücü ya da beslenmeyi engelleyici etkide bulunan bazı bitkisel kökenli maddelerin, nematisit etkilerinin de bulunduğu belirlenerek alternatif yöntemler olarak ön plana çıkmıştır. Doğada yetişen birçok bitki, içerdiği zengin biyoaktif fitokimyasallar sebebiyle, sentetik nematisitlere alternatif potansiyel olarak düşünülmektedir (Tan 2011). Bitkiler alemi pestisit olarak kullanılabilir biyokimyasal yapıdaki birçok maddeyi kapsayan zengin bir depo gibidir. Bitkilerdeki biyokimyasal olaylardan sonra sentezlenen sekonder metabolitler, bitki-zararlı ilişkilerinde önemli rol oynarlar. Shanker ve Solanki (2000) sekonder metabolitlerden en önemlilerinin alkaloidler, glikozidler, fenoller, terpenoidler, taninler, saponinler olduğunu belirtmiştir. Nematisit etki gösteren temel yağların major kimyasal bileşikleri thymol, carvacrol, pulegone, limonene, anethole, geranial ve artemisia ketone olarak bilinmektedir (Oka ve diğ. 2000).

1.13 Çalışmanın Amacı ve Önemi

Günümüzde kullanılan ilaçların çoğunun kaynağına bakıldığında bitki kaynaklı olduğu görülmektedir. Bunun sebebi bitkilerin yapısında bulunan farmakolojik özelliklere sahip olan bileşikler ve biyoaktif maddelerdir. Bitkilerin yapısında glikozit, organik asit, tanen, alkaloid, saponin, kumarin, flavon türevli bileşikler tıbbi kullanımı olan bileşiklerdir. Bu bileşikler birçok hastalığın sebebi olan vücuttaki zararlı serbest radikalleri etkisiz hale getiren antioksidan özelliğe sahiptirler. Yapılan çalışmalarda bitkilerin yapısında bulunan ilaç hammaddesi olan birçok biyoaktif madde izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Doğal zenginliklerimizi kullanarak çok daha ucuza ve kolay olarak kimyasal ham maddeler elde edilebilir ve

Ülkemize önemli bir ekonomik katkı sağlanabilir. Bu alışmada; Türkiye ve Kazakistan'da yayılış gösteren *L. martagon* türünün etanol, metanol, distile su ve aseton ekstraktlarının içermiş olduğu fitokimyasal maddeleri belirlenmesi, antioksidan, enzim, sitotoksik ve antihelmint aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu yol ile bu ekstraktların tıbbi önemi ortaya konularak, bu biyolojik aktiviteleri ile özelliklerinin ilk kez bu çalışmayla araştırılıyor olması çalışmanın özgün değerini arttırmaktadır. Her iki ülkenin *L. martagon* türünün yayılış göstermiş olduğu alanlardan bitki ve toprak örnekleri alınacak, iklim verileri ortaya konularak, toprak ve iklim koşullarının aktif bileşenler üzerinde etkisi ortaya çıkarılacaktır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

2.1.1 Çalışmada Kullanılan *Lilium martagon* L. ve Toprak Materyalleri

Tez çalışması kapsamında materyal olarak Türkiye ve Kazakistan'da yayılış gösteren *Lilium martagon* L. geofit türünün yeraltı ve yerüstü kısımları İstanbul havaalanı (Türkiye) ve Semey Tarbağatay il çevresinden (Kazakistan) toplanılıp kullanılmıştır. Bitki örnekleri, Haziran-Temmuz aylarında toplanıp botanik tanımlama ve adlandırılması Türkiye Florası'na (Davis 1984) ve Checklist 2012'e göre yapılmıştır. Toprak örneği alınırken zig-zag hattın köşelerindeki her noktadan V harfi şeklinde 30 cm derinliğindeki çukur açılmış, daha sonra bu çukurun bir yüzeyi düzelterek bu yüzeyden 3-4 cm kalınlığında bir toprak dilimi alınmıştır. Alınan topraklar bir plastik kovada biriktirilmiştir (Kaçar 1972).

Tablo 2.1: Bitki materyalinin toplanma lokaliteleri

Ülke	Toplandığı Lokalite	Rakım
Türkiye	İstanbul: İstanbul Havaalanı	41°14'25.6"N 28°43'24.8"E 41°14'18.2"N 28°43'32.6"E 41°14'18.8"N 28°43'29.0"E
Kazakistan	Semey: Tarbağatay ili	47°58'30.6"N 80°23'40.7"E 47°58'34.8"N 80°23'39.9"E 47°58'34.3"N 80°23'33.4"E

2.1.2 Bitkilerin Kurutulması

Çiçeklenme dönemlerine göre buldukları bölgelerden toplanan bitkiler laboratuara getirildikten sonra temizlenmiş ve yıkanmıştır. Temizlenip, yıkanan bitkilerin toprak altı ve toprak üstü kısımları ayrıldıktan sonra, doğrudan güneş ışığı almayan havadar laboratuvar ortamında kurutulmuştur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Bitki materyali *Lilium martagon* L.

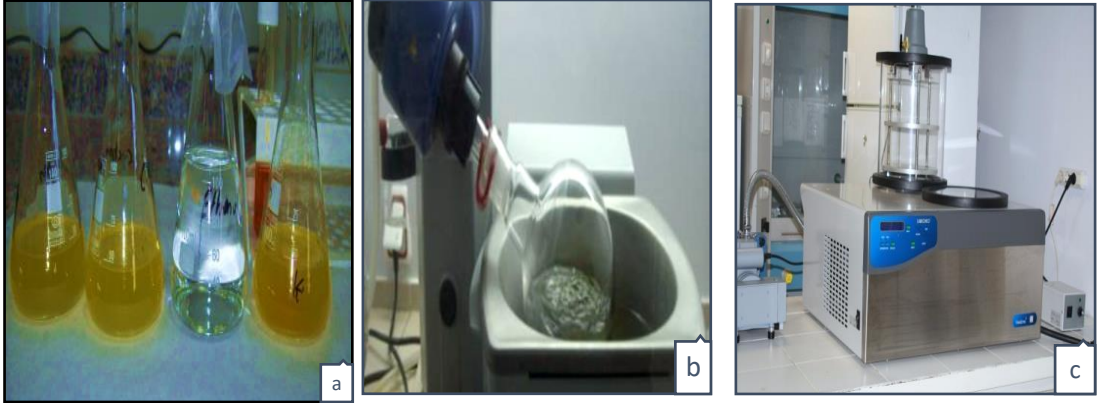
2.1.3 Kullanılan Kimyasallar

Bu çalışmada etanol, metanol, aseton, β -karoten, linoleik asit, polyoksietilen sorbitan monolaurat (Tween 20), kloroform (CHCl_3), Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT), sülfürik asit (H_2SO_4), sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4), amonyum molibdat ($\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$), deiyonize distile su, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2'-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat) (ABTS), potasyum persülfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), demir-II-klorür (FeCl_2), 3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazin-4',4''-disülfonik asit sodyum tuzu (Ferrozine), etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), demir-III-klorür (FeCl_3), hidroklorik asit (HCl), askorbik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), tripiridil triazin (TPTZ), troloks [(\pm)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit], sodyum karbonat (Na_2CO_3) Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR), gallik asit, quercetin, Alüminyum klorür (AlCl_3), vanilin reaktifi, kateşin, Alfazin, Ketamin, asetat tamponu kimyasalları kullanılmıştır.

2.2 Yöntemler

2.2.1 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Toplanan bitkiler gölgede, laboratuvar ortamında kurutulduktan sonra yer altı ve üstü kısımlar blender ile parçalandıktan sonra çalkalamalı su banyosunda (Mammert, SV 1422) 55 °C’ de 6 saat süresince etanol, metanol, aseton ve distile su çözücülerini kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Bunun için toplam 200 g kuru bitki örneği kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi iki kere tekrarlanmıştır. Ekstraksiyonun ardından sıvı kısım süzgeç kağıdı ile süzülerek alınmıştır. Elde edilen ekstraktların çözücü kısımları rotary evaporatörde (IKA RV 10D) 45-50 °C’ de uzaklaştırıldıktan sonra yapılarındaki su ise liyofilizatörde (Labconco FreeZone) dondurularak çekilmiştir (Mammadov 2009). Elde edilen ham ekstraktlar çalışmalarda kullanılmak üzere koyu renkli cam şişelere alınarak -20 °C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.2: A. Çözücü ile ekstrakte B. Rotary evaporatörde çözücü uçurma C. Liyofilizatörde dondurularak su çekme

2.2.2 Antioksidan Aktivite Analiz Yöntemleri

2.2.2.1 β -Karoten/Linoleik Asit Yöntemi

Total antioksidan aktivite, linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerin ve uçucu organik bileşiklerinin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenmiştir (Amin ve Tan 2002). Bu metod linoleik asidin ısı ve hava oksidasyonu ile serbest radikal zincir reaksiyonu

sonucu oluşan alkil peroksitler tarafından β -karotenin renk açılımının izlenmesi temeline dayanır (Wang ve diğ. 2006). Reaksiyon mekanizması; Bir mililitre β -karoten çözeltisi (0.2 mg/mL kloroform), 0.02 mL linoleik asit ve 0.2 mL % 100 Tween 20 içeren karışım yuvarlak tabanlı bir şişede karıştırılmıştır. Kloroform, ultrasonik su banyosu cihazı kullanarak buharlaştırılmıştır. Daha sonra, karışım 100 mL distile su ile seyreltilmiştir. Ekstraktlar (1 mg/mL) bu emülsiyonla (24 mL) karıştırıldı ve ilk absorbanslar hemen 470 nm'de bir spektrofotometre (Shimadzu UV-1601, Japon) ile ölçüldü. Tüpler 50°C'de inkübasyona bırakılmış ve β -Karotenin rengi kayboluncaya kadar inkübasyona devam edilmiştir (120 dakika). Bu test sisteminde BHT pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Tüm testler üç kere tekrarlanmıştır. Toplam antioksidan aktivite aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$AA: [1 - (A_0 - A_t) / (A^0_0 - A^0_t)] \times 100$$

Burada A_0 örneğin ilk absorbansı, A_t kontrolün ilk absorbansı, A^0_0 örneğin 120 dksonraki absorbansı, A^0_t kontrolün 120 dk sonraki absorbansıdır.

2.2.2.2 Fosfomolibden Yöntemi Kullanılarak Toplam Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi

Bu yöntem, özüt 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 (Prieto ve diğ. 1999). İçerisinde 3 mL ekstraktlar (0.2-1.0 mg/mL), bulunan test tüplerine 3.0 ml reaktif çözeltisi (0.6 M sülfürik asit, 28.0 mM sodyum fosfat ve 4.0 mM amonyum molibdat) ilave edilmiştir. Test tüpleri 95 °C'de 90 dk inkübe edildikten sonra oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve köre karşı 695 nm'de absorbans değerleri tespit edilmiştir. Ekstraktların toplam antioksidan kapasiteleri standart askorbik asit eşdeğeri olarak verilmiştir.



Şekil 2.3: Antioksidan deneylerin yapılması

2.2.2.3 DPPH Serbest Radikal Giderim Kapasitesinin Belirlenmesi

Ekstraktların serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlenmiştir (Meriga ve diğ. 2012). Bu test yöntemi, kararlı serbest radikal DPPH'nin elektron veya hidrojen atomları veren antioksidan kimyasalların varlığında, bu kimyasallar tarafından süpürülmesi (temizlenmesi) ile karakteristik, mor rengin açılmasının spektrofotometrik olarak belirlenmesi temeline dayanır (Wu ve diğ. 2006). 0.004 gr DPPH 100 mL metanol çözeltisiyle karıştırılıp farklı konsantrasyonlarda (0.2 ila 1.0 mg/mL) ekstraktlar (1 mL) üzerine 4 mL eklenmiştir. Oda sıcaklığında karanlık ortamda 30 dakika süresince inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda örneklerin absorbansı spektrofotometrede 517 nm'de ölçülmüştür. Standart kontrol olarak BHT kullanılmıştır. Absorbans değerleri kullanılarak serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitlikten faydalanılarak hesaplanmıştır:

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

Elde edilen % inhibisyon değerleri, mg/mL olarak belirlenen özüt derişimlerine karşı grafiğe geçirilmiştir. Bu değerlerden ve DPPH'in kalibrasyon eğrisinden faydalanarak her bir bitki için DPPH serbest radikalinin yarısının süpürüldüğü andaki bitki ekstresi konsantrasyonu IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. IC₅₀ değeri ile antioksidan aktivite arasında ters orantı vardır. IC₅₀ değeri ne kadar

düşükse antioksidan aktivite o kadar yüksektir (Burnaz 2007). IC₅₀ değerlerinin bulunması için farklı konsantrasyonlarda çalışmak gereklidir. Bu nedenle çalışmalarımızda beş veya sekiz konsantrasyonda ölçüm yapılmıştır. Numunelerin yeterli miktarda farklı konsantrasyonları hazırlanıp; absorbans ölçümleri yapılır ve absorbanslar konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilir. Maksimum absorbansın yarısına karşılık gelen konsantrasyon miktarı IC₅₀ değerini verir.

2.2.2.4 ABTS Katyon Radikali Giderme Aktivitesi

ABTS katyon radikal giderim aktiviteleri 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak belirlenmiştir (Shalaby ve Shanab 2013). ABTS (7mM) ve potasyum persülfat (2.45 mM) distile su ile çözülmüştür ve oda sıcaklığında 12-16 saat karanlıkta bekletilmiştir. Deney zamanı absorbans 734 nm'de 0.700 olacak şekilde etanol ile seyreltilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda (0.2-1.0 mg/mL) ekstraktlar (1 mg/mL) hazırlandıktan sonra her tüpe 9 mL ABTS çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra çözeltilerin absorbansları 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 734 nm'de okunmuştur. Sonuçların IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Pozitif kontrol olarak askorbik asit kullanılmıştır. ABTS katyon radikal giderme aktivitesi aşağıdaki fomüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{ABTS radikal giderme aktivitesi (\%)} = ((A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / (A_{\text{kontrol}})) \times 100$$

2.2.2.5 Metal Şelatlama Kapasitesinin Belirlenmesi

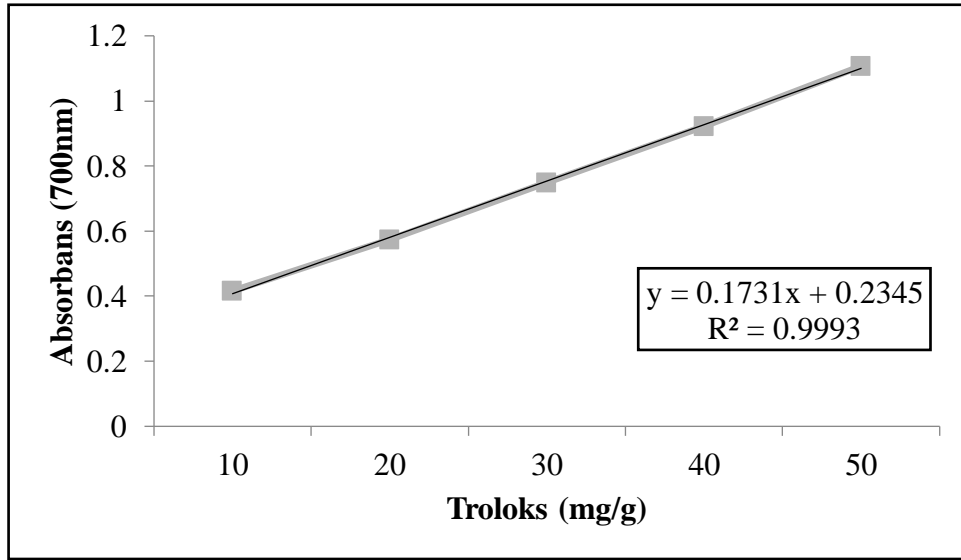
Örneklerin Fe²⁺ iyonlarını şelatlama kapasiteleri Dinis ve ark. (1994) tarafından belirtilen yöntemle tespit edilmiştir. Bir mililitre ekstrakt (1 mg/mL), 3.2 mL distile su, (0.1 mL) 2 mM FeCl₂ ve (0.2 mL) 5 mM ferrozin ilave edilerek reaksiyon karışımı başlatılmıştır. Çözelti karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakılmış ve daha sonra 562 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Bu test sisteminde EDTA pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Ferrozin-Fe²⁺ kompleks oluşumunun yüzde inhibisyonu, aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Metal şelatlama kapasitesi (\%)} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

2.2.2.6 Demir (III) İndirgeme /Antioksidan Kuvvet (FRAP) Kapasitesi

Bitki ekstraktlarının indirgeme gücü Aktümsek metoduna göre değerlendirilmiştir (Zengin ve Aktümsek 2014). Ortamdaki indirgen madde Fe^{3+} iyonlarını Fe^{2+} iyonlarına indirger ve $FeCl_3$ ilavesiyle oluşan Prusya mavisi rengindeki kompleksin absorbansı ölçülür. Yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme kapasitesinin göstergesidir. Bu amaçla 1 mg/mL şeklinde ekstraktlar kullanılmıştır. Bu ekstraktan 0.1 mL alınıp üzerine 2 mL FRAP reaktif karışımı eklenmiştir. Reaktif karışımı 10:1:1 oranında asetat tamponu (0,3 M pH 3,6), 40 mM HCl içinde 10 mM TPTZ ve 20mM $FeCl_3$ içerir. Bu şekilde hazırlanan tüpler 30 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir ve absorbansları 593 nm'de okunmuştur. Standart kontrol olarak troloks eşdeğeri kullanılmıştır.

$$\text{Absorbans} = 0,1731\text{troloks (mg/g)} + 0,2345 \quad (R^2 = 0,9993)$$



Şekil 2.4: Troloks kalibrasyon grafiği

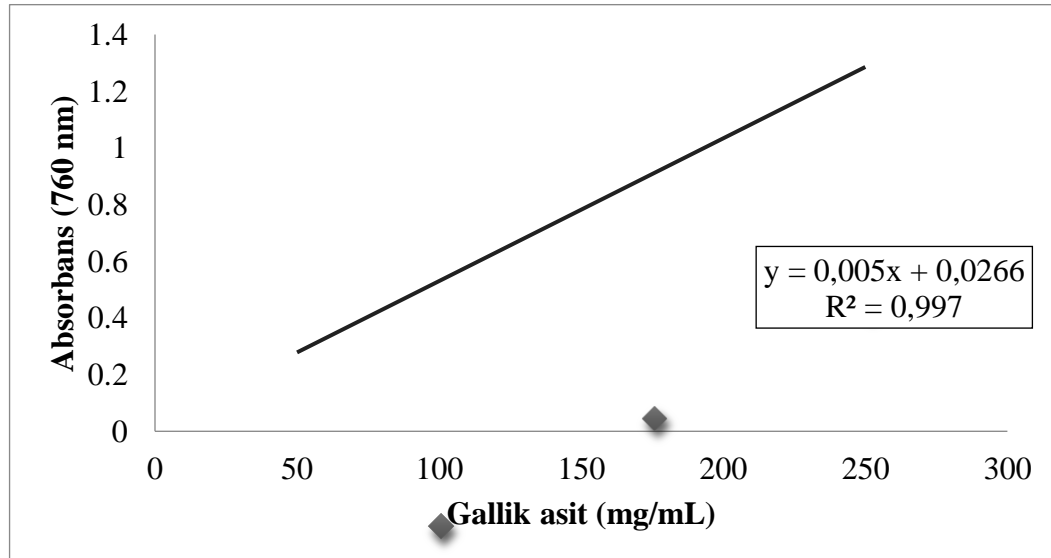
2.2.3 Sekonder Metabolit Miktar Tayini

2.2.3.1 Folin-Ciocalteu Ayırıcı (FCR) ile Toplam Fenolik Madde Miktarı

Ekstraktların toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) kullanılarak gallik asite eşdeğer olarak (mg/mL GAE) belirlenmiştir (Slinkard ve Singleton 1977). Metot, suda ve diğer organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik

bileşiklerin folin reaktifiyle alkali ortamda renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan mor menekşe renkli kompleks 700 nm’de maksimum absorbans oluşturur. Bu metota göre, 1 mg ekstrakt 1 mL metanolde çözülmüştür. 46 mL distile su ve 1 mL FCR ekstrakt ile karıştırıldıktan 3 dk. sonra %2’lik Na₂CO₃’dan 3 mL eklenmiştir. 2 saat süresince oda sıcaklığında inkübasyona bırakılıp periyodik aralıklarla çalkalanmıştır. Süre sonunda çözeltilerin absorbansları UV Spektrofotometresi’nde 760 nm’de okunarak toplam fenolik madde miktarları; gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden sonuçlar gallik asit eşdeğerini (mg/GAE mL ekstrakt) kullanarak hesaplanmıştır.

$$\text{Absorbans} = 0.005 \text{ gallik asit (mg/mL)} + 0.0266 \text{ (R}^2 = 0,997\text{)}$$



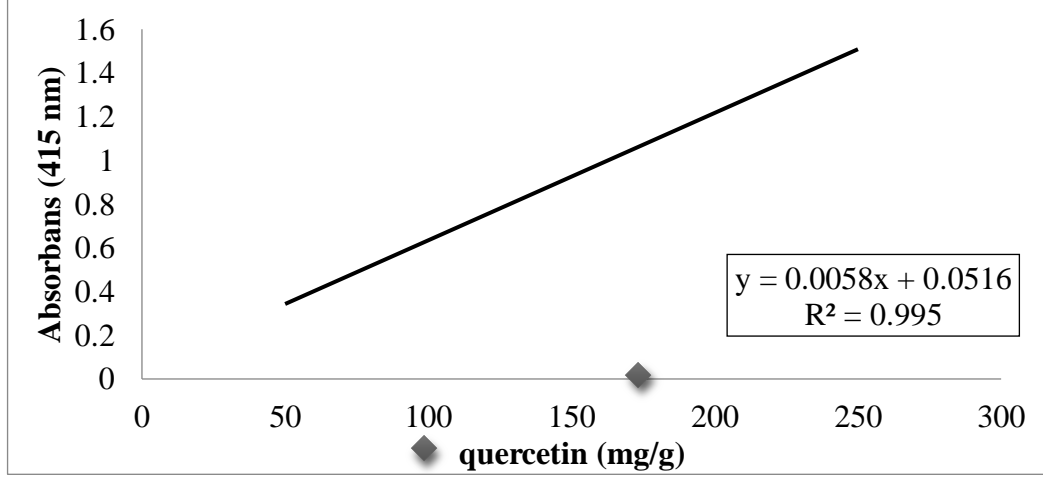
Şekil 2.5: Gallik asit kalibrasyon grafiği

2.2.3.2 Toplam Flavonoid Madde Miktarı

Ekstraktların toplam flavonoid bileşik miktarları Arvouet-Grand ve diğ. (1994) tarafından belirlenen yöntem kullanılarak quercetin’e eşdeğer olarak olarak belirlenmiştir. İçerisinde 1.0 mL özüt çözeltisi (2.0 mg/mL) bulunan test tüplerine % 2.0’lik 1 mL metanolde hazırlanmış AlCl₃ çözeltisi ilave edilip oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Kör örnek 1.0 mL özüt çözeltisi (2.0 mg/mL) ve 1.0 mL metanol içermektedir. Absorbans ölçümleri 415 nm’de gerçekleştirilmiştir. Sonuçta ekstraktların toplam flavonoid madde içerikleri kuersetine eşdeğer

(mgQE/g) olarak verilmiştir. Özütlelerin toplam flavonoid bileşik miktarları standart quercetin grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir:

$$\text{Absorbans} = 0.0058 \text{ quercetin (mgQE/g)} + 0.0516 \quad (R^2 : 0.995)$$

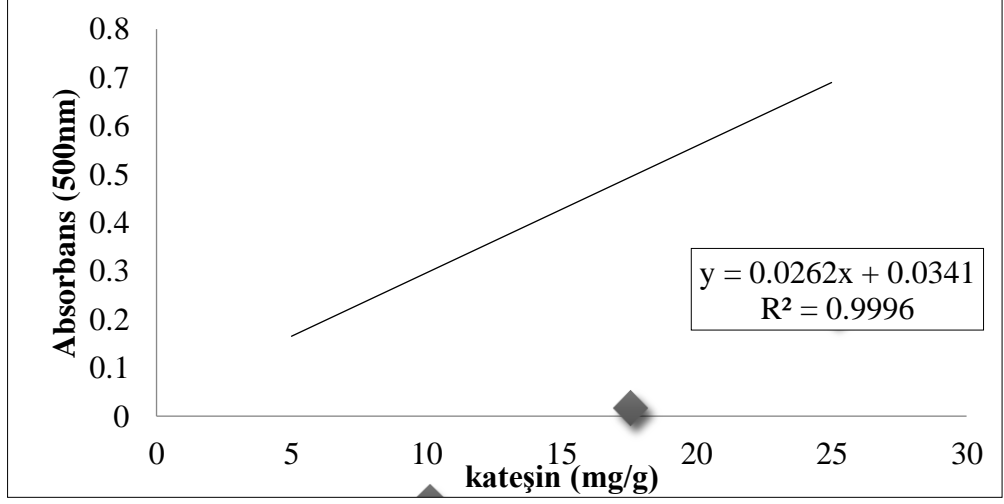


Şekil 2.6: Quercetin kalibrasyon grafiği

2.2.3.3 Toplam Tanen Miktarı

Ekstraktların toplam tanen bileşik miktarları Bekir (2013) tarafından belirlenen vanilin yöntemi kullanılarak kateşin'e eşdeğer olarak belirlenmiştir. Test tüplerine konulan ekstraktlar (0.5 mL) buzda 1.5 mL vanilin reaktifi (7M H₂SO₄ içerisinde %1 vanilin) ile karıştırılmıştır. Daha sonra karışım, oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Solüsyon absorbansları 500 nm'de ölçülmüştür. Tanen içeriği, kateşin eşdeğeri (mgCE/g) olarak ifade edilmiştir. Özütlelerin toplam tanen bileşik miktarları standart kateşin grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir:

$$\text{Absorbans} = 0.0262 \text{ kateşin (mgCE/g)} + 0.0341 \quad (R^2 = 0.9996)$$



Şekil 2.7: Kateşin kalibrasyon grafiği

2.2.4 Bitki Ekstraktlarındaki Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Analizi

Kromatografi biri sabit diğeri hareketli olmak üzere iki farklı faz arasında karışımdaki maddelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak ayrılması tekniğidir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), en yaygın olarak kullanılan analitik tekniklerden bir tanesidir (Tomruk 2005). Bitki ekstraktlarındaki fenolik madde analizleri HPLC kullanılarak Gomes ve diğ. (2006)'ne göre tespit edilmiştir. Fenolik bileşiklerin HPLC analizi için öncelikle 15 farklı fenolik bileşikler standardının ayrı ayrı kalibrasyon grafiği çizilerek analiz metodu geliştirilmiştir. Örneklere ait kromatogramlar üzerindeki piklerin hangi fenolik bileşiğe ait olduğu esas olarak standart fenolik maddelerin geliş zamanları ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

Kullanılan standart fenolik maddeler: Gallik asit, 3,4-dihidroksi benzoik asit, 4-hidroksi benzoik asit, 2,5-dihidroksi benzoik asit, klorojenik Asit, vanilik Asit, kafeik Asit, epikateşin, P-kumarik Asit, ferulik Asit, rutin, ellajik asit, naringin, kuersetin ve sinamik Asit. HPLC'de fenolik bileşik analizleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Laboratuvarı'nda hizmet alımı ile yaptırılmıştır. HPLC ile ilgili koşullar aşağıda sunulmuştur:

CBM: 20ACBM

Dedektör: DAD (SPD-M20A) (280 nm dalga boyunda çalışılmıştır)

Kolon Fırını: CTO-10ASVp

Pompa: LC20-AT

Autosampler: SIL- 20ACHT

Bilgisayar Programı: LC Solution

Mobil Faz (Hareketli faz): A: %3 Formik asit B: Metanol (HPLC analizinde Gomes ve diğ., (2006)'nun metodu modifiye edilerek kullanılmıştır; 0.2 g numune tartılmış, Mobil fazda çözülmüş, 0,45 µm filtreden geçirilip HPLC sistemine enjekte edilmiştir.

2.2.5 Toprak ve Bitki Örneklerinin Analizi

Lilium martagon türüne ait toprak ve bitki örneklerinin analizi Doktolab tarımsal laboratuvarında hizmet alımı ile yaptırılmıştır. Elde edilen sonuçlar tarafımızdan istatistiksel olarak hesaplanıp değerlendirilmiştir.

2.2.6 Tuzlu Su Karidesi (Brine shrimp-*Artemia Salina*) Yöntemi ile Toksikite Belirlenmesi

Tuzlu su karidesi-Brine shrimp toksisite testi, LC₅₀ (test edilen populasyonun yarısını öldürmek için gereken doz) düzeyinin tespitinde de kullanılan toksisite testlerindedir. *Artemia salina* larvaları, günümüzde biyolojik aktiviteleri araştırılan örneklerin ve bitkisel içeriklerin sitotoksitesinin belirlenmesinde etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Sharififar ve diğ. 2009). Deney, beş farklı bitki ekstraktı konsantrasyonda (100, 200, 300, 400 ve 500 µg/mL) yapılmıştır. *A. salina* yumurtaları, 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 24 saat süre ile aydınlıkta bırakılarak *A. salina* larvalarının (nauplii) yumurtalardan çıkması beklenmiştir. *A. salina* larvaları, yumurtadan çıktıktan sonra ışığın yoğun olduğu bölgeye doğru su içerisinde göç etmektedir (Choudhary ve Thomsen 2001). *A. salina* larvaları, yumurtadan çıktıktan sonra pastör pipet yardımıyla 10 adet seçilmiş ve 4.5 mL deniz suyu içeren deney tüplerine alınmıştır. Her bir tüpe 0.5 mL bitki ekstraktı da eklendikten sonra nauplii'ler 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, masa üstü bir ışık kaynağının yanında yaklaşık 24 saat süre ile aydınlıkta bırakılarak larvalarının (kontrol grubu) düzenekteki yaşayan nauplii'ler ile deney grubu karşılaştırılmıştır. Bütün uygulamalar için % ölüm oranları hesaplanmıştır ve LC₅₀ değerlerinin tespit edilmesinde EPA Probit Analiz Programı (Version 1.5) kullanılmıştır.

2.2.7 Sıçan (*Rattus norvegicus*) Kullanılarak Elde Edilen Biyokimyasal Parametreler

Bitki örneklerinin distile su ekstraktlarının % 0.5'lik ve % 1.0'lik konsantrasyonlarda yeraltı ve yerüstü çözeltileri hazırlanarak deney sıçanlarına (*Rattus norvegicus*) verilmiştir. Bu amaçla 9 grup oluşturulmuş ve her grupta 5 sıçan olacak şekilde deneyde toplam 45 sıçan kullanılmıştır. Bir grup kontrol, diğer 8 grup ise deney grubu olarak düzenlenmiştir. Bitki ekstraktları sıçanların içtikleri suya ilave olarak verilmiştir.

Gruplar

Grup 1: Kontrol grubu A: Fizyolojik su verilmiştir.

Grup 2: Türkiye örneği yeraltı ekstraktı % 0.5 konsantrasyonda solüsyon

Grup 3: Türkiye örneği yeraltı ekstraktı % 1.0 konsantrasyonda solüsyon

Grup 4: Türkiye örneği yerüstü ekstraktı % 0.5 konsantrasyonda solüsyon

Grup 5: Türkiye örneği yerüstü ekstraktı % 1.0 konsantrasyonda solüsyon

Grup 6: Kazakistan örneği yeraltı ekstraktı % 0.5 konsantrasyonda solüsyon

Grup 7: Kazakistan örneği yeraltı ekstraktı % 1.0 konsantrasyonda solüsyon

Grup 8: Kazakistan örneği yerüstü ekstraktı % 0.5 konsantrasyonda solüsyon

Grup 9: Kazakistan örneği yerüstü ekstraktı % 1.0 konsantrasyonda solüsyon

Sıçanlardan kan alma işlemi solüsyonlar içirilmeye başlamadan önce, içirilmeye başlandıktan 15.gün ve 30. gün sonunda olmak üzere üç kez tekrarlanmıştır. Sıçanlara yapılan cerrahi müdahale öncesi hepsinin aynı tür ve 300-

340 gr ağırlığında olmasına özen gösterilmiştir. Anestezik olarak Alfazin (50 ml) ve Ketamin (10 mL) kullanılmıştır. 40cc Ketamin ve 60cc Xylazine (Alfazine) bir enjektöre çekilerek karıştırılmıştır. Her bir sıçana hazırlanan karışımdan intraperitoneal (p) bölgesinden enjektörle 30cc anestezik madde verilmiştir. Sıçanlarda anestezikler etkisini gösterene kadar beklenmiş kardiyaktan enjektör yardımıyla 10 cc kan alınmıştır ve santrifüj edilmiştir. Alınan serum test edilinceye kadar -20 °C de saklanmıştır. Serumda; karaciğer enzimlerinin belirleyici değerlerini bulmak için İzmir’de yer alan özel bir Laboratuvarda Alanin amino transferaz (ALT), Alkalin fosfataz (ALP), ayrıca Kreatinin değerleri tespit ettirilmiştir.

ALT, L-alanin ile 2-Oksoglutarat arasındaki reaksiyonu katalizler. Üretilen piruvat laktat dehidrogenaz (LDH) ve Nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) tarafından laktat indirgenir. Fotometrik olarak ölçülen NADH konsantrasyonundaki düşüş oranı, numune içinde mevcut ALT katalitik konsantrasyonu ile orantılıdır. Dalga boyu 340 nm’de absorbans düşmesi ile takip edilir. Bu metod IFCC’ye (2002) göre yapılmıştır.

ALP alkali koşullar altında 4-nitrofenol ve inorganik fosfatın hidrolizini katalizler. Fotometrik olarak ölçülen 4-nitrofenol oluşum hızı, numunede bulunan alkalik fosfatın katalitik konsantrasyonu ile orantılıdır. Reaksiyon süreci enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak 405 nm’de ölçümü yapılır. Bu metod IFCC’ye (2002) göre yapılmıştır.

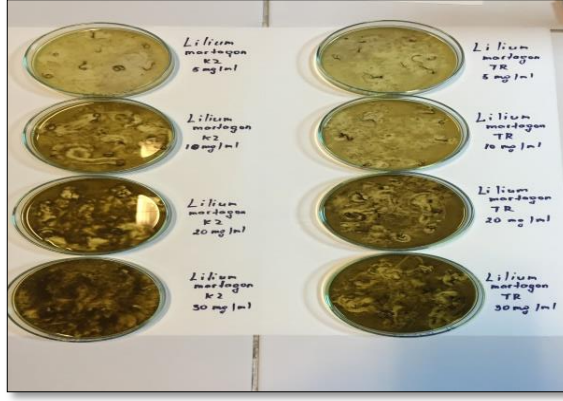
İlk reaksiyonda, kataliz ile elimine edilen hidrojen peroksit üretmek üzere endojen kreatinin enzimatik hidrolizinde, kreatinaz ve sarkozin oksidaz kullanılmaktadır. Kreatinaz ile kreatinden üretilen kreatinin, hidrojen peroksit üretmek için kreatinaz ve sarkosin oksidaz ile hidrolize edilir. Bu yeni oluşan hidrojen peroksit, kromojen olarak N-ethyl-n-sulphopropyl-mtoluidine (TOPS)/4-AA ile peroxidaz tarafından katalize edilen birleşik reaksiyonda ölçülmüştür. Oluşan renk yoğunluğu 546 nm’de takip edilmiştir.



Şekil 2.8: A. Deneş hayvanları B. Hayvandan kan alma işleml

2.2.8 Antihelmint Aktivitesinin Belirlenmesi

Antihelmint aktivite deneyi Dask ve ark. (2010)'nın belirlediği yöntemle göre küçük değişikliklerle yapılmıştır. Deneyler için helmint (nematod) örneği olan *Tubifex tubifex* (Annelida) seçilmiştir. İnsanlarda bağırsaklarda yaşayan yuvarlak kurt parazitine anatomik ve fizyolojik olarak benzerlik göstermektedir. Ayrıca elde edilmesi oldukça kolay olmaktadır. Bunun için helmint örnekleri lokal marketlerden hazır olarak satın alınmıştır. Ortalama büyüklükleri 1-2 cm arasında değişmektedir. Deneş prosedürü olarak örneklerin metanol ekstraktlarının distile su içinde dört farklı konsantrasyonda 20 mL olacak şekilde (5, 10, 20 ve 30 mg/mL) petri kaplarına konulmuştur ve 6' şar adet helmint canlı olarak petri kaplarına eklenmiştir. Kontrol olarak albendazol kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak distile su kullanılmıştır. Daha sonra süre tutularak paraliz ve ölüm zamanı dakika olarak kaydedilmiştir. Paraliz zamanı hiçbir hareket gözlenmediğinde; ölüm zamanı ise petri kapları çalkalandığında hiçbir hareket olmaksızın ve nematodların renkleri solduğu zaman kaydedilmiştir.



Şekil 2.9: Helmint örneklerinin gruplandırılması

2.2.9 İstatistik Hesaplamalar

Tüm analizler üç paralel testin ortalaması ve standart sapması \pm SE (standart hata) olarak verilmiştir. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi MINITAB İstatistik Paketi programı kullanılarak ANOVA Varyans Analizleri yardımıyla Tukey testiyle yapılmıştır. P değerinin 0.05'ten küçük olduğu durumlar anlamlı olarak kabul edilmiştir ($P < 0.05$).

3. BULGULAR

3.1 Antioksidan Aktivite Tayini Bulguları

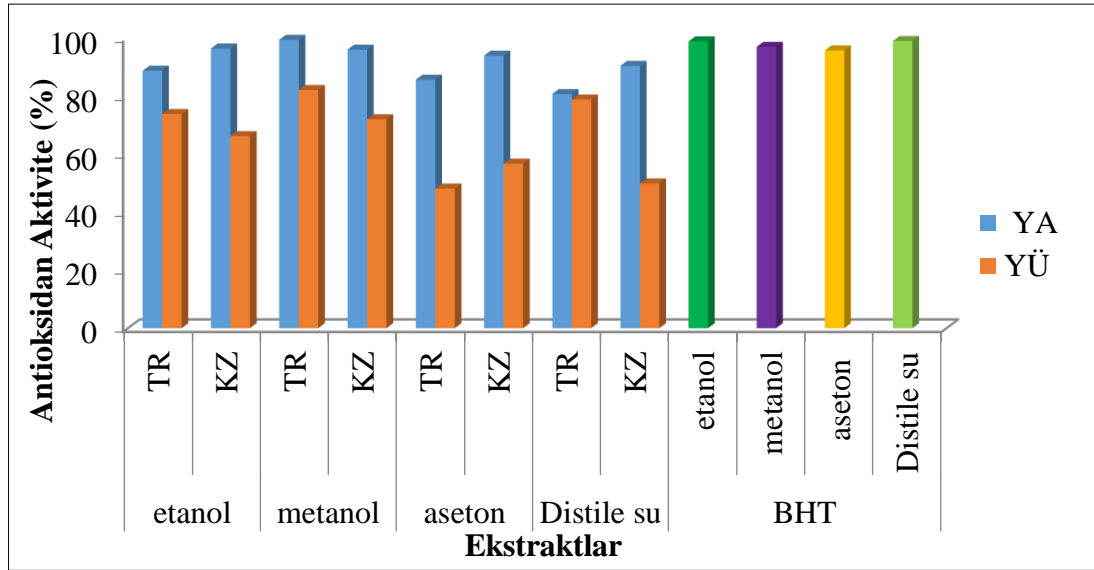
3.1.1 Toplam Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

β -Karoten-linoleik asit sistemi yöntemi, emülsiyondaki linoleik asit oksidasyonu sonucu oluşan serbest radikallerin β -karoten'le reaksiyonundan oluşan sarı rengin zaman içerisinde kaybolmasına dayanmaktadır. Antioksidan varlığı rengin açılmasını önlemektedir (Kulisic 2004). β -karoten lineolik asit sisteminde test süresi 120 dakika boyunca sarı rengin solmasını önlenmesi yüksek potansiyel antioksidan varlığını göstermektedir. Bu yöntemle bitki türünün etanol, metanol, aseton ve distile su ekstraktlarının toplam antioksidan aktiviteleri ölçülüp, sentetik antioksidan olan BHT'nin antioksidan aktiviteleri ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 3.1: Ekstraktların β -karoten/Linoleik asit testinde antioksidan aktiviteleri (%)

Ülke	Ekstrakt	Antioksidan Aktivite (%)			
		Metanol	Etanol	Aseton	Distile Su
Türkiye	Yeraltı	99.28±0.77	88.64±0.35	85.55±7.95	80.59±0.15
	Yerüstü	82.00±0.31	73.74±0.07	48.07±0.09	78.73±0.75
Kazakistan	Yeraltı	95.90±1.45	96.29±0.09	93.81±0.23	90.31±0.25
	Yerüstü	71.91±0.07	66.12±0.84	56.64±0.09	49.84±0.84
	BHT	96.84 ±0.21	98.73±0.02	95.62±0.01	98.86±0.02

Yukarıdaki tablo incelendiğinde en yüksek antioksidan aktivite *L.martagon*' un Türkiye örneklerinin yeraltı metanol ekstraktlarında (%99.28±0.77), en düşük antioksidan aktivite ise Türkiye örneklerinin yerüstü aseton ekstraktlarında (%48.07±0.09) görülmüştür.



Şekil 3.1: *L.martagon* ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri (%)

Yapılan β -karoten linoleik asit emülsiyon sistemi yönteminde bitki ekstraktlarının metanol çözücülerine diğer çözücülere göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuç bize metanol daha yüksek antioksidan molekül içerdiği yönde fikir verir. Bitki ekstraktlarının yer altı kısımlarının daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği Şekil 3.1’ görülmektedir. Ülkeler arası örneklerin toplam antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında ise metanol çözücüsünde en yüksek antioksidan aktivite Türkiye yer altı (99.28 ± 0.77), etanol çözücüsünde Kazakistan yer altı (96.29 ± 0.09), aseton çözücüsünde Kazakistan yer altı (93.81 ± 0.23), distile su çözücüsünde ise Kazakistan yer altı (90.31 ± 0.25) ekstraktlarında tespit edilmiştir.

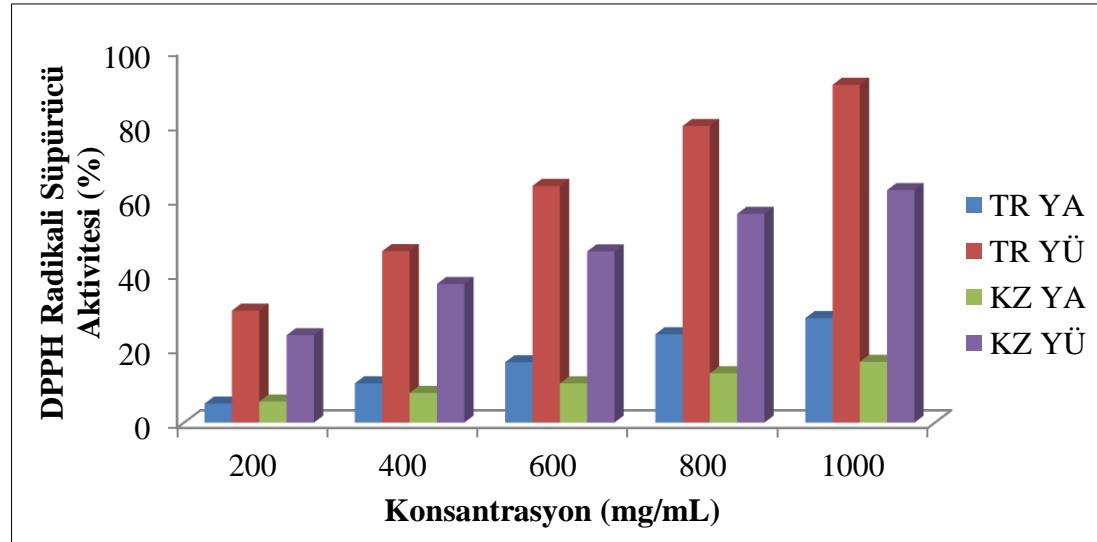
3.1.2 DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi

Bu metotun temeli hidrojen veren gruplara sahip antioksidan maddelerin DPPH radikalini indirgemesine dayanmaktadır. DPPH radikali uzun ömürlü bir azot radikalidir. Antioksidan maddelerin radikal giderme aktivitelerini belirtmek için en sık kullanılan bileşiklerdendir (Özçelik ve diğ. 2003). Bu metotta DPPH radikalinin indirgenmeden önce rengi koyu mor olup antioksidan maddeler tarafından indirgenmediğinde ise açık pembemsi renge dönmektedir. Bu da DPPH radikalinin indirgenip difenil-pikrilhidrazine dönüştüğünü gösterir. Bu metotun temeli hidrojen veren guruplara sahip antioksidan maddelerin DPPH radikalini indirgemesine

dayanmaktadır. DPPH molekülü 517 nm’de yüksek absorpsiyon vermekte iken, indirgendiği zaman antioksidan madde miktarına bağlı olarak absorpsiyonda düzenli bir azalma meydana gelir. Radikal gideren antioksidan veya antiradikal türlerin (AH) varlığında DPPH radikali DPPH-H formuna dönmüştür. İki ülke bitkilerinden hazırlanan etanol, metanol, aseton ve distile su ekstralarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemine göre antioksidan aktiviteleri beş farklı konsantrasyonda (200, 400, 600, 800 ve 1000 mg/mL) belirlenmiştir. Bu çalışmada ekstraktlar arasında en yüksek DPPH serbest radikal giderim kapasitesine sahip Türkiye yer üstü etanol ekstraktında 1000 mg/mL konsantrasyonda (%94.08±0.05), en düşük serbest radikal giderim aktivitesi Kazakistan yeraltı dH₂O ekstraktında 200 mg/mL konsantrasyonda (%3.52±0.43) gözlenmiştir.

Tablo 3.2: Metanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	5.31±0.77	10.98±0.04	16.53±0.06	23.48±0.12	28.98±0.21
	Yerüstü	30.33±0.21	47.00±0.21	64.22±0.09	79.10±0.30	91.36±0.03
Kazakistan	Yeraltı	5.64±0.34	7.99±0.02	10.57±0.04	13.25±0.05	16.33±0.12
	Yerüstü	23.63±0.41	36.65±0.61	45.74±0.13	56.18±0.03	64.04±0.15
BHT		55.20±0.03	67.47±0.01	79.34±0.05	87.76±0.03	97.50±0.04



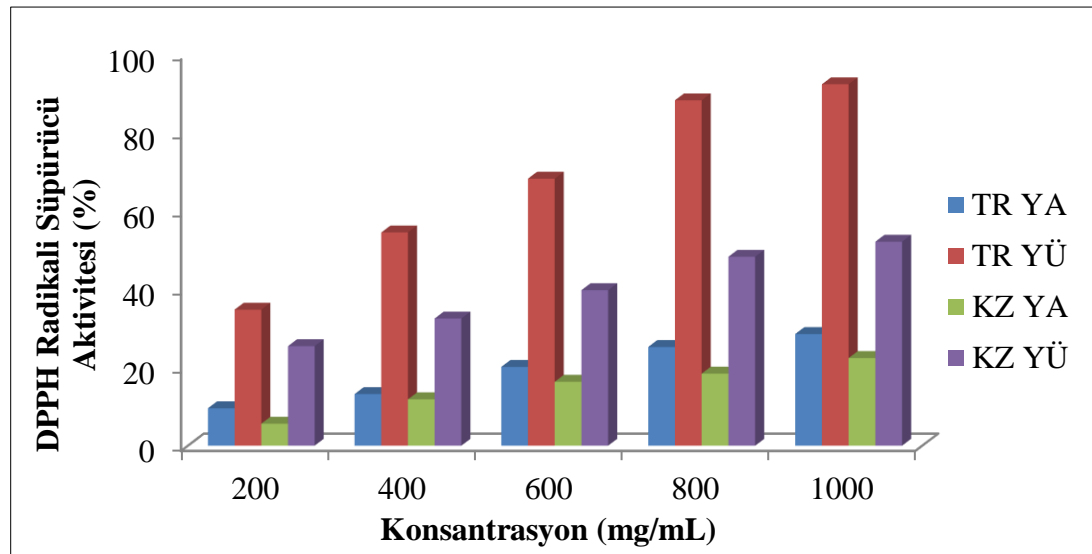
Şekil 3.2: Metanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim kapasitesi sisteminde artan derişim düzeylerine bağlı olarak aktivitede artış gözlenmiştir. 1000 mg/mL konsantrasyonunda çalışılan örneklerin metanollü ekstraktları içerisinde Türkiye

yerüstü (%91.36±0.03) en yüksek aktiviteye sahip iken Kazakistan yeraltı (%16.33±0.12) en düşük aktiviteye sahiptir.

Tablo 3.3: Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	9.87±0.32	13.69±0.23	19.81±0.09	24.78±0.32	28.68±0.05
	Yerüstü	34.73±0.04	53.46±0.31	68.87±0.05	87.67±0.35	94.08±0.05
Kazakistan	Yeraltı	5.62±0.06	11.85±0.05	16.33±0.10	18.40±0.04	22.38±0.09
	Yerüstü	24.65±0.41	32.82±0.06	36.98±0.32	48.54±0.05	53.42±0.04
BHT		83.68±0.02	84.95±0.02	85.75±0.04	90.87±0.03	95.54±0.02

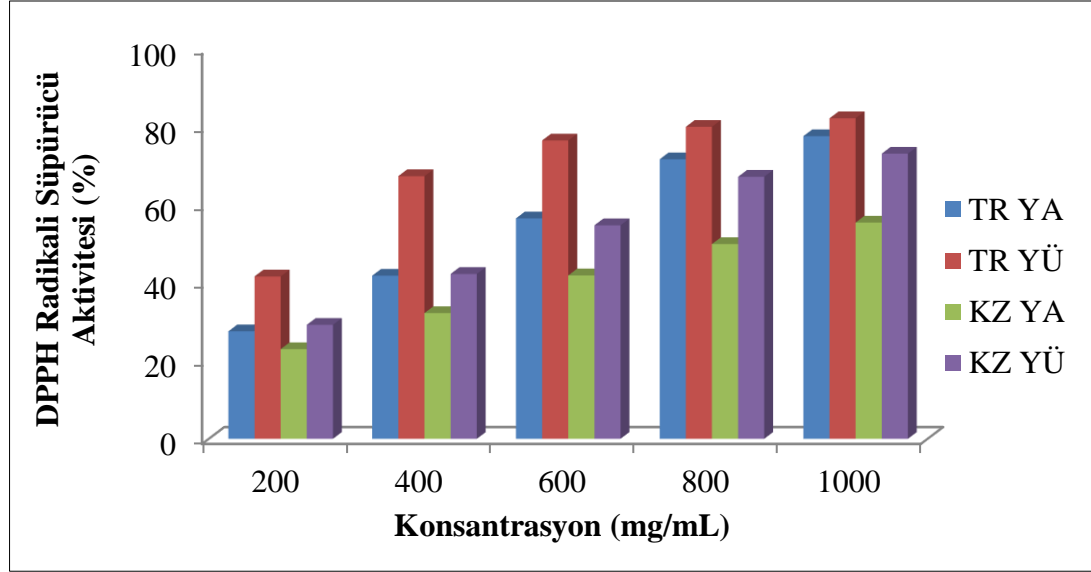


Şekil 3.3: Etanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim kapasitesi sisteminde artan derişim düzeylerine bağı olarak aktivitede artış gözlenmiştir. 1000 mg/mL konsantrasyonunda çalışılan örneklerin etanol ekstraktları içerisinde Türkiye yerüstü (%94.08±0.05) en yüksek aktiviteye sahip iken Kazakistan yeraltı (%22.38±0.09) en düşük aktiviteye sahiptir.

Tablo 3.4: Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	27.92±0.05	41.48±0.43	56.16±0.32	71.09±0.09	78.53±0.02
	Yerüstü	43.02±0.06	66.39±0.31	76.03±0.31	79.97±0.05	84.78±0.10
Kazakistan	Yeraltı	22.33±0.10	31.92±0.31	41.68±0.04	51.02±0.04	55.98±0.21
	Yerüstü	29.56±0.21	42.53±0.04	54.33±0.05	65.63±0.03	74.02±0.23
BHT		49.70±0.03	65.47±0.05	70.23±0.04	75.78±0.02	88.75±0.04

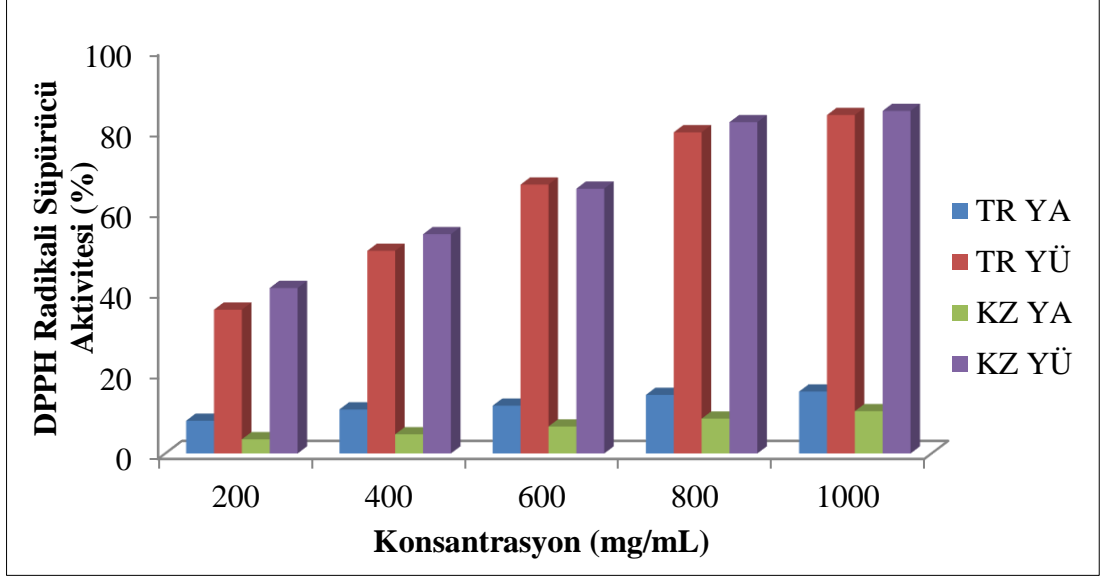


Şekil 3.4: Aseton ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim kapasitesi sisteminde artan derişim düzeylerine bağı olarak aktivitede artış gözlenmiştir. 1000 mg/mL konsantrasyonunda çalışılan örneklerin aseton ekstraktları içerisinde Türkiye yerüstü (%84.78±0.10) en yüksek aktiviteye sahip iken Kazakistan yeraltı (%55.98±0.21) en düşük aktiviteye sahiptir.

Tablo 3.5: Distile Su ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	8.15±0.05	10.46±0.41	11.77±0.32	14.44±0.06	15.45±0.02
	Yerüstü	37.19±0.09	50.15±0.10	65.93±0.31	79.09±0.12	85.02±0.21
Kazakistan	Yeraltı	3.52±0.43	4.75±0.23	6.67±0.04	8.62±0.07	10.46±0.03
	Yerüstü	40.61±0.51	54.56±0.32	66.78±0.36	81.10±0.09	85.66±0.10
BHT		84.56±0.03	86.84±0.05	88.34±0.04	93.45±0.03	94.02±0.03



Şekil 3.5: Distile Su ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim kapasitesi sisteminde artan derişim düzeylerine bağlı olarak aktivitede artış gözlenmiştir. 1000 mg/mL konsantrasyonunda çalışılan örneklerin distile su ekstraktları içerisinde Kazakistan yerüstü (%85.66±0.10) en yüksek aktiviteye sahip iken Kazakistan yeraltı (%10.46±0.03) en düşük aktiviteye sahiptir.

Reaksiyon ortamındaki DPPH radikalinin %50'sinin yok edilmesi için gereken etkili antioksidan konsantrasyonu IC₅₀ değeri olarak tanımlanır ve düşük IC₅₀ değeri yüksek radikal giderme aktivitesinin göstergesidir. Çalışmada kullanılan bitki ekstraktlarının her biri için ayrı ayrı çizilen konsantrasyon-% inhibisyon grafiklerinden IC₅₀ değerleri belirlendi. Elde edilen değerler aşağıdaki tabloda verildi (Tablo 3.6). Düşük IC₅₀ değeri yüksek antioksidan aktivitenin göstergesidir.

Tablo 3.6: Ekstraktlara ait IC₅₀ değerleri (mg/mL)

Ülke	Ekstrakt	Metanol	Etanol	Aseton	Distile su
Türkiye	Yeraltı	1638.24±0.05	1859.12±0.08	445.41±0.08	4689.39±0.12
	Yerüstü	375.33±0.03	325.44±0.06	245.82±0.05	336.01±0.11
Kazakistan	Yeraltı	3551.89±0.10	2351.81±0.14	811.13±0.03	5478.90±0.09
	Yerüstü	631.44±0.09	893.31±0.12	463.74±0.06	300.53±0.02
BHT		0.020±0.001	0.025±0.03	0.036±0.04	0.015±0.02

Çalışılan örneklerin metanollü ekstraktları içerisinde Türkiye yerüstü (375.33±0.03mg/mL) en yüksek antiradikal aktiviteye sahip iken, etanollü

ekstraktları içerisinde Türkiye yerüstü ($325.44 \pm 0.06 \text{ mg/mL}$), aseton ekstraktları içerisinde Türkiye yerüstü ($245.82 \pm 0.05 \text{ mg/mL}$), distile su ekstraktları içerisinde ise Kazakistan yerüstü ($300.53 \pm 0.02 \text{ mg/mL}$) en yüksek antiradikal aktiviteye sahiptir.

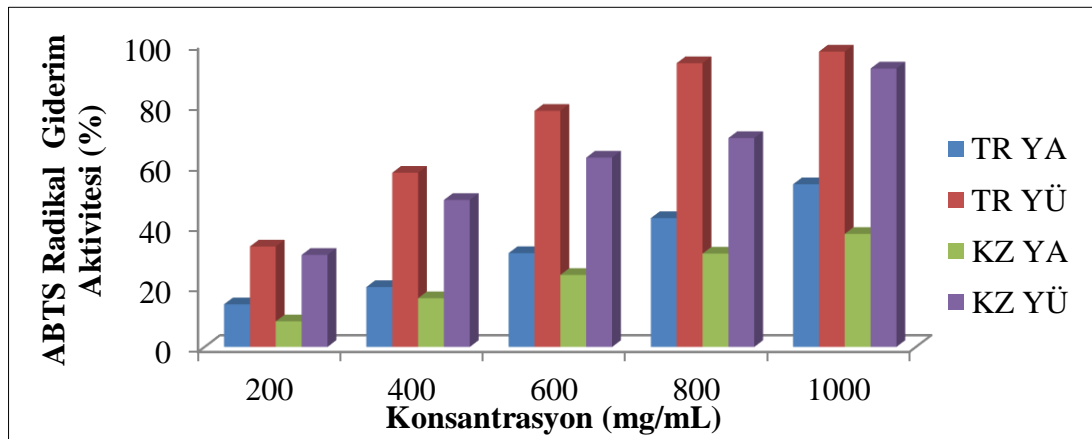
3.1.3 ABTS Radikal Katyonu (ABTS•+) Giderme Aktivitesi

ABTS•+ giderme aktivitesi, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi gibi sulu karışımların, içeceklerin, ekstrelerin veya saf maddelerin radikal giderme aktivitelerinde sıklıkla kullanılan bir metottur. ABTS metodu 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzenotiyazolin-6-sülfonik asid) diamonyum tuzu gibi bir bileşiğin ortamdan yok edilmesine, bir başka deyişle inhibisyonuna dayalı bir antioksidan kapasite belirleme yöntemidir.

Ekstrelerin katyon radikali giderim aktivitesi yöntemine göre antioksidan aktiviteleri farklı konsantrasyonlarda (200, 400, 600, 800 ve 1000 mg/mL) belirlenmiştir. Katyon radikali giderim aktivitesi en yüksek ekstre 99.14 ± 0.32 inhibisyon ile Türkiye yerüstü etanol ekstraktı olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.7: Metanol ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%)

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	14.03 ± 0.02	19.72 ± 0.32	30.94 ± 0.13	42.46 ± 0.32	53.62 ± 0.23
	Yerüstü	33.1 ± 0.09	57.42 ± 0.23	77.84 ± 0.14	93.53 ± 0.08	97.35 ± 0.33
Kazakistan	Yeraltı	8.42 ± 0.03	16.06 ± 0.09	23.74 ± 0.23	30.77 ± 0.06	37.25 ± 0.09
	Yerüstü	30.34 ± 0.12	48.43 ± 0.04	62.42 ± 0.32	68.86 ± 0.12	91.76 ± 0.00

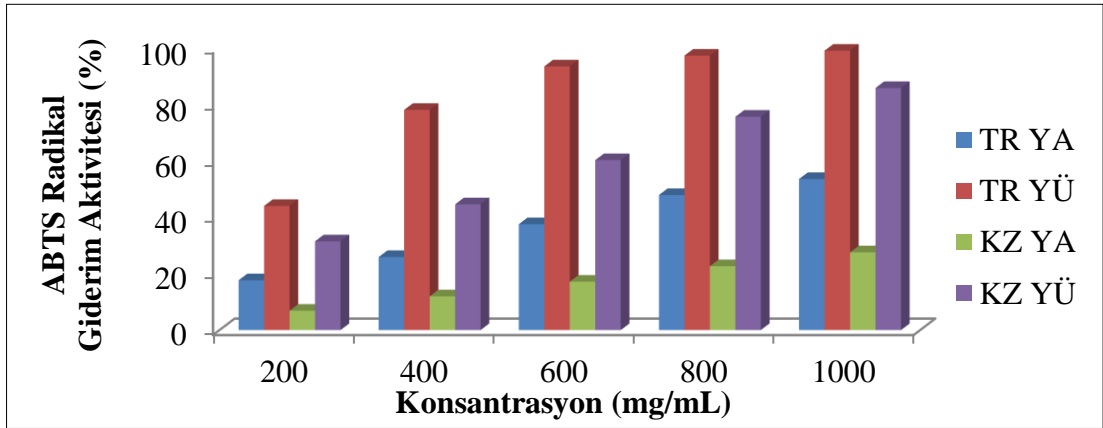


Şekil 3.6: Metanol ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%)

ABTS radikali giderme aktivitesi yönünden metanol ekstraktları incelendiğinde; 200-100 mg/mL konsantrasyon aralığındaki özütler arasında katyon radikal giderim aktivitesi en yüksek Türkiye yerüstü (%97.35±0.33) ekstraktlarından, en düşük radikal giderim aktivitesi ise Kazakistan yeraltı (%37.25±0.09) ekstraktlarından elde edilmiştir.

Tablo 3.8: Etanol ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%)

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	17.67±0.09	25.93±0.09	37.57±0.10	47.93±0.33	53.62±0.44
	Yerüstü	44.05±0.23	78.14±0.22	93.57±0.03	97.41±0.43	99.14±0.32
Kazakistan	Yeraltı	6.86±0.32	11.96±0.31	17.19±0.34	22.66±0.09	27.59±0.12
	Yerüstü	31.49±0.08	44.64±0.06	60.31±0.43	75.72±0.12	85.91±0.04

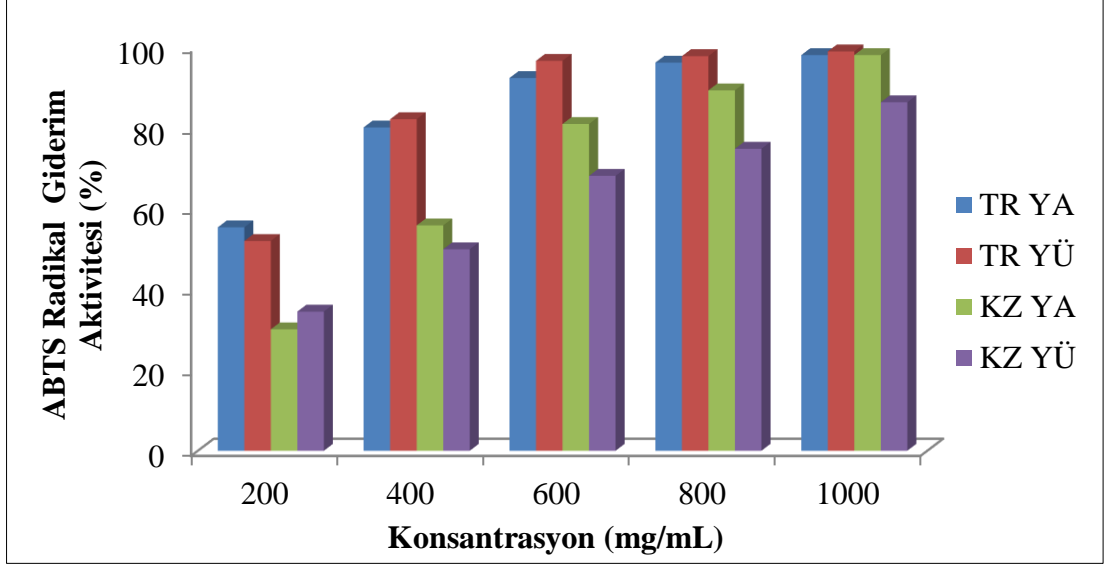


Şekil 3.7: Etanol ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%)

Etanol ekstraktlarının katyon radikal giderim aktivitesi incelendiğinde; 10-40 mg/mL konsantrasyon aralığındaki ekstraktlar arasında katyon radikal giderim aktivitesi en yüksek Türkiye yerüstü (%99.14±0.32) ekstraktından, en düşük radikal giderim aktivitesi ise Kazakistan yeraltı (%27.59±0.12) ekstraktından elde edilmiştir.

Tablo 3.9: Aseton ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%)

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	55.32±0.06	80.07±0.05	92.31±0.06	96.11±0.08	97.98±0.09
	Yerüstü	51.93±0.12	82.11±0.09	96.57±0.02	97.73±0.04	98.89±0.22
Kazakistan	Yeraltı	30.06±0.03	55.80±0.05	80.92±0.09	89.25±0.09	97.99±0.03
	Yerüstü	34.45±0.33	49.89±0.03	68.07±0.09	74.78±0.12	86.31±0.03

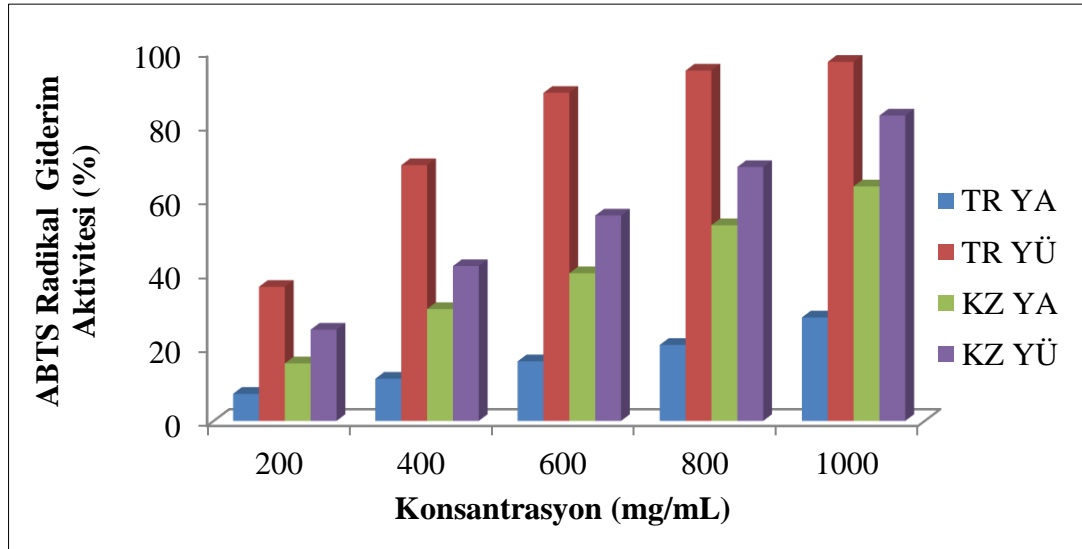


Şekil 3.8: Aseton ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%)

Aseton ekstraktlarının katyon radikal giderim aktivitesi incelendiğinde;10-40 mg/mL konsantrasyon aralığındaki ekstraktlar arasında katyon radikal giderim aktivitesi en yüksek Türkiye yerüstü (%98.89±0.22) ekstraktından, en düşük radikal giderim aktivitesi ise Kazakistan yerüstü (%86.31±0.03) ekstraktından elde edilmiştir.

Tablo 3.10: Distile Su ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%)

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	7.347±0.09	11.42±0.12	16.13±0.13	20.59±0.04	28.01±0.02
	Yerüstü	36.30±0.03	69.23±0.09	88.83±0.04	94.86±0.08	97.22±0.03
Kazakistan	Yeraltı	15.58±0.12	30.29±0.18	40.00±0.14	52.98±0.18	63.51±0.16
	Yerüstü	24.70±0.04	41.93±0.08	55.60±0.09	68.73±0.12	82.67±0.08



Şekil 3.9: Distile Su ekstraktlarının ABTS radikal katyonu giderim aktivitesi (%)

Distile su ekstraktlarının katyon radikal giderim aktivitesi incelendiğinde; 10-40 mg/mL konsantrasyon aralığındaki ekstraktlar arasında katyon radikal giderim aktivitesi en yüksek Türkiye yerüstü (%97.22±0.03) ekstraktından, en düşük radikal giderim aktivitesi ise Türkiye yeraltı (%28.01±0.02) ekstraktından elde edilmiştir.

Tablo 3.11: Ekstraktlara ait IC₅₀ değerleri (mg/mL)

Ülke	Ekstrakt	Metanol	Etanol	Aseton	Distile su
Türkiye	Yeraltı	949.21±0.05	886.86±0.08	147.42±0.06	1920.23±0.06
	Yerüstü	309.03±0.04	206.64±0.06	174.30±0.03	258.74±0.02
Kazakistan	Yeraltı	1338.32±0.09	1856.01±0.03	322.66±0.04	724.95±0.01
	Yerüstü	387.71±0.04	392.83±0.05	345.26±0.05	472.71±0.02

Tablo 3.11' e göre çalışılan ekstraktlar içinde en düşük IC₅₀ değeri ile metanollü ekstraktları içerisinde Türkiye yerüstü (309.03±0.04 mg/mL) en yüksek antiradikal aktiviteye sahip iken, etanollü ekstraktları içerisinde Türkiye yerüstü (206.64±0.06mg/mL), aseton ekstraktları içerisinde Türkiye yeraltı (147.42±0.06mg/mL), distile su ekstraktları içerisinde ise Türkiye yerüstü (258.74±0.02 mg/mL) en yüksek antiradikal aktiviteye sahiptir.

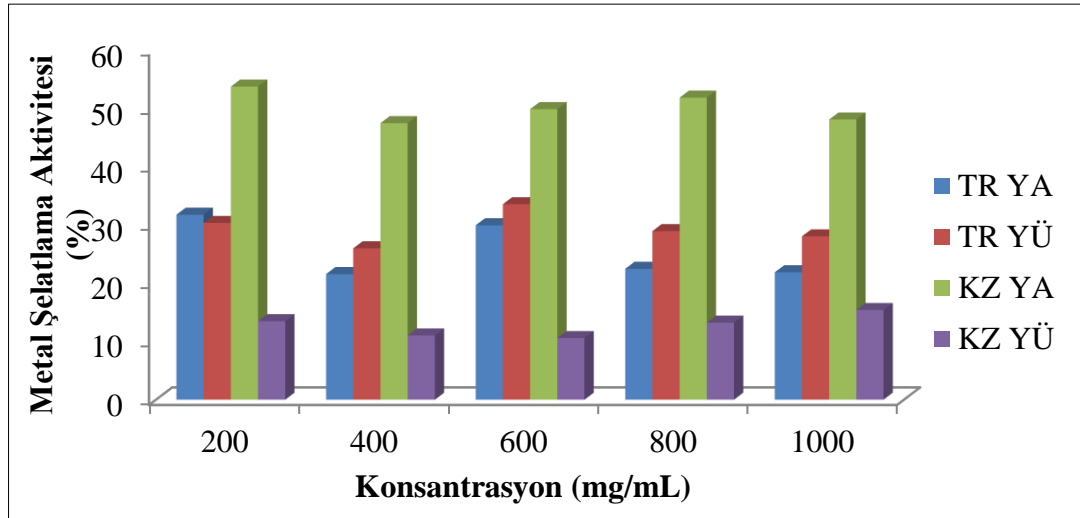
3.1.4 Metal Şelatlama Kapasitesi

Geçiş metalleri arasında demir yüksek reaktivitesinden dolayı lipitleri oksitleyen en önemli oksitleyici metal olarak bilinir. Geçiş metallerinin radikal oluşum mekanizmalarını Fenton ve Haber-Wiess tepkimeleriyle bilinmektedir. Dolayısıyla antioksidan aktivite analizleri yapılırken ilgili türlerin metal şelatlama kapasitelerinin de belirlenmesi rutin olarak yapılan testler arasında yer almaktadır. Bu bağlamda literatürde sıklıkla Fe(II) iyonları ya da kısmen Cu(II) iyonları şelatlama kapasiteleri testlerine rastlanmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada da metal şelatlama kapasitesine yönelik örneklerin çözücü özütlerinin Fe(II) iyonlarını şelatlama kapasiteleri araştırıldı.

Metal iyonu şelatlama aktivitesi; bitki ekstraktlarının çözeltideki Fe²⁺ iyonlarını bağlayabilmek için ferrozin ile yarışmasına göre değerlendirildi. Bu test sisteminde örnekler içerisindeki şelatlayıcı ajanların Fe(II) iyonları ile ferrozin arasında oluşan kompleksi ne kadar engelleyip engellemediği ve bunun da spektroskopik olarak takip edilmesi bu test sisteminin temelini oluşturmaktadır. Metal şelatlayıcı ajanların varlığında ferrozin-metal kompleksi oluşmaz. Dolayısıyla 562 nm'de absorbansta meydana gelen azalma metal şelasyonunun göstergesidir. Özütlerinin serbest radikal giderim aktiviteleri ferrozin radikali kullanılarak metal şelatlama yöntemi ile belirlenmiş ve beş farklı derişimdeki tüm özütlerinin serbest radikal giderim aktiviteleri tespit edilmiştir.

Tablo 3.12: Metanol ekstraktlarının % metal şelatlama kapasiteleri

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	31.76±2.35	21.56±1.26	29.95±4.60	22.47±0.73	21.87±2.79
	Yerüstü	30.35±2.86	25.99±1.08	33.56±1.28	28.94±1.73	28.04±0.77
Kazakistan	Yeraltı	53.75±3.72	47.47±2.93	49.88±0.70	51.86±1.25	48.10±2.13
	Yerüstü	13.47±0.30	11.02±0.50	10.58±0.03	13.22±1.22	15.40±0.22
EDTA		55±0.07	83.03±0.09	86.04±0.12	89.03±0.10	91.09±0.08

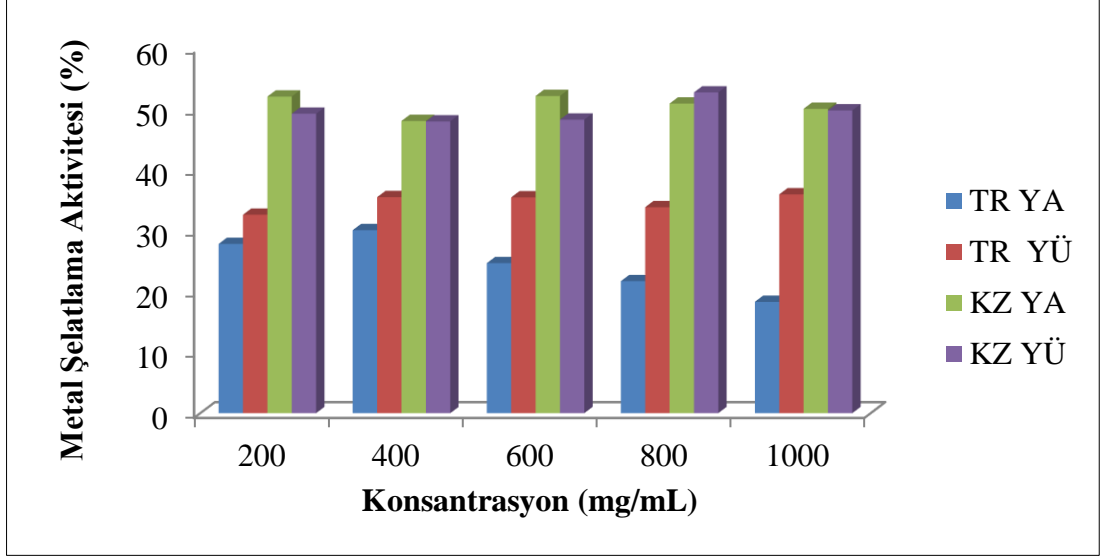


Şekil 3.10: Metanol ekstraktlarının % metal şelatlama kapasiteleri

Metanol ekstraktları arasında en yüksek metal şelatlama oranını Kazakistan yeraltı ekstraktı (%53.75±3.72) gösterirken, en düşük oran Kazakistan yerüstü ekstraktında (% 10.58±0.03) gözlenmiştir.

Tablo 3.13: Etanol ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	27.81±0.12	30.07±1.91	24.65±3.06	21.69±2.23	18.29±3.78
	Yerüstü	32.60±3.14	35.49±0.54	35.45±0.55	33.84±2.18	35.95±3.72
Kazakistan	Yeraltı	52.01±5.21	48.01±1.24	52.11±3.51	50.86±2.03	50.00±1.00
	Yerüstü	49.20±0.67	47.93±2.11	48.22±2.29	52.69±2.93	49.74±1.88
EDTA		51.32±0.37	75.29±0.30	83.46±0.19	84.86±0.06	85.79±0.12

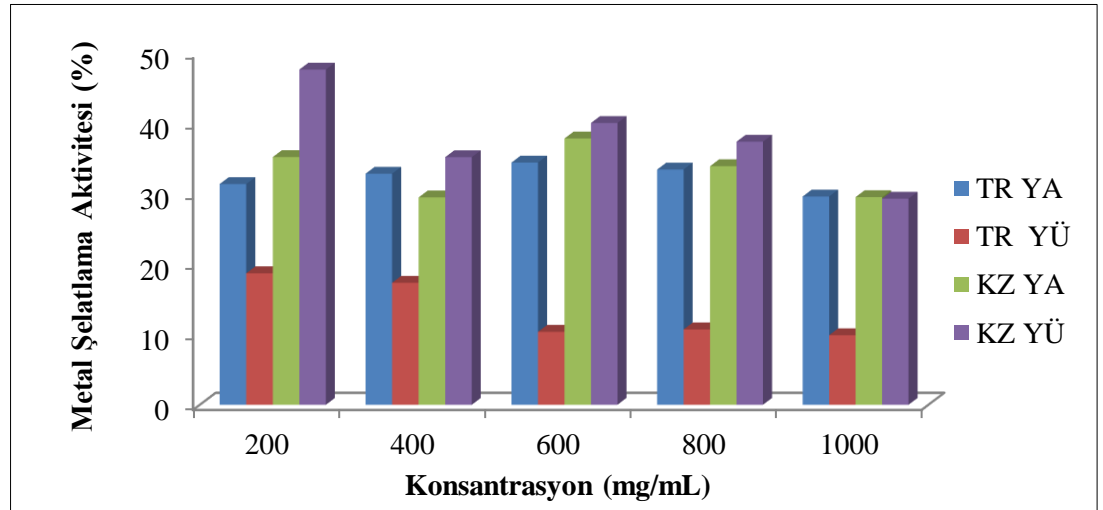


Şekil 3.11: Etanol ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri

Etanol ekstraktları arasında en yüksek metal şelatlama oranını Kazakistan yeraltı ekstraktı (%52.11±3.51) gösterirken, en düşük oran Türkiye yeraltı ekstraktında (%18.29±3.78) gözlenmiştir.

Tablo 3.14: Aseton ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	31.37±2.36	32.83±0.83	34.42±1.02	33.43±2.09	29.59±0.44
	Yerüstü	18.69±1.41	17.34±3.33	10.37±2.43	10.71±1.72	9.89±2.85
Kazakistan	Yeraltı	35.20±0.61	29.47±0.54	37.84±4.82	33.90±4.75	29.51±1.05
	Yerüstü	47.63±3.61	35.18±1.10	40.04±0.06	37.38±2.68	29.28±1.08
EDTA		53.08±0.62	56.09±2.43	65.06±0.09	77.09±1.76	82.07±0.02

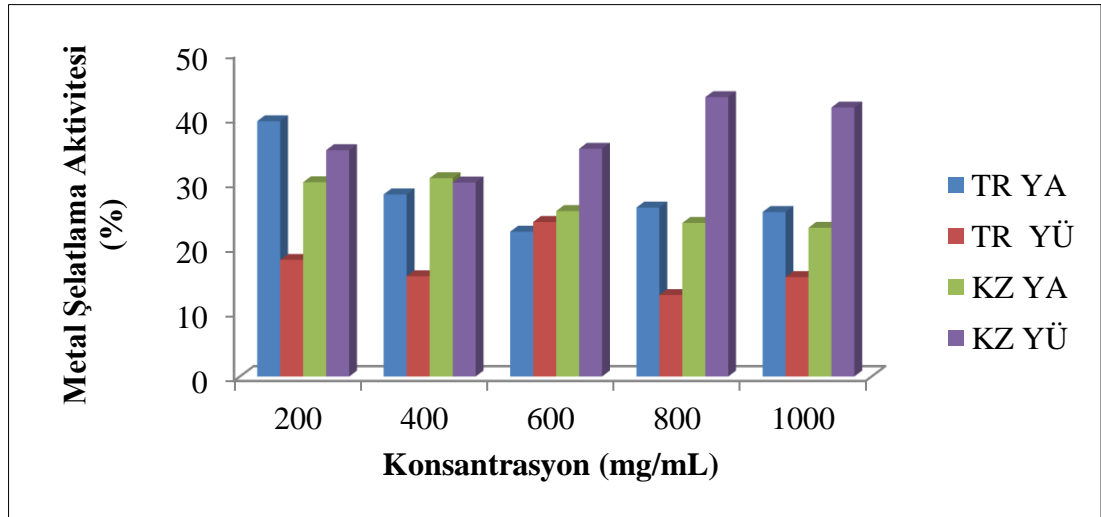


Şekil 3.12: Aseton ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri

Aseton ekstraktları arasında en yüksek metal şelatlama oranını Kazakistan yerüstü ekstraktı (%47.63±3.61) gösterirken, en düşük oran Türkiye yerüstü ekstraktlarında (%9.89±2.85) gözlenmiştir.

Tablo 3.15: Distile Su ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	39.48±0.61	28.17±0.72	22.40±4.75	26.13±1.80	25.44±0.57
	Yerüstü	18.03±1.95	15.51±0.44	23.90±1.61	12.60±3.29	15.37±0.59
Kazakistan	Yeraltı	30.05±1.31	30.68±0.05	25.59±0.09	23.75±1.25	23.00±0.06
	Yerüstü	35.01±0.73	30.00±4.33	35.22±0.63	43.20±4.41	41.60±0.58



Şekil 3.13: Distile Su ekstraktının % metal şelatlama kapasiteleri

Distile su ekstraktları arasında en yüksek metal şelatlama oranını Kazakistan yerüstü ekstraktı (%43.20±4.41) gösterirken, en düşük oran Türkiye yerüstü ekstraktında (%12.60±3.29) gözlenmiştir.

3.1.5 Demir İyonu İndirgeme Gücü Kapasitesi

İndirgeme kuvveti yönteminde örnekteki antioksidanların varlığı Fe^{3+} 'nin elektron vererek Fe^{2+} 'ye indirgenmesini sağlar. Fe^{2+} kompleksinin miktarı oluşan mavi rengin 700 nm'de ölçülmesiyle belirlenir. Yükselen absorbans değeri indirgeme yeteneğinin arttığını gösterir. Fe^{3+} iyonlarının indirgenmesi, bir bileşiğin antioksidan

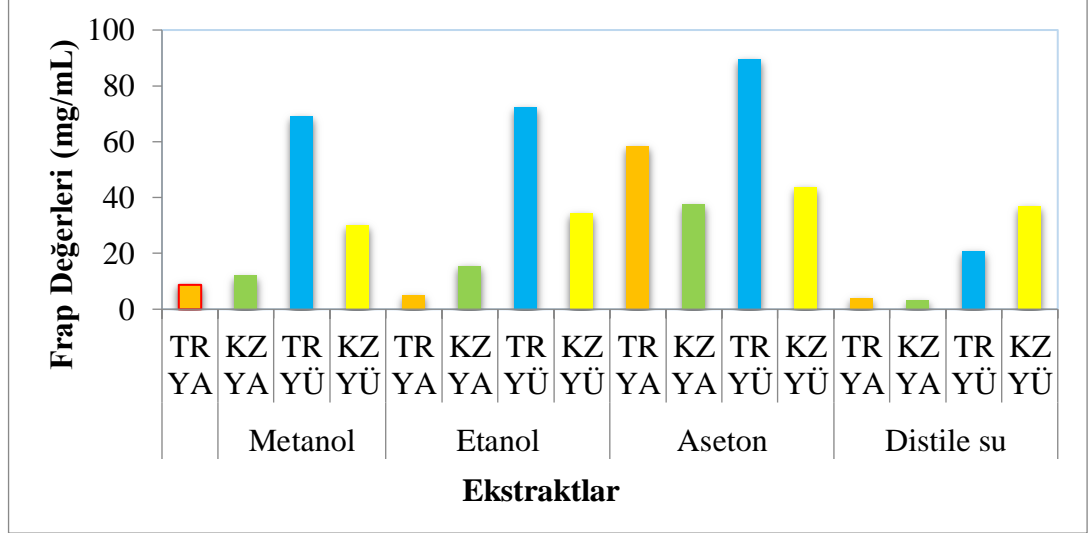
aktivite gösterebilmesi için önemli bir mekanizma olan elektron verebilme yeteneğinin göstergesidir ve diğer antioksidan özellikler ile de yakından ilişkilidir (İşbilir 2008). Bununla birlikte çözeltinin sarı rengi ortamda bulunan antioksidan maddelerin indirgenme aktivitelerinden dolayı farklı tonlardaki yeşil renge dönüşmektedir (Gülçin 2006, Gülçin ve diğ. 2006). Ekstraktların ortamdaki Fe³⁺ü indirgeme kapasitesini tayin etmek üzere değişen ekstrakt ve standart konsantrasyonlarında çalışılmıştır ve oluşan komplekslerin absorbanları 700 nm’de ölçülmüştür.

Çalışmada kullanılan ekstraktların indirgeme kapasitesi konsantrasyonun artması ile doğru orantılı olarak artmaktadır. İndirgeme kuvveti çözeltilerin absorbanları ölçülerek belirlenmiştir. Ekstraktların FRAP testiyle yapılan indirgeme gücü kapasiteleri troloks eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Bu test sisteminde en yüksek indirgeme gücü kapasitesine sahip Türkiye aseton yerüstü ekstraktı (89.50±0.16 TE) iken, en düşük indirgeme gücü kapasitesine sahip Kazakistan distile su yeraltı ekstraktı (3.09±0.53 TE) olmaktadır.

Tablo 3.16: Ekstraktların FRAP yöntemiyle indirgeme gücü kapasiteleri (mg TEs/mL özüt)

Ülke	Ekstrakt	Kısım	Absorbans değerleri (nm)	FRAP Değerleri (Troloksa eşdeğer)
Türkiye	Metanol	Yeraltı	0.385±00	8.73±0.28
		Yerüstü	1.427±00	68.96±0.36
	Etanol	Yeraltı	0.322±00	5.09±0.08
		Yerüstü	1.486±00	72.37±0.61
	Aseton	Yeraltı	1.243±00	58.31±0.32
		Yerüstü	1.780±00	89.50±0.16
	Distile Su	Yeraltı	0.300±00	3.82±0.04
		Yerüstü	0.592±00	20.66±0.28
Kazakistan	Metanol	Yeraltı	0.442±00	11.99±0.20
		Yerüstü	0.754±00	30.02±0.20
	Etanol	Yeraltı	0.502±00	15.48±0.49
		Yerüstü	0.828±00	34.30±1.30
	Aseton	Yeraltı	0.883±00	37.50±0.32
		Yerüstü	0.991±00	43.76±0.40

	Distile Su	Yeraltı	0.288±00	3.09±0.53
		Yerüstü	0.872±00	36.86±0.28
	BHT		2.034±00	88.97±0.02



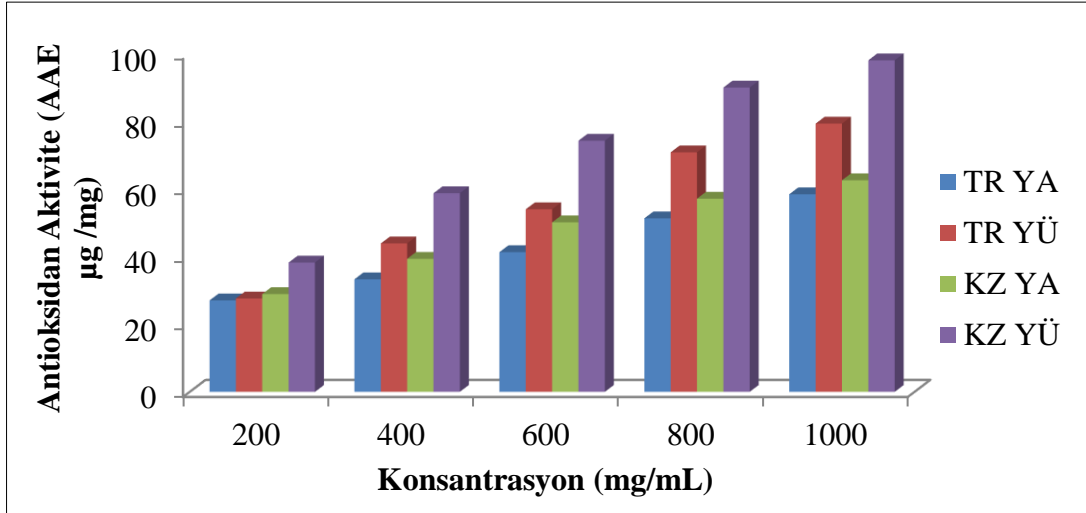
Şekil 3.14: Ekstraktların FRAP yöntemiyle indirgeme gücü kapasiteleri (mg TEs/mL özüt)

3.1.6 Fosfomolibden Metodu ile Toplam Antioksidan Aktivite Tayini

Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesinde rutin olarak kullanılan diğer bir yöntem ise fosfomolibdenyum yöntemidir. Fosfomolibdenyum reaktifi içerisindeki Mo(VI) iyonlarının özütler içerisindeki antioksidan bileşikler tarafından Mo(V)'e indirgenmesi sonucu oluşan yeşil rengin ve bu Mo(V) iyonlarının 695 nm'de spektroskopik olarak takip edilmesi bu test sisteminin mantığını oluşturmaktadır. Dolayısıyla bu dalga boyunda daha yüksek absorbansa sahip olan özüt daha yüksek toplam antioksidan aktivite sergiliyor anlamına gelmektedir. Fosfomolibden spektrofotometrik yöntemi ile yapılan bu çalışma sonrasında örneklerin antioksidan aktiviteleri mg askorbik asit eşdeğeri ($\mu\text{g AAE}/\text{mg}$ ekstrakt) şeklinde ifade edilmiştir. Bu yöntemle göre en yüksek antioksidan aktivite Türkiye aseton yerüstü ekstraktı ($156.43 \pm 3.34 \mu\text{g}/\text{mg AAE}$) sahip iken, en düşük aktivite Türkiye distile su yeraltı ekstraktında ($41.49 \pm 3.23 \mu\text{g}/\text{mg AAE}$) tespit edilmiştir.

Tablo 3.17: Metanol ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	27.04±0.49	33.29±1.44	41.32±3.72	51.31±4.09	58.46±4.42
	Yerüstü	27.62±1.22	43.91±0.52	54.00±1.98	70.86±0.96	79.34±1.82
Kazakistan	Yeraltı	28.94±1.20	39.36±0.67	50.14±1.84	57.15±0.75	62.58±1.19
	Yerüstü	38.25±1.09	58.77±0.78	74.29±0.05	90.02±1.13	98.08±1.25

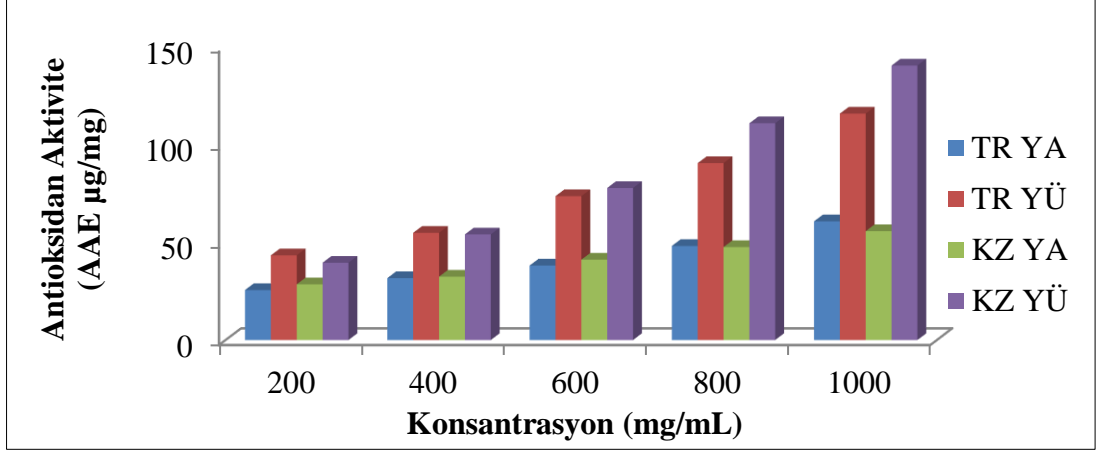


Şekil 3.15: Metanol ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri

Metanol ekstraktların fosfomolibden testinde askorbik asite eşdeğer hesaplanan toplam antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında en yüksek aktivite Kazakistan yerüstü ($98.08 \pm 1.25 \mu\text{g} / \text{mg AAE}$) ekstraktı gösterirken, en düşük aktivite Türkiye yeraltı ($58.46 \pm 4.42 \mu\text{g} / \text{mg AAE}$) ekstraktında tespit edilmiştir.

Tablo 3.18: Etanol ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	25.52±1.13	31.62±0.99	38.04±1.61	48.07±1.82	60.66±2.73
	Yerüstü	43.28±1.32	54.77±1.04	73.50±0.93	90.40±4.22	115.68±0.83
Kazakistan	Yeraltı	28.47±2.02	32.39±0.86	41.04±0.63	47.49±3.59	55.62±3.14
	Yerüstü	39.49±0.87	53.95±1.72	77.69±2.43	110.78±4.94	140.27±0.05

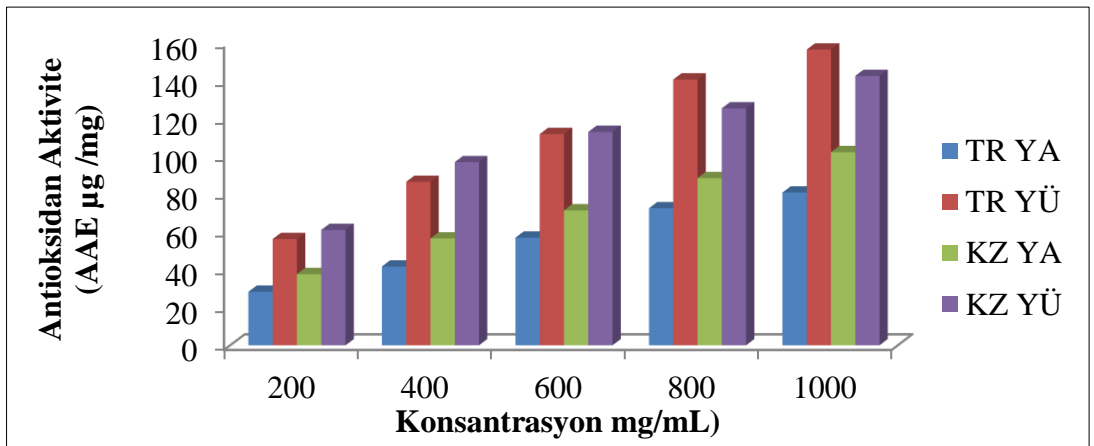


Şekil 3.16: Etanol ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri

Etanol ekstraktların toplam antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında en yüksek aktivite Kazakistan yerüstü ($140.27 \pm 0.05 \mu\text{g}/\text{mg}$ AAE) ekstraktı gösterirken, en düşük aktivite Kazakistan yeraltı ($55.62 \pm 3.14 \mu\text{g}/\text{mg}$ AAE) ekstraktında tespit edilmiştir.

Tablo 3.19: Aseton ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	28.30±1.15	41.66±0.96	56.92±1.87	72.48±1.24	80.81±2.87
	Yerüstü	56.19±0.50	86.46±1.42	111.73±3.97	140.59±1.48	156.43±3.34
Kazakistan	Yeraltı	37.64±2.42	56.51±0.26	71.39±0.75	88.42±3.98	102.15±4.40
	Yerüstü	60.99±1.51	96.84±1.85	112.86±2.92	125.30±3.25	142.48±0.51



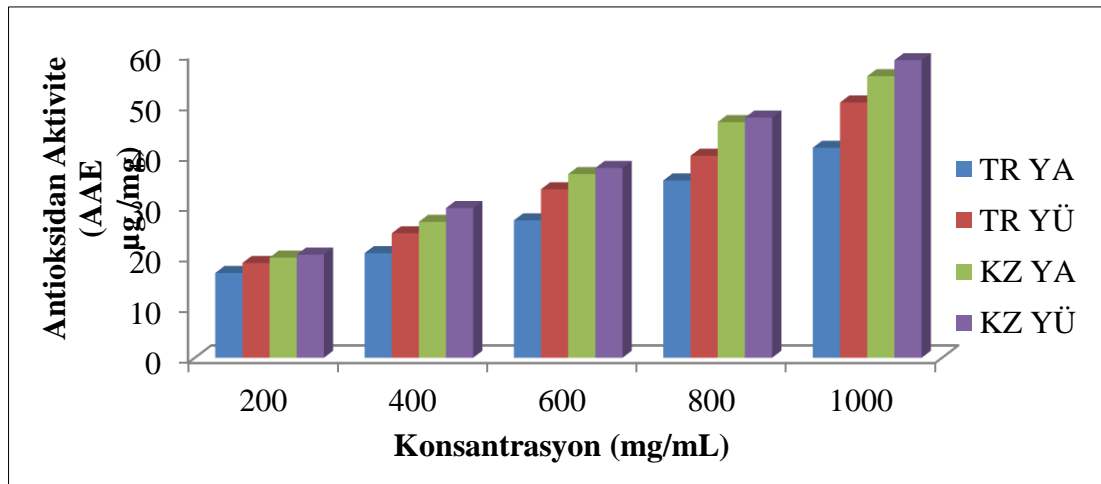
Şekil 3.17: Aseton ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri

Aseton ekstraktların toplam antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında en yüksek aktivite Türkiye yerüstü ($156.43 \pm 3.34 \mu\text{g}/\text{mg}$ AAE) ekstraktı gösterirken, en

düşük aktivite Türkiye yeraltı ($80.81 \pm 2.87 \mu\text{g} / \text{mg}$ AAE) ekstraktında tespit edilmiştir.

Tablo 3.20: Distile Su ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri

Ülke	Ekstrakt	200 mg/mL	400 mg/mL	600 mg/mL	800 mg/mL	1000 mg/mL
Türkiye	Yeraltı	16.75 ± 0.71	20.67 ± 0.44	27.15 ± 1.40	35.03 ± 3.04	41.49 ± 3.23
	Yerüstü	18.73 ± 0.48	24.59 ± 0.17	33.29 ± 0.63	39.91 ± 1.13	50.44 ± 0.24
Kazakistan	Yeraltı	19.79 ± 0.66	26.86 ± 2.57	36.30 ± 2.03	46.56 ± 1.29	55.64 ± 3.68
	Yerüstü	20.38 ± 0.80	29.58 ± 1.55	37.50 ± 2.12	47.45 ± 1.70	58.80 ± 3.06



Şekil 3.18: Distile Su ekstraktının askorbik asite eşdeğer toplam antioksidan aktiviteleri

Distile su ekstraktların toplam antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında en yüksek aktivite Kazakistan yerüstü ($58.80 \pm 3.06 \mu\text{g}/\text{mg}$ AAE) ekstraktı gösterirken, en düşük aktivite Türkiye yeraltı ($41.49 \pm 3.23 \mu\text{g}/\text{mg}$ AAE) ekstraktında tespit edilmiştir.

3.2 Sekonder Metabolit Miktar Tayini Sonuçları

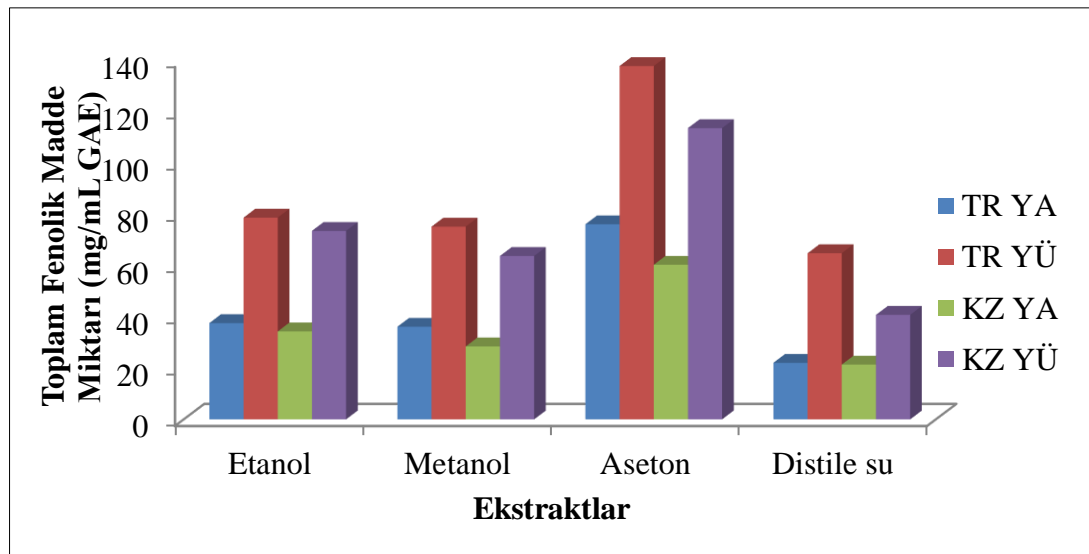
Bitki ekstraktlarımızın sekonder metabolit tayininde toplam fenolik bileşen, toplam flavonoid ve toplam tanen madde miktarlarına bakılmıştır.

3.2.1 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Fenolik ve flavonoit türü bileşikler yapılarında hidroksil grupları bulunduklarından ve hidroksil grublarındaki hidrojen radikalini rahatlıkla verebildiklerinden dolayı serbest radikal söndürme özellikleri bilinen bir durumdur. Bu özelliklerinden dolayı radikal süpürüm aktivite testlerini içeren antioksidan aktivite analizlerinde aktiviteye katkılarının tespit edilmesi açısından örneklerin toplam fenolik ve flavonoit bileşik miktarlarının bilinmesi oldukça önemli hale gelmektedir. Özütlemlerin toplam fenolik bileşik miktarları FCR reaktifi kullanılarak belirlendi ve sonuçlar standart fenolik bileşik olan gallik asit grafiğinden elde edilen denklem yardımıyla gallik asit eşdeğer olarak hesaplandı ve sonuçlar Tablo 3.21’de verilmiştir.

Tablo 3.21: Ekstraktların toplam fenolik madde miktarları (mg/mL GAE)

Ülke	Ekstrakt	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg/mL GAE)			
		Metanol	Etanol	Aseton	Distile Su
Türkiye	Yeraltı	36.10±0.02	37.54±0.49	76.05±0.02	22.04±0.94
	Yerüstü	75.14±1.02	8.64±0.06	137.77±0.83	64.78±0.00
Kazakistan	Yeraltı	28.45±0.17	34.30±0.00	60.27±1.86	21.35±0.01
	Yerüstü	63.71±0.79	73.47±2.17	113.56±0.91	40.75±0.00



Şekil 3.19: Ekstraktların toplam fenolik madde miktarları (mg/mL GAE)

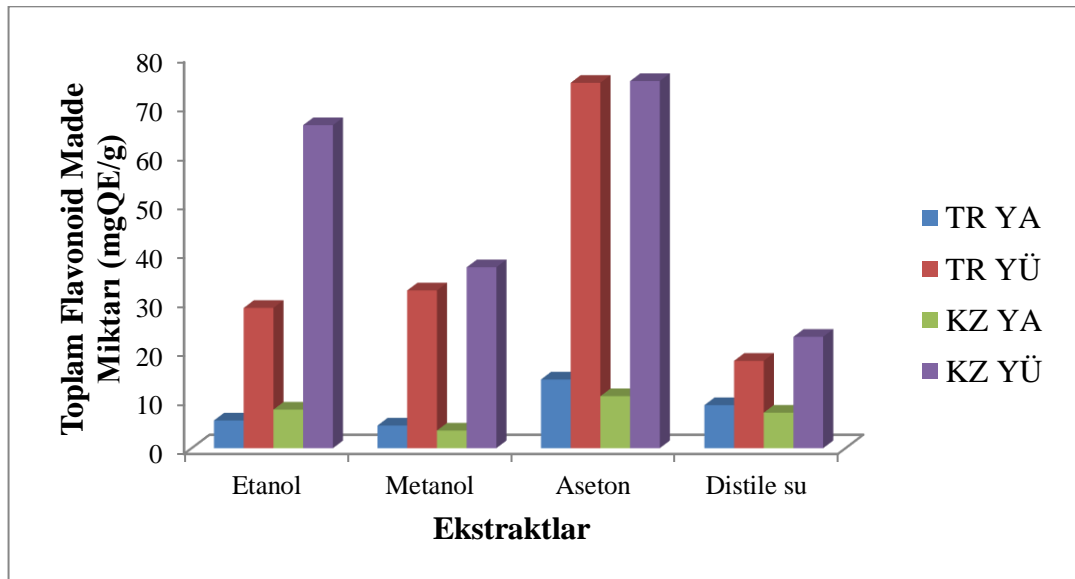
Tablo 3.21’ de verilen sonuçlara göre gallik asite eşdeğer olarak hesaplanan toplam fenolik bileşen içerikleri en fazla Türkiye yerüstü aseton (137.77 ± 0.83 mg/mL GAE), en düşük Türkiye yerüstü etanol (8.64 ± 0.06 mg/mL GAE) ekstraktında bulunmuştur.

3.2.2 Toplam Flavonoid Madde Miktarının Belirlenmesi

Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarı, bir flavonoid madde olan quercetin kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Bu eğri üzerinden yapılan hesaplamalar sonucunda quercetin’e eşdeğer (mgQE/g) olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.22: Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları (mgQE/g)

Ülke	Ekstrakt	Toplam Flavonoid Madde Miktarı (mgQE/g)			
		Metanol	Etanol	Aseton	Distile Su
Türkiye	Yeraltı	4.62 ± 0.23	5.65 ± 0.39	14.03 ± 1.41	8.78 ± 0.48
	Yerüstü	32.20 ± 0.50	28.63 ± 0.01	74.59 ± 2.74	17.83 ± 0.02
Kazakistan	Yeraltı	3.59 ± 0.00	7.87 ± 0.07	10.62 ± 0.32	7.25 ± 0.00
	Yerüstü	36.94 ± 0.00	65.94 ± 0.06	74.94 ± 1.97	22.74 ± 0.00



Şekil 3.20: Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları (mgQE/g)

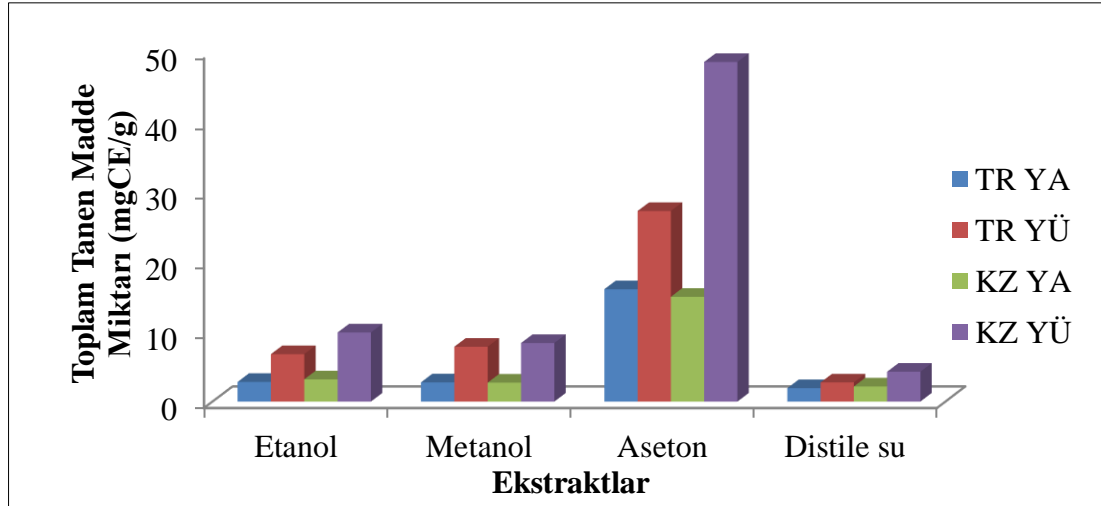
Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları karşılaştırıldığında en fazla flavonoid madde miktarı Kazakistan yerüstü aseton (74.94 ± 1.97 mgQE/g) ekstraktında gözlenmiştir. En az ise Kazakistan yeraltı metanol (3.59 ± 0.00 mgQE/g) ekstraktından elde edilmiştir.

3.2.3 Toplam Tanen Miktarının Belirlenmesi

Tanenler fenollerin polimerleşmesiyle meydana gelirler ve pek çok farklı yapılanma gösterirler. Fiziksel kararlılık üzerinde rol oynar. Ekstraktların toplam tanen miktarları kateşin reaktifi kullanılarak belirlendi ve sonuçlar standart fenolik bileşik olan kateşin grafiğinden elde edilen denklem yardımıyla kateşin eşdeğer olarak hesaplandı ve sonuçlar Tablo 3.23’de verilmiştir.

Tablo 3.23: Ekstraktların toplam tanen madde miktarları (mgCE/g)

Ülke	Ekstrakt	Toplam Tanen Madde Miktarı (mgCE/g)			
		Metanol	Etanol	Aseton	Distile Su
Türkiye	Yeraltı	2.74 ± 0.09	2.80 ± 0.04	16.06 ± 0.44	1.92 ± 0.05
	Yerüstü	7.84 ± 0.09	6.77 ± 1.26	27.25 ± 1.85	2.73 ± 0.04
Kazakistan	Yeraltı	2.71 ± 0.07	3.17 ± 0.18	14.98 ± 1.64	2.16 ± 0.10
	Yerüstü	8.37 ± 0.37	9.87 ± 0.26	48.56 ± 6.40	4.26 ± 0.12

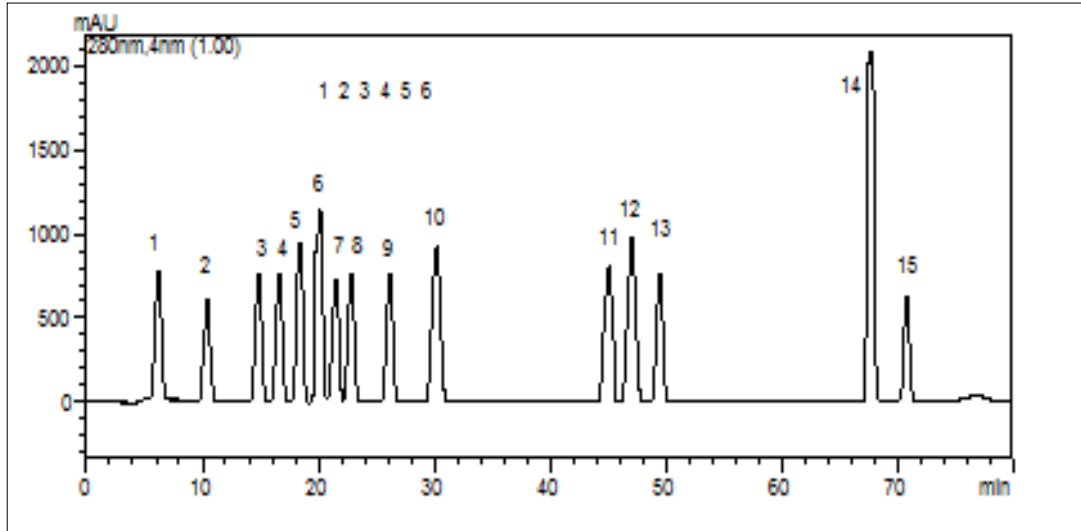


Şekil 3.21: Ekstraktların toplam tanen madde miktarları (mgCE/g)

Ekstraktların toplam tanen madde miktarları karşılaştırıldığında en fazla tanen miktarı Kazakistan yerüstü aseton (48.56 ± 6.40 mgCE/g) ekstraktında, en az tanen miktarı Türkiye yeraltı distile su (1.92 ± 0.05 mgCE/g) ekstraktında tespit edilmiştir.

3.3 HPLC ile Fenolik Bileşiklerin Analiz Sonuçları

Antioksidan kapasitesi çeşitli metodlarla belirlenen ekstraktların antioksidan özellik sağlayan fenolik bileşikleri ve flavonoidlerden bazıları yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile kalitatif ve kantitatif olarak tayin edilmiştir. Analizi yapılan bu bileşenler ve bu bileşenlerin metanol, etanol ve aseton ekstraktının her birinden ne kadar bulunduğu Tablo 3.26 ve 3.27’de verilmiştir. Tüm standartların analizine ilişkin kromatogram ise Şekil 3.22’de verilmiştir.



Şekil 3.22: Fenolik Standartların HPLC kromatogramı: 1.gallik asit, 2,3,4-dihidroksi benzoik asit, 3, 4-hidroksi benzoik asit, 4. 2,5-dihidroksi benzoik asit, 5. klorojenik Asit 6. Vanilik asit, Kafeik asit, 7. Epikateşin, 8. Kafeik asit, 9. p-Kumarik asit, 10. Ferulik asit,11. Rutin, 12. Ellajik, 13. Narinjin, 14. Sinamik asit, 15. Kuersetin

Tablo 3.24: Türkiye’den toplanan bitki ekstraktlarındaki fenolik bileşen madde miktarları ($\mu\text{g/g}$)

Fenolik Standart Bileşikler	Metanol Yerüstü	Metanol Yeraltı
Gallik asit ($\mu\text{g/g}$)	252.98 ± 0.00	525.17 ± 0.00
3,4-dihidroksi benzoik asit ($\mu\text{g/g}$)	79.28 ± 0.00	94.43 ± 0.00
4-dihidroksi benzoik asit ($\mu\text{g/g}$)	231.17 ± 0.00	548.51 ± 0.00
2,5-dihidroksi benzoik asit	1085.81 ± 0.00	2982.79 ± 0.00

(µg/g)		
Klorojenik asit (µg/g)	189.02±0.00	70.90±0.00
Vanilik asit (µg/g)	543.35±0.00	931.57±0.00
Kafeik asit (µg/g)	20735.76±0.00	25309.31±0.00
p-Kumarik asit (µg/g)	201.41±0.00	66.10±0.00
Ferulik asit (µg/g)	131.48±0.00	29.63±0.00
Sinamik asit (µg/g)	671.51±0.00	430.26±0.00
Epikateşin (µg/g)	508.29±0.00	428.03±0.00
Narinjin (µg/g)	-	-
Rutin (µg/g)	18.78±0.00	-
Ellajik (µg/g)	1379.48±0.00	436.83±0.00
Kuersetin (µg/g)	104.40±0.00	9.28±0.00

Tablo 3.25: Kazakistan'dan toplanan bitki ekstraktlarındaki fenolik bileşen madde miktarları (µg/g)

Fenolik Standart Bileşikler	Metanol Yerüstü	Metanol Yeraltı
Gallik asit (µg/g)	258.08±0.00	243.36±0.00
3,4-dihidroksi benzoik asit (µg/g)	64.18±0.00	6.04±0.00
4-dihidroksi benzoik asit (µg/g)	124.73±0.00	32.27±0.00
2,5-dihidroksi benzoik asit (µg/g)	1636.26±0.00	107.24±0.00
Klorojenik asit (µg/g)	514.47±0.00	2.11±0.00
Vanilik asit (µg/g)	403.09±0.00	65.20±0.00
Kafeik asit (µg/g)	3239.68±0.00	835.02±0.00
p-Kumarik asit (µg/g)	42.56±0.00	11.31±0.00
Ferulik asit (µg/g)	36.21±0.00	8.20±0.00
Sinamik asit (µg/g)	2215.41±0.00	1.26±0.00
Epikateşin (µg/g)	543.58±0.00	140.86±0.00
Narinjin (µg/g)	-	-
Rutin (µg/g)	144.13±0.00	-
Ellajik (µg/g)	527.18±0.00	519.13±0.00
Kuersetin (µg/g)	147.58±0.00	3.37±0.00

Yukarıdaki tablolara bakıldığında, Türkiye’den toplanan bitki örneklerinde en yüksek fenolik bileşen kafeik asit metanol yeraltı ekstraktında ($25309.31 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$), en düşük fenolik bileşen ise kuersetin metanol yeraltı ekstraktında ($9.28 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$) elde edilmiştir. Kazakistan’dan toplanan bitki örneklerinde en yüksek fenolik bileşen kafeik asit metanol yerüstü ekstraktında ($3239.68 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$), en düşük fenolik bileşen ise klorojenik asit metanol yeraltı ekstraktında ($2.01 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$) elde edilmiştir. Çalışılan bitki örnekleri üzerinde yapılan HPLC analizlerinden de görülebileceği gibi her iki ülke örneklerinin fenolik yapıları bileşikler bakımından zengin olduğu söylenebilir. 15 standart fenolik bileşik üzerinden yapılan HPLC analizlerinde incelenen örneklerde incelenen standart fenolik bileşiklere farklı miktarlarda rastlanmıştır.

3.4 Bitki ve Toprak Analizi

3.4.1 Toprak Analizi Sonuçları

L.martagon bitkisinin her iki ülkeden toplandığı üç farklı bölgeden alınan toprak örneklerinin analizleri yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 3.26, 3.27 ve 3.28’de sunulmaktadır.

Tablo 3.26: Türkiye toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Yapılan analizler	Toprak numuneleri	Ölçüm sonuçları	P değerleri
pH (25°C)	NO1	5.710 ± 0.103	0.212
	NO2	5.270 ± 0.090	
	NO3	5.587 ± 0.240	
Kum (%)	NO1	24.00 ± 2.00	0.001
	NO2	20.33 ± 1.86	
	NO3	48.67 ± 4.81	
Kil (%)	NO1	43.33 ± 2.33	0.749
	NO2	50.00 ± 1.73	
	NO3	44.3 ± 10.9	
Silt (%)	NO1	44.33 ± 9.49	0.105
	NO2	42.33 ± 6.39	
	NO3	22.00 ± 2.31	

EC	NO1	0.113±0.0393	0.458
	NO2	0.100±0.0173	
	NO3	0.063±0.0203	
Kireç (%)	NO1	2.033±0.384	0.404
	NO2	1.600±0.100	
	NO3	1.567±0.186	
Organik madde (%)	NO1	5.837±0.590	0.000
	NO2	2.753±0.155	
	NO3	1.727±0.112	
N (ppm)	NO1	0.310±0.01	0.110
	NO2	0.257±0.10	
	NO3	0.100±0.01	
P (ppm)	NO1	2.327±0.219	0.036
	NO2	2.050±0.037	
	NO3	1.627±0.109	
K (ppm)	NO1	178.67±3.67	0.023
	NO2	133.00±5.29	
	NO3	274.0±4.51	
Ca (ppm)	NO1	1.638±0.02	0.727
	NO2	1.786±0.08	
	NO3	1.644±0.23	
Mg (ppm)	NO1	550.3±39.7	0.075
	NO2	479.0±27.1	
	NO3	591.00±5.13	
Na (ppm)	NO1	53.69±2.14	0.001
	NO2	95.15±4.25	
	NO3	43.13±6.89	
Fe (ppm)	NO1	60.04±6.08	0.003
	NO2	47.75±5.13	
	NO3	21.72±1.67	
Mn (ppm)	NO1	186.0±13.0	0.011
	NO2	138.0±22.0	
	NO3	91.03±1.20	
Zn (ppm)	NO1	3.76±1.43	0.144
	NO2	1.553±0.30	
	NO3	1.170±0.05	
Cu (ppm)	NO1	1.533±0.06	0.001
	NO2	1.483±0.06	
	NO3	0.757±0.10	
B (ppm)	NO1	0.653±0.13	0.392
	NO2	0.683±0.13	
	NO3	0.433±0.12	

Tablo 3.27: Kazakistan toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Yapılan analizler	Toprak numuneleri	Ölçüm sonuçları	P değerleri
pH (25°C)	NO1	7.454±0.226	0.371
	NO2	7.553±0.152	
	NO3	7.786± 0.003	
Kum (%)	NO1	49.33±6.74	0.697
	NO2	48.67±4.91	
	NO3	43.67±2.33	
Kil (%)	NO1	28.00±1.73	0.085
	NO2	22.00±1.73	
	NO3	26.67±1.33	
Silt (%)	NO1	29.33±2.40	0.003
	NO2	40.67±1.45	
	NO3	23.67±2.33	
EC	NO1	0.387±0.148	0.102
	NO2	0.730±0.165	
	NO3	0.276±0.003	
Kireç (%)	NO1	6.800±0.265	0.007
	NO2	2.627±0.335	
	NO3	3.667±0.968	
Organik madde (%)	NO1	5.703±0.300	0.002
	NO2	5.523±0.363	
	NO3	3.553±0.043	
N (ppm)	NO1	0.303±0.075	0.123
	NO2	0.550±0.153	
	NO3	0.213±0.033	
P (ppm)	NO1	9019±2,63	0.000
	NO2	5132±122	
	NO3	14733±4.33	
K (ppm)	NO1	337.3±45.9	0.112
	NO2	410.3±63.7	
	NO3	500.67±8.67	
Ca (ppm)	NO1	3.583±0.348	0.539
	NO2	3.381±0.017	
	NO3	3.250±0.030	
Mg (ppm)	NO1	140.00±1.53	0.001
	NO2	249.0±20.0	
	NO3	170.67±1.67	
Na (ppm)	NO1	57.24±4.03	0.000
	NO2	164.67±3.67	
	NO3	37.830±0.320	

Fe (ppm)	NO1	11.920±0.273	0.000
	NO2	11.703±0.137	
	NO3	15.247±0.367	
Mn (ppm)	NO1	10.983±0.749	0.000
	NO2	15.91±1.00	
	NO3	5.407±0.233	
Zn (ppm)	NO1	18.447±0.707	0.000
	NO2	14.073±0.093	
	NO3	8.473±0.313	
Cu (ppm)	NO1	3.560±0.384	0.003
	NO2	2.100±0.030	
	NO3	1.846±0.033	
B (ppm)	NO1	1.373±0.054	0.000
	NO2	2.356±0.066	
	NO3	1.666±0.033	

Türkiye topraklarının özelliklerine bakıldığı zaman analiz sonuçlarına göre orta kuvvetli asit, az kireçli, tuzsuz, organik madde bakımından orta seviyede, mineralce zengin toprakları olduğu görülmektedir. Kazakistan topraklarının özelliklerine bakıldığı zaman analiz sonuçlarına göre hafif alkali, tuzsuz, az kireçli, organik madde bakımından zengin, mineralce zengin toprakları olduğu görülmektedir.

Tablo 3.28: Türkiye ve Kazakistan toprak örneklerinin özelliklerinin karşılaştırılması

Yapılan analizler	Toprak numuneleri ölçüm sonuçları		
	Türkiye	Kazakistan	P değerleri
pH (25°C)	5.522±0.10	7.598±0.093	0.000
Kum (%)	31.0±4.7	47.22±2.7	0.011
Kil (%)	45.9±3.4	25.56±1.2	0.000
Silt (%)	36.2±4.9	31.22±2.7	0.390
EC	0.092±0.016	0.464±0.094	0.004
Kireç (%)	1.73±0.15	4.36±0.70	0.006
Organik madde (%)	3.44±0.64	4.93±0.37	0.068
N (ppm)	0.222±0.44	0.356±0.71	0.134
P (ppm)	2.001±0.12	96.3±14	0.000
K (ppm)	195.2±25	416.1±33	0.000
Ca (ppm)	1.689±0.076	3.405±0.11	0.000
Mg (ppm)	540.1±22	186.6±17	0.000

Na (ppm)	64.0±8.3	86.6±20	0.317
Fe (ppm)	43.2±6.1	12.96±0.59	0.001
Mn (ppm)	138.3±16	10.77±1.6	0.000
Zn (ppm)	2.16±0.58	13.66±1.5	0.000
Cu (ppm)	1,258±0,13	2.502±0.29	0.002
B (ppm)	0.590±0.076	1.799±0.15	0.000

Yukarıdaki tabloya bakıldığı zaman iki ülke topraklarının fiziksel ve kimyasal özellikler bakımından farklı olduğu görülmektedir ($p<0.05$) sadece silt, organik madde, N ve Na miktarları bakımından benzerlik göstermektedir ($p>0.05$).

3.4.2 Bitki Örneklerinde İçerik Analiz Sonuçları

L.martagon bitkisinin her iki ülkeden alınan yeraltı ve yerüstü kısımlarının ayrı ayrı karşılaştırmalı olarak analizleri yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 3.29, 3.30, 3.31 ve 3.32’de sunulmaktadır.

Tablo 3.29: Türkiye’den toplanmış bitki örneklerinin yeraltı kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması

İnorganik Maddeler	Numune kodu	Ölçüm sonucu (ppm)	P değeri
Azot (N)	NO1	1.620±0.405	0.549
	NO2	1.590±0.306	
	NO3	1.183±0.107	
Potasyum(K)	NO1	1.603±0.213	0.220
	NO2	2.157±0.222	
	NO3	1.913±0.150	
Magnezyum (Mg)	NO1	0.196±0.032	0.695
	NO2	0.287±0.167	
	NO3	0.170±0.005	
Fosfor (P)	NO1	0.137±0.067	0.732
	NO2	0.107±0.039	
	NO3	0.163±0.034	
Kalsiyum (Ca)	NO1	0.933±0.116	0.338
	NO2	1.026±0.093	
	NO3	0.810±0.070	

Demir (Fe)	NO1	1121.3±49.2	0.194
	NO2	914.7±42.1	
	NO3	971±107	
Mangan (Mn)	NO1	42.55±2.42	0.082
	NO2	61.51±3.73	
	NO3	46.09±7.62	
Çinko (Zn)	NO1	41.42±2.39	0.071
	NO2	39.67±4.02	
	NO3	51.15±2.27	
Bakır (Cu)	NO1	9.11±0.40	0.441
	NO2	9.94±1.24	
	NO3	10.99±1.06	
Bor (B)	NO1	16.97±1.25	0.209
	NO2	20.36±1.59	
	NO3	16.13±1.79	

Tablo 3.30: Türkiye'den toplanmış bitki örneklerinin yerüstü kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması

İnorganik Maddeler	Numune kodu	Ölçüm sonucu (ppm)	P değeri
Azot (N)	NO1	1.327±0.299	0.439
	NO2	1.043±0.217	
	NO3	0.850±0.214	
Potasyum(K)	NO1	1.057±0.326	0.294
	NO2	1.577±0.411	
	NO3	0.850±0.058	
Magnezyum (Mg)	NO1	0.122±0.028	0.262
	NO2	0.257±0.142	
	NO3	0.040±0.018	
Fosfor (P)	NO1	0.307±0.184	0.535
	NO2	0.133±0.023	
	NO3	0.173±0.031	
Kalsiyum (Ca)	NO1	0.197±0.117	0.770
	NO2	0.163±0.066	
	NO3	0.115±0.024	
Demir (Fe)	NO1	534.7±42.2	0.130
	NO2	392.0±2.9	
	NO3	560.7±80.8	
Mangan (Mn)	NO1	27.61±2.89	0.692
	NO2	26.28±3.50	
	NO3	29.60±0.89	

Çinko (Zn)	NO1	17.64±1.12	0.541
	NO2	17.90±0.60	
	NO3	16.24 ±1.38	
Bakır (Cu)	NO1	9.363±0.383	0.404
	NO2	10.843±0.817	
	NO3	9.820±0.902	
Bor (B)	NO1	8.010±0.679	0.271
	NO2	10.00±1.24	
	NO3	8.303±0.333	

Tablo 3.31: Kazakistan'dan toplanmış bitki örneklerinin yeraltı kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması

İnorganik Maddeler	Numune kodu	Ölçüm sonucu	P değeri
Azot (N)	NO1	0.963±0.227	0.218
	NO2	1.363±0.149	
	NO3	1.610±0.295	
Potasyum(K)	NO1	1.780±0.340	0.416
	NO2	2.313±0.188	
	NO3	2.020±0.243	
Magnezyum (Mg)	NO1	0.496±0.088	0.728
	NO2	0.526±0.083	
	NO3	0.583±0.049	
Fosfor (P)	NO1	0.286±0.093	0.981
	NO2	0.260±0.107	
	NO3	0.267±0.102	
Kalsiyum (Ca)	NO1	1.330±0.050	0.568
	NO2	1.230±0.132	
	NO3	1.173±0.102	
Demir (Fe)	NO1	479.3±67.1	0.368
	NO2	574.3±30.9	
	NO3	553.3±29.4	
Mangan (Mn)	NO1	20.82±4.63	0.901
	NO2	23.58±4.58	
	NO3	21.58±3.94	
Çinko (Zn)	NO1	40.09±3.11	0.700
	NO2	36.42±2.34	
	NO3	38.12±3.40	
Bakır (Cu)	NO1	9.193±0.844	0.963
	NO2	9.583±0.725	
	NO3	9.32±1.38	
Bor (B)	NO1	33.34±2.51	0.231
	NO2	45.78±5.12	

	NO3	44.11±6.31	
--	-----	------------	--

Tablo 3.32: Kazakistan'dan toplanmış bitki örneklerinin yerüstü kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması

İnorganik Maddeler	Numune kodu	Ölçüm sonucu	P değeri
Azot (N)	NO1	0.243±0.061	0.130
	NO2	0.750±0.243	
	NO3	1.417±0.571	
Potasyum(K)	NO1	1.473±0.304	0.637
	NO2	1.630±0.401	
	NO3	1.883±0.102	
Magnezyum (Mg)	NO1	0.443±0.147	0.934
	NO2	0.387±0.155	
	NO3	0.467±0.167	
Fosfor (P)	NO1	0.166±0.0437	0.633
	NO2	0.180±0.050	
	NO3	0.123±0.029	
Kalsiyum (Ca)	NO1	1.143±0.089	0.966
	NO2	1.140±0.087	
	NO3	1.110±0.116	
Demir (Fe)	NO1	451.0±33.0	0.507
	NO2	460.3±17.1	
	NO3	421.0±16.8	
Mangan (Mn)	NO1	18.57±4.94	0.883
	NO2	21.31±3.27	
	NO3	20.60±3.56	
Çinko (Zn)	NO1	39.83±2.41	0.994
	NO2	40.32±2.75	
	NO3	40.68±8.52	
Bakır (Cu)	NO1	7.30±1.83	0.551
	NO2	8.65±1.07	
	NO3	9.370±0.717	
Bor (B)	NO1	42.26±5.73	0.979
	NO2	40.47±7.13	
	NO3	40.30±6.96	

Yukarıdaki tablolara bakıldığı zaman Türkiye ve Kazakistan 'dan toplanan bitki örneklerinin analiz sonuçlarına toplandığı lokaliteler arasında makro ve mikro besin elementleri miktarları arasında önemli bir fark görülmemektedir ($p > 0.059$). Sonuç olarak lokalite bakımından örneklerin arasında fark bulunmamaktadır.

Tablo 3.33: Kazakistan ve Türkiye’den toplanmış bitki örneklerinin yeraltı kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması

İnorganik Maddeler	Ölçüm sonucu (ppm)		P değeri
	Türkiye	Kazakistan	
Azot (N)	1.464±0.17	1.312±0.15	0.505
Potasyum(K)	0.382±0.13	0.460±0.15	0.473
Magnezyum (Mg)	0.218±0.052	0.536±0.040	0.000
Fosfor (P)	0.135±0.026	0.271±0.051	0.037
Kalsiyum (Ca)	0.923±0.057	1.244±0.055	0.001
Demir (Fe)	1002.00±48	535.7±27	0.000
Mangan (Mn)	50.1±3.9	21.99±2.2	0.000
Çinko (Zn)	44.08±2.3	38.21±1.6	0.056
Bakır (Cu)	10.01±0.55	9.37±0.51	0.405
Bor (B)	17.82±1.0	41.07±3.1	0.000

Yukarıdaki tabloya göre her iki ülke örnekleri yeraltı kısımları arasında Mg, P, Ca, Fe, Mn ve B elementleri bakımından fark gözlenirken N, K, Zn ve Cu elementleri bakımından fark bulunmamıştır.

Tablo 3.34: Kazakistan ve Türkiye’den toplanmış bitki örneklerinin yerüstü kısımlarının içerdiği maddeler açısından karşılaştırılması

İnorganik Maddeler	Ölçüm sonucu (ppm)		P değeri
	Türkiye	Kazakistan	
Azot (N)	1.073±0.14	0.803±0.24	0.354
Potasyum(K)	1.161±0.19	1.662±0.16	0.059
Magnezyum (Mg)	0.140±0.053	0.432±0.079	0.009
Fosfor (P)	0.204±0.060	0.156±0.023	0.476
Kalsiyum (Ca)	0.159±0.041	1.131±0.050	0.000
Demir (Fe)	496±37	444.1±13	0.224
Mangan (Mn)	27.83±1.4	20.16±2.0	0.008
Çinko (Zn)	17.26±0.60	40.28±2.7	0.000
Bakır (Cu)	10.01±1.28	8.44±2.14	0.082
Bor (B)	8.77±0.52	41.0±3.3	0.000

Yukarıdaki tabloya göre her iki ülke örnekleri yerüstü kısımları arasında Mg, Ca, Mn, Zn ve B elementleri bakımından fark gözlenirken, N, K, P, Fe ve Cu elementleri bakımından fark bulunmamıştır.

3.5 Tuzlu su Karidesi (*Brine-Shrimp Artemia salina* L.) Toksikite Testi Bulguları

Bitki ekstraktların Brine Shrimp (*Artemia salina*) larvaları üzerindeki akut toksisitesini belirleyebilmek için, toksisite verileri hesaplanmış ve LC₅₀ değerleri ortaya konulmuştur. Test sonucunda elde edilen veriler EPA Probit Analiz Programı ile değerlendirilmiş ve %95 güvenilirlik sınırları içinde LC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen yüzde ölüm oranları ve LC₅₀ değerleri Tablo 3.35 ve 3.36'da gösterilmiştir. Tabloya göre en yüksek toksik etkiyi 64.43 µg/mL ile Türkiye yeraltı etanol ekstraktı gösterirken, en düşük toksik etkiyi ise 213.59 µg/mL ile Kazakistan yerüstü aseton ekstraktı göstermiştir.

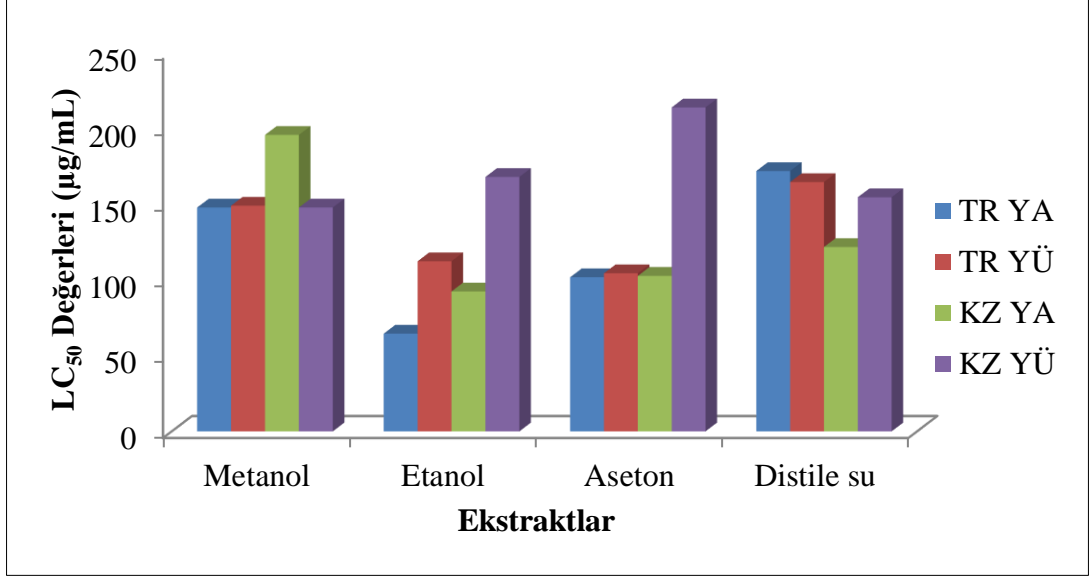
Tablo 3.35: *L.martagon* türünün *Artemia salina*'ya karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) ve istatistik değerleri

Türkiye	24 saat sonra mortalite %			
	Metanol YA	Metanol YÜ	Etanol YA	Etanol YÜ
100 µg/mL	46	33	70	40
200 µg/mL	56	56	76	93
300 µg/mL	80	100	86	100
400 µg/mL	90	100	96	100
500 µg/mL	100	100	100	100
LC ₅₀ (min)	70.00	100.87	15.94	67.36
LC ₅₀	147.62	148.81	64.43	112.16
LC ₅₀ (max)	204.80	190.05	260.47	145.46
LC ₉₀	396.05	345.72	403.02	290.31
x ²	0.63	1.17	0.26	0.02
	Aseton YA	Aseton YÜ	Distile Su YA	Distile Su YÜ
100 µg/mL	50	40	43	40
200 µg/mL	90	100	56	56
300 µg/mL	100	100	63	60
400 µg/mL	100	100	70	80
500 µg/mL	100	100	80	90
LC ₅₀ (min)	45.30	85.72	35.13	33.00
LC ₅₀	101.65	104.24	171.64	164.36
LC ₅₀ (max)	135.36	126.76	312.24	253.46
LC ₉₀	280.62	295.09	673.52	528.07

x^2	0.02	0.02	0.11	0.40
-------	------	------	------	------

Tablo 3.36: *L.martagon* türünün *Artemia salina*'ya karşı belirtilen etki sürelerindeki ortalama ölüm oranları (%) ve istatistik değerleri

Kazakistan	24 saat sonra mortalite %			
	Metanol YA	Metanol YÜ	Etanol YA	Etanol YÜ
100 µg/mL	36	43	60	26
200 µg/mL	46	53	86	50
300 µg/mL	56	80	100	90
400 µg/mL	90	90	100	100
500 µg/mL	100	100	100	100
LC₅₀ (min)	117.18	70.00	24.77	119.03
LC₅₀	195.47	147.62	92.27	167.75
LC₅₀ (max)	263.75	204.80	132.82	211.14
LC₉₀	455.82	396.05	287.98	346.20
x²	1.68	0.63	0.14	0.63
	Aseton YA	Aseton YÜ	Distile Su YA	Distile Su YÜ
100 µg/mL	53	16	56	30
200 µg/mL	73	43	60	53
300 µg/mL	83	63	80	90
400 µg/mL	90	100	100	100
500 µg/mL	95	100	100	100
LC₅₀ (min)	1.96	158.32	45.25	100.95
LC₅₀	102.55	213.59	121.55	154.38
LC₅₀ (max)	173.97	263.79	174.13	199.25
LC₉₀	444.58	398.41	366.57	347.54
x²	0.01	0.93	0.57	0.86



Şekil 3.23: Ekstraktların Brine Shrimp Toksikite Testi sonuçları

3.6 Biyokimyasal Parametre Çalışma Sonuçları

L.martagon'un distile su ekstraktlarının yeraltı ve yerüstü kısımlarının %0.5'lik ve %1'lik konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır ve her grupta 5 sıçan olacak şekilde her iki ülke örnekleri için toplam dokuz grup sıçan kullanılmıştır. Hazırlanan solüsyonlar sıçanların sularına eklenerek, otuz gün boyunca içirilmiştir. Deneyin başlangıcında, onbeşinci ve otuzuncu gününde alınan kan örnekleri tahlile gönderilerek tüm grupların ALT, ALP ve Kreatinin değerleri tespit edilmiştir.

Tablo 3.37: *L.martagon* distile su ekstraktı uygulanan sıçanların serum enzim düzeyleri

Ülke	Enzim	Kısım	%	Gün ve ölçümler (X ± SS)		
				1. gün	15.gün	30.gün
Türkiye	ALT(U/L)	YA	0.5	53.33±2.03	58.42±1.32	69.63±1.42
			1.0	52.1±0.85	72.6±0.75*	97.1±0.63*
		YÜ	0.5	57.8±0.53	65.1±0.76	83.5±0.42
			1.0	61.72±2.11	116.94±1.53*	138.32±1.56*
	ALP(U/L)	YA	0.5	62.96±2.54	106.33±2.54	158.0±2.43
			1.0	51.3±0.76	119.8±0.77*	152.1±1.54*
		YÜ	0.5	111.61±2.43	116.94±2.65	136.39±2.54
			1.0	63.1±0.53	112.1±0.66*	181.3±0.77*
	Kreatinin	YA	0.5	0.59±1.68	0.48±1.43	0.48±1.21

	(mg/dl)		1.0	0.42±0.98	0.66±0.65	0.81±0.64
		YÜ	0.5	0.59±1.45	0.49±2.65	0.46±3.21
			1.0	0.46±0.87	0.64±0.65*	0.71±0.75*
Kazakistan	ALT(U/L)	YA	0.5	52.83 ±1.45	56.83±1.33	70.75±1.99
			1.0	51.3±0.54	61.1±0.86*	79.3±0.64*
		YÜ	0.5	53.17±3.13	54.00±2.20	62.50±2.43
			1.0	51.5±0.43	56.6±0.74	61.8±0.52
	ALP(U/L)	YA	0.5	70.83±1.43	116.46±1.20	132.96±2.54
			1.0	72.3±0.74	126.8±0.53*	141.6±0.76*
		YÜ	0.5	70.33±3.60	100.83±2.43	133.00±3.43
			1.0	69±0.14	129.6±0.48*	144.1±0.66*
	Kreatinin (mg/dl)	YA	0.5	0.62±1.21	0.52±1.33	0.44±1.99
			1.0	0.31±0.76	0.43±0.88*	0.84±0.77*
		YÜ	0.5	0.61±2.20	0.53±1.34	0.50±1.32
			1.0	0.43±0.59	0.55±0.98*	0.63±0.70*
Kontrol	ALT(U/L)	dH₂O		53.61±2.04	54.68±1.08	53.76±1.98
	ALP(U/L)			95.33±2.01	95.87±2.06	96.32±1.32
	Kreatinin (mg/dl)			0.43±1.32	0.45±1.03	0.46±1.42

X ± SS: Ortalama ± Standart Sapma * :P<0.05 fark vardır

Alanin aminotransferaz enzimi (ALT) aminoasit metabolizmasını düzenleyen önemli bir aminotransferaz enzimidir. Bu enzim –NH₂ (amino) grubunu oksoasitlere transfer ederek aminoasit sentezinde rol alır. ALT enzimi tepkimeyi geri dönüşümlü olarak katalizleyerek ketoasitleri aminoasitlere, amino asitleri ise keto asitlere dönüştürür. ALT enzimi hücre içerisinde olan bir enzim olmasına karşın, bu enzim düzeyinin kan serumunda yükselmesi, canlılarda karaciğer hasarının veya bir travmanın önemli bir göstergesidir. ALT enzimi diğer karaciğer enzimlerine göre daha spesifik bir enzim olup, bu enzimin yüksek seviyesi karaciğer hasarının bir göstergesi olarak kullanılır (Nemcsok ve Boross 1982, Nemcsok ve diğ. 1987).

Alkalin fosfataz (ALP) enzimi bir hidrolaz enzimi olup, nükleotidlerden, proteinlerden ve alkaloidlerden fosfat gruplarının koparılması tepkimelerini katalizleyen bir enzimdir. Bu enzim alkali (bazik) ortamda fonksiyonel işlemlerini sürdürür. ALP insanlarda kemik, karaciğer, bağırsak ve plasenta tarafından sentezlenir ve safra yoluyla vücuttan dışarı atılır. Kan serumunda bu enzimin düzeyinin artması kemik, karaciğer ve safra yollarında doku hasarının olduğuna işaret etmektedir (Kısa 2016). Tablo 3.39’da görüleceği gibi hemen hemen tüm

sonuçlarda rakamsal olarak farklılıklar mevcuttur. ALT ve ALP değerine bakıldığında Türkiye örneklerinde 1., 15.ve 30. gün olmak üzere günler arası ölçüm değerlerinde fark bulunmuştur. Kontrol grubu ile mukayese edildiğinde özütlerin serum ALT düzeyini artırdığı tespit edilmiştir. Kreatinin sonuçlarında ise sadece yerüstü ekstraktında fark gözlenmiştir. Kazakistan örneklerinde ALT değerlerinde sadece yeraltı ekstraktında fark bulunurken, ALP değerlerinde hem yeraltı hem yerüstü özütü farklı bulunmuştur. Kreatinin sonuçlarında ise yeraltı ve yerüstü kısmı etkili olup günler arasında fark gözlenmiştir.

3.7 Antihelmin Aktivite Sonuçları

Antihelmin aktivite testi için helmint grubu olan nematod örnekleri kullanılmıştır. Helmint (nematod) örneği olarak *Tubifex tubifex* (Annelida) seçilmiştir. Her iki ülkenin bitki örneklerinin yerüstü kısmından hazırlanmış metanol ekstraktları dört farklı konsantrasyonda 20 mL olacak şekilde (5, 10, 20 ve 30 mg/mL) petri kaplarına koyulmuştur. Her bir petri kabına 6' şar adet helmint canlı olarak eklenmiştir. Paraliz ve ölüm süreleri dakika olarak kaydedilmiştir. En kısa zamanda ölüm gösteren ekstrakt en yüksek antihelmin aktiviteye sahip olarak kabul edilmiştir. Bununla ilgili sonuçlar Tablo 3.40' da verilmiştir. Antihelmin aktivite sonuçlarına göre nematodlar üzerinde en etkili ekstrakt 11 dk ile en kısa zamanda ölüme neden olan Kazakistan yerüstü ekstraktı olmuştur.

Tablo 3.38: Metanol yerüstü ekstraktına ait antihelmin aktivite testi sonuçları

Ülke	Konsantrasyon (mg/mL)	Paraliz (dk)	Ölüm (dk)
Türkiye	5	41±0.01	48±0.08
	10	30±0.04	44±0.12
	20	22±0.11	24±0.05
	30	6±0.03	14±0.07
Kazakistan	5	53±0.03	63±0.13
	10	48±0.06	57±0.06
	20	24±0.12	30±0.04
	30	6±0.09	11±0.03

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

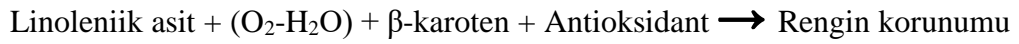
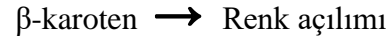
Çalışmamızda *L.martagon* türünün Türkiye ve Kazakistan'dan toplanan örneklerinin yer altı ve yer üstü kısımlarından elde edilen etanol, metanol, aseton ve distile su ekstraktlarının fenolik madde kompozisyonu ve bazı biyolojik aktivitelerini belirlemek için yapılan bu çalışmada numunelerin bitki ve toprak analizleri yapılmış, kimyasal kompozisyon belirlenmesinde HPLC kromatografik analiz yöntemi uygulanmıştır.

Bitkilerde antioksidan aktiviteden sorumlu binlerce bileşik vardır. Bu bileşiklerin önemli bir kısmı fenolik karakterdedir. Bu nedenle fenolik bileşik içeriği kimi zaman antioksidan aktivitenin bir ölçüsü gibi düşünülebilir. Ancak bu konuda tespit edilmiş bir pozitif korelasyon yoktur ve bu ilişki bitkiden bitkiye hatta aynı bitkinin çeşitleri arasında farklılık göstermektedir. Toplam fenolik bileşik içeriği büyük oranda genetik faktörler ve çevre koşullarına bağlıdır (Heim ve diğ. 2002).

Antioksidan aktivite belirleme çalışmalarında, en yüksek aktivitenin hangi bileşik türlerinden ileri geldiğini gözlemlemek ve tespit etmek amacıyla, artan polariteye göre çözücü sistemi kullanılması bu tür çalışmalarda çok yaygındır. Antioksidan aktivite çalışmalarında pH, sıcaklık, çalışma hassasiyeti ve çözücü vb. gibi reaksiyon şartlarının önemli olması ve sonuçları etkilemesinden dolayı farklı metodların kullanılmasının gerekli olduğu birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Frankel ve diğ. 1994, Koleva ve diğ. 2002). Bitkilerde antioksidan kapasite, test sisteminin şartları ve ekstraktların kompozisyonu gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Araştırmacılar bu yüzden bitkilerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi çalışmalarında tek bir metodun antioksidan kapasiteyi tümüyle yansıtmadığını ve birkaç farklı antioksidan kapasite tayin metodu kullanarak bu durumun doğrulanması gerektiğini belirtmektedirler (Wang ve diğ. 2006). Bu bilgiye dayanarak, bu çalışmada *L.martagon* türüne ait ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde altı farklı metod kullanılmıştır ve elde edilen antioksidan aktivite sonuçları değerlendirilmiştir. Bunlar; DPPH, ABTS, metal şelatlama, fosfomolibdenyum, β -karoten/linoleik asit ve demir indirgeme (FRAP) metodlarıdır. Ayrıca toplam fenolik, flavonoid ve tanen madde miktarları da Folin-Ciocalteu reaktifi ve alüminyum klorür kullanılarak tespit edilmiştir.

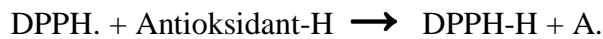
β -karoten-linoleik asit yönteminde, sistemde antioksidanların bulunması ya da sisteme antioksidan içrikli özütlerin ilave edilmesi, linoleik asitten oluşan peroksit ürünlerinin bu antioksidanlarla nötrale edilmesini sağlar ve bunun sonucu olarak da β -karotenin karakteristik sarı rengi korunmuş olur.

Toplam antioksidan aktivite belirleme yöntemlerinden biri olan bu sistem linoleik asitin inkübasyonu sırasında oluşan peroksit ürünlerinin β -karoten karakteristik sarı rengine tepkime vererek gidermesi ve bu renk giderinin spektroskopik olarak takip edilmesi esasına bağlıdır.



β -karoten linoleik asit emülsiyon sistemi yöntemin sonuçlarına bakıldığında ekstraktların linoleik asit oksidasyonunu inhibe etme oranları %48.07-99.28 arasında dağılım göstermektedir. Örnekler arasında en yüksek antioksidan aktivite Türkiye'den toplanan örneğin yeraltı metanol ekstraktı en yüksek aktivite göstermiştir.

Son zamanlarda, kararlı organik bir radikal olan DPPH, mantar özütleri ve çeşitli yiyecek maddelerinin antioksidan aktivitelerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yöntem DPPH radikalinin alkolde hazırlanan çözeltilerinin bir hidrojen verici antioksidan madde varlığında radikal olmayan DPPH-H'a dönüşümünün spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. DPPH radikalinin 517 nm'deki soğurum pikinin şiddetindeki azalmayla orantılı olacak şekilde antioksidan aktivitenin varlığı nitel ve nicel olarak belirlenir. Tepkime mekanizması aşağıdaki şekilde gösterilebilir.



Belirli bir inkübasyon süresinden sonra kalan DPPH radikali derişimi spektrofotometrik olarak ölçülür. DPPH radikalinin rengindeki açılma antioksidant maddenin radikal temizleme aktivitesi olarak gösterilir. Yöntem hızlıdır. 30 dakikalık analiz süresi ve insan gücü açısından kolay olması nedeniyle daha çok tercih edilir. Ekstraktların serbest radikal giderim aktivitesi ekstrakt içindeki antioksidan bileşiklerin hidrojenlerini vermelerine ve bileşiğin yapısal konformasyonuna

bağlıdır. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil 517 nm’de dalga boyu maksimumuna sahiptir ve bazı doğal bileşiklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. DPPH serbest radikal giderim yönteminde tüm ekstraktların derişimi artması ile serbest radikal giderim aktivitelerinin de arttığı görülmektedir. En yüksek serbest radikal giderim aktivitesi ekstraktların 1000 mg/mL derişimlerinde Türkiye’den toplanan örneğin yerüstü etanol ekstraktında tespit edilmiştir.

L. candidum ile yapılan aktivite çalışmasında toplam antioksidan aktivite β -karoten renk açılımı yöntemi ile, DPPH serbest radikali giderimi ve ABTS katyon radikali giderimi aktivitesi belirlenmiştir. *L. candidum*’ da en yüksek aktiviteye sahip, etil asetat ekstraksiyonu ile elde edilen özüt olup 800 μ g’nın inhibisyonu %83.24 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar ışığında mis zambağı (*L. candidum*) çiçeklerinin fenolik bileşik bakımından zengin olduğu görülmüştür. Fenolik bileşik bakımından zengin olması, ilaç ve özellikle kozmetik sektöründe çok önemli bir bitkisel kaynak olabileceğini ortaya koymuştur (Işık 2014).

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi gibi ABTS•+ giderme aktivitesi de sulu karışımların, içeceklerin, ekstraktların veya saf maddelerin radikal giderme aktivitelerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Miller ve diğ. 1996, Gülçin ve diğ. 2002). Ekstraktların katyon radikali giderim aktivitesi ABTS yöntemine göre belirlenmiştir. Bu yöntemle göre katyon radikal giderim aktivitesi en yüksek ekstrakt Türkiye’den toplanan örneğin yerüstü etanol ekstraktı olmuştur.

Çin’e özgü 6 *Lilium* türünün (*L. regale*, *L. concolor*, *L. pumilum*, *L. leucanthum*, *L. davidii* var. *unicolor* ve *L. lancifolium*) soğanları ile yapılan çalışmada antioksidan aktivitesine, fenolik bileşenlerine ve besinsel antioksidan potansiyellerine göre araştırılmıştır. Bu türler arasında en yüksek toplam fenolik madde miktarını içerenler türler sırasıyla *L. regale* (10381.49 \pm 49.12 GAEmg/100g), *L. pumilum* (4177.39 \pm 57.19 GAEmg/100g), *L. concolor* (3897.60 \pm 42.54 GAEmg/100g), *L. lancifolium* (2827.25 \pm 55.50 GAEmg/100g), *L. leucanthum* (2336.00 \pm 29.28 GAEmg/100g) ve *L. davidii* var. *unicolor* (2017.17 \pm 140.20 GAEmg/100g) şeklindedir. Sonuçlar soğan ekstraktlarının, total fenolik, total flavonoid ve total flavanol içerikleriyle pozitif korelasyon gösteren güçlü antioksidan aktivite sergilediklerini göstermiştir. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (YPSK) analizi, ekstraktlarda büyük fenolik bileşenler olan rutin ve kamferolü ortaya çıkarmıştır. Hiyerarşik takım analizi *L. regale*’nin yüksek fenolik içerik ve güçlü antioksidan aktiviteye sahip bir grupta olduğunu göstermiştir. *L. leucanthum*, *L.*

dauidii var. *unicolor* ve *L. lancifolium* düşük fenolik içerikleri ve zayıf antioksidan kapasiteleriyle üçüncü grupta toplanırken, *L. concolor* ve *L. pumilum* uygun fenolik içerik ve antioksidan kapasiteyle karakterize olan bir grupta toplanmıştır. *Lilium* soğanlarının, potansiyel bir doğal antioksidan kaynağı olarak gıda ve farmasötik uygulamalara hizmet edebileceği önerilmiştir (Jin ve diğ. 2012, Luo ve diğ. 2012).

Geçiş metalleri arasından Fe^{2+} , lipid oksidasyonunda prooksidan olarak bilinir. Fenton reaksiyonu ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \bullet OH$) vasıtasıyla reaktif oksijen türlerini oluşturur ve lipid oksidasyonunu hızlandırır (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Bitki ekstraktları geçiş metal iyonlarını bağlayarak ortamdaki konsantrasyonlarını azaltır ve Fe^{2+} katalizli lipid peroksidasyonunu geciktirirler. Bitki ekstraktlarının Fe^{2+} iyonlarını şelatlama aktivitesinin ölçümü 200-1000 mg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda çalışılmıştır. En yüksek metal şelatlama oranı Kazakistan yeraltı metanol ekstraktında tespit edilmiştir.

İndirgeme kapasitesi tayininde bitki ekstraktlarının Fe^{3+} 'ü Fe^{2+} 'ye dönüştürebilmesi incelenmiştir. Bir bileşiğin indirgeme kapasitesi onun elektron transfer edebilmesiyle ilişkilidir ve potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilir. İndirgenmiş ürüne Fe^{3+} 'ün ilavesiyle 700 nm'de güçlü absorbansa sahip olan Prussian mavisi renginde bir kompleks olan $Fe_4[Fe(CN)_6]$ meydana gelir. Absorbansdaki artış, kompleksin oluşumundan kaynaklanan artışı ve dolayısıyla artan indirgeme kapasitesini göstermektedir. İndirgeme gücünde absorbansın artması ile antioksidan kapasite doğru orantılıdır. En yüksek absorbansa sahip Türkiye'den toplanan örneğin yerüstü aseton ekstraktı (1.780) olmuştur.

Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesinde kullanılan diğer bir yöntem ise fosfomolibdenyum yöntemidir. Bu yöntemin temeli Mo(VI) iyonlarının ekstraktlar içerisindeki antioksidan bileşikler tarafından Mo(V)'e indirgenmesi sonucu oluşan yeşil rengin ve bu rengin 695 nm'de spektroskopik olarak takip edilmesine dayanmaktadır. Dolayısıyla bu dalga boyunda daha yüksek absorbansa sahip olan ekstrakt daha yüksek toplam antioksidan aktivite göstermektedir. Buna göre en yüksek aktiviteyi Türkiye'den toplanan örneğin yerüstü aseton ekstraktı göstermiştir.

Gao ve diğ. (2015), *L. lancifolium* türü ile yaptıkları çalışmada soğanlarından selüloz kromatografisi ve Sefakril S-400 boyut dışlama kromatografisi ile yeni bir polisakkarit bileşik olan (LP2-1) DEAE izole etmiş ve saflaştırmışlardır. LP2-1'in yapısal karakterizasyonu, fizikokimyasal özellikleri ve antioksidan aktivitesi

araştırılmıştır. Sonuç olarak LP2-1'in DPPH ve hidroksil radikallerini giderim aktivitesine ve ayrıca demir iyonunu güçlü bir indirgeme gücüne ve şelatlama aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar LP2-1'in iyi bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve gıda endüstrisinde kullanılabilirliğini desteklemektedir.

Yapılan bu çalışmada *L.martagon* ekstraktının antioksidan kapasitesi farklı yöntemlerle incelendi. Bu yöntemlerde DPPH, indirgeme gücü ve ABTS metodu elektron transferi esaslıdır, β -karoten lineolik asit yöntemi ise hidrojen atom transferi esaslıdır. Elektron transfer esasına dayanan yöntemler, indirgenirken renk değiştiren yükseltgenlerin indirgenmesi sonucu antioksidanların kapasitesini ölçerler. Bu olay bir absorban artışı veya azalışı şeklinde olabilir. Renk değişiminin derecesi, başlangıç örneğindeki toplam antioksidan konsantrasyonu ile ilişkilidir. Gerçekte hidrojen atomu transferi ve elektron transferi esaslı reaksiyonlar bir anlamda içiçeridir ve aralarında aşılmaz sınırlar yoktur.

Türkiye ve Kazakistan örneklerinin yerüstü aseton (137.77 ± 0.83 , 113.56 ± 0.91 mg/mL GAE) ekstraktlarının fenolik bileşikler bakımından zengin olduğu Tablo 3.21'de görülmektedir ve bu ekstraktların antioksidan aktivitelerinin özelliklerinin de arttığı görülmektedir. Aseton ekstraktları DPPH, ABTS, fosfomolibden ve FRAP yönteminde antioksidan aktivite göstermiştir. Buradan fenolik madde miktarı fazla olan özütün antioksidan aktivitesinin de fazla olacağı sonucuna ulaşabiliriz. Fakat toplam antioksidan aktivitenin her zaman fenolik madde miktarına bağlı olmadığı, ancak antioksidan aktivite belirlemede önemli bir parametre olduğunu söyleyebiliriz. Fenoller, hidroksil grupları içermeleri nedeniyle radikal yok etme yeteneğine sahip bileşiklerdir. Bu önemli bitki bileşenleri hidroksil gruplarından hidrojenlerini radikallere vererek kararlı fenoksil radikalleri oluştururlar ve antioksidan aktivitede önemli rol oynarlar. Bu yüzden bitki özütlerinin antioksidan kapasitelerinin tayininde fenolik bileşik miktarlarının belirlenmesi oldukça önemlidir. Daha önceki çalışmalarda bazı araştırmacılar, bitkilerdeki fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivite arasında pozitif korelasyon bulurken (Velioğlu ve diğ. 1998, Vinson ve diğ. 1998, Gülçin ve diğ. 2002), bazıları bu iki belirleme arasında böyle bir ilişki bulunmadığını (Maillard ve Berset 1995, Bocco ve diğ. 1998, Heinonen ve diğ. 1998) vurgulamışlardır.

Toplam flavonoid madde miktarı incelendiğinde quercetin eşdeğer olarak en fazla flavonoid madde miktarı Kazakistan yerüstü aseton (74.94 ± 1.97 mgQE/g) ekstraktında gözlenirken, en az ise Kazakistan yeraltı metanol (3.59 ± 0.00 mgQE/g)

ekstraktında gözlenmiştir. Flavonidler bazik özelliklere sahip bileşenlerdir ve bu tür bileşenlerin apolar çözücüler tarafından iyi çözülebildiği bilinmektedir. Bu açıdan aseton ile yapılan çözeltilerde flavonoid bileşenlerin daha çok açığa çıktığı görülmektedir. Aynı zamanda yer üstü kısımlarda bitkinin çiçeklenme döneminde flavonoid miktarının maksimum düzeyde olduğu görülmüş olur. Ekstraktlar toplam tanen miktarı açısından değerlendirildiğinde kateşin eşdeğeri en fazla tanen miktarı Kazakistan yerüstü aseton (48.56 ± 6.40 mgCE/g) ekstraktında, en az tanen miktarı Türkiye yeraltı dH₂O (1.92 ± 0.05 mgCE/g) ekstraktında tespit edilmiştir.

L. martagon bitkisinin antioksidan özellikleriyle ilgili genel bir değerlendirme yapılırsa; iki ülke örneklerinin ekstraktları arasında Türkiye'den toplanan örneklerin ve yerüstü kısımların testlerde daha fazla aktivite gösterdikleri gözlenmiştir. Sekonder metabolit miktarı bakımından ise Kazakistan'dan toplanan örneklerin ve yerüstü kısımların daha fazla madde içerdiği görülmüştür. Bu durum, çeşitli aktivite çalışmalarında kullanılacak olan bitkilerin yetiştiği ekolojiye, gelişim dönemine ve hasat mevsimine, bitkinin kullanılan kısımlarına, bitkisel ekstraksiyonların elde edilme yöntemine, çözücülerin polaritesine ve türüne ya da çalışmanın yöntemine göre sonuçları ciddi ölçüde değiştirebileceğinin bir göstergesidir (Dulkadir 2007).

Çalışmada ekstraktlarda var olan fenolik bileşikler belirlemek amacıyla 15 ayrı saf fenolik standart kullanılarak HPLC ile ayırma ve tanımlamalar yapıldı. Bu amaçla yapılan HPLC içerik analizi ile ekstraktlarda gallik asit, 3,4-dihidroksi benzoik asit, 4-hidroksi benzoik asit, 2,5-dihidroksi benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit, epikateşin, p-kumarik asit, ferulik asit, rutin, ellajik, narinjin, kuersetin ve sinamik asit kalitatif ve kantitatif olarak tayin edilmiştir. Elde edilen kromatogramlardan ekstraktlarda total miktarı ile en fazla bulunan kafeik asit olmuştur.

Lilium türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda başta alkaloidler olmak üzere saponozitler, steroidler, fenilpropanoidler, flavonoidler, karotenoidler gibi çeşitli etken madde gruplarını içermekte olduğu tespit edilmiştir. *Lilium* türlerinden elde edilen flavonoidlerin de genellikle rutin ve kempferol türevi olduğu bildirilmiştir (Erdoğan ve Şener 2000).

Kuehne ve Hesse yapmış olduğu çalışmada farklı *Lilium* (*L.candidum*, *L. hansonii*, *L. martagon*, *L.medeloides*) türlerinin yeraltı kısımlarında genel olarak, pirrolidin türevi bir alkaloid olan ve antitümör aktivitesi bildirilen jatrofam bileşeni majör olarak bulunmuştur.

L. longiflorum (Paskalya zambağı) ile yapılan bir çalışmada soğanları Asya kültüründe gıda ve ilaç olarak kullanılmaktadır ve dünya çapında süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Yapılan içerik çalışmasında yeni bir steroidal glikoalkoloid ve iki yeni furostanol saponin, bilinen iki steroidal glikozit soğanlarından izole edilmiştir. *L. longiflorum*, bitki patojen savunmasına, ultraviyole ışıklardan korumaya ve zambakların tıbbi kullanımına katkısı olan fenilpropanoid gliserol glukositlerinin önemli bir miktarını içermektedir. Bitkideki bu bileşenlerin doğal yayılımlarını belirlemek için, seçilmiş iyon izlemede kullanılan sıvı kromatografi kütle spektroskopisi (LC-MS) metodu, *L. longiflorum*'un farklı organlarından alınan 5 fenilpropanoid gliserol glukositlerinin [1:(2S)-1-O-caffeoil-2-O-β-D-glukopiranosilgliserol, (2S)-1-O-kafeoil-2-o-β-D-glukopiranosil gliserol; 2: (2R)-1-O-β-D-glukopiranosil-2-o-p-kumarogliserol; 3: (2S)-1-O-p-kumarol-2-o-β-D-glukopiranosil gliserol; 4: (2S)-1-O-kafeoil-2-o-β-D-glukopiranosil-3-o-asetilgliserol ve 5: (2S)-1-O-p-kumarol-2-o-β-D-glukopiranosil-3-o-asetilgliserol) kantitatif analizleri için kullanılmıştır. 3 temelli p-kumarol ve onun asetillenmiş 5 türevinin paskalya zambağının soğanlarında bulunan fenilpropanoid gliserol glukositleri arasında en bol miktarda olduğu belirlenmiştir (Munafo ve diğ. 2010).

Mimaki ve diğ. (1999) *L. candidum* ile yaptıkları içerik çalışmasında beş yeni spirostanol saponin ve yeni furostanol saponin taze soğanlarından izole edilmiştir. Bunların yapıları, asit hidrolizi sonucu ve iki boyutlu NMR spektroskopik teknikler dahil olmak üzere spektroskopik analizler temelinde aydınlatılmıştır. İzole saponinler ortak yapısal özelliği olarak aglikon'un C-3'e bağlı bir O-glikosidik'in oluşumu ile O-α-L-ramnopiranosil-(142)-O-[β-D-glukopiranosil-(146)]-beta-D-glukopiranoz gibi bir dallı triglikozit parçası içermektedir. Na⁺/K⁺ ATPaz'daki saponinlerin inhibe edici aktivitesi değerlendirilmiştir.

Ekologlar, topraktaki elementlerin varlığını değerlendirmek için sıklıkla bitki bünyesindeki kimyasal element konsantrasyonlarından yararlanarak, bitki toprak ilişkilerini açıklamaya çalışırlar (Golley 1986, Carter ve diğ. 2003). Her iki ülkenin araştırma alanındaki fiziksel ve kimyasal özellikleri ile toprak ve bitkide bulunan mikro ve makro bitki beslenme elementleri arasındaki ilişki durumları araştırılmıştır. 3 farklı örnek alanından alınan toprakların fiziksel özellikleri incelendiğinde; Türkiye'deki örneklerin bulunduğu toprakların, kuvvetli asit, az kireçli, tuzsuz, organik madde bakımından orta seviyede, mineralce zengin topraklar olduğu tespit edilmiştir. Kazakistan'daki toprakların ise özelliklerine bakıldığında zaman

analiz sonuçlarına göre hafif alkali, tuzsuz, az kireçli, organik madde bakımından zengin, mineralce zengin toprakları olduğu görülmektedir. Yapılan analizlere göre her iki ülke toprak koşullarının çok benzer olmadığı tespit edilmiştir. *L.martagon* türünün her iki ülkeden alınan toprak örneklerinin ortak özelliklerine göre tuzsuz, az kireçli, organik madde bakımından zengin, mineralce zengin toprakları tercih ettiği sonucunu çıkarabiliriz. Bitki yapısında bulunan besin elementlerinin miktarı, bitkinin bulunduğu yere ve işlevine göre değişir. Bu amaçla yeraltı ile yerüstü, lokaliteler ve ülkeler arası ayrı ayrı karşılaştırmalı olarak analizleri yapılmıştır. *L.martagon* türünün yeraltı ve yerüstü kısmı on farklı element miktarları bakımından analiz edilmiştir. Tablo 3.35’de yapılan değerlendirmeye göre her iki ülke örnekleri yeraltı kısımları arasında Mg, P, Ca, Fe, Mn ve B element miktarları bakımından fark gözlenirken N, K, Zn ve Cu element miktarları bakımından fark bulunmamıştır. Türkiye örneklerinin yeraltı kısmında en yüksek Fe mikro elementi (1002.00 ± 48 ppm), Kazakistan örneklerinin yeraltı kısmında da en yüksek Fe mikro elementi (535.7 ± 27 ppm) tespit edilmiştir. Tablo 3.36’a göre her iki ülke örneklerinin yerüstü kısımları arasında Mg, Ca, Mn, Zn ve B elementleri miktarları bakımından fark gözlenirken, N, K, P, Fe ve Cu elementleri miktarları bakımından fark bulunmamıştır. Türkiye örneklerinin yerüstü kısmında en yüksek Fe mikro elementi (496 ± 00 ppm), Kazakistan örneklerinin yerüstü kısmında da en yüksek Fe mikro elementi (444.1 ± 13 ppm) tespit edilmiştir.

Bitkilerde sekonder metabolitlerin yapısına çevre faktörlerinin, coğrafi, iklim, edafik (toprak), orografik (yükselti) ve biyolojik faktörlerin etkisi büyüktür. Dünyanın güney kısmında yetişmekte olan bitkilerde genelde eterik yağlar ve alkaloidler, soğuk bölgelerde ise flavonoidler ve tanenler daha çok bulunmaktadır. Sıcak ve soğuk iklim sekonder metabolitlerin oluşumunu etkiler. Sekonder metabolitlerin yapısı toprak koşullarından (toprağın yapısından, nem miktarından, asit miktarından, kimyasal yapısından ve mineral madde miktarından) da etkilenmektedir.

Sert, kireçli topraklarda yetişmekte olan bitkilerde fenolik madde miktarı fazla iken, siyah ve kumlu topraklarda ise azdır (Delgado-Vargas ve diğ. 2000, Kılınç ve Kutbay 2004, Mammadov 2014). Tablo 3.30’dan anlaşıldığı kadar Türkiye toprakları daha sert olduğu için fenolik madde miktarı yüksek çıkmıştır. Topraklarda fosforun miktarının artışı, flavonoid, tanen ve glikozitlerin oluşumuna neden

olmaktadır (Delgado-Vargas ve diğ. 2000, Kılınç ve Kutbay 2004). Bitki örneklerinin toplanmış olduğu Kazakistan topraklarında daha fazla fosfor bulunduğu için flavonoid ve tanen madde miktarı artış göstermiştir.

Toprağın kimyasal elementleri ile bitkinin sekonder metabolit grupları arasındaki bağlantı, deneylerle kanıtlanmıştır. Örneğin; glikozitlerin salgılanmasında bitkiler sürekli olarak topraktan mangan, molibden ve krom, alkaloidlerin biyosentezinde bakır ve kobalt, saponinlerin oluşmasında ise molibden ve vanadium elementlerini absorbe etmektedirler (Delgado-Vargas ve diğ. 2000, Kılınç ve Kutbay 2004, Mammadov 2014). Tez kapsamında yapılmış olan toprak analizlerinde (Tablo 3.29) mangan Mn (>1 ve üzeri) ve bakır Cu (>0,2 ve üzeri) elementinin miktarının normalin üzerinde olduğu gözükmektedir. Bu da bu tip topraklarda yetişen *L.martagon* bitkisinde glikozit ve alkaloit bileşiklerin oluşmasına neden olmaktadır.

Özellikle bitkisel kökenli ilaç geliştirme aşamalarında söz konusu olan test bileşiğinin terapötik etkileri ve farmakolojik özelliklerinin yanı sıra bu bileşiğin toksikolojik özellikleri de göz önüne alınmak zorundadır. Toksikolojik özellikler, toksik etkinin akut, subakut, subkronik ve kronik düzeyde değerlendirilmesiyle belirlenmektedir. Bu özelliklerin belirlenmesinde akut etki önemli bir yer tutmaktadır. Brine shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay (BSLA) daha fazla zaman ve maliyet gerektiren hayvan denemeleriyle paralel sonuç veren hızlı bir yöntem olmasından dolayı, son zamanlarda en çok tercih edilen testlerden biri olmuştur. *L.martagon*'dan elde edilen farklı ekstraktların akut toksik etkisini belirlemek amacıyla farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (100, 200, 300, 400 ve 500 µg/mL) ekstraktların *Artemia salina* larvalarına uygulanması sonucunda, en yüksek toksik etkiyi 64.43 µg/mL LC₅₀ değeri ile Türkiye'den toplanan örneğin yeraltı etanol ekstraktı göstermiştir. *A. salina*'nın kullanıldığı bazı akuatik toksisite testleri ile, rodentlerin (fare veya rat) kullanıldığı toksisite testleri arasında bir korelasyon olup olmadığını anlamak üzere bazı çalışmalar yapılmış ve ümit verici sonuçlar elde edilmiştir. Her iki testten elde edilen LC₅₀ değerleri, aynı kimyasalların insanlar için geçerli olan akut oral letalite verileriyle kıyaslandığında, sonuçlar arasında genellikle iyi bir korelasyon olduğu gözlenmiştir. Benzer olarak, bu kimyasalların, oral akut toksisite potansiyellerinin test edilip, insanlar için geçerli olan akut dozlarla kıyaslandığında; akuatik testlerin, rodent testlerine nispeten biraz daha iyi sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Ancak akuatik toksisite testlerinin, suda çözünebilen

maddelerin toksisite değerlerinin saptanmasında daha uygun olduğuna da değinilmiştir (Calleja ve Persoone 1992, Lagarto ve diğ. 2001).

L. candidum ile yapılan bir çalışmada izole edilen kampferol ve jatrofam doğal bileşenlerinin; *in vitro* koşullardaki *Hordeum vulgare* ve insan lenfosit hücreleri ile kurulan ökaryotik test sisteminde sitotoksik ve genotoksik aktivitelerinin yanı sıra radyomimetik zeocin'e karşı hücreleri koruma potansiyelleri de test edilmiştir. Kampferol ve jatrofamin her ikisinin de deney düzeneğine ve test sistemine bağlı olarak sitotoksisiteyi ve zeocin'in genotoksik etkisini modüle etme ve azaltma potansiyeli olduğu gösterilmiştir. Bu veriler, sağlık araştırmaları için özellikle doğal bitki bileşenlerinin aktivitesi ve farmakolojik potansiyellerinin açıklığa kavuşturulmasında faydalı olabilir (Khawar ve diğ. 2005).

Dünyada yaklaşık 250.000 bitki türü bulunmaktadır. İnsanoğlu bu bitkileri var olduğu günden bu yana gerek besin maddesi, gerekse tedavi amaçlı olarak kullanmaktadır. Bitkilere erişimlerin kolay olması sebebiyle tedavideki kullanımları insanlık tarihiyle birlikte başlamıştır. Binlerce yıl önce insanlar, bitkilerin tedavi edici gücünü tanımiş ve sağlıklı yaşayabilmek için ondan yararlanmıştır. Halk hekimliği uygulamalarına yaygın olarak rastlanan Anadolu'da kullanılan halk ilaçları, uzun tecrübeler sonunda günümüze kadar gelmiş uygulamalardır. Modern tıpta kullanılan pek çok ilaç da bitkilerden elde edilmektedir (Szer 2008).

ALT sitozolik bir enzimdir ve göreceli olarak karaciğere spesifiktir. ALT'nin serumdaki yükselmiş aktiviteleri genellikle klinik pratikte ve sağlık taramalarında karaciğer hastalıklarının belirtisi olarak kullanılır. ALP, alkali bir ortamda fosfat esterlerinin hidrolizini katalizleyen bir enzimdir. Bol miktarlar karaciğer ve kemikte, az miktarda ise bağırsak, plasenta, böbrek ve lökositlerde yer almaktadır. (Pratt ve Kaplan 1999).

Kreatin proteinlerin parçalanmasıyla açığa çıkan arginin, metiyonin ve glisin amino asitlerinin böbrek, karaciğer ve pankreasta katabolizması sonucu endojen olarak sentezlenen azotlu bir maddedir. Kreatin kas ve beyinde fosforillenerek yüksek enerjili kreatin fosfat meydana gelmekte ve daha sonra kreatinine dönüşür. Böbrek yetmezliklerinin tanısında önemli bir yer tutar. Kreatinin, kas ve böbrek harabiyetinin belirlenmesi açısından önemli bilgiler veren bir analittir. Kreatinin, aminoasit metabolizmasının bir yan ürünü ve kas dokusu için bir enerji kaynağıdır. Kreatin kanda dehidrojenlenmiş formu olan kreatinin şeklinde taşınır.

Deneyin başlangıcında, onbeşinci ve otuzuncu gününde alınan kan örnekleri tahlile gönderilerek tüm grupların ALT, ALP ve kreatinin değerleri tespit edilmiştir. Analizlerin sonucunda sadece istatistiksel olarak anlamlı bulunan sonuçlar değerlendirilmiştir. ALT değerinin Türkiye örneklerinde hem yeraltı hem yerüstü kısmında artış gözlenmektedir. Yer üstü örneklerinin %1.0 'lik konsantrasyonlarında daha fazla artış gözlenmiştir. Kazakistan örneklerinde ise sadece yeraltı kısmında anlamlı artış gözlenmiştir. Yeraltı %1.0 'lik konsantrasyonlarında daha fazla artış gözlenmiştir. İki ülkenin değerleri kıyaslandığı zaman Türkiye yerüstü kısmı ekstraktlarından daha yüksek artışlar elde edilmiştir. ALP değerinin her iki ülke örneklerinde hem yeraltı hem yerüstü kısmında artış gözlenmektedir. Türkiye örneklerinde yer üstü örneklerinin %1.0 'lik konsantrasyonlarında daha fazla artış gözlenmiştir. Kazakistan örneklerinde hem yeraltı hem yerüstü özütü farklı bulunurken, yer üstü örneklerinin %1.0 'lik konsantrasyonlarında daha fazla artış gözlenmiştir.

Kreatinin değerinin Türkiye örneklerinde sadece %1 'lik konsantrasyonlarında yerüstü kısmında, Kazakistan örneklerinde ise hem yeraltı hem yerüstü kısmında ve konsantrasyonlar arasında değişimler gözlenmektedir.

Doğada yetişen birçok bitki, içerdiği zengin biyoaktif fitokimyasallar sebebiyle, sentetik nematisitlere alternatif potansiyel olarak düşünülmektedir. Bitkilerde bulunan toksik bileşiklerden olan sekonder metabolitlerin, sentezlendiği bitkide primer fizyolojik süreçte çok az derecede öneme sahip olsa da nematisit etkileri bakımından önemleri bulunmaktadır (Tan 2011). Bitkilerdeki biyokimyasal olaylardan sonra sentezlenen sekonder metabolitler, bitki-zararlı ilişkilerinde önemli rol oynarlar. Shanker ve Solanki (2000), sekonder metabolitlerden en önemlilerinin alkaloidler, glikozidler, fenoller, terpenoidler, tanenler, saponinler olduğunu belirtmiştir. Antihelmint aktivite testi için helmint grubu olan nematod örnekleri kullanılmıştır. Nematodlara metanol ekstraktları uygulanmış ve nematodların ölüm süreleri takip edilmiştir. Yapılan test sonucunda 11 dakika süre ile en kısa zamanda ölüm göstererek antihelmint aktivite gösteren ekstrakt Kazakistan yerüstü özütü olmuştur. Literatürde bu tez çalışmasında kullanılan bitkilerin antihelmint aktivitelerini kıyaslamak için aynı bitki ile yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Sonuç olarak; geofit türünün biyolojik aktivitelerinin araştırıldığı bu tez çalışmasında sonuçlar umut vadeci kabul edilmektedir. Bu çalışma sonuçlarının gıda,

eczacılık, tıp ve doğal tedavi başta olmak üzere birçok alanda doğal bileşiklerin kullanılmasına yönelik artan çalışmalara katkı sağlayacağına inanılmaktadır. Daha sonraki çalışmalarda biyoaktiviteye sahip etken bileşiklerin izolasyonu, saflaştırılması ve yapısının aydınlatılması çalışmaları gerçekleştirilebilir. Çalışılan bitkinin farklı 2 ülkede yayılış göstermesi ve iki ülkenin toprak ve bitki örneklerinin özelliklerinin karşılaştırmalı olarak ortaya koyması açısından önem taşımaktadır. Çalışılan bitkinin söz konusu biyolojik özelliklerinin ilk kez bu çalışmayla araştırılıyor olması, çalışmanın özgün değerini arttırmaktadır. Sonuç olarak, yapılan çalışmalar daha önce mevcut bir çalışmaya rastlanılmamış bu tür açısından son derece özgün bir çalışmadır. Bu nedenle, öngörülen sonuçların elde edilmesi yeni bilimsel verilerin oluşturulmasını sağlayacak, uluslararası indekslere kayıtlı dergilerde yayın oluşturacak potansiyele sahip olacaktır. Öngörülen sonuçların elde edilmesi olası ekonomik değer sağlayabilecek, tedavi edici veya iyileştirici preparatların tanımlanmasına veya formülize edilmesine temel oluşturabilecektir. Tüm bunlar yeni bitkisel ilaçların üretimine öncelik ederek, her iki ülke için yeni ekonomik girdi sağlayacaktır. Bu anlamda söz konusu tez ileride patent ile tescil edilebilecek çıktılar üretebilecek ve bu çıktılardan ekonomik gelir getirebilecek, yeni çalışmalara temel oluşturabilecek bir çalışmadır.

5. KAYNAKLAR

Akkoskarov, E., “İstoriya Kazakov”, Almatı: Calın, (1997).

Ali, A.T.M.M., Al-Swayeh, O.A., Al-Rashed, R.S., Al-Mofleh, A., Al-Dohayan A.D., Al-Tuwaijri, A.S., “Role of oxygen-derived free radicals on gastric mucosal injury induced by ischemiareperfusion”, *Saudi J. Gastroenterol*, 2(1), 19-28, (1996).

Amin, İ. and Tan, S.H., “Antioxidant activity of selected commercial seaweeds”, *Malays. J. Nutr.*, 8, 167-177, (2002).

Anonim, Bitkilerde Doğal Renk Maddeleri ve Fenolik Bileşikler, *Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi*, Ankara, (2006).

Anonymous, “The Secondary Metabolism of Plants: Secondary Defence Compounds”, <http://www.biologie.uni-hamburg.de/bonline/e20/20.htm>, (2009).

Anonymous, Analysis of Secondary Metabolites in Plant and Cell Culture Tissue of *Hypericum perforatu* L. and *Rhodiola rosea* L., <http://hercules.oulu.fi/isbn9514271610/isbn9514271610.pdf>, (2003).

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., “Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method”, *J. Agricul. Food Chem.*, 52, 7970–7981, (2004).

Aranda-Michel, J. and Sherman, K.E., “Tests of liver use and misuse”, *Gastroenterol.*, 6, 34-43, (1998).

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

Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A. and Legret, P., “Standardisation d’un extrait de propolis et identification des principaux constituants”, *J. de Pharm. de Belg.*, 49, 462-468, (1994).

Aşcıoğlu, Y.T., “Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi”, *Uzmanlık Tezi*, İstanbul, (2005).

Atalay, İ., Dünya Coğrafya Atlası ve Türkiye'nin Ekolojik Bölgeleri, İstanbul: İnkılap Kitabevi Yayınları, (2008).

Atalay, İ. Türkiye Coğrafyası ve Jeopolitiği. İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, (2011).

Avcı, M., “Çeşitlilik ve Edemizim Açısından Türkiye'nin Bitki Örtüsü”, *Coğrafya Dergisi*, 13, 27-55, (2005).

Aydemir, B. and Karadağ, S.E., “Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi”, *Kocatepe Vet. J.*, 2(2), 56-60, (2009).

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

Babaoğlu, M., Yorgancılar, M., Akbudak, M.A., “Doku kültürü: temel laboratuvar teknikleri”, (Editörler M. Babaoğlu, E. Gürel, S. Özcan), *Bitki Biyotekno-lojisi Cilt I Doku Kültürü ve Uygulamaları*, S.Ü, Konya: Vakfi Yayınları, 1-35, (2001).

Bagchi, K., Puri, S., “Free radicals and antioxidants in health and disease”, *East Med. Health J*, 4(2), 350-360, (1998).

Bahadır, M ve Yakar, M., Türkiye'nin İklimi Sunumu, Samsun: [Ondokuz Mayıs Üniversitesi](#), (2013).

Balandrin, M.F., Klocke, J.A., Wurtele, E.S. and Bollinger, W.H., “Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials”, *Science*, 228, 1154–1160, (1985).

Bast, A., Haenen, G., Goelmen, J.A., “Oxidants and antioxidants: State of the art”. *Am J Med.* 91(3 Suppl 3), 2-13, (1991).

Baytop, T., Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul: İstanbul Üniv. Yay., No.3255, (1984).

Baytop, T., Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, Ankara: Nobel Tıp Kitapevi, (1999).

Beecher, G. R., “Proanthocyanidins: biological activities associated with human health”, *Pharma. Bio.*, 42, 2-20, (2004).

Bekir, J., Mars, M., Souchard, J.P., Bouajila, J., “Assessment of antioxidant, antiinflammatory, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of pomegranate (*Punica granatum*) leaves”, *Food Chem. Toxicol.*, 55, 470–475, (2013).

Bilaloğlu, G. V., Harmandar, M., “Flavonoidler”, *Aktif Yayınevi*, İstanbul, 334-354, (1999).

Blois, M. S., “Antioxidant determination by the use of a stable free radical”, *Nature*, 181, 1199-1200, (1958).

Bocco, A., Cuvelier, M. E., Richard, H. and Berset, C., “Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts”, *J. of Agr. and F.Chem.*, 46, 2123-2129, (1998).

Boissier, E., *Flora Orientalis*, Geneva: 1-6, (1867-1888).

Böcük, H., “Batı Anadolu’da Yüksek Bor İçeren Topraklarda Doğal Yayılış Gösteren Bitkilerin Toprak Bitki İlişkisi Bakımından Araştırılması”, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, (2010).

Bray, E.A., Bailey-Serres, J. and Weretilnyk, E.I., “Responses to abiotic stresses, Biochemistry and Molecular Biology of Plants”, *American Soc. of Plant Physiol.*, Rockville, MD, 1158–1249, (2000).

Burnaz, N.A., “*Viburnum opulus* ve *V. orientale* Bitki Ekstraktlarının Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktiviteleri”, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Trabzon, (2007).

Cadenas, E. and Packer, L., *Handbook of Antioxidants*, New York-Basel: Revised and Expanded, 2nd Ed., Marcel Dekker, 0-8247-0547-5, (2002).

Calleja, M.C., Persoone, G., “Cyst-based toxicity tests”, IV. the potential of ecotoxicological tests for the prediction of acute toxicity in man as evaluated on the first ten chemicals of the MEIC programme, 20, 396-405, (1992).

Carter, D., Harper, K.T., Shiffer, A.K., Jolley, V.D. and Harper, J.K., “Relationships between soil extractable boron and tissue concentrations in Rosaceae Shrubs in Utah”, *J. of Plant Nut.*, 26 (2), 297-313, (2003).

Cemeroğlu, B., *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, vol 1, 77-88, (2004).

Chang, C., Yang, M., Wen, H., Chern, J., “Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods”, *J. of Food and Drug Anal.*, 10, 178-182, (2002).

Chimsky, M., Shmagranoff, G.L., Sherry, S., “Serum transaminase activity”, *J. Lab. Clin. Med*, 47, 108 (1956).

Choudhary, I. M., Thomsen, W.J., Bioassay Techniques For Drug Development, Harwood Academic Publishers, 8-10, (2001).

Coşkun, F., “Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular”, *Gıda Teknol. Elektr. Derg.*, (2), 27-33, (2006).

Culpepper, R.M., *South. Medic. J.*, 91(9), 889-892, (1998).

Çıkrıkçı, S., “4'-dioktilamino -3-hidroksiflavon temelli floresans problemlerinin sentezleri ve özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, (2005).

Dask, K., Tiwari, R. K. S., Shrivastava, D. K., “Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends”, *J. of Medicin. Plants Res.*, 4(2), 104-111, (2010).

Davis, P. H., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh: Edinburgh Univ.Press, (1965).

Davis, P.H. Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Edinburg: Edinburg University Press, Volume 8, (1984).

De, J.P.C., “Some notes on the evolution of lilies”, *The Lily year book of the North American Lily Society*, 27, 23-28, (1974).

Delgado-Vargas, F., Jimenez, A.R., Paredes-Lopez, O., “Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins And Betalains. Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability”, *Crit. Rev. In Food Sci. and Nutr.*, 40, 173–89, (2000).

Dhyani, A., “Exploring *Lilium polyphyllum* in Uttarakhand, India”, *The Lily Yearbook of North American Lily Societ*, 60, 79-82, (2007).

Dhyani, A., Bahuguna Y.M., Semwal, D.R., Nautiyal, B.P. and Nautiyal, M.C., “Anatomical features of *Lilium polyphyllum* D. Don ex Royle (Liliaceae)”, *J. of American Sci.*, 5(5), 85-90, (2009).

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

Droge, W., “Free radicals in the physiological control of cell function”, *Physiol. Rev.*, 82(1), 47-95, (2002).

Dubouzet, J., G. and Shinoda, K., “Phylogenetic Analysis of the Internal Transcribed Spacer Region of Japanese *Lilium* Species”, *Theoret. and Appl. Gent.*, 98, 954–960, (1999).

Dulkadir, K., “Sütleğen (*Euphorbia aleppica* L.) Bitkisinin Sekonder Metabolitlerinin Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Bazı Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, (2007).

Dündar, Y., Aslan, R., “Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar”, *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, 2(2), 134-142, (1999).

Dziedziejko, V., Safranow, K., Zylka, D.S., Mokrzyńska, A.M., Millo, B., Machoy, Z., Chlubek, D., “Comparison of rat and human alkaline phosphatase isoenzymes and isoforms using hplc and electrophoresis”, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1752, 1, 26-33, (2005).

Erdoğan, İ., Şener, B., “*Lilium* Türlerinin Kimyasal Bileşikleri”, *FABADJ Pharm. Sci.*, 25, 101-111, (2000).

Erik, S., Tarıkahya, B., Türkiye Florası Üzerine, *Kebikeç*, 17, 139-163, (2004).

Ersöz, B., Enzimler, Bölüm 5, Ankara: Palme Yayıncılık, (2002).

Fang, Y.Z., Yang, S. and Wu, G., “Free radicals, antioxidants, and nutrition”, *Nutrition*, 18, 872-879, (2002).

Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M.S., “Geçmisten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi”, *Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Derg.*, 11 (1), 52 – 67, (2011).

Fickert, P., Zatloukal, K., “Pathogenesis of alcoholic liver disease, handbook of Alcoholism (Editors Zernig G, Saria A, Kurz M, O’Malley SS) Boca Raton”, *FL CRCPress*, 317-323, (2000).

Frankel, E. N., Huang, S. W., Kanner, J. and German, J. B., “Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils versus emulsions”, *J. of Agr. and F.Chem.*, 42, 1054-1059, (1994).

Gao, J., Zhang, T., Jin, Z.Y., Xu, X.M., Wang, J.H., Zha, X.Q. and Chen, H.Q., “Structural characterisation, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharide from *Lilium lancifolium* Thunb”, *Food Chemistry*, 169, 430-438, (2015).

- Golley, F.B., "Chemical plant-soil relationships in tropical forests", *J. of Trop. Ecol.*, 2, 219-229, (1986).
- Gomes, A. T. B., Bastos, C. G., Afonso, C. L., Medrado, B. F., Andrade, Z. A., "How variable are hydroxyproline determinations made in different samples of the same liver?", *Clinic. Biochem.*, 39, 1160-1163, (2006).
- Gülçin, Ğ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö.Ğ. and Aslan, A., "Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L.)", *Ach. J. of Ethn.*, 79, 325-329, (2002).
- Gülçin, İ., "Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid)", *Toxicol.*, 217, 213-220, (2005).
- Gülçin, İ., "Antioxidant and antiradical activities of L-Carnitine", *Life Sciences*, 78, 803-811, (2006).
- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., "Antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*:3-O-(β -Dglucopyranosyl)-hederagenin", *Phyther. Res.*, 20, 130-134, (2006).
- Güngör, N., "Dut Pekmezinin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri ile Antioksidan Aktivitesi Üzerine Depolamanın Etkisi", Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, (2007).
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., "The Importance of Free Radicals and Catalytic Metal Ions In Human Diseases", *Mol. Aspects Med.*, 8(2), 89-193, (1985).
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed. New York: Oxford University Press, 10-121, (1999).
- Han, K.H., "Molecular Biology of Secondary Growth", *J. of Plant Biotechn.*, 3, 45–57, (2001).
- Hayashi, H., Yamamoto, K., Yoshimura, M., "Effects of fasting on distribution and excretion of lead following long-term lead exposure in rats", *Arch., Environ., Contam., Toxicol.*, 24, 201-205, (1993).
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. and Bobilya, D.J., "Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships", *J. of Nutr. Bioch.*, 13, 572-584, (2002).

Heinonen, M., Lehtonen, P. J. and Hopia, A. L., “Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors”, *J. of Agr. and F. Chem.*, 46, 25-31, (1998).

Heywood, V. and Tutin, G.T., *Flora Europaea*, Univ. Pres, Cambridge, Vol. I-IV, (1964-1981).

Hoffman, W.E., Solter, P.F., *Diagnostic Enzymology of Domestic Animals, Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, London: UK, 6th Edition, 355, (2008).

Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., “The chemistry behind antioxidant capacity assays”, *J. Agricul. Food Chem.*, 53, 1841–1856, (2005).

Hulmant, E. Söderlunt, Timmons JA, [Cederblad](#), G. and Greenhaff [P.L.](#), “Muscle Creatine loading in men”, *J. Appl. Physiol.*, 81, 232-237, (1996).

Işık, C., “Mis Zambağının (*Lilium Candidum*) Biyokimyasal Aktivitelerinin Belirlenmesi ve Endüstriyel Amaçlı Kullanılabilirliğinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Muğla, (2014).

İşıksal, D. D., “Türkiye Florası İçin Endemik Olan *Silene Ruscifolia* Hub.Mor. Taksonunun Anatomik, Morfolojik, Palinolojik, Karyolojik ve Ekolojik Özelliklerinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Sivas, (2013).

İsakov, N., Medeu, A. “Kazakistan: Doğa, Ekonomi ve Çevre”, Coğrafya Enstitüsü Yayınları, Almatı, (2007).

İşbilir, Ş.S., “Yaprakları salata ve baharat olarak kullanılan bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, (2008).

Jackson, R. S., “Wine Science”, Second Edition, Elsevier, 633s, (2000).

Jackson, F., “Antihelminthic resistance - the state of play”, *British Vet. J.*, 149(2), 123-138, (1993).

Jansonius, J.N., “Structure, evolution and action of vitamin B6-dependent enzymes”, *Curr Opin Struct Biol*, 8, 759–769, (1998).

Jin, L., Zhang, Y., Yan, L., Guo, Y. and Niu, L., “Phenolic Compound and Antioxidant Activity of Bulb Extracts of Six *Lilium* Species Native to China”, *Molecules*, 17(8), 9361-9378, (2012).

Kaçar, B., Toprak ve Bitki Analizleri, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, (1972).

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

Karabulut, H. ve Günay, M.Ş., “Antioksidanlar”. *Mehmet Akif Ersoy Üniv. Veteriner Fakültesi Der.*, 1(1), 65-76, (2016).

Khawar, K.M., Cocu, S., Parmaksız, I., Sarihan, E.O. and Ozcan, S., “Mass proliferation of Madonna lily (*Lilium candidum* L.) under *in vitro* conditions”, *Pakistan J. of Botany*, 37(2), 243-248, (2005).

Kılınç, M., Kutbay, G., Bitki Ekolojisi, Ankara: Palma Yayıncılık, (2004).

Kısa, A., “Zeytin Yaprağı (*Olea Europaea* L.) Özütünün ve Özütten Saflaştırılan Metabolitlerin İnsektisidal Özellikleri ve *Oreochromis niloticus* Balık Türünün Kan Dokusunda İyon ve Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Kilis, (2016).

Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., Groot, A., Evstatieva, L.N., “Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods”, *Phytochem. Anal.*, 13, 8-17, (2002).

Kopáni, M., Celec, P., Danisovic, L., Michalka, P., Biró, C., “Oxidative stress and electron spin resonance”, *Clin. Chim. Acta.*, 364, 61-66, (2006).

Korkmaz, M., “Barsak Helminleri”, *Ankem Derg.*, 20(Ek 2), 170-176, (2006).

Kris-Etherton, P., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Griel, A. E. and Etherton, T. D., “Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer”, *The American J. of Medicine*, 9B 113,71-88, (2002).

Kuehne, P., Hesse, M., “Simple Synthesis of (+) - (E)-3-(4-Hydroxyphenyl)-N-[4-(3-methyl-2,5-dioxo-1-pyrrolidinyl)butyl]-2-propenamide, A Novel Phenolic Amide Derivative from the Bulbs of *Lilium regale* WILSON”, *Tetrahedron*, 49(21), 4575-4580, (1993).

Kuliscic, M., “Antioxidant properties of thyme (*Thyme vulgaris* L.) and wild thyme (*Thyme serpyllum* L.) essential oils”, *Italian J. of Food Sci.*, 17(3), 315-324, (2004).

Lagarto, P. A., Silva, Y. R., Guerra, S. I., Iglesias, B. L., “Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD₅₀ value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts”, *Drug Research and Development Center (CIDEM), Biologic Research Department, Ciudad de La Habana, Cuba*, 395-400, (2001).

Lecavalier, P.R., Chu, I., Villeneuve, D., Valli, V.E., “Combined effects of mercury and hexachlorobenzene in the rat”, *J. Environ. Sci. Health. B.*, 29, 5, 951-961, (1994).

Lee, Y., Howard, L. R. and Villalon, B. “Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars”, *J. Food Sci.*, 60, 473-476, (1995).

Luo, J.G., Li, L. and Kong, L.Y.,” Preparative separation of phenylpropenoid glycerides from the bulbs of *Lilium lancifolium* by high-speed counter-current chromatography and evaluation of their antioxidant activities”, *Food Chem.*, 131, 1056–1062, (2012).

Maillard, M. N. and Berset, C., “Evolution of antioxidant activity during kilning, role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt”, *J. of Agr. and F. Chem.*, 43, 1789-1793, (1995).

Mammadov, R., Düşen, O., Uysal (Demir), D. and Köse, E. “Antioxidant and antimicrobial activities of extracts from tubers and leaves of *Colchicum balansae* Planchon.”, *J. Medic. Plants Res.*, 3(10), 767-770, (2009).

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

Mammadov, R., Deniz, N., Rakhimzhanova, A., Kılınçarslan, Ö., “Studies on *Lilium* species”, *Int. J. Sec. Metabolite*, 4(1), 47-60, (2017).

Mathew, S. and Abraham, T.E., “Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models”, *Food Chem.*, 94, 520-528, (2006).

Mengi, A., *Biyokimya Ders Kitabı*, İstanbul: İstanbul Üniv Basımevi ve Film Merkezi, XII, 323. (1991).

Meriga, B., Mopuri, R. and Krishna, T.M., “Insecticidal antimicrobial and antioxidant activities of bulb extracts of *Allium sativum*”, *Asian Pacific J. of Tropical Medic.*, 5(5), 391-395, (2012).

Miller, D.M., Buettner, G.R., Aust, S.D., “Transition metals as catalysts of “autoxidation” reactions”, *Free Radic. Biol. Med.*, 8(1), 95-108, (1990).

Miller, N.J., Rice, E.C., Davies, M.J., Gopinathan, V. and Milner, A., “A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates”, *Clinical Sci.*, 84, 407-412, (1993).

Miller, N.J., Sampson, J., Candeias, L.P., Bramley, P.M. and Rice-Evans, C.A., “Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls”, *FEBS Letters*, 384, 240-242, (1996).

Mimaki, Y., Satou, T., Kuroda, M., Sashida, Y. and Hatakeyama, Y., “Steroidal saponins from the bulbs of *Lilium candidum*”, *Phytochem.*, 51, 567-573, (1999).

Mogalhaes, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, L.L.F.C., Rangel, O.S.S., “Automatic method for the determination of Folin-Ciocalteu reducing capacity in food products”, *J. of Agricultural and Food Chem.*, 54 (15), 5241-5246, (2006).

Munaf, Jr. J.P., Ramanathan, A., Jimenez, L. and Gianfagna, T., “Isolation and Structural Determination of Steroidal Glycosides from the Bulbs of Easter Lily (*Lilium longiflorum* Thunb.)”, *J. Agric. Food Chem.*, 58, 8806–8813, (2010).

Nawar, W.W., “Lipids. In Food Chemistry”. 3rd ed. O.R. Fennema (Ed). New York: Marcel Dekker, 225-319, (1996).

Nagendrappa, C.G., “An appreciation of free radical chemistry - 3. free radicals in diseases and health”, *Resonance*, 10, 65-74, (2005).

Nemcsok, J., Boross, L., “Comparative studies on the sensitivity of different fish species to metal pollution”, *Acta. Biol.* 33, 23-27, (1982).

Nemcsok, J., Orban, L., Asztalos, B., Vig, E., “Accumulation of pesticides in the organs of Carp (*Cyprinus carpio* L.) at 4 °C and 20 °C”, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 39(3), 370–378, (1987).

Nizamlioglu, M.N., Nas, S., “Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler Yapıları ve Önemleri”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Derg.*, No:1, 5, 20-35, (2010).

Oka, Y., Nacar, S. Putievsky, E., Ravid, U. Yaniv, Z. and Spiegel, Y., “Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematodes”, *J. Phytopathol.*, 90, 710–715, (2000).

Özçelik, H., Ay, G. ve Öztürk, M., “Doğu ve Güneydoğu Anadolu’nun ekonomik yönden önemli bazı bitkileri”, *10. Ulusal Biyoloji Kongresi, Bildiri Kitabı*, 11, Temmuz, Erzurum, (1990).

Özçelik, B., Lee, J.H., Min, D.B., “Effects of light, oxygen and pH on the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method to evaluate antioxidants”, *J. of Food Scie.*, 68, 487–490, (2003).

Özgen M., Ertunç F., Kınacı G., Yıldız M., Birsin M., Ulukan H., Emiroğlu H., Koyuncu N., Sancak C., “Tarım Teknolojilerinde Yeni Yaklaşımlar ve Uygulamalar” *Bitki Biyoteknolojisi*, Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, Cilt 1, 315–346, Ankara, (2005).

Packer, L., Kraemer, K., Rimbach, G., “Molecular Aspects of Lipoic Acid in the Prevention of Diabetes Complications”, *Nutrition*, 17, 888-895, (2001).

Pannala, A.S., Chan, T.S., O’Brien, P.J., Rice-Evans, C.A., “Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: Fast reaction kinetics”. *Biochemic. and Biophysic. Resear. Commun.*, 282, 1161–1168, (2001).

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

Persoone, G., Van De Vell, A., Van Steergem, M., Nayer, B., “Predictive value for laboratory test with aquatic invertebrates. Influence of experimental condition”, *Aquatic Toxicol.*, 14, 149-166, (1989).

Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huyc, C., “Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health”, *Int. J. Biomed. Sci.*, 4(2), 89-96, (2008).

Pratt, D.S., Kaplan, M.M., Laboratory tests. In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, eds. Schiff’s diseases of the liver, Philadelphia: Lippencott-Raven, 205–244, (1999).

Prieto, P.M., Pineda and M. Aguilar., “Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E”, *Analytical. Biochem.*, 269, 2, 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”, *J. of Agricul. Food Chem.*, 53, 4290-4302, (2005).

Rao, G.R., Konjilal, G., Mohan, K.R., “Extended application of Folin- Ciocalteu reagent in the determination of drugs”, *The Analyst*, 103, 993-994, (1978).

Ribéreau-Gayon, P., Glories Y., “Handbook of Enology”, *The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments 2nd Edition.*, Wiley, Volume 2, 451s, (2006).

Rival, S.G., Boerriu, C.G., Wichers, H.J., “Caseins and casein hydrolysates antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition”, *J. of Agricul. and Food Chem.*, 49, 295-302, (2001).

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

Sarma, A.D., Mallick, A.R. and Ghosh, A.K., “Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview”, *Internat. J. of Pharmac. Scie. and Res.*, 1 (3), 185-192, (2010).

Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R., De, B., “Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect”, *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 3(1), 91-100, (2010).

Sen, S, Chakraborty, R., “The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy”, Chapter 1, 1-37, (2011).

Shalaby, E.A., Shanab, S.M.M., “Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*”, *Indian J. of Geo-Marine Scie.*, 42(5), 556-564, (2013).

Shanker, C., Solanki, K.R., “Botanical insecticides: A historical perspective”, *India, Asian Agrihist.*, 4(2), 21-30, (2000).

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

Shinde, A., Ganu, J., Naik, P., “Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A review”, *J. Dental Allied Scie.*, 1(2), 63-66, (2012).

Slinkard, K., Singleton, V.L., “Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods”, *Am J. Enol Viticult.*, 28, 49-55, (1977).

Stirling, G.R., “Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes. CAB”, *International, allingford, UK*, 282, (1991).

Stokol, T., Erb, H., “The apo-enzyme content of the aminotransferases in healthy and diseased domestic animals”, *Vet. Clin. Pathol.*, 27, 71–78. (1998).

Süzer, O., Farmakoloji, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1. Baskı, 153-160, (2008).

Şahin, C., Doganay, H., Özcan, N., Türkiye Coğrafyası, Ankara: Gündüz Eğitim ve Yayıncılık, 95-511, (2005).

Şener, G., Yeğen, B.Ç., “İskemi Reperfüzyon Hasarı”, *Klinik Gelişim Dergisi*, 22, 5-13, (2009).

Şentürk, H., Canbakan, B., Hatemi, İ., “Karaciğer enzim yüksekliklerine klinik yaklaşım”, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Gastroenteroloji Klinik Yaklaşım Sempozyum Dizisi, 38, 9-13, İstanbul, (2004).

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

Tan, A.N., “Nematisit Etkili Bitkiler ve Bitki Ekstraktları”, *Ege Univ. Ziraat Fak. Derg.*, 48 (2), 165-173, (2011).

Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 680, (1987).

Tomruk, E., “Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi için Hidrofilik Destek Materyal Sentez ve Kromatografik Karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Ankara, (2005).

Turgut, K., Veteriner Klinik Laboratuar Teşhis, Bahçıvanlar Basımevi, 179-226, (2000).

Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentina, D.H., Waters, S.M. and Webb, D.A., *Flora Europaea*, Cambridge: Cambridge University Press, Volume 5, 550s., (1980).

Türkeş, M., “İklim Değişikliği ve Değişebilirliği Araştırma Grubunun Yayımlanmış Türkçe Çalışmalarından Seçilmiş Türkçe Örnekler”, Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü, Araştırma ve Bilgi İşlem Dairesi Başkanlığı, Araştırma Şube Müdürlüğü, Ankara, 285 s. (2004).

Türkeş, M., Klimatoloji ve Meteoroloji, İstanbul: Birinci Baskı, Kriter Yayınevi-Yayın No. 63, (2012).

Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin M.T.D., Mazur, M., Telser, J., “Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease”, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39, 44-84, (2007).

Vanisree, M., Tsay, H.S., “Plant Cell Cultures – An Alternative and Efficient Source for the Production of Biologically Important Secondary Metabolites” *Internat. J. of Appl. Scie. and Engin.*, 1, 29–48, (2004).

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”, *Botan. Bull. Acad. Sinica*, 45, 1–22, (2004).

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B. D., “Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products”, *J. of Agr. and F. Chem.*, 46, 4113-4117, (1998).

Vilesov, E., Kazakistan’ın Fiziki Coğrafyası, Almatı: Almatı Üniversitesi Yayınevi, (2009).

Vinson, J. A., Hao, Y., Su, X. and Zubik, L., “Phenol antioxidant quantity and quality in food: Vegetables”, *J. of Agr. and Food Chem.*, 46, 3630-3634. (1998).

Wang, S.P., Leong, L.P. and Koh J.H.W., “Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants”, *Food Chem.*, 99, 775-783, (2006).

Wang, X., Liu, L., Zhu, R., Kang, T., Tong, L., Xie, H., Wang, H., “Cytotoxic activities of some selected medicinal plants of the genus Euphorbia”, *J. of Med. Plants Res.*, 5(31), 6766-6769, (2006).

Wawrosch, C., Malla, P.R. and Kopp, B., “Clonal propagation of *Lilium nepalense* D.Don, a threatened medicinal plant of Nepal”, *Plant Cell Reproduction*, 20, 285-288, (2001).

Wells, P. G., “Biomonitoring the health of coastal marine ecosystems – The role and challenges of microscale toxicity tests”, *Mar. Pollut. Bull.*, 39, 39-47, (1999).

Wettasinghe, M., Bolling, B., Pihak, L., Xiao, H. and Parkin, K., “Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts from phenotypes of different pigmentation”, *J. of Agricult. and Food Chem.*, 50, 6704-6709, (2002).

Willcox, J.K., Ash, S.L., Catignani, G.L., “Antioxidants and prevention of chronic disease”, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 44(4), 275-295, (2004).

Wu, C., Chen, F., Wang, X., Kim, H.J., He, G.Q., Haley-Zitlin, V., Huang, G., “Antioxidant constituents in fewerfew (*T.parthenium*) extract and their chromatographic quantification”, *Food Chem.*, 96, 220-227, (2006).

[Yoshiaki, M.](#), [Kanefumi, Y.](#), [Toshihiko, O.](#), “Isolation of Eriocitrin (Eriodictyol 7-rutinoside) from Lemon Fruit (*Citrus limon*BURM. f.) and Its Antioxidative Activity”, 3 (1), 84-89, (1997).

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

Zengin, G., Aktümsek, A., “Investigation of antioxidant potentials of solvent extracts from different anatomical parts of *Asphodeline anatolica* E. Tuzlaci an endemic plant to Turkey”, *African Journal of Traditional Complementary, and Alternative Medicines*, 11(2), 481–488, (2014).

6. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Akgul RAKHIMZHANOVA

Doğum Yeri ve Tarihi : Semey, KAZAKİSTAN / 22.07.1987

Lisans Üniversite : Semey Şakarim Devlet Üniversitesi, KZ.

Elektronik posta : akgul.r.m@gmail.com

İletişim Adresi : Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat
Fakültesi Biyoloji Bölümü
Sekonder Metabolit
Laboratuvarı 20070 Pamukkale/Denizli

SCI ve SCI-Expandet:

1. Aydın Ç., **Rakhimzhanova A.**, Kılınçarslan Ö., Mammadov R. Antioxidant and Phenolic Characterization with HPLC of Various Extract of *Verbascum glomeratum* Linneus. *Journal of The Chemical Society of Pakistan*. 42(2): 222-227, 2020.
2. **Rakhimzhanova A.**, Mammadov R. Determination of some biological activities and phenolic compounds of *Lilium martagon* L. extracts distributed in Kazakhstan and Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin* 29(7): 5111-5120, 2020.

Uluslararası Hakemli Dergilerde:

1. Mammadov T., Deniz N., **Rakhimzhanova A.**, Kılınçarslan Ö., Mammadov R. Studies on *lilium* species. *İnt.J. Sec. Metabolite*, 4(1): 47-60, 2017.

Ulusal Hakemli Dergilerde:

1. **Rakhimzhanova A.**, Kılınçarslan Ö., Mammadov R. *Stellaria media* Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi ve Fenolik

Bileşenlerinin Karakterizasyonu. *Ordu Üniv. Bil. Tek. Derg.*, 2018; 8(2): 165-173.

Uluslararası Sempozyum ve Konferanslar:

1. Aydın C., **Rakhimzhanova A.**, Mammadov R. Antioxidant and Total Phenolic Contents of *Cyclamen hederifolium* Tuber and Leaves From Turkey *Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2015) 01-05 June 2015, Baku, AZERBAIJAN.*
2. Mammadov R., **Rakhimzhanova A.**, Zayadan B., Mursaliyeva V., Novikova T., Zheleznichenko T. Tulipa-L in Kazakhstan. *Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB-2015) 01-05 June 2015, Baku, AZERBAIJAN.*
3. Kılınçarslan, Ö., Deniz, N., **Rakhimzhanova, A.**, Mammadov, R. Determination of Some Biological Activities of Different Solvent Extracts from *Stellaria media*. *Symposium on EuroAsian Biodiversity-23-27 May 2016, Antalya, Turkey.*
4. **Rakhimzhanova, A.**, Kılınçarslan, Ö., Mammadov, R. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Sternbergia candida*. *The 3rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB) -05-08 July 2017, Minsk-Belarus, PP127, p. 315.*
5. **Rakhimzhanova, A.**, Aydın, Ç., Mammadov, R., Tischenko, O. Determination Antioxidant Activities of Different Solvent Extracts From *Verbascum glomeratum* Boiss. *The 3rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB) -05-08 July 2017, Minsk-Belarus, PP395, p. 582.*
6. **Rakhimzhanova, A.**, Mammadov, r. структура и состав проб почвы оказывает влияние на содержание фенольных соединений и флавоноидов экстракта *lilium martagon*, собранного в ареале произрастания в турции и казахстане. *Современные технологии сельскохозяйственного производства. (op), 19-20 Mart 2018, p. 304-306.*
7. Aydın, Ç., **Rakhimzhanova, A.**, Kılınçarslan, Ö., Mammadov, R. determination of phenolic compounds of *Verbascum glomeratum* boiss. extract. фенольные соединения: свойства, активность, инновации. (op). 14-19 may 2018, Moskova, p. 210-211.

8. TURAN, M., YUSİFLİ, R., **RAKHIMZHANOVA, A.**, SAK, D., MAMMADOV, R. HISTO-BIOCHEMICAL EFFECTS OF *CYCLAMEN HEDERIFOLIUM* EXTRACT ON RAT BLOOD VALUES. Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем. (OP), 27-29 June 2018, p. 187.
9. **RAKHIMZHANOVA, A.**, MAMMADOV, R., MOLDABAYEVA, Z. Antioxidant and Phenolic Characterization with HPLC of Various Extract of *Verbascum glomeratum* L. The 4rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB) -03-06 July 2018, Kiev-Ukrayna, PP-109, p. 138.
10. Kılınçarslan Ö., **Rakhimzhanova A.**, Mammadov R., DEtermination of Antioxidant Capacity and Total Phenolic- Flavonoid Amount of *Sternbergia candida* extracts. 1 st International Congress on Plant Biology, 10-12 May 2018, Konya-Türkiye.