



**AFYONKARAHİSAR BÜYÜKKALECİK FLORASINA AİT
AHLAT (*PYRUS ELAEAGNİFOLİA*) BİTKİSİ ÖZÜTÜNÜN
BAZI KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevgi KEÇECİ

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Dilek DEMİRBÜKER KAVAK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ DALI

Ağustos 2018

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**AFYONKARAHİSAR BÜYÜKKALECİK FLORASINA AİT AHLAT
(*PYRUS ELAEAGNİFOLIA*) BİTKİSİ ÖZÜTÜNÜN BAZI KİMYA-
SAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Sevgi KEÇECİ

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Dilek DEMİRBÜKER KAVAK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Ağustos 2018

TEZ ONAY SAYFASI

Sevgi KEÇECİ tarafından hazırlanan “Afyonkarahisar Büyükkalecik florasına ait Ahlat (*Pyrus elaeagnifolia*) bitkisi özütünün bazı kimyasal özelliklerinin incelenmesi” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca **14/08/2018** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Dilek DEMİRBÜKER KAVAK

Başkan : Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fak.

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Dilek DEMİRBÜKER KAVAK
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fak.

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Özgür TARHAN
Uşak Üniversitesi, Mühendislik Fak.

İmza

.....
.....
.....

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
...../...../..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. İbrahim EROL
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI
Afyon Kocatepe Üniversitesi

**Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım
bu tez çalışmada;**

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

14/08/2018



Sevgi KEÇECİ

ÖZET
Yüksek Lisans Tezi

AFYONKARAHİSAR BÜYÜKKALECİK FLORASINA AİT AHLAT (*PYRUS ELAEAGNİFOLIA*) BİTKİSİ ÖZÜTÜNÜN BAZI KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Sevgi KEÇECİ

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Dilek DEMİRBÜKER KAVAK

Bu çalışmada Afyonkarahisar Büyükkalecik florasına ait yaban armudu çördük gibi yöresel isimleri olan ahlát (*Pyrus elaeagnifolia*) yaprakları kullanılmıştır. Ahlatın yaprakları dağlardan toplanıp direkt güneş ışığına maruz kalmadan yaklaşık 2 hafta kadar kurutulmuş ve öğütülerek ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon süre (30-45-60-75-80 dk), sıcaklık (25-30-40-55-70°C), etanol konsantrasyonu (% 0-20-40-60-80) parametrelerinde çeşitlilik sağlanarak çalışılmıştır. Bu amaçla yaprağın terkibindeki fenoliklerin karakterizasyonu HPLC ile gerçekleştirilmiştir. Klorojenik asit (%2,2) başı çeken fenolikken bunu kateşin hidrat (%1,1), rutin (%0,4) takip etmektedir. Toplam fenolik madde tayini Folin – Ciocalteu metodu ile belirlenmiş olup verilen parametrelerde en yüksek değerleri yaklaşık 45. dakikada, 40 °C’ de, % 60 lık konsantrasyonda gözlemlenmiştir. Antioksidan aktivite tayini ise DPPH yöntemi ile tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite 75. dakikaya, 40 °C’ ye ve % 60 konsantrasyona kadar artış göstererek en yüksek seviyeye gelmiş sonrasında düşüş olmuştur. Ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmalarını üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Optimum ekstraksiyon şartlarında MCF-7 ile A549 kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi MTT (3-(4,5)-dimethylthiazol-2yl)-2,5-dipheniyl tetrazolium bromide) testi ile gerçekleştirilmiştir. Her iki kanser hücresinde de konsantrasyon arttıkça hücre inhibisyonu artmıştır. Ancak A549 kanser hücrelerinde düşük konsantrasyonlarda da önemli etki gösterdiği tespit edilmiştir.

2018, xii + 71 sayfa

Anahtar Kelimeler: Ahlat, MCF-7, A549, Antioksidan Aktivite, Sitotoksisite, Kanser, Antimikrobiyal, Fenolik Bileşikler



ABSTRACT
M.Sc. Thesis

INVESTIGATION OF SOME CHEMICAL CHARACTERISTICS OF WILD PEAR
PLANT (*PYRUS ELAEAGNIFOLIA*) EXTRACT BELONG TO FLORA OF AFYON-
KARAHISAR BUYUKKALECIK

Sevgi KEÇECİ

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dilek DEMİRBÜKER KAVAK

In this study, leaves of wild pear (*Pyrus elaeagnifolia*) which have local names such as ‘cördük’ belonging to flora of Afyonkarahisar Büyükkalecik were used. The leaves of wild pear were collected from the mountains and dried for about 2 weeks before being exposed to direct sunlight. Extraction step was applied by grinding of dried leaves. Extraction time (30-45-60-75-80 min), temperature (25-30-40-55-70°C), ethanol concentration (% 0-20-40-60-80) were studied by varying the parameters. The characterization of the phenolics in the leaf composition was carried out by HPLC. Chlorogenic acid (2,2%) has the highest concentration in the leaf, this was followed by catechin hydrate (1,1%) and routine (0,4%). Total phenolic content of samples was determined by Folin - Ciocalteu method. The highest values in the parameters were observed at approximately 45 minutes at 40 °C and % 60 concentration. DPPH method was used to determine the antioxidant capacity of samples. Antioxidant capacity showed an increase until 75 minutes, 40 °C and %60 concentration, then a decrease was observed. The antimicrobial activities of extracts on the microorganisms such as *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* were determined by disk diffusion method. The cytotoxic effect of extracts on MCF-7 ile A549 of cancer cells was determined by MTT (3-(4,5)-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) test at optimum extraction conditions. However, it has been found that A549 also has a significant effect at low concentrations in cancer cells.

2018, xii + 71 page

Keywords: Wild Pear, MCF-7, A549, Antioxidant Activity, Cytotoxicity, Cancer, Antimicrobial, Phenolic Compounds



TEŞEKKÜR

Beni yüksek lisans öğrencisi olarak kabul eden, bu araştırma boyunca konu seçimi, yapılan deneysel çalışmalar, sonuç değerlendirmesi, yazma aşamasında yapmış olduğu büyük desteklerinden dolayı en çok da anlayışını ve hoşgörüsünü esirgemeyen değerli tez danışmanım Sayın Dr. Öğretim Üyesi Dilek DEMİRBÜKER KAVAK' a; değerli görüş ve önerileri ile tezime yaptıkları katkılardan dolayı Sayın Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK' e, Sayın Dr. Öğretim Üyesi Özgür TARHAN'a teşekkür ederim.

Bu araştırma boyunca maddi ve manevi desteklerinden dolayı, yanımda oldukları için aileme teşekkür ederim.

Sevgi KEÇECİ
AFYONKARAHİSAR, 2018

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. BİTKİSEL KAYNAKLI BİYOAKTİF BİLEŞİKLER	3
2.1 Bitkisel Ekstraktlar ve İçerdikleri Fenolik Bileşikler	4
2.2 Bitkisel Ekstraktların Önemi	10
2.2.1 Antioksidan Etkileri.....	10
2.2.2 Antikanserojenik Etkileri.....	11
2.2.3 Antimikrobiyal Etkileri.....	14
2.2.4 Antimutajenik Etkileri	18
2.2.5 Antidiyabetik Etkileri	19
3. BİTKİSEL KAYNAKLI BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONLA ELDESİ.....	22
3.1 Ekstraksiyon Yöntemleri	22
3.1.1 Soxhlet Ekstraksiyonu	22
3.1.2 Ultrasonik Ekstraksiyon	23
3.1.3 Mikrodalga Ekstraksiyonu.....	23
3.1.4 Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu	24
3.1.5 Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE).....	24
3.1.6 Çözücü (Solvent) Ekstraksiyonu	25
3.1.7 Katı-Faz Mikroekstraksiyonu	25
3.1.8 Çok Yönlü Ekstraksiyon Yöntemleri.....	26
4. AHLAT (<i>Pyrus elaeagnifolia</i> Pall.) BİTKİSİ VE ÖNEMİ	27
5. MATERYAL METOD	32
5.1 Bitki Materyalinin Hazırlanması	32

5.2 HPLC ile Fenolik Bileşen Analizi	32
5.3 Ekstraksiyon için Deney Planı	32
5.4 Toplam Fenolik Madde Tayini	33
5.5 Antioksidan Aktivite Tayini	33
5.6 Antibakteriyel Aktivite Tayini.....	34
5.7 Sitotoksikite Testi	35
6. BULGULAR ve TARTIŞMA	36
6.1 HPLC Analiz Sonuçları	36
6.2 Ekstraksiyon Koşullarının Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik İçeriğe Etkisi	38
6.2.1 Ekstraksiyon Süresinin Etkisi.....	38
6.2.2 Ekstraksiyon Sıcaklığının Etkisi.....	40
6.2.3 Çözücü Konsantrasyonunun Etkisi.....	43
6.3 Optimum Ekstraksiyon Koşulları	46
7. SONUÇLAR	52
8. KAYNAKÇA	54
ÖZGEÇMİŞ.....	71

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Abs _{kontrol}	: Kontrol çözeltinin absorbansı
Abs _{örnek}	: Örnek çözeltinin absorbansı
cfu	: Koloni oluşturan birim
CO ₂	: Karbondioksit
dk	: Dakika
g	: Gram
IC ₅₀	: %50 İnhibisyon Değeri
°C	: Santigrat derece
kg	: Kilogram
kHz	: Kilohertz
L	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
MPa	: Megapascal
Nm	: Nanometre
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
-OH	: Hidroksil
Psi	: Pounds per square inch
rpm	: Rounds per minute
sa	: Saat

Kısaltmalar

AA	: Antioksidan aktivite
AAPH	: 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride
ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksitoluen
CUPRAC	: Cupric Reducing Antioxidant Capacity
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
DPPH	: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
FRAP	: Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü
GAE	: Gallik asit esdeğeri
GC	: Gas Chromatography
GC-MS	: Gas Chromatography-Mass Spectrometry
Gr(-)	: Gram negatif
Gr(+)	: Gram pozitif
GRAS	: Generally recognized as safe
GSHPx	: Glutasyon peroksidaz
GSSG	: Glutathione disulfide
HMF	: Hidroksimetilfurfural
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein

Kısaltmalar (Devamı)

NADH	: Nikotinamidadenin dinükleotid
RNA	: Ribo Nükleik asit
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SDE	: Simultaneous Destilasyon Ekstraksiyon
TE	: Troloks Eşiti
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite ölçümünü
TFM	: Toplam fenolik madde
UV	: Ultraviolet



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1	Fenolik Bileşiklerin Kimyasal Yapıları	6
Şekil 2.2	Flavonoidlerin genel yapısı	7
Şekil 2.3	Antosiyanidinler ve antosiyanin pigmentlerinin yapısı	7
Şekil 2.4	Flavonların ve flavanollerin kimyasal yapısı.....	8
Şekil 2.5	Flavonların kimyasal yapısı.....	8
Şekil 2.6	Kateşinlerin kimyasal yapıları	9
Şekil 2.7	Proantosiyanidinlerin Kimyasal Yapısı	9
Şekil 3.1	Soxhlet Ekstraksiyonu	23
Şekil 6.1	Ahlat yaprağı eksraktının HPLC kromotogramı	36
Şekil 6.2	Ekstraksiyon süresinin toplam fenolik madde (TF) içeriğine etkisi.....	38
Şekil 6.3	Ekstraksiyon süresinin antioksidan aktivitesine etkisi	39
Şekil 6.4	Ekstraksiyon sıcaklığının toplam fenolik madde (TF) içeriğine etkisi.....	40
Şekil 6.5	Ekstraksiyon sıcaklığının antioksidan aktivitesine etkisi	42
Şekil 6.6	Etanol konsantrasyonunun toplam fenolik madde (TF) içeriğine etkisi.....	43
Şekil 6.7	Etanol konsantrasyonunun antioksidan aktivitesine içeriğine etkisi	45
Şekil 6.8	Ahlat bitkisinin test mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisi ...	47
Şekil 6.9	Farklı Pyrus ekstraktı konsantrasyonlarının (5-150 µg/mL) MCF-7 hücre hattı üzerine etkisi.....	49
Şekil 6.10	Farklı Pyrus ekstraktı konsantrasyonlarının (5-150 µg/mL) A549 hücre hattı üzerine etkisi.....	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 5.1 Ekstraksiyon Parametreleri	33
Çizelge 6.1 Ahlat yaprağı ekstraktının fenolik madde profili	36
Çizelge 6.2 Optimum ekstraksiyon koşulları	46



RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 4.1 Ahlat (<i>Pyrus elaeagrifolia pall.</i>) Bitkisi	29
---	----



1. GİRİŞ

Bitkiler tarih boyunca insanların gerek gıda gerek giyim gerek de tedavi amaçlı olsun tüm dönemlerde canlıların ihtiyaçlarını karşılamada öncü olmuşlardır. Bitkiler sentetik ilaçlar bulunana kadar deneme yanılma yoluyla hastalık giderici veya sağlıklı yaşam şartlarını geliştirilmesinde kullanılmıştır.

Günümüzde bitkilerin sap, tohum, kök ve çiçekleri ilaç olarak kullanılmaktadır. Bunlar tek başlarına veya karışımlar hazırlanarak kanser, egzama, kalp rahatsızlıkları, diyabet, romatizma gibi çoğu hastalıkların tedavisindeki etkileriazımsanmayacak niteliktedir.

Belli yöntemlerle bitkilerin doğal yapısında var olan bileşiklerin, uçucu yağların vs nin antioksidan, antimikrobiyal, antidiyabetik, antikanserojen, antimutajenik etkileri olduğu yapılan çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir. Bulunan bu etkilerden dolayı sentetik olarak kullanılanları yarattığı tahribatı önlemek veya minimuma indirmek için bitkilerin kullanımı geniş yelpaze oluşturmaktadır.

Kimyasal ilaçların yan etkileri, maddi olarak insanları zorlaması sebebiyle alternatif tıp yöntemlerinin araştırılmasını hızlandırmış ve artırmıştır. Böylelikle yapılan çalışmalar geçmişte de olduğu gibi bitkilerden ilaçlar hazırlama yönünde olmuştur. Geçmişte yöresel bitkilerin kronik ülser ve yaralar, boğmaca öksürüğü, sarılık, öksürük, ishal, dizanteri, hemoroit, tifo, idrar yolu hastalıkları, boğaz ağrısı, deri hastalıkları, kronik bronşit, zehirli hayvan sokmalarında yararlanıldığı bilinmektedir. Dolayısıyla doğal kaynaklı ilaçlar tedavide kullanılan ilaçların önemli bir kısmını oluşturmaktadır.

Bitkilerden elde edilen ilaç hammaddesi olarak da kullanılan önemli madde fenolik bileşiklerdir. Fenolik bileşikler bitkilerde doğal olarak bulunan, bir veya daha fazla aromatik halkaya ve en az bir –OH grubu bulunan organik bileşiklerdir. Bunlar özel ekstraksiyon yöntemleri, ayrıştırma saflaştırma işlemleri ile elde edilen bitkilerde en yaygın bulunan bileşiklerdir.

Kan basıncı düşürme ve kılcal dolaşım sisteminde geçirgenliği düzenleme gibi insan sağlığına olumlu etkileri olan fenolik bileşikler, P faktörü (permeabilite faktörü) veya P vitamini olarak isimlendirilmektedir. Fenolik bileşikler bitkide tat, koku, renk oluşumunda görev aldığı gibi bitkiyi koruma ve savunma mekanizmasını da oluştururlar. Ayrıca antialerjik, antitrombotik, antimikrobiyal, dejeneratif hastalık önleyici, antioksidatif, antiinflamatuvar ajan olarak da görev yaparlar.

Tüm bahsedilen bilgilerden ötürü bitkilerin özellikle de yabancı bitkilerin önemi gün geçtikçe artmaktadır. Çalışmamızda yabancı bitkiler kategorisinde olan, *Rosaceae* familyasından yaban armudu, çördük gibi yöresel isimleri bulunan ahlat (*Pyrus elaeagnifolia*) bitkisi kullanılmıştır. Deney bitkisi anavatanı Anadolu olması ve kolay bulunması sebebiyle tercih edilmiştir. -30 °C gibi kış soğuklarına, kuraklığa karşı dayanıklılık gösteren ahlatın yaprağının ve meyvesinin sağlık üzerine etkileri olması eskiden beri bilinmektedir. Ülkemizde çoğu bölgelerde yetişme olanağı olan ama değeri fazla bilinmeyen bir bitkidir. Ahlat bitkisinin kalp rahatsızlıklarına, ishale (ancak fazla tüketilmede kabızlık durumu ortaya çıkmaktadır), kalbi güçlendirmekte, kan sulandırıcı ve temizleyici, hararet giderici, yatıştırıcı olarak sinir sistemine iyi geldiği, yorgunluğu giderdiği, astım hastalarını rahatlattığı, diş hastalıklarında diş eti rahatsızlıklarına iyi geldiği vücut direncini de artırdığı, zehirli böcek sokmalarında ise filizlerinin dövülüp yaranın üzerine konulması halk arasında bilinen özelliklerindendir.

Bu çalışmada *Pyrus elaeagnifolia* bitkisi yapraklarının temel kimyasal özellikleri araştırılmış, farklı ekstraksiyon koşullarının bitkinin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan özelliğine etkileri incelenerek ekstraktlar üzerine bazı biyoaktivite deneyleri gerçekleştirilmiştir. Biyoaktivite çalışması için test bakterileri üzerinde antimikrobiyal testler ve MCF-7 ile A549 kanser hücreleri üzerinde ise sitotoksik testleri uygulanmıştır.

2. BİTKİSEL KAYNAKLI BİYOAKTİF BİLEŞİKLER

Vücudun metabolik fonksiyonları için gerekli besin öğelerinin elde edilmesi bir gıda tüketildiği zaman ilk ve en temel amaçtır. Gıdaların yapısındaki bazı kimyasal bileşenler besin öğelerinin yanı sıra sağlık üzerine olumlu özellikler gösterir. Besin öğesi olmayan bu bileşenler biyoaktif bileşikler olarak adlandırılır (Kris-Etherton *et al.* 2002).

Biyoaktif bileşiklerin ki bunlar gıdalarda doğal olarak bulunur, bazı gıda bileşenlerinin sindirim sisteminde görev alan enzimleri inhibe etme, adiposit farklılığı önleme, lipid metabolizmasını arttırma, termojenezi arttırma, iştahı azaltma gibi mekanizmalar ile kilo kontrolünde etkili olduğu bildirilmekle birlikte obezitenin engellenmesinde yeni bir yaklaşım halinde çalışılmaktadır (Birari and Bhutani 2007, Wang *et al.* 2010, Kazemipoor *et al.* 2012). Biyoaktif bileşiklerin son yıllarda yapılan çalışmaları ile enzimatik reaksiyonlarda kofaktör, zararlı bakteriler için inhibitör, biyokimyasal reaksiyonlarında substrat, yararlı bakteriler için fermentasyon substratı, bağırsaktaki istenmeyen bileşiklerin uzaklaştırılmasında absorban, reaktif ve toksik kimyasallar için yakalayıcı ajan olarak kullanılması gibi sağlık üzerine olumlu etkiler gösterdiği belirlenmiştir (Kris-Etherton *et al.* 2002, İnt. Kyn.1, Kurt ve El 2011).

Günümüzde mikroorganizmaların birçok antibiyotiğe karşı dayanıklılığının arttığı ve enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antimikrobiyal ilaçların gelişigüzel kullanımından dolayı oldukça büyük klinik problemler yarattığı bilinmektedir. Yeni antibakteriyel ve antifungal kemoterapatiklerin zengin bir kaynağı olarak yerel tıbbi bitkiler gösterilmektedir.

Kimyasal ilaçların son yıllarda hem yan etkilerinin fazla oluşu hem de pahalı oluşu sebebiyle alternatif tedavi veya günümüzdeki adıyla tamamlayıcı tıp (Complementary Medicine) yaklaşımları daha fazla tercih edilmektedir. Araştırmacılar bununla birlikte, etnofarmakolojik ve fitoterapik çalışmalarla bitkilerden ilaç elde etmeye yönelmişlerdir (Cımbız ve Özyurt 2005). Yöresel bitkilerin kronik ülser ve yaralar, boğmaca öksürüğü, sarılık, öksürük, ishal, dizanteri, hemoroit, tifo, idrar yolu hastalıkları, boğaz ağrısı, deri

hastalıkları, cüsam, kronik bronşit ve ateşte terapötik etkilerinin görüldüğü belirlenmiştir (Ahmad *et al.* 1998). Dolayısıyla günümüzde doğal beslenme ve doğal tedaviye önem gösterilmekle birlikte, dünyanın gelişmiş ülkeleri, özellikle tedavide bitkisel kaynaklara başvurmuş durumdadır. Bu yüzden doğal kaynaklı ilaçlar tedavide kullanılan ilaçların önemli bir kısmını oluşturmaktadır (İnt.Kyn.2).

2.1 Bitkisel Ekstraktlar ve İçerdikleri Fenolik Bileşikler

Biyoaktif bileşiklerden olan fenolik bileşiklerin birçok araştırmacı tarafından insan sağlığı üzerine olumlu etkilere sahip oldukları belirlenmiştir (Chen and Chen 2013, Vauzour *et al.* 2010, Williams *et al.* 2004). Örneğin fenolik antioksidanlarca zengin meyve ve sebze alımıyla düşük kardiyovasküler hastalıklar, kalp hastalıkları ve kanser türlerinin azalması arasındaki ilişkiyi destekleyen epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur (Sümme 2011). Bitkiler insanlık tarihi için hem günlük aktivitelerine gerçekleştirebilmeleri için besin kaynağı hem de hastalıkların tedavisi ve vücut direnci açısından sağlık kaynağı olmuşlardır (Kotzekidou and Giannakidis 2007).

Fenolik bileşikler, bitkilerden özel ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak, ayrıştırma ve saflaştırma işlemlerinin yapılması neticesinde elde edilen, ilaç hammaddesi olarak ta kullanılan maddeler olarak karşımıza çıkmaktadır. Ekstraksiyon için, bitkilerin uygun bir çözücüde optimum koşullarda çözülerek etken maddeler elde edilmektedir. Etanol, metanol gibi alkoller, su, hekzan, klorlanmış hidrokarbonlar, formik asit, asetonitril ve aseton sık kullanılan yardımcı çözümlerdir. Yardımcı çözümlerin ilaç ve gıda endüstrisinde GRAS statüsünde olması şartı aranır. Bu yüzden sıklıkla su ve etanol tercih edilmektedir (Erküşük 2009).

Bitkilerde doğal olarak bulunan fenolik bileşikler, bir veya daha fazla aromatik halkaya ve bu halkaya bağlı olarak en az bir hidroksil grubu içeren organik bileşikler olarak tanımlanırlar (İçyer 2012, Usal 2014). Su gibi çözücülerde kolayca çözünüp, birden fazla OH grubu içeren fenolik bileşikler hidrofilik özellik gösterirler (İçyer 2012). Ayrıca sahip oldukları antioksidan etki, yapılarındaki -OH sayısı arttıkça artmaktadır (Arslan 2015). Bu bileşikler bitkileri zararlılara karşı korur ve insan sağlığı üzerinde de

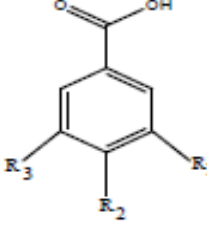
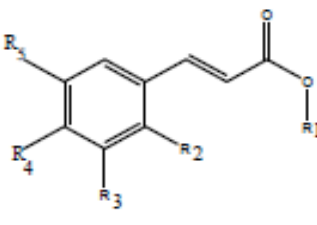
pek çok olumlu etkiye sahiptir. Antioksidan özelliklerinden dolayı kardiyovasküler ve dejeneratif hastalıkları önlemede etkilidir (Arslan 2015).

Sekonder metabolit olarak bulunan ve bitkilerin kendilerini bazı zararlılara karşı korumada rolleri bulunduğu inanılan çok sayıda farklı nitelik ve miktarlarda çeşitli fenolik bileşikler bütün bitki metabolizmalarında mevcuttur. Fenolik bileşikler, bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olup, bitkilerde en yaygın maddelerdir. Bitkilerin sebze, meyve, çiçek, tohum, yaprak, dal ve gövdelerinde fenolik bileşikler bulunabilirler (İçyer 2012). Çoğu bileşik, bitkinin tadından sorumlu olmakla birlikte, bunlardan bazıları gıda ve bazıları da tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır (Akyüz 2011). Antialerjik, antitrombotik, antimikrobiyal, dejeneratif hastalıkları önleyici, antioksidan, anti-inflamatuvar, kardioprotektif ve vasodilatör ajan olarak bu bileşikler görev yapmaktadır (Usal 2014).

Fenolik bileşikler, kan basıncını düşürme ve kılcal dolaşım sisteminde geçirgenliği düzenleme gibi insan sağlığına olumlu etkileri var olup, P faktörü (permeabilite faktörü) veya P vitamini şeklinde de adlandırılmaktadır. Ayrıyetten, enzim inhibisyonunu gerçekleştirmeleri, antimikrobiyal etki göstermeleri, tat, koku ve renk oluşumunda rol almaları beslenme çalışmalarında bu bileşikleri önemli kılmaktadır (Arslan 2015). Fenolik asitler ve flavanoidler olmak üzere fenolik bileşikler iki gruba ayrılırlar (Cemeroğlu 2004):

- Fenolik asitler.

Hidroksisinnamik (sinamik) ve hidroksibenzoik (benzoik) asitler olmak üzere fenolik asitler kimyasal yönden iki gruba ayrılır. Hidroksisinnamik asitler C6-C3 fenilpropan yapısında olup, hidroksibenzoik asitler C6-C1 fenilmetan yapısındadır (Akalin 2011).

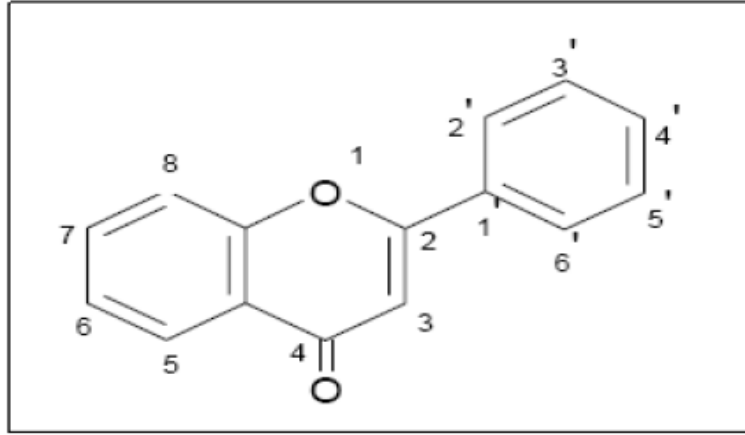
Fenolik							
bileşik	Genel yapıları	Adları	R ₁	R ₂	R ₃		
tipleri							
Benzoik tip		Gallik asit	OH	OH	OH		
		Protokatekuik asit	OH	OH	H		
		<i>p</i> -OH Benzoik asit	H	OH	H		
		Vanilik asit	OCH ₃	OH	H		
		Şirincik asit	OCH ₃	OH	OCH ₃		
Sinamik tip		Adları	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
		Sinamik asit	H	H	H	H	H
		<i>p</i> -Kumarik asit	H	H	H	OH	H
		<i>o</i> -Kumarik asit	H	OH	H	H	H
		Klorojenik asit	kuinik asit	H	OH	OH	H
		Kafeik asit	H	H	OH	OH	H
		Ferulik asit	H	H	OCH ₃	OH	H
		Sinapik asit	H	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

Şekil 2.1 Fenolik Bileşiklerin Kimyasal Yapıları (Jackson 2000, Fraga 2010).

Bitkilerde genel olarak organik asit veya şekerler ile esterleşmiş şekilde bulunurlar. Fenolik asitlerin yapılarındaki fenol halkasına bağlı –OH grupları oldukça aktif olup, şekerlerle birlikte glikozitleri oluştururlar(Saldamlı 2007)

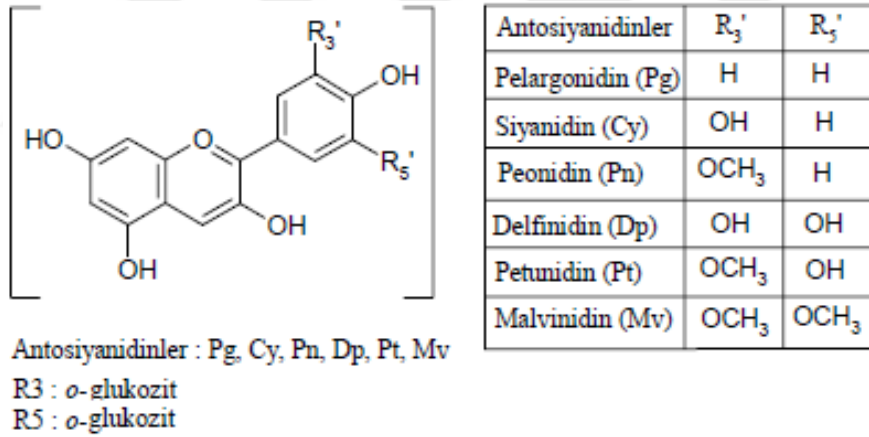
- Flavanoidler

15 karbon atomu içeren flavanoidler, yapısında C6-C3-C6 (difenilpropan) formunda iki fenil halkasının propan zincirinin birleşmesiyle meydana gelir. Antosiyanidinler, flavonlar ve flavonoller, flavanonlar, kateşin ve löykoantosiyanidinler ile proantosiyanidinler olarak 5 alt grupta incelenir (Akalin 2011). Kolay glikozitlenmelerinin sebebi ise yapılarında bulunan reaktif –OH grupları olmasıdır (Saldamlı 2007).



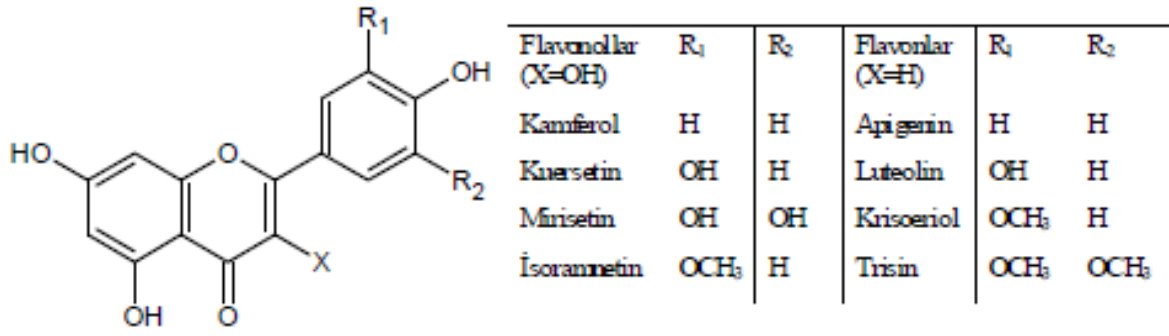
Şekil 2.2 Flavonoidlerin genel yapısı (Göğüş 2006).

Antosiyanidinler: Doğada serbest halde bulunmamakla birlikte, şekerlerle glikozid yapmış halde bulunurlar. Suda çözünabilir nitelikteki renk pigmentleri olup, meyve ve sebzelerin mor, pembe ve kırmızı tonlarındaki çeşitli renkleri verir (Cemeroğlu 2004).



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

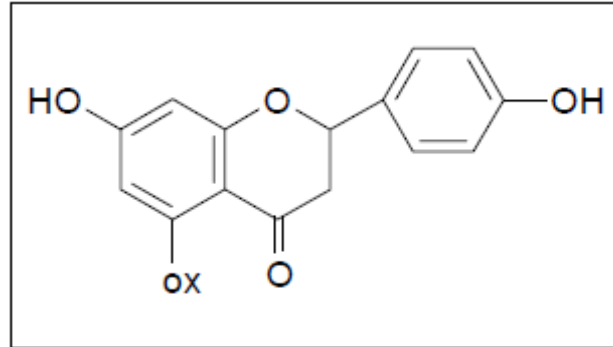
Flavonlar ve flavonollar: flavonoid molekülünün orta halkasındaki üçüncü karbon atomuna –OH bağlanırsa flavonol, -H bağlanırsa flavon yapısı oluşmaktadır. Flavonlar ve flavonollar gibi antosiyanidinler de şekerlerle glikozid durumda bağlanmış şekildedir (Saldamlı 2007).



Şekil 2.4 Flavonların ve flavanollerin kimyasal yapısı(Jackson 2000, Fraga 2010).

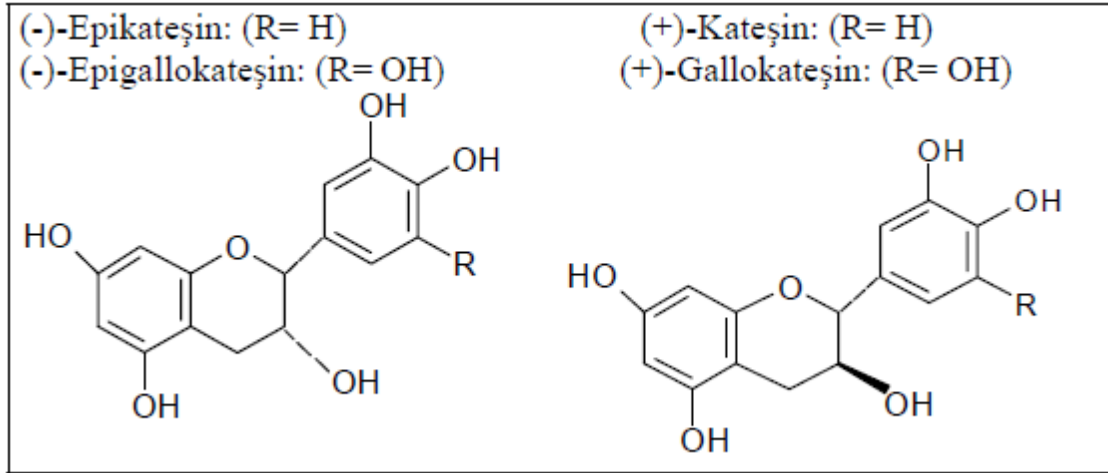
Bu gruptan olan quersetin aktif mutajen ve karsenejen bileşikleriy temizleyerek kanser riskini düşürmekte olup soğandaki quersetinin akciğer kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu kanıtlanmıştır (Liu 2004).

Flavanonlar: Özellikle turunçgillerde yaygın şekilde bulunur (Cemeroğlu 2004). Ortadaki çift bağın bulunmayışı flavonlardan ayıran yapısal farkıdır. Hesperdin, naringin, neringenin en önemli flavanonlar olup turunçgil sularında acımsı tat vermektedir (Saldamlı 2007).



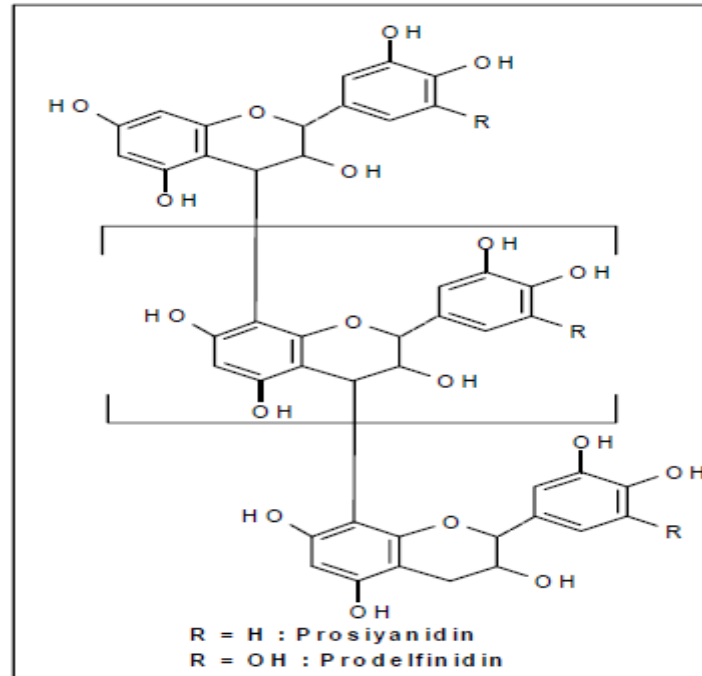
Şekil 2.5 Flavonların kimyasal yapısı (Cemeroğlu 2004).

Kateşin ve löykoantosiyandinler: Gıdalarda yaygın olarak bulunur. Hem enzimatik hem de kimyasal olarak hava oksijeni ile kolaylıkla kondanse olarak proantosiyandinleri meydana getirir. Kateşin ile epikateşin en önemlileri olup gallik asit ile birleşerek epigallokateşin ve gallokateşinleri oluştururlar. Yeşil çay, kırmızı şarap, şeftali, elmada bulunmaktadır (Saldamlı 2007).



Şekil 2.6 Kateşinlerin kimyasal yapıları (Shahidi and Nack 1995).

Proantosiyanidinler: Löykoantosiyanidinlerden veya kateşinlerden meydana gelen polimerik yapılardır. Sadece epikateşin/ kateşin kondensasyonu ile meydana geliyorsa prosiyanidin, kateşin/ gallokateşin kondensasyonu ile meydana geliyorsa prodelfinidin denir (Shahidi and Nacz 1995).



Şekil 2.7 Proantosiyanidinlerin Kimyasal Yapısı (Shahidi and Nack 1995).

2.2 Bitkisel Ekstraktların Önemi

Bitkisel ekstraktlar, içerdikleri çok çeşitli bitkisel kaynaklı biyoaktif bileşikler ile farklı biyoaktiviteler göstermekte dolayısıyla kozmetik, gıda ve ilaç sektörleri gibi farklı alanlarda kullanımları söz konusu olmaktadır. Bitkisel kaynaklı biyokatif bileşenlerin etkileri, beslenme ve sağlık açısından önemleri aşağıdaki başlıklarda incelenmiştir.

2.2.1 Antioksidan Etkileri

Yaşamımızı sürdürebilmemiz için önemli olan oksijen metabolizma sırasında meydana gelen bazı reaktif oksijen türleri vücudumuz için zararlıdır (Koca ve Karadeniz 2003). Süper oksit, hidrojen peroksit, hidroksil gibi reaktif oksijenler bünyelerinde eşleşmemiş elektron bulundurdıkları için kararsızdır ve reaksiyona girme potansiyelleri yüksektir (Polat 2012). Reaktiflerinin yüksek olması protein, karbonhidrat, lipit, DNA, nükleotid ve koenzimlerde hasara sebep olurlar. Oluşturdukları hasarlarla vücutta yaşlanmaya, kalp damar hastalıklarına, kansere, katarakta ve sinir sistemi hastalıklarına neden olurlar. Dolayısıyla fenolik bileşiklerin antioksidan aktivite göstermeleri, özellikle bitki ekstraktları için gıda takviyesi veya medikal anlamda kullanılmaları açısından büyük önem arz etmektedir. Fenolik bileşiklerin antioksidan özelliğe sahip olmaları yanında, sağlığa olumlu diğer etkileri üzerine yapılmış çok sayıda bilimsel çalışma mevcuttur.

Örneğin, zeytin fenoller ve metabolitlerinin vitamin C ve E' ye kıyaslandığında protein ve lipid oksidasyonunun daha etkili inhibitörleri olduğu gösterilmiştir (Roche *et al.* 2009). Oleuropein ve hidroksitirozol, metal bağlayıcı ve serbest radikal tutucu özelliğe sahiptir. Bunlar ayrıca, süper oksit anyonlarını (insan polimorfonükleer hücreleri veya xantine/ xantine oxidase sistemleri tarafından oluşan) tutar. Bağırsak epitel hücrelerinde meydana gelen oksidatif stres üzerinde hidroksitirozol etkili olmaktadır (Visioli and Galli 2002a, Visioli and Galli 2002b). Hidrojen peroksit, hipokloröz asit ve süperoksit gibi çeşitli oksidanlar ve serbest radikalleri hidroksitirozol ve oleuropeinin süpürüp temizlediği gösterilmiştir (Tuck and Hayball 2002, Owen *et al.* 2000)

Yine bitkisel kaynaklarda bulunan tokoferoller de diğer antioksidanlar gibi öncelikle kendileri oksitlenmek suretiyle diğer maddelerin oksitlenmesini önleyerek ya da geciktirerek antioksidan vazifesi görürler (Bailey 1951). Tokoferollerden özellikle alfa, beta, gama ve delta olanları etkili oksidanlardandır. Alfa tokoferol en yaygın olarak bilinir. Alfa tokoferol, her türlü oksidatif etkiye son derece duyarlıdır. Çünkü diğer tokoferollara göre yapısında daha fazla hidroksil grubuna sahiptir. Delta tokoferol antioksidan etkinliği yönünden diğerlerinden daha üstündür, alfa tokoferol E vitamini olup etkilidir (Kayahan 2003, Altan 1989).

Bir başka çalışmada ise polifenol miktarı (mmol/L) ve antioksidan kapasitesi (TEAC mmol/L) bakımından en zengin meyve suyu çeşitlerinden biri olarak siyah üzüm suyu tespit edilmiş olup, yine yapılan araştırmalarda siyah üzüm suyunun, zihinsel ve fiziksel yaşlanmayı geciktirebileceği belirlenmiştir (Yıldız 2007). Fenoliklerin (fenolik bileşik ihtiva eden bitkilerin kullanımından sonra), kan dolaşımına geçmesi sonucunda plazma antioksidan düzeylerinde önemli artışlar meydana geldiği gözlenmiştir (Benzie *et al.* 1999).

2.2.2 Antikanserojenik Etkileri

Karmaşık bir hastalık olan kanser; ortaya çıkışı, gelişimi ve sonucu bir hastadan diğerine oldukça değişkenlik gösteren bir hastalıktır. Hücrelerin köklü metabolik ve davranışsal değişiklikler geçirdiği çok aşamalı bir süreç olan kanser hastalığı, hücrelerin aşırı ve zamansız bir şekilde çoğaldığı ve metastaz yaptığı bir hastalıktır (Merlo *et al.* 2006). Bir hücreden ya da az sayıda hücreden kanser ortaya çıkmaktadır. Kanser, hücrenin büyümesi ve hücre genlerinin (mitozu kontrol eden) mutasyonu veya anormal aktivasyonu neticesinde ortaya çıkar (Nowell 1976). Son yıllarda yapılan araştırmalar düzenli olarak bazı sebze ve meyvelerin tüketilmesi ile belirli bazı kanser türlerinin ortaya çıkma ihtimalinin azaldığını göstermiştir.

Tıbbi bitki ekstraktlarının antikanser aktivitelerinin araştırılmasında günümüzde birçok çalışma yapılmıştır (Stagos *et al.* 2012, Kitdamrongtham *et al.* 2013, Ziech *et al.* 2012).

Örneğin diallil sülfid, S-allil sistein ve alisin gibi sarımsakta bulunan fitokimyasallar kanser önleyici özelliğe sahip oldukları gibi kanser tedavisi gören hastalarda ilaç ve radyo dalgalarının olumsuz etkileri için koruyucu görevini de üstlenirler. Yani hastalık tedavi sürecinde destek olarak kullanılmaktadır (Yıldırım-Yılmaz 2008).

Diyet ürünlerle alınan besinsel ajanlar, kanser oluşumunu engellediği için koruyucu kimyasallar olarak tanımlanır. Bu kimyasallar doğal olabildikleri gibi farmakolojik de olabilirler. Likopen (domates), alisin ve diallil sülfidler (sarımsak), karoten (havuç), kateşin (çay), kapsin (kırmızı biber), kurkumin (zerdeçal), silimarin (enginar), 6-gingerol (zencefil) kanser oluşumu engelleyen bileşikler olarak sayılabilirler (Dorai and Aggarwal 2004).

Diyetle alınan polifenollerin tümör hücreleriyle yapılan çalışmalarda, kanser hücrelerine sitotoksik etkisinin var olduğu ve bundan dolayı da kanser tedavisinde bu bileşiklerden yararlanabileceği belirtilmiştir (Rao *et al.* 2007). Flavonoid, tanen, proantosiyanidin, resveratrol, epigallokateşin gallat, gallik asit ve gallik asidin kansere karşı koruyucu (farklı mekanizmalarla) etki gösterdiğini gösteren çalışmalar vardır (Li *et al.* 2014).

Ayrıca yine fenolik bileşiklerin kardiyovasküler riski azalttığı, antitümör aktiviteye ve kan basıncını düşürücü etkiye sahip olduğu ve kanser hücrelerini inhibe ettiği bildirilmiştir (Bermudez-Soto *et al.* 2007, Hellstrom *et al.* 2010, Jia *et al.* 2012, Ju *et al.* 2012, Narszewicz *et al.* 2007, Seeram 2006).

Son yıllarda kalp hastalığı ve bazı kanser türleri gibi kronik hastalıkların tedavisinde tokoferollerin önemli role sahip olduğu yönünde güçlü kanıtlara sahip olunmuştur. Tokotrienoller ise antitrombotik, hipokolesterolemik ve antitümör özellikleri sebebiyle hastalıkların tedavi ve önlenmesinde etkili bir diyetetik ajan olarak etki gösterdikleri bildirilmektedir (Theriault *et al.* 1999).

Bitkilerde doğal olarak oluşan bir flavon olan apigenin, anti-inflamatuar, antioksidan ve antikanserojen özellikleri olduğu çalışmalarda öne sürülmüştür (Janmejaı *et al.* 2007). Yapılan bir çok çalışmada sarımsak, tarçın, soğan, domates, yeşil çay gibi bitkilerin de

kanser önleyici özellikleri olduğu tespit edilmiştir. Özellikle diyetle verilen bu ürünlerin kanser oluşumunu başlatan transformatif, hiperproliferatif (hücre sayısının artması) ve enflamasyonu baskıladıkları yönünde varsayımlarda bulunmaktadır. Böylelikle hastalığın son evreleri olan anjiogeneziz (yeni damar oluşumu) ve metastazı (vücutta yayılma) engellenmiş olmaktadır.

Bitkilerde bulunan bir flavon olan apigeninin, detoksifikasyon enzimlerinin etkinliğini yayma, hücre döngüsünü inhibe etme, apoptoza neden olma, oksidatif stresi azaltma ve bağışıklık sistemini uyarmadaki fonksiyonları oldukça sınırlı olup, proteaz üretimini düzenleyerek, tümör metastazını ve invazyonu inhibe edebileceği söylenmektedir (Shukla and Gupta 2010).

Yine önemli fitokimyasallardan olan timokinonun ve ditimokinonun sitotoksik (kanser hücresi öldürücü) etkileri vardır. Farklı kanser hücre gruplarına karşı timokinon ve ditimokinon eşit sitotoksik etki gösterir. Birçok çalışma, kolorektal kanser, akciğer karsinomu, göğüs ve yumurtalık adenokarsinomu, neoplastik keratinositler, fibrosarkoma, insan osteosarkomu, prostat kanseri gibi birçok kanser türlerinde de kanserli hücrelerin proliferasyonu üzerine timokinonun inhibitör etki gösterdiği kaydedilmiştir (İnt. Kyn. 3).

Yine başka bir çalışmada DNA hasarı oluşumunu önleyerek kolon kanserine karşı gallik asidin kullanılabileceği bildirilmiştir (Li *et al.* 2014).

Yeşil çay kullanımının prostat kanseri oluşum riskini azalttığına dair 2 vaka kontrol ve 4 kohort çalışmasını kapsayan toplam 6 epidemiyolojik çalışmada bulgular mevcuttur (Davalli *et al.* 2012)

Çörek otu tohumlarının ve aktif bileşenlerinin antitümörel etkilerinin olduğunu birçok *invivo* ve *invitro* çalışmalar göstermektedir. Çalışmalar timokinonun kolorektal kanser (Gali-Muhtasib *et al.* 2004a), insan osteosarkomu (Roepke *et al.* 2007), göğüs ve yumurtalık adenokarsinomu (Shoieb *et al.* 2003), neoplastik keratinositleri (Gali-Muhtasib *et al.* 2004b), akciğer karsinomu, fibrosarkomu prostat kanseri (Kaseb *et al.*

2007) gibi pek çok kanser türünde hücrelerin proliferasyonu üzerine inhibe edici etkisi olduğunu göstermektedir (Gali-Muhtasib *et al.* 2004b).

Ahlatla aynı familyadan olan vişnenin suyu cyanidin ve peonidin gibi antosiyanin; coumarik asit, kafeik asit, ferulik asit gibi hisrosinamik asitleri; klorojenik asit, kateşin, epikateşin, quersetin, kampferol, isorhamnetin gibi yüksek oranda polifenolik içerdiği belirlenmiştir. Ayrıca vişnenin antioksidan, antialerjik, antikarsinojenik, antimikrobiyal, antimutajenik, antiinflamatuvar gibi etki göstermesi içeriğinde bulunan bu polifenolik bileşenler sayesinde olduğu tespit edilmiş olup bu bileşenler kanser ve kronik hastalık riskinin düşmesi ile bağlı olmasında büyük etkisi bulunmaktadır(İnt. Kyn.4)

2.2.3 Antimikrobiyal Etkileri

Antimikrobiyaller mikrobiyal gelişmeyi durduran ve ya kontrol altına alan biyoaktif bileşiklerdir. Antimikrobiyaller doğal olarak bulundukları gibi sentetik olarak da elde edilebilirler. Doğal antimikrobiyaller hayvansal, bitkisel ve mikrobiyal kaynaklı olarak 3 grupta incelenebilirler. Sitrik asit, süksinik asit, malik asit gibi organik asitler, tomatin gibi alkaloidler, kafeik asit eugenol, timol gibi fenolik bileşikler, alisin gibi bileşikler bitkisel antibiyotiklere örnek olarak gösterilebilir. Bunlar bitkinin kök, gövde, yaprak, tohum, çiçek ve meyveden elde edilirler. Asetik asit ve asetat, benzoik asit ve benzoat, laktik asit ve laktat, nitrit ve nitrat, sorbik asit ve sorbat, sülfid gibi sentetik antimikrobiyallerin gıda üretiminde kullanımlarına izin verilmiştir (Şahin 2006, Akyüz 2010).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) nun yaptığı bir araştırmaya göre (91 ülkenin farmakopelerine tıbbi bitkileri üzerine dayanarak hazırladığı bir çalışma), tıbbi bitkilerin (tedavi amacıyla kullanılan) toplam miktarı 20.000 civarındadır. 1926 yılından bu yana bitkilerin organizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri laboratuvarlarda araştırılmaya başlanmıştır (Gizir 1998).

Bitkilerin sentezlediği ve mikroorganizmaları öldüren veya gelişmelerini engelleyen maddeler olarak bilinen fitonsidler, herhangi bir enfeksiyon veya bitki dokularının

zedelenmeleri halinde, inaktif olup hücrelerde lokalize olan anabilesiklerden enzimatik olarak meydana gelmektedir (Gizir 1998).

Sekonder bileşikler (alkoloidler, uçucu yağlar, glikozidler, flavanoidler, tanenler, fenoller, renk maddeleri ve reçineler) açısından zengin olan bitki türleri tıbbi ve aromatik bitkiler grubunda yer almaktadır (Dorman and Deans 2000). Bu bitkilerin çeşitli yöntemlerle elde edilen bitkisel ekstraktlarının ve uçucu yağlarının antimikrobiyal etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Akgül ve Kıvanç 1989, Akgül 1993).

Bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin gıda güvenliğini yüksek oranlarda korumayı başardığı ve bitkisel ekstraktların gıdalarda doğal antimikrobiyal olarak kullanılabileceği yapılan bilimsel araştırmalarla kanıtlanmıştır (Kotzekidou and Giannakidis 2007).

- Alkoloitler

Berberin (*Berberis*, *Phellodendron*, *Thalictrum Spp.* lerinde bulunur ve kuaterner bir alkoloittir) *S.aureus*'un 196 suşunun % 70'ine karşı aktif bulunmuştur (Mitscher 1975).

Zanthoxylum elephantiasis'ten canthin-6-one, geniş spektrumlu, yüksek aktiviteli bir alkoloittir. Etkinin bunun 5-och₃ türevinde ¼ oranında azaldığı görülmüştür (Mitscher *et al.* 1972a).

- Doymamış Terpenler

Cnicin (*Cnicus benedictus*'tan elde edilir) ile Protoanemonin (*Ranunculus* ve *Anemone* türlerinde bulunur) biyoaktif, doymamış terpenik yapıda bileşiklerdir (Mitscher 1975, Mitscher *et al.* 1972b, Gharbo *et al.* 1973, Wu *et al.* 1976, Mitscher *et al.* 1978, Tschesche 1971).

Narthesid A ve B' nin (*Nartheceum ossifragum* bitkisinin doymamış terpenik yapıdaki heterozitleridir) hidrolizi ile açığa çıkan aglikonun *Botrytis subtilis*'e karşı etkili olduğu görülmüştür (Mitscher 1975).

- Heterozitler ve Aglikonları

Antimikrobiyal aktiviteye pek çok heterozit ve bunların aglikonları mevcuttur. Heterozitlerin (antimikrobiyal etkiye sahip) büyük çoğunluğu saponozitlerdendir. (Mitscher 1975).

Sitotoksik etkiye sahip ve çokça toksik olan siklamen, yüksek antimikrobiyal etkiye sahiptir. Aglikonların (Ester saponozitlerde) E halkasındaki -OH' lerin meydana getirdikleri ester bağları parçalanırsa antimikrobiyal aktivitenin büyük bir kısmı kaybolur (Tscesche 1971).

Aktivite, steroidal saponozitlerde ancak hidroliz neticesinde açığa çıkan aglikonlarda görülmüştür (Ishiguro *et al.* 1983).

- Kinonlar

Juglon, antifungal ve antibakteriyel aktiviteye sahiptir (Mitscher1975).

- Asitler, Fenoller, Alkoller

Çok basit fenol, alkol ve asitler özellikle uçucu yağlarda bulunanları dezenfektan özellikleri bulunmaktadır.

İn-vitro olarak fenolik bileşiklerin mikroorganizmalara karşı toksik etkisi vardır. Yeterli bir aktiviteye sahip olan fenolik-OH gruplarının bazen aktiviteleri azalmaktadır. Bu da Hidroksikumarinlerin o-metilasyonları, bakterilere karşı olan etkilerini azaltmaktadır (Mitscher 1975).

İzoflavon yapısındaki Lutein (*Lupinus luteus*'un olgunlaşmamış meyvalarından izole edilir) bakterilere (25-100 mikrogram/ml) ve mantarlara (10 mikrogram/ml) karşı etkili olmuştur.

Narenciye biflavonoidlerine baktığımızda genel olarak bakterilere karşı flavonollerin flavonlardan daha etkili olduğu görülmüştür. Naringenin ve Hesperetin en fazla etkiye sahip flavonlar olup, heterozitler aktivite göstermemektedir.

İçerdiği Flavanon türevi bileşiklerden dolayı (*Eugenia javanica*'nın çiçek ekstralarında), *M. smegmatis*, *C. albicans*, *S. aureus*'a karşı etki saptanmıştır.

Helianthus annuus gövdesinin (Diterpenik asit yapısındaki bileşiklerinden dolayı) *M. smegmatis* ve *S. aureus*'a karşı etkili olduğu anlaşılmakla birlikte, bu asitlerin bu mikroorganizmalara karşı hemen hemen streptomisin kadar etkili olduğu belirlenmiştir (Özkal 1988).

İnsan tüberküloz basilini de içeren Gram pozitif bakterilere karşı propolisin antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Şahinler 2000).

Oleuropein, mikroorganizmaların gelişme hızını geciktirdiği ve inhibe ettiği belirtilmiştir. (Sousa *et al.* 2006, Sanchez *et al.* 2007, Sudjana *et al.* 2009, Lee ve Lee 2010). Bu konudaki yapılmış birçok çalışmada *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus plantarum*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas fragi*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus carnosus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio alginolyticus* ve küfler üzerinde fenolik glikozit oleuropein ve parçalanma ürünlerinin inhibe edici etkisinin olduğu ifade edilmektedir (Juven and Henis 1970, Tassou and Nychas 1995, Aziz *et al.* 1998, Tomaino *et al.* 1999, Furneri *et al.* 2002).

2.2.4 Antimutajenik Etkileri

Canlı organizmaların DNA ve RNA gibi hücresel bilgi ve yönetim zincirlerinin moleküler yapısını değiştirerek söz konusu organizmanın doğal olarak beklenenin üstünde mutasyona uğramasına neden olan fiziksel ve kimyasal etmenler mutajen olarak tanımlanır. Nükleer radyasyon sonucu oluşan gama ve güneşten yayılan UV ışınimleri doğal mutajenler olarak sayılabilir (İnt.Kyn.5).

Günümüzde gerek beslenme gerek yaşam koşulları sebebiyle yükselişe geçen kanser ve mutasyondan dolayı olan hastalıklar neticesinde antikansorejenlerle birlikte antimutajenler üzerinde çalışma yapılmasını sağlamıştır (Dalouh *et al.* 2010). Sentetik antimutajenlerin sağlık üzerine olan eksi yöndeki etkisinden dolayı uçucu yağların (terpenler, eterler, terpenoidler, vs.) antimikrobiyal, mutajenik ve antimutajenik etkileri üzerine araştırmalar önemsenmeye başlanmıştır (Kılıç 2005, Martino *et al.* 2009).

Doğal içerikli gıdalardan elde edilen bileşiklerin çoğu karsinogenezi önleyebilir aktivitededir. Tümör gelişiminden önce mutajeniteyi bloke eden antimutajenlerdir. Gıdalarda doğal oluşan maddeler diyet antimutajenleri olarak tanımlanırlar. Diyet mutajenleri, bioantimutajenler ve desmutajenler olarak gruplandırılabilirler. Bu mutajenler genetiğin doğrudan etkilenmesini engellemek için DNA ya daha önce etki ederler (Clarke and Shankel 1975).

İpek ve arkadaşları (2004) *Origanum onites* yağı ve kekik yağı ana bileşeni karvakrolün genotoksik ve antigenotoksit etkileri Ames Salmonella/mikrozom testi ile çalışılmıştır. 30 dakikalık preinkübasyon zamanının sonunda yağ ve anabileşen karvakrolün kanser önleyici etkisi kayda değer olduğu için antimutajenik görülmüştür.

Hindistan’ da çok iyi bir geçmişi olan kurkumin (zerdeçal, safran kökü, hint safranından elde edilmekte) antik Hint Tıbbında renklendirici ve koruyucu işlevi görmektedir. Bu bileşik ve verem otu esansiyel yağının sodyumazid mutajenine *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 hücrelerinde koruyucu olduğu Ames testi ile tespit edilmiştir (Jayaprakasha *et al.* 2002, Sghaier *et al.* 2010).

Adaçayı (*Salvia officinalis* L.) esansiyel yağının ana bileşiği olan monoterpenlerden ρ + β tuyon, 1,8-sineol, limonen birlikte kullanıldıklarında anti mutajen etki gösterirken ayrı ayrı kullanıldıklarında etki görülmemektedir. Bu durumda sinerjit etkiden kaynaklanmaktadır (Vukovic-Gacic 2006).

Bir benzeri olarak 2005 yılında Evandri ve arkadaşları *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 ve E. coli WP2 uvrA suşlarında lavanta yağının mutajenik ve antimutajenik etkisi üzerine araştırma yapılmıştır. Bunun sonucunda mutajenik etki gözlemlenmezken antimutajenik etki gözlemlenmiştir.

2.2.5 Antidiyabetik Etkileri

Diyabet, genetik ve immün yapının etkisiyle bir dizi patolojik olaylar sonucu, pankreas hücrelerinden salgılanan şeker hormonu olarak da bilinen insülinin mutlak ve göreceli etkisizliği ve azlığıdır. Genelde vücut sistemlerinde karışıklığa sebep olan ve karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklar yapan hiperglisemik, sık rastlanan endokrin hastalıktır. Kilo kaybı diyabetin en bilinen özelliğidir (Ağgöl 2012).

Diyabet;

- * Tip I: diyabetlilerin %10-15' ini oluşturur. Bağışıklık sistemi pankreasdaki β hücrelerini hasara uğratarak yok eder ve insülin salınımı olmaz. Hasta dışarıdan insülin desteği alır.

- * Tip II: diyabetlilerin %85-90' ını oluşturur. Genellikle obez yapıdırlar. Pankreas az da olsa insülin üretir ancak vücutta kullanamaz. İnsülin desteği almalarına gerek kalmadan yaşayabilirler ancak hastalıklıdırlar.

- * Diğer spesifik tipler (cerrahi, ilaç, pankreas hastalıkları)

- * Gestasyonel diyabet (gebelik dönemi diyabeti)

olarak sınıflandırılabilir (Akı-Yalçın 2015).

Antidiyabetik madde, şeker hastalığı veya riski olan bireylerde kan şekerini normal düzeyde tutan maddelerdir. Tedavisi olmayan hastalık olan şekeri olumlu yönde etkileyen dışarıdan

alınan destekler ile normalde tutulmasıdır. İnsülin Tip I şeker için tek alternatif iken Tip II için bitkisel ilaçlardır ki bu özellikte kullanılabilecek bitki sayısı 800-1200 dolaylarındadır (Pırıldar 2001).

Tip II için kullanılan oral diyabetik ilaçlar vücutta (karaciğer ve böbreklerde) uzun vadede zarara yol açmaları toksisite etkilerinden dolayı bitkiler önem kazanmış ve araştırmalara öncül olmuşlardır. Bu bitkilerin vücuttaki etkisi pankreastaki hücrelerin insülin üretmesini artırarak hipoglisemi oluşturmalarıdır (Orhan ve Aslan 2010).

Karadut (*Morus nigra*) un meyve ve kabuğu ile yapılan çalışmada diyabetik farelere oral dozu (500mg/kg) tek seferde verilmiş, farelerin kan şekerinin düştüğü görülmüştür (Hosseinzadeh *et al.* 1999).

Günde 2 kez oral yoldan 1 gram çörek otu yağı verilen gönüllü diyabet hastalarında 2 haftanın sonunda yapılan ölçümlerde kan glukoz seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir (Demirezer 2011).

Diyabetli hastalarda alkollü zeytin (*olea europaea*) yaprakları ekstresi ile yapılan çalışmada 14 gün boyunca oral yoldan 0.10, 0.25 ve 0.50 g/kg alımı sağlanmıştır. Süre bitiminde yapılan analizlerde serum insülin değeri artmış; serum glukoz, TC, TG, üre, ürik asit, kreatin, AST, ALT değerlerizde düşme gözlemlenmesi ekstrenin antidiyabetik etkili olduğunu ortaya çıkarmıştır (Eidi *et al.* 2009).

Akdeniz tipi diyetle (sebze ve meyve yönünden zengin) beslenmenin epidemiyolojik çalışmalarla koroner kalp hastalıkları oluşumunu büyük oranda azalttığı bildirilmiştir (Nadtochiy and Redman 2011, Khurana *et al.* 2013).

Allium sativum (sarımsak) bitkisi önemli ölçüde kan şekerini düşürdüğü ve regüle ettiği tespit edilmiştir. Sarımsak denilince akla gelen bileşiği allisin antihiperglisemik etkilidir. Yani düşük ve yüksek olan kan şekerini regüle etmektedir. Ancak normal düzeyde olan kan şekerini de düşürmemektedir (Ayaz ve Alpsoy 2007).

Naringin, diyabet oluşturulmuş erkek Wistar albino sıçanlara uygulanan 50 mg/kg dozuyla, diyabetik sıçanlarda yükselmiş olan plazma glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) ve serum glukoz düzeylerini azaltmış ve azalmış olan insülin düzeylerini yükseltmişlerdir (Mahmoud *et al.* 2012).

Apigenin, kersetin, genistein ve kinik asit gibi bitkisel fenoliklerin, sıçanlarda treptozotoinle oluşturulan diyabette iyileştirici etkisi bulunduğuna dair çalışmalar vardır (Rauter *et al.* 2010, Arya *et al.* 2014).

3 aylık periyotta 200 ml yaban mersini suyu (*Aronia Melanocarpa*) tüketimi sağlanan 6-17 yıldır Tip II diyabetli olan bireylerde açlık kan glikozu, HbA1c ve lipid seviyelerinde düşme gözlemlenmiştir. Bundan dolayı yaban mersini suyunun diyabetlilerde hastalığın yan etkisini azalttığı yaşam kalitelerini arttırdığı düşünülmektedir (Chambers and Camire 2003).

Ülkemizde diyabet tedavisinde kullanılan bilindik bitkisel çaylar ve infüzyonları için yapılan araştırmalarda bamya çiçeği (*H.sabdariffa*) de bulunmaktadır. Antioksidan etkili olan bu bitki II. Tip diyabetlilerde sıklıkla görülen damar hastalıkları riskini önlemektedir (Büyükbacı 2008).

3. BİTKİSEL KAYNAKLI BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONLA ELDESİ

Ekstraksiyon bir maddenin sabit sıcaklık ve basınçta iki fazdaki denge derişimlerinin farklı olması durumundan yararlanılarak yapılan ayırma işlemidir. Doğada bileşikler her zaman karışım halinde bulunur. Bu metod istenen organik ürünü doğal kaynaklardan veya karışımdan ayırmak için kullanılır. Bileşik (ayrıştırılmak istenen) iki çözücünden birinde daha fazla çözünürken, diğer bileşikler (karışımdaki) sadece bir çözücüde (ayrıştırılmak istenen bileşiği daha az çözen çözücüde) çözünür .

Ekstre edilecek etken maddenin kimyasal yapısına ve fiziksel özelliklerine uygun koşulların sağlanması ve uygun çözücünün seçilmesi ekstraksiyon işleminde öncelikle yapılması gerekmektedir. Bundan sonra da ekstrenin fraksiyonlanması, kromatografik işlemlerle ayrılması ve saflaştırılması gerekmektedir.

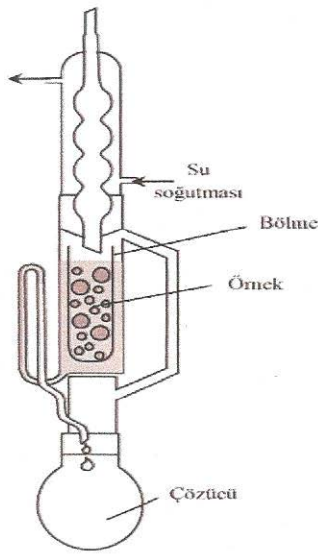
3.1 Ekstraksiyon Yöntemleri

3.1.1 Soxhlet Ekstraksiyonu

Özel bir cihazda gerçekleştirilen soxhlet ekstraksiyonu, katı veya yarı-katı numuneler için uygundur. En eski ekstraksiyon sistemlerinden biri olup hala geniş ölçüde kullanılmaktadır. Soxhlet ekstraktörü, soğutulmuş bir kondansör (yoğusturucu), bir solvent şişesi, orta çemberde bir sıvı akış borusu (sifon) ve ısıtma sisteminden meydana gelmiştir.

Tipik ekstraksiyon zamanları 6 saatten 24 saate kadardır ve oldukça büyük solvent hacimleri (100-500 ml) gereklidir. Genellikle saf organik solventler veya bunların karışımları ekstraksiyon solventleri olarak kullanılır (Kellner *et al.* 2001).

Esas olarak soxhlet ekstraksiyonu, organik bileşiklerin katı örneklerden ekstraksiyonunda kullanılır. Solventin kaynama sıcaklığında termal olarak bileşikler kararlı olmalıdır (Kellner *et al.* 2001).



Şekil 3.1 Soxhlet Ekstraksiyonu (Kellner *et al.* 2001, İnt.Kyn.6).

3.1.2 Ultrasonik Ekstraksiyon

Bu yöntemde örneğe 20 kHz üstündeki frekanslarla akustik titreşimler uygulanır. Sıvının içinden bu titreşimler geçtiğinde kavitasyon meydana gelir. Ses dalgaları genellikle analitin iyi geri kazanımıyla sonuçlanan solvent ve katı arasında etkin bir temas sağlar. Katı örneklerin digesyonu, ekstraksiyonu ve bulamaç oluşumu işlemini destekler. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu, homojenizasyonu veya emülsiyon haline getirmeyi desteklemek için sıvı örneklerde kullanılır (Tadeo *et al.* 2010).

3.1.3 Mikrodalga Ekstraksiyonu

Mikrodalgalar yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalardır. Bu prensipte molekül üzerine (iyonların iletimi ve dipol rötasyonu yoluyla) mikrodalga'nın direkt etkisi temeline dayanmaktadır (Eskillsson and Bjoklund 2000). Mikrodalga solventi ısıtmak için kullanılır. Uygun solvent seçimi başarılı bir ekstraksiyon gerçekleştirmek için çok önemlidir. Seçilen solventlerde mikrodalga enerjisini absorplaması, solventin matriksle etkileşimi ve analitin solventteki çözünürlüğü göz önüne alınmalıdır (Lopez-Avila 1999).

3.1.4 Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu

Prensip olarak 50-200 °C sıcaklık ve 10-15 MPa basınç aralıklarında gerçekleştirilen katı-sıvı ekstraksiyon tekniğidir (Kaufmann and Christen 2002). Ekstraksiyonda örnek yüksek basınçta sızdırmaz ortamda tutularak daha yüksek sıcaklıkların kullanılmasına olanak sağlar. Sıcaklık ekstraksiyon verimini ve seçiciliğini etkileyen önemli bir faktördür. Kullanılan yüksek sıcaklık Van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağı ve dipol çekim analit-örnek matriksi etkileşimlerinin bozulmasına yardımcı olur. Ekstraksiyon yüksek sıcaklıklarda ve basınç altında çözücünün sıvı fazda olduğu şartlarda gerçekleşmektedir ve ekstraksiyon esnasında çözücü kritik şartların altındadır. Ekstraksiyon sıcaklığının artırılması ile ekstraksiyon kinetiği arttırılmakta ve yüksek basınç ile çözücü sıvı fazda tutularak güvenli ve hızlı ekstraksiyon gerçekleştirilebilmektedir. Basınç sıvı ile ekstraksiyon hücreindeki katı matriks ile sıvının güçlü bir şekilde etkileşmesine olanak vermektedir. Sıcaklığın artırılması çözücünün difüzyonunu arttırmakta ve bunun sonucunda ekstraksiyon kinetiği artmaktadır. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, yüksek sıcaklıkta kararlı organik kirleticilerin ekstraksiyonunda fazlaca kullanılmaktadır (Wang and Weller 2006).

3.1.5 Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE)

Bu ekstraksiyon yönteminde esas olan; kendi kritik sıcaklığı üzerinde ısıtılan ve kendi kritik basıncı üzerinde basınç uygulanan bir element, madde veya karışım olarak tanımlanmaktadır. Süperkritik akışkan tek bir faz halinde bulunur ve sıcaklığın veya basıncın artmasıyla buharlaştırılmaz veya sıvılaştırılmaz. Bundan dolayı süperkritik akışkan, bir sıvı ve bir gaz arasındaki maddenin ara formudur (Zougagh *et al.* 2004, Mira *et al.* 1999). Dolayısıyla bir gaz gibi yüksek difüzyon özelliğine ve bir sıvı gibi etkin çözme gücüne sahiptir. Böylece bileşenler çok etkin bir şekilde ekstrakte edilebilmektedir.

3.1.6 Çözücü (Solvent) Ekstraksiyonu

Birbiri içinde çözünmeyen, karışmayan, aynı kap içerisine bırakıldıktan dışardan bir etki olmadığı ayrı fazlar halinde kalan iki sıvı arasındaki kütle aktarımıdır. Girdi içerisindeki istenilen bileşene çözücü seçimli olarak etki eder.

Sıkıştırılmış çözücü ekstraksiyonu ise çözücü ekstraksiyonunun bir çeşidi olarak bilinmektedir. Klasik ekstraksiyonlara göre ekstraksiyon süresi, harcanan çözücü miktarı, ekstraksiyondan alınan verim ve tekrarlanabilir olması avantaj sağlamaktadır. Ekstraksiyonda organik çözücü, yüksek basınç ve sıcaklık kullanılmaktadır. Yüksek basınç çözücüyü sıvı halde tutularak güvenli ve hızlı ekstraksiyonu sağlarken yüksek sıcaklık ekstraksiyon kinetiğini hızlandırmaktadır. Ekstraksiyon sırasında uygulanan yüksek basınç çözücünün, ekstraksiyon uygulanan maddenin iç kısımlarına kadar girmesini sağlamaktadır. Bu yöntem de, çelik bir kap içerisine yerleştirilen katı ya da yarı-katı örneğin çözücü ile bir fırın içerisinde 50–200 °C arasında değişen sıcaklıklarda ısıtılması ile başlar ve ısıtma sırasında fırına 500–3000 psi değerleri arasında basınç uygulanır. Ekstraksiyonun 5–10. dakikalarında ortama yeni çözücü pompalanarak örneğin ve kabın yıkanması sağlanmaktadır. Sistem içerisindeki bütün çözücü genellikle nitrojen gazı kullanılarak bir şişe içerisinde toplanmaktadır (Vas and Vekey 2004).

3.1.7 Katı-Faz Mikroekstraksiyonu

Yapılan çalışmalarda, ekstraksiyon işlemleri için analiz zamanının büyük bir kısmının örnek hazırlama ile geçtiği tespit edilmiştir. Ayrıca örnek hazırlamada yapılacak olan en küçük hata ön işlemlerle harcanan zamanın boşa geçtiğini göstermektedir. Bunun için 1989’ da Pawliszyn ve arkadaşları katı-faz mikroekstraksiyon (SPME) yöntemini bularak örnek hazırlama, ekstraksiyon ve yoğunlaştırma aşamalarını çözücü içermeyen tek bir aşamada birleştirmiştir. Böylelikle ekstraksiyon süresi ve maliyette önemli kazanç elde edilerek yapılan teşhislerde iyileşmeler görülmüştür. SPME, GC veya GC-MS ile birlikte özellikle çevre, biyoloji ve gıda örneklerindeki uçucu ve yarı uçucu organik bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Ayrıca, yüksek-performanslı sıvı kromatografisinde de (HPLC) uygulanmaktadır.

SPME yönteminin etkinliğini etkileyen en önemli faktör lifi kaplayan materyalin tipi ve kalınlığıdır. PDMSDVB [poly(dimethylsiloxane)-divinilbenzene] tipi lifler terpenler gibi önemli uçucu bileşiklerin tutulmasında kullanılmaktadır. Diğer faktörler ise sırasıyla ekstraksiyon işlemi, desorpsiyonun optimizasyonu, türev hazırlama ve nicelik yönünden incelenmesidir. SPME ekstraksiyonunun süresi 1-20 dakika arasında değişmektedir. Sürenin kısa olması hekzenal gibi uçucu bileşiklerde yeterli olabilmekte ancak daha az uçucu bileşikler için daha uzun sürelerle ihtiyaç duyulmaktadır. Basit, düşük maliyetli, temiz ve konsantrasyonla ekstraksiyon elde edilebilir. Kütle spektrometre uygulamaları için ideal bir yöntemdir (Vas and Vekey 2004).

3.1.8 Çok Yönlü Ekstraksiyon Yöntemleri

Likens ve Nickerson tarafından 1964’ de bulunan yöntemde zaman ve harcanan kimyasallarda önemli azalmalar olmuştur. Yöntemde örnek, SDE (Simultaneous destilasyon ekstraksiyon) aparatının sol tarafına su dolu kap içerisinde kaynatılarak uçucular buharla destile olarak sol kolondan yukarıya doğru hareket etmektedir. Sol kolondan gelen uçucular sağ kısımda buharlaştırılan çözücü ile aparatın üst kısmında buluşur. Üst kısımda yer alan soğutucunun cidarlarında su ve çözücü buharının yoğunlaşmasıyla ekstraksiyon işlemi gerçekleşir. Yoğunlaşan su ve çözücü ayrı ayrı yoğunlaştırılarak uçucu bileşikler elde edilmektedir. SDE yönteminde kullanılan çözücü yöntemin verimliliğini etkileyen en önemli faktördür. Su kullanılarak yapılan deney olduğu için yoğunluğu sudan ağır veya hafif farklı çözücü ile yapılan deneylerde diklorürmetanın bu yöntem için en verimli çözücü olduğu tespit edilmiştir (Likens and Nickerson, 1964).

4. AHLAT (*Pyrus elaeagnifolia* Pall.) BİTKİSİ VE ÖNEMİ

Ülkemizde doğal olarak kendiliğinden yetişen ahlat, yabani armut ve badem yapraklı ahlat taksonları sistematikte *Rosaceae* familyası (Gülgiller), *Pomoideae* alt familyası içerisinde incelenmektedir (Davis 1972; Anşin ve Özkan, 1993).

Ahlat, yaban armudu olarak ta bilinir. Çakal armudu, çördük gibi yöresel isimleri bazı yörelerde vardır (Kartal 2013). Ahlatın anavatanı Anadolu olarak bildirilmiş olup, yayılma alanı Ukrayna, Güney Doğu Avrupa ve Türkiye'dir. Bu türün ak ve boz görünümünde farklı çeşit ve formları Anadolu'nun değişik bölgelerinde bulunmaktadır. Tamamen kserofit bitki özelliği taşıyan ahlat, boz tüylü dalcıkları, ufak kargı biçimindeki yaprakları, sık dikenli dalları ve derine giden kazık kökü vardır (Dumanoğlu ve ark. 1999). Derin kök yapısından dolayı kurak iklim ve toprak koşullarına iyi uyum gösteren ahlat kıraç bozkırları olan Orta Anadolu'da yetişebilmektedir (İnt. Kayn. 7).

Hava kirliliğine ve kuraklığa dayanıklı bir tür olan ahlat, orman açıklıklarında, kurak yerlerde, bozkırlarda ve bilhassa ormandan açılmış tarla içlerinde çeşitli alıç (*Crataegus*) türleriyle birlikte yaygın olarak bulunur. Nisan ayında çiçek açıp, meyvesi sonbaharda tam olgunlaşır rengi kahverengiye döner ve o zaman yenir (Kartal 2013).

-30 C gibi kış soğuklarında ve yetiştiği ortamdan yüksek düzeyde Zn ve Fe alma kabiliyeti ile kloroza, yani yüksek pH' ya çok dayanıklı olup ve bu yüzden de öteki birçok *Pyrus* türünün yetişmesi için uygun olmayan kireçli ve kurak şartlara çok iyi uyum sağlamıştır. Ahlat anaç olarak kullanıldığında armutlar ile çok iyi uyur ve bilhassa kloroza dayanıklı armut anacı ıslahında önemli bir potansiyele sahiptir (Lombard *et al.* 1987, Hartmann and Kester 1983).

2-5 metra arası yaklaşık ağaç boyudur. Koyu yeşil renkli ve kalın yaprakları olup, dalları dikenlidir. Yuvarlak ve pütürlü meyveleri vardır. Küçük çiçek şeklinde beyaz renkte ilkbahar aylarında açmaktadır.

Ahlatın 3000 yıl önce kültüre alındığı ve 24 türden fazla ahlat türünün botanikçiler tarafından teşhis edildiği bildirilmektedir (Gügücü 2014, Hummer and Postman, 2003). Bunlar aşağıda belirtilmiştir:

1. *P. amygdaliformis* Vill.
2. *P. betulifolia* Bunge
3. *P. calleryana* Decne.
4. *P. communis* L.
5. *P. communis* ssp. *Caucasica* (Fed.) Browicz
6. *P. cordata* Desv.
7. *P. cossonii* Rehder
8. *P. dimorphophylla* Makino
9. *P. elaeagnifolia* Pall.
10. *P. fauriei* C.K. Schneid.
11. *P. gharbiana* Trab.
12. *P. glabra* Boiss.
13. *P. koehnii* C.K. Schneid
14. *P. korshinskyi* Litv.
15. *P. Mamorensis* Trab.
16. *P. nivalis* Jacq.
17. *P. pashia* Buch.-Ham. ex D.Don
18. *P. pseudopashia* T.T.Yu
19. *P. pyrifolia* (Burm.f.) Nakai
20. *P. regelii* Rehder
21. *P. salicifolia* Poll.
22. *P. syriaca* Boiss.
23. *P. ussuriensis* Maxim.
24. *P. xerophylla* T.T.Yu) (Özlük 2015).



Resim 4.1 Ahlat (*Pyrus elaeagrifolia pall.*) Bitkisi.

Bitkiye adını veren ahlat adının Evelyn Kalças Yunancadan geldiğini ve Magrice Messegue Yunanlıların diğer Avrupa topluluklarına göre daha geç tanıştığını, eski mısırlıların ise armutu bilmediklerini belirtmiştir. Ancak Evliya Çelebi İstanbul gözlemlerinde İstanbul kavağının ahlatının ünlü olduğuna yer vermiştir. Ayrıca Evliya Çelebi Sofyada ahlat gibi yabancı meyvelerin bazılarının derelerde yetiştiğini de söylemiştir (İnt. Kyn.8)

Ahlatın gerek meyvesinin gerekse yapraklarının faydası oldukça çoktur. Ahlat öğütülerek yoğurda karıştırılıp aç karna biraz yenirse kalp rahatsızlıklarına iyi geldiği söylenmektedir. Ahlat meyvesi sıcak suda haşlanarak veya taze meyvesi yenildiğinde ishale iyi gelmektedir. Ancak fazla tüketilme durumunda kabız yaptığı için kabızlık durumu ortaya çıkmaktadır. Meyvesi günlük düzenli tüketildiği takdirde kalbi güçlendirmekte ve iyi gelmektedir. Ahlatın meyve suyu kanı sulandırıcı özelliktedir ve dolaşımını kolaylaştırarak kanı temizler. Bu sebeple göz damarları başta olmak üzere vücudumuzdaki damarlar üzerine de etkilidir. Zehirli böcek sokmalarında ise filizlerinin dövülüp yaranın üzerine konulması tavsiye edilir. Ahlatın hoşafının hararet giderme ve kadınlarda menapoz dönemlerinde yanmalara iyi geldiği bilinmektedir. Ayrıca yatıştırıcı olarak sinir sistemine iyi geldiği, yorgunluğu giderdiği, astım hastalarını rahatlattığı, diş hastalıklarında diş eti rahatsızlıklarına iyi geldiği vücut direncini de artırdığı halk arasında bilinen özelliklerindendir (İnt. Kyn. 8-9).

Çin’ de geleneksel halk ilacı olarak kullanılan *P. pashia*’nın meyvelerinin dispepsi (fonksiyonel hazımsızlık), dismenore (ağrılı adet sancısı) tedavisinde kullanılırken ishalin tedavisi için de dalları ve yapraklarının kullanıldığı belirtilmiştir (Khandelwal *et al.* 2008).

Armutların ihtiva ettiği serum şekerler ve organik asitlerden ötürü oluşturduğu ekşimsi tat ve insan metabolizmasındaki reaksiyonları düzene koyması meyvenin besleyici değeriyle birlikte kalitesini etkilemektedir. (Chen *et al.* 2007).

Yapılan çalışmalar armutların vitamin ve mineraller içerdiğini ateş düşürücü, öksürük giderici, ishal kesici özelliğe sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca karaciğer ve adet döngüsünü etkilediği için üriner sistem bozukluklarına da iyi geldiği bildirilmektedir. *Pyrus communis* yapraklarının üre dezenfektanı olduğu da bilinmektedir. Halk arasında armut çiçekleri analjezik ve spazmolitik ilaç olarak kullanılmaktadır (Gudej and Rychlinska, 1999).

Diüretik özelliğe sahip ahlat yaprakları mesane inflamasyonlarına, bakteriüriye, yüksek tansiyona, böbrek taşlarının tedavisinde iyi olduğu bilinmektedir (Zargari, 1996).

Pyrus spp. diyet kaynağı olarak kullanılmasında önemli kılan içeriğindeki diyet lifi, mineral, C vitamini ve organik asitlerin varlığıdır (Chen *et al.* 2007a).

Li ve arkadaşları armut için polifenoller ve triterpenler için en iyi kaynak olarak belirtirken aynı zamanda antioksidan ve anti-inflamatuvar etkisinden dolayı da meyveyi fonksiyonel olarak belirtmişlerdir (Li *et al.* 2014).

Yapılan araştırmalar *Saxifragaceae*, *Ericaceae*, *Rosaceae* ve *Compositae* familyalarının yüksek miktarda arbutin içerdiğini göstermiştir. *Rosaceae* familyasından *Pyrus* cinsinin yapısındaki fenolglukozit formundaki arbutinin sap, yaprak ve kabuğunda bulunduğu belirtilmiştir. Ahlat yaprağının ve meyvesinin ise antioksidan ve diüretik özelliği, güneş koruyuculuğu idrar yolu enfeksiyonu tedavisi, dismenore, idrar yolu enfeksiyonunda kullanılması içerdiği arbutinden ileri gelmektedir. Ayrıca çalışmada

kullanılan *Pyrus bioessieriana Buhse* ile hazırlanan tüm ekstraktların ve arbutinin antioksidan özellikte olduğu, ayrıca metanolik ekstraktının ve arbutinin antifungal, antilarva; diklormetan ekstraktının ise antibakteriyel antikolinerastaz özellik sergilediğini vurgulamıştır (Azadbakht *et al.* 2004).

Çağımız şartlarında bilinçlenen toplumun istekleri doğrultusunda toksik etkisi olmayan, kolay ve ucuz olan alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Ülkemizde ve dünyada hastalıkların ve hastalık çeşitlerinin artması nedeniyle hastalık önleyici ajanların araştırılmasındaki çalışmaları artırmıştır. Özellikle doğal ajanların keşfi önem arz etmektedir. Anavatanı Anadolu olan ahlat bitkisi uzun yıllar boyunca yetişen ve geleneksel tedavilerde kullanılan bir bitkidir. Literatürde de hakkındaki çalışmalar sınırlı olması sebebiyle tezde kullanılmasına karar verilmiştir. Bu çalışmada Afyonkarahisar bölgesinden temin edilen *Pyrus elaeagrifolia* türü ahlat yapraklarının temel kimyasal özellikleri araştırılmış, farklı ekstraksiyon koşullarının bitkinin toplam fenolik içeriği ve antioksidan özelliğine etkileri incelenmiştir. Ayrıca antimikrobiyal testler, MCF-7 VE A549 kanser hücreleri üzerine sitotoksikite testleri uygulanmıştır. Daha çok meyvesi tüketilen ahlat bitkisinin yaprakları ile yapılan araştırma sonuçlarının gerek gıda gerek sağlık sektöründe kullanımına ışık tutabileceği ve katkısı olacağı düşünülmektedir.

5. MATERİYAL METOD

5.1 Bitki Materyalinin Hazırlanması

Tezde kullanılan bitki yani Ahlat yaprağı (*Pyrus elaeagrifolia* Pall.) Afyon bölgesinin dağlarından toplanmış direkt güneş ışığına maruz kalmadan gölgede yaklaşık 2 hafta süre ile kurutulmuştur. Ekstraksiyon işlemi için yapraklar öncelikle öğütülmüştür.

5.2 HPLC ile Fenolik Bileşen Analizi

Ahlat bitkisinde bulunan fenolik bileşenlerin karakterizasyonu amacıyla Shimadzu model HPLC sistemi (Shimadzu Corp. Kyoto, Japan) ile kromatografik analizler gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşenlerin analizinde Caponio ve arkadaşları (1999) tarafından tanımlanan yöntem uyarlanarak kullanılmıştır. Analizde kullanılan HPLC'nin özellikleri ve analiz koşulları ise şöyledir: Dedektör: DAD dedektör (λ_{max} ;280nm), Auto sampler: SIL-10AD vp, Kolon fırını ve kolon: CTO-10Avp. 250x4.6 mm i.d, 5 μ m; Agilent Eclipse XDB-C18 (Wallborn, Germany). Mobil Faz: A:3% asetik asit, B: Metanol. Akış hızı: 0.8 ml/dk, enjeksiyon miktarı 20 μ l, kolon sıcaklığı 30°C ye ayarlandı. Veri Analizi: Esisteme entegre Shimadzu Class-VP Chromatography Laboratory Automated Software ile gerçekleştirilmiştir. Mevcut standartlar Sigma (St. Louis, MO, USA) temin edilmiştir. Analizlenen standartlar ve pik numaraları şöyledir: 1: gallik asit, 2: protokateşik asit, 3: kateşin, 4: p-hidroksi benzoik asit, 5: klorojenik asit, 6: kafeik asit, 7: epikateşin, 8: sirinjik asit, 9: vanilin, 10: p-kumarik asit, 11: ferulik asit, 12: sinapinik asit, 13: benzoik asit, 14: o-kumarik asit, 15: rutin, 16: naringin, 17: hesperidin, 18: rosmarinik asit, 19: eriodictyol, 20: sinamik asit, 21: quercetin, 22: luteolin, 23: kamferol, 24: apigenin.

5.3 Ekstraksiyon için Deney Planı

Yapraklardan 10 g/100ml oranında numuneler hazırlanmıştır. Hazırlanan ahlat yaprağı numuneleri 100 rpm de çalkalamalı su banyosu yardımı ile özü çıkarılmıştır. Optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi amacıyla ekstraksiyonlar 25-70 °C de, %0-80

etanol/su karışımı (v/v), 30-80 dk parametrelerinde gerçekleştirilmiştir. Bu üç parametre yani etanol su konsantrasyonu, ekstraksiyon zamanı ve sıcaklık ekstraktlardaki antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik içeriğinin sonuçlarına ve literatürde belirtilen çalışmalara dayanarak seçilmiştir (Samuagam *et al.* 2013, Radojkovic *et al.* 2012). Çalışılan ekstraksiyon parametreleriyle ilgili değerler Çizelge 5.1 de verilmiştir. Çalışma sonuçları üç denemenin ortalaması alınarak verilmiştir.

Çizelge 5.1 Ekstraksiyon Parametreleri.

Süre (dk)	Sıcaklık (°C)	Etanol Konsantrasyonu (%)
30	25	0
45	30	20
60	40	40
75	55	60
80	70	80

5.4 Toplam Fenolik Madde Tayini

Ekstraktların fenolik içeriği daha önce 1999 yılında Singleton ve arkadaşları tarafından tanımlanan spektrofotometrik metodu (Folin-Ciocalteu metodu) ile değerlendirilmiştir. Yönteme göre 100µg/ml' ye saf su ile seyreltilmiş 1ml bitki ekstraktı su ile 3 defa seyreltilmiş 1ml Folin-Ciocalteu ayırıcı ile karıştırılmıştır. Bu karışım 5 dk sonra %35 lik 2 ml doymuş sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi ile karıştırılmış ardından da 2 ml su ilave edilerek 6ml' ye seyreltilmiştir. Karışım 30 dk karanlık ortamda bekletilerek oluşan mavi rengin absorbansı spektrofotometrede 760 nm' de okunmuştur. Numuneler üçlü hazırlanmıştır. Toplam fenolik içeriği gallik asidin kalibrasyon eğrisi esas alınarak hesaplanmış ve numune mg başına µg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir. Çalışma sonuçları üç denemenin ortalaması alınarak verilmiştir.

5.5 Antioksidan Aktivite Tayini

Tezde DPPH yöntemi ile örneklerin radikal süpürücü etkisi baz alınarak antioksidan aktivitesi tespit edilmiştir. Metodun prensibi ekstraktların bir proton veya elektron verebilme yeteneğinin, DPPH çözeltisinin mor rengini açmasıdır. Absorbanstaki düşüş serbest radikal giderme aktivitesini göstermektedir. Bunun için otomatik pipet ile 50µL

ekstraktan (200µg/mL) alınarak DPPH radikali ile karıştırılmıştır. Karışım vorteks karıştırıcı ile karıştırılıp oda sıcaklığında 60 dk süre ile karanlıkta bekletilip sonrasında 517 nm’ de spektrometrede absorbans okunmuştur. Okunan absorbans değeri aşağıda belirtilen eşitlikte uygulanarak karışımın antioksidan aktivitesi (%AA) hesaplanmıştır (Katalinic *et. al.* 2004, Atoui *et al.* 2005).

$$AA(\%) = \frac{Abs_{Kontrol} - Abs_{Örnek}}{Abs_{Kontrol}} \times 100 \quad (5.1)$$

Abs_{Kontrol}, örnek içermeyen DPPH çözeltisinin absorbansını; Abs_{Örnek}, örnek içeren DPPH çözeltisinin absorbansını göstermektedir. Referans antioksidan olan askorbik asitin aynı koşullarda 0-150 µg/ml aralığındaki farklı konsantrasyonları ile kalibrasyon eğrisi oluşturularak örneklerin % AA’ si askorbik asit eşdeğerine dönüştürülerek kontrol örneğine göre radikali inhibe etme yüzdesi olarak açıklanmıştır. Çalışma sonuçları üç denemenin ortalaması alınarak verilmiştir.

5.6 Antibakteriyel Aktivite Tayini

Optimum koşullarda elde edilen ekstraktın sahip olduğu antibakteriyel etkinin belirlenmesi amacıyla antibakteriyel aktivite tayini gerçekleştirilmiştir. Antibakteriyel aktivitenin tayininde 1966 yılında Bauer ve arkadaşları tarafından belirtilen disk difüzyon yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu tayin için 8 mm çapında standart boş disklerin (Oxoid, Basinstoke, UK) her birine bitki ekstraktlarından 200 µL emdirilerek laminar akışlı kabinde kurutulmuştur. Aktivite tayininde kullanılan test bakterileri (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*) steril svab ile yaklaşık McFarland 0.5 standardına uygun bulanıklık verecek şekilde hazırlanarak Nutrient Agar (Merck, Germany) besiyeri üzerine ince film şeklinde yayılmıştır. İnoküle edilen, disklerle yerleştirilen petri plakları 37 °C’ de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi bitiminde inhibisyon zonları çapı milimetrik cetvel ile ölçülmüştür. Çalışma sonuçları üç denemenin ortalaması alınarak verilmiştir.

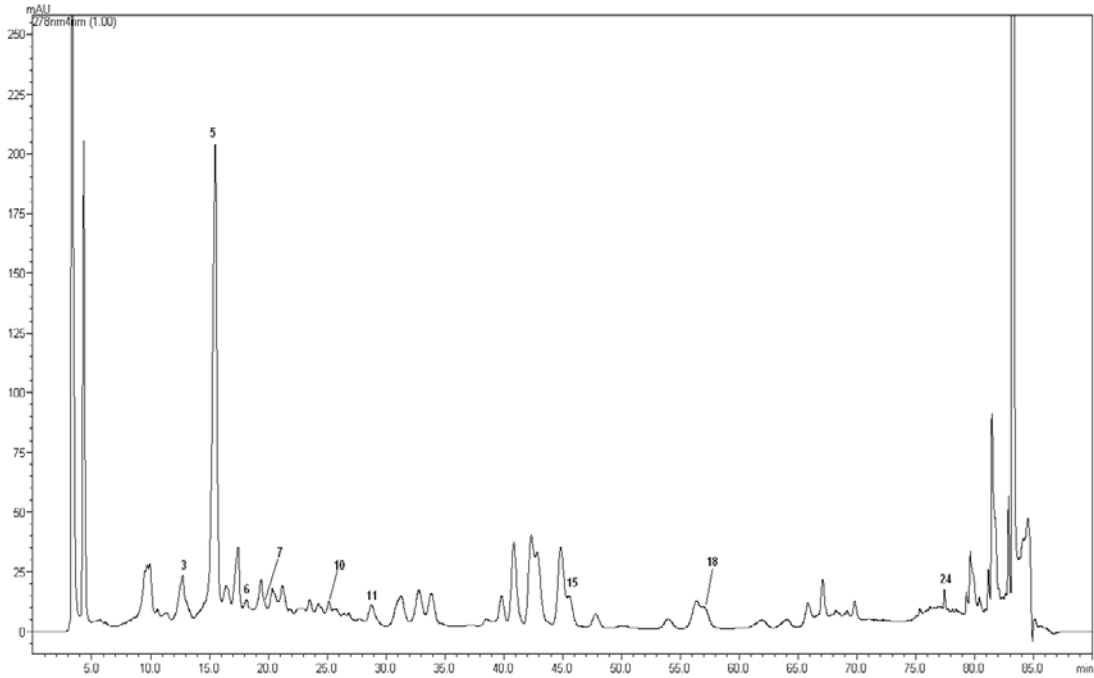
5.7 Sitotoksosite Testi

Optimum koşullarda elde edilen ekstraktın sahip olduğu sitotoksik etkinin belirlenmesi amacıyla sitotoksosite testleri gerçekleştirilmiştir. Hücre proliferasyon/sitotoksosite testi MTT (3-(4,5)-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) sitotoksosite testi ile gerçekleştirilmiştir. Yöntem esası, 3-(4,5)-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide'ın hücredeki metabolik olayların sonrasında renk değişiminin spektrofotometrik olarak ölçülmesidir (Supino, 1995). Bunun için çoklu plaka okuyucu (Mikroplate Reader, Thermo) kullanılmıştır. Çalışılan hücre hatları ise MCF7 (göğüs kanseri) ve A549 (akciğer kanseri) dur. Hücre kültürü ortamı olarak RPMI kullanılmış, inkübasyonlar, 37 C de, CO₂ inkübatöründe gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçları  denemenin ortalaması alınarak verilmiştir.

6. BULGULAR ve TARTIŞMA

6.1 HPLC Analiz Sonuçları

Yabani olarak bilinen deney materyali hakkında sınırlı çalışma olduğundan dolayı seçilmiştir. Ayrıca bitki zor hava koşullarına dayanıklılık göstermekte eskiden beridir de mesane rahatsızlıkları, hazımsızlık, ağrı giderici olarak da bilinen tedavileri bulunmaktadır. Afyonkarahisar ilinin Büyükkalecik florasından temin edilen ahlat yapraklarının ekstraktlarının fenolik profilleri HPLC’ de analiz edilmiştir. Kromotogram sonuçları ve tanımlanan bileşikler sırasıyla Şekil 6.1’ de ve Çizelge 6.1’ da gösterilmektedir.



Şekil 6.1 Ahlat yaprağı ekstraktının HPLC kromatogramı.

Çizelge 6.1 Ahlat yaprağı ekstraktının fenolik madde profili.

Bileşik	Kateşin hidrat	Klorojenik asit	Kafeik asit	Epikateşin	P-kumarik asit	Ferulik asit	Rutin	Rosmarinik asit	Apijenin
Konsantrasyon (mg/g)	1,1	2,2	0,08	0,19	0,05	0,18	0,4	0,22	0,08

Örneklerin fenolik içerikleri HPLC’de analizlenmiş ve 24 referans standartları ile karşılaştırılarak tanımlanmıştır. Buna göre ahlat yapraklarının bileşiminde kateşin hidrat, klorojenik asit, kafeik asit, epikateşin, p-kumarik asit, ferulik asit, rutin, rosmarinik asit, apijenin bulunmaktadır. Elde edilen verilere göre klorojenik asit (2,2 mg/g) ve kateşin asit(1,8 mg/g) yüksek konsantrasyonlarda bulunan başlıca fenolik içeriğini oluşturmuştur.

HPLC sonuçlarına göre yaprağın terki bindeki fenolikler ise; %2,2 klorojenik asit, %1,1 kateşin hidrat, %0,4 rutin, %0,22 rosmarinik asit, %0,19 epikateşin, %0,18 ferulik asit, %0,08 apijenin ve kafeik asit, %0,05 p-kumarik asit oluşturmaktadır.

Ahlat yaprağında ölçülemeyen yada önemsenecek oranda olmayan fenolikler ise; gallik asit, protokateşik asit, p-hidroksi benzoik asit, sirinğıç asit, vanilin, sinapinik asit, benzoik asit, o-kumarik asit, naringin, hesperidin, eriodiktiol, sinnamik asit, quersetin, luteolin, kamferol dır.

Literatürde benzer çalışmalar mevcuttur. Oleszek vd. (1994)’nin armuttaki bazı fenoliklerin izole edilmesi ile ilgili ile yaptıkları bir çalışmada 8 flavonole karşın 4 hidroksisinnamik asit esterleri belirlenmiştir. Falvonollerden beş tanesi izorhamnetin glikozitleri ile kalan üç tanesini ise quersetin oluşturduğunu ifade etmişlerdir.

1995 yılında Amiot ve diğerlerinin armut içerisindeki fenolik içeriklerinin büyüme ve olgunluktan ziyade çeşidine bağı olduğunu gösterir bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaya göre armuttaki majör fenoliklerin klorojenik asit (2,7-14,1 mg/100g), epikateşin (0,6-8,7 mg/100g), kateşin (yaklaşık 0,05mg/100g) olduğunu belirtilmiştir. Ayrıca Williams armudunda da çalışmamızdaki Ahlat yaprağı gibi ana fenoliğın klorojenik asit olduğı da ifade edilmiştir.

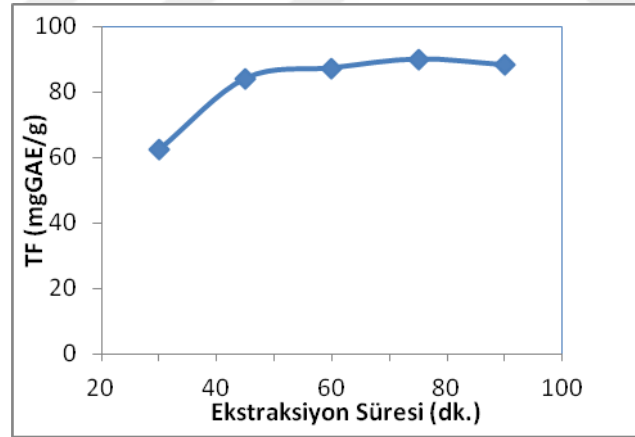
Schieber vd. (2001), yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazı ile elma ve armuttaki flavonoidleri ve fenolik asitleri belirlemişlerdir. Armuttaki hakim fenolik bileşenlerin klorojenik asit, kafeik asit, p-coumaroyl quinic asit ve p-kumarik asit, arbutin, prosiyanidinlerin bir dizisi ile flavonol glikositlerin olduğunu tespit etmişlerdir.

6.2 Ekstraksiyon Koşullarının Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik İçeriğe Etkisi

İleri dönemlerde yapılacak olan çalışmalarda daha yüksek biyoaktivite elde edilebilmek için optimum ekstraksiyon parametresinin belirlenmesi uygun görülmüştür. Böylelikle verimlilikte artış, ekonomik ve zaman açısından da kazanç sağlanacağı düşünülmüştür.

6.2.1 Ekstraksiyon Süresinin Etkisi

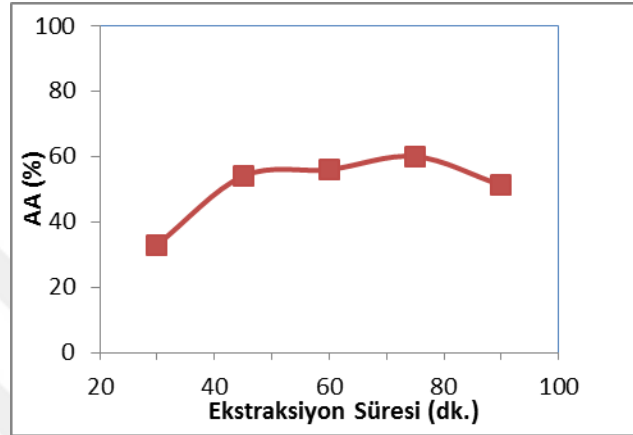
Ekstraksiyon süresinin toplam fenolik madde (TF) içeriğine etkisi Şekil 6.2’de gösterilmektedir. Toplam fenol içeriği gram başına miligram gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmektedir. Zamana bağlı olarak toplam fenol içeriği işlemin 45. dakikasına kadar artış göstermiştir. Sonrasında ise fazla artış göstermeden yaklaşık sabit bir değerde devam etmiştir. Toplam fenolik madde içeriği 45. dakikada yaklaşık 85 mgGAE/g olarak tespit edilmiş işleme devam edildikçe 85-90 mgGAE/Mm aralığında seyir etmiştir. Böylece TF deneyi değerleri ölçüt olacak olursa sonraki deneyler için optimum ekstraksiyon süresi 45 dakika olarak belirlenmiştir.



Şekil 6.2 Ekstraksiyon süresinin toplam fenolik madde (TF) içeriğine etkisi.

Literatürde de ekstraksiyon sürelerinin bitkisel kaynakların fenolik madde içeriğine etkisi üzerine çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada vişne çekirdeklerinin %17 yağ oranı ihtiva etmesi üzerine çekirdek yağı organik solvent (hekzan) ve süper kritik akışkan (CO₂) ekstraksiyonları ile elde edilmiş ve bu metodların yağ bileşenlerine etkisi araştırılmıştır. Her iki ekstraksiyonda hekzan ve CO₂ için kosolvent olarak etanol

kullanılması antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve karoten miktarında artışa neden olduğu belirtilmiştir. Yağ eldesinden önce 160 °C de farklı sürelerdeki kavurma işleminin de yağ bileşeni üzerine etki ettiği ve kavurma süresi arttıkça yağ içeriğindeki HMF ve toplam fenolik madde içeriğinde artışa toplam tokoferol içeriğinde azalmaya neden olduğu ifade edilmiştir(Yılmaz 2013).

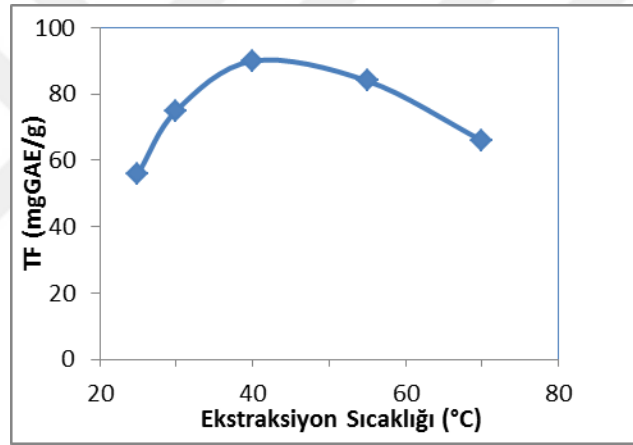


Şekil 6.3 Ekstraksiyon süresinin antioksidan aktivitesine etkisi.

Şekil 6.3’de ekstraksiyon süresinin antioksidan aktiviteye etkisi verilmiştir. Başlangıç olarak %30-35 de başlayan antioksidan aktivite 45. Dakikaya kadar düzenli bir artış göstermiş 60. Dakikaya kadar benzer değerde devam etmiştir. Ancak 60 dakikadan sonra antioksidan aktivite yaklaşık 75. Dakikaya kadar biraz daha artış göstererek düşüşe geçmiştir. Dolayısı ile en yüksek antioksidan aktivite değeri yaklaşık 75. dakikada gözlemlenmiştir. Benzer bir şekilde yapılan bir çalışmada, farklı sürelerde depolanan *Pyrus boissieriana buhse* yaprak özütlerinin arbutin içeriklerinin antioksidan stabilitesinin ile üzerine yapılan bir araştırmada incelenmiştir. Oda sıcaklığı +4 °C ve -20°C sıcaklık değerlerinde ve 14 gün süre tutulmuştur. 4 ml TBA / TCA ve 50 ul BHT, tüplere 3-7-14 gün sonlarında eklenmiş ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Ölçülen değerler sonucunda arbutin ve yaprak özütlerinin depolama süresince fazlaca yüksek stabilite sergilediği, antioksidan etkisini devam ettirdiği tespit edilmiştir. Böylece sürenin antioksidan aktivite üzerine çok fazla etkisi gözlenmezken, yapay antioksidanlar yerine rahatlıkla kullanılabileceği önerilmiştir (Khalilpour *et al.* 2013).

6.2.2 Ekstraksiyon Sıcaklığının Etkisi

Şekil 6.4’de ekstraksiyon sıcaklığının toplam fenol içeriği üzerine etkisi gösterilmektedir. Oda sıcaklığında 55-57mgGAE/g olarak ölçülen fenol sıcaklık arttıkça artış göstermiş sonralarında sıcaklık yükselişlerinde azalma gözlemlendiği görülmektedir. TP değeri 40°C ye kadar artmış sonraki sıcaklık değerlerinde azalmıştır. En yüksek TP değeri 40°C de 90 mgGAE/g olarak ölçülmüştür. Sıcaklık 40°C den 70°C ye doğru ilerledikçe TP değeri 60-65 mgGAE/g ye düşüş olmuştur. Bunun sebebinin ise ekstraktın ihtiva ettiği fenollerin yüksek sıcaklıktan etkilenmesi olduğu düşünülmektedir. Elde edilen ölçümler sonucunda TP deneyleri için optimum sıcaklık değerinin 37-40 C° olabileceği bulunmuştur.



Şekil 6.4 Ekstraksiyon sıcaklığının toplam fenolik madde (TF) içeriğine etkisi.

Literatürde yapılan çalışmalar da da benzer sonuçlar mevcuttur. Brownmiller ve arkadaşları (2008) ile Hager ve arkadaşları (2008) ahududu ve yaban mersini ile yaptıkları çalışmalarda ısıtma işlemi sonucunda fitokimyasalların önemli derecede azaldığını belirtmişlerdir. Yabani meyveler yüksek miktarda fitokimyasal madde içermektedirler. Ancak yüksek sıcaklık ve dehidrasyon işlemleri gıda içerisindeki fitokimyasalların kimyasal yapılarında değişmeye neden olarak etkilerinin azalmasına sebep olduğu belirtilmiştir. Üvez ekstraktı ile yapılan bir başka yine sıcaklığın TF üzerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sıcaklık artışı, üvez bitkisi ekstraktların TF değerinde artışa neden olduğu belirtilmiştir (Kavak ve Akdeniz, 2016).

Köksal (2008) ın şeftali çeşitleri ile yaptığı çalışmada J. Hale cinsi şeftalinin mayşe, pulp, posa ve ısıtılmış mayşe örneklerine ısıl işlem uygulaması yaparak toplam fenolik madde içeriği değerlendirmiştir. Yapılan çalışmada 5 dakika 70 ± 2 °C, 80 ± 2 °C, 90 ± 2 °C de üç farklı ısıl işlem uygulanmıştır. Uygulanan tüm sıcaklıklarda toplam fenol miktarı giderek artış göstermiştir.

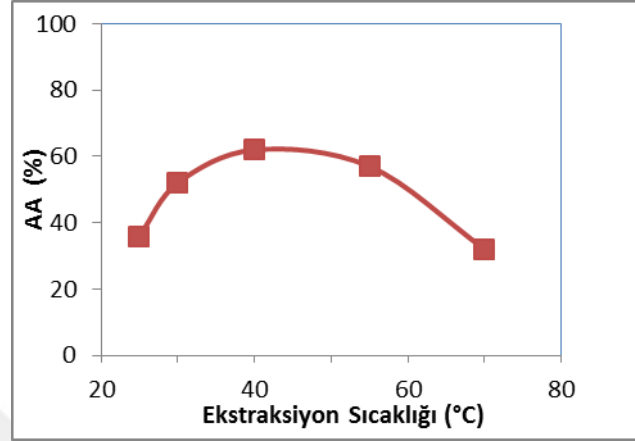
Sıcaklığın toplam fenolik madde içeriğine etkisinin incelendiği kuşburnu nektarı ile yapılan bir başka çalışmada ise 70-95 °C arası ısıl işlem uygulanarak zamanla meydana gelen toplam fenolik madde kayıpları gözlemlenmiştir. Herhangi bir ısıl işleme maruz kalmamış olan kuşburnu nektarlarında toplam fenolik madde miktarı 229,4 mg/L tespit edilmiştir. 70-80-90-95 °C sıcaklıklarındaki toplam fenolik madde kayıpları sırasıyla %27,31 - %53,92 - %55,45 - %56,73 oranlarında görülmüştür. Dolayısı ile 70 °C de uygulanan ısıl işlemde fenolik madde kaybı düşükken sonraki sıcaklıklarda dikkat çekici bir artışla kayıp olmuş ve sonraki sıcaklıklarda da kayıp oranı benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada yüksek sıcaklıklarda yüksek kayıpların olabileceği açıklanmıştır (Duman 2014).

Rosaceae ailesinin *Fragaria* cinsine ait çilek meyvesi ile Mollov ve arkadaşları tarafından 2007’de yapılan bir araştırmada 85°C de 0-30-60-90 dk ekstraksiyona tabi tutulmuş ve süre arttıkça değişen monomerik antosiyanidinmiktarları değerlendirilmiştir. Başlangıçta 40.4 mg/100g ölçülen monomerik antosiyanidin miktarı 30. dk 34.1, 60. dk da 28.7, 90. dk da ise 25.4 mg/100g olduğu sonucuna varılarak sabit sıcaklıkta süre arttıkça antosiyanidinin azaldığı gözlemlenmiştir

Yaban mersini ile yapılan bir çalışmada 75°C de uygulanan preslemenin daha düşük sıcaklıklarda uygulananlara göre toplam fenol miktarında ve antosiyanin miktarındaki yükselmenin önemli olduğu vurgulanmıştır (Leavens 2006).

Şekil 6.5’de ekstraksiyon sıcaklığının antioksidan aktivite üzerindeki etkisini verilmiştir. Elde edilen bugulara göre grafik, toplam fenolik değerindeki grafiğe benzer bir seyir göstermiştir. 25°C de yaklaşık %38-40 olan antioksidan aktivite değeri sıcaklık 40°C’ye

ulařıncaya kadar artma eğilimi göstermiř sonrasında ise dūřmūřtır. En yūysek antioksidan aktivite deęerini 40°C de %60-65 olarak gōstermiřtir.



şekil 6.5 Ekstraksiyon sıcaklığının antioksidan aktivitesine etkisi.

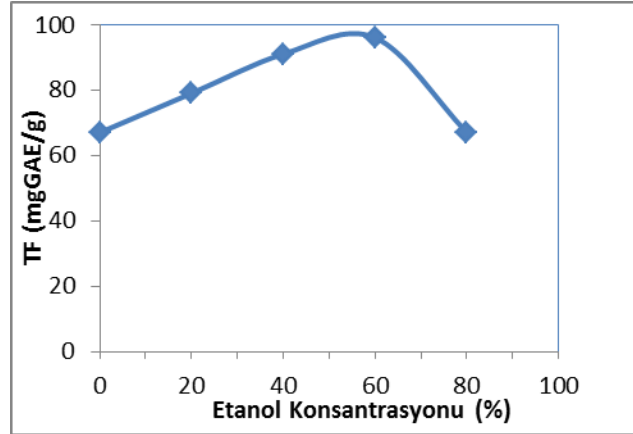
Sıcaklıęın fenolik maddeler üzerine etkisi ile ilgili literatūre farklı arařtırmalar mevcut-tur. Gōrūnūm olarak yemiřene benzeyen yūysek biyoaktif ięerięe sahip murtiberries (*Ugni Molnae T.*) ile yapılan ęalıřmada 40,50,60,70,80 °C de konveksiyonel kurutma iřlemi uygulanmıřtır. Kurutma periyotlarında yapılan analizlerde yūysek oranda β-karoten sıcaklık arttıķa azaldıęı ayrıca 40-50 °C kurutma uygulamasında ise gallik asit deęerindeki kaybın az olduęu gōzlemlenmiřtir. Yapılan ęalıřmada yūysek derecede (70-80 °C) antioksidan aktivite deęerinin dięer deęerlere gōre daha yūysek oranda olduęu kaydedilmiřtir (Rodriguez 2014).

Frambuaz olarak da bilinen ahududu pulpunun 60-90 °C de sıcaklık aralıęındaki antioksidan aktivitesi üzerine etkisi yapılan bir ęalıřmada arařtırılmıřtır. Bolu (Çivril) yōresinden temin edilen ahududu pulpları 60-70-80-90 °C sıcaklıkta 7 saat ısıtılmıřtır. Isıtılmadan ōnce tespit edilen aktivite deęereri sırasıyla 13,8 - 14,1 - 15,9 - 15,5 μmol TE g⁻¹ olarak ōlęūlmūřtır. 7 saatlik ısıtmanın sonucunda bulunan antioksidan aktivite deęerleri 16,3 – 17,2 – 13,8 – 13,3 μmol TE g⁻¹olarak belirtilmiřtir. Bōylece 60-70 °C de tespit edilen antioksidan aktivite yūykelme gōsterirken sonraki yūysek sıcaklıklarda dūřūř gōstermiřtir. Bunun sebebi ise yūysek olmayan sıcaklıklarda antioksidan aktivite gōsteren antosiyanin, fenolik madde ve L- askorbik asit yıkımının yavař seyir etmesi dūřūnūlmektedir (Sūmmen 2011).

Dağ çileği pulpu ile yapılan bir araştırmada pulpa 60°, 70°, 80° ve 90°C sıcaklıklarında ısıtma işlemi uygulanmıştır. Isıtma işlemi sonucunda başlangıç seviyesindeki antioksidan aktivite değerlerine nazaran bir artış görülmüştür. Dolayısıyla ile belirtilen ısıtma sıcaklığı ve süre arttıkça antioksidan aktivitenin yükseldiği görülmüştür (Özşen 2011).

6.2.3 Çözücü Konsantrasyonunun Etkisi

Ahlat yaprakları için hazırlanan çözücü konsantrasyonları %0 - %20 - %60 - %80 (v/v) etanoldür. Etanol konsantrasyonunun toplam fenol içeriğine etkisi şekilde de (Şekil 6.6) görüldüğü gibi önce artmış sonrasında azalmıştır. 60 mgGAE/g değerinde başlayan deney yaklaşık %60 konsantrasyonuna kadar artış göstermiştir. En yüksek TF %60' lık konsantrasyonda görülmüş olup neredeyse 100 mgGAE/g değerine ulaşmıştır. Ancak %80 konsantrasyon içeriğine doğru toplam fenol değerinde azalma görülmüştür. Deneyler için en uygun çözücü konsantrasyon değerinin %55- %60 aralığında olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca etanol konsantrasyonu arttıkça deney ekstraktındaki fenollerin etkilendikleri içerik olarak azaldıkları düşünülmektedir.



Şekil 6.6 Etanol konsantrasyonunun toplam fenolik madde (TF) içeriğine etkisi.

Toplam fenol madde miktarı için en uygun sıcaklık zaman ve etanol konsantrasyonları için gerekli deneyler yapılmıştır. Buna göre sonuçları değerlendirecek olursak; 40-45 °C sıcaklık aralığında yaklaşık 40 dakika ve %55-60 etanol konsantrasyonlarında optimum koşulların olacağı düşünülmektedir. Bu koşullarda ahlat yaprağı ekstraktları için

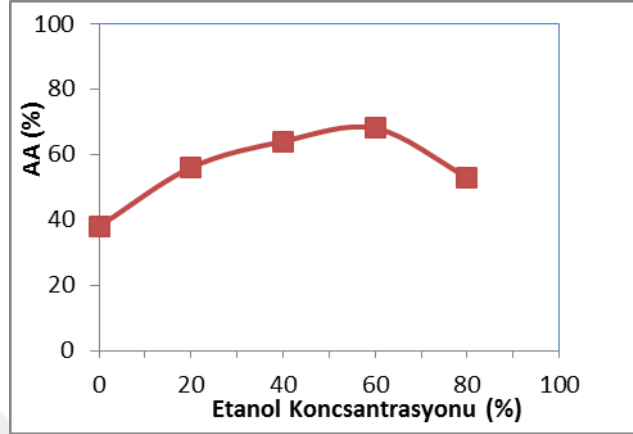
maksimum fenolik madde miktarına ulaşılacaktır. Fenolik maddeler ısıya duyarlı maddeler olduğundan dolayı sıcaklık artışında yıkıma uğrayacaklarından dolayı miktarları azalmaktadır. Bu sebeple optimum değerlerin üzerindeki sıcaklık ve konsantrasyon artışları fenolik madde üzerinde olumsuz etki göstermekte olup değerlerinde düşüşe sebep olmuştur.

Literatürde aslanpençesi olarak bilinen ve *Alchemilla L.* cinsine ait üç tür (*A. holotricha*, *A. persica*, *A. cimilensis*) ile yapılan bir çalışmada bu türlerin hekzan, diklorometan, etil asetat, su ile çözünmüş ekstraktlarının toplam fenolik madde, flavonoid ve fenolik asit değerleri incelenmiştir. *Alchemilla* ile yapılan çalışmada metanol ve su ekstraktlarında fenolik madde değeri yüksek hekzan ile hazırlanan ekstrede ise üç tür için en düşük çıkmıştır. Toplam flavonoid değeri deney için kullanılan üç tür için etil asetatta diğer çözücülere göre daha yüksek çıkmıştır. Bu karşın hekzan ve su ile hazırlanan ekstraktların ise daha düşük oranda çıkmıştır. Fenolik asit değeri için yapılan deneylerde ise hekzanda diğer çözücülere göre yüksek değere ölçülmüş olup, metanol su ekstraktlarında en düşük değer olduğu belirtilmiştir (Arat 2012).

R. heckeliana bitkisinin kök özütlerindeki fenolik bileşiklerin belirlenmesi için çalışma yapılmıştır. Bunun için Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmış Gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak sonuçlanmıştır. 8.8 GAE μ g/mg özüt değeri ile en yüksek değere sahip etil asetat fraksiyonunda belirlenirken quersetin ve petrol eterinde değeri ölçülemedi. Ayrıca ham metanol ekstraktında 0,568 GAE μ g/mg, kloroform fraksiyonun 0,215 GAE μ g/mg, n- butanol fraksiyonunda 0,73 GAE μ g/mg, sulu fraksiyonda 0,294 GAE μ g/mg toplam fenol ölçümü yapılmıştır. Böylece etil asetat fraksiyonu en yüksek ve etkili toplam fenolik bileşik saptanmıştır (Özdoğan 2013).

Ahlat bitkisinin yaprakları ile hazırlanan ekstraktların etanol konsantrasyonunun antioksidan aktivite üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Etanol içermeyen numunemizde %40 antioksidan aktivite gözlemlenirken %60 etanol konsantrasyonuna kadar antioksidan aktivite artmış olup en yüksek değere ulaşmıştır. Ancak konsantrasyon %60' ı geçtikten sonra gözlemlenen antioksidan aktivite değerinde düşüş olmuştur. Antioksidan aktivite için yaptığımız çalışmalarda yaklaşık olarak 75. dakika

ve ortalama 40 °C en yüksek değeri gösterirken %60 etanol konsantrasyonu en yüksek veya optimum değeri gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 6.7 Etanol konsantrasyonunun antioksidan aktivitesine içeriğine etkisi.

Rosa heckelina bitkisinin kök özütleri ile farklı çözücülerin etkilerinin incelendiği Özdoğan (2013)' ın yaptığı çalışmada bitki kökleri metanol ile özüt haline getirilerek etil asetat, kloroform, n-butanol, quersetin, petrol eteri ve sulu fraksiyonlar ile ham özüt antioksidan aktivitesi bakılmıştır. Etil asetat fraksiyonu en yüksek aktiviteyi gösterirken petrol eteri aktivitesi gözlemlenmemiştir. En düşük aktiviteyi ise kloroform fraksiyonunda olmakla birlikte etil asetat fraksiyonunun DPPH radikali için en fazla radikal temizleme aktivitesine sahip olduğunu tespit etmiştir.

Gülgiller familyasından olan üvezin *S.torminalis* türü ile yapılan bir çalışmada DPPH yöntemi ile radikal giderme aktivitesi değerlendirildi. Üvezin sulu, etil asetatlı, metanollü, asetonlu ekstraktları konsantrasyonları 20 - 10 - 5 olan çözeltiler hazırlanarak değerlendirildi. Hazırlanan 4 ekstraktta en yüksek antioksidan aktivite sulu ekstraktta (20 mg/mL de %95; 5mg/mL %55) gözlemlenirken konsantrasyon değeri düştükçe DPPH radikali giderme aktivitesi de düşmektedir. Ayrıca dört ekstreden tüm konsantrasyonlarda en düşük aktiviteyi metanollü ekstre (en yüksek %35) göstermiştir. Su > etil asetat > aseton > metanol olarak antioksidan aktiviteleri sıralanmış olup kendi içlerinde de konsantrasyon düştükçe aktivite de azalmaktadır (Hasbal 2013).

6.3 Optimum Ekstraksiyon Koşulları

Ekstraksiyon denemeleri sonucu üç parametrenin (çözücünün etkisi, ekstraksiyon sıcaklığının etkisi ve ekstraksiyon süresinin etkisi) incelenmiş ve en yüksek antioksidan aktivite ve fenolik içerik elde edilecek ekstraksiyon koşulları değerlendirilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki Çizelge 6.2’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar ile ahlat yaprağı ile ileride yapılacak farklı biyoaktivite çalışmalarında daha yüksek biyoaktivite elde edileceği ve ekonomik kayıpların en aza indirilebileceği düşünülmektedir.

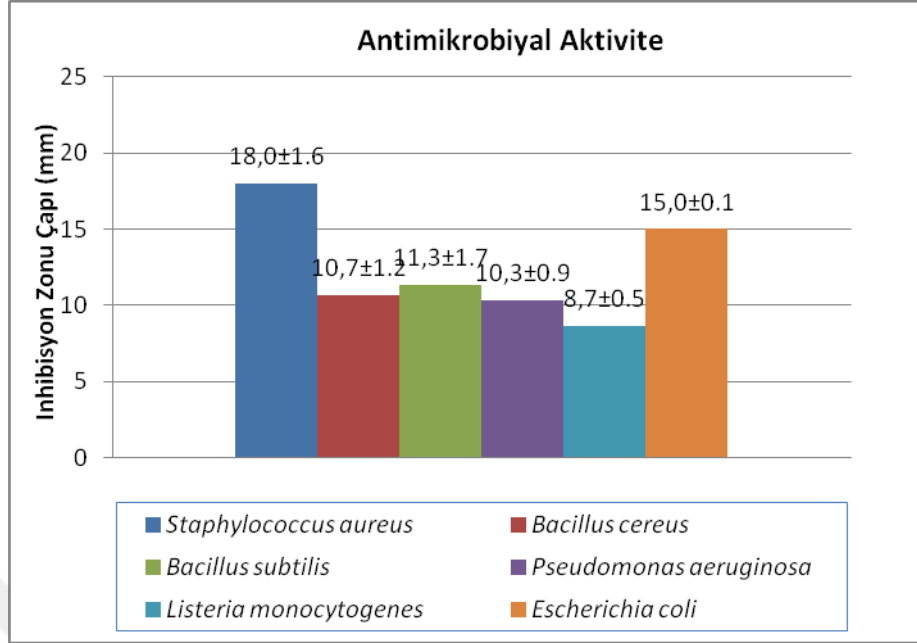
Çizelge 6.2 Optimum ekstraksiyon koşulları.

Analizler	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Çözücü Konsantrasyonu (%)
TF	40	45	60
AA	40	75	60

6.4 Ekstraktın Antimikrobiyal Aktivitesi

Optimum ekstraksiyon koşullarında gerçekleştirilmiş ekstraksiyon işlemi sonucunda ahlat yapraklarından elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin tayini disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş olup sonuçları Şekil 6.8’deki sunulmuştur. Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan test mikroorganizmaları *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* *Listeria monocytogenes* *Escherichia coli*’ dir.

Şekilde de görüldüğü üzere hazırlanan ekstraktlar 6 mikroorganizma üzerinde farklı oranlarda etki göstermiştir. *Staphylococcus aureus* ve *E.coli* ye karşı yüksek antimikrobiyal etki göstermiş ama en yüksek etkiyi *Staphylococcus aureus* üzerinde göstermiştir. Diğer 4 mikroorganizma (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* *Listeria monocytogenes*) üzerinde benzer değerlerde etki göstermiştir. *Listeria monocytogenes* üzerinde ahlat ekstraktları daha düşük değerde etkilidir.



Şekil 6.8 Ahlat bitkisinin test mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisi.

2012 de yapılan bir çalışmada ahlat meyvesinin 12 bakteri (*A.hydrophila*, *B.cereus*, *B. Subtilis*, *Ent. Cloacae*, *E. Coli*, *E. Coli O157:H7*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *P.vulgaris*, *Pseu. aeruginosa*, *Sal. typhimurium*, *S. Aureus*), 2 maya (*Sac. cerevisia*, *C. albicans*) üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite tayininde hazırlanan ekstraktın sadece *K. Pneumoniae* (%10 konsantrasyonda 10,06mm inhibisyon zonu) ve *A. Hydrophila* (%10 konsantrasyonda 9,56 mm inhibisyon zonu) üzerinde inhibe edici etki göstermiştir (Polat 2012).

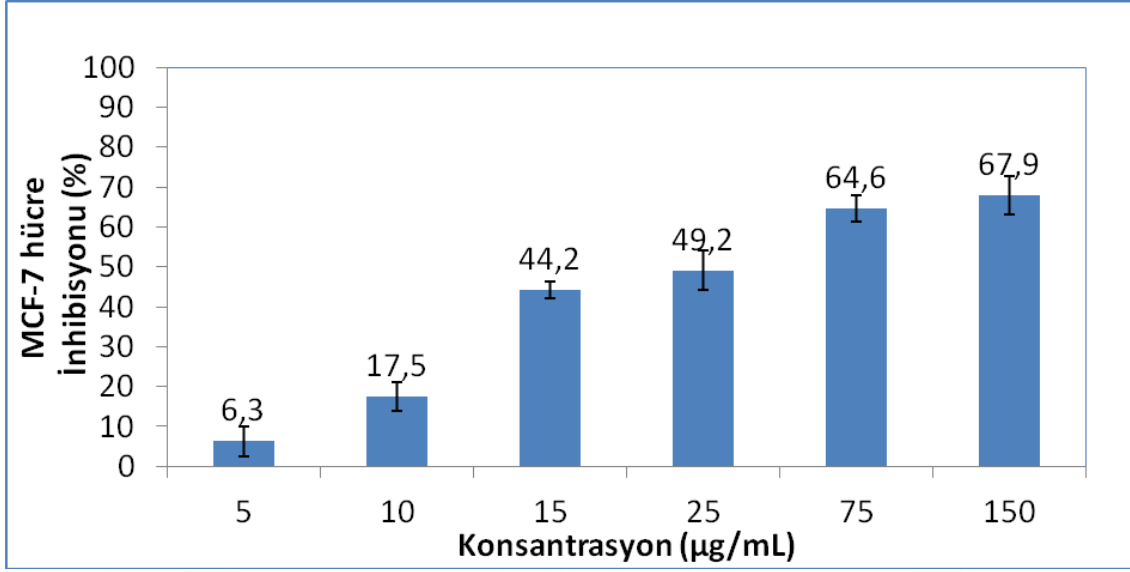
Farklı armut çeşitlerinin (*Pyrus spp.*) mikroorganizmalar üzerine etkisinin inceleyen Güven vd. (2006) Serik armudunun (*Pyrus serikensis*) belirledikleri 28 bakteri üzerinde antibakteriyel etkisi olduğunu ama maya ve küflerin hepsinde etkili olmadıklarını görmüşlerdir. Aynı çalışmada bir başka armut türü olan *Pyrus communis* ekstraktının *Salmonella typhimurium*, *Brucella spp.*, *Streptococcus faecalis*, *P. fluorescens*, *P. tobacco*, *P. lachrymans*, *P. syringae pv. phaseolicola*, *P. gingeri* ve *Rhodotorula rubra* hariç diğer bakteri ve mayaların gelişimini engellemiş olduğunu küfler üzerinde de inhibitif etki göstermediğini belirtmişlerdir.

2006 yılında Güven ve arkadaşlarının yine ahlat gibi gülgiller (Rosaceae) familyasından olan sarı alıç (*Crataegus tanacetifolia*) ve Türk alıcı/ kırmızı alıcın 28 bakteri, 3 maya, 9 küf türü kullanarak antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Sarı alıç ekstraktlarının, bakteri ve mayaların çoğunda etki gösterdiğini ancak *Salmonella Typhimurium*, *Pseudomonas fluorescens* ve *P. Gingeri* isolatları üzerinde etkisi olmadığını gözlemlemişlerdir. Sarı alıcın *Penicillium notatum* küfünde antifungal etki gösterdiğini Kırmızı alıç ekstraktının ise antifungal etki göstermediğini belirtmişlerdir. Kırmızı alıç ekstraktlarının ayrıca bazı bakteri ve mayalarda antimikrobiyal etkisinin olduğunu ve Sarı alıcın aksine *P. Fluorescens* ve *Yersinia enterocolitica* üzerinde etki yapmadığı ifade etmişlerdir (Güven vd. 2006).

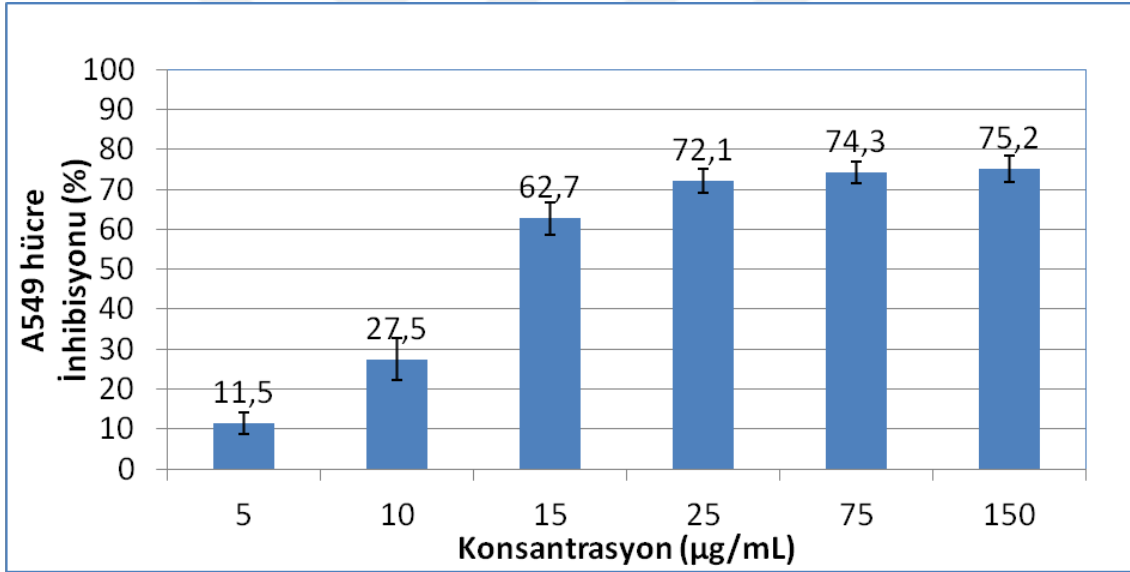
Başka bir çalışmada ülkemiz doğal habitatında tek türü bulunan, ve yine ahlat gibi Rosaceae ailesinden olan *Sarcopoterium spinosum* (L.) Spach çok yıllık bitkinin kalite kontrol ve bazı biyolojik etkileri araştırılmıştır. Çalışmada bitkinin toprak üstü kısımlarının n-hegzan, etanol, metanol, kloroform, etil asetat ile ekstraktları hazırlanmış ve antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon ve MİK yöntemi ile araştırılmıştır. Etil asetatlı ekstraktların *Salmonella choleresuis arizonae* ve *Morganella morganii* üzerinde antimikrobiyal etkisi gözlemlenmiştir (Bozkurt 2005).

6.5. Ekstraktların Sitotoksikite Testleri

Optimum koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonucunda ahlat yaprağından hazırlanan ekstraktların MCF-7 (meme kanseri) ve A549 (akciğer kanseri) hücreleri üzerindeki etkilerini incelemek için sitotoksikite testleri gerçekleştirilmiştir. İşleme maruz kalmamış kontrol hücreleri %100 canlı olarak kabul edilmiştir. Hücreler Ahlat önce plakalara inkübe edilmiştir. Daha sonra ise farklı konsantrasyonlarda ekstraktlar kuyucuklara eklenerek inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda plakaların absorbans değerleri spektrofotometrede 570 nm dalga boyunda okunmuş olup okunan değer bağlı hücre inhibisyonu (%) olarak belirtilmiştir. Sonuçlar şekil 6.9 ve şekil 6.10 da gösterilmiştir.



Şekil 6.9 Farklı Pyrus ekstraktı konsantrasyonlarının (5-150 µg/mL) MCF-7 hücre hattı üzerine etkisi.



Şekil 6.10 Farklı Pyrus ekstraktı konsantrasyonlarının (5-150 µg/mL) A549 hücre hattı üzerine etkisi.

Yapılan çalışmada 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 25µg/mL, 75µg/mL, 150µg/mL *Pyrus* ekstresi konsantrasyonlarında çalışılmıştır. Şekilden 5.9 ve 5.10 da görüldüğü üzere konsantrasyonlar arttıkça MCF-7 ve A549 hücre inhibisyon oranları da artmaktadır. MCF-7 hücresi için 5 µg/mL konsantrasyonda iken inhibisyon oranı % 6,3 iken, A549 da bu oran % 11,5' tir. Çalışılan en yüksek konsantrasyon 150 µg/mL ye ulaştığında ise inhibisyon oranı da artmış olup MCF-7 için % 67.9, A549 için ise % 72,2

olarak tespit edilmiştir. Meme kanseri hücre inhibisyon oranı 75 - 150 µg/mL arasında fazla bir değişim göstermemiştir. A549 için hücre 15 µg/mL gibi düşük konsantrasyonlarda %62 oranında hücre ölümü gözlenmiş konsantrasyon arttıkça fazla bir artış oranı görülmemiştir.

Literatürde ahlat gibi gülgiller ailesinden olan *Alcehemilla* veya bilinen adıyla aslanpençesinin türlerinin MCF-7 ve L929 fibroplast hücrelerine etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada WST-1 metodu kullanılarak MCF-7 kanser hücresinde *A. barbatiflora*, *A. tiryalensis*, *A.orduensis* ve *A.speciosa* türlerinin belirlenen kanser hücrelerindeki toksisitesi araştırılmıştır. En yüksek toksit etkinin yüksek konsantrasyonda *A.tiryalensis* olduğu belirlenmiştir. En düşük doz olarak belirlenen 6,25 µg/ml’de MCF-7 hücrelerinin canlılık oranı *A.tiryalensis* %96.5 olarak belirlenirken *A.barbatiflora* da % 92,5 µg/ml görülmüştür (Arat 2012).

Klorojenik asit gibi doğal bileşenleri içeren erik ve şeftali gibi gıdalar meme kanseri hücrelerinin artmasını engellediği belirtilmiştir. Ayrıca mevsiminde tercih edilmesi, şekersiz reçel yapılması, erik gibi meyvelerin kurutularak diğer mevsimlerde de şekersiz komposto olarak tüketilmesi bu kanser riskinin önlenmesi için yararlı olacaktır. Çilek, yaban mersini ve ahududu gibi meyvelerde içerdikleri C vitamini sebebiyle küçük hücreli dışı akciğer kanseri, mesane, deri ve meme kanserinde ki riski azaltmakta önemli gıdalardır

Literatürde klorojenik asit gibi bileşenlerce zengin *Rosaceae* familyasından olan şeftali zengin antioksidanlar içermesinden dolayı kanserli hücre büyümesini önlemeye yardımcı olduğu belirtilmektedir (Sezgin 2016). Bu tür bitkisel kökenli gıdaların içeriğindeki fenoliklerden klorojenik asit ve neoklorojenik asitinde normal hücrelere zarar vermeden meme kanseri hücre hatları büyümesini durdurduğu tespit edilmiştir (İnt. Kyn 10).

Ahlat ile aynı aileden olan elmadaki kateşin, phloridzin ve klorojenik asitin başka bir çalışmada kadınlarda akciğer kanseri riskini %21 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca elmanın yüksek besin lifi içeriğiyle kolon kanserine, C vitamini içeriğiyle gırtlak

kanserine ve içerdği antioksidanlar sebebiyle mide ve akciğer kanserine karşı koruduğu Amerikan Kanser Araştırmaları Enstitüsü tarafından belirtilmiştir (İnt. Kyn 11).

Yine fenolik bileşenlerle kanser ilişkisinin incelendiği başka bir araştırmada diyet kateşinleri ile pitelyum kanser arasındaki ilişki gözlemlenmiştir. Toplam kateşin alımının % 87 sini çayın içeriğinde bulunan kateşinler denkleştirirken *Rosaceae* familyasından olan elma içeriğindeki kateşinler % 8 oranında katkıda bulunurlar. Fakat total kateşin ve çay tüketiminin akciğer kanserine etkisi bulunmazken elma tüketiminin akciğer kanserini azalttığı saptanmıştır (İnt. Kyn 12).

Başka bir çalışmada karadut ve kırmızı dut ile gülgillerden Kuşburnunun akciğer ve prostat kanseri üzerine etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak kuşburnunun da bulunduğu numune bitkilerin akciğer ve prostat kanseri üzerinde antikanser özellik gösterdiği ayrıca karadutun yara iyileştirici özelliği gözlemlenmiştir (İnt. Kyn 13).

Pyrus türlerinden *P. spinosa* ve *P. pyraeaster*'dan elde edilen ekstraktların insan melanon hücre hattına (Fem-x) ve insan embriyonik akciğer fibroblastına (MRC-5) ve seçilen bakteri ve mantarlara üzerine etkisi araştırılmıştır. Bunun için iki türün yaprağıyla kabuklarının diklorometan ve metanol ekstraktları hazırlanmıştır. Yapılan analizler sonucu *P. pyraeaster* in yaprak ve kabuk metanol ekstraktlarının Fem-x hücrelerine karşı yüksek sitotoksik değer gösterdiği bulunmuştur. İçerdikleri arbutin ise gerek Fem-x gerek MRC-5 hücrelerinde herhangi bir etkinlik göstermezken tüm ekstraktların ve arbutinin antibakteriyel ve antifungal etkileri gözlemlenmiştir (Kundakovic *et al.* 2014).

7. SONUÇLAR

Doğa ortamında kendiliğinden yetişen ahlat yaban armudu olarak da bilinmektedir. Son zamanlarda eskilerde kalmış sağlık üzerine etkileri gün ışığına çıkmasıyla son derece merak uyandıran bir bitki olmuştur. Sert iklim koşullarından etkilenmeyen hemen hemen her yerde bulunması sebebiyle de bitki daha da cazip olmaktadır. Bu araştırmada da, Afyonkarahisar’ da bulunan Büyükkalecik florasından temin edilen Latince adı *Pyrus elaeagnifolia* bildiğimiz adı ile ahlat ya da yaban armudu yapraklarının bazı kimyasal özellikleri araştırılmıştır. Ahlatın yaprakları dağlardan toplanıp direkt güneş ışığına maruz kalmadan yaklaşık 2 hafta kadar kurutulmuş ve öğütülerek ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ahlat yapraklarının fenolik bileşenlerinin analizi HPLC ile, toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodu ile, antioksidan aktivite tayini DPPH yöntemi ile, antibakteriyel aktivite tayini Disk Difüzyon yöntemi ile, MCF-7 ile A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi MTT sitotoksikite testi ile tayin edilmiştir.

Ahlat bitkisinde en yüksek fenolik bileşik olarak %2,2 ile klorojenik asit sonrasında ise %1,1 ile kateşin hidrat ölçülmüştür. Ekstraksiyon koşullarının toplam fenolik içerik ve antioksidan aktiviteye etkileri incelendiğinde en yüksek toplam fenolik madde miktarı yaklaşık 40°C’ de, 45. dakikada ve %55-60 etanol konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. Yüksek antioksidan aktiviteye ise 75 dakika, 40°C ve % 60 etanol konsantrasyonunda ulaşılmıştır. Bu değerlerin yüksek antioksidan ve fenolik içerik elde etmek için ileriki çalışmalarda da kullanılacak optimum ekstraksiyon koşulları olacağı düşünülmektedir. Optimum ekstraksiyon koşullarında ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiş ve elde edilen ekstraktlar, bazı biyoaktivite testlerine tabi tutulmuşlardır. Yapılan çalışmalarda Ahlat yaprağı ekstraktları en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi $18 \pm 1,6$ mm inhibisyon çapı ile *S. aureus* sonrasında ise *E. coli* üzerinde göstermiştir. Kanser hücre hatları üzerine inhibe edici etkileri incelendiğinde ise MCF-7 ve A549 hücrelerinin her ikisine de sitotoksik etki tespit edilmiştir. Her iki kanser hücresinde de konsantrasyon arttıkça hücre inhibisyonu artmıştır. Ancak A549 kanser hücrelerinde düşük konsantrasyonlarda da önemli etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Gerçekleştirilen çalışmada sonucunda optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi ile zaman ve ekonomik anlamda kaybı en aza indirerek yüksek antioksidan ve fenolik madde içeren ahlat ekstraktları elde edilebilmektedir. Ayrıca ahlatın içerdiği kimyasal bileşikler ve bu bileşiklerin sahip oldukları biyokativite neticesinde elde edilen ekstraktlardan, tıp ve sağlık, fonksiyonel gıda/katkı maddesi üretiminde de yararlanılabilir.



8. KAYNAKÇA

- Ağgöl A.G., (2012). Diyabetli Ratlarda Zeytin Yaprığı Ekstresinin Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniv. Sağlık Bilimleri Ens. Eczacılık-Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum.
- Ahmad I., Mahmood Z., Mohammad F., (1998). Screening of some indian medicinal plants for their antimicrobial properties, *Journal of Ethnopharmacology*, **62**: 1823-193.
- Akalın A.C., (2011). Nar Şaraplarında Antioksidan Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Akgöl A., (1993). Baharat Bilimi ve Teknolojisi, *Gıda Teknolojisi Derneği*, Ankara, s: 451.
- Akgöl A., Kıvanç M., (1989). Baharatlar, Sorbik Asit ve Sodyum Klorürün Antibakteriyal Etkileri, *Doğa Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi*, **13**:1-9.
- Akı-Yalçın E., (2015). Oral Antidiyabetik İlaçlar, Ankara Üniversitesi Farmasötik Kimya Anabilimdalı, Ankara.
- Akyüz E., (2010). Bazı Anthemis Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Akyüz E., (2011). *Digitalis ferruginea ssp. schischkinii* ve Bazı Endemik Digitalis Türlerinin Ekstraktlarında Mevcut Kardiyak Glikozitleri ve Fenolik Bileşiklerin Kromatografik Yöntemlerle Belirlenmesi, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Trabzon.
- Altan A. (1989). Yemeklik Yağ Teknolojisi Ders Notları. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana.
- Amiot, M. J., Tacchini, M., Aubert, S. Y., Oleszek, W., (1995). Influence of cultivar, maturity stage, and storage conditions on phenolic composition and enzymatic browning of pear fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**: 1132-1137.

- Anşin, R., Özkan, Z. C., (1993). Tohumlu Bitkiler (SPERMATOPHYTA) Odunsu Taksonlar. KTÜ Orman Fakültesi, Trabzon.
- Arat, E., (2012). *Alchemilla L.* Cinsine Ait Bazı Türlerden Elde Edilen Ekstrelerin MCF-7 Kanseri ve L929 Fibroblast Hücrelerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale.
- Arslan M., (2015). Diyetimizde Yer Alan Bazı Sebzelerin Fenolik Bileşiklerin in vitro Sindirim Uygulaması İle Biyoyararlılıkların Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Manisa.
- Arya A, Al-Obaidi MMJ, Shahid N, Noordin MIB, Looi CY, Wong WF, Khaing SL, Mustafa MR., (2014). Synergistic Effect of Quercetin and Quinic Acid by Alleviating Structural Degeneration in the Liver, Kidney and Pancreas Tissues of STZ-Induced Diabetic Rats: A Mechanistic Study, *Food Chemistry Toxicology*, **71 (1)**: 183-196.
- Atoui AK, Mansouri A, Boskou G, Kefalas P, (2005). Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry* **89**: 27-36.
- Ayaz E ve Alpsoy HC. (2007). Sarımsak(*Allium sativum*) ve Geleneksel Tedavide Kullanımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **31**: (2): 145-149
- Azadbakht M, Marston A, Hostettmann K, Ramezani M, Jahromi Moghaddam M. (2004). Biological activity of leaf extract and phenolglycoside arbutin of *Pyrus boissieriana* Buhse. *Journal of Medicinal Plants*, **3(10)**:9-14.
- Aziz, N.H., S.F. Farag, L.A. Mousa and M.A. Abo-Zaid. (1998). Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios*, **93**:43-54.
- Bailey A.E. (1951). Industrial oil and fat products. Second Completely Revised and Augmented Edition, New York.
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, **45(4)**:493-6.

- Benzie I, Szeto Y, Strain J, Tomlinson B. (1999). Consumption of Green Tea Causes Rapid Increase in Plasma Antioxidant Power in Humans. *Nutrition and Cancer*, **34 (1)**: 83-87.
- Benzie, İ.F.F, Strain, J.J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, **239 (1)**: 70-76.
- Bermúdez-Soto MJ, Larrosa M, García-Cantalejo J, Espín JC, Tomás-Barberan FA, García-Conesa MT, (2007). Transcriptional changes in human caco-2 colon cancer cells following exposure to a recurrent non-toxic dose of polyphenol-rich chokeberry juice, *Genes & Nutrition*, **2**: 111–113.
- Birari, R.B., Bhutani, K.K. (2007). Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discovery Today*, **12(19-20)**: 879-889.
- Bozkurt, B. (2005). *Sarcopoterium Spinosum* L. (Rosaceae) türünden hazırlanan drogların kalite kontrolü ve E vitamini açısından değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Brownmiller C., Howard, L.R., Prior, R.L. (2008). Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processes blueberry products. *Journal of food science*, **73**: H72-H79.
- Büyükbacı A, El SN. (2008). Determination of *In Vitro* Antidiabetic Effects, Antioxidant Activities and Phenol Contents of Some Herbal Teas. *Plant Foods for Human Nutrition*, **63**: (1): 27-33.
- Caponio F, Alloggio V & Gomes T (1999). Phenolic compounds of virgin olive oil: Influence of paste preparation techniques. *Food Chemistry*, **64**: 203-209.
- Cemeroğlu B. (2004). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, Ankara.
- Cemeroğlu B. (2004b). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Kurutma Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Başkent Klişe Matbaacılık, Ankara.

- Chambers BK., Camire ME. (2003). Can Cranberry supplementation Benefit Adults with Type 2 Diabetes, American Diabetes Association, *Diabetes Care*, **26(9)**:2695-6.
- Chen AY, Chen YC. (2013). A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food Chemistry*, **138 (4)**: 2099-2107
- Chen, J. L., Wang, Z. F., Wu, J. H., Wang, Q., & Hu, X. S. (2007). Chemical compositional characterization of eight pear cultivars grown in China. *Food Chemistry*, **104**: 268–275.
- Cımbız A., Özyurt M.S. (2005). Bitki özütlerinin stres, hiperglisemi, hiperlipidemi ve hiperkolesterolemi seviyeleri üzerine olan etkisi, *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **9**.
- Clarke C.H., Shankel D.M. (1975). Antimutagenesis in Microbial Systems. *Bacteriology Reviews*, **39**: 33-56.
- Dalouh A, Amkiss S., Skali S.N., Abrini J., Idaomar M. (2010). Genotoxicity and antigenotoxicity studies of commercial *Argania spinosa* seed oil (argan oil) using the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *African Journal of Food Science*, **4(7)**: 434-439. 6
- Davalli P, Rizzi F, Caporali A, Pellacani D, Davoli S, Bettuzzi S, Brausi M, D'Arca D. (2012). Anticancer Activity of Green Tea Polyphenols in Prostate Gland. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* , **1 (1)**: 1-18.
- Davis, P.H. (1972). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburg at the Universty Press, Vol.4
- Demirezer Ö.L., Ersöz T, Saraçoğlu İ., Şener B, Köroğlu A., Yalçın F. (2011). FFD Monografları Tedavide Kullanılan Bitkiler (2. baskı), MN Medikal & Nobel Tıp Kitabevi, 21- 705.
- Dorai T., Aggarwal B.B. (2004). Role of chemopreventive agents in cancer therapy, *Cancer Letters*, **215**: 129-140.
- Dorman H.J.D., Deans S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, **88**: 308-316.

- Duman T. (2014). Kuşburnu (*Rosa Canina*) Nektarında Toplam Fenolik Madde Ve Suda Çözünen Vitaminlerin Isıl Parçalanma Kinetiği, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Dumanoğlu, H., Aygün A., Alay A., Güneş N.T. ve Özkaya M.T. (1999). Ahlatın (*Pyrus elaeagnifolia* Pall.) Yeşil Çeliklerinde Köklenme ve Sürme Üzerine Çelik Alma Zamanı, IBA ve Putrescine'in Etkileri. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **23**, 559-565.
- Eidi A, Eidi M, Darzi R. (2009). Anti-diabetic effect of *Olea europaea* L. in normal and diabetic rats. *Phytotherapy Research*, **23(3)**: 347-350.
- Erkücü A. (2009). Glikozitlerin süperkritik CO₂ ekstraksiyonu ile *S. rebaudiana* yapraklarından eldesi ve optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Eskilsson, C.S., Bjorklund, E. (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, **902(1)**, 227.
- Evandri M.G., Battinelli L., Daniele C., Mastrangelo S., Bolle P., Mazzanti G. (2005). The antimutagenic activity of *Lavandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. *Food and Chemical Toxicology*, **43(9)**: 1381-1387.
- Fennema, O.R. (1985). Pigment and Other Colorants. *Food Chemistry*, s:545-584.
- Fraga, C.G. (2010). Plant Phenolics and Human Health. Wiley, New Jersey, 593s.
- Furneri, P.M., A. Marino, A. Saija, N. Uccella and G. Bisignano. (2002). In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **20**: 293-296.
- Galı-Muhtasib H, Diab-Assaf M, Boltze C, AlHmaira J, Hartig R, Roessner A, Schneider-Stock R. (2004a). Thymoquinone extracted from black seed triggers apoptotic cell death in human colorectal cancer cells via a p53- dependent mechanism. *International Journal of Oncology*, **25 (4)**: 857-66

- Galı-Muhtasib HU, Abou Kheir WG, Kheir LA, Darwiche N, Crooks PA. (2004b). Molecular pathway for thymoquinone-induced cell-cycle arrest and apoptosis in neoplastic keratinocytes. *Anticancer Drugs*, **15**: 389-99.
- Gharbo S.A., Beal J.L., Doskotch R.W., Mitscher L.A. (1973). Alkaloids of *Thalictrum*. XIV. Isolation of alkaloids having antimicrobial activity from *Thalictrum polygamum*. *Lloydia*, **36** (3): 349
- Gizir A.M. (1998). PhD Thesis Submitted to the School of Chemistry, Leeds University, Leeds, s:139.
- Göğüş, F., Fadiloğlu, S. (2006). Food Chemistry. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, s:319-339.
- Gudej Jan, Rychlinska Izabela, (1999). Chemical Compounds in *Pyrus Communis* L. Flowers. Department of Pharmacognosy, Institute of Technology and Chemistry of Drugs Medical University of Łódź, 1 Muszyńskiego, Łódź, s: 90-151
- Gügücü F. (2014). *Pyrus elaeagnifolia* Bitkisi Ekstrelerinin Fenolik Madde İçerikleri, DPHH Radikali Giderme Aktiviteleri ve İn Vitro Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Güven, K., Yücel, E., Cetintaş, F. (2006). Antimicrobial activities of *cretaegus* and *pyrus* species, *Pharmaceutical Biology*, **44**: 79-83.
- Hager, T.J., Howard, L.R., Liyanage, R., Lay, J.O., Prior, R.L. (2008) Ellagitannin composition of blackberry as determined by HPLC-ESI-MS and MALDI-TOF-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**: 661-669.
- Hartmann, H.D., Kester, E. (1983). Plant Propagation, Principles and Practices, Printice-Hall, Inc, New Jersey.
- Hasbal, G. (2013). *Sorbus torminalis* (L.) crantz. (akçaağaç yapraklı üvez)'in antioksidan aktivitesinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Hellström JK, Shikov AN, Makarova MN, Pihlanto AM, Pozharitskaya ON, Ryhänen EL, Kivijärvi P, Makarov VG, Mattila PH. (2010). Blood pressure-lowering pro-

- perties of chokeberry (*Aronia mitchurinii*, var. Viking). *Journal of Functional Foods*, **2**: 163–169.
- Hosseinzadeh H, Sadeghi A. (1991). Antihyperglycemic effects of *Morus nigra* and *Morus alba* in mice. *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, **9**: 63-65
- Hummer, K., Postman, J. (2003). *Pyrus L. Pear*. USDA Forest Service Research Notes
- Ishiguro K., Yamaki M., Takagi S. (1983). Studies in iridoid-related compounds, II. The structure and antimicrobial activity of aglucones of galioside and gardenoside. *Journal of Natural Product*, **46 (4)**: 532.
- İçyer N. C. (2012). Nar Kabuğu Fenolik Bileşiklerinin Su İle Ekstraksiyonu Ve Ekst-raktların Mikroenkapsülasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bi-limleri Enstitüsü, Kayseri.
- İpek, F. M., Gülle, B. (2004), Tekstil endüstrisinde kullanılan boya maddelerinin Ames test sistemi ile mutajenik etkilerinin araştırılması. www.biyoturk.com
- Jackson, R. S. (2000). *Wine Science*, Second Edition, Elsevier, 633s.
- Janmejai K. Srivastava† And Sanjay Gupta (2007). Antiproliferative and Apoptotic Ef-fects of Chamomile Extract in Various Human Cancer Cells. *Journal of Agricultu-ral and Food Chemistry*, **55**: 9470–9478.
- Jayaprakasha, G.K., Jena, B.S., Negi, P.S., Sakariah, K.K. (2002). Evaluation of anti-oxidant activities and antimutagenicity of Turmeric oil: A byproduct from Cur-cumin production. *Zeitschrift fur Naturforschung* , **57**: 828-835.
- Jia N., Xiong YL, Kong B, Liu Q, Xia X, (2012). Radical scavenging activity of black currant (*Ribes nigrum L.*) extract and its inhibitory effect on gastric cancer cell proliferation via induction of apoptosis. *Journal of Functional Foods*, **4**: 382-390.
- Ju HY, Chen SC, Wu KJ, Kuo HC, Hseu YC, Ching H, Wu CR, (2012). Antioxidant phenolic profile from ethyl acetate fraction of *Fructus Ligustri Lucidi* with protec-tion against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in SH-SY5Y cells. *Food and Chemical Toxicology*, **50(3)**: 492-502.
- Juven, B. and Henis Y. (1970). Studies on antimicrobial activity of olive phenolic com-pounds. *Journal of Applied Bacteriology*, **33**:721-32.

- Kartal E. (2013). Ahlat ve Kozalak Meyvelerinin Yüksek Lifli Tahıl Ürünlerinde Kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.
- Kaseb AO, Chinnakannu K, Chen D, Sivanandam A, Tejwani S, Menon M, Dou QP, Reddy GP. (2007). Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Research*, **67**: 7782-8.
- Katalinic V., Milos M., Modun D., Music I., Boban M. (2004). Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chemistry*, **86**: 593–600.
- Kaufmann B., Christen P. (2002). Recent Extraction Techniques For natural Products: Microwave-Assisted Extraction and Pressurized Solvent Extraction. *Phytochemical Analysis*, **13**: 105-113.
- Kavak, D., Akdeniz, B. (2016). Investigation of the Effect of Different Extraction Parameters on the Antioxidant and Total Phenolic Content of the *Sorbus umbellata* (Desf.) Fritsch var. *umbellata*. Afyon Kocatepe Üniversitesi, 1. Uluslararası Mühendislik Teknolojisi ve Uygulamalı Bilimler Konferansı, Afyonkarahisar.
- Kayahan M. (2003). Yağ Kimyası, ODTÜ Yayıncılık, Ankara, s: 220.
- Kazemipoor M., Radzi C.W.J.W.M., Cordell G.A., Yaze I. (2012). Potential of traditional medicinal plants for treating obesity: a review, 2012 *International Conference on Nutrition and Food Sciences*, vol. 39, Singapore.
- Kellner R., M.M., Otto M., Valcarcel M., Widmer H.M, (2001). Sample Preparation, in *Analytical Chemistry: Modern Approach to Analytical Science*, Wiley: Weinheim. P: 506-508.
- Khalilpour A., Pouramir M., Asgharpour F. (2013). Evaluation of Antioxidant Stability of Arbutin and *Pyrus boissieriana* Buhse Leaf Extract. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, **2(2)**: 86-92.
- Khandelwal, R., Paliwal, S., Chauhan, R., & Siddiqui, A. A. (2008). Phytochemical screening of hexane soluble fraction of *Pyrus pashia* fruits. *Oriental Journal of Chemistry*, **24(2)**, 773–774.

- Khurana S, Venkataraman K, Hollingsworth A, Piche M, Tai T. (2013). Polyphenols: Benefits to The Cardiovascular System in Health and in Aging. *Nutrients*, **5** (10): 3779-3827.
- Kılıç A. (2005). Bitkisel kaynaklı bazı uçucu yağ ve monoterpenlerin olası genotoksik etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Kitdamrongtham W, Manosroi A, Akazawa H, Gidado A, Stienrut P, Manosroi W., Lohcharoenkal W., Akihisa T., Manosroi J. (2013). Potent anti-cervical cancer activity: Synergistic effects of Thai medicinal plant in recipe N040 selected from the MANOSROI III database. *Journal of Ethnopharmacology*, **149**(1): 288-96.
- Koca, N., Karadeniz, F. (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, **16**: 32-37.
- Kotzekidou P., Giannakidis P. (2007). Antimicrobial activity of some plant extracts and essential oils against foodborne pathogens in vitro and on the fate of inoculated pathogens chocolate. *LWT – Food Science and Technology*, **41**(1): 119-127.
- Köksal, G. (2008). Şeftali Meyvesinde Fenolik Madde Dağılımı Ve Pulpa İşleme Sırasında Değişimi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Kris-Etherton, P.M., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E., Hilpert, K.F., Griel, A.E., Etherton, T.D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American of Journal Medicine*, **113** (9): 71–88.
- Kundaković, T., Ćirić, A., Stanojković, T., Soković, M., Kovačević, N. (2014). Cytotoxicity and antimicrobial activity of *Pyrus pyrastrer* Burgsd. and *Pyrus spinosa* Forssk. (Rosaceae). *African Journal of Food Science*, **8**(6): 511-518.
- Kurt, Ö., El, N.S. (2011). Biyoaktif bir gıda bileşeni L-karnitin : Beslenme ve sağlık açısından önemi ve biyoyararlılığı. *TUBAV Bilim Dergisi*, **2**: 97-102.
- Leavens, J.B. (2006). Effects Of High Hydrostatic Pressure And Thermal Processing On The Antioxidant And Sensory Characteristics Of Blueberry Juice. The Graduate Faculty Of North Carolina State University.

- Lee, O.H., B.Y. Lee. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, **101(10)**:3751- 3754.
- Li A-N, Li S, Zhang Y-J, Xu X-R, Chen Y-M, Li H-B., 2014. Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. *Nutrients* **6(12)**: 6020-6047.
- Likens S.T, Nickerson G.B. (1964). Detection of certain hop oil constituents in brewing products. *Proceeding American Society of Brewing Chemists*, **5**: 13.
- Liu, R.H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, **134**: 3479-3485.
- Lombard, P.B., Westwood, M.N. (1987). Pear Rootstocks, In: Rootstocks for Fruit Crops, Ed: Rom, R.C. and Carlson, R.F., New York, John Wiley and Sons, 145-183.
- Lopez-Avila, V. (1999). Sample preparation for environmental analysis. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **29(3)**, 195
- Mahmoud AM, Ashour MB, Abdel-Moneim A, Ahmed OM. (2012). Hesperidin And Naringin Attenuate Hyperglycemia-Mediated Oxidative Stress and Proinflammatory Cytokine Production in High Fat Fed/Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetic Rats. *Journal of Diabetes and it is Complications*, **26 (6)**: 483-490.
- Martino LD, Feo VD, Nazzaro F. (2009). Chemical composition and *in Vitro* antimicrobial mutagenic activities of seven Lamiaceae essential oils. *Molecules*, **14**: 4213-4230.
- Merlo L.M.F., Pepper J. W., Reid B. J., Carlo C. M. (2006). Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nature Reviews Cancer*, **6**: 924-35.
- Mira B., Blasco M., Berna A., Subirats S. (1999). Supercritical CO₂ extraction of essential oil from orange peel. Effect of operation conditions on the extract composition. *Journal of Supercritical Fluids*, **14(2)**: 95.
- Mitscher L.A, Wu W.N., Doskotch R.W., Beal J.L. (1972b). Antimicrobial agents from higher plants. II. Alkaloids from *Thalictrum rugosum*. *Lloydia*, **35 (2)**, 167.

- Mitscher L.A. (1975). Antimicrobial agents from higher plants. Runeckless, V.C. (ed) Recent Advances in Phytochemistry, New-York, **9**: 243-282.
- Mitscher L.A., Park Y.H., Clark D., Clark G.W. (1978). Antimicrobial agents from higher plants. An investigation of *Hunnemannia fumariaefolia* pseudoalcoholates of sanguinarine and chelerythrine. *Lloydia*, **41 (2)**: 145.
- Mitscher L.A., Showalter H.D.H., Shipchandler M.T., Leu R.P., Beal J.L. (1972a). Antimicrobial agent from higher plants. IV. *Zanthoxylum elephantiasis*. Isolation, and identification on canthin-6-one. *Lloydia*, **35 (2)**, 177.
- Mollov P., Mihalev K., Shikov V., Yoncheva N., Karagyozev V. (2007). Colour stability improvement of strawberry beverage by fortification with polyphenolic copigments naturally occurring in rose petals. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **8**: 318–321.
- Nadtochiy SM, Redman EK. (2011). Mediterranean Diet and Cardioprotection: The Role of Nitrite, Polyunsaturated Fatty Acids, and Polyphenols. *Nutrition*, **27 (7-8)**: 733-744.
- Naruszewicz M, Łaniewska I, Millo B, Dłużniewski M. (2007). Combination therapy of statin with flavonoids rich extract from chokeberry fruits enhanced reduction in cardiovascular risk markers in patients after myocardial infarction (MI). *Atherosclerosis*, **194(2)**: 179-184.
- Nowell PC. (1976). The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*; **194**: 23-8.
- Oleszek, W., Amiot, M. J. and Aubert, S. Y. (1994). Identification of some phenolics in pear fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **42**: 1261–1265.
- Orhan, N., Aslan M., (2010). Diyabet tedavisinde kullanılan bitkisel ürünler ve gıda destekleri. *MİSED*, **23-24**: 27-38.
- Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R., Würtele G., Spiegelhalder B, Bartsch H. (2000). Olive oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *The Lancet Oncology*, **1(1)**: 107-12.

- Özdoğan, N. (2013). *Rosa Heckeliana* (Rosacea) Roots Extract: Bioactivity Guided Fractionation and Cytotoxicity Against Breast Cancer Cell Lines. Doktora Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Özkal N. (1988). Yüksek bitkilerde bulunan antimikrobiyal etkili bileşikler, *Pharmacia - JTPA*, **28:61(2)**: 59-65
- Özlük A. (2015). Merzifon Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Ahlat' Ların (*Pyrus elaeagnifolia* L.) Seleksiyonu. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.
- Özşen, D. (2011). Dağ Çileği (*Fragaria Vesca*) Pulpunun Farklı Sıcaklıklarda Isıtılması Sırasında Biyoaktif Bileşikler, Antioksidan ve Antimikrobiyel Aktivitelerdeki Değişimler. Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu.
- Pırıldar S. (2001). Aktarlarda Satılan Antidiyabetik Etkili Droglar Üzerinde Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Polat, B. (2012). Kayseri ve Çevresinde Yetişen Bazı Yabani Meyvelerin Biyoaktif Özelliklerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Rao YK, Geethangili M, Fang SH, Tzeng YM. (2007). Antioxidant and Cytotoxic Activities of Naturally Occurring Phenolic And Related Compounds: A Comparative Study. *Food Chemistry Toxicology*, **45 (9)**: 1770-1776
- Rauter AP, Martins A, Borges C, Mota-Filipe P, Pinto R, Sepodes B, Justino J., 2010. Antihyperglycaemic and Protective Effects of Flavonoids on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Phytother Res* 2010, **24 (S2)**: S133-S138.
- Roche M, Dufour C, Loonis M, Reist M., Carrupt PA., Dangles O. (2009). Olive phenols efficiently inhibit the oxidation of serum albumin-bound linoleic acid and butyrylcholine esterase. *Biochim Biophys Acta*, **1790(4)**:240-8.
- Rodojkovic, M., Zekovic, Z., Jokic, S. And Vidovic, S. (2012). Determination of optimal extraction parameters of mulberry leaves using response surface methodology (RSM). *Romanian Biotechnological Letters*, **17**: 7295-7308.

- Rodríguez, K., Ah-Hen, K., Vega-Gálvez, A., López, J., Quispe-Fuentes, I., Lemus-Mondaca, R., Gálvez-Ranilla, L. (2014). Changes in bioactive compounds and antioxidant activity during convective drying of murta (*Ugni molinae* T.) berries. *International Journal of Food Science and Technology*, **49**(4): 990-1000.
- Roepke M, Diestel A, Bajbouj K, Walluscheck D, Schonfeld P, Roessner A, SchneiderStock R, Galı-Muhtasib H. (2007). Lack of p53 augments thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells. *Cancer Biology Therapy*, **6** (2): 160-9.
- Saldamlı, İ. (2007). Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 463-492.
- Samuagam, L., Sia, C.M., Akowuah, G.A., Okechukwu, P.N. and Yim, H.S. (2013). The effect of extraction conditions on total phenolic content and free radical scavenging capacity of selected tropical fruits' peel. *Health and the Environment Journal*, **4**(2): 80-102.
- Sanchez J.C., Alsina M.A., Herrlein M.K., Mestres C. (2007). Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes. *Colloid and Polymer Science*, **285**: 1351–1360.
- Schieber, A., Keller, P., Carle, R. (2001). Determination of Phenolic Acids and Flavonoids of Apple and Pear by High-Performance Liquid Chromatography, *Journal Chromatography*, **910**: 265-273.
- Seeram N.P., Adams L.S., Zhang Y. (2006). Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**: 9329– 9339.
- Sezgin, C. (2016). Tam Şifa, Yıkılmazlar Basım Yayıncılık, 60.s- 610.s, İstanbul
- Sghaier, M.B., Boubaker, J., Neffati, A., Limem, I., Skandrani, I., Bhouri, W., Bouhlel, I., Kilani, S., Chekir-Ghedira, L., Ghedira, K. (2010). Antimutagenic and antioxidant potentials of *Teucrium ramosissimum* essential oil. *Chemistry Biodiversity*, **7**(7):1754-1764.
- Shahidi, F., Naczki, M. (1995). Food Phenolics. Technomic Publishing Company Book, Lancaster, USA.

- Shoieb A.M., Elgayyar M., Dudrick P.S., Bell J.L., Tithof P.K. (2003). In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone. *International Journal of Oncology*, **22**: 107-13.
- Shukla S., Gupta S. (2010). Apigenin: A Promising Molecule for Cancer Prevention *Pharmaceutical Research*, **27(6)**: 962–978.
- Singelton VR., Orthifer R., Lamuela-Raventos R M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent" *Methods in Enzymology*, **299**: 152-178.
- Sousa, A., I.C. Ferreira, R., Calhelha, P.B. Andrade, P. Valentao, R. Seabra, L. Estevinho, A. Bento and J.A. Pereira. (2006). Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'alcaparra'. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **14**: 8533-8538.
- Stagos D., Gregorios D. A., Antonios M., Spyron A., Tsatsakis A. M., Kouretas D. (2012). Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols. *Food Chemistry Toxicology*, **50 (6)**: 2155-70.
- Sudjana A.N., D'Orazio C., Ryan V., Rasool N., Ng J., Islam N., Riley TV., Hammer KA. (2009). Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **33(5)**: 461-463.
- Supino, R. (1995). MTT Assay. *Methods in Molecular Biology*, **43**:137-49.
- Sümme, M.A. (2011). Ahududu (*Rubus Idaeus* L.) Pulpunun Farklı Sıcaklıklarda Isıtılması Sırasında Biyoaktif Bileşikler, Antioksidan ve Antimikrobiyel Aktivitelerdeki Değişimler. Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu.
- Şahin E., 2006. Bitkisel Kaynaklı Antimikrobiyallerin Gıda Kaynaklı Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Şahinler N. (2000). Arı ürünleri ve insan sağlığı açısından önemi. *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, **5(1-2)**: 139-148.

- Tadeo, J.L., Sanchez-Brunete, C., Albero, B., Garcia-Valcarcel, A.I. (2010). Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples. *Journal of Chromatography A*, **1217(16)**: 2415-2440.
- Tassou C.C., Nychas GC. (1995). Inhibition of *Salmonella enteritidis* by oleuropein in broth and in a model food system. *Letters in Applied Microbiology*, **20**: 120-124.
- Theriault A., Chao J., Wang Q., Gapor A., Adeli K. (1999). Tocotrienol: A review of its therapeutic potential. *Clinical Biochemistry*, **32 (5)**: 309-319.
- Tomaino G.A., Cascio R. Lo, Crisafi G., Uccella N., Saija A. (1999). On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **51**: 971-974.
- Tshesche R, (1971). Advances in the chemistry of antibiotics substances from higher plants: Pharmacogeny and phytochemistry. In: proceedings of the 1st international congress, Munich. Edited by: Wagner H. Horhammer L. Springer- Verlag, Berlin Heidelberg, New York.
- Tuck KL, Hayball PJ. (2002). Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *Journal of Nutritional Biochemistry* **13(11)**: 636-44.
- Usal G. (2014). Buğday Tarlası Atıklarından Alkali Hidroliz İle Fenolik Maddelerin Üretimi Ve Üretim Koşullarının Optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Vas G., Vekey K. (2004). Solid-Phase Microextraction: A powerful Sample Preparation Tool Prior To Mass Spectrometric Analysis. *Journal of Mass Spectrometry*, **39**: 233-254.
- Vauzour D., Rodriguez-Mateos A., Corona G., Oruna-Concha M.J., Spencer J.P.E.. (2010). Polyphenols and human health: Prevention of Disease and Mechanisms of Action. *Nutrients*, **2**: 1106-1131.
- Visioli F, Galli C. (2002b). Biological properties of olive oil phytochemical. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **42(3)**: 209-220.
- Visioli F, Poli A, Galli C. (2002a). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal Research Reviews*, **22**: 65-75.

- Vukovic-Gacic B., Nikcevic Z., Beric-Bjedov T., Knezevic-Vukcevic J., Simic D., (2006). Antimutagenic effect of essential oil of sage *Salvia officinalis* L. and its monoterpenes against UVinduced mutations in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food and Chemical Toxicology* **44(10)**: 1730-1738.
- Wang H., Du Y., Song H. (2010). A-glucosidase and α -amylase inhibitory activities of guava leaves. *Food Chemistry*, **123(1)**: 6–13.
- Wang L., Weller C.L. (2006). Recent advanced in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, **17**: 300-312.
- Williams RJ, Spencer JP, Rice-Evans C. (2004). Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biology Medicine*, **36**: 838-849.
- Wu W.N., Beal J.L., Mitscher L.A., Salman K.N., Patil P. (1976). Alkoloids of *Thalictrum*. XV. Isolation and identification of the hypotensive alkoloids of the root of *Thalictrum lucidum*. *Lloydia*, **39 (4)**: 204.
- Yıldıran -Yılmaz H. (2008), Sarımsak Sapları ile Beslemenin İnek Sütü Bileşimine Olan Etkilerinin Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Yıldız SD. (2007). Enoant ve Sağlık Üzerine Etkileri, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, **1**: 65–70 <http://ejft.teknolojikarastirmalar.com/detay.php?id=72>
- Yılmaz, C. (2013). Vişne Çekirdeği Atıklarının Gıda İngrediyeni Olarak Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Zargari, A. (1996). Medicinal plants (6th ed.). Tehran: Tehran University Publications.
- Ziech D, Anastopoulos I, Hanafi R, Voulgaridou GP, Franco R, Georgakilas AG., Pappa A., Panayiotidis M.I. (2012). Pleiotrophic effects of natural products in ROS-induced carcinogenesis: The role of plant-derived natural products in oral cancer chemoprevention. *Cancer Letters*, **327(1-2)**: 16-25.
- Zougagh M., Valcarcel M., Rios A. (2004). Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, **23(5)**: 399.

İnternet Kaynakları

1. <http://www.ion.ac.uk/optimum>, 04.10.2015
2. <http://www.dunyagida.com.tr/haber.php?nid=41>, 22.9.2015
3. <https://www.coreklen.com/2010/09/corek-otunun-anti-tumor-ve-anti.html>, 3.5.2018
4. <http://www.aroma.com.tr/aroma-ile-yasam/merak-ettikleriniz-detay/Aroma-Visne-Nektari/30/185/0>, 24.04.2017
5. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Mutajen>, 28.10.2015
6. http://www.ildam.com.tr/ekatalog/show_stok.php?isbn=401&catid=4&urun=21%20Soxhlet%20Ekstraksiyon%20Cihazlar%FD%20%20Soxhlet%20Ekstraksiyon%20Cihazi%20Bullu%20Sogutuculu, 02.09.2015
7. <http://www.gencziraat.com/Bahce-Bitkileri/Ankara-Armudu-Yetistiriciligi-15.html>, 1.12.2017
8. <http://sifamarket.com/sifali-bitkiler-sozlugu/ahlat.html>, 04.05.2017
9. http://www.hastalikvetedavisi.net/ahlat.html#.WjD1p1Wo_cc, 12.12.2017
10. <http://www.top10homeremedies.com/kitchen-ingredients/top-10-health-benefits-of-peaches.html>, 27.04.2017
11. <https://books.google.com.tr/books?id=DbgWDAQAQBAJ&pg=PA98&lpg=PA98&dq=akci%C4%9Fer+kanseri+KLOROJEN%C4%B0K+AS%C4%B0T&source=bl&ots=N7WrYgR5LU&sig=31CxzGazJ5pC9hHB2JDnWSdQtJE&hl=tr&sa=X&ved=0ahUKEwipoqC9kbXTAhXDFZoKHaDsAliQ6AEILzAB#v=onepage&q=akci%C4%9Fer%20kanseri%20KLOROJEN%C4%B0K%20AS%C4%B0T&f=false>, 27.04.2017
12. <http://www.aroma.com.tr/aroma-ile-yasam/merak-ettikleriniz-detay/Elma-ve-elma-suyu-tuketimi-akciger-kanseri-riskini-azaltiyor/30/176/0>, 27.04.2017
13. <http://guntibgim.gumushane.edu.tr/tr/haber/karadut-ku%C5%9Fburnu-ve-k%C4%B1rm%C4%B1z%C4%B1-dut-akci%C4%9Fer-ve-prostat-kanserine-%C3%A7are-oluyor/>, 27.04.2017

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sevgi KEÇECİ
Doğum Yeri ve Tarihi : Zonguldak – 23/06/1987
Yabancı Dili : İngilizce
İletişim (Telefon/e-posta) : 05389642703 / kececi_s@hotmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Çaycuma Çok Programlı Lisesi, (2001-2004)
Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği
Bölümü, (2006-2010)
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Ensti-
tüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, (2011-
2018)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Akkol Yemek (2011 - 2012)
Çaycuma Sosyal Yardımlaşma ve Dayanışma
Vakfı (2012- Devam ediyor)