

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***ALLIUM SCODOPRASUM SUBSP. ROTUNDUM, ALLIUM STATİCİFORME VE
ALLIUM SUBHİRSUTUM TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI***

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Alican Bahadır SEMERCİ

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Tez Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi Kenan TUNÇ

Aralık 2018

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ALLIUM SCODOPRASUM SUBSP. ROTUNDUM, ALLIUM STATİCİFORME VE
ALLIUM SUBHİRSUTUM TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI***

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Alican Bahadır SEMERCİ

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

**Bu tez 31/12/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/ oyçokluğu
ile kabul edilmiştir.**

**Dr. Öğr. Üyesi
Kenan TUNÇ
Jüri Başkanı**

**Doç. Dr.
Şule BARAN
Üye**

**Dr. Öğr. Üyesi
Gökay AYDIN
Üye**

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.



Alican Bahadır SEMERCİ

31/12/2018

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Kenan TUNÇ'a;

Tez çalışmam esnasında hem manevi olarak hem de deneyimleriyle yol gösteren Doç. Dr. Mehmet SAĞIROĞLU'na, Arş. Gör. Dr. Hatice TUNCA'ya, Arş. Gör. Hatice SIÇRAMAZ'a ve deneysel çalışmalarında yardımcı olan Mikrobiyoloji Araştırma ekibine çok teşekkür ederim. Lisans dönemimden beri manevi olarak destekleyen ve yanımda olan arkadaşlarım Uzm. Biyolog Merve YILDIRIM'a Biyolog Duygu ARSLAN'a, Biyolog Adnan AKYÜZ'e, Biyolog Selin ARMAĞAN'a ve Uzm. Türkolog Serap SEVİM'e

Hayatım boyunca beni maddi, manevi olarak destekleyen aileme, özellikle dedem merhum Ahmet YAVUZ'a ve Sakarya'da yüksek lisans eğitimine başlamama neden olan, lise döneminden beri yanımda olduğunu bildiğim değerli dostum Mert Aziz TEPE ve ailesine, teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: BAPK 2017-02-20-006) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY.....	x
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. Yeryüzünde Yaşamın Tarihi.....	4
2.1.1. Prokaryot canlılar.....	5
2.1.2. Ökaryotlar canlılar.....	6
2.2. Çalışmada Kullanılan Test Mikroorganizmaları.....	6
2.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un özellikleri.....	7
2.2.2. <i>Escherichia coli</i> 'nin özellikleri.....	7
2.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın özellikleri.....	8
2.2.4. <i>Bacillus subtilis</i> 'in özellikleri.....	8
2.2.5. <i>Salmonella typhimurium</i> 'un özellikleri.....	9
2.2.6. <i>Staphylococcus epidermidis</i> 'in özellikleri.....	9
2.2.7. <i>Enterococcus faecalis</i> 'in özellikleri.....	10
2.2.8. <i>Candida albicans</i> 'in özellikleri.....	10
2.3. Çalışmada Kullanılan Bitkiler.....	11
2.3.1. <i>Allium</i> cinsi.....	11
2.3.1.1. <i>Allium scorodoprasum</i> L. subsp. <i>rotundum</i>	12
2.3.1.2. <i>Allium staticiforme</i> L.....	13

2.3.1.3. <i>Allium subhirsutum</i> L.....	14
2.3.2. <i>Allium</i> türlerinin kimyasal ve farmasötik özelliklerine yönelik yapılan çalışmalar.....	15

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Bitki materyalinin eldesi	18
3.1.2. Deneylerde kullanılan mikroorganizmalar.....	19
3.1.3. Kullanılan araç ve gereçler.....	19
3.1.4. Kullanılan sarf malzemeler	20
3.2. Yöntem	21
3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması	21
3.2.2. Çözücülerin uzaklaştırılması.....	22
3.2.3. Besiyerlerinin hazırlanması.....	22
3.2.4. Kullanılan kimyasalların hazırlanması.....	23
3.2.5. Test mikroorganizmalarının hazırlanması.....	23
3.2.6. Antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi.....	24
3.2.6.1. Disk difüzyon yöntem.....	24
3.2.6.2. Deneyin yapılışı.....	26
3.2.7. Toplam fenolik maddenin belirlenmesi.....	26
3.2.8. Antioksidan aktivite	26

BÖLÜM 4.

ARAŞTIRMA BULGULARI	27
4.1. Antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	27
4.1.1. <i>Allium subhirsutum</i> bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi.....	28
4.1.2 <i>Allium staticiforme</i> bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi.....	34
4.1.3. <i>Allium scorodoprasum rotundum</i> antimikrobiyal aktivitesi	39
4.2. Toplam Fenolik Madde sonuçları	42
4.3. Antioksidan Aktivite Sonuçları	43

BÖLÜM 5.

TARTIŞMA VE SONUÇ 45

KAYNAKLAR 50

ÖZGEÇMİŞ..... 55



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzde
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
<i>A. staticiforme</i>	: <i>Allium staticiforme</i>
<i>A. subhirstum</i>	: <i>Allium subhirsutum</i>
ATCC	: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
<i>B. subtilis</i>	: <i>Bacillus subtilis</i>
<i>C. albicans</i>	: <i>Candida albicans</i>
cm	: Santimetre
Dk	: Dakika
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	: <i>Enterococcus faecalis</i>
g	: Gram
m	: Metre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
N. Kontrol	: Negatif Kontrol
Na ₂ CO ₃	: Sodyum Karbonat
°C	: Derece santigrat
<i>P. aeruginosa</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
pH	: Bir çözeltinin asitlik ve bazlık derecesi
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	: <i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>S. typhimurium</i>	: <i>Salmonella typhimurium</i>

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Ökaryot ve prokaryot hücre tipleri (url-1).....	5
Şekil 2.2. <i>Allium scorodoprasum</i> L. subsp. <i>rotundum</i> bitkisinin a) çiçek b) yaprak resimleri.....	12
Şekil 2.3. <i>Allium staticiforme</i> çiçek.....	13
Şekil 2.4. <i>Allium subhirsutum</i> a) geç çiçek b) erken çiçek resmi.....	14
Şekil.2.5. Allicinin kimyasal yapısı (Oommen ve ark., 2004).....	16
Şekil 3.1. <i>Allium</i> örnekleri temizlenmesi.....	18
Şekil 3.2. Bitki ekstraktının hazırlanış akışı a) liyofilizatörde kurutma, b) öğütme, c) ekstraksiyon, d) uçurma işlemleri.....	21
Şekil 3.3. Disk difüzyon metodunda, a) mikroorganizma yoğunluğunun belirlenmesi, b) hazırlanan mikroorganizma süspansiyonun petriye ekimi, c) ekstrakt emdirilmiş disklerin yerleştirilmesi, d)inhibisyon zon çaplarının ölçümü aşamaları.....	25
Şekil 4.1. <i>Allium subhirsutum</i> ekstraktlarının a) <i>C. albicans</i> , b) <i>P. aeruginosa</i> , c) <i>S. epidermidis</i> , d) <i>B. subtilis</i> , e) <i>S. aureus</i> , f) <i>C. albicans</i> suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi.....	29
Şekil 4.2. <i>Allium subhirsutum</i> bulb ekstraktlarının a) <i>P. aeruginosa</i> , b) <i>E.coli</i> , c) <i>S. typhimurium</i> d) <i>E. faecalis</i> , e) <i>C. albicans</i> , f) <i>S. aureus</i> üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi.....	31
Şekil 4.3. <i>Allium subhirsutum</i> ekstraktlarının a) <i>P. aeruginosa</i> , b) <i>S. aureus</i> c) <i>E. faecalis</i> , d) <i>C. albicans</i> , e) <i>E. coli</i> , f) <i>S. epidermidis</i> suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi.....	33
Şekil 4.4. <i>Allium staticiforme</i> ekstraktlarının a) <i>S. typhimurium</i> , b) <i>B. subtilis</i> , c) <i>C. albicans</i> , d) <i>P. aeruginosa</i> , e) <i>E. coli</i> , f) <i>S. typhimurium</i> suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi.....	35

Şekil 4.5. <i>Allium staticiforme</i> ekstraktlarının a) <i>P. aeruginosa</i> , b) <i>E. faecalis</i> , c) <i>E. coli</i> d) <i>S. aureus</i> , e) <i>E. faecalis</i> , f) <i>C. albicans</i> suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi.....	37
Şekil 4.6. Antibiyotiklerin a) <i>P. aeruginosa</i> , b) <i>E. faecalis</i> , c) <i>E. coli</i> d) <i>S. aureus</i> , e) <i>S. epidermidis</i> , f) <i>C. albicans</i> , g) <i>S. typhimurium</i> h) <i>B. subtilis</i> üzerine etkileri.....	39
Şekil 4.7. <i>Allium scorodoprasum subsp. rotundum</i> ekstraktlarının, a) <i>C. albicans</i> , b) <i>S. aureus</i> , c) <i>S. epidermidis</i> , d) <i>E. coli</i> , e) <i>E. faecalis</i> , f) <i>S. typhimurium</i> suşları üzerindeki antimikrobiyal etkisi.....	41
Şekil 4.8. Metanolik ekstraktların toplam fenolik içeriği.....	43
Şekil 4.9. Antioksidan aktive sonuçları.....	44

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Prokaryot ve ökaryotlar arasındaki farklılıklar (Barker ve ark., 2013).....	6
Tablo 2.2. <i>Allium</i> L. cinsinin sitematikteki yeri.....	11
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler.....	20
Tablo 3.2. Kullanılan sarf malzemeler.....	21
Tablo 4.1. <i>Allium subhirsutum</i> çiçek ekstraktlarının mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkisi.....	29
Tablo 4.2. <i>Allium subhirsutum</i> bulb ekstraktlarının mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkisi.....	31
Tablo 4.3. <i>Allium subhirsutum</i> yaprak ekstraktlarının mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkisi.....	33
Tablo 4.4. <i>Allium staticiforme</i> çiçek ekstraktlarının mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkisi.....	35
Tablo 4.5. <i>Allium staticiforme</i> soğan ekstraktlarının mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisi.....	37
Tablo 4.6. <i>Allium staticiforme</i> yaprak ekstraktlarının mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisi.....	39
Tablo 4.7. <i>Allium scorodoprasum</i> L. subsp. <i>rotundum</i> bitkisinin antimikrobiyal etkisi.....	41
Tablo 4.8. Antioksidan aktivite sonuçları.....	45

ÖZET

Anahtar kelimeler: Allium, antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde

Bu çalışmada aseton ve metanol ile hazırlanan *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum*, *Allium staticiforme* ve *Allium subhirsutum* ekstraktlarının *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *S. epidermidis* ATCC 12228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 1029 suşlarına karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Ayrıca *Allium staticiforme* ve *Allium subhirsutum* metanolik ekstraktlarının DPPH yöntemi kullanılarak antioksidan aktiviteleri ve Folin-Ciocalteu reaktifi ile toplam fenolikleri belirlenmiştir.

Allium staticiforme ve *Allium subhirsutum* ekstraktlarının *C. albicans* üzerinde yüksek antifungal aktivite gösterdiği belirlenirken, kullanılan bakteriler üzerinde geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum* ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir. *Allium staticiforme* ve *Allium subhirsutum* ekstraktlarının IC50 değerleri 800-1300 µg/mL arasında olduğu gözlenmiştir.

Türkiye florasındaki *Allium staticiforme*, *Allium subhirsutum* bitkilerinin yeni bir antifungal kaynak olarak kullanılabileceği önerilebilir.

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL EFFECTS OF *ALLIUM SCODOPRASUM*, *ALLIUM STATICIFORME* and *ALLIUM SUBHIRSUTUM*

SUMMARY

Keywords: Allium, antimicrobial activity, antioxdant activity, total phenolic effects

In this study, the antibacterial activity of *Allium scorodoprasum* L. subsp. *Allium staticiforme* and *Allium subhirsutum* extracts (acetone, methanol) againts microbial strains *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *S. epidermidis* ATCC 12228 *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *C. albicans* ATCC 1029 antimicrobial effects were examined by using disc diffusion method. Addition, *Allium staticiforme*, *Allium subhirsutum* methanolic extracts were determined the antioxidant activities by using DPPH method and their total phenolics were determined by FCR method.

Extracts of *Allium staticiforme* and *Allium subhirsutum* were showed high antifungal activity on *C. albicans*. It has been determined that it has a broad-spectrum antibacteril activity on the bacteria used. It was determined that extracts of *Allium scodoroprsum rotundum* did not show antimicrobial activity. The IC50 values of *Allium staticiforme* and *Allium subhirsutum* were between 800-1300 µg / mL.

Allium subhirsutum and *Allium staticiforme* in the flora of Turkey can be used as a new antifungals source.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Bitkiler, insanların temel besin kaynakları ve ilk ilaçlarıdır. İlk çağlardan beri insanlar deneme yanılma yoluyla hangi bitkilerin yenilebileceğini, hangilerinin zehirli veya şifa verici olduğunu öğrenmişlerdir. Tıbbi bitkilerden basit yöntemler kullanarak bitkinin esas etkili maddesini elde etmeyi başarmışlardır (Baydar 2005). Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki insanların büyük çoğunluğu tıbbi ve aromatik bitkilere dayalı geleneksel tıbbi kullanılmaktadır. Dünyada geleneksel ve modern tıp sistemlerinde kullanılan 50.000 ila 70.000 bitki türü vardır (Leaman, 2006).

Doğal maddelerden, doğrudan ya da dolaylı olarak çeşitli endüstri grupları faydalanmaktadır ve bunların birçoğunda doğal bitki ürünleri (fitokimyasallar) belirgin bir şekilde görülmektedir. Örneğin, fitokimyasallar farmasötik, kozmetik, gıda, zirai ilaç ve kimya endüstrileri tarafından büyük ölçüde kullanılmaktadır (Balandrin ve Klocke, 1988).

Bitkiler sınırsız sayıda aromatik bileşikler üretme yeteneğine sahiptirler. Bitkinin büyüme ve gelişmesinde temel bir görevi olmayan; ancak adaptasyonda, üreme olayına yardımcı olmada, patojenlere karşı savunmada ve çevre ile ilişkilerde önemli görevleri olan aromatik bileşikler sekonder metabolitler olarak adlandırılmaktadır. Sekonder metabolitler farklı kimyasal yapılara sahiptirler ve genel olarak üç grupta sınıflandırılırlar: fenolikler, terpen - steroidler ve alkaloidler. Sekonder metabolitlerden şimdiye kadar 12.000 tanesi izole edilmiştir ve bu sayı aromatik bileşiklerin sadece %10'unu oluşturmaktadır (Cowan, 1999; Alvarez, 2014; Çölgecen ve Topçu, 2015).

Anti-enfektif ajanların yaygın kullanımı ilaca dirençli bakterilerin, mantarların ve virüslerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Patojenik mikroorganizmaların artan direncini ortadan kaldırmak için çeşitli tıbbi bitkiler antimikrobiyal özellikleri açısından dünya çapında araştırılmıştır. Aromatik şifalı bitkilerden elde edilen uçucu yağların bakterilere, mayalara, filamentöz mantarlara ve virüslere karşı son derece iyi antimikrobiyal etkiler sergiledikleri birçok çalışmada bildirilmiştir (Reichling ve ark., 2009; Çolak ve ark., 2018; Nurcahyanti ve ark., 2018).

Ayrıca önemli tıbbi bitki türlerinin köklerinden, kabuklarından, yapraklarından, meyvelerinden ve tohumlarından alınan ekstraktların güçlü antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Antioksidanlar, hücrelerdeki oksidatif stresi azaltır ve kanser, kardiyovasküler, enflamatuar hastalıklar dahil olmak üzere birçok hastalığının tedavisinde kullanılır (Gerber ve ark., 2002; Ryszawa ve ark., 2006; Krishnaiah ve ark., 2011).

Pakistan'da yapılan bir çalışmada taze *Euphorbia royleana*'nın metanol, hekzan ve sulu ekstrelerinin antioksidan, antimikrobiyal ve antitümör aktiviteleri incelenmiş; incelenen ekstraktların farmasötik endüstrisi için antioksidan ve antimikrobiyal bileşiklerin izolasyon potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (Ashraf ve ark., 2015).

Akhtar ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada 61 tıbbi bitkinin metanol, kloroform ve sulu ekstrelerinin antimikrobiyal, antioksidan ve fitokimyasal içeriğini araştırmış; kullanılan bitkilerin çoğunluğunun *E. aerogens*, *E. coli*, *S. aureus*, *B. bronchiseptica* bakterileri üzerinde antibakteriyel etki gösterdiğini saptamışlardır. *Punica granatum*, *Phyllanthus emblica*, *Mentha piperita*, *Cicer arietinum* bitkilerinin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Allium türlerinin bakterilere, mantarlara, virüslere ve parazitlere karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu birçok çalışmada belirlenmiştir. Araştırmaların çoğunluğu soğan (*Allium cepa*) ve sarımsak (*Allium sativum*) üzerine yoğunlaşmıştır (Kyung, 2012; Ye ve ark., 2013).

Çalışmamızda, literatürde daha önce antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi çalışılmamış olan *Allium staticiforme* türü ve *Allium subhirsutum*, *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum* türleri kullanılmıştır.

Bu çalışmada aseton ve metanol ile hazırlanan *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum*, *Allium staticiforme* ve *Allium subhirsutum* ekstraktlarının test mikroorganizmalara karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal etkilerinin araştırılması ve DPPH yöntemi kullanılarak antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Yeryüzünde Yaşamın Tarihi

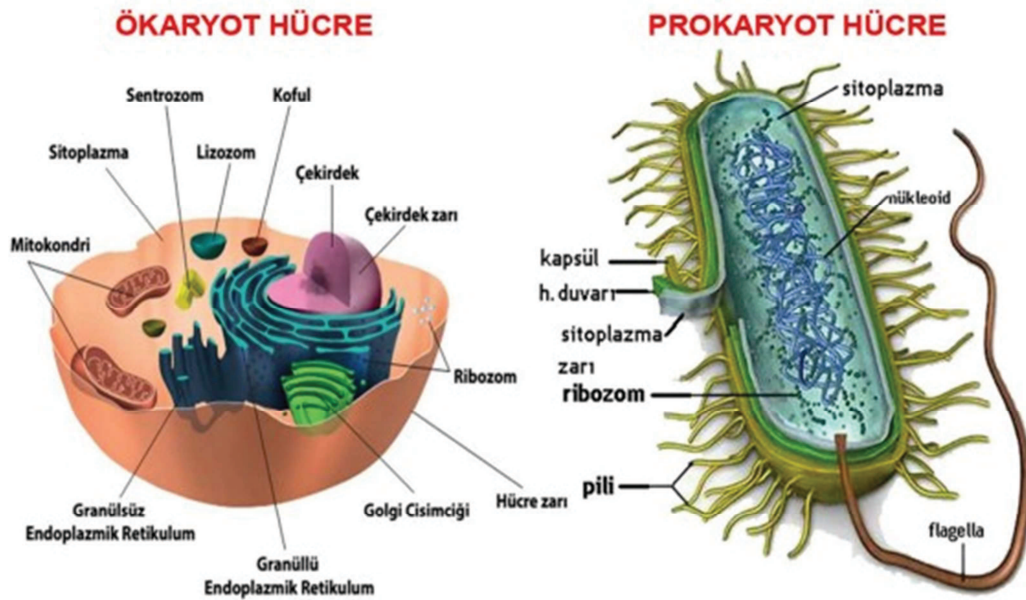
Yaşamın başlangıcı yaklaşık 3,5 milyar yıl önce prokaryot canlılarla birlikte başlamıştır. Prokaryotlar, geçmişteki 3,5-2 milyar yıllık evrimsel süreçte yeryüzünde baskın durumda olan canlılardı (Campbell ve Reece, 2008).

Eski kayaçlarda mikrobiyal yaşama dair kanıt, fosilleşmiş hücre kalıntılarına ve bu kayaçlardaki izotopik hafif karbon çokluğuna dayanmaktadır. İlkel kayalar basit yapılı çubuk ve kok şeklinde bakterilere benzeyen mikrofosiller içerir. 3,5 milyar yıllık ve daha genç kayalarda stromatit olarak adlandırılan oluşumlara sık olarak rastlanmaktadır. Stromatitler fosilleşmiş mikrobiyal kalıntılardır (Madigan ve Martinko, 2012).

Fotosentez yaparak oksijen üreten tek prokaryotlar siyanobakterilerdir. Atmosferdeki oksijenin çoğu biyolojik kökenli olup fotosentez sırasında suyun parçalanmasıyla oluşur. Siyanobakterilerle birlikte oksijen de günümüzden yaklaşık 2,7 milyar yıl önce atmosferde birikmeye başlamıştır. Prokaryotlara göre daha karmaşık ve büyük olan ökaryotların varoluşu da 2,1 milyar yıl önceye dayanmaktadır. Daha karmaşık hücrelerin oluşumu ökaryotik yaşamın çeşitlenmesine temel oluşturmuştur (Campbell ve Reece, 2008).

2.1.1. Prokaryot canlılar

Prokaryot canlılar zarla çevrili gerçek bir çekirdeğe sahip olmayan, 1-5 μm çapa sahip, genellikle tek hücreli canlılardır. Birçok prokaryot canlıda hücrenin metabolik işlevlerini yerine getiren özelleşmiş zarlar bulunmaktadır. Bunlar plazma zarının içeriye doğru kıvrımlar yapması sonucunda oluşmuş yapılardır. Ökaryotlara oranla daha küçük ve basit genomları vardır. DNA'ları çift zincirli ve halkasal yapıya sahiptir. Prokaryotlarda ana kromozom dışında birkaç genden oluşan, plazmit adı verilen DNA halkaları bulunabilir. Prokaryotik yaşam Bacteria ve Archaea olmak üzere iki ayrı domain tarafından temsil edilmektedir. Bilinen prokaryotların çoğunluğunu bakteriler oluşturmaktadır. Prokaryotların genelinde hücreye şekil veren, fiziksel olarak koruyucu hücre duvarı bulunur. Bakteri hücre duvarında peptidoglikan denilen organik molekül bulunurken Arkelerin hücre duvarında bu molekül bulunmaz. Prokaryotlar ekosistemde kimyasal maddelerin üretimini ve birçok maddenin geri dönüşümünü sağlamaktadır. Bu özellikleri ile biyoteknolojinin merkezinde yer alırlar (Campell ve Reece, 2008).



Şekil 2.1 Ökaryot ve prokaryot hücre tipleri (url-1)

2.1.2. Ökaryot canlılar

Prokaryotlardan farklı olarak membranla çevrili bir nükleusa ve hücrenin tipine bağlı olarak farklılık gösteren zarlı organellere sahip hücrelerdir. Ökaryotlarda nükleusun içinde bulunan DNA histonlar tarafından sarılarak nükleozomları, bunlar da kromozomları oluşturur. DNA'ları çift zincirli lineer yapıya sahiptir (Madigan ve Martinko, 2012). Prokaryotlar ile karşılaştırılması Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Prokaryot ve ökaryotlar arasındaki farklılıklar (Barker ve ark., 2013).

PROKARYOTLAR	ÖKARYOTLAR
Sitoplazmada DNA serbest halde	DNA zarla çevrili
Kromozom genellikle haploid, tek ve halkasal	Kromozom genellikle diploid, birden fazla ve doğrusal
DNA histon benzeri proteinlerle kompleks	DNA histon proteini ile kompleks
Genetik bilginin aktarılması, konjugasyon, transdüksiyon ve transformasyonla olur.	Genetik bilginin aktarılması yalnızca eşeyli üreme ile olur.
Enerji üretimi hücre zarından sağlanır.	Enerji üretimi mitokondri ve kloroplastlardan sağlanır.
Ribozomları küçük 70S	Ribozomları 80S

2.2. Çalışmada Kullanılan Test Mikroorganizmaları

2.2.1. *Staphylococcus aureus*'un özellikleri

Staphylococcus aureus, tüm dünyada toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olan önemli patojenlerden biridir. *S. aureus*'a bağlı enfeksiyonlara karşı savunmada ilk basamak makrofajlar tarafından gerçekleşir (Ak ve ark., 2016).

Staphylococcus aureus; bakteriyemi, pnömoni ve cerrahi yara enfeksiyonlarını içeren nozokomiyal enfeksiyonların önde gelen etkenleri arasındadır. Aynı zamanda sağlıklı kişilerde de kolonizasyona bağlı, endojen olarak enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Tedavisinde kullanılan penisilinlere karşı yüksek düzeyde direnç geliştirmesi sonucu, beta-laktamaz enzimine dayanıklı semisentetik bir penisilin olan metisilin kullanımına başlanmış, ancak iki yıl sonrasında metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) izolatu tanımlanmıştır (Bucak ve ark., 2014). Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarının tedavisi zordur, mortalite ve morbiditesi yüksek enfeksiyonlara neden olmaktadır (Öztürk ve ark., 2013).

2.2.2. *Escherichia coli*'nin özellikleri

Escherichia coli; gram negatif, fakültatif anaerob, hareketli, spor oluşturmayan çomak şeklinde bir bakteridir. Patojenik *E. coli*'ler oluşturduğu hastalığın türüne ve sahip olduğu virulens özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. *E. coli* suşları bağırsak dışı enfeksiyonlara (ekstraintestinal) ve bağırsak enfeksiyonlarına (intestinal) neden olanlar olarak ikiye ayrılmaktadır (Omerovic ve ark., 2017).

E. coli bağırsak kanalı dışına çıkıp çeşitli vücut dokularına yerleşerek idrar yolları, safra kesesi, safra yolları, akciğer, periton ulaşır ve önemli hastalıklara yol açar. *E. coli* hem toplum hem de hastane kökenli bakteremi nedenleri arasında ilk sıralarda yer alır (Bilgehan, 1995; Horasan ve ark., 2010).

2.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*'nın özellikleri

Pseudomonas aeruginosa, çoğunlukla toprak ve suda görülen, olumsuz şartlarda bile üreyebilen, nemli ortamlarda uzun süre canlı kalabilen, normal florada bulunan bir bakteridir. Gram negatif, hareketli, kapsüllü, oksidaz ve katalaz pozitif, non-fermentatif bir çomaktır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında izole edilen Gram negatif çomakların yaklaşık beşte birini oluşturmaktadır (Köse ve ark., 2014).

Hastane kaynaklı enfeksiyonların % 10-15'inden sorumludur. *Pseudomonas aeruginosa* bakteremi, deri ve yara enfeksiyonları, özellikle kistik fibrozlu hastalar, pulmoner hastalıklar, nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonları, endokardit ve menenjit gibi ciddi ve hayatı tehdit eden enfeksiyonların en iyi bilinen etkenlerindendir (Aktaş ve ark., 2012).

2.2.4. *Bacillus subtilis*'in özellikleri

Havada, tozda, bitkilerde ve tuzlu sularda yaygın olarak bulunan ve klinik örneklerde kontaminasyona yol açan bakterilerdir. Gram pozitif endospor oluşturma yeteneğine sahiptirler.

Bakteriler aslında saprofit olmakla beraber bu bakterilerin doğrudan doğruya dokuya ve özellikle göz içerisine girmesi sonucunda panoftalmi, iridosiklit gibi göz yanmalarını meydana getirebilir. Bazı besin zehirlenmelerinden sorumlu oldukları düşünülmektedir. Ekmeğin yumuşayarak bozulmasına neden olurlar. Kültür süzöntülerinde subtilin adı verilen bir kısım bakterilere karşı inhibitör etki gösteren bir madde de elde edilmiştir (Bilgehan, 1995).

2.2.5. *Salmonella typhimurium* 'un özellikleri

Doğada evcil ve yabani hayvanların, sürüngen kuş ve böceklerin gastrointestinal sisteminde yaygın olarak bulunur. İnsan ve hayvanlarda birçok enfeksiyonlara neden olmaktadır. Agar ve buyyon gibi basit içerikli besiyerlerinde 24-48 saatte M veya S tipi koloni oluştururlar. Üreme ısı dereceleri geniştir (10-42°C) optimum üreme ısı 37°C dir (Anğ ve ark., 2005).

Karasinek ve hamam böcekleri mekanik olarak bakterileri gıda maddelerine taşır. Özellikle yazın oda sıcaklığında bile salmonella bakterileri için iyi bir besiyeri olan süt, et, yumurta, kremalı yiyecek ve içeceklerde bakteriler çoğalacağından bu gıdaları tüketen kişiler için önemli tehlike oluştururlar. *S. typhimurium* aynı zamanda farelerde yaşayan bir bakteri olması nedeniyle fare dışkısıyla kontamine olmuş ürünlerden kolaylıkla insanlara bulaşabilmektedir. Ayrıca bu bakteri kemoteropotiklere karşı direnç kazanmakta ve hastanelerde özellikle yeni doğan kliniklerinde salgınlara yol açmaktadır (Bilgehan, 1995).

2.2.6. *Staphylococcus epidermidis* 'in özellikleri

Staphylococcus epidermidis, Gram pozitif çekirdeklerin salkım halinde bulunduğu stafilocok cinsinden bir bakteri türüdür. Katalaz pozitif ve koagülaz negatif özelliktedir. Zaman zaman insan ve hayvan cildinin mukoz membranlarında görülür. Fakültatif anaerobtur ancak oksijenli ortamlarda daha iyi ürerler. Üreme dereceleri 15-45°C arası olup en iyisi 30-37°C dir. %7,5 NaCl ortamında iyi üremekle birlikte % 10 NaCl ortamında daha güçlü üreme gösterirler (Ağaçfıdan ve ark., 2005).

Kontaminasyona bağlı olarak, *S. epidermidis* laboratuvar testlerinde en fazla görülen türdür. *S. epidermidis* genellikle patojen olmasa da immün sistemi yetersiz çalışan ve sürekli kateter takılı olan hastalar için büyük bir risktir. Birçoğu ince bir salgı oluşturur ve bu sayede tıbbi protezlerin yüzeyine de yerleşir (Bilgehan, 1995).

2.2.7. *Enterococcus faecalis*'in özellikleri

Çevrede, toprak, su ve besinlerde, insan ve hayvanların özellikle vertebraların gastrointestinal sistemlerinde yoğun olarak bulunurlar. Kanlı agarda alfa hemoliz yapan fakültatif anaerob bakterilerdir. Yaklaşık 1 µm boyutunda oval şekilli koklardır ve sıvı besiyerinde ikili veya kısa zincirler şeklinde bulunurlar. Enterokoklar dış koşullara oldukça dirençlidirler ve güç koşullarda bile üreyebilmektedirler (Ağaçfıdan ve ark., 2005).

İnsan bağırsağı, ağız, vajina, üretra ve safra yollarında normal flora elemanı olarak bulunan enterokoklar; düşük virülansa sahip olmalarına rağmen hastane enfeksiyonlarında ve toplum kökenli enfeksiyonlarda giderek artan sıklıkta etken olarak saptanmaya başlanmışlardır (Aral ve ark., 2011).

2.2.8. *Candida albicans*'ın özellikleri

4-6 mikrometre çapında yuvarlaktan ovale kadar değişen şekillerde üreyen bir maya mantarıdır. Hücre duvarında mannan, glukanlar ve kitin olmak üzere üç tip polisakkarit bulunur. Gram pozitif boyanma özelliği gösterip genellikle tomurcuklanarak çoğalırlar.

Yüzeysel, mukokütananöz veya sistematik bir hastalık şeklinde ortaya çıkabilen Candidiasis oldukça sık görülen bir insan enfeksiyonudur. Genellikle metabolik veya immünolojik bir bozukluk sırasında ortaya çıkar. Hastalık etkeni olarak en sık *Candida albicans* türü görülür (Kingsbury ve Wagner, 1990).

2.3.Çalışmada Kullanılan Bitkiler

2.3.1. *Allium* cinsi

Dünyada 800'den fazla tür içeren ve çoğunluğu Kuzey Yarım Küre'de yayılış gösteren bir cinsdir (Friesen, 2008). *Allium* cinsi, Türkiye Florası içerisinde Liliaceae familyasında yer almaktadır (Davis, 1984). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, *Allium* cinsi Alliaceae ya da çiçek durumunun umbella ve tabanında spatası olması nedeniyle sınırları genişletilmiş olan Amaryllidaceae familyası altında kabul edilmiştir (Tablo 2.2.). Türkiye'de *Allium*'un 180 türü olup bunlardan 72 tanesi endemiktir (Choi ve Oh, 2011; Ekşi, 2012; Kaya, 2014).

Tablo 2.2. *Allium* L. cinsinin sitematikteki yeri

Alem	Plantae
Alt alem	Tracheobionta
Şube:	Magnoliophyta
Sınıf:	Liliopsida
Alt sınıf:	Liliidae
Ordo:	Asparagales
Familya:	Amaryllidaceae
Cins:	<i>Allium</i> L.

Allium cinsi; çok yıllık, soğanlı, bazen rizomlu, skapus taşıyan otsu bitkilerdir. Bulblar kabuklu veya rizoma bağlı bir kluster içindedir. Çiçekler tepede bir umbella durumunda, açmadan önce bir brakte (spata) içindedir. Periant, 6 parçalı meyveler zarımsı bir kapsuladır. Tohumlar siyah, basık, üç köşeli, nadiren yuvarlaktır. İçerdikleri kükürtlü, uçucu bileşiklerden ileri gelen soğan ve sarımsak kokuları en karakteristik özellikleridir (Davis, 1984; Seçmen ve ark., 1998).

2.3.1.1. *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum*

Anadolu'da körmən, it soğanı olarak bilinmekte olup otlu peynir yapımında kullanılmakta ve gıda olarak tüketilmektedir (Koşar ve ark., 2006). Bulbları küresel ve oval biçiminde 1-2 cm çapındadır. Dış tunikler kahverengi, gövde 25-90 cm uzunluğundadır. Periantlar koyu mor rengindedir. Türkiye'de geniş yayılış göstermektedir.



Şekil 2.2. *Allium scorodoprasum* subsp. *rotundum* bitkisinin a) çiçek, b) yaprak resimleri

2.3.1.2. *Allium staticiforme* L.

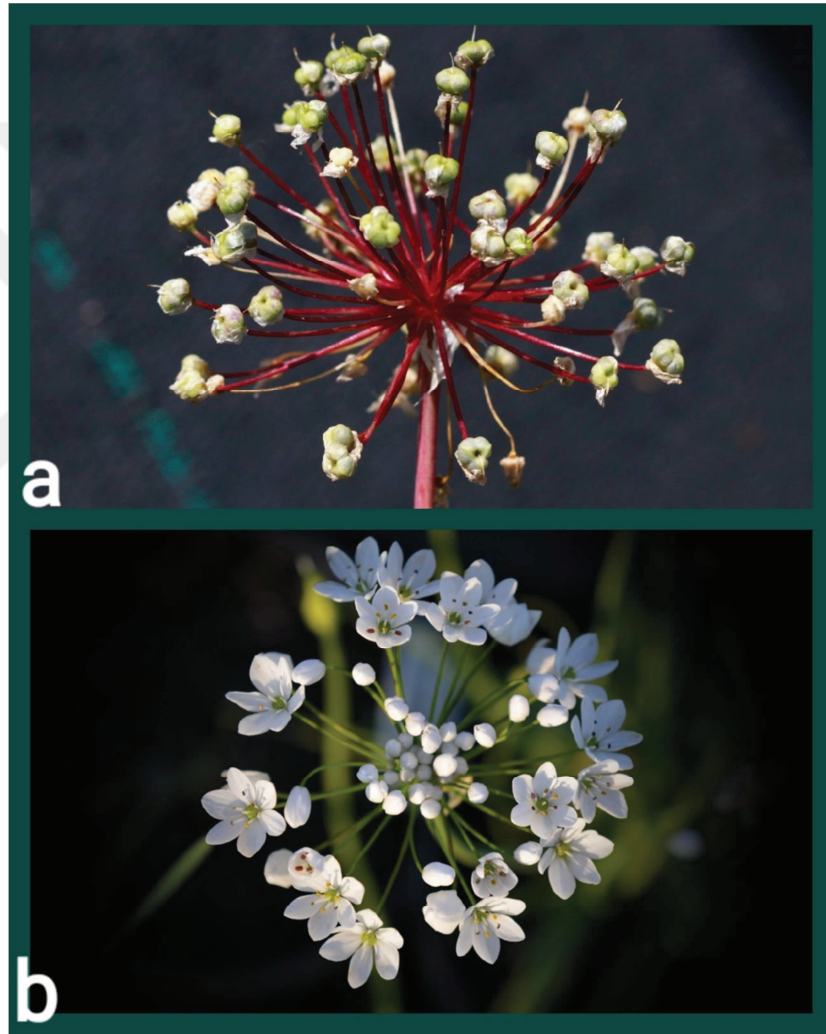
Bulbları 0,8-1,5 cm çapındadır. Dış tunikler siyah, gövde 16-30 cm uzunluğunda, çoğunlukla alt kısımda kavislidir. 2-4 yıllık yaşam dönemine sahiptir. Sahilde kumlu yerlerde, terk edilmiş tarlalarda yetişir. Türkiye ve Avrupa'da yayılım gösterir. Balıkesir-Biga, Manisa-Bergama, Aydın-Didim bölgelerinde kaydı yapılmıştır (Davis 1984; Güner ve ark., 2012). *Allium staticiforme* L. üzerine literatürde yapılmış biyoaktivite çalışmasına rastlanılmamıştır.



Şekil 2.3. *Allium staticiforme*

2.3.1.3. *Allium subhirsutum* L.

Bulbu 1,5 cm çapa kadar ulaşabilir. 2-3 yıl yaşam süresine sahiptir. Gövde 7-30 cm uzunluğundadır. İzmir-Çeşme, Samsun-Güzelçamlı, Aydın-Kuşadası, Antalya-Kaş ve Finike’de kayda geçmiştir (Davis,1984). Anadolu’da körmən olarak bilinmekte ve gıda olarak kullanılmaktadır (Koşar ve ark., 2006).



Şekil 2.4. *Allium subhirsutum* a) geç çiçek, b) erken çiçek resmi

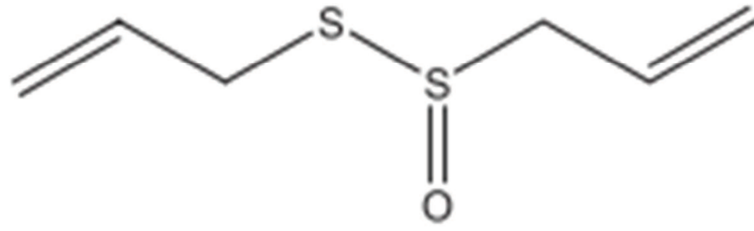
2.3.2. *Allium* türlerinin kimyasal ve farmasötik özelliklerine yönelik yapılan çalışmalar

Romanya’da *Allium* türlerinin kimyasal bileşenleri üzerine yapılan bir araştırmada incelenen türlerin fisetin, quercetin, isoquercetin, luteolin, apigenin, kafeik asit, sinapikasit ve ferulik asit gibi birçok birleşik içerdiği belirlenmiştir (Vlase ve ark., 2013).

Tsiaganis ve ark. (2006) yapmış oldukları çalışmada *Allium cepa*, *Allium sativum* ve *Allium porrum* türlerinin GC-MS yöntemiyle yağ içeriklerini araştırmışlardır. Her üç bitki türünde toplam yağ asidi oranının %50’sinin Linoleik asit, %20’sinin Palmitik asit, %3-7’sinin α -oleik asit ve oleik asit olduğunu bildirmişlerdir. *Allium sativum* bitkisinin uçucu yağlarının GC-MS yöntemiyle incelendiği başka bir çalışmada, bitkinin allil sülfid, cis-propenil metil disülfid, metil allil disülfid, trans-propenil metil disülfid, metil trisülfid, dialil sülfid, allil disülfid, metil allil trisülfid ve izobütil izotiosiyanat içerdiği belirlenmiştir (Kozan, 2012).

Allium sativum, *Allium cepa*, *Allium porrum*, *Allium tuberosum* türlerinin HPLC yöntemi ile uçucu yağlarının içeriğinin araştırıldığı bir çalışmada *Allium sativum* ve *Allium tuberosum* uçucu yağlarının temel bileşenin dialil disülfid olduğu, *Allium cepa* ve *Allium porrum* türlerinde ise temel bileşenlerin dipropil disülfid ve dipropil trisülfid olduğu belirlenmiştir (Mnayer ve ark. 2014).

Allium sativum (sarımsak) kükürtlü bileşik içeriği en çok araştırılmış *Allium* türüdür. İçeriğinde bulunan allicin (dialil tüyosülfinat) tiyosülfinat bir bileşik olup doğada bitki dokusunun hasar görmesi sonucunda üretilir. Allinaz enzimi ile membran bütünlüğü bozulan bulbtaki allicin alliin amino asidinden sentezlenmektedir (Borlinghaus ve ark., 2014).



Şekil.2.5. Allicinin kimyasal yapısı (Oommen ve ark 2004).

Allium cinsi hem besin maddesi hem de ilaç hammaddesi olarak kullanılan en önemli bitki gruplarından. İçerdikleri çok sayıda fitokimyasal bileşik sayesinde birçok biyoaktivite çalışmalarında kullanılmışlardır (Yünlü ve Kır, 2016).

Allium türleri allisin dialil sülfür, dialilsülfat, s- alilsistein, dipropil disülfür gibi birçok kükürtlü bileşik içermektedir. İçerdikleri bu kükürtlü bileşikler sayesinde yüksek oranda antioksidan, antikanserojen, antiinflamatuvar, antiklazinojenik etki göstermektedirler (Guyonnet ve ark., 1998; Hirschve ark., 2000; Sun ve Wang, 2003; Lanzotti ve ark., 2014). Ayrıca *Allium* türlerinden elde edilen saponinlerde, antispazmodik, antifungal, hemolitik, antiinflamatuvar, kolesterol düşürücü ve sitotoksik aktivite gibi birçok biyolojik özelliğe sahiptir (Lanzotti ve ark., 2014).

Barilla ve ark. (2007) yapmış oldukları çalışmada *Allium minutiflorum*'dan izole edilen saponinlerinin antifungal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. *Allium ursinum*, *Allium ampeloprasum*, *Allium cepa*, *Allium leuconthum*, *Allium ampeloprasum* subsp. *persicum* gibi türlerinin antifungal aktive gösterdiği belirlenmiştir (Sobolewska ve ark., 2003; Sadeghi ve ark., 2013).

Sarımsağın antimikrobiyal etkisinin, içerdiği kükürtlü grupların mikroorganizma hücre proteinlerinde bulunan -Sh gruplarıyla oluşturdukları spesifik bağlardan kaynakladığı bildirilmiştir (Kyung, 2011).

Yapılan bir çalışmada *Allium sativum* ekstraktlarının çeşitli antimikrobiyallerle sinerjik hareket ederek *V. cholera*'da çoklu ilaç pompası olan EmrD-3'ün enziminin çalışmasını inhibe ettiği belirlenmiştir (Bruns ve ark., 2017).

Et ürünleri ambalajında kullanılmak üzere polipropilen filmlere kekik esansiyel yağı ve *Allium* ekstresi eklenen bir çalışmada *Allium* ekstresi eklenen polipropilen filmin yüksek oranda antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve gıda kalitesini artırdığı belirlenmiştir (Cabella ve ark., 2018).



BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyalinin eldesi

Çalışmamızda *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum*, *Allium staticiforme* ve *Allium subhirsutum* bitkilerinin bulb, yaprak ve çiçek kısımları Yalova'daki Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden alınmıştır. Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı'na getirilen örnekler temizlenerek kurutulmuştur.



Şekil 3.1 *Allium* örnekleri temizlenmesi

3.1.2. Deneylerde kullanılan mikroorganizmalar

Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı koleksiyonunda bulunan *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *S. epidermidis* ATCC 12228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 1029 suşları kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan araç ve gereçler

Deneyler sırasında kullanılan araç ve gereçler Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı ve Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Bu araç ve gereçler Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

İnkübatör (Friocell MMM)	Dijital Kumpas (Stainless Hardened)
Mikropipet 5-50 Ml (ISOLAB)	Mikropipet Ucu
Otoklav (Alp CI-321)	Baget
Elektronik Hassas Tartı	Manyetik Karıştırıcı (IKA RCT Classic)
Petri Kabı Ve Taşıyıcısı	Öze
Liyofilizatör	Pipet
Uv Spektrometre	Cam Balon
Densitometre (Biosan Den-1)	Cam Tüp
Rotary Evaporatör	Beher
Pens	Öğütücü (Premier PRG 259)
Folyo	Mikropipet 100-1000 Ml
Erlenmayer	Filtre Kağıdı

3.1.4. Kullanılan sarf malzemeler

Deney süresince kullanılan sarf malzemeler Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Bu sarf malzeler Tablo 3.2.'de verilmiştir.

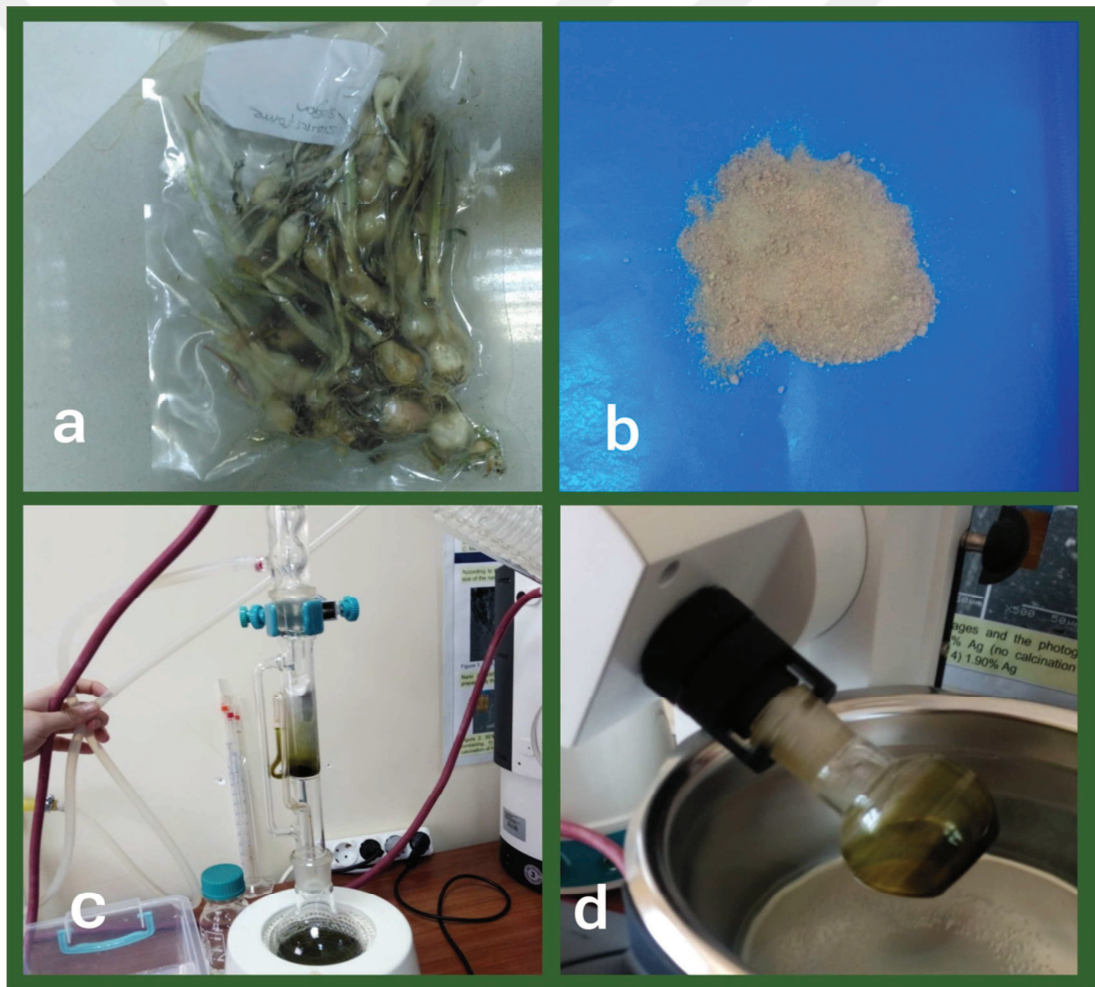
Tablo 3.2. Kullanılan sarf malzemeler

Metanol(MERCK)	Patates Dekstraz Agar
Etanol(MERCK)	Mueller Hinton Agar (MERCK)
Aseton(MERCK)	Koyun Kanlı Agar
DPPH(MERCK)	Distile su
Steril plastik petri	Gentamisin
Antibiyotik Diskler (MERCK)	Basitrasin
Triptik Soy Broth (MERCK)	Eküvyon Çubuk
Parafilm	Flukonozol
Numune kabı	Streç film
Tartım kabı	Otoklav poşeti

3.1. Yöntem

3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Toplanan bitki örnekleri 48 saat boyunca liyofilizatörde kurutulmuştur. Kurutulan örnekler vakumlanarak çalışılacağı zamana kadar -10°C 'de derin dondurucuda saklanmıştır. Bitki örnekleri toz haline getirildikten sonra 10 g tartılarak kartujlara konulmuştur. Kartuşlar soxhlet cihazına yerleştirilerek 12 saat boyunca metanol ve aseton çözücülerinde ekstrakte edilmiştir.



Şekil 3.2. Bitki ekstraktının hazırlanması, a) liyofilizatörde kurutma, b) öğütme, c) ekstraksiyon, d) uçurma, işlemleri.

3.2.2. Çözücülerin uzaklaştırılması

Whatman kağıdı yardımıyla cam balonlara süzülen bitki ekstraktlarının 40- 45° C’de rotary evaporatörde çözücülerini uzaklaştırılmıştır. İşlem öncesinde ve sonrasında kullanılan balonların tartımları yapılmıştır. Ekstrakt miktarları belirlenen numunelerden 6400 µg/mL konsantrasyonda antimikrobiyal aktivite deneyleri için ve 5000 µg/mL konsantrasyonda antioksidan aktivite deneyleri için stoklar hazırlanmıştır.

3.2.3. Besiyerlerinin hazırlanması

Besiyeri olarak Triptik Soy Broth, Mueller Hinton Agar, Koyun Kanlı Agar ve Patates Dekstroz Agar kullanılmıştır. Laboratuvar ortamında aseptik şartlar altında dehidre Triptik Soy Broth, Mueller Hinton Agar ve Patates Dekstroz Agar hazırlanmıştır. Kanlı Agar besiyeri ise hazır olarak kullanılmıştır. Triptik Soy Broth besiyerini hazırlamak için 30 g toz besiyeri üzerine distile su ilave edilerek 1000 mL’ye tamamlanmıştır. Vida kapaklı kısa deney tüplerinin her birine 5 mL aktararak 121°C’de, 1 atm. basınç altında 15 dakika boyunca steril edilmiştir.

Mueller Hinton Agar besiyeri hazırlamak için 34 g toz besiyeri üzerine distile su ilave edilerek 1000 mL’ye tamamlanmıştır. Erlen mayerde besiyeri çözeltisi iyice karıştırıldıktan sonra alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Besiyerleri 121°C’de, 1 atm. basınç altında 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besiyerleri 50 °C’ye kadar soğutulduktan sonra biyogüvenlik kabinde steril petri kaplarına 4 mm kalınlığında dökülerek katılaşması beklendi.

Patates Dekstroz Agar besiyerini hazırlamak için 39 g toz besiyeri üzerine distile su ilave edilerek 1000 mL’ye tamamlanmıştır. Erlen mayerde besiyeri çözeltisi iyice karıştırıldıktan sonra alüminyum folyo ile ağızları sıkıca kapatılmıştır. Besiyeri 121°C’de, 1 atm. basınç altında 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besiyerleri 50 °C’ye kadar soğutulduktan sonra biyogüvenlik kabininde steril petri

kaplarına 4 mm kalınlığında dökülerek katılaşması beklendi. Hazırlanan tüm besiyerleri kullanılana kadar +4°C’de buzdolabında saklanmıştır.

3.2.4. Kullanılan kimyasalların hazırlanması

%0,004’lük DPPH çözeltisi: 20 mg 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl reaktifi 500 mL metanol ile çözülerek elde edilmiştir.

1 mg/mL Askorbik asit: 20 mL metanol içerisinde 20 mg Askorbik asit eklenerek hazırlanmıştır.

%50’lik Folin-Ciocalteu reaktifi: 1000 mL distile su ile 1000 mL Folin-Ciocalteu reaktifi karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.2.5. Test Mikroorganizmalarının hazırlanması

Çalışmada kullanılacak olan bakteri suşları Triptik Soy Broth besiyerine, mantar suşu ise Patates Dekstroz Broth besiyerine aktarılmış ve 37°C’de 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. Aktifleştirilen bakteriler Koyun Kanlı Agara mantarlar ise Patates Dekstroz Agara azaltma yöntemi ile ekilerek 37°C’de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Elde edilen taze kültürlerden alınan mikroorganizmalar 9 mL’lik Triptik Soy Broth besiyeri içeren tüplere inokule edilerek 0,5 McFarland (10^8 CFU/mL) mikroorganizma yoğunluğu ayarlanmıştır.

3.2.6. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

3.2.6.1. Disk difüzyon yöntemi

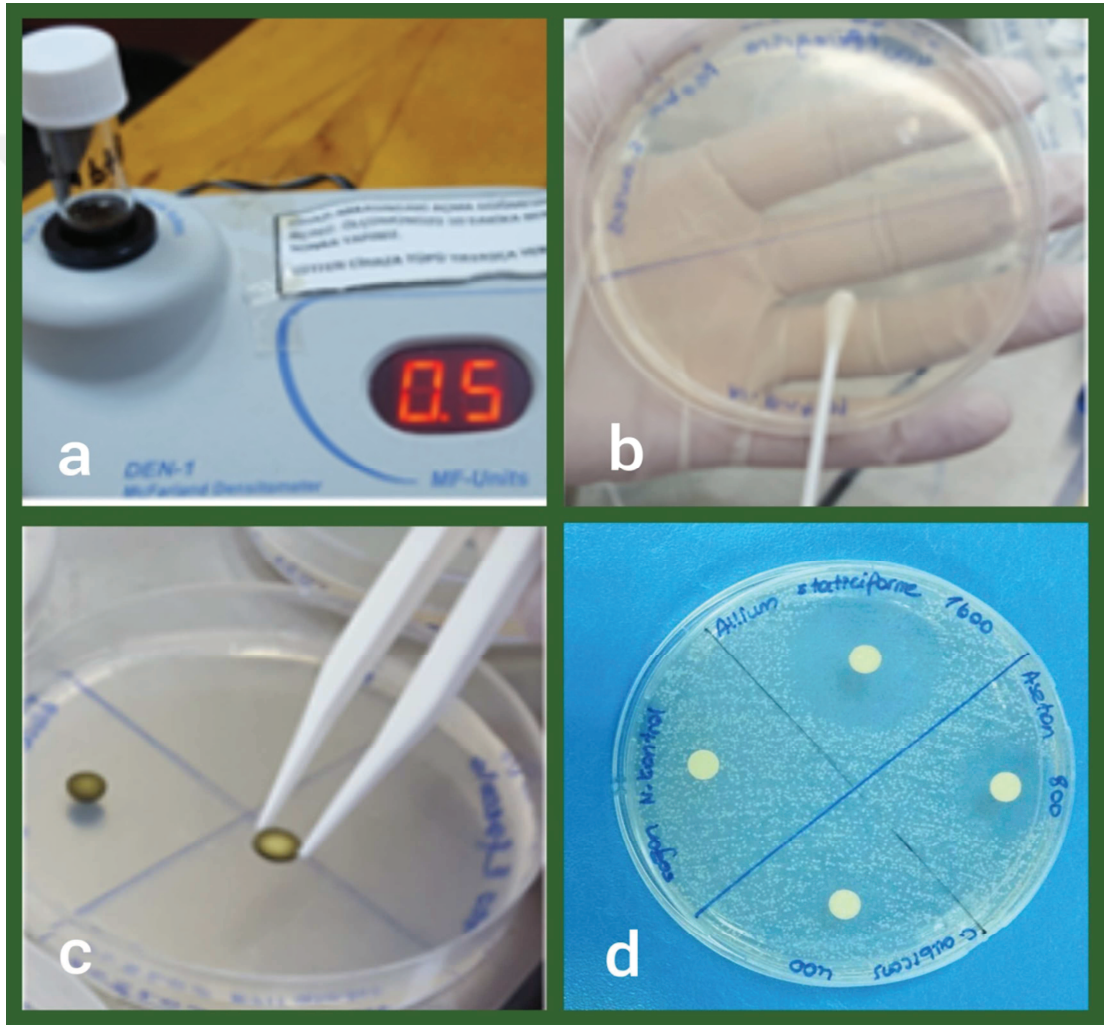
Antimikrobik aktivitenin ölçümü için en yaygın kullanılan yöntem disk difüzyon testidir. Kirby – Bauer disk difüzyon yöntemi antibiyotiklere duyarlılığın saptanması amacıyla uygulanan klasik bir kalitatif yöntemdir. Bu yöntemde farklı antimikrobiyal maddelerin bilinen miktarını içeren diskler, 0,5 McFarland yoğunluğundaki mikroorganizma süspansiyonu inoküle edilmiş Müeller Hinton Agar yüzeyine yerleştirilir. Mikroorganizmanın üremesi (maddeye direnç) veya ürememesi (maddeye duyarlı) gözlenir. İnkübasyon sonrasında disk etrafındaki inhibisyon zon çapı ölçülerek maddenin bakteriyeye etkisi belirlenir (Strohl ve ark., 2006).

3.2.6.2. Deneyin yapılışı

Çalışmada hazırlanan bitki ekstraktlarına belirli oranlarda metanol ve aseton çözücülerini eklenerek istenilen konsantrasyonlar (6400 µg/mL, 3200 µg/mL, 1600 µg/mL, 800 µg/mL) hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraktlardan her bir diske 10 µL emdirilerek 24 saat oda sıcaklığında steril biyogüvenlik kabinde kurumaya bırakılmıştır. 0,5 McFarland yoğunluğunda hazırlanan mikroorganizma süspansiyonundan Mueller Hinton Agar katı besiyerlerine steril eküvyon yardımıyla aseptik şartlarda ekim yapılmıştır. Hazırlanan diskler mikroorganizma ekilmiş Mueller Hilton Agar besiyerlerine yerleştirilerek 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Negatif kontrol olarak her ekstraktın hazırlandığı çözücü disklere emdirilmiştir. Pozitif kontrol olarak Gentamisin ve Amfoterisin B yüklü diskler kullanılmıştır. Her suş ve ekstrakt için bu çalışma üç paralel olarak tekrarlanmıştır.

3.2.6.3. Zon çaplarının ölölmesi

37°C’de 24 saat inkübasyon sonunda bitki ekstraktlarının mikroorganizmalara karşı antibakteriyel aktivitesinin olup olmadığının belirlenmesi için disk etrafındaki inhibisyon zon çapları (mm) dijital kumpas ile ölölmüştür. İnhibisyon zon çaplarına bakılarak bitki ekstraktlarının çalışmada kullanılan mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir.



Şekil 3.3. Disk difüzyon metodunda, a) mikroorganizma yoğunluğunun belirlenmesi, b) hazırlanan mikroorganizma süspansiyonunun petriye ekimi, c) ekstrakt emdirilmiş disklerin yerleştirilmesi, d) inhibisyon zon çaplarının ölümü asamaları

3.2.7. Toplam fenolik maddenin belirlenmesi

Toplam fenolik madde tayini Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Singleton ve Rossi (1965) Folin-Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek çalışılmıştır. Hazırlanan ekstraktan 100 µL alınarak, 200 µL %50'lik Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiş ve 2 dakika bekletilmiştir. Üzerine 1 mL %2'lik Na₂CO₃ çözeltisi eklenerek 1 saat karanlıkta bekletilmiş ve 760 nm'de absorbansları okunmuştur. Örneğin toplam fenolik madde içeriği galik asit standartı kullanılarak mg/ 100g cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.8. Antioksidan aktivite

1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH) radikal süpürme testi ilk olarak 1958'de Blois tarafından tarif edilmiş ve daha sonra çok sayıda araştırmacı tarafından modifiye edilerek uygulanmıştır. Bitki örnekleri için en yaygın kullanılan antioksidan analizlerinden biridir (Krishnaiah ve ark., 2011). Farklı konsantrasyonda hazırlanan ekstraktlardan (250-1750 µg/mL) ve standart çözeltilerden 1 mL alınarak, üzerine 1 mL %0,04'lük DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. Vortekslendikten sonra oda koşullarında karanlıkta 30 dk bekletilmiş ve 517 nm'de absorbansları okunmuştur. Kontrol, 1 mL metanol çözücüsüne 1 mL DPPH eklenerek hazırlanmıştır. Standart olarak Askorbik asit konsantrasyonları kullanılmıştır. Örneğin antioksidan aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak (Denklem 3.1) hesaplanmıştır. %50 inhibisyonu sağlayan konsantrasyon değeri (IC₅₀) ekstre konsantrasyonuna karşılık gelen inhibisyon değeri grafiğinden hesaplanarak bulunmuştur.

$$\% \text{ DPPH giderme aktivitesi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (3.1)$$

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Antimikrobiyal aktivite sonuçları

Allium scorodoprasum L. subsp. *rotundum*, *Allium staticiforme* ve *Allium subhirsutum* kısımlarından (bulb, yaprak ve çiçek) elde edilen ekstraktların *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *S. epidermidis* ATCC 12228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 1029 mikroorganizma suşlarına karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir.

Hazırlanan ekstraktlar içerisinde en yüksek antimikrobiyal aktivitenin *Allium staticiforme* bulb aseton ekstraktında olduğu gözlemlenmiştir. *Allium staticiforme* ve *Allium subhirsutum* ekstraktlarının *Candida albicans* üzerinde güçlü antifungal aktivite gösterdiği saptanmıştır. *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum* ile hazırlanan ekstraktlarının kullanılan test mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği gözlenmiştir.

Bitki kısımları arasındaki antimikrobiyal etkiye bakıldığında en yüksek aktivitenin bulblardan elde edilen ekstraktlarda olduğu görülmüştür. Çiçeklerden elde edilen ekstraktların daha çok *Candida albicans* üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir.

Allium subhirsutum ile hazırlanan ekstraktların *B. subtilis* bakterisi dışında geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *Allium staticiforme* bulblarının aseton ile hazırlanan ekstraktın tüm test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

4.1.1. *Allium subhirsutum* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi

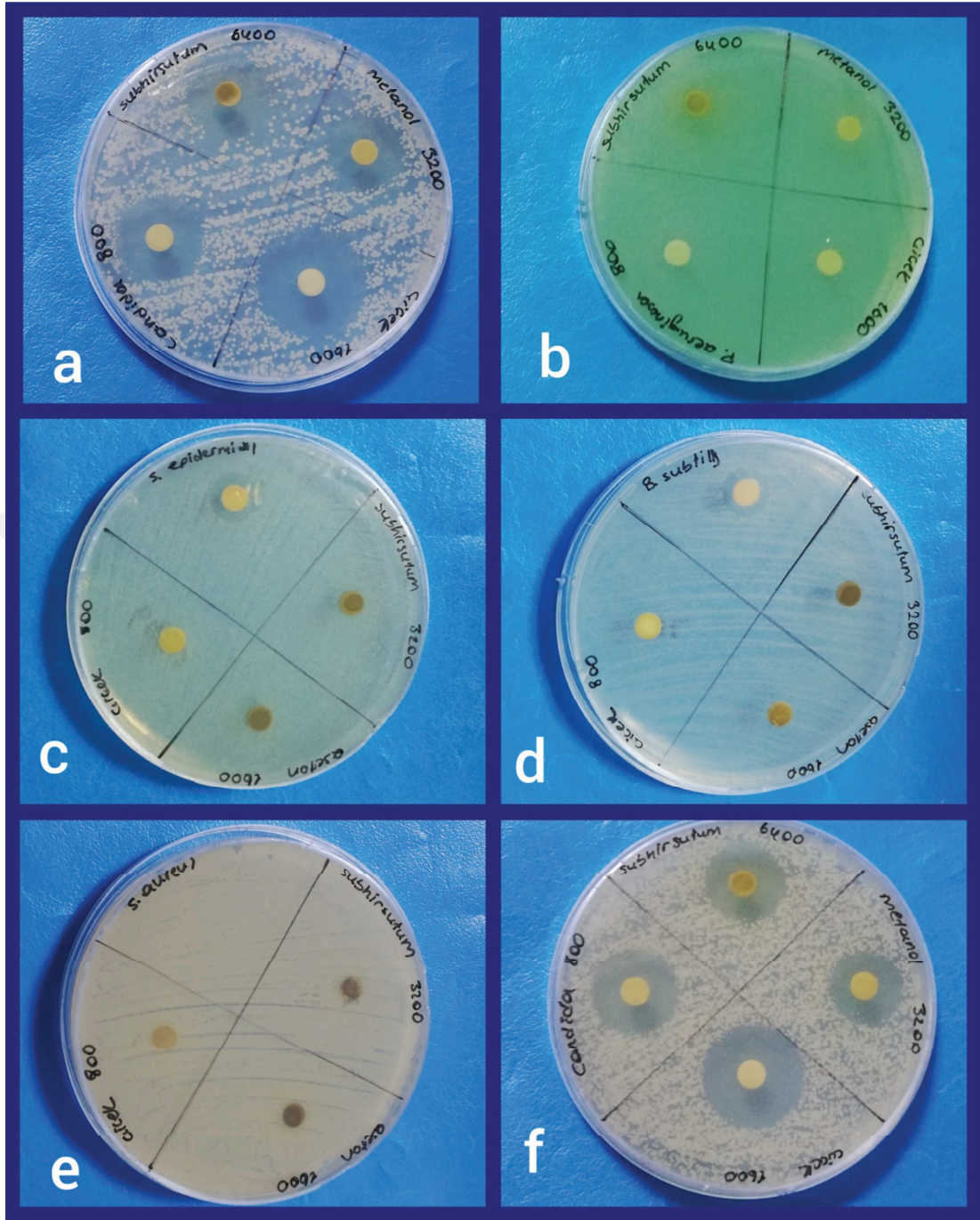
Allium subhirsutum bulb, yaprak ve çiçek kısımlarından hazırlanan aseton, metanol ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir.

Tablo 4.1. *Allium subhirsutum* çiçek ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisi

İnhibisyon Zon Çapı											
Test Suşları	Metanol Ekstrakt(µg/mL)				Aseton Ekstrakt(µg/mL)					Antibiyotik	
	6400	3200	1600	800	6400	3200	1600	800	N.K	GC	AMB
<i>B. subtilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	-
<i>C. albicans</i>	20,5	18,5	20	0	12,8	0	0	0	0	-	16
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	-
<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	-
<i>P.aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	-
<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	-
<i>S. epidermdis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	-
<i>S.typhimurium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	-

N.K: Negatif kontrol, GC: Gentamisin, AMB: Amfoterisin B, ‘-’: çalışılmadı.

Tablo 4.1.’de elde edilen ekstraktların *C. albicans* üzerinde güçlü antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ekstraktların kullanılan bakteriler üzerinde antibakteriyel etkisinin olmadığı saptanmıştır. Metanol ile hazırlanan ekstraktın daha yüksek antifungal aktivite gösterdiği gözlenmiştir.



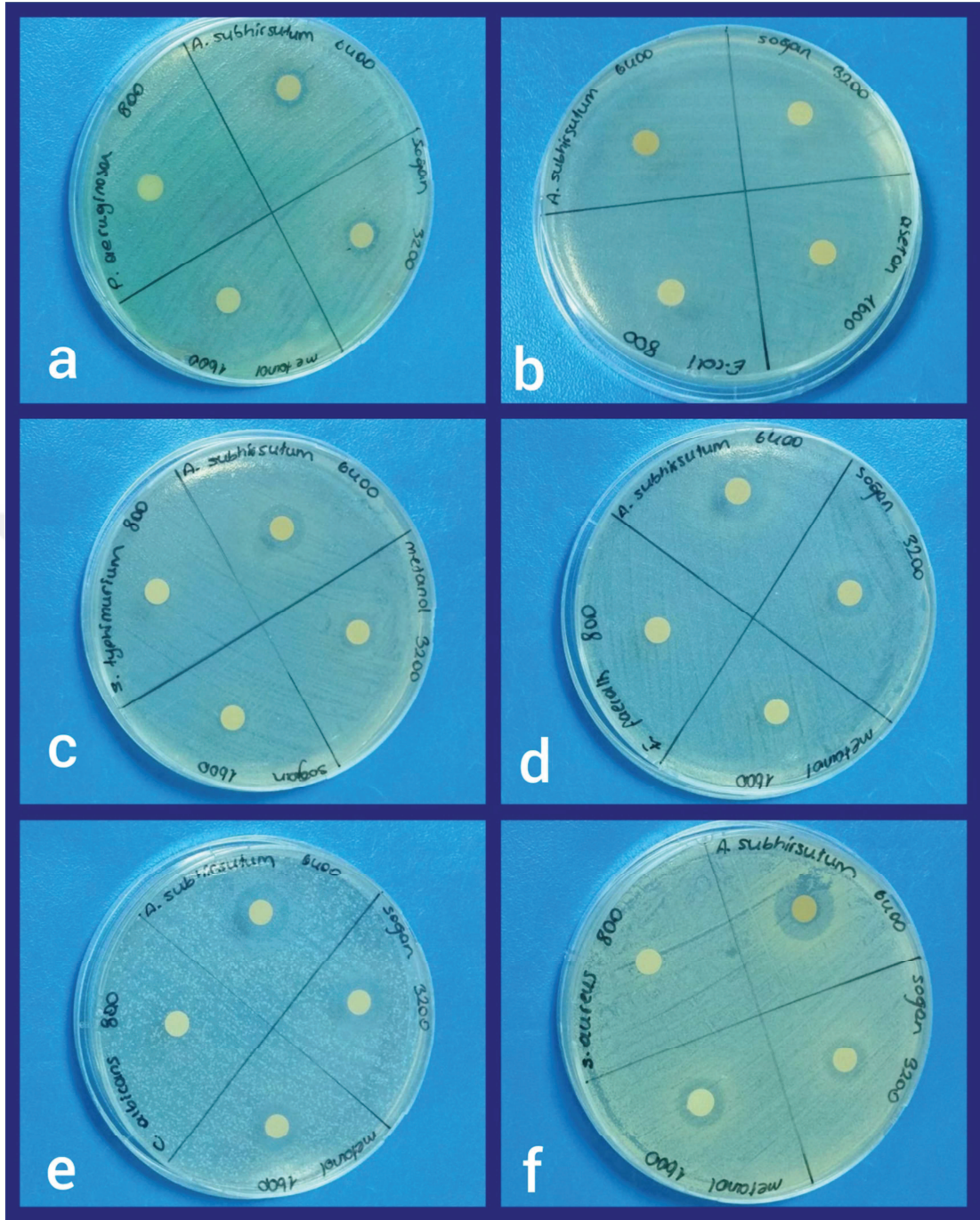
Şekil 4.1. *Allium subhirsutum* ekstraktlarının a) *C. albicans*, b) *P. aeruginosa*, c) *S. epidermidis*, d) *B. subtilis*, e) *S. aureus*, f) *C. albicans* suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi

Tablo 4.2 *Allium subhirsutum* bulb ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisi

Test Suşları	İnhibisyon Zon Çapı										
	Metanol Ekstrakt(µg/mL)				Aseton Ekstrakt(µg/mL)				Antibiyotik		
	6400	3200	1600	800	6400	3200	1600	800	N.K	GC	AMB
<i>B. subtilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	-
<i>C. albicans</i>	13,8	10,7	7,2	0	8,6	6	0	0	0	-	16
<i>E. coli</i>	8,2	6	0	0	7	0	0	0	0	19	-
<i>E. faecalis</i>	8,2	6,2	0	0	8,7	6	0	0	0	20	-
<i>P.aeruginosa</i>	9,7	7,8	0	0	6,8	0	0	0	0	22	-
<i>S. aureus</i>	8,3	0	0	0	9,3	6,6	0	0	0	20	-
<i>S. epidermidis</i>	13,1	10,2	6,7	0	8,5	6	0	0	0	21	-
<i>S. typhimurium</i>	9,9	7,6	0	0	7,8	0	0	0	0	21	-

N.K: Negatif kontrol, GC: Gentamisin, AMB: Amfoterisin B, '-': çalışılmadı

Tablo 4.2.'de en yüksek antimikrobiyal aktivite metanol ile hazırlanan ekstrakta, *C. albicans* suşu üzerinde görülmüştür. Metanol ile hazırlanan ekstraktların test mikroorganizmaları üzerinde daha yüksek oranda antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Tüm konsantrasyonların *B. subtilis* bakteri üzerinde antimikrobiyal etki göstermediği saptanmıştır.



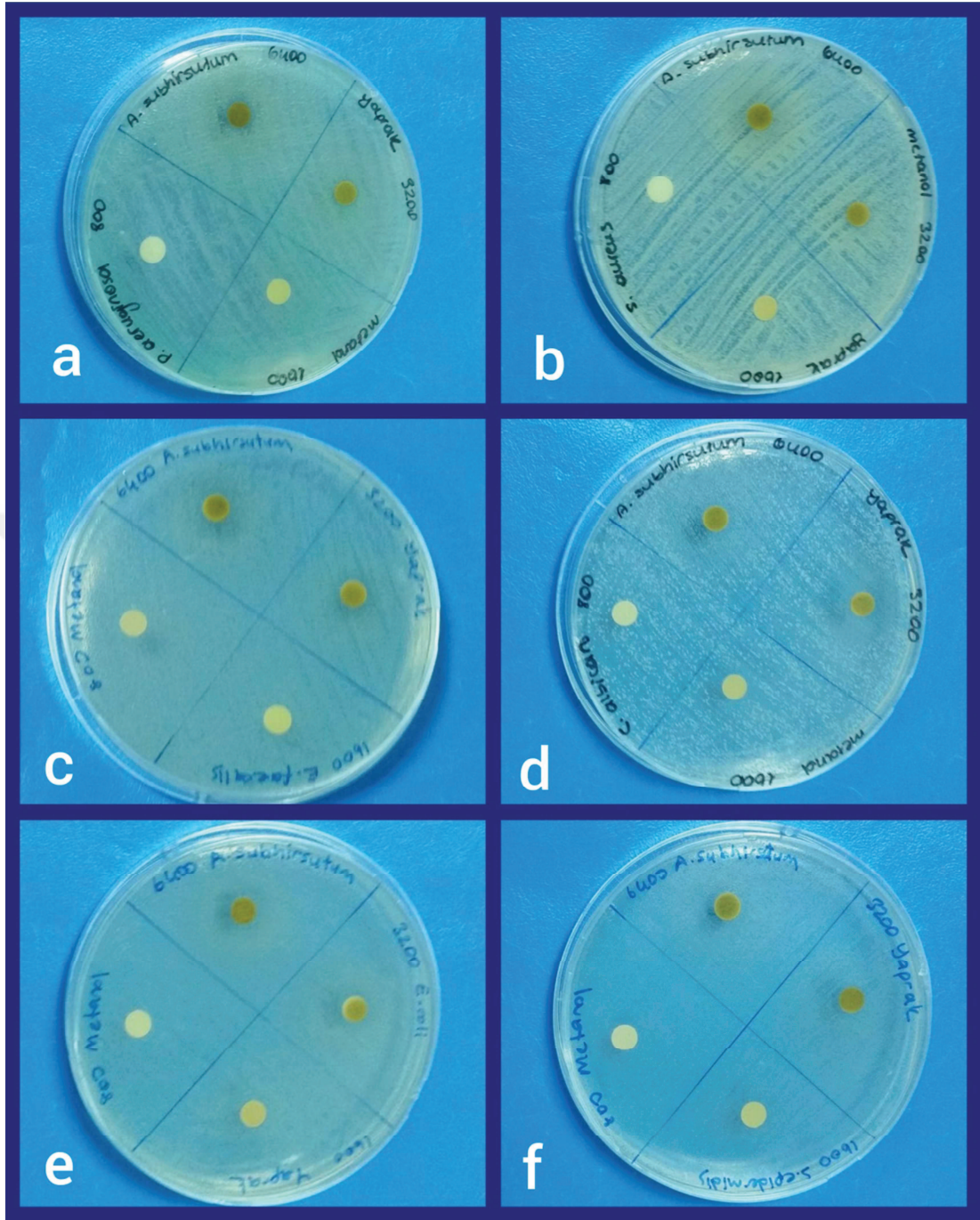
Şekil 4.2. *Allium subhirsutum* bulb ekstraktlarının a) *P. aeruginosa*, b) *E. coli*, c) *S. typhimurium*, d) *E. faecalis*, e) *C. albicans*, f) *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal aktivitesi

Tablo 4.3. *Allium subhirsutum* yaprak ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisi

Test Suşları	İnhibisyon Zon Çapı										
	Metanol Ekstrakt($\mu\text{g/mL}$)				Aseton Ekstrakt($\mu\text{g/mL}$)				Antibiyotik		
	6400	3200	1600	800	6400	3200	1600	800	N.K	GC	AMB
<i>B. subtilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	-
<i>C. albicans</i>	8,6	6,6	0	0	0	0	0	0	0	-	16
<i>E. coli</i>	6,5	0	0	0	0	0	0	0	0	19	-
<i>E. faecalis</i>	8,7	7	0	0	0	0	0	0	0	20	-
<i>P.aeruginosa</i>	8,3	0	0	0	0	0	0	0	0	22	-
<i>S. aureus</i>	6,5	0	0	0	0	0	0	0	0	20	-
<i>S. epidermidis</i>	9,2	7,8	0	0	0	0	0	0	0	21	-
<i>S. typhimurium</i>	9,3	7,5	0	0	0	0	0	0	0	21	-

N.K: Negatif kontrol, GC: Gentamisin, AMB: Amfoterisin B, ‘-’: çalışılmadı

Tablo 4.3.’de metanol ile hazırlanan 6400 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki ekstraktın düşük düzeyde antimikrobiyal etki gösterdiği saptanmıştır. Aseton ile hazırlanan ekstraktın kullanılan test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir.



Şekil 4.3. *Allium subhirsutum* ekstraktlarının a) *P. aeruginosa*, b) *S. aureus*, c) *E. faecalis*, d) *C. albicans*, e) *E. coli*, f) *S. epidermidis* suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi.

4.1.2 *Allium staticiforme* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi

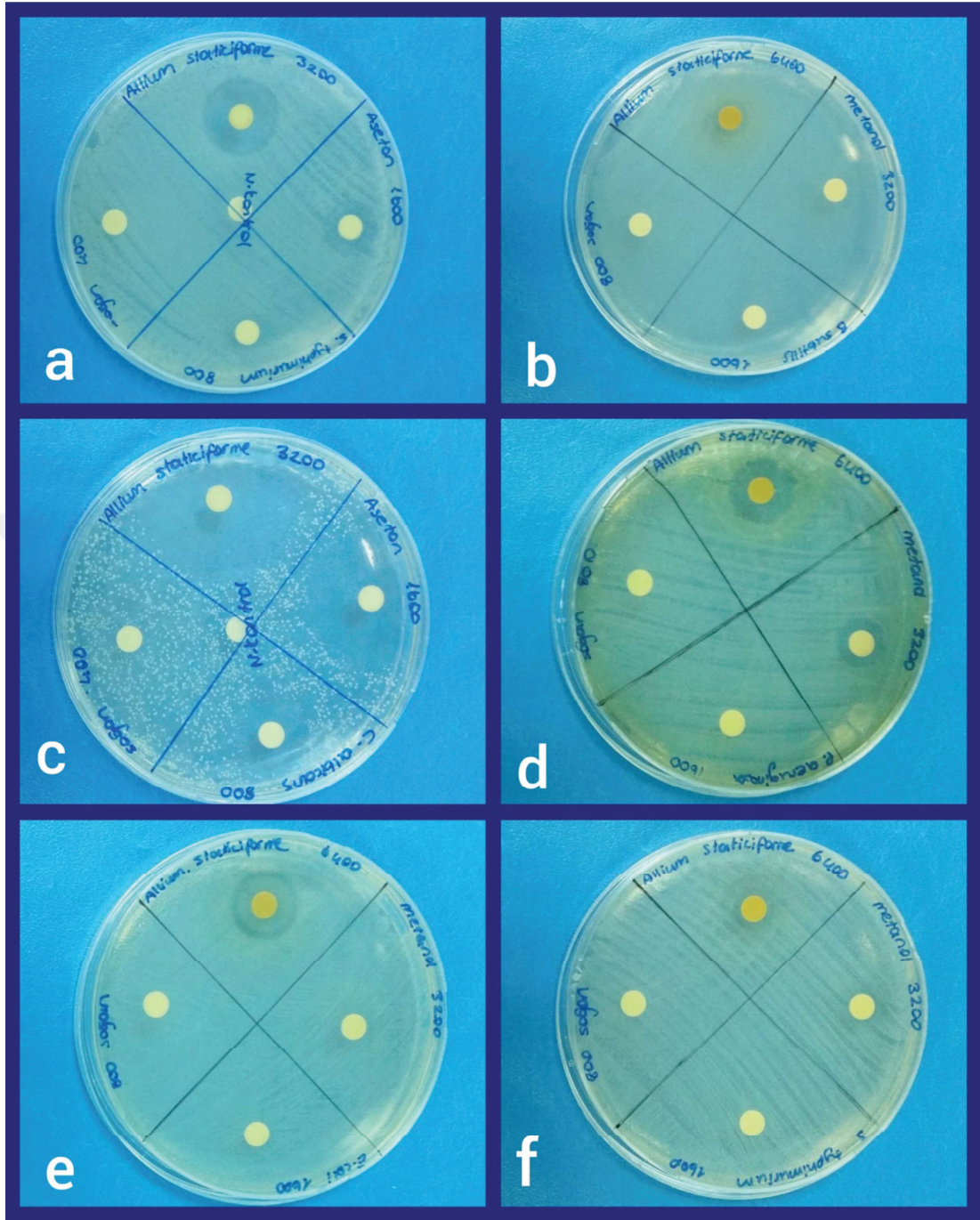
Allium staticiforme soğan, yaprak ve çiçek kısımlarından hazırlanan aseton, metanol ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir.

Tablo 4.4. *Allium staticiforme* çiçek ekstraktların test mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisi

Test Suşları	İnhibisyon Zon Çapı										
	Metanol Ekstrakt(µg/mL)				Aseton Ekstrakt(µg/mL)				Antibiyotik		
	6400	3200	1600	800	6400	3200	1600	800	N.K	GC	AMB
<i>B. subtilis</i>	9,3	0	0	0	12,1	0	0	0	0	17	-
<i>C. albicans</i>	24,1	13,4	10,3	0	27	19	13,2	0	0	-	16
<i>E. coli</i>	12,4	0	0	0	12	9,6	7,2	0	0	19	-
<i>E. faecalis</i>	10,1	0	0	0	10	0	0	0	0	20	-
<i>P.aeruginosa</i>	7,4	0	0	0	8	0	0	0	0	22	-
<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	-
<i>S. epidermidis</i>	11,5	9	0	0	10,2	0	0	0	0	21	-
<i>S. typhimurium</i>	7,5	0	0	0	10,8	9	0	0	0	21	-

N.K: Negatif kontrol, GC: Gentamisin, AMB: Amfoterisin B, '-': çalışılmadı

Tablo 4.4.'de hazırlanan ekstraktların *C. albicans* üzerinde yüksek oranda antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Aseton 6400 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan ekstraktın *B. subtilis* üzerine 12,1 mm, *E. coli* üzerine 12 mm, *S. typhimurium* üzerine 10,8 mm, *S. epidermidis* üzerine 10,2 mm ve *C. albicans* üzerine 27 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu saptanmıştır. Ekstraktların *S. aureus* bakterisi üzerinde antimikrobiyal etki göstermediği gözlenmiştir.



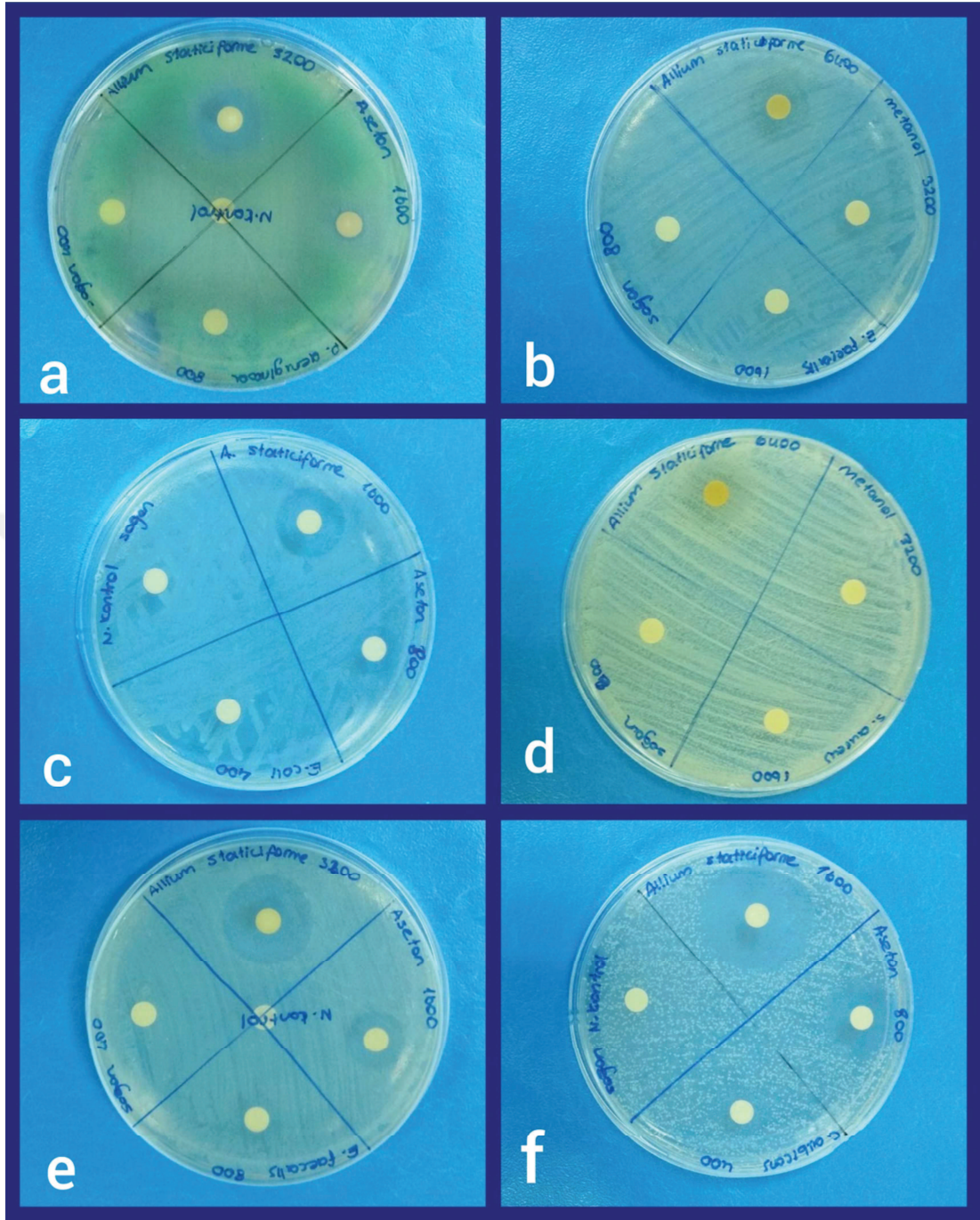
Şekil 4.4. *Allium staticiforme* ekstraktlarının a) *S. typhimurium*, b) *B. subtilis*, c) *C. albicans*, d) *P. aeruginosa*, e) *E. coli*, f) *S. typhimurium* suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi

Tablo 4.5. *Allium staticiforme* bulb ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisi

Test Suşları	İnhibisyon Zon Çapı										
	Metanol Ekstrakt($\mu\text{g/mL}$)				Aseton Ekstrakt($\mu\text{g/mL}$)				Antibiyotik		
	6400	3200	1600	800	6400	3200	1600	800	N.K	GC	AMB
<i>B. subtilis</i>	8,2	0	0	0	-	10,2	6	0	0	17	-
<i>C. albicans</i>	28,2	21	7	0	-	36	30	16	0	-	16
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	-	21	15,8	8	0	19	-
<i>E. faecalis</i>	8,5	0	0	0	-	10	8,2	6	0	20	-
<i>P.aeruginosa</i>	8,8	7	0	0	-	11	8,2	6	0	22	-
<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	-	8	6	0	0	20	-
<i>S. epidermidis</i>	8,2	0	0	0	-	8,8	6	0	0	21	-
<i>S. typhimurium</i>	9,7	6,5	0	0	-	12,5	8	0	0	21	-

N.K: Negatif kontrol, GC: Gentamisin, AMB: Amfoterisin B, '-': çalışılmadı

Tablo 4.5.'de hazırlanan ekstraktların test mikroorganizmaları üzerinde geniş spektrumda antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Aseton 3200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda hazırlanan ekstraktın *C. albicans* üzerinde 36 mm, *E. coli* üzerinde 21 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu tespit edilmiştir. Metanol ekstraktının *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri üzerinde etkisi yokken aseton ekstraktının antibakteriyel etkisi olduğu gözlenmiştir.



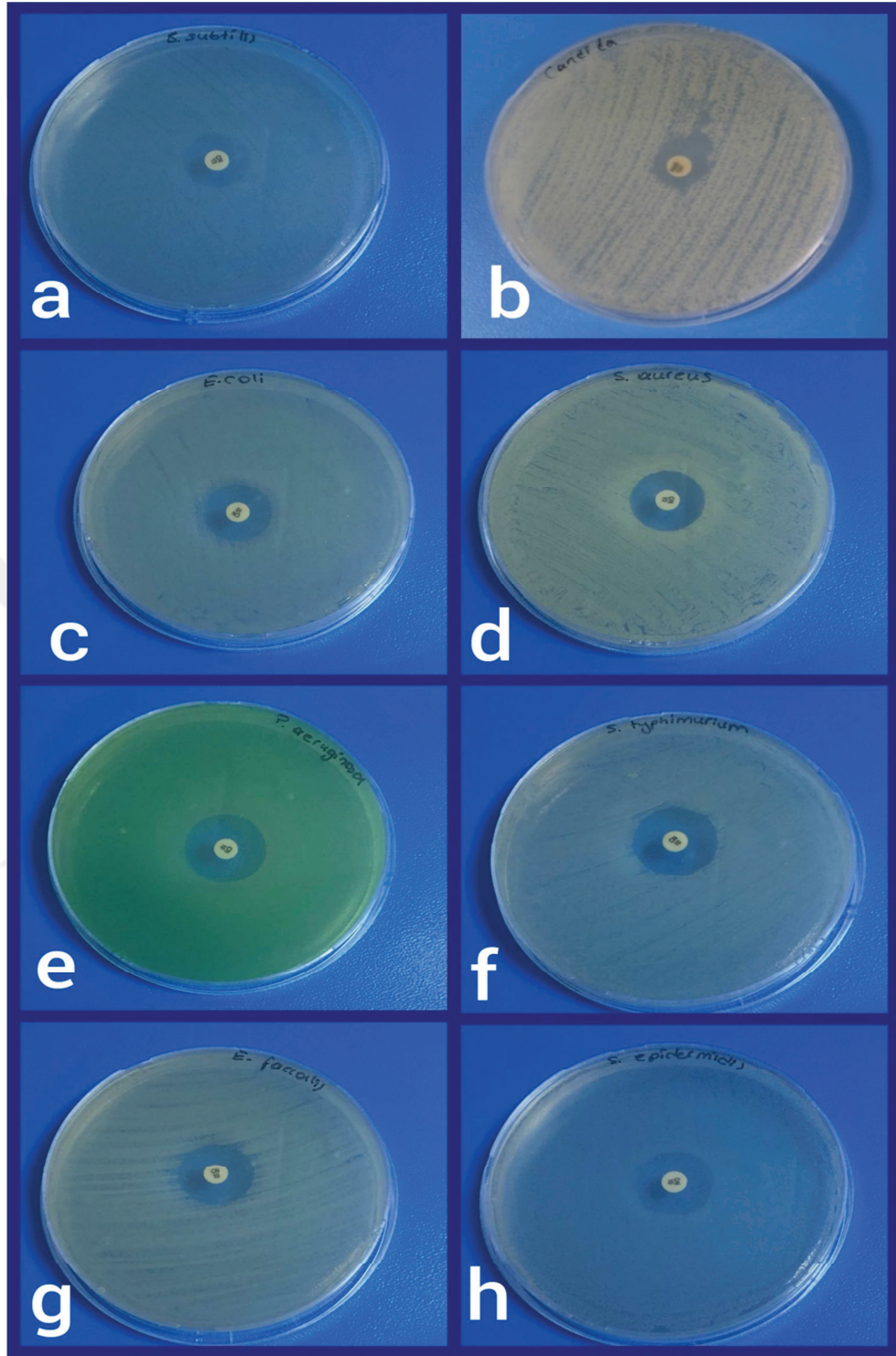
Şekil 4.5 *Allium staticiforme* ekstraktlarının a) *P. aeruginosa*, b) *E. faecalis*, c) *E. coli*, d) *S. aureus*, e) *E. faecalis*, f) *C. albicans* suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi

Tablo 4.6. *Allium staticiforme* yaprak ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisi

İnhibisyon Zon Çapı											
Test Suşları	Metanol Ekstrakt(µg/mL)				Aseton Ekstrakt(µg/mL)				Antibiyotik		
	6400	3200	1600	800	6400	3200	1600	800	N.K	GC	AMB
<i>B. subtilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	-
<i>C. albicans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	16
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	-
<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	-
<i>P.aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	-
<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	-
<i>S. epidermdis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	-
<i>S. typhimurium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	-

N.K: Negatif kontrol, GC: Gentamisin, AMB: Amfoterisin B, ‘-’: çalışılmadı

Tablo 4.6.’da kullanılan ekstraktların test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal etkisinin olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4.6. Antibiyotiklerin a) *B. subtilis*, b) *C. albicans*, c) *E. coli*, d) *S. aureus*, e) *P. aeruginosa*, f) *S. typhimurium*, g) *E. faecalis*, h) *S. epidermidis* üzerindeki etkisi

4.1.3. *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum* antimikrobiyal aktivitesi

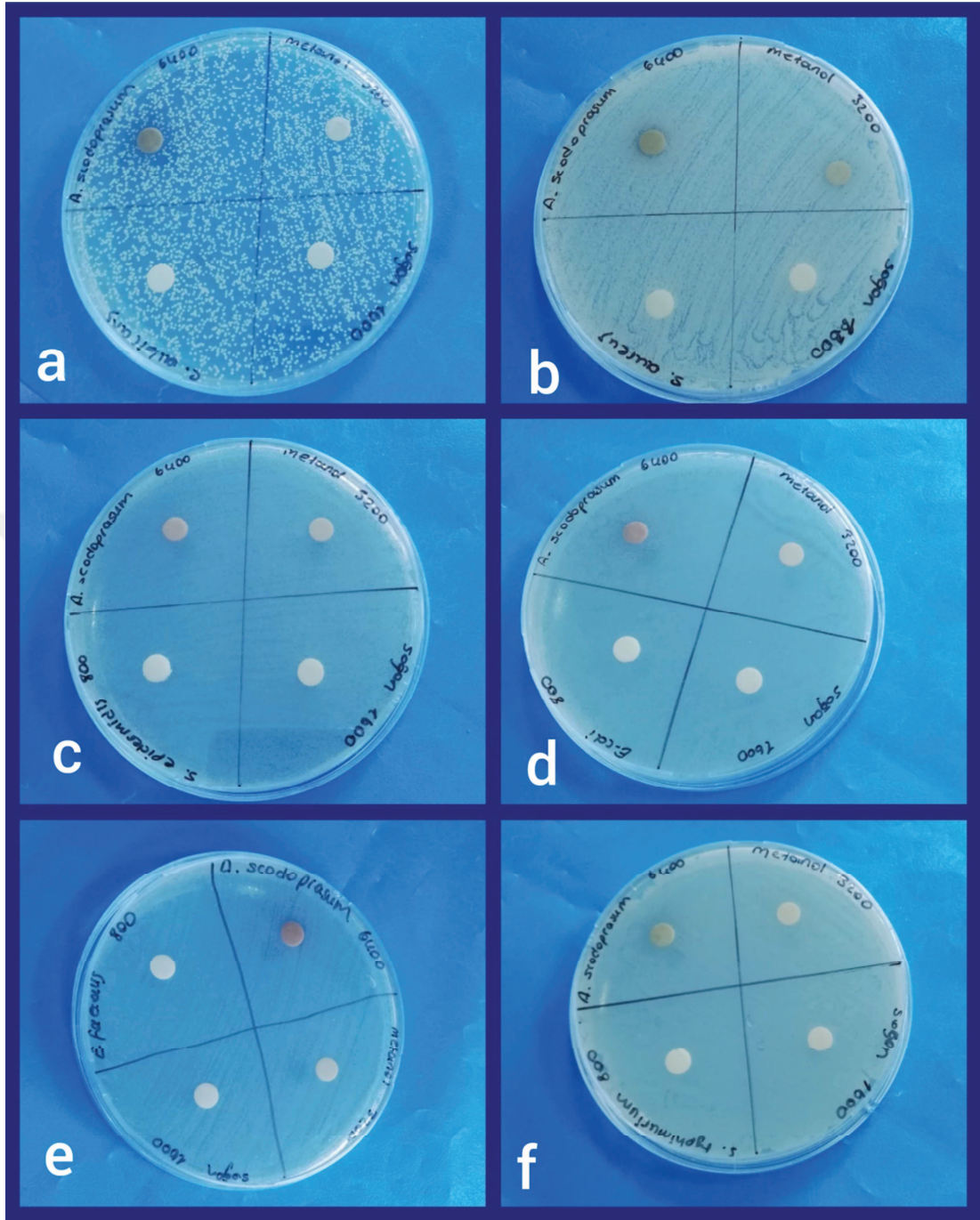
Allium scorodoprasum L. subsp. *rotundum* bulb ve çiçeklerinden elde edilen metanolik ekstraktların test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir.

Tablo 4.7. *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum* bitkisinin antimikrobiyal etkisi

N.K: Negatif kontrol, GC: Gentamisin, AMP: Amfoterisin B, ‘-’: çalışılmadı

İnhibisyon Zon Çapı											
Test Suşları	Bulb Metanol(µg/mL)				Çiçek Metanol(µg/mL)				Antibiyotik		
	6400	3200	1600	800	6400	3200	1600	800	N.K	GC	AMB
<i>B. subtilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	-
<i>C. albicans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	16
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	-
<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	-
<i>P.aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	-
<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	-
<i>S. epidermdis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	-
<i>S. typhimurium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	-

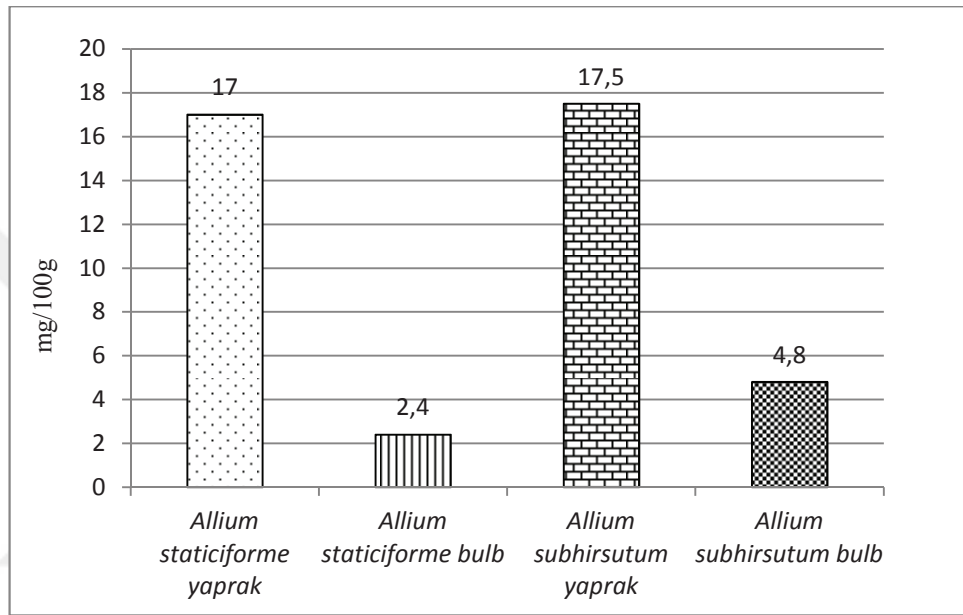
Tablo 4.7.’de *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum* bitkisinden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir.



Şekil 4.7. *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum* ekstraktlarının, a) *C. albicans*, b) *S. aureus*, c) *S. epidermidis*, d) *E. coli*, e) *E. faecalis*, f) *S. typhimurium* suşları üzerindeki antimikrobiyal etkisi

4.2. Toplam Fenolik Madde sonuçları

Toplam fenolik madde tayini Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.8.'de verilmiştir. Örneklerin toplam fenolik madde içeriği galik asit standardı kullanılarak mg/100g cinsinden hesaplanmıştır.



Şekil 4.8. Metanolik ekstraktların toplam fenolik içeriği

Allium subhirsutum metanolik ekstraktlarının fenolik içeriği *Allium staticiforme*'ye göre daha yüksektir. *Allium staticiforme* ve *Allium subhirsutum* yapraklarındaki toplam fenolik madde içeriğinin soğanlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

4.3. Antioksidan aktivite sonuçları

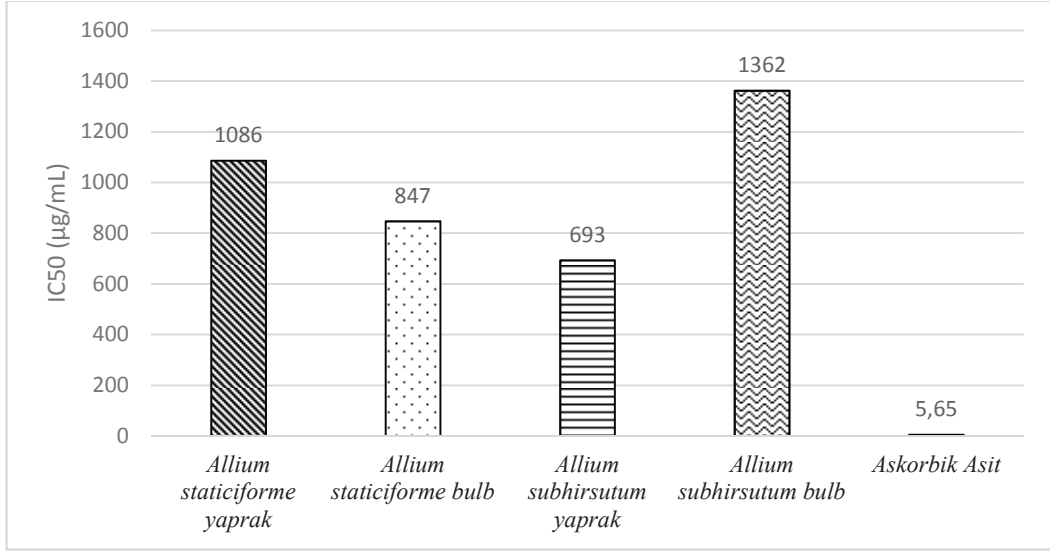
Allium subhirsutum ve *Allium staticiforme* yaprak ve bulblarından elde edilen metanolik ekstraktın 250-1750 µg/mL konsantrasyonlardaki antioksidan aktivitesi incelenmiştir. DPPH absorbansını %50 düşüren konsantrasyon değeri olarak ifade edilen ekstrele ait IC₅₀ değerleri ve yüzde inhibisyon değerleri Tablo 4.8.'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Antioksidan aktivite sonuçları

EKSTRAKT	KONSANTRASYON (µg/mL)							IC ₅₀ (µg/mL)
	250	500	750	1000	1250	1500	1750	
<i>A. subhirsutum</i> yaprak	9	20	34	45	56	68	85	1086
<i>A. subhirsutum</i> bulb	7	23	41	59	81	-	-	847
<i>A. staticiforme</i> yaprak	12	28	58	76	89	-	-	693
<i>A. staticiforme</i> bulb	0	2	10	15	55	76	-	1362

-:sonuç alınamamıştır,

Tablo 4.8.'de en yüksek antioksidan aktivitenin (693 µg/mL) *Allium staticiforme* yapraktan elde edilen metanolik ekstrakta olduğu belirlenmiştir. Antioksidan aktivite en yüksekten sırasıyla *Allium staticiforme* yaprak, *Allium subhirsutum* bulb, *Allium subhirsutum* yaprak, *Allium staticiforme* bulb olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.8.'de kontrol olarak kullanılan askorbik asitle ekstraktlar karşılaştırıldığında çalışmada kullanılan bitkilerin düşük antioksidan aktivite içerdiği gözlenmiştir.



Şekil 4.9. Antioksidan aktive sonuçları

BÖLÜM 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum*, *Allium staticiforme*, *Allium subhirsutum* kısımlarından (bulb, yaprak ve çiçek) elde edilen ekstraktların disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal aktivitesi ve *Allium staticiforme* ve *Allium subhirsutum* (bulb ve yaprak) metanolik ekstraktlarının DPPH yöntemi kullanılarak antioksidan aktivitesi, Folin-Ciocalteu yöntemiyle de toplam fenolik madde miktarı belirlenmiştir.

Dünyadaki bitkilerin üçte ikisi tıbbi özelliklere sahiptir, bu tıbbi bitkilerin büyük bir kısmı güçlü antioksidan kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bitki kaynaklarından elde edilen antioksidan aktivitelerin çoğu, fenolik tipte bileşiklerden türetilmiş olmakla birlikte bu etkiler her zaman büyük miktarlarda fenoliklerin varlığı ile ilişkili değildir. Bu nedenle, her iki veri kümesinin birlikte incelenmesi gerekir (Cai ve ark., 2004).

Bitkilerdeki antioksidan aktiviteyi ölçmede en sık DPPH süpürücü aktivite yöntemi kullanılmaktadır (Tohidi ve ark., 2017). DPPH konsantrasyonunu % 50 oranında azaltmak için gerekli olan antioksidan miktarına IC50 değeri denilmektedir (Do ve ark., 2014). *Allium staticiforme* antioksidan aktivitesinin ilk kez araştırıldığı çalışmamızda IC50 değerlerinin 693-1362 µg/mL aralığında olduğu saptanmıştır. Kullandığımız ekstraktların antioksidan aktivitesi askorbik asitle karşılaştırıldığında *Allium staticiforme* ve *Allium subhirsutum* (bulb ve yaprak) metanolik ekstraktlarının askorbik aside göre düşük antioksidan potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

İtalya'da üç farklı *Allium* türünün bulb, yaprak ve çiçek kısımları %15'lik etanol çözücüsünde 20 ay bekletilerek yıllanmış ekstraktları hazırlanmıştır. 12,5 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan *Allium subhirsutum* bulb, yaprak, çiçek ekstraktlarının % DPPH süpürme aktivitesinin sırasıyla % 5, %15,5 ve %56,4 olduğu rapor edilmiştir.

250 mg/mL konsantrasyondaki *Allium subhirsutum* toplam fenolik değerlerinin bulbda 0,39 mg GA/g, yaprakta 1,22 mg GA/g olduğu bildirilmiştir (Nencini ve ark., 2011).

Çalışmamızda *Allium subhirsutum* bulb ve yaprak ekstraktlarının 1250 µg/mL konsantrasyondaki % DPPH süpürme aktivitesi sırasıyla %81 ve %56 olarak belirlenmiştir. Toplam fenolik madde değeri ise bulbda 4,8 mg GA/g, yaprakta 17,5 mg GA/g olarak tespit edilmiştir. Sonuçlardaki farklılık; ekstrakt hazırlama yöntemi, kullanılan çözücü, ekstrakt yoğunluğu ve bitkinin toplanma yeri gibi değişkenlerden kaynaklanabilir.

Dziri ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada *A. roseum var. odoratissimum* bulblarında elde ettikleri metanolik ekstraktlarının IC50 değerini 815 µg/mL olarak tespit etmişlerdir. *Allium sativum* soğanlarının toplam fenolik miktarı ve antioksidan aktivitesinin incelendiği başka bir çalışmada toplam fenolik değeri 0,98 mg GA/g, IC50 değeri 1003 µg/mL olarak belirlenmiştir (Bozin ve ark., 2008).

Lu ve ark. (2011) *Allium cepa*'nın kırmızı, beyaz, sarı ve tatlı çeşitleri ile *Allium oschaninii* türlerinin toplam fenolik miktarlarını inceledikleri çalışmada, toplam fenolik miktarını 1,4-17 mgGA/g arasında olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki ekstraktların toplam fenolik madde değerleri 2-18 mg GA/g aralığında olduğu belirlenmiştir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde *Allium* türlerinin antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde analiz sonuçlarının çoğunluğu çalışmamızdaki sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Genel olarak toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitenin düşük olması, olgun bulbların uçucu yağında bulunan kükürtlü bileşiklerin ve terpenoid maddelerin artmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Literatürde bitkilerdeki antioksidan aktivite ile fenolik bileşiklerin miktarı arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Do ve ark., 2014; Stanković ve ark., 2015). Ayrıca olumlu bir ilişki olmadığını bildiren çalışmalar da

vardır (Aksoy ve ark., 2013). Bizim çalışmamızda *Allium staticiforme* ekstraktlarının toplam fenolik madde sonuçlarıyla antioksidan aktivite sonuçları arasında pozitif bir ilişki görülmüştür. *Allium subhirsutum* ekstraktlarının toplam fenolikleriyle antioksidan aktiviteleri arasında olumlu bir ilişki olduğu belirlenmemiştir.

Son yıllarda insan ve hayvan sağlığının patojen mikroorganizmalara karşı korunmasına yönelik araştırmalar artmıştır. Gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizmaların varlığına karşı geleneksel yaklaşımlardaki gelişmelere paralel olarak antimikrobiyal aktivite ile ilgili araştırmalar ve bitki uçucu yağlarının potansiyel kullanımı ön plana çıkmıştır. Bu nedenle, farklı patojenlere karşı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi üzerine yoğunlaşan araştırmalar dünya çapında yapılmıştır (Teles Andrade ve ark., 2014).

Najjaa ve ark. (2011) *Allium roseum* L. yaprak, bulb ve çiçeklerinden metanol ve aseton kullanılarak hazırladıkları ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Metanol ile hazırlanan ekstraktların çalışmamızda da olduğu gibi daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Allium sphaerocephalon L. subsp. *sphaerocephalon* esansiyel yağının kimyasal bileşimi, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada, *Allium sphaerocephalon* L. subsp. *sphaerocephalon* esansiyel yağının *P. aeruginosa* ve *C. albicans* üzerinde kullanılan antibiyotiklerden daha güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir (Lazarevic ve ark., 2010). Çalışmamızda *Allium staticiforme*, *Allium subhirsutum* bitkilerinden elde edilen ekstraktların *C. albicans* üzerinde güçlü antifungal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada *Allium sativum* L. ve *Allium porrum* L. esansiyel yağlarının *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerindeki antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda *Allium sativum* esansiyel yağının antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve *Allium porrum* esansiyel yağının antimikrobiyal aktivitesinin olmadığı saptanmıştır (Caselli ve ark., 2013).

Ye ve ark. (2012) *Allium cepa* L. esansiyel yağının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında, esansiyel yağın *E. coli* üzerinde 13,4 *S. aureus* üzerinde 17,4 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğunu belirlemişlerdir. Çalışmamızda *E. coli* üzerinde *A. staticiforme* bulb ekstraktının 21 mm inhibisyon zon çapı, *A. subhirsutum* bulb ekstraktının 7 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar türe göre antibakteriyel etkinin değişebileceğini göstermiştir.

Türkiye'deki medikal bitkilerin antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği bir araştırmada çalışmamızla paralel şekilde *Allium scorodoprasum* bulblarının *E. coli*, *S. aureus* ve *C. albicans* üzerinde antimikrobiyal etki göstermediği bildirilmiştir (Sokmen ve ark., 1999). Başka bir çalışmada *Allium scorodoprasum* yaprak esansiyel yağlarının *E. coli* üzerindeki antibakteriyel aktivitesi incelenmiş ve düşük oranda etki gösterdiği rapor edilmiştir (Köseahmetoğlu 2011). Çalışmamızda *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum* türünün antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir. *Allium scorodoprasum* türlerinin antimikrobiyal ajanlar için potansiyel bir kaynak olmadığını söyleyebiliriz.

Literatür incelemeleri sonucunda *Allium* türlerinin büyük çoğunluğunun antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüş ve antimikrobiyal etkinin genellikle mantarlar üzerinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yaptığımız çalışmada *Allium staticiforme*, *Allium subhirsutum* türlerinin antimikrobiyal aktivitesi ilk kez araştırılmış olup bu bitkilerden elde edilen ekstraktların yüksek antifungal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir.

Birçok bitkiden elde edilen ekstraktların antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri, gıda endüstrisinde büyük ilgi görmektedir. Sentetik koruyucu maddelerin yerine doğal kaynaklarının kullanımı, antimikrobiyal potansiyele sahip olan yeni bitki türlerine ihtiyacı her geçen gün artmaktadır. Bu açıdan bakıldığında bizim çalışmamız, Türkiye florasında doğal olarak bulunan *Allium staticiforme*, *Allium subhirsutum* bitkilerinin yeni bir antimikrobiyal kaynak olarak kullanılabileceğini gösteren ilk çalışmadır.

İleri tetkikler için çalışmamız bir başlangıç noktası olarak değerlendirilebilir. *Allium staticiforme*, *Allium subhirsutum* bulb ve çiçek ham ekstraktlarının yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olan fitokimyasal bileşenler açısından zengin olduğu düşünülmektedir. Biyoaktif fitokimyasal bileşenlerin izolasyonu ve saflaştırılması yapılarak antimikrobiyal aktivitelerinin ve farklı sağlık rahatsızlıklarına karşı diğer iyileştirici özelliklerinin araştırılması önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- Ağaçfıdan, A. 2005. Tıbbi Mikrobiyoloji 2, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, sf. 4,9.
- Ahmetoğlu, M. 2011. *Allium scodoprasum* ve *Allium sativum*'un *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *S. enteridis* üzerine etkisi. Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Ak, S. Gürses, S.A., Eser, B.E. 2016. *Staphylococcus aureus*'un Makrofajlar Tarafından Fagositozu Üzerine Sigara Dumanı Ekstraktının Etkisi Mikrobiyol Bul. 50(2): 205-214.
- Akhtar, N., Haq, İ, Mirza, B. 2015. Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species, Arabian Journal of Chemistry .
- Aksoy, L. Kolay, E., Ağılönü, Y., Aslan, Z., Kargıoğlu, M., 2013. Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*, Saudi Journal of Biological Sciences, 20, 235–239.
- Aktaş, Z. Satana, D., Kayacan, Ç., Can, B., Gönüllü, N., Küçükbasmacı, Ö. 2012. *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Antibiyotik Duyarlılık Oranları ve Beta-Laktam Direnç Mekanizmalarının Tiplendirilmesi, Mikrobiyol Bul; 46(3): 386-397.
- Alvarez, M.A. 2014. Plant Biotechnology for Health, From Secondary Metabolites to Molecular Farming, Springer International Publishing.
- Aral, M., Paköz, N.İ.E., Aral, İ.İ., Doğan, S. 2011. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarının antibiyotik direnci, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 68 (2): 85 – 92.
- Ashraf, A., Sarfraz, R., Rashid, M., Shahid, M. 2015. Antioxidant, antimicrobial, antitumor, and cytotoxic activities of an important medicinal plant (*Euphorbia royleana*) from Pakistan, journal of food and drug analysis 23 109-115.
- Balandrin, M. F., Klocke, J.A. (1988). Medicinal, Aromatic, and Industrial Materials from Plants. Medicinal and Aromatic Plants I, 3–36.

- Barile, E. Bonanomi, G., Antignani, V., Zolfaghari, B., Sajjadi, S.E., Scala, F., Lanzotti, V. 2007. Saponins from *Allium minutiflorum* with antifungal activity, *Phytochemistry* 68:596–603.
- Barker, S. Griffiths, C., Nicklin, J. 2013. Microbiology, Nobel Kitabevi, Ankara.
- Baydar, H. 2005. Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri. SDÜ yayınları Isparta 2005.
- Bilgehan, H. 1995. Klinik Mikrobiyoloji, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, İzmir.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free Radical. *Nature*, 181, 1199–1200.
- Borlinghaus, J. Albrecht, F., Gruhlke, M.C., Nwachukwu, I.D., Slusarenko, A.J. 2014. Allicin: Chemistry and Biological Properties, *Molecules*, 19, 12591-12618.
- Bozin, B. Dukic-Mimica, N., Samojlik, I., Goran, A., Igic, R. 2008. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae) *Food Chemistry* 111 (2008) 925–929.
- Bruns, M.M. Kakarla, P., Floyd, J.T., Mukherjee, M.M. et.al 2017. Modulation of the multidrug efflux pump EmrD-3 from *Vibrio cholerae* by *Allium sativum* extract and the bioactive agent allyl sulfide plus synergistic enhancement of antimicrobial susceptibility by *A. sativum* extract *Arch Microbiol* 199:1103–1112.
- Bucak, Ö. Koçoğlu, E., Taş, T., Tekin, D., Mengeloğlu, F.Z. 2014. *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Agar Tarama ve Mikrodilüsyon Yöntemleri ile Vankomisin Direncinin Araştırılması, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 44(1):28-32.
- Cabella, M. Pichardoa, S., Bermudezc, J.M., Baños, A., Ariza, J.J., Aucejo, S., Guillamón, E., Cameána, M. 2018. Characterisation and antimicrobial activity of active polypropylene films containing oregano essential oil and *Allium* extract to be used in packaging for meat products, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2018 Vol. 35, No. 4, 782–791.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer, *Life Sciences* 74: 2157 – 2184.
- Cassella, S. Leonardi, M., Melai, B., Fratini, F., Pistelli, L. 2013. The Role of Diallyl Sulfides and Dipropyl Sulfides in the In Vitro Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Garlic, *Allium sativum* L., and Leek, *Allium porrum* L. *Phytotherapy Research* *Phytother. Res.* 27: 380–383.
- Choi, H.J. Oh, B.U. 2011. A partial revision of *Allium* (Amaryllidaceae) in Korea and north-eastern China. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 167: 153-211.

- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents, Clinical Microbiology Reviews, p. 564–582.
- Davis, P.H.,1984: Flora of Turkey and the East Aegean Islands. I-X. Edinburg Univ. Press, Edinburg.
- Do, D.Q., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.H., Huynh, H.L., Soetaredjo, E.F., Ismadji, S., Ju, Y.H. 2014 Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*, journal of food and drug analysis 22: 296 -302.
- Dziri, S. Hassen, I., Fatnassi, S., Mrabet, Y., Casabianca, H., Hanchi, M., Hosni, K. 2012. Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. *odoratissimum*), Journal Of Functional Foods 4: 23 – 432.
- Ekşi, G. 2012. Türkiye’de *Allium* L. cinsine ait (sect. *Allium*) endemik türler üzerinde morfolojik ve etnobotanik bir çalışma. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- Friesen, N. (2008). Die gattung *Allium*-Taxonomische Überblick und Wissenschaftliche Sammlung im Botanischen garten der Universität Osnabrück. Osnabrück naturwissenschaftliche Mitteilungen Band 33/34: 95-110.
- Gerber, M., Boutron-Ruault, M.C., Hercberg, S., Riboli, E., Scalbert, A., Siess, M.H. 2002. Food and Cancer: state of the art about the protective effect of fruits and vegetables. Bull Cancer, 89: 293–312.
- Guyonnet, D. Siess. M.H., Bon, A.M., Suschetet, M. 1999. Modulation of Phase II Enzymes by Organosulfur Compounds from *Allium* Vegetables in Rat Tissues, Toxicology and Applied Pharmacology 154, 50–58.
- Güner, A. Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. 2012. Türkiye Bitkileri Listesi. Nezahat Gökyiğit Bptanik Bahçesi ve Flora Araştırma Derneği Yayınları, İstanbul.
- Hirsch, K., Danilenko, M., Giat, J. et. al. 2000. Effect of Purified Allicin, the Major Ingredient of Freshly Crushed Garlic, on Cancer Cell Proliferation. Nutrition And Cancer, 38(2), 245–254.
- Horasan, E., Ersöz, G., Uğuz, G., Emekdaş, G., Kaya, A. 2010. Bakteremi Etkeni Olan *Escherichia coli* İzolatlarının Antimikrobiyal Dirençleri (2004-2009) Flora;15(4):147-152.
- Kaya, E. 2014. Türkiye geofitleri Cilt 1. Atatürk Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Yayın No.96, Yalova.
- Kingsbury, D., Wagner, G. 1990. Mikrobiyoloji, Saray tıp kitab evi, İzmir.

- Koşar, M. Koyuncu M., Başer H.K.C. 2006. Folk use of some wild and cultivated *Allium* species in Turkey, Proceedings of the IVth International Congress of Ethnobotany, İstanbul.
- Kozan, G. 2012. *Allium sativum* L. (Kastamonu ve Denizli yerel) bitkisinin uçucu yağlarının kimyasal bileşimi, antibakteriyel ve antioksidan aktivitesinin karşılaştırılması, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü ,Biyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans tezi.
- Köse, Ş. Atalay, S., Ödemiş, İ., Adar, P. 2014. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları, ANKEM Derg ;28(3):100-104.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., Nithyanandam, R. 2012. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species, food and bioproducts processing 8:9 217–233.
- Kyung, H.K. 2012. Antimicrobial properties of *Allium* species. Current opinion in Biotechnology 23: 142-147.
- Lanzotti, V. Scala, F., Bonanomi, G. 2014. Compounds from *Allium* species with cytotoxic and antimicrobial activity. Phytochem Rev. 13:769–791.
- Lazarevic, J.S. Dordevic, A.S., Zlatkovic, B.K., Radulovic, S.N., Palic, R.M. 2010. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Allium sphaerocephalon* L. subsp. *sphaerocephalon* (Liliaceae) inflorescences. J Sci Food Agric; 91: 322–329.
- Leaman, D. 2006. Sustainable Wild Collection Of Medicinal And Aromatic Plants, Development Of An International Standard. Medicinal and Aromatic Plants,chapter 7,s. 97-107.
- Lu, X. Wang, J.,Al- Qadiri, H.M., Ross, C.F., Powers, J. R., Tang, J., Rasco, B.A. 2011. Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy Food Chemistry 129: 637–644.
- Mnayer, D. Tixier-Sylvie, A., Petitcolas, E., Hemieh, T., et al. 2014. Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of Six Essentials Oils from the Alliaceae Family Molecules, 19, 20034-20053.
- Najjaa, Mskhiladze, L, Kutchukhidze, J., Chincharadze, D., Delmas, F., Elias, R., Favel, A. (2008. In vitro antifungal and antileishmanial activities of steroidal saponins from *Allium leucanthum* C Koch—a Caucasian endemic species. Georgian Med News 154:39–43.
- Khaled, Z., Fattouch, S., Ammar, E., Neffati, M. 2011. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Allium roseum* L. “Lazoul,” A Wild Edible Endemic Species in North Africa, International Journal of Food Properties, 14:2, 371-380.

- Nencini, C. Menchiari, A., Franchi, G.G., Micheli L. 2011. In vitro Antioxidant Activity of Aged Extracts of some Italian Allium Species, Plant Foods Hum Nutr (2011) 66:11–16.
- Nurcahyanti, A.D.R. Nasser, I.J., Sporer, F., Wetterauer, B., Kadarso, I.D., Reichling, J., Wink, M. (2018). Essential Oil Composition, In Vivo Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Pimpinella pruatjan from West Java, Indonesia. The Natural Products Journal, 8(1), 61–69.
- Omerovic, M. Müştak, H.K, Kaya, İ.B. 2017. *Escherichia coli* Patotiplerinin Virülens Faktörleri Etlik Vet Mikrobiyol Derg, 28 (1): 1-6.
- Oommen, S. Anto, R.J., Srinivas, G., Karunagaran, D. 2004. Allicin (from garlic) induces caspase-mediated apoptosis in cancer cells, European Journal of Pharmacology 485 ,7 – 103.
- Öztürk, R. Ertop, M., Parça, O., Ergin, Ç. 2013. Hastane personellerinin cep telefonlarında Staphylococcus aureus kolonizasyonunun araştırılması Pam Med J 6(1):18-21.
- Reichling, J. Schnitzler, P., Suschke, U., Saller, R. (2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. Complementary Medicine Research, 16(2), 79–90.
- Ryszawa, N. Kawczyńska, A., Pryjma J. , Czesnikiewicz-Guzik, M., Adamek-Guzik, T., Naruszewicz, M., Korbut, R., GuzikT.J. 2006. Effects of novel plant antioxidants on platelet superoxide production and aggregation in atherosclerosis, Journal of physiology and pharmacology , 57, 4, 611626.
- Sadeghi, M. Zolfaghari, B., Senatore, M., Lanzotti, V., 2013. Spirostane, furostane and cholestane saponins from Persian leek with antifungal activity. Food Chemistry 141: 1512–1521.
- Seçmen, Ö. Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E. 1998.Tohumlu Bitkiler Sistematiği. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- Singleton, V.L. Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144–158.
- Sobolewska, D. Janeczko, Z., et.al. 2006. Steroidal glycosides from the underground parts of allium ursinum l. And their cytostatic and antimicrobial activity. Acta poloniae pharmaceutica-drug research, vol. 63 no. 3 pp. 219-223.
- Sökmen, A. Jones, B.M. Ertürk, M. 1999. The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants, Journal of Ethnopharmacology 67: 79–86.

- Stanković, M.S. Petrović, M., Godjevac, D., Stevanović Z.D. 2015. Screening inland halophytes from the central Balkan for their antioxidant activity in relation to total phenolic compounds and flavonoids: Are there any prospective medicinal plants, *Journal of Arid Environments* 120: 26-32.
- Sun, L. Whang, X. 2003. Effects of allicin on both telomerase activity and apoptosis in gastric cancer SGC-7901 cells. *World J Gastroenterol* 9(9):1930-1934.
- Teles Andrade, B.M.F, Lidiane N.B., Silva Probst I., Fernandes Júnior A. 2014. Antimicrobial activity of essential oils, *Journal of Essential Oil Research*, 26:1, 34-40.
- Tepe, B. Sokmen, M., Akpulat, H.A., Sokmen, A. 2005. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey, In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. *Food Chemistry*, 92:1, 89-92.
- Tohidi, B, Rahimmalek, M., Arzani, A. 2017. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran, *Food Chemistry* 220:153–161.
- Topçu, Ş. Çölgeçen, H. 2015. Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoreaktörlerde Üretilmesi, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 8 (2): 09-29.
- Tsiganis, M.C. Laskari, K., Melissari, E. 2005. Fatty acid composition of allium species lipids. *Journal of food composition and analysis*, 19,620-627.
- Ulaş –Çolak, N. Yıldırım, S., Bozdeveci, A., Yayli, N., Çoşkunçelebi, K., Fandaklı, S., Yaşar, A. 2018. Essential Oil Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Salvia staminea*, *Rec. Nat. Prod.* 12:1 86-94.
- URL-1.<http://www.bilgimanya.com/okaryot-ve-prokaryot-hucre-nedir-ozellikleri>
Erişim Tarihi: 30.12.2018.
- Vlase, L. Parvu, M., Parvu, E.A., Toiu, A. 2013. Chemical Constituents of Three *Allium* Species from Romania, *Molecules*, 18, 114-127.
- Ye, C.L. Dai, H.D., Hu, W.L., 2013. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from onion (*Allium cepa* L.). *Food Control* 30, 48-53.
- Yünlü, S. Kır, E. 2016. Soğan ve sarımsaktaki bazı fenolik bileşiklerin HPLC yöntemiyle tayin edilmesi. *SDÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü dergisi* 20: 3, 566-574.

ÖZGEÇMİŞ

Alican Bahadır Semerci 30.05.1992'de İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini İstanbul'da tamamladı. 2010-2014 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Biyoloji Bölümü'de Lisans eğitimini tamamladı. 2014-2016 yılları arası öğretmenlik yaptı. 2016-2018'de Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimini tamamladı.

