



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

TEZ ADI

**KONYA YÖRESİ *Coriandrum sativum* l. BİTKİ TOHUMLARININ
ANTİMUTAJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Melike AKIN

Danışman: Doç. Dr. N. Canan USTA

TOKAT- 2022



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

TEZ ADI

**KONYA YÖRESİ *Coriandrum sativum* l. BİTKİ TOHUMLARININ
ANTİMUTAJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Melike AKIN

Danışman: Doç. Dr. N. Canan USTA

TOKAT- 2022

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. N. Canan USTA danışmanlığında hazırlamış olduğum “Konya Yöresi *Coriandrum sativum* l. Bitki Tohumlarının Antimutajenik Etkilerinin Araştırılması” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

24/08/2022

Melike AKIN

İmza



ÖNSÖZ

Bu çalışmada, KONYA YÖRESİ *Coriandrum sativum* 1. BİTKİ TOHUMLARININ BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI amaçlanmıştır.

Çalışmamda bana her türlü desteği veren, yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. N. Canan USTA'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.



ÖZET
KONYA YÖRESİ *Coriandrum sativum* 1. BİTKİ TOHUMLARININ
ANTİMUTAJENİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

MELİKE AKIN

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. N. Canan USTA
HAZİRAN – 2022, ix-54 sayfa

Coriandrum sativum (kişniş) ülkemizde özellikle Marmara, Güney Doğu Anadolu ve Batı Akdeniz bölgelerinde kişniş üretiminde elverişli olan kireçli ve alkali topraklarda yetiştirilmektedir. Yukarıda anılan bölgeler, bitkinin toprak yapısına uygun olmasıyla bağdaşık görülmektedir. Ancak, Ankara, Konya, Eskişehir, Niğde gibi illerde de kültür olarak tohum ekiciliği ile yetiştirebildiği görülmektedir. Bu çalışmada Konya yöresinden alınan numuneler üzerinde çalışılmış *C.sativum* tohumlarının kültür yetiştiriciliği sonrası ticari ürün anlamında ihracatı bulunan bu maddenin, ambalajlama tekniğinde kullanımı düşünülmüş ve bu amaç için biyolojik ve fitokimyasal aktivite testlerinden yararlanılacağı öngörülerek, bitkinin tohum ekstreleri ile çalışılmıştır. Tohum ekstrelerinin biyolojik ve fitokimyasal testlerinde bitkinin inkübasyonu için histidin aminoasidine gereksinim duyan oksotrofik *Salmonella typhimurium* suşları kullanılmıştır. İnkübasyonda kullanılan bazlar değiştirilerek (TA 100s) ve baz çözünürlüğünü sağlayacak çerçeve kaydırma (TA 98) deneyleri 4 adet numune üzerinde sağlanmıştır. Suşlar üzerinde, TA98 ve T100s uygulamasından sonra his bakteri oluşumları için inkübasyon süresi izlenmiştir. İnkübasyonu takiben, *C.sativum* tohumları üzerinde numuneler üzerinde *S. thyphimurium* TA98 (çerçeve kaydırma) ve TA100 s (baz çifti değiştirme) numuneleri üzerinde standard his⁻ bakteri gözlemi için numune alımı sırasındaki genomik testlerden antoksidan testi yapılmış, bulaş sonrası testin tekrarı ile birlikte mutajenik ve antimutajenik testler yapılarak, revertant koloni sayısında spontan revertant koloni sayılarının gözlenmesi sağlanmıştır. Çalışma sonuçlarında olası antimutajenik özellikleri ile ambalajlı gıdalara katkı bileşenleri olarak eklenebilecek maddeler arasında düşünülmektedir. Bu anlamda çalışma sonucu elde edilecek bulgular benzer amaçlı diğer çalışmalarla birlikte değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Coriandrum sativum*, Botanik, Biyolojik Aktiviteler, Konya Yöresi

ABSTRACT
MASTER THESIS
INVESTIGATION OF THE ANTİMUTAGENİC ACTIVİTES OF PLANT SEEDS
***Coriandrum sativum* L. SPECİES FROM KONYA DİSTRİCT**

MELİKE AKIN

GAZİOSMANPASA UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY

SUPERVISOR: Doç. Dr. N. Canan USTA

June – 2022, ix-54 page

Coriandrum sativum (coriander) is grown in our country, especially in the Marmara, Southeastern Anatolia and Western Mediterranean regions, in calcareous and alkaline soils that are suitable for coriander production. The above-mentioned regions are seen to be compatible with the plant being suitable for the soil structure. However, it is seen that it can be grown with seed sowing as a culture in provinces such as Ankara, Konya, Eskişehir and Niğde. In this study, samples taken from the Konya region were studied, and this substance, which is exported as a commercial product after cultivation, was considered to be used in packaging technique and for this purpose, it was predicted that biological and phytochemical activity tests would be used, and seed extracts of the plant were studied. Oxotrophic *Salmonella typhimurium* strains, which require the histidine amino acid for incubation of the plant, were used in the biological and phytochemical tests of the seed extracts. By changing the bases used in incubation (TA 100s) and frameshifting (TA 98) experiments to provide base resolution were performed on 4 samples. On the strains, the incubation time for his bacterial formations was monitored after TA98 and T100s administration. Following incubation, for standard his⁻ bacteria observation on *S. thyphimurium* TA98 (frame shift) and TA100 s (base pair replacement) samples on *C. sativum* seeds, antioxidant testing was performed from genomic tests at the time of sampling, mutagenic with repeat post-infection test. Spontaneous revertant colony numbers were observed in the number of revertant colonies by performing antimutagenic tests.

In the results of the study, it is considered among the substances that can be added as additive components to packaged foods with their possible antimutagenic properties. In this sense, the findings to be obtained as a result of the study were evaluated together with other studies with similar purposes.

Keywords: *Coriandrum sativum*, Botany, Biological Activities, Konya Region

İÇİNDEKİLER

ETİK SÖZLEŞME.....	i
JÜRİ KABUL VE ONAY	ii
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Botanik Özellikler	3
2.2. Tarihçesi.....	7
2.3. Geleneksel Kullanım.....	17
2.4. Biyolojik Aktivite.....	19
2.4.1. Antimikrobiyal etki.....	19
2.4.2. Antioksidan etki.....	20
2.4.3. Antimutajenik Etki.....	21
3. MATERYAL ve METOD	24
3.1.1. Mutasyonlu <i>Salmonella typhimurium</i> Suşları	24
3.1.2. <i>Salmonella typhimurium</i> Deney Seti ve Kimyasalları Amaçları	25
3.1.3. Diğer Materyaller.....	33
3.1.4. Test Suslarının İlgili Genetik Karakterlerinin Kontrolü ve Üretilmesi ...	35
4. BULGULAR.....	40
4.1. <i>Salmonella typhimurium</i> Spontan Geridönüşüm Sonuçları.....	41
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	44
6. KAYNAKÇA.....	48
ÖZGEÇMİŞ	56

SİMGELER ve KISALTMALAR

NPD	:	Nitro-o fenilendiamin
AZS	:	Sodyum azid
HB Agar	:	Histidin Biyotin Agar
HBA Agar	:	Histidin Biyotin Ampisilin Agar
MGA	:	Minimal Gluoz Agar
NA plakları	:	Nütrient Agar plakları
NB sıvı ortamı	:	Nütrien Broth sıvı ortamı
<i>C. sativum</i>	:	Coriandrum
MÖ	:	Milattan önce
<i>E.coli</i>	:	Escherichia
S.	:	Salmonella
BHT	:	Bütillenmiş hidroksitoluen
BHA	:	Bütillenmiş hidroksianisol
DPPH	:	Difenilpikrilhidrazilin
<i>S. aureus</i>	:	Staphylococcus
<i>S. enterica</i>	:	Salmonella
<i>P. Aeruginosa</i>	:	Pseudomonas
<i>K. aerogenes</i>	:	Klebsiella
CO ₂	:	Karbondioksit
H	:	Hidrojen
O	:	Oksijen
(-)	:	Negatif
(+)	:	Pozitif
%	:	Yüzde

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1 Antimutajenisite testlerinde kullanılan <i>S. typhimurium</i> susları ve genetik özellikleri	25
Tablo 4.1 <i>C. sativum</i> L tohum ekstrelerinin <i>S. typhimurium</i> TA 98 üzerine etkileri.	40
Tablo 4.2 <i>Coriandrum sativum</i> . L'nin ekstrelerinin TA98 ve TA100 inhibisyon dağılımı	42



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Kişniş Yaprığı, Tohumu ve Tozu.....	3
Şekil 2.2 Kişniş Bitkisinin Çiçek ve Tohum Durumu	5
Şekil 2.3 Kişniş bitkisinin yaş ve kuru tohum hali	6
Şekil 2.4 <i>Coriandrum tordylium</i> yaş ve kuru hali	6
Şekil 3.1 TA100 Kristal Viyole İçin Hazırlanması.....	26
Şekil 3.2 Deney Setinin Hazırlanması	27
Şekil 3.3 TA 98 Spontan İnhibasyonu için Yapılan Deneyden Alınmış Görsel (Laboratuvar Çalışması, Ek(2) Dosya No: MOV. 5188).....	30
Şekil 3.4 HBA’da biyotin ve ampisilin petri kaplarına enjeksiyonu (Laboratuvar Çalışması Ek(2))	31
Şekil 3.5 Laboratuvar İşlemine Maruz Bırakılan Deney tüpleri.....	33
Şekil 3.6 Bitki Ekstraksiyonu Hazırlığı Laboratuvar Ortamı	34
Şekil 3.7 Aseton, Hekzan, DMSO, Metanol Ekstraksiyon Hazırlığı Laboratuvar ortamı	35
Şekil 3.8 <i>S. typhimurium</i> TA 98 ve TA 100’ de rfa mutasyon kontrolü.....	36
Şekil 3.9 UVRB Mutasyon Kontrolü Petri Kapları	37
Şekil 4.1 Aseton, DMSO, Metanol ve Hekzan TA98 <i>S. thyphimurium</i> TA98 TA100 <i>S. thyphimurium</i> TA100 Ekstre Konsantrasyonları	43

1. GİRİŞ

Coriandrum sativum, Apiaceae takımında yer alan ve 3000'den fazla tür ve yaklaşık 300 cins içeren Apiaceae familyasının bir türüdür ve Türkçe'de "kişniş", İngilizce'de "kişniş" olarak bilinir ve dünyanın en eski baharatlarından biri olarak kabul edilir. (Furan ve Geboloğlu, 2017).

Coriandrum sativum'un anavatanı Akdeniz bölgesi olarak kabul edilir. Ayrıca Rusya, Orta Avrupa, Kuzey Afrika ve Asya ülkelerinde yetiştirilmektedir (Şerefe, 2012). Ülkemizde Marmara, Güneydoğu Anadolu ve Batı Akdeniz bölgelerinde doğal olarak yetiştirilmektedir. Ancak ticari olarak Ankara, Konya, Eskişehir ve Niğde gibi şehirlerde yetiştirilmektedir. Günümüzde dünya çapında yaygın olarak yetiştirilen bu bitki birçok alanda kullanılmaktadır. Bitkinin çeşitli kullanım alanları ilaç, parfümeri ve gıda sanayi olarak sıralanabilir (Albayrak ve Göncü, 2012). Ağaçların meyve, yaprak ve çiçekleri; Literatürde antibakteriyel, antioksidan, analjezik, antiinflamatuvar ve idrar söktürücü etkileri olduğu belirtilmektedir (Çiftçizade, 2017; Furan ve Geboloğlu, 2017; Deniz ve ark., 2018). Kişniş tohumuna bağlı olarak %0,2-1,5 oranında uçucu yağ taşıma kapasitesine sahip bir bitki olarak da bilinmektedir (Furan ve Geboloğlu, 2017). Linalool, uçucu yağın ana bileşeni olarak, istenmeyen kokuları gidermek için sahte gıda aromaları, oryantal parfümler, kozmetikler, farmasötiklerin bileşimine hafif çiçek ve meyve kokusu ile girer ve ayrıca çeşitli tıbbi preparatlarda kokuları gidermek için kullanılır (Doğan ve Akgün, 1996; Yamarol, 1996). Aromatik bitkinin bir parçası olan kişniş, yukarıdaki özelliklerine ek olarak, sindirim sistemi ve iştahsızlık, şişkinlik, hazımsızlık, ishal, ağrı ve kusma gibi mide rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmasıyla bu cevabı net bir şekilde vermektedir. göğüste sıkışma. ağrı, öksürük. ve meyvesinde bulunan uçucu yağlardan dolayı mesane problemlerini gidermek için kullanılmaktadır (Albayrak ve Göncü, 2012). Ayrıca şekerleme ve baharat olarak da kullanıldığı için ticari amaçla yetiştiriciliğinin tercih edildiği ve bu nedenle ihraç ürünü olduğu düşünülebilmektedir (Gözüçık, 2018).

Son yıllarda üretim potansiyeli artan kişniş, ürün desenin çeşitlenmesi bakımından önemli olup, kışlık ana ürünlere alternatif olarak yetiştirilebilen bir bitki olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle, bölgemiz ekolojik koşullarında kişnişten yüksek kalite ve yüksek verimin alınabileceği kültürel uygulamaların belirlenmesi ve bu konuda bilgi birikiminin oluşturulması önemli görülmektedir.

Bu çalışmada; Türkiye florasında önemli bir yeri olan *Coriandrum* cinsine ait bir tür olan *Coriandrum sativum* L. bitkisinin antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajen etki özelliklerinin araştırılması planlanmaktadır. Kişnişin tarihçesi, botanik özellikleri, geleneksel kullanımı ve biyolojik aktiviteleri başlıkları altında araştırmaların yapılmasıyla bu bitki türünün bakteri geliştirmeye uygun olup olmadığını saptamak, bakterileri stok kültürlerinde hazırlanarak bakterilerin mutasyonal genetik özelliklerinin ortaya konulması çalışmanın temel motivasyonu ve amaçlarını oluşturmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Özellikler

Alem: Plantae

Alt Alem: Tracheobionta

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Alt sınıf: Rosidae

Takım: Apiales

Familya: Apiaceae

Cins: Coriandrum

Tür: *Coriandrum sativum* L.



Şekil 2.1 Kişniş Yaprığı, Tohumu ve Tozu

Şekil 2.1’de yer verilen hali ile kişniş bitkisi yaprağı, tohumu ve tozu (*Coriandrum sativum* L.) bitkinin genel görünümünün anlaşılmasına katkı sunmaktadır. *Coriandrum sativum* L., Apiaceae familyasına ait bitkiler arasında yer almaktadır. Basit veya bileşik *umbella* çiçek durumuna sahip olan bir bitki olarak bilinmektedir. *Şizokarp* meyvalarıyla çiçekli bitkiler içerisinde en zengin familya sınıfında olduğu gibi dünya üzerinde 300 cins, 3000 kadar türü bulunmaktadır. Ülkemizde 90 cins ve 419 adet kadar türü vardır. Azda olsa çalimsı, çoğu uçucu yağ taşıyan otsu bitkiler olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Bitkinin yaprakları alternan dizilişli, nadiren alt karşılıklı çevrel dizilişli, genellikle stipulasız, parçalı ve tabanı okrealı görünümlü olarak tarif edilmektedir(Mandal, S. & Mandal, M., 2015).

Coriandrum L. cinsi; dallanmış, tüysüz, ince köklü ve kötü kokulu tek yıllık otsu bitkiler arasında yer almaktadır. Yaprakları parçalı, 1-3-pinnat ya da pinnatisekt, brakte tek halde bulanabileceği gibi, brakteolun olmadığı hallere de rastlanmaktadır. Sepalleri birbirinden farklı ve sivri görünüme sahip biçimde olup, meyvesi ile birlikte devam eden yapıda bir görünümü sergilemektedir. Petaller beyaz ya da pembemsi, dışa doğru ışınsal, genellikle sadece bir lobu gelişmiş, derin iki loblu olarak yer almaktadırlar. Bitkinin meyvesi küremsi, sert ve tüysüz olarak ifade edilebilmektedir.

C. sativum, Hafif loblu, çizgisel ve daha bölünmüş oval üst yaprakları olan, boyları 20 ile 140 cm arasında değişen, tüysüz, tek yıllık otsu bir bitki olarak tanımlanmalıdır. Ayrıca bitkilerde yapraklar dönüşümlüdür ve ilk yapraklar yıldız kümelerinde görülebilir. Yaprak sapı gençken, alt yaprakların tüm sapı kaplayan bir sapı bulunmaktadır ve yapraklar yeşil veya soluk yeşildir ve alt kısım mumlu yapıya sahip olarak bilinmektedir. Çiçeklenme sırasında yapraklar kırmızıdan mora döner ve yaprağın bazı kısımlarında renk değişimi olur. İlk meyve olgunlaşmaya başladığında alt yapraklardan başlayarak solma görülebilmektedir (Mehta, 2012).

Gövdesi dik, ince, sinpodyal, monokasyal, bazen bazal noddan yan dallıdır. Her dal bir çiçek durumuyla biter. Boyuna dallı gövde yeşildir, çiçeklenme döneminde bazen kırmızı mora döner (Soria & Villamiel, 2010). Şekil 2.2’de bu bitkinin yaprak ve otsu yapısını gösterir bir görsele yer verilmektedir.



Şekil 2.2 Kişniş Bitkisinin Çiçek ve Tohum Durumu

Şekil 2.2'den de görüleceği üzere çiçek durumu bileşik *umbella* biçiminde görülen bitkinin çiçekleri küçük, kısa saplı, pembemsi-beyaz umbel olarak sergilenmektedir. Umbel hepsi aynı düzlemde bulunan çeşitli uzunluklarda 2-8 dallı olarak görünebilmektedir. 2, 3 ya da daha fazla brakteol içeren bitkilerin ise, 5-20 dallı umbelleri görülmektedir. Çiçeklerin potan yapısının ovaryum alt durumlu olduğu görülmektedir. Stilopodyumu çevreleyen 5 sepalli kaliks bulunmaktadır. Çiçeklerin beş petalli olduğuna da rastlanmaktadır. Petaller soluk pembe ya da beyaz olarak görünebilmektedirler (Çifçizade, 2017).

Meyve küremsi, 3 - 6 mm çapında, her segmentte 5 dalgalı damarlı; Salgı kanalları merikarpların iki karşı tarafındadır ve olgunlaşmamış meyvedeki kanallar tarafından salgılanan uçucu yağ, böcek öldürücü bir kokuya sahip gibi görünmektedir. Bitkinin adı da böcek anlamına gelen Yunanca chorion kelimesinden türediği için önemli görünmektedir. Bu hoş olmayan koku, uçucu yağda bulunan aldehitlerden kaynaklanır. Olgunlaşma sırasında meyvenin aromatik yapısı değişir ve aldehitler yok olmakla beraber yerini linalool'e bırakarak ortamı terk eden yapısı ile bilinmektedir. Başka bir deyişle, bitki ve çiğ meyve kokusu, olgun formundan çok farklı olduğunu düşündürmektedir (Karakaya vd., 2018). Kişniş, olgunluğa bağlı olarak farklı kısımlarda farklı tatlara sahip olarak karşımıza çıkmaktadır. Çiğ, olgunlaşmamış ve yeşil yaprakların çok farklı algılanan kokuları da kişnişin kullanım amacını etkiler (Karakaya, 2019). En yüksek verim için ekim zamanı Ekim-Şubat arasındır, yıllık otsu bitkiler Haziran-Temmuz

aylarında çiçek açar. Büyümenin erken evrelerinde serin bir iklime, yetişkin evresinde ise sıcak havaya ihtiyaç duymaktadır. Çok az veya hiç sulanmayan ağır killi toprak, bitkiler için en iyi yetiştirme ortamını sağlamaktadır (Önder, 2018).



Şekil 2.3 Kışniş bitkisinin yaş ve kuru tohum hali

C. tordylium (Fenzl) Bornm'un iki türü vardır. *C. sativum* L.*C. tordylium*; tek yıllık otsu bir bitkidir. Savanlarda, çayırarda ve kurak yerlerde bulunmaktadırlar. Lübnan ve Suriye çölünde doğal olarak yetişen bu bitki, Türkiye'de karasal iklimde Orta Anadolu, Doğu ve güneydoğu Anadolu'da bulunmaktadır. (Mehta, 2012).



Şekil 2.4 Coriandrum tordylium yaş ve kuru hali

Kişniş, eski zamanlardan beri farklı dillerde birçok farklı isimle bilinmektedir. "Coriander" (İngilizce), "Dhania" (Urduca), "Kuzbara" (Arapça), "Dhanya" (Hintçe), "Yuan Sui" (Çince), "Coentro" (Portekizce), "Korion" (Yunanca), "Kusthumbari" Veya "Dhanayaka" (Sanskrit Dilinde), "Geshniz" (İran), "Dhane" (Bengalce), "Dhanyaka" (Hintçe) , "Dhanaka" (Hintçe), "Dhana" (Svahili), "Kunati" (Arnavutça), "Chhattra" (İsveççe), "Dhaneya" (Somalice), "Kotimira" (Shona dilinde). Kişniş yaprakları "Clantro" veya "Çin maydanozu" olarak bilinir. (Gözüaçık, 2018).

Kişnişin Latince adının kökeni, Yunanca "koriannon" kelimesine dayanmakta olup, "Koris" kelimesi ilk olarak bir Romalı doğa bilimcinin bitkiye "koriandrum" adını verdiği bilinmektedir. (Mandal, S. & Mandal, M., 2015).) Meyvesi bütün olduğu, kötü bir kokusu olduğu ve adıyla da anıldığı için "dikenli kişniş" denmektedir. Yunanca bir böcek görüntüsü olarak da görülmektedir(Çiftçizade, 2017). Kişnişin uçucu yağ verimi ve kimyasal bileşimi, ekstraksiyon işlemi sırasında birçok değişikliğe uğrar ve aroması bu şekilde etkilemektedir. Sonuç olarak, bitkilerin kendileri, meyveleri ve yaprakları, meyvenin tohumlarında bulunan ve uçucu yağı içeren yağın bir bileşeni olan trans-tridesen nedeniyle bir "böcek kokusuna" sahip gibi görünmektedir. (Gözüaçık, 2018).

Kişniş, Batı Asya ve Kuzey Afrika'ya özgü yıllık bir bitkidir. Bu bağlamda Akdeniz bölgesinde yaygın olarak yetiştirilmektedir. Kişniş aynı zamanda Hindistan, Rusya, Asya ve Fas'a ihraç edilmektedir. Güney Asya ülkeleri dünyanın en büyük kişniş üreten ülkeleri olarak bilinmektedir. Orta Doğu Avrupa ülkeleri ve Güneydoğu Afrika ülkeleri üretim açısından Güney Asya ülkelerini takip etmektedir. Gözüaçık (2018) tarafından yapılan çalışmada da C.sativum türlerinin doğal yayılışları hakkında bilgiler bulunmaktadır. Buna göre; Ülkemizde ağaç ticari olarak Ankara, Konya, Eskişehir ve Niğde gibi illerde yetiştirilmekte ve üretiminin bir kısmı ihraç edilmektedir. (Çiftçizade, 2017).

2.2. Tarihçesi

Sanskrit yazıtlarında ve Eski Mısır'ın Ebers Papirüsü'nde (M.Ö. 1550) adı geçen kişniş bitkisinin geçmişi M.Ö. 5000 yılına kadar uzanmaktadır. Yazılı kaynaklarda kişnişin Yunanistan'da MÖ 2000'den beri yetiştirildiği bilinmektedir. Yunanlılar tarafından

yemek pişirmede yaygın olarak kullanılan kişniş, çocuklarda ishal ve mide problemlerinin tedavisinde kullanımıyla Hipokrat döneminden (MÖ 460-370) beri Yunan tıbbında da öne çıkmıştır. Romalılar ve Yunanlılar, kişnişi ilaç olarak ve ayrıca alkolü tatlandırmak için kullanmışlardır(Önder, 2018).

MÖ 150'den itibaren muhtemelen en çok Miken uygarlığı tarafından kullanılan, Linear tabletlerinde, soldan sağa doğru yazılan düz bir yazı tipi olan, parfümeri için yetiştirilen türler arasında bitkinin adının da yer aldığı; Meyvesinin ve yapraklarının aromasından dolayı baharat olarak kullanıldığı anlaşılmaktadır (Karakaya, 2019). Aynı döneme ait arkeolojik kanıtların çoğu Linear tabletleriyle örtüştüğüne inanılmaktadır. Makedonya'nın Sitagroi eyaletinde bir Erken Tunç Çağı tabakasından kazılan kişnişin bu anda ekildiği düşünülmektedir. Akrotiri'nin Tunç Çağı yerleşiminde, kişniş meyvesinin bulunduğu gösterilmektedir (Furan ve Geboloğlu, 2017). Yunanistan'daki Samos tapınağındaki bir gölette, MÖ 7. yy. 19. yüzyıla ait olduğu tespit edilen kırk dört tane kullanılmamış kişniş bulunmaktadır (Gözüçık, 2018). Daha sonra kişniş, Romalılar tarafından İngiltere'ye ulaşım yoluyla tanıtılan bir bitki olarak ortaya çıkmıştır (Karakaya, 2019).

Kışniş, Mısır'daki II. Ramses'in mezarında da geçmektedir (Furan ve Geboloğlu, 2017). Mısırlılar, afrodisyak etkisi olduğunu düşündükleri için bu bitkiye "mutluluğun baharatı" adını vermişler. İncil gibi kutsal kitaplarda ve Binbir Gece Masallarında da adı geçen kişnişin Mısır'da tıbbi malzeme olarak kullanıldığı bilinmektedir (Gözüçık, 2018).

Ortaçağ ebelerinin resimli el yazmalarında kişnişin doğumu hızlandırmak için kullanıldığına (13. yüzyıl başı) rastlıyoruz (Karakaya, 2019). Mezraa Höyük'ün orta çağ katmanlarında kişniş meyvesi parçaları bulunmuş ve lezzet verici bir bitki olarak kaydedildiği bildirilmektedir.

Mezraa Höyüğü'nde özellikle yarım kişniş bulunmuştur. Yakın Doğu arkeolojik kaynaklarında güçlendirilmiş kalıntılara nadiren rastlanmaktadır (Gözüçık, 2018). Aromatik meyvesi için kullanılmış olabileceğine inanılmaktadır. Aslında botanik kanıtlar ve sözlü kaynaklar kişniş kullanımının çok daha önce başladığını göstermekte ayrıca çeşitli ilaçlarda afrodisyak olarak da kullanılmaktadır. (Seder, 2017).

Theophrastus'a göre (MÖ 370 - MÖ 287), kişniş meyvesi genelde temmuz ayında dikimi gerçekleşmektedir. Bitki çok güç filizlenmektedir. Düzenli olarak su verildiğinde büyümektedir. Kişniş, antik Yunan mutfağında ortak bir bileşen olarak kabul edilmektedir. Athenaeus, kuşkonmaz ve kekik ile karıştırılmış füme kişniş tarifi vardır. Zenon ise mercimek çorbası tariflerinde kişniş kullanılmasını tavsiye etmektedir. Aristophanes'in "Silahşörler" kitabında, sosis satıcısı, piyasada bulunan tüm kişnişleri satın aldığını iddia etmekte ve bu kitapta kişnişin ançüzleri tatlandırmak için kullanıldığı belirtilmektedir. Dioscorides'e (40-90) göre yemekle birlikte alınan kişnişin mide rahatsızlıklarında yaraları iyileştirdiği, alkolle birlikte alınan kişniş ise bağırsak rahatsızlıklarından kurtulmaya yardımcı olabilmektedir (Özbek, Him ve Türközü, 2006). Barros ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yapılan bir araştırmada in vitro olarak yetiştirilen kişnişin zengin bir fenolik bileşik kaynağı olduğu bilinmektedir.

Marichali ve arkadaşları tarafından 2014 yılında yapılan bir çalışmada metalik çinkoya maruz kalan kişniş bitkilerinin fenol içeriğinin arttığı, monoterpen içeriğinin ise azaldığı gözlemlenmiştir. Uçucu yağ içeriği genellikle %1'den az olduğu tespit edilmiştir. Kişniş tohumu yağındaki petroselinik asidin ana yağ asidi olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, bu bitki, tohumlarından ve hava kısımlarından izole edilen iyi bir lipit (petroselinik asit bakımından zengin) ve uçucu yağlar (linalool bakımından yüksek) kaynağı gibi görünmektedir. Kişniş esansiyel yağı içeriğindeki meyveler çoğunlukla linalool'den oluşmaktadır ve içeriği dünyanın farklı yerlerinde saklama koşullarına ve raf ömrüne bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Hareketsiz hale gelen kişniş yağındaki esansiyel yağ asitleri; oleik asit, stearik asit, palmitik asit ve linoleik asit olarak test edildiğine dair bilgilere yer verilmektedir. Literatürde dehidrasyonun (olgunlaşma) yağ asitlerinden en fazla oleik asidi azalttığı, palmitik asit ve stearik asidi arttırdığı ve linoleik asit oranında önemli bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmiş olduğu görülmektedir (Ökmen, 2017).

Kişnişin tamamen olgunlaşmış ve kurutulmuş meyvesinden elde edilen uçucu yağ ayva sarısı renginde olup, karakteristik bir kokuya ve hafif tatlı bir aromaya sahiptir. Ana bileşeni linaloldur (Eruçar et al., 2022). Taze bitkiden elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri hoş olmayan bir kokuya sahip yağlı aldehitler, bu meyveden damıtılan uçucu yağda ise linalol, monoterpenler ve diğer oksitlenmiş monoterpenler baskın olarak

görülmektedir.. Kişniş yaklaşık %0,2-1,5 oranında uçucu yağ ve %13-20 oranında yağ asidi içermektedir(Karakaya ve ark., 2018).

Nurzynska-Wierdak, ve ark. (2016)'nın yaptığı bir çalışmada, ham meyvelerinin yağ asidi içeriği, %68,8 oranında petroselinik asit, %16,6 oranında linoleik asit, %7,5 oranında oleik asit ve %3,8 oranında palmitik asit biçiminde sıralıyabiliriz. Kişnişin toprak üstü kısımlarının yağ verimlerinin, vejetatif aşamasında (%0,14), tam çiçeklenme döneminde (%0,23), ham yeşil meyve durumunda (%0,37) ve kahverengi olgun meyve halindeyken (%0,31). (13, 31) rengine göre sıralayabiliriz. Uçucu yağ içeriği %1,87 ile %2,3 oranları arasında belirlenmiş ve bu şekilde sunulmuştur.

Kişnişin olgunlaşma aşamalarında uçucu yağ içeriğindeki farklılıkları inceleyen bir başka çalışma 2018 yılında yapılmıştır. Olgun olmayan meyvelerde geranil asetat (%46,27), linalol (%10,96), nerol (%1,53) ve neral (%1,42) oranlarında olgunlaşmanın erken aşamalarında temel bileşikler olarak bulunmaktadırlar. İkinci aşamada, linalol (%76,33), cis-dihidrokarvon (%3,21) ve geranil asetat (%2,85) ana bileşenler olarak rapor edilmiş ve bu şekilde ortaya çıkmaktadır. Çalışmanın son aşamasında linalool (%87,54) ve cis-dihidrokarbonun (%2,36) ana bileşikler olarak tanımlandığı bildirilmektedir. Farklı bölgelerde yetiştirilen ve kültürü yapılan kişniş bitkilerinin meyve verimi ve uçucu yağ içerikleri farklı olarak gözlemlenmiştir. Kişniş meyvesinin uçucu yağ oranı %0,5 ile %2,5 arasında değişmektedir. Meyve olgunlaştıkça bu oran artış göstermektedir. Ham meyvelerin; linalol (%72,7), -terpinen (%8,8), -pinen (%5,5), kafur (%3,7), limonen (%2,3), geranil asetat (%1,9) ve p-simen (%1,5) oranlarında sunulmaktadır (Deniz et al. 2018)

Şanlı ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada kişnişte bulunan uçucu yağ (%0,32) standartta belirtilen değere (%0,30) çok yakın olduğu ve bu uçucu yağın linalol (%95,56) açısından zengin olduğu tespit edilmiştir. Düşük miktarda geranil asetat (%2,92) dahil olduğu bilgisi verilmektedir. (Şanlı ve Kabaran, 2019)

Msaada ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada kişnişin yetiştiği bölgenin, olgunlaşmasının ve etkileşimlerinin 35 bileşen üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada, uçucu yağların ilaç, kozmetik ve gıda gibi çeşitli alanlarda artan kullanımının etkisi, olgunlaşma süreci ve uçucu yağların elde edildiği alanların veya

yağ bazlı bileşenlerin koşullarının, ürünün kalitesi ve bileşimi değerlendirilmektedir. (Msaada et al. 2009),

Kişnişin yağ içeriği üzerine yapılan bir çalışmada, kişniş yağının zengin bir esansiyel yağ asidi kaynağı olduğu ve petroselinik asidin ardından linoleik asidin tüm yağ asitleri arasında en büyük yağ asidi oranına sahip olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, çalışmanın bir parçası olarak, kişniş yağının iyi bir fitosterol kaynağı olduğu (içeriğinin %0,51 oranında) olduğu bilgisini de vermektedirler (Ramadan et al. 2003).

Kişniş uçucu yağının gaz kromatografik analizi sonrasında; uçucu yağların ana bileşenlerinin linalool, β -simen, limonen, nerol, borneol ve geraniol olduğu söylenebilir. Ancak kişniş yağında çok miktarda monoterpen ve az miktarda seskiterpen bulunduğu bilgisi, yağın yaklaşık %72 oranında linalol bileşeni olduğu görülmektedir. Bu bileşen değeri, kişniş yağının uluslararası standartta minimum %70 linalol içeriğine sahip olması gerektiği bilgisiyle eşleştiğini göstermektedir. Bu da Türkiye'de kişniş yetiştiriciliğinin uluslararası kabul görmüş standartlara uygun olduğunu göstermektedir (Ulutaş et al. 2021),

Dünyanın birçok yerinde yetiştirilen kişniş bitkilerinin uçucu yağ içeriğinde büyük farklılıklar olduğu bulunmuş olarak sunulmaktadır. Çalışmalar ayrıca kişniş yağında farklı koku notalarının olduğunu ve doğru kişniş çeşidini seçerek bir üründe gerekli aroma notalarını sağlamanın mümkün olduğunu bildirmiş görünmektedir. Ancak bu çalışmada daha önce verilen koku değişim bilgileri incelendiğinde, koku nodüllerinin mevsim geçişlerine ve bitki olgunlaşma aşamalarına göre değişiklik gösterdiği tespit edilmiş olduğuna rastlanmaktadır. Bu bağlamda sıcaklık, nem, toprak tipi gibi bitki ile ilgili değişkenlerin farklı kokusal tezahürlere neden olabileceği fikrini de doğrulduğunu düşündürmektedir. Dima ve ark. (2016), süperkritik CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen kişniş uçucu yağ verimi ile yaptıkları bir çalışmada; Çalışma sıcaklığına ve partikül boyutuna bağlı olduğu belirlenerek sunulduğu görünmektedir.

Kaliteli kişniş yağı elde etmek için meyve olgunlaşmaya başlamadan hasadın tamamlanması gerektiği bilgisi de literatürde yer alan bilgiler arasında yer almaktadır. Bir çalışma, 3 aylık depolama ve gama ışınlamasının meyve kalitesi üzerinde hiçbir etkisi olmadığını, ancak daha da önemlisi, başka bir çalışmada gama ışınımının linalol

içeriğinin azaldığı görülmektedir (Şanlı ve Kabaran, 2019). Linalool bileşeninin, kişnişin en çok rapor edilen biyoaktivitelerinden biri olarak sıklıkla incelendiğine rastlanmaktadır. Çıktısı, fenolik bileşenler ile bakteriyostatik etkisi arasında yakın bir ilişki olduğu gözlemi de literatürde sıkça bildirilenlerden biri olarak görülmektedir (Ramadan et al., 2003; Albayrak ve Göncü, 2012; Furan ve Geboloğlu, 2017; Karakaya et al, 2018; Şanlı ve Kabaran, 2019; Ulutaş et al. 2021).

Kişnişin *Escherichia coli* O157: H7'yi inhibe etmese de *Yersinia enterocolitica* ve *Staphylococcus aureus* üzerine antimikrobiyal aktivite olduğu bildirimine ulaşılmaktadır. (Aydın, 2008)

Ham kişnişten elde edilen balın (%20 h/h konsantrasyonunda) n-hekzan ekstresi daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiş, bunların her ikisi de başta *Staphylococcus aureus* olmak üzere birçok patojene ve oksitlenmiş monoterpenerlerin dahil olduğu bal içeriğine karşı etkisi görülmektedir (Hegazi et al., 2007).

Kişnişin, *Salmonella choleraesuis* bakterisine karşı bakterisidal aktiviteye sahip olduğuna inanılmaktadır. (Kubo et al., 2004) kişniş uçucu yağı Gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmektedir. Böylece kişnişin bitkisel ilaç olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Kişniş yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen yağ; gram (+) "*Staphylococcus aureus*, *Bacillus spp.*" ve Gram (-). "*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*" bakterileri karşısında antibakteriyel etkisi görülmektedir. (Matasyoh et al. (2009)

Yukarıda sunulan ve literatür de belirtilen çalışmaları sonucunda, kişniş yaprak suyundan elde edilen ekstrelerin ve kişniş yapraklarının kaynatılmasının antiseptik etkisinin olmadığı bilgisi de mevcut görülmektedir. *C.sativum*'un mikrobiyal büyümeyi engelleme ve gıda raf ömrünü uzatma yeteneğinin yanı sıra endüstride uçucu yağların stabilitesini anlamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca 28 bitki türünden elde edilen uçucu yağların *Bursaphelenchus xylophilus*'a karşı aktiviteleri ölçülmüş ve kişniş en aktif olanlardan biri olarak görülmektedir. (Evandri et al., 2005).

Wong ve Kitts (2006) tarafından yapılan bir çalışmada kişnişten elde edilen fenolik bileşiklerin antibakteriyel aktiviteden kısmen sorumlu olduğu gösterilmiştir. Kişnişin

uçucu yağının çok çeşitli mikroorganizmaları inhibe ettiği bilinmektedir. Kişniş, *S. aureus* ve Gram (-) bakterilere *S.typhimurium*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* etkisi olduğu bilinmektedir. Bahsedilen yağın etki mekanizması hücre ölümüne yol açan membran tahribatının oluşmasıdır. Taze kişniş yapraklarından elde edilen alifatik (2E)-alkenaller ve alkanallar, gıdaların bozulmasına neden olan bakterilere karşı bakterisidal etkiye sahip olduğu görülmektedir. (De Flora et al., 1992).

Delaquis ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, kişniş meyvesi ve ham kişniş yapraklarının çeşitli Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı etkileri araştırılmıştır. çalışmanın sonunda, kişnişin *K. pneumoniae*, *B. megaterium*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *E. cloacae*, *E. faecalis* gibi bakterileri inhibe ettiği gözlenmiştir Çalışma ayrıca, kişniş yaprağı ekstresinden izole edilen yeni bir antibakteriyel peptit olan "*Plantarisin CS*"nin, kısmen *Penicillium lilacinum* (MIC = 2.5 mg/mL) ve *Aspergillus niger*'e (MIC = 2.3 mg/mL) karşı oldukça etkili antifungal aktivite gösterdiği bilgisini tespit etmiştir.

Kişniş uçucu yağının ana bileşeninin linalol olduğunu ve bu bileşenin 10 µl'de tüm mikroskobik türlere karşı antifungal aktivite gösterdiğini ve bu nedenle doğal bir bitkisel antifungal olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır. Böylece kişniş uçucu yağının *Candida* türlerine karşı antifungal etkileri olduğu gösterilmiştir. Kişniş uçucu yağının diş çürümesine neden olan *Candida* türlerine karşı da etkili olduğu rapor edilmiştir ve içindeki aktif bileşenler 2-heksen-1-ol, 3-heksen-1-ol ve siklodekan olduğu bilinmektedir. (Singh et al. 2006). Kişniş uçucu yağının *Byssochlamy fulva*'ya karşı antifungal aktiviteye sahip olduğunu ve 800 ppm kişniş uçucu yağının %32 mantara kadar büyümesini engellediğini bulmuştur. Kişniş uçucu yağının antioksidan etkisi; Kamfor, limonen, α -pinen ve geraniol gibi terpen ve terpenoid bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. (Zamindar et al., 2016),

Kişnişteki fenolik bileşikler, antioksidan aktivitelerinden kısmen sorumlu görünmektedir. Kişniş uçucu yağının diğer birçok yağdan daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğuna inanılmaktadır (Wong ve Kitts,2006).

90 gün boyunca %10 kişniş tozu içeren yüksek yağlı bir diyetle beslenen dişi Sprague-Dawley sıçanlarında (n=6) lipid seviyelerindeki ve antioksidan enzim aktivitesindeki değişiklikleri inceleyerek, bu diyet, malondialdehit, hidroperoksit ve konjuge diener

tarafından belirlenen lipid peroksit seviyelerini karaciğerde ve kalpte önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir. Başka bir çalışmada, oleik ve linoleik asitler açısından zengin olan kişnişin güçlü bir antioksidan olabileceği ve kişniş yağı üretim oranlarının ilk olarak %0,3 ile 1,1 arasında değiştiği bildirilmiştir(Chithra ve Leelamma (1999)).

Yayınlanan başka bir çalışmada, kişnişin bir diğer bileşeni olan, oleik asit ve linoleik asit açısından zengin olan oleoresin, doğal bir antioksidan olarak kullanılabilmektedir.

Sreelatha ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, kişniş yaprağı ekstresinin karaciğeri oksidatif strese karşı koruduğu gözlemlenmiş ve kişnişin antioksidan etkileri olduğu doğrulanmıştır. Kişniş yapraklarının bu etkisinin, içindeki fenolik bileşenlerden kaynaklanabileceği de bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, kişniş yapraklarının tedavi edici fitokimyasalları, vitaminleri ve mineralleri nedeniyle artrit hastalarında olumlu sonuçlar verdiği sonucuna varılmıştır. Yaprakların antioksidan ve antiartritik aktiviteleri, içerdikleri biyoaktif bileşiklerin sinerjik etkilerinin sonucu olarak karşılaşılmaktadır.

Valega ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; Hidroalkolik kişniş özü ile tedavi edilen farelerde kurşun kaynaklı oksidatif stresin azaldığı gözlenmiştir. Bu sonuç, kişnişin hidroalkolik ekstresinin, antioksidan ve metal bağlayıcı özelliklerinden dolayı farenin beyin bölgesini kurşun kaynaklı oksidatif stresten koruduğu hipotezini desteklemektedir.

Kişnişte fenolik bileşen bulunmadığı ve bitkinin antioksidan aktivitesinin çok düşük olduğu söylenmektedir. (De la Rosa et al.2019) Kişniş bitkisinin bütününden ve meyvesinden elde edilen uçucu yağın, farklı ekstrelerine göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ve uçucu yağın çeşitli uygulamalarda kullanılması gerektiği gösterilmiştir. (Singh et al., 2015)

Kişniş meyveleri, Box-Behnken yöntemi kullanılarak, farklı sıcaklık (100-200°C), basınç (30-90 bar) ve ekstraksiyon süresinde (10-30 dakika), subkritik su ekstraksiyonu ile ekstre edilerek çalışıldığı bilgisine yer verilmektedir. Ekstredeki polifenol bileşikler HPLC-MS/ MS ile 100°C, 60 bar basınç ve 10 dakikada analiz edilerek, 3,4-dimetoksisinnamik asit; en verimli baskın bileşik olarak saptanmasının sunumuna çalışmada yer verilmektedir Diğer bileşenlerinden olan ham protein, yağ, ham lif, kül yüzdeleri ise sırasıyla %11,5-21,3, %17,8-19,15, %28,4- 29,1, %4,9-6'dır. İran'da tarımı yapılan kişniş meyvelerinin uçucu yağındaki ana bileşenler ve oranları; *linalol* (%40,9- 79,9) ,

nerol asetat (%2,3-14,2) , *-terpinen* (%0,1-13,6), *-pinen* (%1,2-7,1) iken, Bangladeş'te tarımı yapılan kişniş meyvelerinin ana bileşenleri; *linalol* (%37,7), *geranil asetat* (%17,6) ve *-terpinen* (%14,4) oranlarıyla sunulmaktadır. Çalışmada ayrıca, Romanya'da tarımı yapılan kişniş meyvelerinde başta *linalol* (%70,20), *-pinen* (%6,17) ve *mirsen* (%5,39) olmak üzere on bileşen belirlenmiş olarak sunulmaktadır. İran'da yerel marketten alınan kişniş meyvelerinin ise ana bileşenleri ve oranları ise; *linalol* (%73,05), *a-pinen* (%9,18), *-terpinen* (%7,65), *geranil asetat* (%2,71) oranlarıyla yer almaktadır (Zeković et al., 2016)

Kişniş meyvesi yağının (%66,48) yaprağının yağıyla (%56,73) kıyaslandığında önemli derecede radikal süpürücü etkisinin olduğunu, metanollü ekstralarında ise bu oranların sırasıyla %72,19 ve %64,40 olduğu bilgisini sunmaktadır. Ülserlere karşı koruyucu etki, antioksidan bileşiklerin koruyucu tabakaları oluşturmak için hidrofobik etkileşimleri ve meyvelerindeki antioksidanların serbest radikalleri süpürücü etkisi ile gerçekleşmektedir. Fakat 2010 yılında yapılan bir çalışma kişnişin in vivo ve in vitro ortamlarda pro-oksidan aktivite gösterdiğini saptamıştır. Aynı şekilde 2004 yılında yapılan bir çalışmada da kişnişin in vivo ortamda antioksidan etki göstermediği bildirilmiş olarak görülmektedir(Shahwar et al., 2012)

Kişnişin etanolik ekstresinin, streptozotosin ile indüklenen hiperglisemik sıçanlarda hipoglisemik etkilere sahip olduğu doğrulanmış ve sunulmuş yapılmıştır. (Matasyoh et al.,2012).

İn vivo ve in vitro analizler, kişnişin sulu ekstresinin hipoglisemik etkilere sahip olduğunu, özellikle bir flavonoid bileşik olan rutin glukozydaz aktivitesini inhibe ettiğini göstermiştir. Bu sonuçlar bir kez daha Kişniş'in diyabet ilacı olarak kullanılabileceğini göstermiştir. (Brindis et al.,2014)

Kişniş uçucu yağının *Leishmania chasagi*'nin tanıtımına karşı etkisiz olduğu gözlenirken, bu parazitin amastigotlarına karşı etkili olduğu bildirilmiş ve bu etkinin etken madde linalol nedeniyle olduğu sonucuna varılmıştır. 0,5 mg/ml'nin altındaki dozlarda kişnişin sulu ve hidroalkol ekstralarının *Haemonchus contortus* yumurtalarının kuluçkalanmasını engellediği de gözlemlenmiştir. (Mischo et al.,2011)

Kişnişten elde edilen suyun diüretik ve salüretik etkisi bulunmaktadır. *Fas farmakopesi'nde* diüretik bitki olan kişnişin bu etkisini doğrulamak için, Aissaoui et al,(2008) tarafından yürütülen bir çalışmada, sürekli intravenöz infüzyon ile 40 ve 100 mg/kg olmak üzere iki dozda (120 dk) boyunca wistar farelerine uygulanan kişniş meyvesi ham sulu ekstresinin, diürezisi, elektrolitlerin atılımını ve glomerüler filtrasyon oranını doza bağımlı bir şekilde artırdığı görülmektedir. Fakat furosemidin bu ekstreye oranla idrar söktürücü ve salüretik olarak daha güçlü olduğu, ayrıca bu bitki ekstresinin furosemidine benzer etki mekanizmasına sahip olduğu görülmektedir. Kişniş meyvesinin uçucu yağının antikonvülzan aktiviteye sahip oldukları ve bu nedenle yoksunluk sendromlarının tedavisinde yararlı olabileceği Madanifard tarafından bildirildiği görülmektedir. Kişnişin sulu ve etanollü ekstreleri, antikonvülzan etkilerinin araştırılması için feniltetrazol ve maksimum seviyede uygulanan elektroşok testlerine tabi tutulmuş ve sonuç olarak istatistiksel açıdan anlamlı bir antikonvülzan etki saptandığı görülmektedir.

Bir çalışmada, kişnişin lipid metabolizması üzerindeki etkilerinden dolayı kolon kanserine karşı koruyucu rolü olduğu bulunmuştur. Çalışmalar, kişniş uçucu yağının, özellikle ana bileşeni olan linalol'ün kanser önleyici etkileri olduğunu göstermiştir. Ek olarak, kişnişin antitümör özellikleri, deneysel kolon kanserinde lipid metabolizması üzerindeki patolojik olarak ilişkili zararlı etkilere karşı koruyucu rolü ile örtüşmektedir.(Brindis et al., 2014).

Kişnişin toprak üstü kısımlarının etanolik ekstrelerinin antienflamatuvar özellikleri ve olası etki mekanizması araştırılmış ve kişniş yapraklarının ve gövdelerinin NO ve prostaglandin üretimini azalttığı gözlemlenmiştir(Wu et al., 2021).

Özbek, Aydın, Türközü, (2006) 'nın yaptığı bir çalışmada, kişniş uçucu yağ ekstresinin farelerde LD50 dozu düzeyinin 2,257 mL/kg olarak hesaplandığı, sıçanlarda Carrageenan'la oluşturularak sağ arka pençe ödemi modelinde indometazinden daha zayıf bir antienflamatuvar aktivite gösterdiği ve bu etkinin uçucu yağı oluşturan komponentlerden en az ikisi tarafından meydana getirildiği bilgisine yer verilmektedir. Kişnişin İslam ve Osmanlı tıbbında da yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Razi'nin (854-932) "Kalp çarpıntısına karşı kişniş yiyin" dediği ve Abdulvehhab el-Mardani'nin Çelebi Sultan Mehmed'e hediye ettiği Kitabu'l-Müntehab fi't-Tıb kitabında da kişniş

adının geçtiği bilinmektedir. Nidai, XVI. yüzyılda, "Kişinin diş ağrısı varsa, kişniş meyvesini sirke ile kaynatın, ağzına alıp çalkalarsa hemen iyileşir" dediğini bilmekteyiz(Albayrak ve Göncü, 2012).

2.3. Geleneksel Kullanım

Kişniş, geleneksel tıpta yüzyıllardır bir anti-inflamatuar, analjezik ve antibakteriyel ajan olarak kullanılmıştır. Kuru meyveler çoğunlukla soslara, etlere, ekmeklere ve şekerlemelere çeşni olarak eklenir. Ayrıca birçok Hint köri tozunda standart bileşen olarak kabul edilir. Ayrıca kişniş esansiyel yağının belirli tıbbi özelliklere sahip bir aroma maddesi olarak da kullanıldığı bilgisi sunulmaktadır(Bulut, 2007).

Tıbbi bir bitki olarak *C.sativum'un* geleneksel Çin tıbbında hazımsızlık ve şişkinlik tedavisi gibi birçok kullanım alanı olduğu bilinmektedir. Bu bitki, uyarıcı ve öldürücü etkileri veya baharat olarak kullanılan aromatik meyvesi nedeniyle dünya çapında yaygın olarak yetiştirilmektedir(Önder, 2018).

İran tıbbında geleneksel olarak kişniş, birçok sindirim bozukluğunu, iştahsızlığı, kasılmaları ve uykusuzluğu tedavi etmek için kullanılır. Suudi Arabistan'da kişniş çayı, anti-diyabetik yönleriyle iyi çalışan bir ajan olarak kullanımına rastlanılmaktadır. Sindirim bozuklukları, iştahsızlık, uykusuzluk, anksiyete ve hiperglisemi için tek başına veya diğer bitkisel ilaçlarla birlikte kişniş kaynatma veya tentürü önerilmektedir. Kişniş yaprakları Doğu mutfağında, Hint ve Meksika yemeklerinde kullanılır. Meksika mutfağında pişirilmeden yenebilen bir yapıya sahip olan sofraya ürünü olarak bilinmektedir (Bulut, 2007). Kişniş, Asya mutfağından gelmektedir. Meyvesi, infüzyonlar, tentürler ve sulu özler hazırlamak için kullanılır. Ayrıca sarı-kahverengi oleoresin kaliteli meyvesinden elde edilir ve taze bitkinin sos ve turşu yaptığı bilinmektedir. Aromatik müstahzarlarda kişniş yağı; kakule, anason, bergamot, hindistancevizi, karanfil ve adaçayı karışımında kullanılmaktadır. Parlak yeşil yaprakları, çarpıcı yeşil rengi ve aroması nedeniyle salatalarda garnitür olarak yendiğine de rastlanmaktadır (Karakaya, 2019).

Halk bilimine göre kişniş ayrıca iştahsızlık, hazımsızlık, şişkinlik, ishal, ağrı ve kusma gibi mide, bağırsak rahatsızlıklarını tedavi etmek için kullanıldığı bilinmektedir. Bitkinin

yaprak ve meyve gibi uçucu yağları içeren tüm kısımları geleneksel olarak farklı medeniyetlerin halk hekimliği sistemlerinde kullanılmış olduğu bilgisi de kaynaklarda yer almaktadır (Önder, 2018). Afrodisyak olduğuna inanılan yapraklardan yapılan müstahzarlar ağızdan veya haricen öksürük, göğüs ağrısı ve mesane problemlerini tedavi etmek için kullanılabilmektedir. İyi bir antiseptik olduğu da bilinen kişniş, antispazmodik ve balgam söktürücü özelliklere sahip olan btki olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca artrit ve romatizmada merhem olarak kullanımına da rastlanmaktadır (Furan & Geboloğlu, 2017).

Pakistan'da, özellikle kuzey bölgelerinde (Gilgit), ishal, öksürük, karın ağrısı, sarılık ve kusmayı tedavi etmek için kullanılır. Ayrıca ülke genelinde analjezik, ateş düşürücü, idrar söktürücü ve tonik olarak kullanılmaktadır. Geleneksel Çin tıbbında noni meyvesi anoreksi, kolik, nefes darlığı ve genital kokuyu tedavi etmek için kullanılır. Almanya'da kişniş genellikle tıbbi bir çay olarak veya ağrı kesici ve laksatiflerde bir bileşen olarak kullanılır. Ayrıca kişniş bitkisinden elde edilen uçucu yağın Asya bölgesinde mide sularını uyarmak, ülser ve ağız enfeksiyonlarını tedavi etmek için geleneksel olarak kullanıldığına dair kanıtlar da bulunmaktadır (Şanlı, Karadoğan ve Daldal, 2012). Kişniş, Hindistan'da ve Ayurvedik ve Siddha tıbbi sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tohum yağı, romatizma, nevrojji tedavisinde etkili görünüyor. yapraklar; Ayrıca aromatikler, büzücüler, analjezikler, ilaçlar, büzücüler, ağız kokusu, boğaz ağrısı, burun kanaması, diş eti kanaması, kronik konjonktivit, eritem, hıçkırık, iltihaplanma, irin, hemoroid, sarılık tedavisinde kullanımına da rastlanılmaktadır (Brindis ve ark., 2017). Kişniş bitkisinin Türkiye'de de benzer kullanım alanları olduğu görülmektedir. Antalya ve çevresinde yemeklerden önce bir kaç çay kaşığı haşlanmış kişniş ile karıştırılarak meze olarak içilir ve baş dönmesini giderdiği; Artvin'de ise meyvenin ezilip vücuda sürülmesi ile sinek kovucu olarak kullanıldığı rivayetleri bulunmaktadır. İstanbul'da kişnişin baş ağrısına iyi geldiği, İzmir-Bergama'da ise bal ile karıştırılarak vücuda beslediği söylenmektedir. Şanlıurfa'da, baş ağrısı ve baş dönmesine karşı aroma verici olarak kullanıldığına rastlanmaktadır. Kişniş, sindirim ve tansiyon düşürücü ilaç olarak koklanıp veya yenmesi de aynı işlevselliğe sahip olarak görünmektedir. İç Anadolu'da meyvenin kaynatılıp papatya ile demlendiği ve göğüs ve öksürük kesici olarak günde 3 defa sıcak olarak alındığı bilinmektedir. Kişniş tozu, bal veya şeker ile sakınleştirici, baş dönmesini önleyici ve hipertansiyon önleyici olarak karıştırılarak romatizmal ağrılara karşı yulaf lapası olarak kullanıldığı görülmektedir (Ökmen ve ark., 2017).

2.4. Biyolojik Aktivite

2.4.1. Antimikrobiyal etki

Esansiyel yağların en çok araştırılan yönü, antimikrobiyal aktiviteleriyle ilgilidir. Bu yağlar, farklı bileşenleri içeren kompleks karışımlar olduklarından, etki dereceleri içerdikleri etken maddelerin çeşit ve miktarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir(Wu et al., 2021). Etki mekanizmaları hakkında edinilen bilgiler sınırlı olmakla birlikte, yağların lipofilik özellikleri ve kimyasal yapılarıyla ilgili olduğu öne sürülmektedir (De la Rosa et al., 2019). Uçucu yağlar, Gram (-) ve Gram () bakterileri de dahil olmak üzere birçok mikroorganizmaya karşı antibakteriyel etkiye sahiptir. Örneğin, fenol izomerleri grubuna ait olan karvakrol ve timol ile fenilpropanoid grubuna ait olan sinnamaldehit, E.coli O157 ve *Salmonella typhimurium*'a karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Karvakrol ve timol bakteri zarlarını bozar ve zara bağlı malzemelerin hücreden çıkmasına izin verirken, terpenoidler ve fenilpropanoidlerin bakteri duvarlarına nüfuz ettiği ve özgülükleri, lipofiliklikleri yoluyla hücre içlerine ulaştığı bildirilmiştir (Zekovic et al., 2016). Aydın, (2008) yılında kişnişin fenolik bileşenleri ile bakteriyostatik etkisi arasında yakın bir ilişki olduğu ve tarafından yapılan bir çalışmada kişnişin E.coli O157:H7, *Yersinia enterocolitica* ve *Staphylococcus u, aureus* etmemesine rağmen gözlenmiş olup antibakteriyel aktivite göstermiştir(Şanlı, Karadoğan, & Daldal, 2012).

Dima ve ark., (2016) çalışmasında, süper kritik CO2 yöntemi ile ekstre edilen kişniş yağının E. coli O157:H7, *Salmonella spp.* ve *S. aureus* patojenleri üzerine antibakteriyel aktivitesi olduğu tespit edilmiş, Lo Cantore ve ark. (2004) çalışmada da, kişniş uçucu yağının kültür mantarları üzerindeki patojenlerin yanı sıra bitki patojenlerine karşı da bakterisit aktivitesi kanıtlanmış olarak sunulmaktadır. Bu çalışmanın sonuçları ile söz konusu bitkinin ekstresinin ya da uçucu yağının insan ve hayvan patojenleri, gıda bozucu bakteriler ve bazı bitki patojenik bakteri ve mantarlarına karşı antimikrobiyal aktivitesi bir kez daha kanıtlanmış olarak sunulmaktadır. Ayrıca yine bu sonuçlara dayanılarak bakteriyel bitki hastalıklarını kontrol etmek için bu yağın ya da ekstrenin kullanımının önerildiği görülmektedir.

2.4.2. Antioksidan etki

Antioksidanlar beslenme açısından önemlidir çünkü organlar ve hücreler üzerindeki fizyolojik stresi azaltmaktadırlar. Hayvanlarda ve insanlarda hastalık direnci ve bağışıklık, antioksidan mekanizmalarla ilişkilidir. Oksidasyon riski en yüksek olan bileşikler lipidlerdir. Lipid oksidasyonu, hammadde depolama, işleme, ısıtma işlemi ve bitmiş ürünlerin depolanması sırasında meydana gelmektedir (Ayyıldız & Sarper, 2019).

Oksidasyon sırasında peroksitler, hidrokarbonlar, aldehitler, ketonlar, alkol ve asitler gibi birçok bileşik oluşur ve bunun sonucunda gıda acılaşır ve organoleptik özelliklerini kaybeder, ürünün besin değeri düşer ve ürünün raf ömrü azalır (Brindis et al., 2014). Ayrıca oksitlenmiş lipidlerin insan vücudu üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı bu ürünlerin gıdalarda oluşmasından mümkün olduğunca kaçınılmalıdır (Ökmen et al., 2017).

Sentetik antioksidanlar, gıdaların raf ömrünü uzatmak için gıda işlemede sıklıkla kullanılır. Ancak toksikologlar ve beslenme uzmanları, endüstriyel gıda işlemede kullanılan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA) gibi sentetik antioksidanların canlı vücut üzerinde kanserojen etkileri olduğunu iddia etmektedirler (Karakaya, 2019).

Bu nedenle son yıllarda uçucu yağların alternatif antioksidanlar olarak kullanımına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Uçucu yağların antioksidan özellikleri içerdikleri bileşenlerin yapısındaki fenolik hidroksil gruplarından kaynaklanmaktadır (Çiftçi ve Macit, 2018). Bu yağların antioksidan etkileri içerdikleri aktif bileşenlerin miktarına, ekstraksiyon işleminde kullanılan solventin tipine ve ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak değişmektedir. Farag et al., (1989), uçucu yağların kimyasal bileşimi ile antioksidan aktiviteleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarında, timolün yüksek antioksidan kapasitesinin yapısındaki fenolün peroksit radikallerinin oluşumunu azaltmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Kişinin farklı kısımlarının antioksidan etkileri üç temel mekanizma ile açıklanmaktadır: difenilpikrilhidrazin radikal süpürücü (DPPH), 15-lipoksijenazın (15-LO) inhibisyonu ve Fe²⁺ fosfolipid peroksidasyonunun azaltılması, yaprakları meyvesinden daha fazla

antioksidan aktivite göstermektedir. Yapılan çalışmalarda ekstraktlardan elde edilen fenolik bileşenler ile antioksidan aktivite arasında pozitif korelasyonlar bulunmuştur. Kanıtlanmış serbest radikal süpürücü etkileri olan fenolik bileşikler kişnişte bulunur. Ek olarak, analizler kişnişin hava kısımlarının yüksek konsantrasyonlarda kafeik asit, protokateşik asit ve glusitin içerdiğini göstermektedir. Bu bileşenlerin, kişniş özü suyunun antioksidan etkilerinden sorumlu ana bileşenler olduğu bildirilmektedir(Jinous & Nastaran, 2012).

Kışniş uçucu yağının antioksidan etkisi; Kamfor, limonen, α -pinen ve geraniol gibi terpen ve terpenoid bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir(Laribi et al., 2015).

2.4.3. Antimutajenik Etki

Mutajenik etki, genetik materyalde kendiliğinden veya herhangi bir kimyasal ajan tarafından meydana gelen kalıcı bir değişikliklerden oluşmaktadır. Son yıllarda mutajenez ve kanser vakalarındaki artış, antikanserojen ve antimutajenik maddelerinin araştırılmasını zorunlu kılmıştır. Tüm mutasyonlar kansere neden olmasa da, mutasyon analizi, mutajenite ve kanserojenite arasındaki olası paralel ilişki nedeniyle, zamanımızın hastalığı olan kanser araştırmalarında öncülük etmektedir.

Bir gen direnci etkisi, bir mutajeni etkisiz hale getirme veya bir gende mutasyonların oluşmasını düzenleme veya önleme etkisi olarak kabul edilmektedir. Antimutajenler, etki biçimlerine göre desmutajenler ve biyoantimutajenler olarak ikiye ayrılır. Desmutajenlerin, mutasyonların hücrelere girişini bloke ettiği, yani DNA yapısında bulunmayan mutasyonları etkisizleştirdiği bilinmektedir. Martino et al. *Origanum vulgare* L. (mercanköşk) *Salmonella typhimurium* uçucu yağları TA98 ve TA100'e karşı mutajenik aktivite göstermemiştir. Ancak mercanköşk uçucu yağının bir bileşeni olan saf karvakrolün mutajenik etkileri daha önceki çalışmalarda görüldüğü gibi bu yağın diğer bileşenlerinin karvakrolü inhibe ettiği yani tat düşürücü etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

Biyoantimutajenler, mutajen DNA yapısına dahil edildikten sonra DNA replikasyon ve onarım mekanizmalarını düzenleyerek mutasyonu azaltan maddelerdir. Biyoantimutajenler, DNA polimeraz I ve DNA polimeraz III'ün sentezini artırarak ve

"hataya meyilli DNA onarım mekanizmalarını" inhibe ederek çalışırlar. Bir çalışmada monoterpen bileşikleri açısından zengin olan *Salvia officinalis* L. (adaçayı) esansiyel yağı UV ile işlem görmüş ve işlem görmemiş *E. coli* hücrelerinde araştırılmış ve monoterpenlerin DNA onarım sistemini düzenleyerek çalıştıkları bildirilmiştir. . Papatya papatyası L. (papatya) ve *Salvia stenophylla* Burch.ex Benth (bir tür adaçayı) uçucu yağı, yüksek düzeyde α -bisabolol bileşeni içerir. Bu bileşiğin aflatoksin B1 mutanıtı üzerindeki inhibisyon etkisi, Ames testi ile belirlenmektedir.

Salmonella typhimurium TA98 ve TA100 suşları Prof.Dr. Bruce N. Ames tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada kullandığımız bakteri suşlarının genotipik özellikleri ; HisD3052 mutasyonu bir bazın eklenmesi veya çıkarılması ile kendini gösteren çerçeve kayması tipinde bir mutasyondur. Bu mutasyon TA98 suşu çerçeve kayması mutasyonlara sebep olur. His- sebep olan mutasyonlarla his+ 'e dönüşümü gözlenmektedir.

His G46 mutasyonu histidin biyosentezinde ilk enzimi kodlayan gende l^ösin kodu yerine prolin kodunun gelmiş olmasına sebep olan mutasyonu tanımlamaktadır.TA100 suşu bu tip mutasyon içerir. TA100 suşu baz çifti değişimine sebep olan mutasyon olarak bilinmektedir.

Rfa mutasyonu bakteri hücre duvarının lipopolisakkarit tabakasını kodlayan genlerden oluşmaktadır. Hücre yüzeyini saran lipopolisakkarit tabakasını zayıflatmaktadır. Bu şekilde hücrelere giremeyen büyük moleküllerin test bakterilerine girebilmelerini kolaylaştırmaktadır. Bu tip mutasyon TA98 ve TA100 suşlarının her ikisinde de görülmektedir.

Uvr B DNA onarım sisteminde kesip çıkarma görevini üstlenen enzimi kodlayan uvrB geninde delesyon meydana getiren mutasyondur. Bu mutasyon TA98 ve TA100 suşlarının her ikisinde de görülmektedir.

R faktör (+) pKM101 Ampisilin dirençlilik geni taşıyan plazmittir. Plazmit içeren suşların, mutajenik olduğu işaretlenen ajanlara karşı verilen cevapları, plazmid içermeyen suşlara göre yükseldiği görülmektedir. Bu plazmidin varlığı hücrelerde normalde bulunan ve hata oranı yüksek onarım yolunun aktivasyonuna bu sebeple de kimyasalların etkisiyle

veya spontan olarak mutasyonların artışına sebep olur. Bu mutasyon TA98 ve TA100 suşlarının her ikisinde de görülmektedir.



3. MATERYAL ve METOD

Doğal ajanların mutajen etkilerinin dışında antimutajen etkilerinin de olabileceği bilinmektedir. Antimutajenite özelliğe sahip ajan, mutajen maddenin aktivasyonunu inaktif hale getiren ya da genler üzerindeki mutasyonu değiştirebilen maddelerdir. Antimutajenler etki şekillerine göre desmutajenler ve biyoantimutajenler olarak ayrılmaktadırlar. Mutajen ajanların hücreye girişini bloke eden, yani DNA'nın yapısına dâhil olmadan onları inaktif hale getiren antimutajenik maddeler desmutajenler olarak tanımlanmaktadır.

Bu çalışma sırasında bitki susları, *Salmonella typhimurium* ile inhibe edilmiştir. İnübasyon sırasında dört adet taşıyıcı baz sıvı kullanılmıştır. Bu bölümde, çalışmada kullanılan yöntem ve teknikler alt başlıklar biçiminde ele alınmaktadır. Testler sırasında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Mikrobiyoloji laboratuvarı kullanılmış olup, kullanılan tüm teknikler alt başlıklarda açıklanmaktadır.

3.1. Deney metaryalleri

3.1.1. Mutasyonlu *Salmonella typhimurium* Suşları

Bu çalışmada kullanılan bakteri test susları (*Salmonella typhimurium* TA 98 ve TA 100) Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Mikrobiyoloji laboratuvarından sağlanmıştır. Bu susların genotip özellikleri şöyledir:

Tablo 3.1 Antimutajenisite testlerinde kullanılan *S. typhimurium* suşları ve genetik özellikleri

Bakteri Suşları		LPS	Histidin Mutasyonu	Onarım	pKM101	Mutasyon tipi	Olası Etkili Bileşik Sınıfları
TA98		Rfa	His D3052	uvr B	+	CG yanından -1	Çerçeve Kaymasına Neden Olan Mutajenler
TA100		Rfa	His G46	uvrB	+	AT → CG Taransisyon	Baz Çifti Degisimine Neden Olan Mutajenler

Salmonella test suşlarının stoklanması ve stok kültürlerin açılması, testlerin güvenilirliği (test suşlarının orijinal mutasyonlara sahip olup olmadığını bilinmesi) için bakterilerin genetik özellikleri bazı testlerle önceden kontrol edilmiştir. Testler sonrasında HBA (Histidin Biotin Agar)'a ekilmiş olan *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA 100 bakteri büyümelerinden tek koloniler alınmış ve 2 ml NB (Nutrient Broth, Fluka) içinde 37 °C' de 18 saat inkübe edilerek, bu her iki bakteriyel kültürden steril eppendorf tüplerinin içerisine 1ml bakteri kültürü ve 90 µl DMSO eklenerek vortekde 2-3 saniye karıştırılmış ve sıvı azot ile şok donmaları sağlanıp stoklanmıştır. Deneye dair TA100'ün kristal viyole test hazırlığına Şekil 3.1'de yer verilmektedir.

3.1.2. *Salmonella typhimurium* Deney Seti ve Kimyasalları Amaçları

% 0,1 Kristal Viyole

Kristal viyole ve distile sudan oluşmaktadır. İçerikteki Kristal viyole yüzdesi 0,1 gram olup 100 ml suda çözündürülmektedir. Boya ve su karıştırılarak solüsyon ışık geçirmeyen bir kaba konularak +4 °C'de saklanmaktadır. Rfa mutasyonunun denemesi amacıyla hazırlanarak deneyde belirtilen koşullarda kullanılmaktadır.



Şekil 3.1 TA100 Kristal Viyole İçin Hazırlanması

%0,13 Biotin Çözeltisi

D biyotin kullanılarak 0,00065 g olarak tartılarak 50 ml distile su ile çözelti haline getirilmek suratiyle deneyde genotip kontrolü ve HBA plaklarının hazırlanması amacıyla kullanılmaktadır. Biotin suyun kaynama noktasına dek ısıtılarak çözölmektedir. 121 0 C’de ve 20 dakika otoklav edilmektedir. +4 0 C’de saklanmaktadır.

% 0,5 Histidin Çözeltisi

2 gr Hidrojen Klorür (HCL) (F.W. 197,7) , 400 ml distile suda çözöndürölerek elde edilmektedir. Bu karışımından otoklav elde edilmiş olup +4 0C’de saklanmış olup, deneyde genotip kontrolü ve HBA plaklarının hazırlanması amacıyla kullanılmaktadır.

%20 Glukoz çözeltisi

20 gr glukoz ve distile su ile hazırlanan çözeltiyi ifade etmektedir. Glukoz distile su içinde çözülerek 121 0C’de 20 dakika bekletilerek otoklav elde edilmektedir. 0 ila 4 0C’de saklanmaktadır. Deney sırasında MGA ve HBA plaklarının hazırlanması amacıyla laboratuvar şartlarında üretilerek kullanılmaktadır.

Şekil 3.2’de deney setinin hazırlanması sırasında çalışılan laboratuvar materyallerinden bir görünümüne yer verilmektedir.



Şekil 3.2 Deney Setinin Hazırlanması

4-Nitro-o-Fenilendiamin (NPD)

2 mikrogram (mcg) / petri olmak üzere DMSO içinde çözülerek hazırlanmaktadır. TA 100 suşu için 89 karışımı gerektirmeyen bir kimyasal olarak bilinmektedir. Oda ısısında saklanabilmektedir. Bu deney sırasında pozitif kontrolün sağlanması amacıyla kullanılmaktadır.

Sodyum Azid (AZs)

5 mcg/ petri olmak üzere DMSO içinde çözülerek hazırlanmaktadır. TA100 suşu için 89 karışımı gerektirmeyen bir kimyasal olarak bilinmektedir. Oda sıcaklığında saklanmaktadır. Deneyde pozitif kontrol amacıyla kullanımı sağlanmış olup, deney materyalleri arasında iş bu çalışmanın kimyasalları arasında bu sebeple sayılmaktadır.

2-Aminofluorene (2AF)

10 mcg/petri olmak üzere DMSO içinde çözülerek hazırlanmaktadır. TA 98 ve TA100 suşu için 89 karışımı gerektiren bir kimyasal olarak bilinmektedir. Oda sıcaklığında saklanarak muhafaza edilmektedir. Bu deneyde pozitif kontrolün gerçekleştirilmesi için kullanılan kimyasallar arasında yer almaktadır.

Top Agar

Agar, Sodyum Klorür (NaCl) ve distile suyun sırasıyla 1,5 gr., 1,25 gr. ve 250 ml oranlarında karıştırılmasıyla elde edilmektedir. Agar ve NaCl distile suda çözündürülüp karıştırıldığında otokav elde edilmektedir. Bu karışım oda sıcaklığında saklanarak muhafaza edilmektedir. Top Agar bu deneyde mutasyon test maddesi olarak deney setinde yer bulmaktadır.

Histidin/ Biotin plakları (HB Agar) Hazırlanması

Agar ve su karıştırılarak otoklav eldesi sağlanmaktadır. 450C'ye kadar soğutulup sırasıyla %20 oranında, glukoz, 50 xVB tuzları ve Histidin çözeltisi eklenerek solüsyon hazırlanmaktadır. Karışıma Biotin eklemesinden önce solüsyonun soğumasının beklenmesi gerekmektedir. Çözeltilerin karışımının eldesindeki solüsyon biraz soğuyunca karışıma Biotin de eklenmektedir. Solüsyonların üstüne dahil edilen Biotin 30 ml olarak petri kaplarına dağıtılarak Histidin gereksinim düzeyini belirleyecek test maddesi sağlanmış olmaktadır. Karışımın eldesi için bu deney kapsamında kullanılan içeriğin tam ölçüleri aşağıda listelenmektedir.

%20 Glukoz, 20 ml

Histidin çözeltisi, 2 ml

Agar, 3gr

Biyotin çözeltisi, 1,2 ml

50xVB tuzları, 4 ml

Distile su , 182 ml

Bu deneyde, karışım son hali ile Histidin/ Biyotin plakları (HB Agar) için histidine gereksinimini tespit etmek amacıyla kullanılmaktadır.

Histidin/Biyotin/ Ampisilin plakları (HBA Agar)

Agar ve su otoklavlanarak 45 °C'ye kadar soğutulup, %20 glukoz, 50 xVB tuzları ve histidin, otoklavlanmış sölüsyona eklenip, sıcaklık azaldığında sölüsyona biyotin ve ampisilin eklenip, petrilere 30'ar ml olarak dağıtıldığında ve +4 °C sıcaklık ayarlaması sağlandığında bu plaklarda bakterilerin 2 ay süre ile saklanabileceği koşullar yaratılmış olmaktadır. Yaptığımız bu deneyde, HBA Agar kimyasalı, ampisilin direnç testinde ve “Master Plate” hazırlanması sırasında kullanılmak üzere laboratuvar ortamında üretilmiş olup, maddenin tam içeriğinde kullanılan ölçülere aşağıda yer verilmektedir. İlk olarak Ampisilin direnç testi için üretilen test kimyasalının içerik sunumu aşağıda görülmektedir.

Agar, 3 gr.

50xVB Tuzları, 4 ml

%20 Glukoz, 20 ml

Histidin. HCL.H₂O, 2 ml

0,5 mM Biyotin, 1,2 ml

(% 0,8/0,02M NaOH) Ampisilin,

Distile su, 182 ml

Master Plate hazırlanması için ise 300 ml solüsyon içeriği aşağıda listelenmektedir:

Agar 4,5 gr.

50xVB Tuzları, 6 gr.

%20 Glukoz, 30 ml

Histidin. HCl.H₂O , 3 ml

0,5 mM Biotin, 1,8 ml

(% 0,8/0,02M NaOH) Ampisilin, 0,9 ml

Distile su, 273 ml

Şekil 3.3'te solüsyon hazırlıkları petrilere deney sırasındaki madde dağılımları laboratuvar çalışması sırasında üretilen bir görsele yer verilmektedir.



Şekil 3.3 TA 98 Spontan İnhibasyonu için Yapılan Deneyden Alınmış Görsel (Laboratuvar Çalışması, Ek(2) Dosya No: MOV. 5188)

Şekil 3.2’de görülen görselde otoklav tamamlanmış olup, biyotin ve ampisilinin petri kaplarına dağılımı sırasındaki çalışmayı göstermektedir. Şekil 3.4’te petri kabına enjeksiyonu yer almaktadır.



Şekil 3.4 HBA’da biyotin ve ampisilin deney tüpleri (Laboratuvar Çalışması Ek(2))

Minimal Glukoz Agar Plakları (MGA)

7,5 gr. agar

10 ml 50xVB tuz

50 ml %20 glukoz

415 ml distile su

Yukarıdaki içerik ölçüleriyle hazırlanan MGA, agar ve su karışımının çözülüp otoklavlanarak 45 °C’ya kadar soğutularak %20 glukoz ve 50xVB tuzlarının yavaş yavaş

eklenmesiyle oluşturulmakta olup, son olarak hazırlanan solüsyonun 30 ml petri kaplara dağılımı ile tamamlanmaktadır.

Bu solüsyon, bu çalışma kapsamında yürütülen laboratuvar deneyinde, spontan olarak geriye dönüş sıklığının kontrolü, pozitif kontrol, solvent kontrol (DMSO) ve mutasyon deneyi sırasında kullanımı amacıyla hazırlanmıştır.

Nutrient Agar plakları(NA)

2,6 gr. Oxoid Nutrient Broth no:2

1,6 gr Agar ve

100 ml Distile su

Yukarıda sayılan deney kimyasalları kullanılarak hazırlanan bu solüsyon, gecelik kültürün mililitresindeki bakteri sayısını bulmak ve genotip kontrollerinde kullanım amacını taşımaktadır. Çalışma kapsamında kristal viyole ve UV dayanıklılık testi için üretilmiştir. Üretim laboratuvar ortamında Agar, Oxoid Nutrient Broth no:2 ve distile suyun yukarıda belirlenen oranlarda 250 ml'lik erleninde karıştırıldıktan sonra, otoklavlanarak 30'ar ml'lik petriye aktarılmış olup, daha sonra Kristal viyole ve UV testinde kullanılmıştır.

Nutrien Broth sıvı kültür ortamı (NB)

Nutrien Broth (NB) sıvı kültür ortamını yaratmak üzere 5 gr. Oxoid Nutrient Broth no:2 ; 630 mcg Ampisilin, 200 ml Distile su, kullanılmaktadır. Karışımda öncelikle Broth ve su otoklavlanır ve ampisilin karışımın bir miktar soğuması ile karışıma eklenmektedir. Yaratılan bu karışım, bu çalışma kapsamında, bakterilerin gecelik kültür büyümesine katkı sağlamak üzere kullanılmaktadır. Muhafazası için +4 °C yeterli olmaktadır.

Çalışma kapsamında otoklavlama işlemleri laboratuvar ortamında gerçekleşmiş olup Şekil 3.5'te bu işlemin yer aldığı görsele yer verilmektedir.

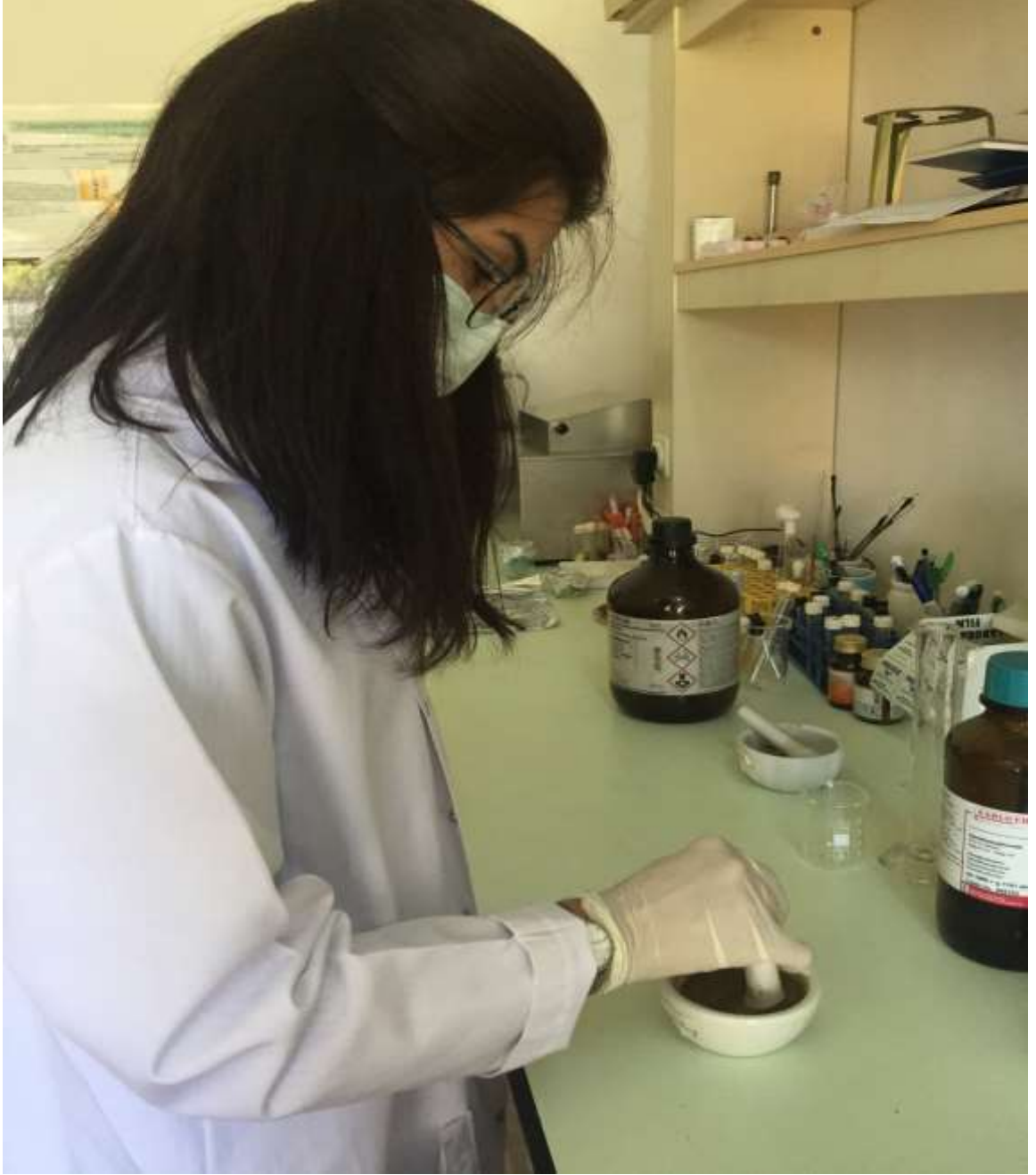


Şekil 3.5 Laboratuvar Ortamı Su Banyosu İşlemine Maruz Bırakılan Deney Tüpleri

Şekil 3.5’te deney materyallerinden olan su banyosu cihazına yer verilmektedir. Bu cihaz yukarıda biyolojik ve fitokimyasal aktivileri sağlamak üzere kullanımı gerçekleştirilmiştir.

3.1.3. Diğer Materyaller

Tohum ekstresi ve mutojen inhibe edilmek üzere de otoklavdan yararlanılmıştır. Petri kabında birlikte inkibe edilen tohum ekstresi ve mutojen üzerine hazırlanan kimyasal enjeksiyonu sağlamak üzere bakteri aktivasyonu sağlanmıştır. Deneyde kullanılan diğer materyaller petri kapları, enjeksiyon şırıngası, diğer laboratuvar kapları, otoklav cihazı, soğutma işlemi, taşıyıcı baz sıvıları, (Aseton, Hekzan, DMSO, Metanol) laboratuvar ortamından yararlanılarak kullanılan maddeler arasında yerini almaktadır. Şekil 3.6’da bitki ekstrasyonuna ait bir görsele yer verilmektedir.



Şekil 3.6 Bitki Ekstrasyonu Hazırlığı Laboratuvar Ortamı

Deneyde kullanılan bitki ekstrasyonlarının hazırlanmasına ait görüntüye Şekil 3.7’de yer almaktadır.



Şekil 3.7 Aseton, Hekzan, DMSO, Metanol Hazırlığı Laboratuvar ortamı

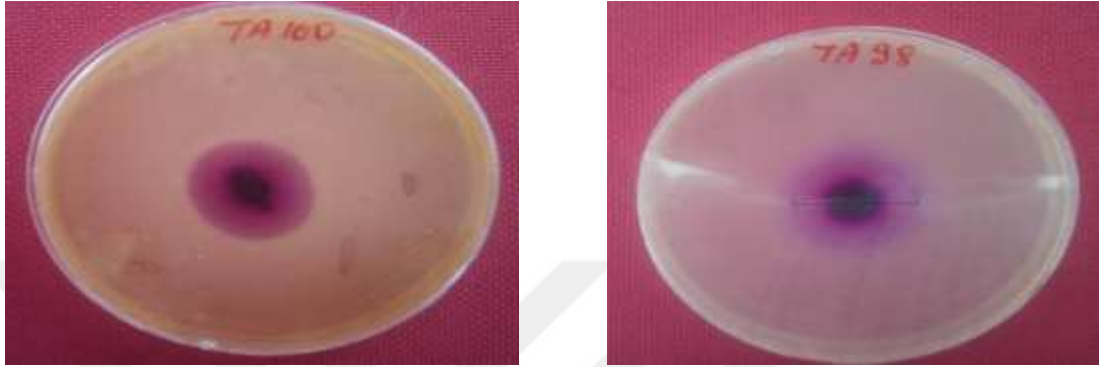
Şekil 3.7’de yer alan solventlerin biyolojik aktivite kontrolü için kullanılmakta olup, bulgulara yer alan (Şekil 4.1) aktivite sonuçları sergilenmektedir.

3.1.4. Test Suslarının İlgili Genetik Karakterlerinin Kontrolü ve Üretilmesi

3.1.3.1. rfa Mutasyonunun kontrolü

Test bakteri suşlarının herbiri için gecelik kültürleri (0.1 ml) nütrient agar petrilere tüm yüzeye ekim yapıldı. Steril whatman no. 1 disklere (0,6mm) Kristal viyole çözeltisinden 10µl uygulanarak bir gece (37 °C, 18 saat) inkübe edildi. Disk çevresinde gözlenen inhibisyon zonları (seffaf bölge) mutajenik bileşiklerin ortalama büyüklüğündeki kristal viyolenin moleküllerinin bakteri içerisine girerek hücresel bütünlüğünü bozduğu ve

gelişemediğine binaen rfa mutasyonu varlığının göstergesi kabul edildiği bildirilmektedir (Ames ve ark., 1973). Rfa mutasyon kontrolü için literatürdeki bu bilgiden yararlanılmış olup, deney sırasındaki TA100 ve TA98 rfa mutasyonu gözlemlerinden elde edilen görünümlere Şekil 3.8’de yer verilmektedir.



Şekil 3.8 *S. typhimurium* TA 98 ve TA 100’ de rfa mutasyon kontrolü

3.1.3.2. uvrB Mutasyonunun kontrolü

UV onarım mekanizmasındaki mutasyonu korunup korunmadığı UV ısına duyarlılığı test edilerek gözlendi. Bu amaçla nutrient agar petrisinde gecelik kültür hazırlanarak tek koloni büyümesi elde edildi ve bu tek koloniden inokulasyon cubuğu (öze) ile örnek alınarak tek dogrusal çizgi ekimleri nutrient agar petri yüzeylerine yapıldı ve sonrasında petrinin kapağı alınarak yarısının üzeri kapatılarak UV lambası ile ışınladı (15 watt, 33 cm mesafe, 8 saniye). UV ışınlaması sonrası petri kapağı kapatılarak inkübe edildi (37 °C, 18 saat). İnkübasyon sonrasında bakteri büyümeleri control edildi. Şekil 3.9’da TA98 ve TA100 için yapılan bu testin görselleri yer almaktadır.



Şekil 3.9 UVRB Mutasyon Kontrolü Petri Kapları

Petrinin UV ışınına kapalı olan yarısında bakteri büyümleri gözlenirken diğer UV ışınına açık kalan yarısında ise büyüme gözlenmedi. Bu durum literatürdeki UVR mutasyonun test suşlarında varlığı olarak kabul edilen sonuçlarla uyumlu görünmektedir (Ames ve ark. 1973).

3.1.4.1.Bitki Tohumu Ekstraksiyonları

Aktivite deneyleri için Konya yöresinden toplanan *C. sativum* L.tohumları (60 gr) ayrı ayrı öğütülerek sonrasında materyal örnekler 600 ml (Methanol, Aseton, n-Hekzan ve DMSO) çözümleri ile ekstraktları elde edildi. Bu amaçla ilk olarak çözücü karışımı (60 gr örnek + 600 ml çözücü) 24 saat vertikal çalkalanma işlemi sonrasında mortarda ezilerek filtrelerden geçirildi (Whatman No1, 24 saat). Sonrasında kalan çözücülerin

uzaklaştırılması sağlandı (2ml' lik önceden tartılmış eppendorf tüplerde, 12 saat, 50°C' etüvde, saatte bir çalkalanarak). Elde edilen kuru ekstre tartılarak (mg/ml) net ağırlıkları kaydedildi ve antimutajenite testleri için 4 °C buzdolabında korumaya alındı.

3.1.3.3. Ekstrelerin Antimutajenisite Testler

3.1.3.3.1. Sitotoksik doz belirleme

Bitki tohum ekstrelerinin antimutajenite etkilerinin gözlenebilmesi için öncesinden sitotoksik doz seviyelerin belirlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla *S. typhimurium* TA 98 suşu sponran daha az koloni sayısı verdiği için seçildi ve içeren (1-2x10⁹) kültürden serum fizyolojik ile seri dilüsyon uygulandı, 10⁶ sitotoksik etki belirlemede r kullanıldı. Sonrasında tohum ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarından 0,1ml ve *S. typhimurium* TA 98 bakteri kültürü (0,1ml) 50 °C "su banyosunda bulunan top agar (2ml) içerisinde birleştirilerek çalkalama sonrası nutrient agar petrilere dökme oplaka yolu ile yayma ekimi uygulandı ve inkübe edildi (37 °C', 18 saat). Sonrasında her bir ekstre için olan petrideki koloniler sayılarak ekstrelerin her bir cozendeki toksik olmayan (LD₅₀) dozları belirlendi (Dean ve ark. 1985). Bu değer orijinal test protokolünde kontrol petrisindeki bakteri koloni sayısının yarısından az olan değerler toksik doz kabul edilmektedir.

Bakteri suşlarının mutasyonel genetik özelliklerinin kontrol testleri sonrasında, her bir test bakteri suşunun çalışma süresince kullanılacak stok kültürlerinin hazırlanmıştır. *Salmonella* antimutajenisite ve mutajenisite testleri plak inkorporasyon metodu ile gerçekleştirilmiştir. Böylelikle, bakterinin yumuşak üst agara katılıp, petri tabanındaki MGA (Minimal Glukoz Agar) ortamına yayılması sağlanmıştır. Her doz (mg/ml) paralel iki petri halinde denenmiş, farklı zamanlarda iki bağımsız deney halinde tekrarlanmıştır.

Mutajenik maddeler olarak TA 98 için 200 µg/plak 4-nitro-1- quinoline oxide 4NQO, TA100 için 10 µg/plak Sodyum Azid NaN₃ kullanılmıştır (Sigma–Aldrich Co (St. Louis, MO, USA). Spontan His⁻ den His⁺'e geridönüşüm testleri ile paralel uygulanmıştır. Her iki test için ekstrelerin varlığında, oluşan revertant bakteri koloni sayısındaki herhangi bir

azalma, ekstrelerde bir antimutajenik faktörün varlığına işaret kabul edilmiştir. Antimutajenisite testlerinde, üst agar uygulaması öncesinde mutajenik maddeler (TA98 4-nitro-1-Nitroquinoline oxide 4NQO ve TA100 sodium azide NaN_3 distile suda) ile ekstreler inkübe edildi (45 dak. 37 °C) Test uygulamaları için yeni bakteri suşları 20 µl bakteri kültürü (2 ml genel nutrient sıvı ortamda (Sigma Aldrich) inkübe edildi (5 saat, 37 °C, dikey çalkalamada)ve önerilen konsantrasyona getirildi (10×10^8). Sonrasında mutajenisite taraması için, histidin-biyotin (0,2ml; %10) içeren 2ml yumuşak top agara (üst agar) 100 µl test bakteri solüsyonu ve test edilecek ekstre solüsyonu (50 µl) eklendi. Pozitif ve negatif kontrolleri beraber uygulandı; negatif kontrol için test ortamında 50 µl solvent- (Methanol, Aseton, n-Hekzan ve DMSO) uygulanırken. pozitif kontrollerde bakteri suşlara spesifik olan pozitif mutajenler (100 µl) üst agara eklendi. Üst agar karışımı önceden hazırlanan MGA (Minimal Glukoz Agar) petri yüzeyine uygulandı ve inkübe edildi (48 saat, 37 °C). İnkübasyondan sonra sayıları her plakadaki geri dönen koloniler (revertant koloniler) sayıldı.

4. BULGULAR

Sitotoksik doz belirlenmesiyle antimutajenisite testlerinde kullanılan bitki tohumların 4 ayrı çözgündeki ekstralarının *S. typhimurium* TA 98 üzerinde araştırılan sitotoksik dozları Çizelge 4.1’de yer almaktadır.

Tablo 4.1 *C. sativum* L tohum ekstralarının *S. typhimurium* TA 98 üzerine etkileri.

<i>C. sativum</i> L tohum ekstraları	<i>C. sativum</i> L. tohum ekstraları (mg/ml)			
	25 mg/ml	12,5 mg/ml	6,25 mg/ml	Spontan buyume
Aseton	65	48	74	48
DMSO	79	86	72	48
Hekzan	102	68	89	48
Metanol	94	83	88	48

Coriandre sativum L. nin ayrı çözgünlerdeki His⁻ mutant bakterilerin inkübasyon ortamında mutajen varlığında ve yokluğundaki His⁺’e dönüşerek bakteriyel koloni gelişmeleri gözlemlendi. *S. typhimurium* TA98 suşu (çerçeve kayması mutasyonlarını tespit eder) ve TA100 (baz çifti yer değiştirme mutasyonları) ile yapılan 48 saat 37 °C’de inkübasyonlarından sonra her plakadaki geri dönen koloniler revertant (geri-mutantlar) sayıldı. Antimutajenisite, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı;

Antimutajenite suşa spesifik her bir mutajenin etkisini azalttığını ifade eden revertant sayısındaki azalma yüzdesi olarak ifade edildi. Aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanan mutajenitenin inhibisyonu yüzdesi olarak:

$$\text{Yüzdelik İnhibisyon oranı} = \frac{100 \times [1 - (\text{Revertant koloni sayısı/petri} - \text{Spontan revertant koloni})]}{(\text{Mutajenli ortamdaki revertant koloni sayısı} - \text{Spontan revertant sayısı})}$$

$$\text{İnhibisyon Oranı (\%)} = 1 - \frac{T - S}{M - S} \times 100$$

T: Mutajen madde + bitki ekstraların varlığında geri dönen koloni sayısı

M: Sadece mutajen madde varlığında geri dönen koloni sayısı

S: Spontan revertant koloni sayıları

$$\text{Mutajenisite İndeksi} = \frac{\text{Revertant koloni sayısı}}{\text{Negatif kontroldeki revertant koloni sayısı}}$$

Formüllerinden yararlanılarak hesaplamalar sağlanmıştır. Laboratuvar çalışmasından elde edilen bulgulara bu bölümde yer verilmektedir.

4.1. *Salmonella typhimurium* Spontan Geridönüşüm Sonuçları

Testle öncesinde çalışmada *Salmonella typhimurium* TA 98 ve TA100 suşların kendiliğinden geriye dönen koloni sayıları 3 tekrarlı testlerle belirlenerek alt ve üst değerleri belirlenmiştir;

TA 98: 22- 48

TA 100: 73 – 155

Revertant tespit denemeleri, TA 98 için 22; TA 100 için 20 petride gerçekleştirildi. Elde edilen bu sonuçlara göre TA 98 ve TA 100 suslarının, çalışma için kullanılabilir olduğu tespit edildi.

Coriandrum sativum. L'nin ekstralarının TA 98 (1-Nitroquinoline oxide 4NQO, 0.25 mg/petri) ve TA 100 (Sodium azide NaN₃, 1,5mg/petri)mg/petri) mutajenlere karşı inhibisyonları (antimutajenite etkileri) ne Çizelge 4.2'de yer verilmektedir

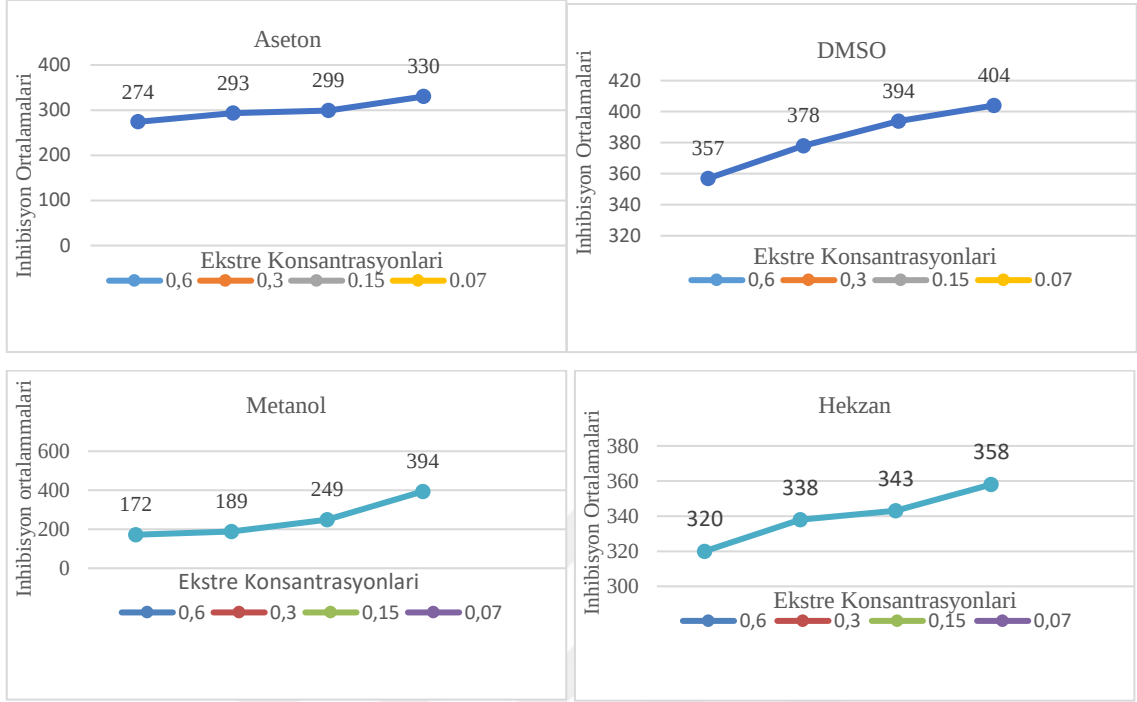
Tablo 4.2 *Coriandrum sativum* L'nin ekstrelerinin TA98 ve TA100 inhibisyon dağılımı

<i>C. sativum</i> L tohum ekstre konsantrasyonları (mg/petri)		TA 98		TA 100	
		Ortalama ±SD	Inhibisyon %	Ortalama ±SD	Inhibisyon %
Aseton	0,6	274	52	149	90
	0,3	299	48	157	86
	0.15	293	40	177	78
	0.07	330	36	244	47
DMSO	0,6	357	35	257	41
	0,3	378	31	270	35
	0.15	394	27	283	29
	0.07	404	25	175	20
Hekzan	0,6	320	42	266	37
	0,3	338	39	288	26
	0.15	343	37	297	23
	0.07	358	34	301	21
Metanol	0,6	172	72	144	92
	0,3	189	69	149	89
	0.15	249	57	191	71
	0.07	394	27	209	63
P.K.(ml/petri)	0,1	533		348	
N.K.(ml/petri)	0,1	36		127	

P.K. pozitif kontrol, N.K. negative control

Çizelge 4.2’de sunulan inhibisyon sırasındaki, Aseton, DMSO, Hekzan, Metanol konsantrasyon tepkilerine dair *S. thyphimurium* TA98 ve TA100 performansları grafikleştirilerek Şekil 4.1’de yer verilmektedir.

TA98 *S. thyphimurium* TA98 TA100 *S. thyphimurium* TA100



Şekil 4.1 Aseton, DMSO, Metanol ve Hekzan TA98 *S. thyphimurium* TA98 TA100 *S. thyphimurium* TA100 Ekstre Konsantrasyonlari

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tez projemizin amacı, öncesinde büyümesi için histidin aminoasidine gereksinim duyan oksotrofik *Salmonella typhimurium* suşlarının (TA98 ve TA100), araştırma materyali mutajenik ve antimutajenik etkilerinin olası etkin madde içeriklerinin varlığında inkübasyon sonucunda, standard his⁻ bakteri suşlarındaki revertant koloni sayımlarını karşılaştırmaktır.

Bu çalışmada *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları mutajenite ve antimutajenite özellikleri araştırılmıştır. Örnekler belirlediğimiz dozlarda 2 paralel testte ve birbirinden bağımsız olarak 2 deney yapılmıştır. Deneylerde her bir plaktaki revertant koloniler sayılmıştır.

Bu çalışmada genel olarak *Coriandrum sativum* bitki tohumlarının aseton, metanol, hekzan ve DMSO ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda farklı etkiler göstermiştir. Solventlerin antimutajenik aktiviteye sahip oldukları ve özellikle metanol ve aseton çözeltilisinin polaritesi fazla olan çözümlerle etkin bileşiklerin elde edilebildiğini çünkü antimutajenik inhibisyon oranlarının diğer ekstraktlara kıyasla daha yüksek olduğunu gözledik.

TA 98 susundaki mutajen etkilerini baskılamada en çok yüzde inhibisyon metanol ekstraktlarında gözlenirken, TA 100 susuna özgü kullanılan mutajeni baskılamada aseton ekstraktlarının öne çıktığı gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak her iki çözgenin tohumdalardan farklı fitoaktif bileşiklere içine almış olabileceği düşünülebilir.

Benim çalışmamda da özellikle metanol ve aseton ekstraktlarındaki olası antimutajenik fitokimyasallar TA 98 ve 100 suşlarına özgü mutajenlerin direkt kendilerini blokajlayarak ya da ekin formlarına dönüşlerini metabolik olarak inhibe ederek gerçekleştirmiş olabilirler.

Bu deney sonuçlarına göre şunu söyleyebiliriz ki kişniş tohum ekstraktları ilgili solventlerle farklı solventler (diklorometan, etanol, eter vb.) yeni fitokimyasalları elde edilebilir. Ancak şunu ortaya koyduk ki kişniş tohumlarında bazı mutajenik maddelerin baskılanmasıyla önemli fitokimyasallar etkiler olduğunu söyleyebiliriz. İleriki çalışmalarda bu ekstraktların kromatografik ayrıştırılmasını sağlayan kolon kromatografisi, sıvı tabaka kromatografisiyle bu kaba ekstraktlar ayrıştırılarak ilgili fitokimyasal bileşen

gruplarının çalışması yapılabilir. Bunun yanı sıra s9 karaciğer enzim sistemi entegre edilerek indirekt mutajenleri baskılayıp baskılamadığı da test edilebilir.

S. thyphimurium TA98 ve TA100 mutajenite ve antimutajenite performansları çizelge 4.2’de ve Şekil 4.1’de sunulmaktadır. *C.sativum* l. tohum ekstreleri 4 farklı konsantrasyonda çalışılmıştır. Çalışmada solventlerin çözeltileri farklıdır. Çözeltiler farklı olduğu için etki değeride farklılık gösterir. Solventin polaritedeki farklılığı fitokimyasalarda etken değerlerinin farklılaştırır.

Bu çalışmada TA 98 ve TA100 suşları farklı konsantrasyonlara farklı etkiler göstermiştir. Bu suşları Aseton, DMSO, Hekzan ve Metanol solventleri içerisinde mutajen ve antimutajen etkilerini test ettik. Test sonucunda Metanol çözeltisinin TA100 üzerinde TA98’deki sonuçlarla karşılaştırdığımızda daha yüksek antimutajenik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Test sonuçlarımıza göre *S.typhimurium* TA98 ve TA100 suşların revertant koloni sayıları kontrolle karşılaştırıldığında 10^8 konsantrasyonda tespit denemeleri TA98 ve TA100 suşu için sayılmıştır. TA100’ün revertant sayısı konsantrasyona bağlı olarak belirgin artış göstermektedir. Bu artış mutajenite ve antimutajenite aktivitesinin varlığını gösterir.

Amacımız *C.sativum* tohum ekstrelerinin olası mutajenik ve antimutajenik özelliklerini farklı mutasyonlara sahip *S. thyphimurium* TA98 (çerçeve kaydırma) ve TA100 s (baz çifti değiştirme) suşlarında dört ekstrenin de mutajenik etkilerinin olmadığını gösterdi. Çünkü yüksek konsantrasyonda bile normalde mutajenik maddelerde gözlenen revertant koloni sayısında spontan revertant koloni sayılarıyla karşılaştırıldığında önemli artma gözlenmedi.

Neticede benim ve benzer diğer araştırma sonuçlarından elde edilebilecek bilgiler ışığında gıda maddelerin bozunmasına yönelik gıdaların raf ömürlerini uzatabilme amaçlı eklenebilirler. Mutajenlerin aktivasyonu, sitoplazmada ve bakterilerde hücre zarındaki sitokrom P450 enzim sistemleriyle söz konusu olabilmekte ve antimutajen etkilerde DNA ya yaklaşımlarını baskılayarak sağlayabilmektedirler.

Doğal antimutajenlere ilişkin olarak, örneğin likenlerin metanol ekstraktlarının NaN_3 'e karşı gösterilen antimutajenik etkiler, ekstrakt inhibisyonundan dolayı sodyum azidin Dna’yı etkileyebilecek forma dönüştürülemeyerek antimutajenik etkisinden bahsedilir. Terminalia arjuna'dan izole edilen fito-bileşenler aminofloren (2-AF)n gibi aromatik

aminlerin mutajenik etkisini bastırıldığı yani 2-AF'nin mutajenik formlara metabolik aktivasyonunu baskılamış olabileceği gözlenmiştir .

Ayrıca yapılan baska çalışmalarda örneğin izotiyosiyanatlar söz konusu olduğunda, bunların antimutajenitelerinin ana mekanizması sitokrom P4501A1 ve 1A2 üzerindeki etki yoluyla mutajenlerin metabolik aktivasyonunun inhibisyonu ile ilgili ekstrak aktiviteilerinin olabileceği gözlenmiştir.

Bunların yanı sıra farmakolojik olarak da ekstrelerin biyoktif bileşen grupları kromotagrafik yöntemlerle saflaştırılarak çeşitli formlarda (tablet ya da kapsül vb.) kisnis vb baharat turu gidanın kendisine erişilemediği zaman ve mekanlarda destek olarak insan kullanımına sunulabilir.

Yukarıda kişniş uçucu yağının bileşenlerinden ikisinin antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğu belirtilmişti. Bu çalışmada, uçucu yağın kendisinin de antienflamatuvar aktivite gösterdiği gösterilmiştir. Buna dayanarak, uçucu yağların bileşenlerinin birbirleriyle ters etkileşmediği, dolayısıyla birbirlerinin antienflamatuvar aktivitesini engellemediği sonucuna varılabilir. Bu durumda kişniş uçucu yağının standardize edilmesi ve Sağlık Bakanlığı tarafından kullanım için onaylanması şartıyla bitkisel ilaç kullanımı düşünülebilir.

S.typhimurium TA98 ve TA100 suşları ile mutajenik ve antimutajenik çalışmaları ile ilgili benzer birçok çalışma yapılmıştır.

Deniz ve arkadaşları, Kişniş (*Coriandrum sativum* L.) üzerine bir derleme çalışmasında elde edilen sonuçlar doğrultusunda, kişnişin tarihsel kullanımı, içeriği ve geleneksel tıbbi kullanımları hakkında inceleme içermektedir. Dünyanın en eski baharatından biri olan kişniş, dünya mutfaklarında tatlandırıcı, ise tıpta kullanılmaktadır. Ayrıca birçok hastalığın tedavisinde de kullanılan kişniş, sindirim uyarıcı olarak kullanılan Ayurvedik bitkiden biri olarak bilinir, iltihap önleyici, antibakteriyel, ateş düşürücü, iltihap önleyici, mutajenez ve kanser önleyici olarak kullanılır ve umut verici yeni ilacın geliştirilmesine katkıda bulunabileceğine inanılmaktadır. Bu etkilerinin yanı sıra kişniş, antibakteriyel, antifungal ve antioksidan özelliklere sahip olduğu için koruyucu olarak da kullanılır ve yüksek sıcaklıklarda bile besinlerin stabilitesini sağlar. Ek olarak, trans aromatik aminler mutajenitesini önemli ölçüde azalttığı gösterilen kişniş sulu ekstraktının da antibiyotik olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Kişniş uçucu yağındaki ana bileşiklerin, özellikle linaloolün, depolanan ürünleri korumak için dezenfektan olarak kullanılabileceği tahmin edilmiştir.

Kişniş tozu veya kurutulmuş özü, çay, tentür, kaynatma veya infüzyonunun hazımsızlık, iştahsızlık, kasılmalar, uykusuzluk ve anksiyete için kullanılabileceği tespit edilmiştir. Ayrıca, kişnişinin çeşitli antioksidan bileşenlerinin (linalool, flavonoidler, kumarinler, kateşinler, terpenler ve polifenolik bileşenler) koruyucu etkilerinin radikal süpürücü etkileri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Literatürde toksisitesi hakkında çok az bilgi vardır ve bu nedenle bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Bir mutfak malzemesi olan kişnişin eski kullanımları, birçok yönden mevcut kullanımlarla örtüşmektedir. Tıbbi kullanımlarının yanı sıra antik çağlardan beri yaygın olarak baharat olarak kullanılan kişnişin kullanımının yılına kadar yaygınlaştırılması ve ilgili çalışmaların tekrar devam etmesi gerektiğine inanılmaktadır.

Yıldız 2015 yılında yaptığı “Türkiye'den *Coriandrum sativum* L. Yapraklarının Esansiyel Yağı ve Etanol Ekstraktının Kimyasal Bileşimi, Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteleri” adlı çalışmada, *Coriandrum sativum* L. yapraklarının uçucu yağ ve etanol ekstraktının kimyasal bileşimi, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini bildirmektedir. Gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi analizi, yağın %95,30'unu temsil eden 19 bileşik tanımladı. (E)-2-ondalık (%29,87), linalool (%21,61), (E)-2-dodesenal (%7,03), oniki kanallı (%5,78), (E)-2-ondesenal (%3,84), (E)-2-tridesenal (%3,56), (E)-2-heksadesenal (%2,47), tetradesenal (%2,35) ve α -pinen (%1,64) uçucu yağda tanımlanan ana bileşenlerdi. Numuneler, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal süpürme ve β -karoten ağartma deneyi kullanılarak antioksidan aktiviteleri açısından tarandı. C. sativum'un etanol özütü için IC₅₀ değeri 74.87 ± 0.03 μ g/mL olarak belirlendi. C. sativum etanol özütü için toplam antioksidan aktivite değeri $85.85 \pm 0.04\%$ idi. Bitkinin etanol ekstraktının toplam fenolik içeriği 14.97 ± 0.05 mg gallik asit eşdeğeri/g kuru ağırlık olarak belirlemiştir. Uçucu yağ ve etanol özü ayrıca 19 bakteri, 7 mantar ve 2 maya türü dahil olmak üzere 28 farklı gıda kaynaklı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite için test edildi. Bitkinin etanol özütü, hem disk difüzyon hem de minimum inhibisyon konsantrasyonu testlerinde mikrobiyal suşlara karşı zayıf antimikrobiyal aktiviteler gösterdiği tespit edilmiştir.

6. KAYNAKÇA

- Atar, H., & Çölgeçen, H. (2013). Bitki Doku Kültüründe İridoit Glozitler. Fen Bilimleri Dergisi, 115-133.
- Bulut, D. (2007). Türkiye'de pazarlanan bitkilerin uçucu yağ içeriklerinin analizi (Yüksek Lisans tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Önder, A. (2018). Faydalı etkileri için kişniş ve fito-bileşenleri. Uçucu yağların potansiyeli , 165-185.
- Çiftçizade. (2017, 11 15). Buhar Distilasyonu Yöntemiyle Uçucu Yağ Üretimi. <https://www.ciftcizade.com/buhar-distilasyonu/> adresinden alındı
- Nurzynska-Wierdak, R., Sałata, A., Stepaniuk, R., & Zawislak, G. (2016). Response of artichoke (*Cynara scolymus* L.) plants to irrigation and harvest date. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus, 15(6), 245-263.
- Deniz, E. Yeğenoğlu, S., Şahne, B., & Özkan, A. (2018). Kişniş(*Coriandrum sativum* L.) üzerine bir Derleme. Marmara Pharmaceutical Journal, 15-28.
- Karakaya, S., Koca, M., Sytar, O., Dursunoğlu, B., Özbek, H., Duman, H., ... & Kılıç, CS (2019). Aktif kumarin bileşenlerinin daha uzak biyo-güdümlü izolasyonu ile *Ferulago cassia*'nın antioksidan ve antikolinesteraz potansiyeli. Güney Afrika botanik dergisi , 121 , 536-542.
- Furan, M., & Geboloğlu, M. (2017). Yetiştiriciliği Yapılan Bazı Türk Kişniş (*Coriandrum sativum* L.) Çeşitlerinde Genetik Çeşitliliğin ISSR ve SRAP Marköleri Yardımıyla Değerlendirilmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 245-251.

- Albayrak, S., Göncü, A., (2012). Geleneksel Gıda Olarak Kişniş: Tıbbi Yararları ve Biyoaktiviteleri. Mesleki Bilimler Dergisi (MBD), 1(4), 2-7.
- Gözüaçık, H. G. (2018). Su Stresinin Kişniş (*Coriandrum sativum L.*)'te Bitki Gelişimi ile Meyvede Yağ Asidi ve Besin Elementi İçeriğine Etkisinin Araştırılması. Kilis: Ecity.doc.
- Karakaya, S., Koca, M., Şimşek, D., Bostanlık, FD, Özbek, H., Kılıç, CS, ... & Altanlar, N. (2018). Ferulago pauciradiata Boiss'in antioksidan, antimikrobiyal ve antikolinesteraz aktiviteleri. & Helder. Türkiye'de büyüyor. Doğadan Biyolojik Olarak Aktif Ürünler Dergisi , 8 (6), 364-375.
- Şanlı, E., & Kabaran, S. (2019). Maternal obesity, maternal overnutrition and fetal programming: effects of epigenetic mechanisms on the development of metabolic disorders. Current Genomics, 20(6), 419-427.
- Msaada, K., Taarit, M. B., Hosni, K., Hammami, M., & Marzouk, B. (2009). Regional and maturational effects on essential oils yields and composition of coriander (*Coriandrum sativum L.*) fruits. Scientia Horticulturae, 122(1), 116-124.
- Ramadan, M. F., Kroh, L. W., & Mörsel, J. T. (2003). Radical scavenging activity of black cumin (*Nigella sativa L.*), coriander (*Coriandrum sativum L.*), and niger (*Guizotia abyssinica cass.*) crude seed oils and oil fractions. Journal of agricultural and food chemistry, 51(24), 6961-6969.
- Ulutaş, E., Bulut, S., & Orhan, D. D. (2021). Piyasada Kişniş Olarak Satılan Örneklerin Avrupa Farmakopesi Kriterleri Yönünden İncelenmesi. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi, 11(3), 492-501.
- Dima, C., Pătraşcu, L., Cantaragiu, A., Alexe, P., & Dima, Ş. (2016). The kinetics of the

- swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. Food chemistry, 195, 39-48.
- Çiftçi, M. E., & Macit, M. (2018). Yumurtacı Tavuk Rasyonlarına Kişniş Yağı (Coriander Oil) İlavesinin Performans, Yumurta Kalite Özellikleri, Yumurta Sarısı TBARS Değerleri ve Bazı Serum Parametreleri Üzerine Etkisi. Alinteri Journal of Agriculture Science, 33(2), 201-208.
- Seder, M. (2017). Türk yemeklerinin Çinli turistlerin memnuniyeti ve tekrar ziyaret etme niyeti üzerine etkisi (Master's thesis, Anadolu Üniversitesi).
- Mandal, S., & Mandal, M. (2015). Coriander (*Coriandrum sativum* L.) Essential Oil: Chemistry and Biological Activity. Asian Pasific of Tropical biomedicine, 421-428.
- Eruçar, F., Tan, N., & MİSKİ, M. (2022). Ethnobotanical Records of Medicinal Plants of Turkey Effective on Stress Management Complied with the Literature Survey in Their Chemical Content and Activities. RECORDS OF NATURAL PRODUCTS.
- Ökmen, G., Arslan, A., Vurkun, M., Mammadkhanli, M., & Ceylan, O. (2017). Farklı Baharatların Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteleri. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR, 16-28.
- Özbek, H., Him, A., & Türközü, D. (2006). Kişniş(*Coriandrum sativum* l.) Uçucu Yağ Ekstresinin Letal Doz Düzeyleri ile Antienflamatuvar Aktivitesinin Araştırılması Ege Tıp Dergisi, 163-167.
- Öztekin, S., & Soysal, Y. (1998). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerde Ekstraksiyon Yöntemleri. Tekirdağ: Tarmek.

- Şahin, B. (2013, ağustos 1). Farklı Ekim Zamanlarında Yetiştirilen Bazı Tıbbi Bitkilerin Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
<http://acikerisim.selcuk.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/795/346432.pdf>
sequence=1 adresinden alındı.Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi. (tarih yok)
<http://sifalibitkiler.net/?s=kisnis> adresinden alındı
- Tanker, N., & Tanker, M. (2006, 12 2). Su Buharı Distilasyonu.
<http://www.agaclar.net/forum/bitkiler-ve-sagligimiz/22101.htm> adresinden alındı
- Wong, P., & Kitts, D. (2006, 6 10). Studies on the Dual Antioxidant and Antibacterial Properties of Parsley (*Petroselinum crispum*) and Cilantro (*Coriandrum sativum*) Extracts. Food Chemistry, s. 505-515.
- Zeb, A. (2016). Coriander (*Coriandrum sativum*) Oils. Essential Oils Food Preservation, Flavor and Safety, 359-364.
- Stammati A, et al. Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays. Food Chem Toxicol 1999;37:813-823.
- Özbek T. Doğu Anadolu tıbbi bitkilerine ait bazı türlerin Ames/Salmonella Mikrozom testi kullanılarak antimutajenik özelliklerinin saptanması, Atatürk Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 2006.
- De Flora, S., Camoirano, A., D'Agostini, F., Balansky, R., 1992. Modulation of the mutagenic response in prokaryotes. Mutat. Res. 267, 183–192.
- Vukovic-Gacic B, et al. Antimutagenic effect of essential oil of sage *Salvia officinalis* L. and its monoterpenes against UV-induced mutations in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. Food and Chemical Toxicology 2006;44:1730- 1738
- Loh DSY, Er HM, Chen YS. Mutagenic and antimutagenic activities of aqueous and

- methanol extracts of *Euphorbia hirta*. *Journal of Ethnopharmacology* 2009;126:406-414.
- Sotto AD, Evandri MG, Mazzanti G. Antimutagenic and mutagenic activities of some terpenes in the bacterial reverse mutation assay. *Mutation Research* 2008;653:130-133.
- 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.
- Hegazi, I. M. A., Afifi, A. A., & Rashad, G. A. (2007). Nutritional status of N and P as affected by adding some organic manures and rock phosphate in both sandy and calcareous soils. *Journal of Soil Sciences and Agricultural Engineering*, 32(6), 4977-4986.
- Lo Cantore, P., Iacobellis, N. S., De Marco, A., Capasso, F., & Senatore, F. (2004). Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* *Miller var. vulgare* (Miller) essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7862-7866.
- Kubo, I., Fujita, K. I., Kubo, A., Nihei, K. I., & Ogura, T. (2004). Antibacterial activity of coriander volatile compounds against *Salmonella choleraesuis*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(11), 3329-3332.
- Matasyoh, J. C., Maiyo, Z. C., Ngure, R. M., & Chepkorir, R. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. *Food Chemistry*, 113(2), 526-529.

- Wong, P. Y., & Kitts, D. D. (2006). Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food chemistry*, 97(3), 505-515.
- Chithra, V., & Leelamma, S. (1999). *Coriandrum sativum* changes the levels of lipid peroxides and activity of antioxidant enzymes in experimental animals.
- De la Rosa, O., Flores-Gallegos, A. C., Muñiz-Marquez, D., Nobre, C., Contreras-Esquivel, J. C., & Aguilar, C. N. (2019). Fructooligosaccharides production from agro-wastes as alternative low-cost source. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 139-146.
- Zeković, Z., Pavlić, B., Cvetanović, A., & Đurović, S. (2016). Supercritical fluid extraction of coriander seeds: Process optimization, chemical profile and antioxidant activity of lipid extracts. *Industrial crops and products*, 94, 353-362.
- Shahwar, M. K., El-Ghorab, A. H., Anjum, F. M., Butt, M. S., Hussain, S., & Nadeem, M. (2012). Characterization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) seeds and leaves: volatile and non volatile extracts. *International journal of food properties*, 15(4), 736-747.
- Mischo, H. E., Gómez-González, B., Grzechnik, P., Rondón, A. G., Wei, W., Steinmetz, L., ... & Proudfoot, N. J. (2011). Yeast Sen1 helicase protects the genome from transcription-associated instability. *Molecular cell*, 41(1), 21-32.
- Brindis, R. G., Amsterdam, E. A., Wenger, N. K., Casey Jr, D. E., Ganiats, T. G., Holmes Jr, D. R., ... & Zieman, S. J. (2014). 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with non–ST-elevation acute coronary syndromes: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American

- Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Circulation, 130(25), 2354-2394.
- Aissaoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z. H., & Lyoussi, B. (2008). Acute diuretic effect of continuous intravenous infusion of an aqueous extract of *Coriandrum sativum* L. in anesthetized rats. Journal of ethnopharmacology, 115(1), 89-95.
- Wu, T., Yang, Q., Gong, K., Zhou, R., Pei, Q., Yu, T., & Song, X. (2021). Comprehensive identification and analyses of the Hsf gene family in the whole-genome of three Apiaceae species. Horticultural Plant Journal, 7(5), 457-468.
- Özbek, H., Aydın, H. İ. M., & Türközü, D. (2006). Kişniş (*Coriandrum Sativum* L.) Uçucu Yağ Ekstresinin Letal Doz Düzeyleri İle Antienflamatuvar Aktivitesinin Araştırılması. Ege Tıp Dergisi, 45(3), 163-167.
- Şanlı, A., Karadoğan, T., & Daldal, H. (2012). Burdur’da tarımı yapılan bazı umbelliferae türlerinin uçucu yağ oranı ve bileşenlerinin belirlenmesi. Ziraat Fakültesi Dergisi, 7(1), 27-31.
- Ayyıldız, S., & Sarper, F. (2019). Antioksidan baharatların osmanlı saray mutfağındaki yeri. Karabük Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, 9(1), 363-380.
- Ökmen, G., Arslan, A., Vurkun, M., Mammadkhanli, M., & Ceylan, O. (2017). Farklı Baharatların Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteleri. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR, 15(1), 16-28.
- Farag, R. S., Badei, A. Z. M. A., Hewedi, F. M., & El-Baroty, G. S. A. (1989). Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. Journal of the American Oil Chemists' Society, 66(6), 792-799.
- Jinous, A., & Nastaran, K. (2012). Phytochemistry, pharmacology and medicinal

properties of *Coriandrum sativum* L. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 6(31), 2340-2345.

Laribi, B., Kouki, K., M'Hamdi, M., & Bettaieb, T. (2015). Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and its bioactive constituents. Fitoterapia, 103, 9-26.

Wong, P. Y., & Kitts, D. D. (2006). Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. Food chemistry, 97(3), 505-515.



ÖZGEÇMİŞ

