

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

**KUŞBURNU MEYVELERİNİN FARKLI ÇÖZÜCÜLER İÇEREN
MASERASYON VE ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON
PARAMETRELERİNİN ANTİOKSİDAN ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİ VE ENZİM İNHİBİSYONU ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS

Mohammed Abdulsamad HAFEDH - HAFEDH

HAZİRAN-2025
GÜMÜŞHANE



T.C.

**GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

**KUŞBURNU MEYVELERİNİN FARKLI ÇÖZÜCÜLER İÇEREN
MASERASYON VE ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON
PARAMETRELERİNİN ANTİOKSİDAN ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİ VE ENZİM İNHİBİSYONU ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

**COMPARISON OF ANTIOXIDANT, ANTI-MICROBIAL ACTIVITIES AND
ENZYME INHIBITION EFFECTS OF MACERATION AND ULTRASONIC
ASSISTED EXTRACTION PARAMETERS OF ROSEHIP FRUITS WITH
DIFFERENT SOLVENTS**

YÜKSEK LİSANS

Mohammed Abdulsamad HAFEDH - HAFEDH

**HAZİRAN-2025
GÜMÜŞHANE**



T.C.

**GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

**KUŞBURNU MEYVELERİNİN FARKLI ÇÖZÜCÜLER İÇEREN
MASERASYON VE ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON
PARAMETRELERİNİN ANTİOKSİDAN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELARİ
VE ENZİM İNHİBİSYONU ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**COMPARISON OF ANTIOXIDANT, ANTI-MICROBIAL ACTIVITIES AND
ENZYME INHIBITION EFFECTS OF MACERATION AND ULTRASONIC
ASSISTED EXTRACTION PARAMETERS OF ROSEHIP FRUITS WITH
DIFFERENT SOLVENTS**

YÜKSEK LİSANS

Mohammed Abdulsamad HAFEDH - HAFEDH

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Kağan KILINÇ

HAZİRAN-2025

GÜMÜŞHAN

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlamış olduğum “**Kuşburnu Meyvelerinin Farklı Çözücüler İçeren Maserasyon ve Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Parametrelerinin Antioksidan Antimikrobiyal Aktiviteleri ve Enzim İnhibisyonu Etkilerinin Karşılaştırılması**” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmaları kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi’nin lisanslı kullanıcısı olduğu intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlediği kıstaslara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

11/06//2025

Mohammed Abdulsamad Hafedh - HAFEDH

TEŞEKKÜR

İnsanlara şükür etmeyen Allah'a da şükür etmez.

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, her konuda bilgisini ve desteğini almaktan çekinmediğim araştırmamın planlanmasından tezimin sonuçlanmasına kadar tüm aşamalarda aynı titizlikle bana yardımcı olan, teşvik eden ve yol gösteren Danışman Hocam Dr. Öğr. Üyesi Kağan KILINÇ'a teşekkür ederim.

Gümüşhane Üniversitesi'ne ve Biyoteknoloji Ana bilim Dalı'na kayıt olduğum ilk andan itibaren kadar bana yardım eden ve beni doğru öğrenme yoluna yönlendiren tüm hocalarıma minnettarlığımı, teşekkürlerimi ve takdirlerimi ifade etmek isterim. Tez çalışmalarım sırasında laboratuvar cihazlarının kullanımına, bu cihazların nasıl kullanılacağına gösterilmesine ve öğretilmesine, tezimle ilgili uygulamalarda karşılaştığım zorlukların çözümlenmesinde tecrübeleri ile yardımcı olan beni yönlendiren değerli Hocalarım Prof. Dr. Cemalettin Baltacı, Doç. Dr. Zeynep AKAR, Doç. Dr. Nesibe Arslan BURNAZ, Dr. Öğr. Üyesi İmdat AYGÜL, Dr. Osman AKMEŞE ve Araş. Gör. Ömer KARPUZ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Irak'ta çalıştığım tıbbi laboratuvarın sahibi Sayın Abdulsalam OTHMAN'a ve çalışma dönemim boyunca bana verdikleri manevi destek için Irak ve Türkiye'deki tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım ve eğitimim boyunca, daha da önemlisi hayatım boyunca her türlü maddi ve manevi desteklerini gördüğüm ve görmeye devam edeceğimden emin olduğum Anneme, Babama ve Kardeşlerime teşekkür ederim..

Mohammed Abdulsamad Hafedh - HAFEDH

GÜMÜŞHANE – 2025

ÖZET

Tıbbi ve aromatik bitkiler uzun zamandır insanlığın yararına kullanılmaktadır. Bu bitkilerden en iyi şekilde yararlanmak için özütlerinin en doğru şekilde elde edilmeleri önem taşımaktadır. Kuşburnu (*Rosa canina L.*) yaygın biçimde tüketilen ve içerdiği fenolik bileşikler sayesinde önemli antioksidan, antimikrobiyal, antidiyabetik, anti-inflamatuar etkiye sahip yüksek derecede C vitamini içeren tıbbi bir bitkidir. Bu çalışmada ekstraksiyon için geleneksel maserasyon ve ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon (maserasyon + ultrasonikasyon) yöntemleri uygulanmıştır. Bu amaçla dimetil sülfoksit (DMSO), Metanol-Su (20:80) ve etilasetat çözücülerinin kullanıldığı maserasyon ve maserasyon + ultrasonikasyon ekstraktları (sırası ile DMM, DMU, MSM, MSU, EAM ve EAU) oluşturuldu. Maserasyon + Ultrasonikasyon yönteminde maserasyon yöntemine ek olarak ultrasonikasyon gerçekleştirildi. Diğer tüm uygulamalar aynı şekilde yapıldı. Ekstraktların toplam fenolik madde (TPC), toplam flavonoid madde (TFC) içerikleri ile DPPH, ABTS ve FRAP olarak antioksidan aktivite tayinleri yapıldı. DMU ekstraktının diğer gruplara göre TPC ve TFC içeriği bakımından en yüksek değerlere sahip olduğu görüldü ($p<0.05$). Aynı şekilde DMU FRAP haricinde en yüksek antioksidan aktiviteye sahipti. Bu ekstraktlarda aynı zamanda Gram (-), Gram (+) bakteri suşlarını ve mayadan oluşan 8 farklı tür organizma ile antimikrobiyal aktivite ve minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) tayini yapıldı. Genel olarak ekstraktların etki gösterdiği mikroorganizma sayısı değişmekle beraber *Candida albicans* ve *Bacillus cereus* 'a karşı tüm ekstraktların antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Ekstraktların aynı zamanda ekstraktların astilkolinesterez ve butirilkolinesterez inhibitör aktiviteleri de araştırıldı. EAU'nin en düşük AChE ve BChE inhibitör IC₅₀ değerine sahip olduğu görüldü. Özellikle antioksidan içerik ve aktivite bakımından maserasyon ve ultrasonik destekli maserasyon yönteminin sadece maserasyon yöntemine göre polar çözücü kullanıldığında daha etkili olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal , Antioksidan , Enzim Aktivitesi , Kuşburnu (*Rosa canina*) , Maserasyon , Ultrasonikasyon .

SUMMARY

Medicinal and aromatic plants have long been used for the benefit of humanity. In order to make the best use of these plants, it is important that their extracts are obtained in the most accurate way. Rosehip (*Rosa canina L.*) is a widely consumed medicinal plant that contains high levels of vitamin C with important antioxidant, antimicrobial, antidiabetic and anti-inflammatory effects thanks to its phenolic compounds. In this study, conventional maceration and ultrasonication-assisted extraction (UAE) (maceration+ultrasonication) methods were applied for extraction. For this purpose, maceration and maceration + UAE extracts using dimethyl sulfoxide (DMSO), methanol-water (20:80) and ethyl acetate solvents were prepared (DMM, DMU, MSM, MSU, EAM and EAU, respectively). Ultrasonication was performed in addition to the maceration method. All other applications were the same. The total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and antioxidant activity as DPPH, ABTS and FRAP were determined in all extracts. It was found that DMU extract had the highest values in terms of TPC and TFC content compared to other groups ($p<0.05$). Similarly, DMU exhibited the highest antioxidant activity, with the exception of FRAP. These extracts were also tested for antimicrobial activity and minimal inhibitory concentration (MIC) against 8 different types of organisms including Gram (-), Gram (+) bacterial strains and yeast. In general, although the number of microorganisms that the extracts showed activity varied, all extracts were found to have antimicrobial activity against *C. albicans* and *B. sereus*. Extracts were also analysed for their Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory effect that EAU had the lowest AChE and BChE inhibitory IC₅₀ value. Especially in terms of antioxidant content and activity, maceration and ultrasonically assisted maceration methods were found to be more effective when polar solvent was used compared to the maceration method only.

Keywords: Antimicrobial , Antioxidant , Enzyme Activity , Rosehip (*Rosa canina*) , Maceration , Ultrasonication

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	IV
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER.....	VIII
TABLOLAR DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XII
1.GENELBİLGİLER.....	1
1.1.Giriş.....	1
1.2. Kuşburnu (<i>Rosa canina</i> L.).....	3
1.2.1. Kuşburnunun Kimyasal ve Biyoaktif Bileşimi.....	4
1.2.2. Tıbbi Bitki Olarak Kuşburnu.....	5
1.3. Serbest Radikaller.....	5
1.3.1. Serbest Radikaller kaynakları.....	7
1.3.2. Serbest radikal türleri.....	7
1.3.2.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	8
1.3.2.2. Reaktif Nitrojen (Azot) Türleri (RNS).....	9
1.3.3. Serbest Radikallerin Klinik Etkileri	10
1.4. Oksidatif Stres.....	11
1.5. Antioksidanlar.....	13
1.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	14
1.5.1.1. Sentetik Antioksidanlar.....	15
1.5.1.2. Doğal Antioksidanlar.....	16
1.5.1.2.1. Ekzojen Antioksidanlar.....	16
1.5.1.2.2. Endojen Antioksidanlar.....	17
1.5.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Arasındaki İlişki.....	19
1.6. Fenolik Bileşikler	21
1.7. Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirikolinesteraz (BChE) Enzimleri.....	22
1.8.Bitkisel Ekstraksiyon Yöntemleri.....	24
2. MATERYAL VE METOT.....	26
2.1. Materyal.....	26

2.1.1.Kullanılan cihazlar.....	26
2.1.2.Kullanılan kimyasal maddeler.....	27
2.2. Metot	28
2.2.1.Kuşburnu bitkisinin meyvelerinin toplanması ve ekstraksiyon işlemine hazırlanması.....	28
2.2.2 Ekstraksiyon.....	29
2.2.2.1. Kuşburnu Ekstraktların yüzde verim hesabı.....	31
2.2.3. Toplam Fenolik-Flavonoid İçerik ve Antioksidan Aktivite Analizleri.....	31
2.2.3.1.DPPH (1,1 – difenil - 2 pikrilhidrazil) radikal yakalama yöntemi.....	32
2.2.3.2. Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) yöntemi.....	33
2.2.3.3. ABTS radikal temizleme kapasitesi.....	35
2.2.3.4.Toplam Fenolik İçerik Analizi.....	37
2.2.3.5.Toplam Flavonoid İçeriğinin (TFC) Belirlenmesi.....	38
2.2.4. Antimikrobiyal Aktivitenin Tespiti.....	39
2.2.4.1. Kuyucuk Difüzyon Metodu ile antimikrobiyal Aktivite Analizi.....	39
2.2.4.2.Ekstraktlarda Minimal İnhibitör Konsantrasyonunun (MIC) D Belirlenmesi.....	40
2.2.5. Asetilkolinesteraz ve Bütilkolinesteraz Enzim İnhibisyon Tayini.....	40
2.2.6. İstatistik.....	45
3. BULGULAR.....	46
3.1. Toplam Fenolik İçerik (TPC) ve Flavonoid İçerik (TFC) Analiz Sonuçları.....	46
3.2. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları.....	47
3.2.1. DPPH Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları.....	47
3.2.2. ABTS Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları.....	49
3.2.3. FRAP Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları.....	51
3.3. Antimikrobiyal Kuyucuk Difüzyon Analiz Sonuçları.....	52
3.4. Ekstraktlarda Minimal İnhibitör Konsantrasyonu (MIC) Değerleri.....	54
3.5. Enzim İnhibisyon Analizleri.....	56
4. TARTIŞMA.....	57
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	63
KAYNAKÇA.....	65

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kuşburnu bitkisinin sistematigi.	3
Tablo 2. Taze kuşburnu meyvesinin kimyasal kompozisyonu.....	4
Tablo 3. Serbest radikal oluşturan endojen ve eksojen kaynaklar.....	7
Tablo 4. Reaktif oksijen türleri.....	9
Tablo 5. Radikal ve nonradikal reaktif nitrojen türleri.....	9
Tablo 6. Kullanılan Cihaz , Alet ve Malzemeler.....	26
Tablo 7. Kullanılan Kimyasal	27
Tablo 8. Kuşburnu ekstraktlarının % verimi.....	31
Tablo 9. Toplam Fenolik (TPC) ve Toplam Flavonoid (TFC) Madde İçeriği	46
Tablo 10. DPPH Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları.....	48
Tablo 11. ABTS Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları.....	49
Tablo 12. FRAP Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları.....	51
Tablo 13. Antimikrobiyal kuyucuk difüzyon analiz sonuçları.....	52
Tablo 14. Ekstraktların minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri.....	54
Tablo15. Ekstraktların Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon (IC ₅₀) değerleri.....	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kuşburnu bitkisinin meyvesi.....	3
Şekil 2. Serbest radikal hasarının sonuçları.....	6
Şekil 3. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Kimyasal Oluşum Süreçleri.....	8
Şekil 4. Hücre hasarlarının çevre dokularda serbest radikal reaksiyonlarına yol açışı..	11
Şekil 5. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	15
Şekil 6. Oksidatif denge.....	20
Şekil 7. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması.....	21
Şekil 8. Yaygın olarak kullanılan bazı çözücüler.....	25
Şekil 9. Kuşburnu Örnekleri İşlemler.....	28
Şekil 10. Ekstraksiyon Aşamaları.....	30
Şekil 11. Ekstraksiyon Aşamaları.....	30
Şekil 12. Ekstraksiyon Aşamaları.....	30
Şekil 13. Elde edilen ekstraktlar.....	31
Şekil 14. DPPH Trolox Standart grafiği.	33
Şekil 15. DPPH Ascorbic Acid Standart grafiği..	33
Şekil 16. FRAP Trolox Standart grafiği.	35
Şekil 17. FRAP Ascorbic Acid Standart grafiği.	35
Şekil 18. ABTS radikal Trolox Standart grafiği.	36
Şekil 19. ABTS radikal Ascorbic Acid Standart grafiği.	36
Şekil 20. Toplam fenolik madde analizi Kalibrasyon eğrisi grafiği.....	38
Şekil 21. Toplan Flavonoid İçeriğin (TFC) Kuersetin Standart Grafiği.....	39
Şekil 22. AChE enziminin	43
Şekil 23. BChE enziminin	45
Şekil 24. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözeltilere ait TPC değerleri.....	47
Şekil 25. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözeltilere ait TFC değerleri.....	47
Şekil 26. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözücülerine ait DPPH değerleri.....	48
Şekil 27. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözeltilerine ait DPPH(AAE) değerleri....	49
Şekil 28. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözücülere ait ABTS (TEAC) değerleri...50	
Şekil 29. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözücülere ait ABTS (AAE) değerleri....50	
Şekil 30. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözücülere ait FRAP(TEAC) değerleri....51	
Şekil 31. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözücülere ait FRAP(TEAC) değerleri....52	
Şekil 32. Ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerine ait disk görüntüleri	53
Şekil 33. Ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerine ait minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) mikroparka görüntüleri.....	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: (2,2'-azinobis- (3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit))
AChE	: Asetilkolinesteraz enzimi
AlCl ₃	: Alüminyum Klorür
BChE	: Bütirilkolinesteraz enzimi
BHA	: Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	: Bütil Hidroksitoluen
CAT	: katalaz
Cl ⁻	: Klorür İyonu
Cu ²⁺	: Bakır (II) iyonu
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DMM	: Dimetil sülfoksit Maserasyon
DMU	: Dimetil sülfoksit Ultrasonik
DPPH	: (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)
DTNB	: [5,5'-ditiyo-bis-(2-mtrobenzoik asit)]
EAM	: Etil Asetat Maserasyon
EAU	: Etil Asetat Ultrasonik
Fe ²⁺	: Demir (II) iyonu
FeCl ₃	: Demir (III) Klorür
FRAP	: Demir (III) İndirgeme/Antioksidan Güç
G6PD	: Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GPx	: Glutasyon peroksidaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik asit
HO [•]	: Hidroksil radikali
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
K ₂ S ₂ O ₈	: Potasyum Persülfat
KOAH	: Akciğer Hastalığı
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
L	: Litre
LOO [•]	: Lipit Peroksil Radikali
mg	: Miligram
mL	: Mililitre

MSM	: Metilen-Su maserasyon
MSU	: Metilen-Su Ultrasonik
Na ₂ CO ₃	: Sodyum Karbonatı
NaNO ₂	: Sodyum Nitrit
NaOH	: Sodyum Hidroksit
NO•	: Nitrik Oksit Radikali
NO ₂ •	: Azot Dioksit
O ₂ • ⁻	: Süperoksit Anyonu
ORAC	: Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
PBS	: Fosfat Tampon Çözeltisi
QE	: Kuersetin eşdeğeri
R ²	: Korelasyon katsayısı
RNS	: Reaktif Azot Türleri
RO•	: Alkoksil
ROO•	: Peroksil
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: süperoksit dismutaz
TAC	: Toplam Antioksidan Kapasiteyi
TBHQ	: Tert-bütıl Hidrokinon
TFC	:Toplan Flavonoid Maddeler
TPC	: Toplam Fenolik Maddeler
TPTZ	: 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-S-triazine
Zn ²⁺	: Çinko II iyonu

1. GENEL BİLGİLER

1.1.Giriş

İnsan bedeni yaşamsal fonksiyonlarını yerine getirirken ihtiyaç duyduğu enerjinin üretimi sırasında saniyede milyonlarca oksitlenmiş bileşik (serbest radikal) oluşturmaktadır (Barja, 2004; Droge, 2002) . Güneşten gelen UV radyasyonu, çevre kirliliği, endüstriyel atıklar, tıbbi amaçla kullanılan ilaçlar, petrokimya ürünleri, enfeksiyonlar, sigara, kimyasallar, X ışınları, virüsler, stres ve diğer başka faktörler vücudumuzdaki serbest radikal miktarını sürekli değiştirmekte ve zaman zaman arttırabilmektedir (Reisz vd. 2014; Tulchinsky vd., 2023).

Reaktif nitrojen ve oksijen türleri (RNS/ROS), vücutta metabolizma sonucu oluşur. Bazı durumlarda yararlı etkileri söz konusu olabilir. Ancak konsantrasyonları arttıkça etkileri toksikleşir. Örneğin metabolik konsantrasyonlarda redoks düzenlemesi, , immün cevap, hücre haberleşmesinde, mitojenik cevaplar gibi farklı fizyolojik süreçlerde görev yaparlar. Ancak yüksek seviyelerde bu reaktif türler nitrozatif ve oksidatif stres oluşturabilirler (Phaniendra vd., 2015). Serbest radikallere bağlı oksidatif hasarı azaltmak için insan vücudu, reaktif türleri oluşuktan hemen sonra nötralize etmek üzere serbest radikal süpürme, metal şelatlama ve enzimatik aktiviteleri içeren bir antioksidan savunma mekanizması geliştirmiştir. Buna ek olarak, diyetle alınan antioksidanların tüketimi organizmanın vücudunda yeterli antioksidan seviyesini koruyabilir (Lobo vd., 2010).

Hücresel sistemdeki reaktif türlerin seviyesi ve olası olumsuz etkileri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimatik yollarla ya da ve alfa-tokoferol, beta-karotene, karotenoidler, flavonoidler, melatonin, tiyolantioksidanlar, lipoik asit, tioredoksin, C ve E vitaminleri gibi moleküller üzerinden enzimatik olmayan antioksidan sistemler sayesinde bertaraf edilmektedir. Serbest radikalleri temizleyebilen antioksidanların yetersizliği ve dengenin oksidan tarafa kayması Alzheimer hastalığı, kanserler, nörodejeneratif hastalıklar, enflamatuar hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere dejeneratif hastalıklara zemin hazırlar (Chaudhary vd., 2023; Tohma vd., 2015).

Fenolik bileşikler uygun konsantrasyonda etkin şekilde bir antioksidan etki yapabilecek bileşiklerdir. Ancak konsantrasyonları belirli bir oranın üzerine çıkınca proteinler, karbonhidratlar ve mineraller ile etkileşime girerek metabolik ürünleri bozucu etkiye neden olabilirler. Bununla beraber fenolik bileşiklerin, antioksidan aktivite, antiinflamatuar yara iyileştirici, kanser önleyici sedatif etki gibi sağlık açısından birçok olumlu etkileri söz konusudur (Kılınç vd., 2020; Parr ve Bolwell, 2000).

Kuşburnu (*Rosa canina L.*) çalımsı bir bitki olup dünya genelinde farklı coğrafi (Batı ve Güneydoğu Asya, Ortadoğu, Orta ve Doğu Avrupa ve Kuzey Amerika) bölgelerde dağılım göstermektedir (Öz vd, 2019; Darak vd., 2024). Bu bitkinin kök, yaprak, özellikle meyve ve çekirdekleri geleneksel tedavide yaygın biçimde kullanılmaktadır. Nitekim, söz konusu kısımlarının içerik analizlerinde karbonhidratlar, uçucu yağlar, fenolik maddeler, taninler, karetenoidler, suda çözünür vitaminler ve mineraller bakımından zengin olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya koymuştur (Darak vd, 2024; Negrean vd., 2024). C vitamini açısından en zengin meyvelerden biri olan kuşburnu, İçerdiği antioksidan bileşikler nedeniyle yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir ve bu sayede antiinflamatuvar, antikanser, yara iyileştirici, antimikrobiyal, antinörodejeneratif, antidiyabetik özellikler gibi önemli sağlık etkilerine sahip olduğu ifade edilmektedir (Turan vd, 2018; Kılınç vd, 2020).

Tıbbi bitkilerin özütlerinin eldesinde en yaygın kullanılan metotların başında maserasyon yöntemi gelmektedir. Bu yöntemin pekçok modifiye uygulaması söz konusudur. Örneğin ekstrakt çözücüsü, çözen-çözücü oranı, ekstraksiyon süresi evaporasyon olup olmaması gibi. Ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) uygulamaları ise maserasyona göre daha geç zamanlarda başlamış olmakla beraber son zamanlarda maserasyon, diğer ekstraksiyon yöntemleri ve/veya tek başına kullanımına rastlanmaktadır. UDE’de amaç ultrasonik frekansta maserasyon ile çözücü ortamına karışmayan ya da az karışan bileşiklerin daha fazla çözülmesini sağlamaktır (Shen vd., 2023) Bu sayede örneğin kuşburnu gibi tıbbi bir bitki kısmındaki özütlerin ortama geçişi ve böylece sağlık veya diğer endüstriyel alanlardaki etkinliklerinin artırılması sağlanabilecektir.

Bu çalışmada kuşburnu çekirdeksiz meyvelerinin yukarıda bahsedilen güçlü antioksidan, antimikrobiyal ve potansiyel anti-asetilkolinesteraz ve anti-bütirikolinesteraz aktivitelerini 3 farklı çözücü, maserasyon ve UDE destekli maserasyon ekstraksiyon yöntemleri kullanarak tespit etmek ve bu kombinasyonlardan hangisi veya hangilerinin daha etkin olduğunu ortaya çıkarmaktır. Bu sayede geleneksel tedavi kullanımı son derece geniş alana sahip kuşburnu meyve özütlerinin etkinliğinin artırılması ve bu bulguların literatüre kazandırılması mümkün olacaktır.

1.2. Kuşburnu (*Rosa canina L.*)

Rosa canina L. tıbbi bitkiler grubuna dahil çalimsı boyu 1-3 metre arasında değişen bir bitkidir. Türkiye’de Orta ve İç Anadolu ve Karadeniz Bölgelerinde yaygın biçimde bulunmakta olup dünya genelinde 100 den fazla türü olduğu ifade edilmektedir (Öz vd., 2019; Darak vd., 2024). Pekçok tıbbi bitkide olduğu gibi kuşburnunun da kök, gövde, yaprak, özellikle meyve ve çekirdekleri geleneksel tedavide yaygın biçimde kullanılmaktadır (Darak vd., 2024). Bitkinin tür sınıflandırmasında meyvelerin şekli (oval, yuvarlak..) rengi (siyah, kırmızı ve turuncu), tüylü olup olmamaları dikkate alınır (Duman ,2014). Meyveler coğrafi bölgelere değişmekle beraber genellikle eylül-ekim aylarında olgunlaşır ve toplanır. Başta çay olmak üzere meyve suyu, reçel ve marmelat gibi kullanım şekilleri vardır.

Kuşburnu, gülgiller (Rosaceae) familyasının Rosaideae alt familyasına giren bitkilerin meyvesi olarak bilinir. Halk arasında farklı sinonim isimleri vardır. Kuşburnu bitkisinin sistematığı Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Kuşburnu bitkisinin sistematığı (Yılmaz , 2007).

Takım	<i>Rosales</i>
Alt takım	<i>Rosineae</i>
Familya	<i>Rosaceae</i>
Alt familya	<i>Rosaideae</i>
Cins	<i>Rosa</i>
Tür	<i>Rosa canina, Rosa rugosa, Rosa pimpinellifolia</i> vd.



Şekil 1. Kuşburnu bitkisi ve meyvesi.

1.2.1. Kuşburnunun Kimyasal ve Biyoaktif Bileşimi

Kuşburnu meyvesinin kimyasal bileşimi olgunlaşma süreci, büyümenin farklı aşamalarına coğrafi bölge durumuna göre değişkenlik gösterebilmektedir ve farklı oluşum aşamalarında kuşburnu kimyasal içeriği araştırıldığında farklı sonuçlar elde edilebilmektedir (Ercişli, 2007). Meyveler yanlış zamanda (çok erken veya çok geç) toplanırsa mineraller ve fitokimyasallar kaybolabilir veya düşük değerde olabilir. Bu durum organik ve inorganik maddelerin tam olarak gelişemediğini gösterir ve bunun sonucunda vücutta biyoyararlanım düşer (Dölek, 2013). Taze kuşburnu meyvesinin kimyasal içeriğine dair bir çalışmanın sonuçları tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Taze kuşburnu meyvesinin kimyasal kompozisyonu (Yıldız ve Nergiz ,1996).

Besin Bileşimi	Miktarı		Besin Bileşimi	Miktarı	
Su	41.00-70.08	%	Toplam Asitlik	0.95-4.00	%
Toplam Kuru Madde	29.92-59.00	%	Toplam Şeker	8.68-22.44	%
Suda Çözünür Kuru Madde	20.05-48.10	%	İndirgen Şeker	7.55-21.29	%
Protein	8.58-11.45	%	Selüloz	2	%
Sakaroz	1.08-2.01	%	Kül	2	%
C vitamini	200-5000	mg/100g	Tiamin	120	mg/100g
P vitamini	1320-3320	mg/100g	Riboflavin	7	mg/100g
K vitamini	0.022-0.080	mg/100g	Karotenoid	3.8	mg/100g
Kalsiyum	99-342	ppm	Magnezyum	152	ppm
Fosfor	1100-3320	ppm	Mangan	880	ppm
Potasyum	4203	ppm	Demir	21	ppm
Sodyum	18	ppm	Çinko	1.90	ppm
Bakır	3.20	ppm			

Mg: Miligram; ppm: parts per milion (Milyonda bir)

Kuşburnu meyvelerinin bitkiler arasında en fazla C vitamini içeriğine (300–4000 mg /100 g) sahip olduğu da bilinmektedir. İnsan vücudu askorbik asidi (C vitamini) sentezleyemez, bu nedenle dışarıdan almak zorundadır. Kuşburnu kolay eldesi ve kolay tüketim yolu ile önemli bir C vitamini kaynağıdır. Kuşburnunda C vitamininden başka E, K, B1, B2 vitaminlerini de bulunmaktadır. Buna ilave olarak kuşburnu meyvesi mineralleri, karotenoidleri, tokoferol, biyoflavonoidleri, meyve asitlerini, tanenleri, pektin, şekerleri,

organik asitleri, aminoasitleri ve uçucu yağları da bileşiminde bulundurmaktadır (Demir & Özcan, 2001; Ercisli, 2007). Tohum yağında bulunan en yüksek yağ asitleri linoleik asit (%50.08), Araşidik asit (%20.00) ve Oleik asittir (%19.31) (Nas ve Kadakal, 2002). Polifenolik içerik açısından zengin kuşburnunda kuersetin ve kateşinin ana fenolik asitler olduğu tespit edilmiştir (Türkben vd., 2010).

1.2.2. Tıbbi Bitki Olarak Kuşburnu ve Etkileri

Son yıllarda sağlıklı yaşam ve beslenme ilişkisi içinde, tıbbi bitkilerin doğal ve preparat tüketimine ilgi artmıştır. Bitkisel çaylar içinde kuşburnu çayı önemli bir yer tutmaktadır. İçerik açısından kuşburnunun terapötik etkisi çay olarak kullanımına uygun olduğu gibi hazır preparatlar şeklinde de satılabilmektedir. Ayrıca kozmetik sanayinde şampuan, gül yağı, el, yüz ve vücut nemlendiricisi, güneş kremi ve gül suyu elde edilmesinde, hayvansal yem sanayinde kullanılmaktadır (Karasakal, 2007).

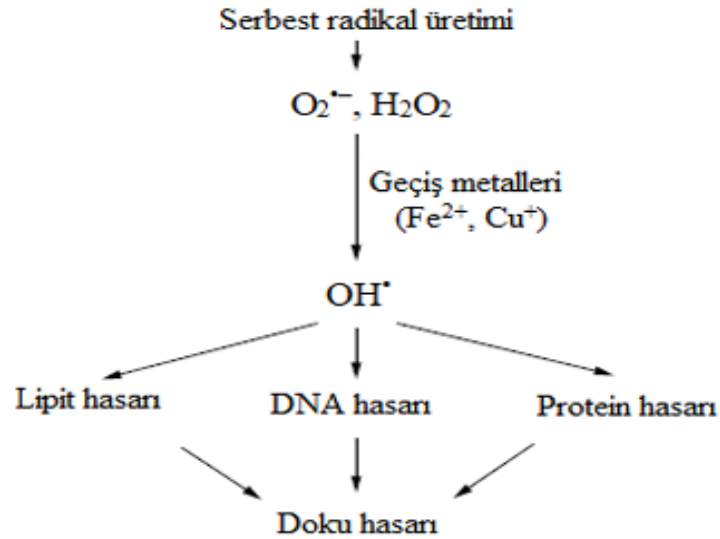
Kuşburnu bitkisinin başta meyvesi olmak üzere çeşitli kısımlarının yüksek polifenolik ve vitamin içeriğinin antioksidan kapasite ile ilişkili korale olduğu ve buna bağlı olarak oksidatif stres kaynaklı pekçok hastalığın tedavisinde ve önlenmesinde rol oynadığı çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Darak, vd., 2022; Turan vd., 2018). Kuşburnunun antidiyabetik, antikanserojen, antimikrobiyal, anti-inflamatuar, yara iyileştirici, antimitojenik, hemaroid giderici etkileri bu çalışmalar kapsamında değerlendirilebilir (Kılınç vd., 2020). Kuşburnu bitkisinin meyve başta olmak üzere tohum, çiçek, gövde ve kök gibi çeşitli kısımlarının kimyasal içerik incelemesinde kateşinler, kuersetin, gallik asit gibi fenoliklerin bol miktarda bulundukları görülmüştür. Fenolik bileşiklerin ve vitaminlerin çeşitli mekanizmalar üzerinden antioksidan etkileri söz konusudur. Örneğin mitokondri üzerinde protektif bir etki ile aşırı ROS birikimini engelledikleri, bazı kanser metabolik yollarında inaktive olmuş apoptozu yeniden başlatabildikleri, doymamış yağ asit içerikleri ile kardiyoprotektif rol oynadıkları, siklooksijenaz inhibisyonu sayesinde plazmadaki artan sitokin sinyalizasyonunu keserek inflammatuar yanıtın şiddetini azaltıkları ve böylece kronik obezite veya romatoid artrit gibi inflammatuar hastalıklara karşı koruyucu rol oynadıkları, bunun yanında hücre içi oksidatif stresi yeniden dengeleyerek DNA zincirinde kırıklıkların ve buna bağlı onarım sürecinde oluşabilecek mutasyonların önüne geçildiği ifade edilmektedir (Marmol vd., 2017).

1.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış orbitalinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjili atom veya moleküller olarak tanımlanmaktadır (Nawar, 1996). Dış elektron

yörüngesindeki bu tek elektron serbest radikali kararsız ve çok reaktif hale getirir, bu nedenle sürekli olarak bağ kurup kararlı bir elektron çifti oluşturacak ve daha kararlı hale gelecek başka bir elektron arar. Bir serbest radikal başka bir molekülle etkileşime girdiğinde, bir elektron çifti oluşturmak ve kararlı hale gelmek için ondan bir elektron çalarak molekülün zarar görmesine neden olur, böylece bir dizi reaksiyon sonucunda yeni bir serbest radikal üretir. Bu hücrel hasar, kanser, kalp hastalığı ve yaşlanma dahil olmak üzere çok çeşitli hastalıklarla sonuçlanır. Yüksek enerjisi ile serbest radikaller hücrel düzeyde oksidasyon yoluyla bazı biyomoleküllerde (lipit, nükleik asit, protein) hasara yol açabilmektedir (Özcan vd., 2015).

Hidroksil radikali ($\text{OH}^\bullet$) ve süperoksit anyonu ($\text{O}_2^{\bullet-}$) fizyolojik koşullarda ortaya çıkabilen en yaygın serbest radikal türü olarak bilinmektedirler (Sen vd., 2010). Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) terimi genellikle hem radikal, hem de radikal olmayan türleri kapsayacak şekilde kullanılır. ROS kapsamına $\text{O}_2^{\bullet-}$, H_2O_2 ve $\text{OH}^\bullet$ ve RNS kapsamına ise $\text{NO}^\bullet$ radikali girer (Fubini, B., ve Hubbard, A., 2003). ROS ve RNS bir dizi serbest radikal reaksiyonunu katalize edebilir. ROS ve RNS'nin antioksidan sistemlerce yeterince uzaklaştırılamamasına bağlı olarak artamaları oksidatif stres olarak adlandırılır ve hücrel düzeyde çeşitli moleküller üzerinden hasar meydana gelmesine neden olurlar. Örneğin DNA üzerinde meydana gelen hasarlar mutasyonlara yolaçabilir. (Pacifci ve Davies 1991) (Şekil 2).



Şekil 2. Serbest radikal hasarının sonuçları (Young ve Woodside, 2001).

1.3.1. Serbest Radikallerin Kaynakları

Organizmadaki serbest radikallerin bir kısmı hem iç kaynaklar hem de dış kaynaklar tarafından oluşturulur. Serbest radikallerin başlıca kaynağı mitokondriyal solunum zinciridir (Raha, S., ve Robinson, B. H., 2000). Bağışıklık hücresi aktivasyonu, enflamasyon, zihinsel stres, mitokondriyal stres ve anemi gibi vücuttaki fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerin bir sonucu olarak canlı hücreler tarafından doğal olarak üretilir. Ya da hava ve su kirliliği veya sigara, alkol, ağır metaller (kadmiyum, cıva, kurşun ve demir), ilaçlar, organik çözücüler, ultraviyole radyasyon, ilaçlar ve pestisitler gibi bazı toksik çevresel maddelere maruz kalma gibi dış faktörlerden oluşurlar . Ne kadar çok dış etken olursa, o kadar çok serbest radikal üretilir (Belvar, 2018). Serbest radikal kaynakları Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. Serbest radikal oluşturan endojen ve eksojen kaynaklar (Heves, 2008).

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Elektron Transport Zinciri	Çözücüler
Oksidan Enzimler	Anestezikler
Proteinler	İlaçlar
Oksidatif Stres	İyonize Radyasyon
Peroksizomlar	X-Işını
Fagositik Hücreler	Güneş Işığı (UV)
Egzersiz	Sigara Dumanı

Vücudun normal metabolik süreçleri sırasında, serbest radikaller doğal olarak üretilir. Örneğin, mitokondriyal elektron taşıma zinciri, enerji üretimi sırasında süperoksit anyonu oluşturur (Murphy, 2009). Ayrıca, enzimatik reaksiyonlar da serbest radikal üretimine katkıda bulunabilir.

1.3.2. Serbest Radikal Türleri:

Başlıca Serbest Radikal sınıfları olarak :

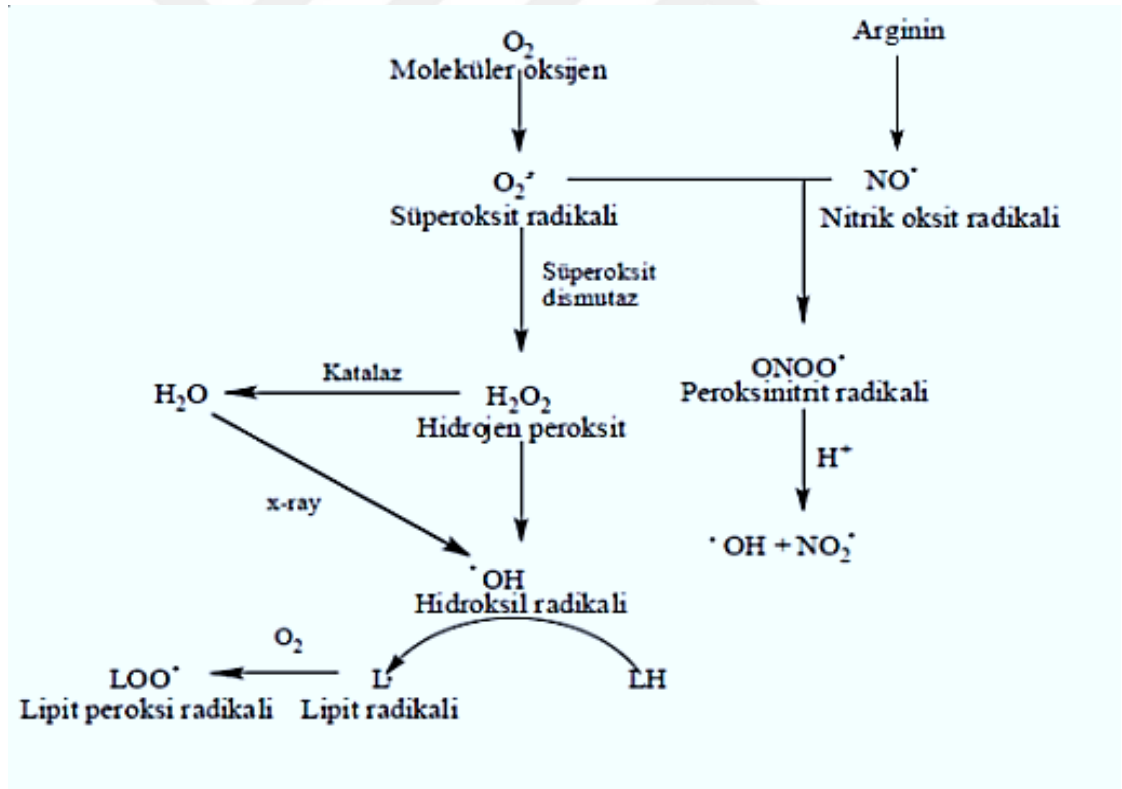
- Reaktif oksijen türleri (ROS).
- Reaktif nitrojen türleri (RNS) sayılır.

Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif nitrojen türleri (RNS) oksidatif fosforilasyon gibi solunum olaylarında mitokondride fizyolojik şartlarda üretilmektedir. Oksijen bu radikallerin oluşması için gereklidir. Antioksidan sistemler yine fizyolojik şartlarda bu radikalleri yakalayarak bertaraf eder. Kısaca antioksidan denen bu önleyici sistemlerle

oksidanlar yani radikaller arasında bir denge söz konusudur. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijen ve azottan oluşan radikallerdir (Halliwell ve Aruoma 1997).

1.3.2.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Normal metabolik süreçler sırasında üretilen oksijen merkezli serbest radikallerdir. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) en yaygın üyeleri arasında süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), tekil oksijen ($^1O_2$) lipid peroksil ($LOO^{\cdot}$), hidroksil ($HO^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$), ve alkoksil ($RO^{\cdot}$) radikalleri sayılabilir (Halliwell & Gutteridge, 2015). ROS diğer nonradikal reaktif türlere kolay bir şekilde dönüşebilir. ROS, DNA'ya, proteinlere ve lipitlere zarar verebilir ve bu da yaşlanma, kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi patolojik durumlara katkıda bulunabilir (Sies, 2017). ROS oluşum süreçleri ve sınıfları sırası ile şekil 3 de ve tablo 4 de verilmiştir (Halliwell, 2006).



Şekil 3. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Kimyasal Oluşum Süreçleri (Stalh ve Sies, 2002)

Tablo 4. Radikal ve radikal olmayan reaktif oksijen türleri (Halliwell 2006)

Radikaller	Formülü	Nonradikaller	Formülü
Süperoksit radikali	$O_2^{\bullet}$	Ozon	O_3
Hidroksil radikali	$HO^{\bullet}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Alkoksil radikali	$RO^{\bullet}$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil radikali	$ROO^{\bullet}$	Singlet oksijen	$^1O_2$
Hidroperoksil radikali	$HO_2^{\bullet}$		
Perhidroksil radikali	$HO_2^{\bullet}$		
Organik peroksit radikali	$RCOO^{\bullet}$		
Lipid peroksi	$LOO^{\bullet}$		

1.3.2.2. Reaktif Nitrojen (Azot) Türleri (RNS):

Reaktif Nitrojen Türleri (RNS) nitrozil katyonu (NO^+), azot oksitleri , nitroksil anyonu (NO^-) ve S-nitrozotiyol ve dinitrozil demir bileşikleri gibi NO türevlerini içerir. RNS, düz kas hücrelerinde, kardiyomiyositlerde, trombositlerde, sinir hücrelerinde ve jukstaglomerüler hücrelerde olmasa da çoğunda çok önemli bir fizyolojik görev yapar. Yükselmiş RNS seviyesi nitrozatif strese neden olarak hücrelerin hasar görmesine ya da ölümüne yol açar (Martínez ve Andriantsitohaina 2009).

Nitrojenin oksit türlerinin başlıcaları Tablo 5’de görülmektedir (Kılınç ve Kılınç 2003). Ancak, süperoksit anyonu ile reaksiyona girdiğinde peroksinitrit oluşturur ve bu da güçlü bir oksitleyici ajan olarak hücre hasarına yol açabilir (Pacher vd., 2007). RNS’ler, özellikle inflamasyon ve iskemi-reperfüzyon hasarı gibi durumlarda zararlı etkiler gösterir. Ayrıca, proteinlerdeki tiyol gruplarını modifiye ederek hücre sinyallemesini değiştirebilirler (Radi, 2013).

Tablo 5. Radikal ve nonradikal reaktif nitrojen türleri (Kılınç ve Kılınç 2003).

Radikaller		Nonradikaller	
Nitrik oksit	$NO^{\bullet}$	Nitrik asit	HNO_2
Nitrojen dioksit	$NOO^{\bullet}$	Nitrosil katyonu	NO^+
		Nitroksil anyonu	NO^-
		Dinitrojen tetroksid	N_2O_4
		Dinitrojen trioksit	N_2O_3
		Peroksinitrit	$ONOO^-$
		Peroksinitrik asit	$ONOOH$
		Nitronyum katyonu	NO_2^+
		Nitril klorid	NO_2Cl
		Alkil peroksinitrit	$ROONO$

1.3.3. Serbest Radikallerin Klinik Etkileri

Serbest radikallerin agresif bir şekilde hücre içi ve dışı yapılara saldırılar hücre duvarının zarar görmesine, buna bağlı olarak besinlerin ve atıkların hücreye giriş çıkışlarının bozulmasına ve sonuçta hücre ölümüne yol açar. Ayrıca bu hasarlar sonucu Alzheimer Hastalığı, Parkinson Hastalığı, multipl skleroz, amiotrofik lateral skleroz, hafıza kaybı, depresyon, zatürree, astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, karaciğer hastalığı, nefrit gibi böbrek hastalıkları, kronik böbrek yetmezliği, romatoid artrit, pankreatit, mide ülseri, kolit, bağırsak hastalıkları ve travma gibi sindirim hastalıkları . hipertansiyon, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar meydana gelebilmektedir (Pourmorad vd., 2006).

Serbest radikaller kardiyovasküler hastalık oluşumunda çok önemli rol oynamaktadır. Lipid peroksidasyonu, düşük yoğunluğa sahip lipoproteini (LDL) oksitleyerek ateroskleroza yol açar. Okside LDL, makrofajlar tarafından fagositlenir ve “köpük hücreleri” adı verilen yapıları oluşturur. Bu süreç, damar duvarlarında plak birikimine ve sonuçta kalp krizi veya inme gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilir. Ayrıca, serbest radikaller endotel fonksiyon bozukluklarına ve vazodilatasyonda bozulmaya da yol açar. (Madamanchi vd., 2005).

Nörodejeneratif hastalıklar (Alzheimer, Parkinson ve Huntington) serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif hasarın bir neticesidir. Beyin yüksek miktarda oksijen tüketen ve yüksek miktarda yağ asidi içeren bir organdır, bu da beyni oksidatif strese karşı daha hassas hale getirir. Alzheimer hastalığında, amiloid beta plakları ve nörofibriler yumaklar serbest radikal üretiminin artmasına neden olur. Benzer şekilde, Parkinson hastalığında dopaminerjik nöronların kaybı, mitokondrial disfonksiyon ve artan ROS seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir (Butterfield & Halliwell, 2019).

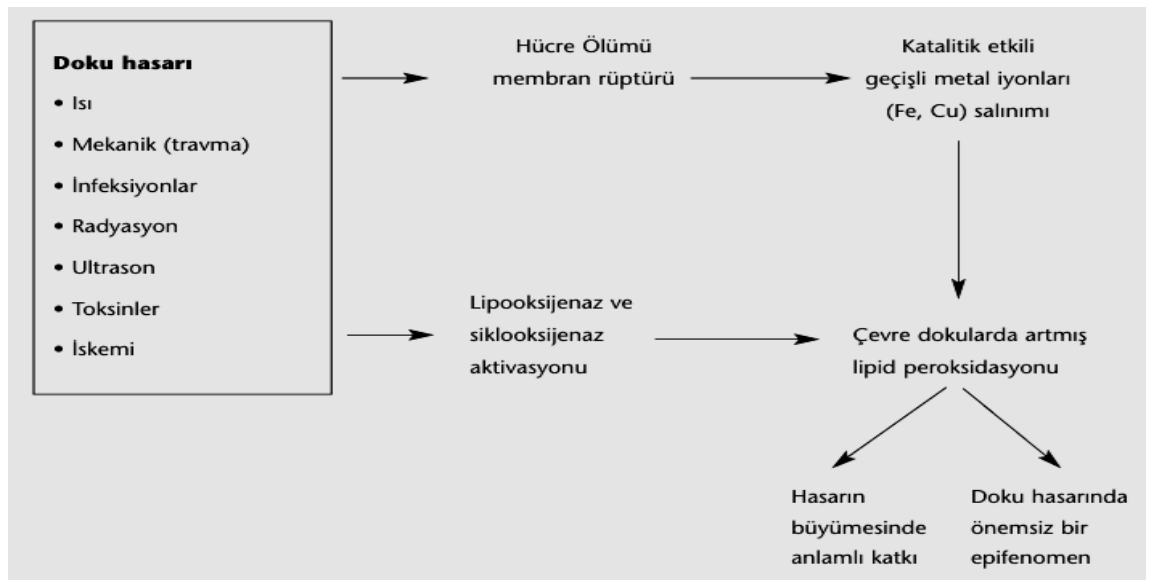
Serbest radikaller kanser gelişiminde de önemli bir rol oynamaktadır. DNA'daki oksidatif hasar genetik mutasyonlara ve kontrolsüz hücre çoğalmasına neden olabilir. Özellikle p53 gibi tümör baskılayıcı genlerin zarar görmesi kanser hücrelerinin hayatta kalmalarını sağlamaktadır. Ayrıca, kronik inflamasyon ve oksidatif stres, kanser metastazını da kolaylaştırır (Reuter vd., 2010). Sigara dumanı, radyasyon ve endüstriyel kimyasallar gibi bazı çevresel unsurlar serbest radikallerin üretimini artırarak kanser riskini artırır.

Tip 2 diyabet, serbest radikallerin sebebiyet verdiği bir diğer önemli hastalık türüdür. Glikoz seviyesinin artması ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) oluşumuna ve dolayısıyla oksidatif strese yol açar. AGE'ler hücre zarındaki proteinler ve enzimleri etkileyerek insülin direncini artırmaktadır. Ayrıca, serbest radikaller, pankreas β -

hücrelerinde apoptozu tetikleyerek insülin salgılanmasını azaltır (Newsholme vd., 2016). Bu mekanizma hipergliseminin ve diyabetik komplikasyonların başlamasına katkıda bulunur. Çekirdek, bölünme sırasında üretici hücrelere aktarılan genetik kodu taşıyan DNA'yı içerdiğinden, bu DNA'nın hasar görmesi, kansere doğru ilk adım olan hafifçe değişmiş hücrelerle sonuçlanacaktır ve bu durum akciğer kanseri, rektum kanseri, lösemi, yumurtalık ve meme kanseri gibi kanserli tümörlerin oluşmasına bağışıklık sisteminin baskılanmasına ve kısırlığa neden olabilecektir (Sharma ve Shrivastav, 2013).

1.4. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, antioksidanlar ve oksidanlar arasındaki dengenin hücresel ve dokusal olarak oksidanlar lehine bozulması şeklinde tanımlanmaktadır. Oksidanlar tarafından ROS oluşumu, normal aerobik yaşamın doğal bir sonucudur. Oksijen içeren ortamlardaki hücrelerin varlığı ve gelişimi güçlü antioksidan enzimler ve enzim dışı antioksidan sistemler olmaksızın mümkün değildir (Yıldırım, 1998). Aerobik yaşamda düzenli olarak ortaya çıkan antioksidanların verimli bir şekilde tüketilerek dengelerinin korunması için aktif ortamda düzenli olarak emilmeleri gerekir. Aksi takdirde oksidatif hasar oluşur ve bunun birikimiyle patofizyolojik olaylar gelişebilir (Sies, 1991). ROS RNS hücresel sinyalleşme, bağışıklık tepkileri ve gen ifadesinin düzenlenmesini de içeren fizyolojik süreçlerde çok önemlidir. Çok fazla antioksidan veya çok az antioksidan DNA'ya, proteinlere ve lipitlere zarar verebilir (Şekil 4)



Şekil 4. Hücre-doku hasarlarının çevre dokularda serbest radikal reaksiyonlarına yol açışı (Yıldırım, 1998).

Oksidatif stres, hücrelerde biyomolekülleri Hedef olarak hem yapısal hem de işlevsel hasara yol açmaktadır. Oksidatif gerilimin başlıca etkileri aşağıda açıklanmaktadır:

1- DNA hasarı : Bu radikal oksitlenmesi DNA'yı doğrudan oksitleyebilir, baz değişikliklerine, tek veya çift sarmal kopmalarına neden olabilmektedir. Örneğin, hidroksil radikali guanin bazını oksitleyerek mutajenik özelliklere sahip 8-hidroksi-2'-deoksiganin (8-OHdG) oluşturur (Cadet vd., 2017). DNA hasarı hücre döngüsünün işleyişini bozabilir ve kanser gibi hastalıkların gelişimine katkıda bulunur. ROS ayrıca hücre çoğalmasını ve apoptozisi düzenleyen iletişim yollarını etkileyerek tümör oluşumunu teşvik eder (Reuter vd., 2010). Mesela, p53 gibi tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen oksidatif hasar, kanser hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde büyümesine yol açmaktadır.

2- Protein oksitlenmesi: Serbest radikaller, proteinlerdeki amino asit yan zincirlerinin oksitlenmesi yoluyla protein yapısında ve işlevinde değişiklikler yapabilmektedir. Örneğin tiyol grubu (-SH) içeren proteinler serbest radikallerle kolaylıkla reaksiyona girer. Protein oksidasyonu enzim aktivitesini inhibe edebilir ve hücre sinyalizasyonunu bozabilir (Davies, 2016).

3- Lipit Peroksidasyonu: Lipid peroksidasyonu, hücre zarlarındaki çoklu doymayan yağ asitlerinin oksidasyonundan kaynaklanmaktadır. Bu işlem malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi toksik maddelerin oluşmasına yol açıyor. Lipid peroksidasyonu hücre membranlarının bütünlüğünü bozar ve hücre ölümüne neden olabilir (Ayala vd., 2014).

4- Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu: Mitokondri, hücrelerde enerji üretiminin yanı sıra ROS üretiminin de merkezindedir. Oksidatif gerilim, mitokondriyal DNA ve elektron taşıma zincirini doğrudan hedef almakta ve ATP üretimini azaltmaktadır. Bu da hücre ölümüne ve inflamasyon gibi patolojik süreçlere yol açabilir (Murphy, 2009).

Oksidatif stres özellikle Parkinson, Alzheimer ve Huntington gibi sinir hastalıklarında önemli bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Yüksek oksijen tüketimi ve zayıf antioksidan savunma mekanizmalarından dolayı beyin oksidatif strese karşı hassastır. Zararlı oksidasyon nöronlarda lipid peroksidasyonuna ve protein oksidasyonuna neden olarak nöronal hasara yol açar (Lin ve Bial, 2006).

Oksidatif stres, ateroskleroz, hipertansiyon, iskemi ve perfüzyon hasarı gelişimi gibi kardiyovasküler rahatsızlıkların ortaya çıkmasında etkili bir rol oynar. Oksidatif stres

endotel hücrelerindeki enflamasyonu ve apoptozi tetikleyip kan damarlarının duvarlarında plak birikimine yol açabilir (Madamanchi vd., 2005).

Diabetes mellitusun oksidatif stres ile yakından bağlantısı mevcuttur. Hiper-glisemi, ROS üretimini artırmak suretiyle insülin direncine ve beta-hücre fonksiyon bozukluğuna yol açabilmektedir. Oksidatif stres ayrıca diyabetin komplikasyonları olan böbrek yetmezliği, retinopati ve nöropati gelişiminde de rol oynuyor (Brownlee, 2001).

Oksidatif stresin zararlarını en aza indirmeye çalışan stratejiler diyetle alınan antioksidanlardan farmakolojik antioksidanlara ve yaşam tarzı değişikliklerine kadar çeşitlilik göstermektedir:

- 1- Diyetle alınan antioksidanların tüketimi, doğal antioksidanlar (C vitamini, E vitamini, karotenoidler ve flavonoidler) oksidatif stresi azaltmada ve en aza indirmede etkilidir. Özellikle meyve ve sebzeler zengin antioksidan kaynaklarıdır (Pham-Hui vd., 2008).
- 2- Farmasötik antioksidanlar (N-asetil sistein (NAC), melatonin ve resveratrol) Oksidatif stresi ele alan tedavilerde kullanılmaktadır. NAC, glutatyon sentezini artırarak antioksidan kapasiteyi geliştirir (Samuni vd., 2013).
- 3- Yaşam tarzı değişiklikleri, normal egzersiz, sigaradan uzak durma ve sağlıklı beslenmeye devam etme gibi yöntemler oksidatif stresin azaltılmasında önemli rol oynayabilir. Egzersiz, düşük yoğunlukta antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirebilir (Radack vd., 2008).

Kuşburnu meyveleri, oksidatif stresi azaltmada etkili olan zengin bir antioksidan bileşik kaynağıdır. C vitamini, karotenoidler, flavonoidler ve polifenoller gibi güçlü antioksidanlar içeren kuşburnu, serbest radikalleri nötralize ederek hücre hasarını önlemede önemli bir rol oynar (Türkben vd., 2010).

Yapılan çalışmalar kuşburnu ekstraktlarının ROS seviyelerini azalttığını ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırdığını göstermiştir (Gao vd., 2019).

1.5. Antioksidanlar

Başka moleküllerin oksidasyonunu geciktirebilen veya önleyebilen, serbest radikaller olarak bilinen kararsız moleküllerin yol açtığı hasardan hücreleri koruyan nispeten kararlı bir molekül, iyon veya radikal olarak belirtilir (Halliwell, 2007). Antioksidanlar, normal hücre metabolizmasının toksik yan ürünü olan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek koruyucu etki gösterirler (Sen, vd., 2010). ROS ve RNS ürünlerinin

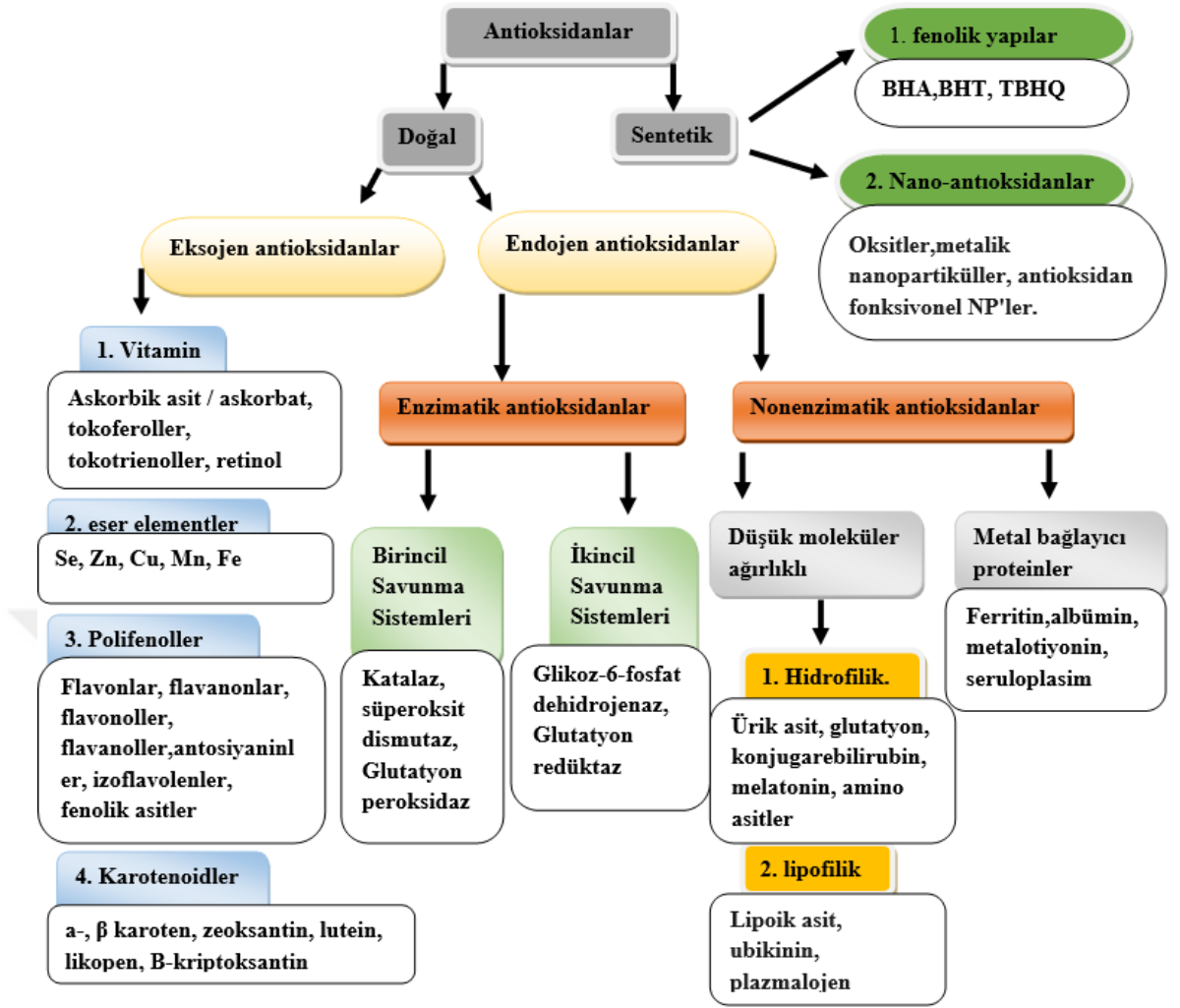
oluşumunu engelleyen ve bunların sebep olduğu hasarları nötralize eden, hücre yenilenmesini sağlayan savunma sistemleri “antioksidanlar” olarak bilinirler (Rao, P. S., vd., 2011). Önceleri antioksidanlar lipit peroksidasyonunu engelleyen yapılar olarak tanımlanmıştır(Aziz vd., 2019). Antioksidan aktivite temel olarak iki mekanizma aracılığıyla çalışır: Birinci mekanizma savunma (radikal oluşumunu önleme) ve ikinci mekanizma savunma (radikalleri nötralize etme). Bu süreçler, organizmanın homeostazını korumak için endojen ve eksojen kaynaklı antioksidan sistemlerin koordineli çalışmasını gerektirir (Lobo vd., 2010).

Antioksidanların ana fonksiyonu serbest radikallerin eşleşmemiş elektronlarını stabilize etmek veya zincirleme oksidasyon reaksiyonlarını durdurmaktır (Bakker vd., 1999). Antioksidanlar inhibitör, yok edici, iyileştirici ve zincir kırıcı etkiler gibi farklı sonuçlar doğurabilmektedir. Vitaminler, flavanoidler ve mannitol baskılayıcı; mitokondri, sitoplazma ve hücre dışı enzimlerdeki glutatyon peroksidaz ve katalaz yıkıcı; fenoller ve aromatik aminler zincir kırıcı antioksidanlardır (Akyol, 2003).

1.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar genellikle enzimatik ve enzimatik olmayana ayrılmaktadır. Bu antioksidanlar arasında değişik etki şekil ve yerleri ile değişik son etkileri olan farklı bileşikler mevcuttur. Bu farklılık, her birinin vücuttaki bireysel rolünü açıklamaktadır. Katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GRd) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi reaktif antioksidan enzimler olan enzim grubunun en yüksek düzeyde antioksidan savunma aktivitesi gösterdiği vurgulanmalıdır (Shi vd.,1999).

Antioksidan moleküllerin sınıflandırılması şekil 5’te gösterilmiştir.



Şekil 5. Antioksidanların Sınıflandırılması (Flieger vd., 2021).

Etki mekanizmalarına göre doğal ve sentetik antioksidanlar olarak sınıflandırılabilirler (Wanasundara ve Shahidi, 2005).

1.5.1.1. Sentetik Antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar, oksidasyonun önlenmesi için laboratuvarında üretilmiş bileşimlerdir (Flieger vd., 2021).

I. Sentetik Fenolik Antioksidanlar

Sentezlenmiş fenolik antioksidanlar, aromatik bir halkaya bağlı bir veya daha fazla hidroksil grubunu içeren tasarlanmış sentetik maddelerdir. Bu bileşiklerin yapıları, serbest radikallere hidrojen atomları veya elektronlar bağışlamalarını sağlayarak oksidatif hasarı yayan zincirleme reaksiyonları durdurur (Prior ve Wu, 2020). Örnekler arasında bütill hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve tert-bütill hidrokinon (TBHQ) bulunur. Sentetik yapıları, doğal benzerlerine kıyasla stabilizeyi ve antioksidan kapasiteyi

artırmak için aktif gruplarının ince ayarlanmasına olanak sağlar. Fenolik antioksidanlar tipik olarak alkilasyon veya alkilasyon yoluyla alkilasyon gibi organik reaksiyonlarla sentezlenir. Örneğin, BHT, p-ksilen ve p-kresolün asit katalizli reaksiyonu ile sentezlenir (Amorati vd., 2022). Bu yöntemler, antioksidanın stabilitesini ve lipofilik özelliklerini geliştirmek için alkil gruplarının eklenmesine odaklanmaktadır.

Sentetik fenolikler, gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmak için genellikle koruyucu olarak kullanılıyor. Ancak, yüksek dozlarda toksisite riski taşırlar. BHA'nın farelerde karaciğer ve tiroid kanseri riskini artırdığını göstermiştir (EFSA, 2020).

II. Sentetik Nano-Antioksidanlar

Nano-antioksidanlar, 1-100 nanometre arasında boyutlara sahip nanopartiküller veya nanoparçacıklardır. Antioksidan bileşiklerin (doğal veya sentetik) hedefe yönelik olarak verilmesiyle biyoyararlanımı artırır ve yan etkileri en aza indirirler (Weiss vd., 2021). Nano ölçekli antioksidanların temel avantajı, hücre içi hedefleme ve kontrollü salım yeteneğidir. Askorbik asit yüklü lipid nanopartiküller, UV'ye maruz kalan ciltteki oksidatif hasarı %40 oranında azaltmıştır (Zhang vd., 2022). Ayrıca, kanser tedavilerinde kemoterapötik ilaçlarla sinerjik etki gösteren nano ölçekli antioksidanlar da geliştirilmiştir (Wang vd., 2023).

1.5.1.2. Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarı önlemek veya en aza indirmek içindir. Bu antioksidanlar eksojen ve endojen (vücutta üretilen) olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır (Pelli ve Lyly, 2003). Böylece, doğal antioksidanlar vücudu serbest radikallerden koruyarak birçok kronik hastalığın ve gıda ekşimesine yol açan lipid peroksidasyonunun gelişimini geciktirir (Koolen vd., 2013). Endojen ve eksojen antioksidanlar vücudu serbest radikallerden korumak, oksidan/antioksidan dengesini korumak ve serbest radikalleri nötralize etmek için kullanılır (Sen ve Chakraborty, 2011).

I. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, gıdalar veya takviyeler yoluyla vücut dışından alınan bileşenlerdir. Antioksidanların çoğu bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen eksojen maddeler (flavonoidler, fenolik asitler, karotenoidler, stilbenler, kumarinler, lignanlar, organosülfür bileşikleri ve vitaminler) veya diyet mineralleridir (selenyumda etkisiz olduğunda eksojen antioksidanlara ihtiyaç duyulur (Flieger vd., 2021)).

II. Endojen Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, metabolik süreçlerde organizmada oluşan moleküllerdir ve özellikle oksidatif stresi kontrol etmek amacıyla evrimleşmiştir ve oksidatif strese karşı temel savunma mekanizmasıdır. Antioksidanlar iki ana kategoriye ayrılabilir: Enzimatik ve enzimatik olmayan sistemler. Endojen sistemler reaktif oksijen türlerini doğrudan nötralize eder, zararlı molekülleri onarır ve hücrel redoks dengesini korur (Halliwell ve Gutteridge, 2015).

A. Enzimatik Endojen Antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar, serbest radikalleri katalize eden ve ROS ve RNS üretimini hızla ve spesifik olarak inhibe edip etkisiz hale getiren proteinlerdir.

i. Süperoksit dismutaz (SOD): Hücre sitoplazması ve mitokondride aktif olarak bulunmaktadır (Birben vd., 2012), oksidatif fosforilasyon sırasında oluşan ROS'ları temizler (McCord & Fridovich, 1969). SOD eksikliği nörodejeneratif ve enflamatuvar hastalık gibi hastalıklara yol açabilir (Fukai ve Ushio Fukai, 2011).

ii. Katalaz (CAT): Hidrojen peroksiti (H_2O_2) parçalayarak su ve oksijene ayırır. Düşük katalaz aktivitesi ateroskleroz ve kanser gibi bazı hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Chelikani ve vd., 2004).

iii. Glutasyon Peroksidaz (GPx): Selenyum (Se) içeren bu enzim, glutasyon kullanarak hidrojen peroksidi ve lipid peroksidasyonunu azaltır. Bu enzim genellikle eritrositlerde ve karaciğerde aktif olarak bulunur (Forman vd., 2009). Hücre içi redoks dengesini korur (Meister, 1994). NADPH bağımlı bir enzimdir (Birben vd., 2012).

iv. Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD): NADPH üretimi yoluyla glutasyon redüktaz ve diğer antioksidan sistemleri desteklemektedir. Eritrositlerdeki aktivitesi oksidatif hasarla mücadele için kritik öneme sahiptir (Stadtman & Levine, 2003).

B. Non-Enzimatik Endojen Antioksidanlar

Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar, serbest radikalleri direkt şekilde nötralize ederek veya oksidatif reaksiyonların başlamasını önlemek amacıyla vücut tarafından oluşturulan bileşenlerden oluşur. Bu antioksidanlar iki temel kategoriye ayrılır: Düşük molekül ağırlıklı bileşikler ve metal bağlayıcı proteinler.

i. Düşük Moleküler Ağırlıklı Antioksidanlar: Bu gruptaki tüm moleküller küçük ve hızlı bir şekilde yayılabilen yapıdadır. Hidrofilik ve lipofilik olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar:

a. Hidrofilik Antioksidanlar

Hücre içi/dışı sıvılarda etki gösteren suda çözünen bileşenlerden oluşurlar:

- **Ürik Asit:** Pürin mekanizmasının son ürünü olup Hidroksil radikalleri (OH-) ve peroksinitrit (ONOO-) gibi güçlü serbest radikalleri temizler. Aynı zamanda demir iyonlarını bağlayarak Fenton reaksiyonunu inhibe eder (Ames vd., 1981).
- **Glutasyon (GSH):** Hücre içi oksidatif dengeyi sağlayan bir tripeptit (glutamat-sistein-glisin) antioksidandır. Lipid peroksidasyonunu inhibe eder ve toksinleri bağlayarak uzaklaştırır (Meister, 1994).
- **Konjuge bilirubin:** Kanın metabolizmasında üretilir, hemoglobinin parçalanma ürünüdür. Singlet oksijeni ($^1O_2$) ve peroksil radikallerini absorbe ederek yok ederler . Lipid peroksidasyonunu önlemek suretiyle hücre membranlarını korumaktadır (Stocker vd., 1987).
- **Melatonin :** Mitokondrial ROS üretimini azaltmakta ve DNA hasarını engellemektedir (Reiter vd., 2016).
- **Amino asitler:** Sistein ve histidin, tiyol grupları (-SH) aracılığıyla minerallerle bağlantı kurarak radikal temizleme özelliği göstermektedir (Wu vd., 2004).

b. Lipofilik Antioksidanlar

Hücre zarlarına etkiyen ve yağda çözünen bileşenlerdir:

- **Lipoik Asit:** Hem hidrofilik hem de lipofilik (amfipatik). C ve E vitaminlerini yeniden aktifleştirir (Bakker vd., 1995). Mitokondriyal enzimler için kofaktör olarak görev yaparlar. Hem oksitlenmiş hem de indirgenmiş formlarda antioksidan etki göstermektedir (Packer vd., 1995).
- **Ubiquinone (Koenzim Q10):** Elektron transport zincirine katkıda bulunur. Lipid peroksidasyonunu engelleyerek hücre membranlarını korumaktadır. Yaşlanmayla ve kardiyovasküler hastalıkla ilişkili oksidatif stresi azaltır (Letaro ve Tiano, 2007). Kalp ve karaciğerde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Ernster ve Dalner, 1995).
- **Plazmalojenler:** Zar bütünlüğünü lipid peroksidasyonundan korumaktadır ve Alkenil eter bağları aracılığıyla radikalleri stabilize edebilir (Braverman ve Moser, 2012).

ii. Metal Bağlayıcı Proteinler

Bu proteinler Fe^{2+} , Cu^{2+} ve Zn^{2+} gibi oksitlenmiş metalleri bağlayarak ve hidroksil radikali (OH-) üreten Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarına katılarak serbest radikal oluşumunu önler. Başlıca proteinler şunlardır:

a. Ferritin: Demir depolamak yoluyla serbest demirin hücre içi konsantrasyonunu düşürür. Bu yüzden Fenton reaksiyonu ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^-$) yoluyla hidroksil radikallerinin oluşumunu engeller (Kell, 2010). Oksitlenme stresini azaltabilir (Arosio ve Levi, 2002).

b. Albümin: Plazmadaki ana proteindir, Bakır (Cu^{2+}), demir (Fe^{2+}) ve diğer mineralleri bağlayarak serbest radikallerin oluşumunu inhibe eder (Evans, 2000). Lipid peroksidasyonunu inhibe edebilir (Halliwell ve Gutteridge, 2015).

c. Metalotiyonin : Çinko (Zn^{2+}) ve bakır (Cu^{2+}) dengesini düzenleyen sistein bakımından zengin bir proteindir. Ağır metal toksisitesine karşı koruyucu özellik gösterir (Klaassen vd., 1999). Ağır metalleri (Cd, Hg) ve bakırı şelatlayarak detoksifiye etme etkisi göstermektedir (Vašák & Meloni, 2017).

d. Seruloplasmin Bir Bakır (Cu^{2+}) taşıyıcı proteindir. Serbest bakır iyonunu (Cu^{2+}) bağlar. Aynı zamanda ferrokسيداز aktivitesiyle demirin oksidasyonunu katalize edebilir (Hillman ve Gitlin, 2002). Perokسيداز enzimi aktivitesiyle Fe^{2+} 'yi Fe^{3+} 'ye dönüştürüp transferrine bağlamaktadır. Bu da demirin reaktif durumdan uzaklaştırılmasını mümkün kılıyor (Osaki vd., 1966).

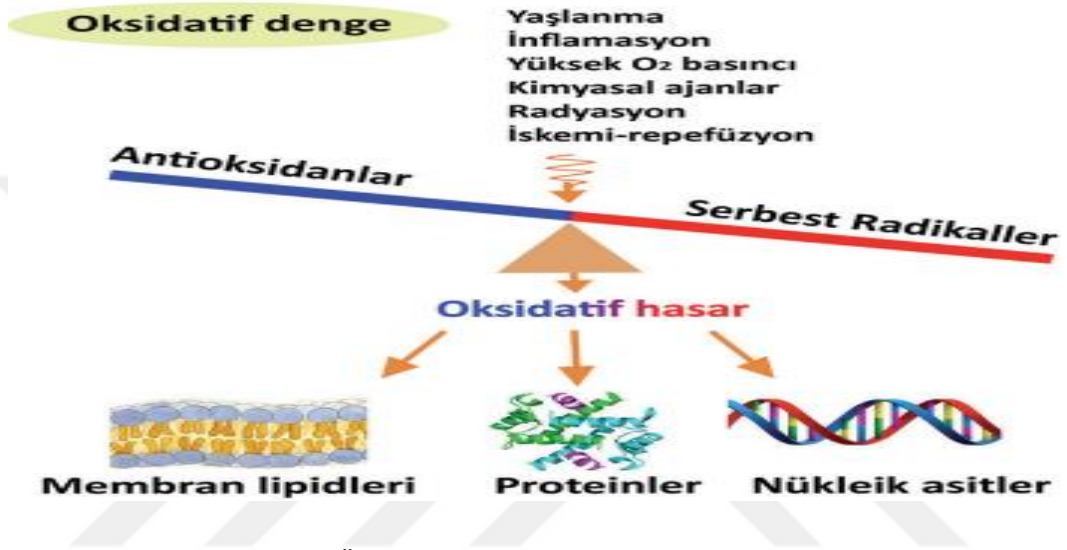
Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar, oksitleyici stresle başa çıkmak üzere geliştirilen karmaşık bir hücresel savunma sistemidir. Hidrofilik bileşenlerin, lipidlerin ve metal bağlayıcı proteinlerin sinerjik etkisiyle organizmanın metabolik ve çevresel streslere karşı direncinin artmasını sağlar. Bu sistemlerdeki bozulma kanser, nörodejenerasyon ve kardiyovasküler hastalıklar gibi hastalıklara yol açmaktadır.

- Nöroproteksiyon: Glutasyon ve melatonin, Parkinson ve Alzheimer hastalıklarındaki nöronları oksidatif hasara karşı korumaktadır (Lin ve Bial, 2006).
- Kardiyovasküler Sağlığı: Ürik asit ve seruloplazmin, LDL oksidasyonunu inhibe etme yoluyla ateroskleroz riskini azaltıyor (Stocker vd., 1987).
- Yaşlılık: Düşük plazmalojenler yaşlanmaya bağlı nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olabilir (Braverman ve Moser, 2012).

1.5.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Arasındaki İlişki:

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller ile bunlara karşı süpürücü etkiye sahip antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır (Özcan vd., 2015). Serbest radikaller ve antioksidanlar, hücresel homeostazın korunması ve sağlık

sonuçlarının etkilenmesindeki rolleri nedeniyle karmaşık bir şekilde bağlantılıdır. Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronlara sahip moleküller veya atomlar, hücresel hasara yol açan zincirleme reaksiyonları başlatabilen çok türlü ve oldukça reaktiftir. Serbest radikallerin reaktif türleri arasında süperoksit anyonları, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri (ROS) ile nitrik oksit ve peroksinitrit gibi reaktif nitrojen türleri (RNS) yer alır. Serbest radikallerin hücre sinyalizasyonunda, bağışıklık savunmasında ve redoks düzenlemesinde temel fizyolojik rolleri vardır ve üretimlerindeki artış veya dengeli nötralizasyon eksikliği oksidatif strese yol açabilir (Şekil 6) .



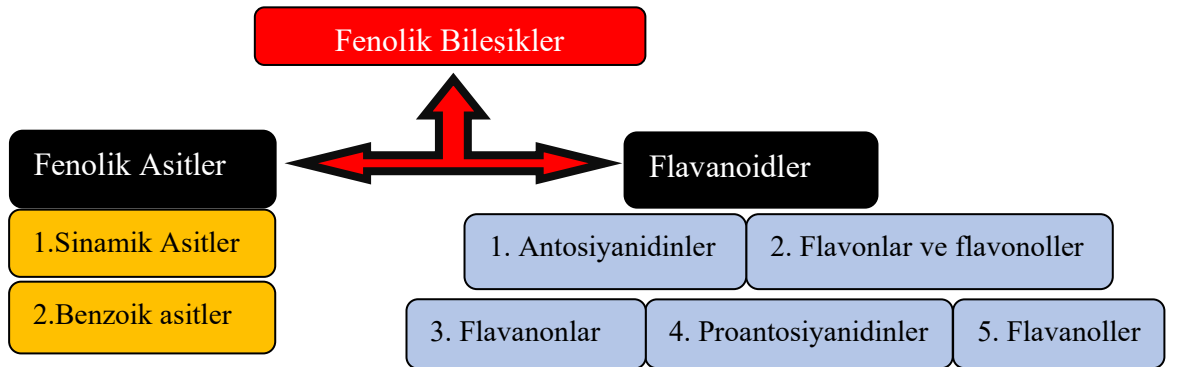
Şekil 6. Oksidatif denge (Özcan vd., 2015).

Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki ilişki dengeli bir ilişkidir. Serbest radikallerin üretimi vücudun bunları antioksidanlarla nötralize etme kabiliyetini aştığında oksidatif stres meydana gelir. Bu dengesizlik hücresel hasara neden olabilir ve kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere birçok kronik hastalığa katkıda bulunabilir. Antioksidanlar da serbest radikalleri nötralize ederek ve oksidatif stresi azaltarak bu dengenin korunmasında önemli bir rol oynar (Chandimali vd., 2025). Serbest radikaller, normal metabolik süreçler ve çevresel kirlleticiler ve radyasyona maruz kalma dahil olmak üzere çeşitli süreçlerden kaynaklanır. Serbest radikallerin yaygın kaynakları arasında sigara, kirleticiler ve radyasyon yer alır. Öte yandan antioksidanlar diyetle alınır veya vücut tarafından üretilir. Antioksidanlar açısından zengin gıdalar arasında meyveler, sebzeler, kabuklu yemişler ve tohumlar bulunur. SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik antioksidanlar vücut tarafından üretilir ve serbest radikallerin nötralize edilmesinde önemli bir rol oynar (Chandimali vd., 2025).

İnsan sağılığı üzerindeki etkileri Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki denge, sağılığın korunması için kritik bir öneme sahiptir. Serbest radikallerin fazla üretilmesi, birçok kronik hastalığın ve yaşlanma sürecinin sebebi olan oksidatif strese yol açabildiğı gibi yüksek antioksidan konsantrasyonları örneğın yüksek c vitamini oksidatif etki de gösterebilmektedir. Antioksidan sistemler içinde en gruplardan birini fenolik bileşikler oluşturmaktadır.

1.6. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler ya da polifenolik bileşikler, benzen halkası üzerinde bir ya da daha fazla hidroksil grupları içeren organik bileşiklerdir (Liu, 2004). Bitkilerde sekonder metabolitlerin önemli bir kısmını meydana getiren bu fitokimyasallar bitkilerin hemen her kısmında bulunabilmektedir. İçerisinde bulunan fenolik bileşikler, antioksidan aktivite de dahil olmak üzere birçok biyolojik etkilere sahiptir (Hagerman vd., 1998). Genellikle fenol olarak adlandırılan hidroksibenzen, benzen halkasına bağı tek bir –OH grubuna sahip bir bileşiktir (Şekil 7). Tüm diğ er fenolik bileşikler bundan elde edilir (Hagerman vd., 1998). Diyetsel fenolik bileşikler çeşitli alt gruplara ayrılmakla birlikte, fenolik asitler ve flavanoidler olmak üzere başlıca iki gruba ayrılırlar (Pitta, 2000). Fenolik asitler ve flavanoidler Şekil 7’te gösterildiğı gibi sırası ile iki ve beş alt gruptan oluşur (Cemeroğlu, 2013a).



Şekil 7. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması (Cemeroğlu, 2013a).

Fenolik asitlerin hidroksibenzoik asit türevi ve hidroksisinnamik asit olarak iki farklı iskelet yapısı vardır. Bu asitlerdeki temel iskelet yapıları aynı olmasına rağmen hidroksil gruplarının sayısı ve aromatik halkadaki konumları fenolik asitlerin çeşitliliğini sağlamaktadır. Bu çeşitlilik fenolik asitlerin biyokimyasal özelliklerini ve fonksiyonlarını etkileyebilmektedir (Köseoğlu, 2015). Çeşitli antioksidan aktivite çalışmalarında hidroksisinnamik asit türevlerinin hidroksibenzoik asit türevlerine göre daha fazla etkili olduğu görülmüştür (Bektaş , 2005). Hidroksisinnamik asitleri, fenilpropan halkaya bağı

hidroksil gruplarının konumuna ve hidroksil grubu sayılarına bağlı farklı özelliklere sahiptir. Bu asitler genel olarak asidik türevler şeklinde bulunurlar ancak bazı durumlarda çok az miktarlarda serbest halde de bulunabilirler (Kaya , 2021). Bu asitler antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-kanser özellikleri gibi faydalı özelliklere sahiptir. Dahası, hidroksisinnamik asitler gıda koruyucu ve sağlığı geliştirici özellikleriyle de bilinmektedir.

Kuşburnu (*Rosa canina L.*) flavonoidler zengini bir bitki türüdür ve bu bileşiklerin insan sağlığına birçok faydası bulunmaktadır. Aşağıda başlıca flavonoid gruplarının bir dökümü yer almaktadır:

1. Antosiyanidinler: Antosiyanidinler kuşburnu kabuğunda bol miktarda bulunur ve meyvelere kendine özgü kırmızı-mor rengini veren flavonoidlerdendir. Güçlü antioksidan ve anti-inflamatuar özellikleri vardır. Kuşburnundaki ana antosiyanidinler siyanidin-3-glukozit ve pelargonidin-3-glukozittir (Gao vd., 2019).

2. Flavonoidler ve flavonoller: Flavonoidler ve flavonoller kuşburnundaki toplam flavonoid içeriğinin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Kuşburnunda bulunan flavonoller arasında kuersetin ve kaempferol bulunmaktadır. Bu bileşiklerin oksidatif stresi azaltarak kardiyovasküler hastalıkları önleme potansiyeli vardır (Pandey ve Rizvi, 2009).

3. Flavanonlar: Flavanonlar, kuşburnu etinde bulunan flavonoidlerin bir alt kümesidir ve naringenin gibi bileşikler içerir. Bu bileşenlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivite göstererek hücre membranlarını koruduğu ve enflamatuar süreçleri kontrol ettiği belirtilmektedir (Cueva vd., 2010).

4. Flavanoller: Mflavanoller kuşburnunun çekirdek ve kabuk kısmında bol miktarda bulunan flavonoidlerdir ve (+) kateşin ve (-) epikateşin gibi bileşikler içerir. Bu maddeler güçlü antioksidan etkileri ile bilinir ve lipid peroksidasyonunu engeller (Türkben vd., 2010).

5. Proantosiyanidinler: Proantosiyanidinler kuşburnu çekirdek ve meyve etinde bulunur ve oligomerik yapıda flavonoidlerdir. Bu bileşikler güçlü antioksidan, anti-kanser ve bağışıklık sistemini güçlendirme etkileri ile bilinmektedir (Zhang vd., 2016).

1.7. Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BChE) Enzimleri

Asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri sinir sisteminde kritik rol oynamaktadır. Bu enzimler sırayla asetilkolin ve bütirilkolin gibi nörotransmitterlerin parçalanmasını sağlayarak sinaptik iletimi düzenler. Alzheimer hastalığı gibi özellikle nörodejeneratif durumlarda bu enzimlerin aktivitelerinin kontrol edilebilmesi önemlidir (Schelterns ve Feldman, 2003).

- **Asetilkolinesteraz (AChE):** AChE, sinirlerdeki uçlarda salınan asetilkolini hızla parçalayarak sinirlerin sinaptik iletimini sonlandırır. Asetilkolin öğrenmenin, hafızanın ve kas hareketlerinin kontrol edilmesinde önemli bir role sahiptir. Alzheimer hastalığı gibi hastalıklarda asetilkolin seviyeleri düşerek bilişsel fonksiyon kaybına yol açabilir. AChE inhibitörleri, bu enzim aktivitelerini engelleyerek asetilkolin seviyelerini yükseltir ve nörolojik semptomları hafifletmeye yardım etmektedir (Ballard vd., 2005).

- **Butirilkolinesteraz (BChE):** BChE , temel olarak plazma ve karaciğerde bulunup asetilkolinin yanı sıra bütirilkolin gibi diğer bazı kolin esterleri de metabolize eden bir enzimdir. İlerlemiş Alzheimer hastalığı vakalarında AChE aktivitesinde azalma görülürken BChE aktivitesi artış gösterir. Bu yüzden BChE inhibitörleri Alzheimer hastalığı tedavisindeki potansiyel bir hedeftir (Gregg vd., 2005).

Spesifik olarak, kuşburnunda bulunan gallik asit, kateşin, kuersetin ve ellagik asit gibi bileşiklerin tüm asetilkolinesteraz (AChE hem de BChE) enzimlerinin aktivitesini inhibe edebileceği belirtilmektedir (Türkben vd., 2010). Bu özellikler, kuşburnunun nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için umut verici bir doğal kaynak olduğunu vurgulamaktadır.

1. Gallik asit: Gallik asit, kuşburnunda yaygın olarak bulunan fenolik bir asittir ve güçlü bir AChE inhibitörüdür. Çalışmalar, gallik asidin asetilkolin seviyelerini artırarak bilişsel işlevi geliştirdiğini göstermiştir. Ayrıca, gallik asit AChE üzerinde inhibitör bir etki gösterir ve özellikle Alzheimer hastalığının ileri aşamalarında faydalı olabilir (Orhan vd, 2007).

2. Kateşin ve Epikateşin: Kateşin ve epikateşin kuşburnunda bulunan iki flavanol bileşiktir. Bu bileşikler hem asetilkolin hem de BChE enzimlerini inhibe ederek asetilkolin seviyelerini korur. Ayrıca, bu bileşiklerin antioksidan özellikleri nöronları oksidatif strese korur (Zhao vd., 2019).

3. Kuersetin : Çalışmalar, kuersetinin asetilkolinesteraz (AChE) ve BChE üzerinde inhibe edici bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Kuersetin ayrıca nöroinflamasyonu inhibe ederek ve nöronal apoptozu önleyerek nöroprotektif etkiler sağlar (Howes ve Perry, 2011).

4. Ellagik asit: . Ellagic asit AChE üzerinde inhibitör bir etki gösterir ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde potansiyel bir rol oynayabilir (Zhang vd., 2016).

Kuşburnunun nörodejeneratif hastalıklarla mücadeledeki rolü Asetilkolinesteraz (AChE) ve BChE'nin inhibitör aktivitesi, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde umut verici bir seçenektir.

Antioksidan aktivite: Kuşburnundaki zengin antioksidan içerikleri oksidatif stresi azaltarak nöronları koruyor.

Anti-inflamatuar etki: Kuşburnunda bulunan fenolik bileşikler nöroinflamasyonu baskılayarak beyin sağlığına destek olur.

Nöroprotektif etki: Kuşburnundaki bileşikler sinir hücrelerinin apoptozunu önleyerek sinir sisteminin sağlığı korunur (Pandey ve Rizvi, 2009).

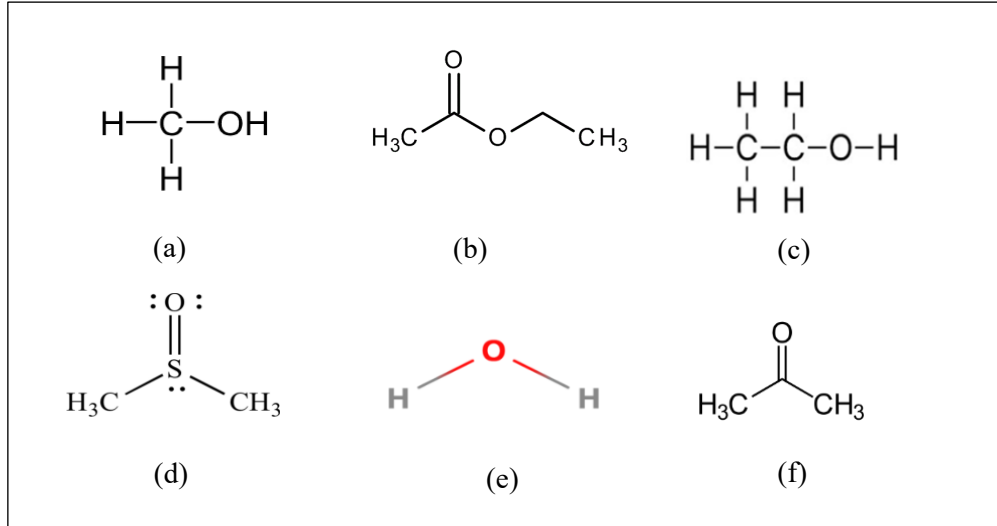
Raf ömrünü uzatmak ve hastalığa neden olan mikroorganizmaların yayılmasını önlemek yer alır. Kozmetik endüstrisinde doğal koruyucu olarak kullanımı artmaktadır (Zhang ve diğerleri, 2016).

1.8. Bitkisel Ekstraksiyon Yöntemleri

Tıbbi bitkilerin özütlerinin eldesi (ekstraksiyonu) çalışmaların hedefi açısından oldukça önemlidir. Nitekim bitki bileşenlerinin doğru ve verimli bir şekilde elde edilmesi sonuçları belirgin şekilde etkileyecektir. Örneğin çalışma konumumuzu da oluşturan kuşburnu meyve ekstraksiyonun pekçok çeşidi olup fenolik içerikleri, total fenolik içerik, fenolik madde miktarı ve bunların antioksidan aktiviteleri bu metotlara göre değişebilmektedir. Bu aktif fraksiyonlar, fitokimyasallar çözücü cinsi, sıcaklık, çözücü-çözünen oranı, ultrasonikasyon, inkübasyon süresi gibi pekçok parametreden etkilenebilmektedir. Polar (su ve metanol, etanol, vb) kısmi polar (aseton, etil asetat vb) ve nonpolar (eter, kloroform vb) özellikteki çözücülerin polifenolik bileşiklerle etkileşimi buna örnek olarak verilebilir. Maserasyon, sindirim, kaynatma, infüzyon, süzme, Soxhlet ekstraksiyonu, yüzeysel ekstraksiyon, ultrason destekli ve mikrodalga destekli ekstraksiyonlar son dönemlerde yaygın olarak karşılaşılan ve kullanılan ekstraksiyon prosedürleridir (Abubakar ve Haque, 2020).

1.8.1. Ekstraksiyonlarda Kullanılan Bazı yaygın Çözücüler ve Özellikleri

Bitkisel ekstraksiyonlarda yaygın olarak kullanılan bazı çözücüler şekil 8'de gösterilmiştir. Ekstrakte edilen bitkisel kısımlardan elde edilecek özütlerin içerik olarak verimini arttırmak için, kullanılacak çözücünün özelliklerinin bilinmesi gerekmektedir. Örneğin polarite bu çözücü seçiminde önemli bir kriterdir. Su en iyi polar çözücülerin başında gelmektedir. Maserasyon yönteminde sulu ekstraktlar yaygın biçimde kullanılmaktadır.



Şekil 8. Yaygın olarak kullanılan bazı çözücüler. (a): Metanol; (b):Etilasetat, (c) :Etanol; (d) Dimetilsülfoksit; (e): Su ve f): Aseton.

Metanol: Oldukça polar organik bir çözücüdür. Bitki ekstraksiyonlarında son derece yaygın b,ç,mde kullanılmaktadır. –OH grubunun ve –CH₃ grubunun farklı elektronegatif özellikleri bu polaritesinin temelini oluşturmaktadır.

Etil Asetat : Orta derece polar bir bileşik olup, polar bir karbonil (C=O) grubu, polar bir oksijen atomu ve bunların yanında polar olmayan bir etil grubu içeren orta derecede polar bir bileşiktir. Bu durum onu polar ve polar olmayan bileşiklerin beraber bulunduğu ortamda bu bileşikleri çözmek için uygun seçim haline getirmektedir (URL-1, 2025).

Dimetilsülfoksit (DMSO): Polar bir çözücüdür, organik ve inorganik, polar ve polar olmayan maddelerin çözülmesinde etkilidir (URL-.2, 2025).

Su: En iyi polar çözücülerden biri olmakla beraber lipidler gibi hidrofobik bileşiklerin çözülmesinde etkisiz kalmaktadır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan cihazlar

Tablo 6. Kullanılan Cihaz, Alet ve Malzemeler

Kullanılan cihaz, alet ve malzemeler	Marka/Model
96 Kuyucuklu Mikroplaka	Lp Italiana Spa
Biyogüvenlik Kabini	LABOMAR
Buzdolabı	Beko
Cam malzemeler (beher, erlen, balon joje..)	ISO Lab
Çalkalayıcı İnkübatör	Shel Lab
Çeşitli otomatik pipetler (10-1000 µL)	Socorex, SCI Logex, Eppendorf
Değirmen	IKA A10 Basic
Etüv	Memmert , GEMO DT107
Eppendorf tüpü (1,5 -2,0 mL)	ISO Lab
Falkon tüpleri (15 mL ve 50 mL)	ISO Lab
Hassas Terazî	KERN ABJ-NM/ABS-N
İnkübatör	Wise Cube
Manyetik Karıştırıcı	DaiHan MSH-20D
Mikroplaka okuyucu	Thermo Scientific
pH metre	HANNA edge®
Rotary Evaporatör	Scilogex RE100-pro
Saf Su Cihazı	Şimşek Labortechnik SS-200 Serisi
Spektrofotometre küveti (polistiren)	ISO Lab
Tüp sporu	Lp Italiana Spa
Ultrasonik Banyo	Wisd DAIHAN
UV Spektrofotometre	Shimadzu UV-1800
Vorteks	WiseMix VM-10

2.1.2.Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve çözeltiler tablo2.2’de verilmiştir.

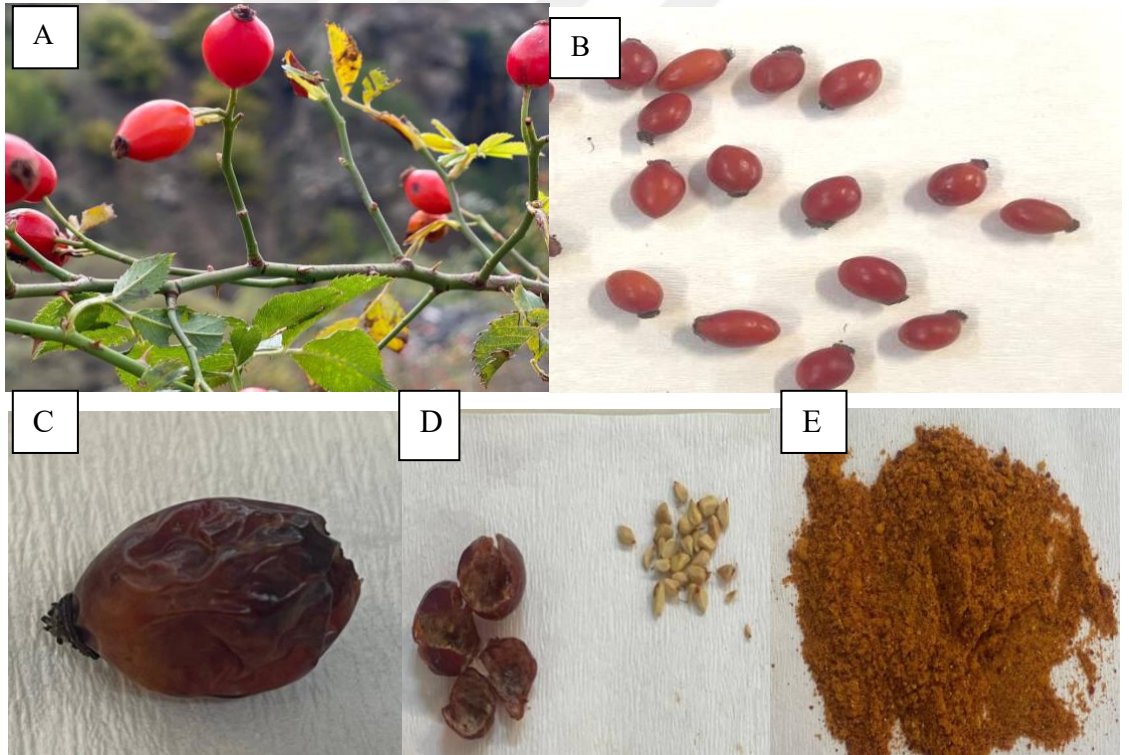
Tablo 7. Kullanılan Kimyasal

Kimyasal Maddeler	Satın alınan firma, kodu
ABTS	AFG
Agar	Sigma Aldrich
Alüminyum Klorür ($AlCl_3$)	Sigma Aldrich
Antimikrobia Diskler	Bioanalyse
Askorbik asit	Sigma Aldrich
Asetilkolin esterase	Merck
Asetiltiyokolin iyodat	Merck
Bütirilkolin esterase	Merck
Bütirilkolin iyodat	Merck
Dimetil sülfoksit (DMSO)	ISOLAB
DPPH	Sigma Aldrich
DTNB	Sigma Aldrich
Ethyl Acetate	Sigma Aldrich
Etanol	Sigma Aldrich
Folin-Ciocalteu Reaktif	Sigma Aldrich
Gallik Asit	Sigma Aldrich
Inoculation loops	CITOTEST
Klasik Swap	CITOTEST
L-Askorbik asit	Sigma Aldrich
Metanol	Sigma Aldrich
Mueller Hinton broth agar	Merck
Potasyum Persülfat ($K_2S_2O_8$)	Merck
Qercetin	Sigma Aldrich
Sodyum Fosfat (Na_2HPO_4)	Merck
Sodyum Hidroksit (NaOH)	Merck
Sodyum Karbonat (Na_2CO_3)	Merck
Sodyum Nitrit ($NaNO_2$)	Merck
Tris-base	Merck
Troloks	AFG

2.2. Metot

2.2.1. Kuşburnu bitkisinin meyvelerinin toplanması ve ekstraksiyon işlemine hazırlanması

Kuşburnu meyveleri Gümüşhane İli Arzular Kabaköy Beldesinden (koordinatlar 40°26'44.4 "N 39°44'40.4 "E) Ekim 2024 başlarında toplandı (Şekil 9. A) . Örnekler düşük ağırlıklarda ağzı kilitli buzdolabı poşetlerine konarak soğutmalı dolapta yaklaşık 15 km mesafedeki laboratuvara ulaştırıldı ve kısa süre içinde çalışılmak üzere 2-8 derecede buzdolabına kaldırıldı. Çalışmaya başlarken numuneler önce musluk suyundan geçirilerek toz ve küçük partiküllerden basınçlı hava tabancası ile arındırıldı (Şekil 9.B). Ardından meyveler distile su ile yıkanarak 37 °C'de etüvde kurutuldu (Şekil 9.C). Kurutulmuş meyvelerin bistüri yardımı ile kesilerek çekirdekleri tümüyle çıkarıldı (Şekil 9.D) ve meyve kısımları öğütücü değirmende toz haline getirilerek (Şekil 9.E) 15 mL'lik falkon tüplerine bölüştürüldü ve çalışma yapılana kadar stoklar – 20 °C'de saklandı.



Şekil 9. Kuşburnu Örnekleri İşlemler. A: Toplanmaya hazır kuşburnu meyveleri; B: Kuşburnu meyvelerinin kurutulmadan önce temizlenmesi ve hazırlanması ; C: Bütün kuşburnu meyvesinin kurutulması ; D: Kurutulmuş kuşburnu meyvelerini kesin ve çekirdeklerinin çıkarılması; E: Kuşburnu meyve tozu.

2.2.2 Ekstraksiyon

Öğütülmüş ve stoklanmış meyve tozu aşağıda belirtilen ekstraktları oluşturmak üzere tartılarak 6 (altı) gruba ayrıştırıldı. Bu gruplar şunlardır:

- 1- Dimetil sülfoksit (DMSO) Ekstraksiyon (Maserasyon) : **DMM**
- 2- Dimetil sülfoksit (DMSO) Ekstraksiyon (Ultrasonik destekli) : **DMU**
- 3- Metanol- Su (20:80) Ekstraksiyon (Maserasyon): **MSM**
- 4- Metanol- Su (20:80) Ekstraksiyon (Ultrasonik destekli): **MSU**
- 5- Etil asetat Ekstraksiyon (Maserasyon): **EAM**
- 6- Etil asetat Ekstraksiyon (Ultrasonik destekli): **EAU**

- Ekstrakt hazırlamak için 6 deney şişesinin herbirine 3 gram toz meyve hassas terazide tartılarak kondu. Her şişeye kendi çözücüsünden (DMSO %1 asetik asitli), (metanol-su 20:80 v/v) ve etil asetat) 60'şar mL eklendi. Çözünen/çözücü oranı (1/10 m/v).

- Şişeler önce elle kuvvetli şekilde çalkalandı. Ardından şişeler 400 rpm, 60 dk 25 °C'de manyetik karıştırıcıda aliminyum folyoya sarılı olarak karıştırıldı.

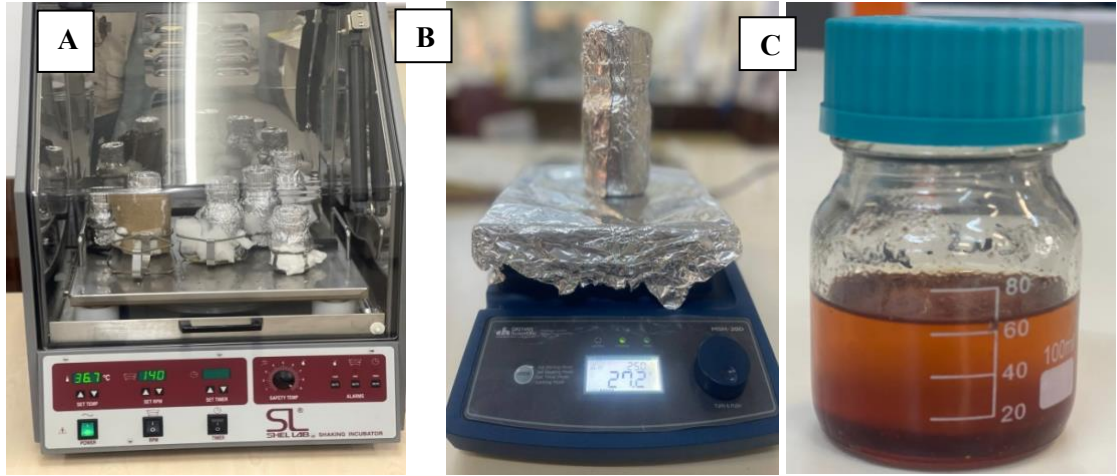
- Şişeler daha sonra 37 °C'de 150 rpm'de 24 saat boyunca çalkalamalı inkübatörde aliminyum folyoya sarılı şekilde inkübe edildi. Bu aşamadan sonra şişeler ekstraksiyon yöntemine göre 2 farklı gruba ayrıldı:

1. Grupta 3 farklı çözücü içeren 3 şişe önce kaba filtre kağıdından geçirildi, ardından 0.45 µm mikrofiltre kağıdından enjektör yardımı ile süzüldü.

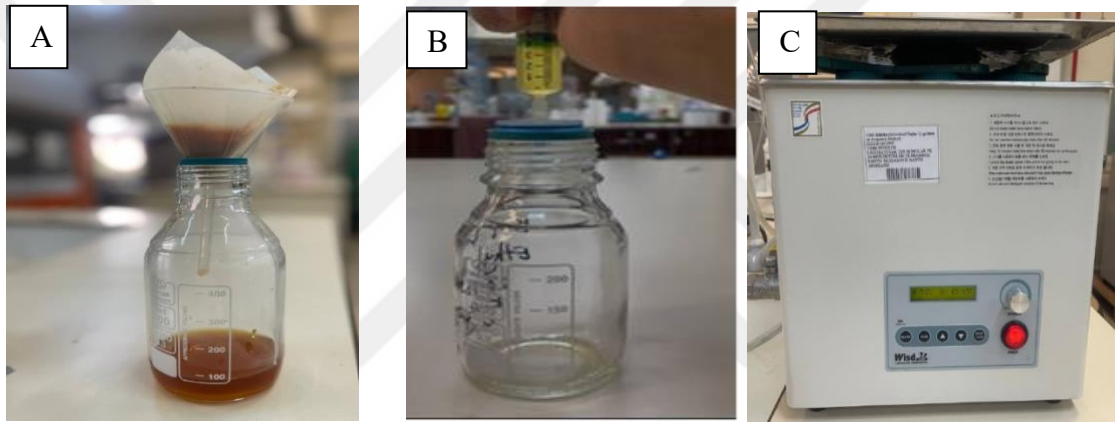
2. Grupta 1. Grupla aynı çözücüleri içeren üç şişe ultrasonik cihaza yerleştirilerek 45 dakika boyunca 45°C ve 60 Hz' genlikte sonikasyona tabi tutuldu. Ardından 1. Gruptaki şişelere yapılan filtreleme işleminin aynısı yapıldı.

. 1. Grupla 2. Grup arasında tek fark bir grubun 24 saat inkübasyondan sonra 3 ekstraktın ilaveten 45 derece 45 dk 60 hz frekansta ultrasonikasyona tabi tutulmasıydı. Bu gruptaki çözeltiler maserasyon+ ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) grubu olarak adlandırıldı.

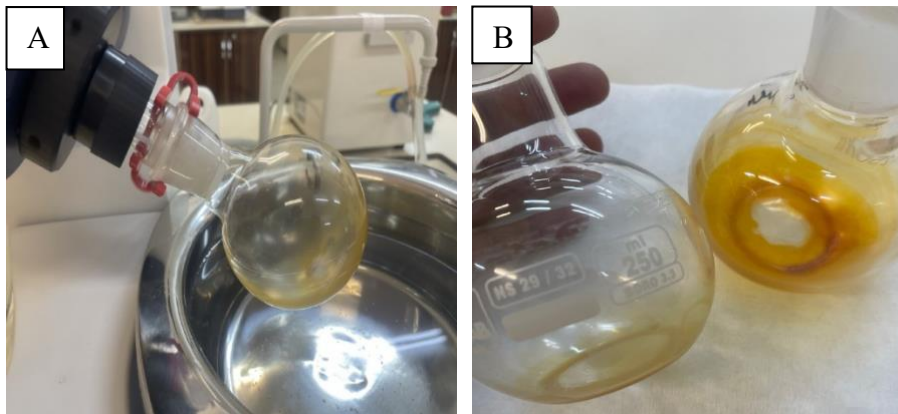
- Filtreleme işlemi tamamlandıktan sonra, tüm şişelerdeki (1. ve 2. grup) çözeltiler bir rotary evaporatör yardımı ile 45°C. 100 rpm ve 600 bar basıç şartlarında uçuruldu. DMSO numuneleri için, DMSO çözücüsü 189 °C gibi çok yüksek bir buharlaşma noktasına sahiptir, bu nedenle numune buharını 45 °C'de çekebilen özel bir vakumlu konveksiyonel fırında yaklaşık 36 saatte buharlaştırıldı. Buharlaşma sonunda kalan kalıntılar % 10'luk DMSO ile çözüldü ve final konsantrasyonlar belirlendi. Ekstraktlar küçük örneklerle ayrılarak (aligotlanarak) hemen çalışılacaklar hariç -20 °C dondurucuya kaldırıldı.



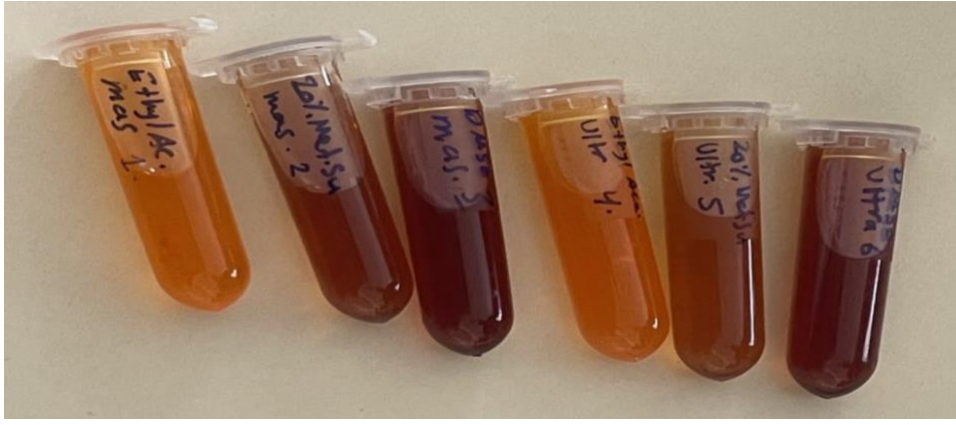
Şekil 10. Ekstraksiyon Aşamaları. **A:** Üç gram kuşburnu meyve tozu 60 mL çözücü eklendi. **B:** Manyetik karıştırıcıda karanlık ortamda karıştırıldı. **C:** bir gece boyunca çalkalamalı inkübatörde 150 rpm de çalkalamaya bırakıldı.



Şekil 11. Ekstraksiyon Aşamaları. **A:** İnkübasyon sonrası kana filtreden süzme yapıldı. **B:** Ardından enjektör ile 0.45 µm membran filtresinden enjektör yardımı ile tekrar süzülür **C:** Ultrason destekli ekstraksiyon yapılacak numuneler ultrasonikasyon cihazına konur.



Şekil 12. Ekstraksiyon Aşamaları. **A:** Rotary evoppratörde uçurma işlemi. **B.** Uçurma sonunda balon jöjelerde kalan meyve kalıntıları



Şekil 13. Elde edilen ekstraktlar

2.2.2.1. Kuşburnu Ekstraktlarının Yüzde Verim Hesabı

Ekstraksiyon sonucu elde edilen verim % Eşitlik (2.1)'deki verim formülüne göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Verim} = [(w_2 - w_1) / w_0] \times 100 \quad (\text{Eşitlik 2.1})$$

w₀ = Kurutulmuş bitki örneğinin ilk ağırlığı,

w₁ = Kabın ağırlığı,

w₂ = Evaporasyondan sonra geriye kalan ekstraktın ağırlığını ifade etmektedir (Anokwuru vd., 2011).

Tablo 8. Kuşburnu ekstraktlarının % verimi

Ekstraktlar	Ekstraksiyon Yöntemi	
	Maserasyon	UDE*
DMSO	63.47 %	62.62 %
Metanol Su (20:80)	50.6 %	56.4 %
Etil Asetat	6.32 %	4.1 %

*UDE: Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon

2.2.3. Toplam Fenolik-Flavonoid İçerik ve Antioksidan Aktivite Analizleri

Toplam fenolik içerik (TPC), toplam flavonoid madde miktarı (TFC) ve üç farklı yöntemle (DPPH, FRAP ve ABTS) total antioksidan kapasite analizleri gerçekleştirildi. Deneyler 3 tekrar olarak yapıp ortalaması alındı.

2.2.3.1. DPPH (1,1 – difenil - 2 pikrilhidrazil) radikal yakalama yöntemi:

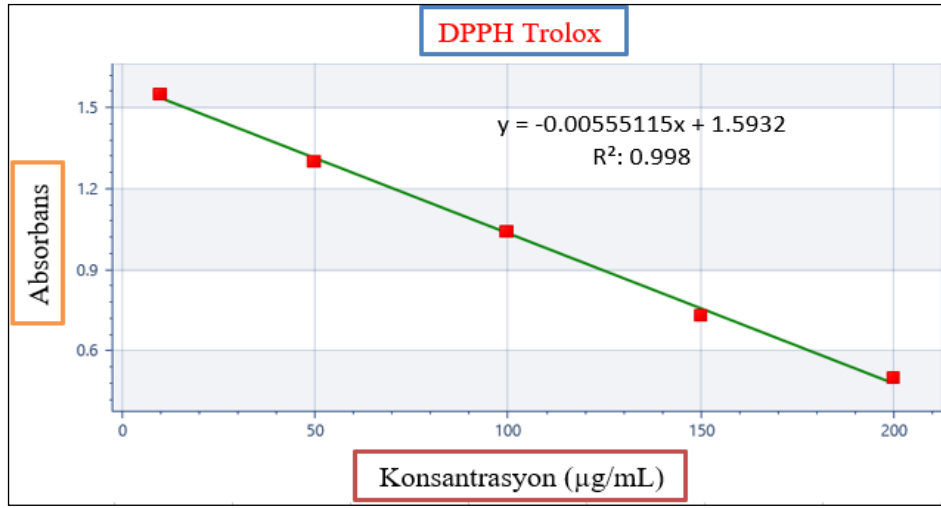
DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal yakalama yöntemi Soler-Rivas ve arkadaşları (2000) tarafından kullanılan yöntemin 96 kuyulu mikropalakalara uyarlanmasıyla gerçekleştirildi.

Reaktifler ve Hazırlanışları

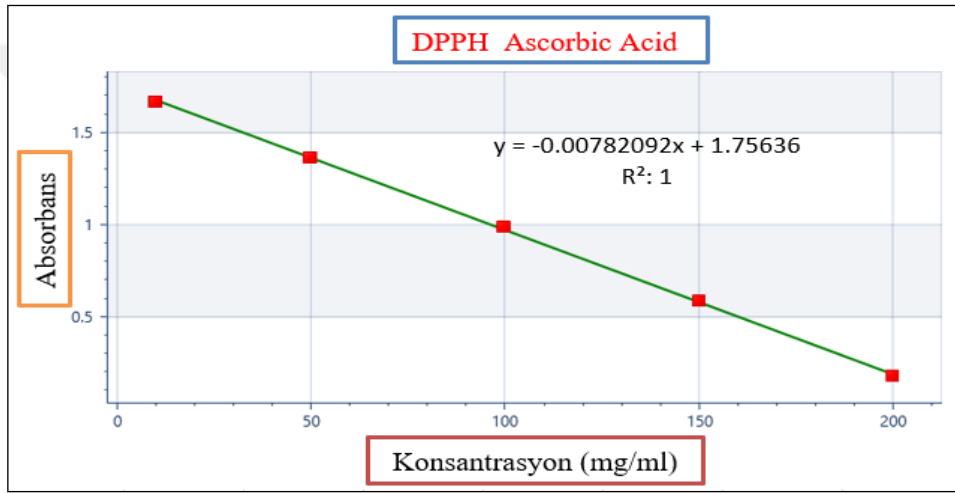
- Analitik saflıkta metanol, analitik saflıkta DPPH ((2,2-difenil-1-pikrilpiridazol), analitik saflıkta Troloks [(±)-6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkrom-2-karboksilik acid)] kullanıldı.
- Standartlar: Troloks çalışma çözeltisi (TEAC) metanolde 5 farklı konsantrasyonda (10, 50, 100, 150 ve 200 µg/mL) ve yine analitik saflıkta L-Askorbik asit (AA), metanol içinde 10, 50, 100, 150 ve 200 µg/ml askorbik asit çalışma çözeltileri hazırlandı.
- DPPH reaktif madde stok karışımının hazırlanması (0.9 mM): 8.9 mg DPPH 25 ml metanol içinde çözüldü. Elde edilen çözelti daha sonra kullanmak üzere buzdolabında saklandı.
- DPPH için çalışma çözeltisinin hazırlanması: Stok çözeltisinden 1,11 ml alınıp metanol ile 10 ml'ye tamamlandı. Tamamlanan çözeltinin absorbansı 515 nm'de okunduğunda ($0,9 \pm 0,02$) olmalıdır. Absorbans, duruma göre seyreltilerek veya ana stok eklenerek ($0,9 \pm 0,02$) değerine ayarlandı.

- Deneyin Yapılışı:

96 kuyucuklu mikropalkanın üzerine örnek standart ve körlerin herbirinden kendi kuyucuklarına 25 µL kondu. Üzerlerine 100 µL DPPH çalışma çözelti ilave edildi ardından 75 µL metanol eklendi. 60 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletme sonrasında 517 nm'de absorbanslar mikropalaka okuyucuda spektrofotometrik olarak okundu. Sonuçlar troloks eşdeğeri (TEAC) ve askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak verildi. Örneklerde DPPH radikal temizleme miktarlar; standart grafiklerinden (Şekil 14 ve şekil 15) elde edilen denklemlere göre hesaplandı (Ahmed vd. 2015).



Şekil 14. DPPH Troloks Standart Grafiği.



Şekil 15. DPPH Askorbik Asit Standart Grafiği.

2.2.3.2. Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) yöntemi:

Benzei ve Strain (1996) tarafından geliştirilen bu yöntem 96 kuyucuklu mikrolakaya modifiye edilerek uygulandı. Yöntemin prensibi antioksidan varlığında Fe^{+3} ferrisiyanür kompleksinin Fe^{+2} 'ye indirgenmesin esasına dayanmaktadır. 5 farklı konsantrasyonda (10, 50, 100, 150 ve 200 µg/mL) troloks ve askorbik asit standartı hazırlandı ve standart grafiği oluşturularak veriler FRAP değerleri hesaplandı.

- Reaktifler

FRAP çözeltisi 3 farklı çözeltinin karıştırılması ile hazırlanmıştır:

I. Çözelti : 300 mM pH=3.6 Sodyum Asetat tamponu :

- Hassas terazide 2,46 g sodyum asetat tartılarak 100 mL'lik bir beherglas içine kondu.

- Üzerine bir miktar (50 mL kadar) distile su eklendi. Üzerine 1,6 mL Glasial asetik asit eklendi pH 3.6'ya ayarlandı.

II. Çözelti : 10 mM TPTZ [2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine] Çözeltisi :

- 100 mL'lik beherglas içine hassas terazide 0.312 g TPTZ tartılarak kondu. Üzerine 4 mL 40 mM HCL çözeltisi eklendi. Çözelti bir balon jöjeye alınarak distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

III. Çözelti : 20 mM FeCl₃.6H₂O çözeltisi:

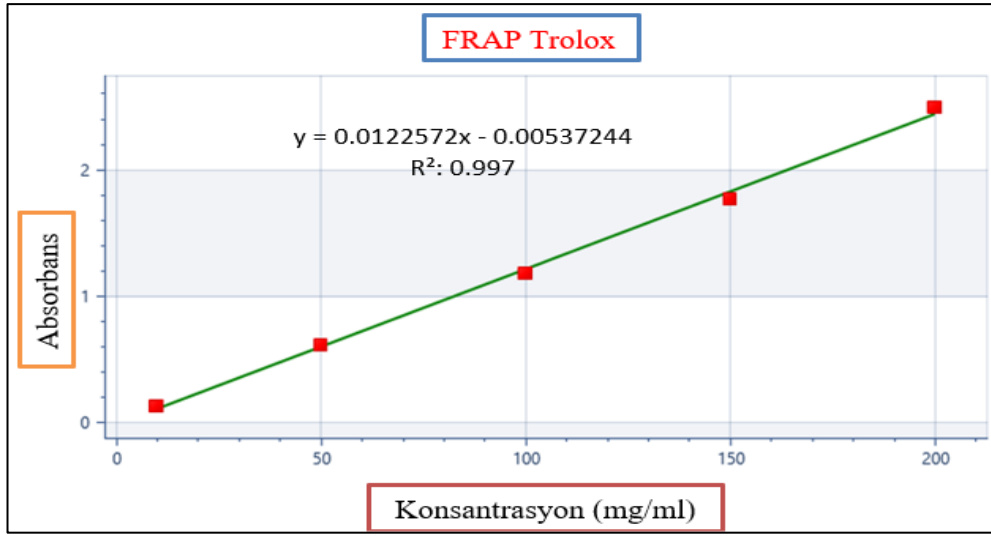
- 100 mL'lik bir beherde 0,54 g FeCl₃-6H₂O tartılarak kondu. Bir miktar distile su eklenerek çözüldü. Nihai hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı

FRAP Reaktifinin Hazırlanışı

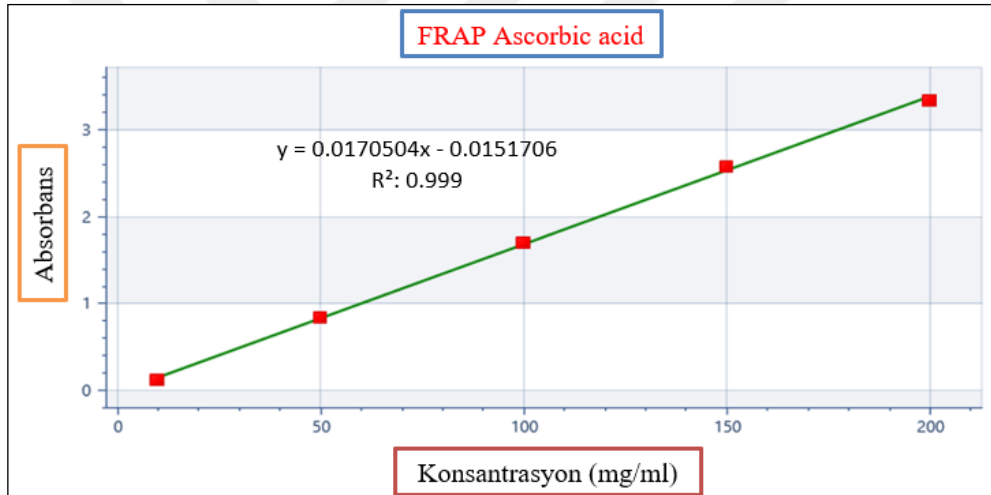
- 1. çözeltiden 25 mL, 2 çözeltiden 2,5 ml ve 3. çözeltiden 2,5 ml karıştırılarak (10:1:1 oranında) FRAP çalışma reaktifi hazırlandı.
- Bu karışım 37°C'de 30 dakika boyunca inkübe edildi. Karanlıkta çalışılınca kadar saklandı. Tüm çözeltiler çalışmadan hemen önce taze olarak hazırlandı.

Deneyin Yapılışı :

96 plakalı mikropalakaya ekstrakt, standartlar ve kör çözeltilerinden herbiri kendi ile ilgili kuyucuğa 25 µL hacimde pipetlendi. Üzerlerine sonra FRAP reaktifi 250 µL eklenecektir. Final hacim 300 µL'ye tamamlandı. Karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 593 nm'de bir mikropalaka okuyucuda absorbans okundu. Sonuçlar standart grafiklerine şekil 16 ve şekil 17 göre değerlendirildi, troloks eşdeğeri (TAEC) ve askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak ifade edildi.



Şekil 16. FRAP Trolox Standart grafiği.



Şekil 17. FRAP Askorbik asit Standart Grafiği

2.2.3.3. ABTS radikal temizleme kapasitesi

Bu yöntem Silva vd. (2007)'nin 96 kuyulu mikroplakalar için uyarladığı yönteminden modifiye edilerek gerçekleştirildi.

Reaktifler

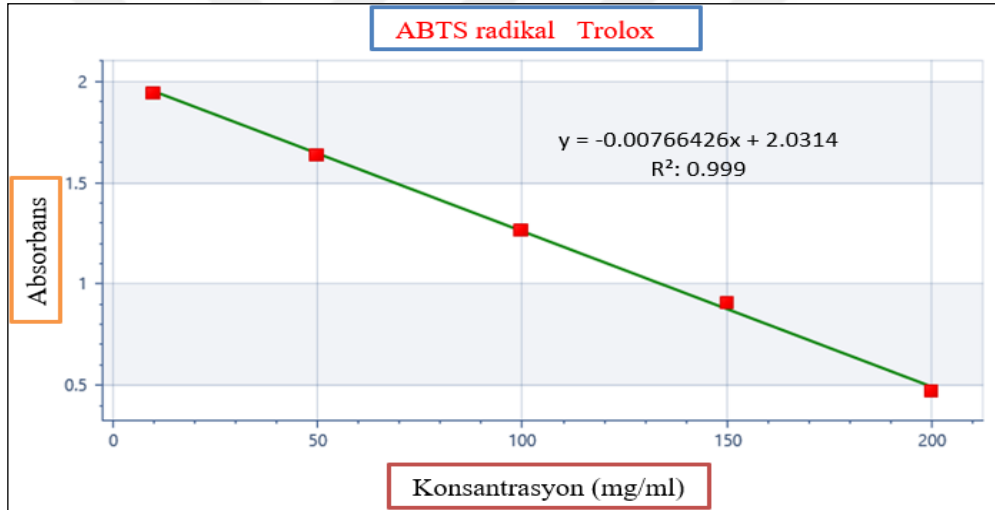
- 7 mM ABTS [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)] çözeltisi:
- Potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) Çözeltisi : 2.45 mM potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) 6.6 mg potasyum persülfat 10 ml distile suda çözülerek hazırlandı.
- $ABTS^{\bullet+}$ radikal çözümleri : ABTS radikal çözeltisini hazırlamak için ABTS stok çözeltileri ve potasyum persülfat eşit miktarlarda karıştırılır. Bu karışım 12-14 saat

karanlıkta oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır. Elde edilen ABTS radikal çözümü 734 nm'de $0,706 \pm 0,001$ absorbans değerine kadar seyreltilir.

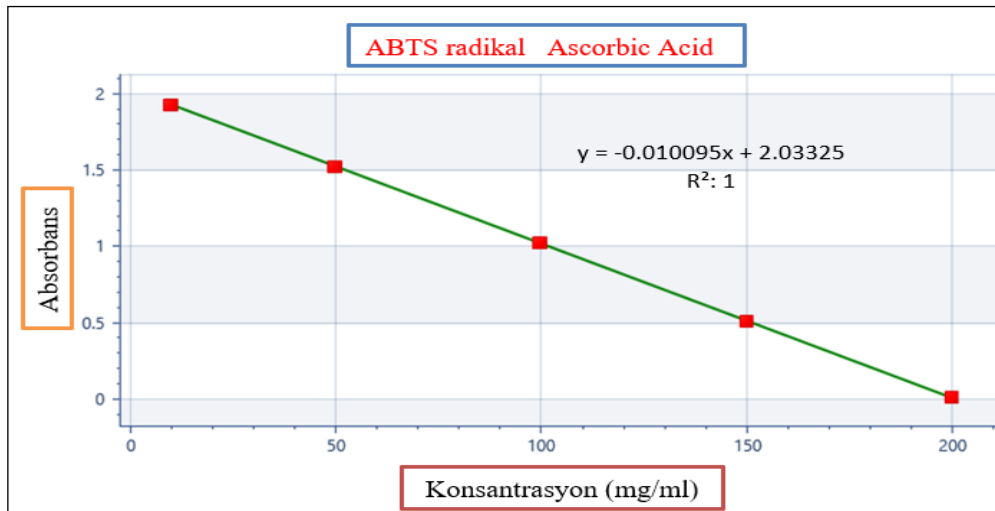
- Standart olarak 5 farklı konsantrasyonda (10, 50, 100, 150 ve 200 µg/ml) troloks ve askorbik asit standartı hazırlandı ve standart grafiği için kullanıldı.

- Deneyin Yapılışı

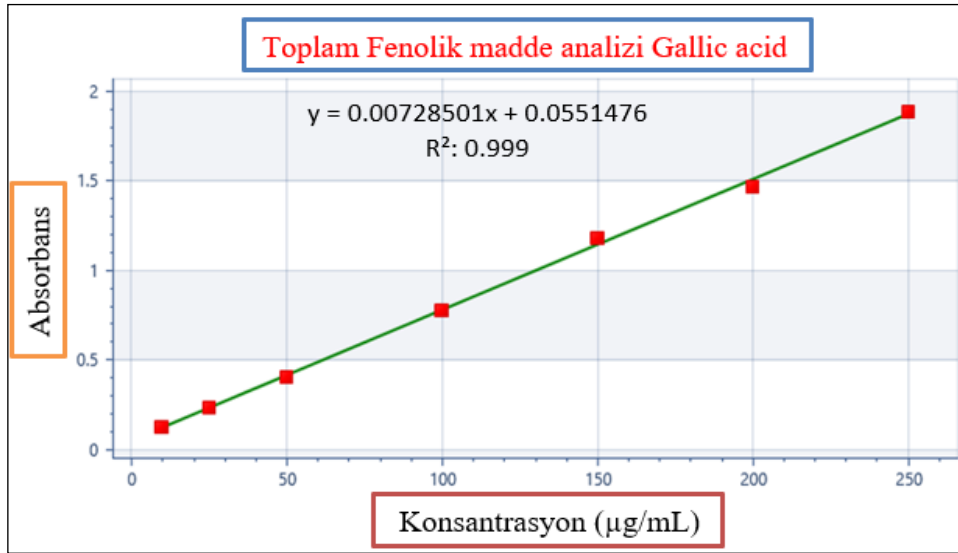
25 µl Ekstrakt, standart ve kör ekli her biri 96 kuyucuklu mikropılaka üzerinde kendine ait kuyucuğa pipetlendi. Kör grubunda 25 µl distile su ve çözücü kullanılır. Ardından her bir kuyucuğa 275 µl ABTS radikal çözeltisi eklendi. Oda sıcaklığında 5-6 dakika bekletildi. Bu süre zarfında antioksidanlar ABTS radikalini indirgeyerek renksiz hale getirir. İnkübasyon süresi sonunda mikropıleyt 734 nm dalga boyunda bir mikropılaka okuyucuda spektrofotometrik olarak okundu. ABTS radikal giderme aktivitesi standart grafikleri şekil 18 ve şekil 19 kullanılarak hesaplandı (Kahraman, S. 2009).



Şekil 18. ABTS Radikal Trolox Standart grafiği.



Şekil 19. ABTS Radikal Askorbik Asit Standart grafiği.



Şekil 20. Toplam fenolik madde analizi Kalibrasyon eğrisi grafiği.

2.2.3.5. Toplan Flavonoid İçeriğın (TFC) Belirlenmesi

Toplam Flavonoid tayini Kamış vd. (2022)'nin, Beara ve arkadaşlarının aliminyum klorür kolorimetrik yönteminden 96 kuyucuklu mikroplakaya uyarladıkları metoda göre yapıldı.

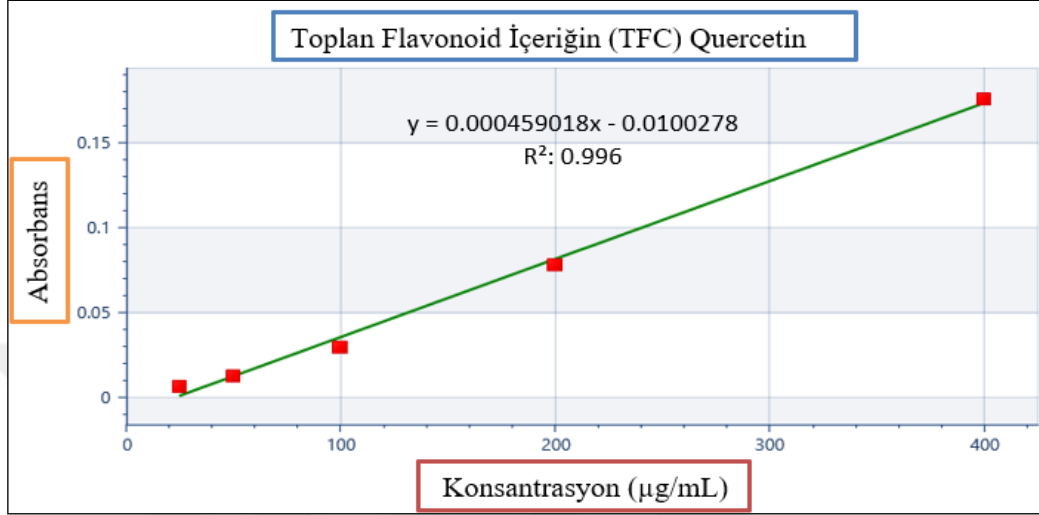
Reaktifler

- %10'luk Alüminyum klorür çözeltisinin hazırlanması : 1 gram alüminyum klorür tartılarak bir beherglas içinde distile su 10 mL'ye tamamlandı. Bir balon jöjeye alınarak karanlıkta işlem yapana kadar saklandı.
- 0,5 M Sodyum nitrit (NaNO_2) çözeltisinin hazırlanması: 1,725 g NaNO_2 bir miktar saf suda çözüldü ardından distile su ile 50 mL'ye tamamlandı
- Sodyum hidroksit çözeltisinin hazırlanması :4 g NaOH saf suda çözüldü ve 100 distile su ile 100 ml'lik bir çözelti hazırlandı. Ortam pH'ını yükseltir ve renk oluşumu tamamlanır.
- Kuersetin 5 farklı konsantrasyonda (25, 50, 100, 200 ve 400 $\mu\text{g/mL}$) seri dilüsyonlar halinde hazırlanmıştır. Elde edilen standart grafiği ile toplam flavonoid miktarının kuersetin eşdeğerinde ifade edilmesinde kullanılmıştır.

Deneyin Yapılışı :

50 μL ekstrakt, standart ve kör kendilerine ait mikrokuyucuklara pipetlendi. Üzerlerine 170 μL metanol eklendi. Her kuyucuğa 15 μl (0,5 M) NaNO_2 çözeltisi eklendi ve 5 dakika inkübe edildi. Ardından, her bir kuyucuğa 15 μl (0,3 M) AlCl_3 çözeltisi eklendi ve yine 5 dakika bekletildi. Son olarak, her bir kuyucuğa 100 μL (1 M) NaOH çözeltisinden

pipetlendi. Final hacminde 250 µL'ye tamamlanmıştır. mikrolaka 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır. Bu süre içinde sarı bir renk oluşur. İnkübasyondan sonra, mikropleyetteki örneklerin 506 nm dalgaboyunda bir mikrolaka okuyucuda absorbansları okundu. Kuersetin Standart grafiği Şekil 21 kullanılarak toplam fenolik madde miktarı hesaplandı.



Şekil 21. Toplan Flavonoid İçeriğinin (TFC) Kuersetin Standart Grafiği.

2.2.4. Antimikrobiyal Aktivitenin Tespiti

2.2.4.1 Kuyucuk Difüzyon Metodu ile antimikrobiyal Aktivite Analizi

Kuşburnu ekstraktlarının antimikrobiyal etkinlikleri CLSI'ye (2007) göre bazı uyarlamalarla birlikte kuyu difüzyon yöntemiyle belirlendi. Gram pozitif bakteriler olarak *Staphylococcus aureus* ATCC (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu) 25923, *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Enterococcus faecium* ATCC 51559 ; gram negatif bakteriler olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Salmonella spp.* ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 ve maya- küf olarak *Candida albicans* ATCC 18804 test organizmaları olarak kullanıldı.

Mikroorganizmaların taze kültürleri hazırlandı ve steril saf suda çözülerek McFarland densitometresi cihazında 0.5 McFarland bulanıklığına (1.5×10^8 mikroorganizma/ml) göre seyreltildi. Mikroorganizmalar eküvyon yardımıyla Müller-Hinton Agarlı petri kaplarına inoküle edildi. Test mikroorganizması uygulanmış petrilerin üzerine kuyular açıldı ve kuyulara 50 µl ekstre solüsyonları pipetlendi. Petriler 2 saat 4°C'de bekletilerek ekstrelerin agara difüzyonu sağlandı. Pozitif kontrol olarak kloramfenikol; negatif kontrol olarak DMSO kullanıldı. Etüvde bakteriler için 37 °C'de 24

saat, maya için 28 °C’de 48 saat inkübasyon sonrasında kuyuların çevresinde oluşan inhibisyon zon çapları dijital kumpasla ölçüldü.

2.2.4.2. Ekstraktlarda Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MIC) Belirlenmesi

Ekstraktların MIC (minimum inhibitör konsantrasyon) değerleri analizi CLSI (2007) kılavuzuna göre bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirildi. Yöntemde Broth dilüsyon metodu kapaklı ve steril 96-kuyucuklu mikro plakalara uygulandı. Besiyeri olarak Mueller Hinton Broth agar kullanıldı. Diğer kuyucuklardan farklı olarak ilk kuyucuklara iki kat konsantrasyonda hazırlanan besiyerinden, diğerlerine ise standart konsantrasyonda hazırlanan besiyerinden 100 µl enjekte edildi. Kuşburnu ekstraktlarından 100’er µl ilk kuyucuklara pipetlendi. İki kat seri seyreltme ile 10 farklı konsantrasyon elde edildi. Aynı şekilde başlangıç konsantrasyonu 256 µg/ml olacak şekilde kloramfenikol kullanıldı. Standart mikroorganizmaların 10 µl süspansiyonları (0.5 McFarland bulanıklığında) mikrolakalara inoküle edildi. Pozitif kontrol olarak organizmalar ve besiyeri, negatif kontrol olarak ekstraktlar ve besiyeri kullanılacak. Etüvde bakteriler için 37 °C’de 24 saat boyunca, maya için 28 °C’de 48 saat boyunca inkübasyondan sonra mikroorganizmaların büyümesi mikrolaka okuyucu kullanılarak gözlendi. Kuşburnu ekstraktları ve seçilen antibiyotiklerin, mikroorganizmaların büyümesini engelleyen en düşük konsantrasyonları MIC değerleri olarak µg/mL şeklinde verildi.

2.2.5. Asetilkolinesteraz ve Bütilkolinesteraz Enzim İnhibisyon Tayini

Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütilkolinesteraz (BChE) enzimlerinin aktivitesi spektrofotometrik olarak Ellman yöntemine göre belirlendi. Bu yöntemde, substrat olarak oksii-ester olan asetilkolin yerine tiyol ester olan asetil tiyokolin kullanılır. Ellman metodunun prensibi asetil tiyokolin, asetilkolin esterase tarafından hidroliz edilmesine ve hidroliz sonucu açığa çıkan tiyokolinin, Ellman reaktifi olarak da bilinen DTNB [5,5’-ditiyo-bis-(2-nitrobenzoik asit)] ile reaksiyona girmesi ve reaksiyon sonucunda sarı renkli kromofor TNB (5-tiyo-2-nitrobenzoik asit) oluşumuna dayanır. Reaksiyon sonunda oluşan bu sarı renkli bileşiğin oluşum hızı (rengin şiddeti), 412 nm de absorban ölçümü yapılarak belirlenir (Ellman vd., 1961).

Deneyin Yapılışı:

AChE için substrat : Asetiltiyokolin iyodat

BChE için substrat : *Bütililtiyokolin iyodat*

DTNB [5,5’-ditiyo-bis-(2-nitrobenzoik asit)]:

Çözeltiler (AChE için) :

1. Tris-HCl Tamponu: (1 M'lık, pH 8): 30,27 g Tris ile 0,370 g EDTA tartılıp 200 mL saf suda çözüldü. pH'sı 8.0'a getirildikten sonra hacmi distile su ile 250 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

2. Asetiltiyokolin iyodat Çözeltisi: (10 mM'lık): Alüminyum folyo ile kaplanmış behere 0,145 g Asetiltiyokolin iyodat alındı ve 50 mL distile suda çözüldü.

3. DTNB Çözeltisi: (10 mM'lık): Alüminyum folyo ile kaplanmış behere 0,01 g DTNB ile 0,5 g sodyum sitrat tartıldı ve 50 mL destile suda çözülerek hazırlandı.

Çözeltiler (BChE için)

1.Fosfat Tamponu: (50 mM'lık, pH 8): 1.7745 gram Na_2HPO_4 tartılıp çözülür pH: 8'e ayarlandıktan sonra toplam hacim 250 ml ye tamamlandı

2. DTNB Çözeltisi:(10 mM'lık): 0,01 g DTNB ile 0,5 g sodyum sitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$) tartıldı ve 50 mL destile suda çözülerek hazırlandı.

3. Bütiriltiyokolin iyodat Çözeltisi:(0,5 mM'lık): Alüminyum folyo ile kaplanmış behere 80 mg Bütiriltiyokolin iyodat alındı ve 50 mL distile suda çözülerek hazırlandı.

Enzim İnhibisyon için pipetleme;

100 μL Tris tamponu(PH=8),

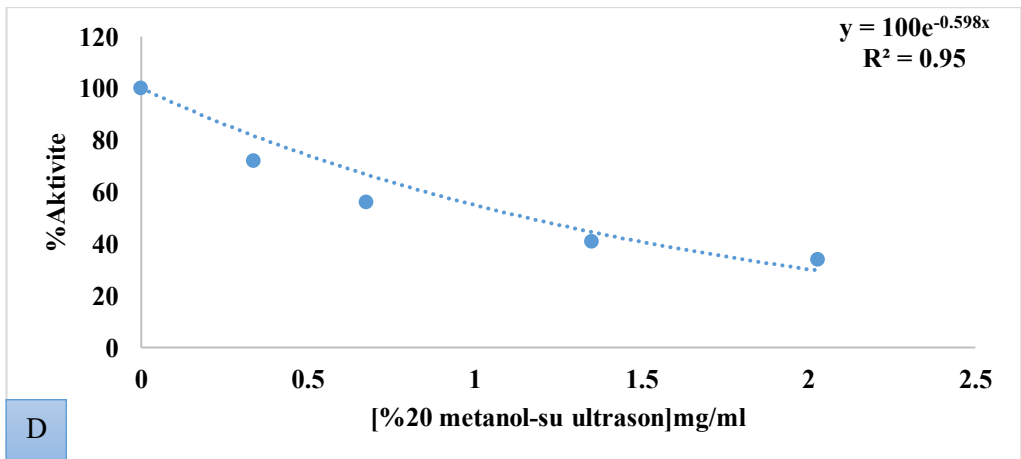
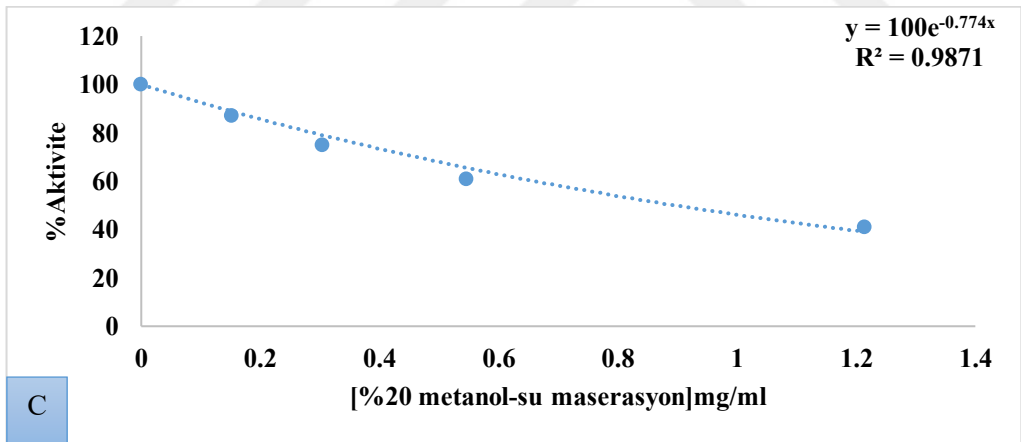
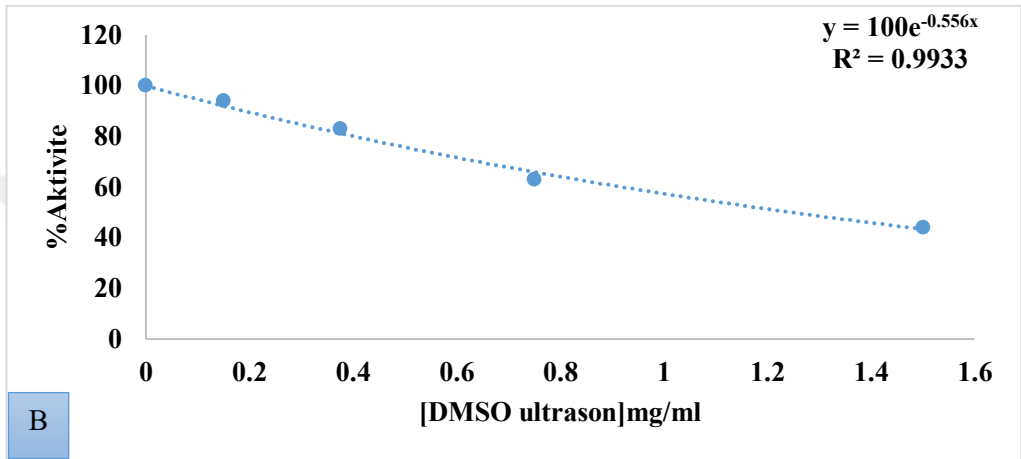
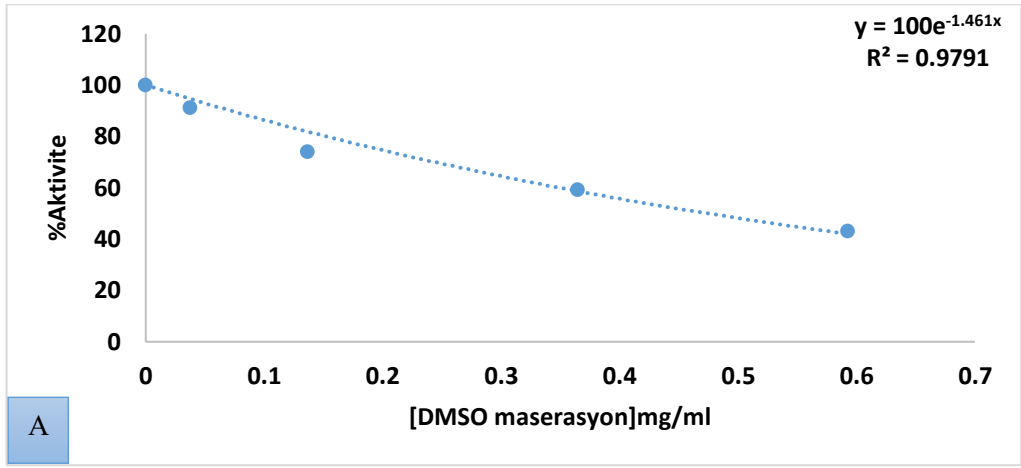
680 μL saf su,

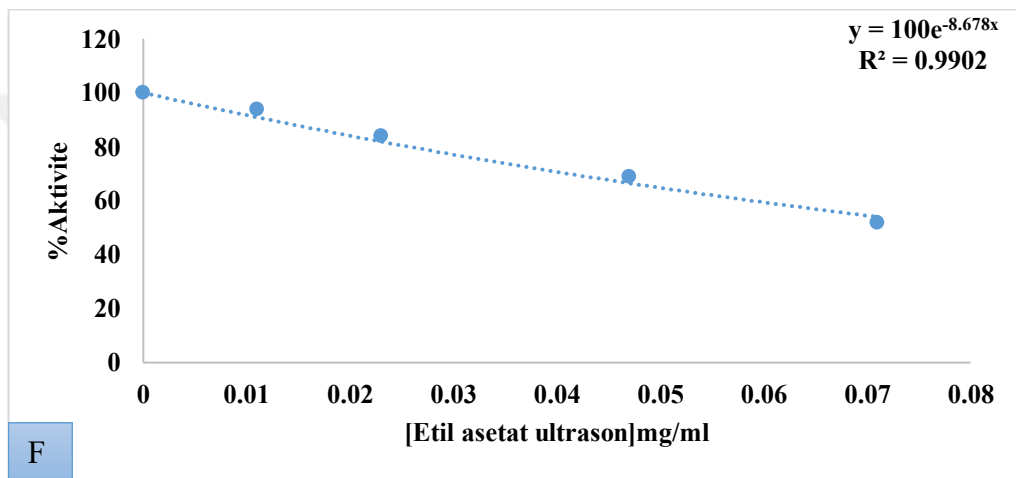
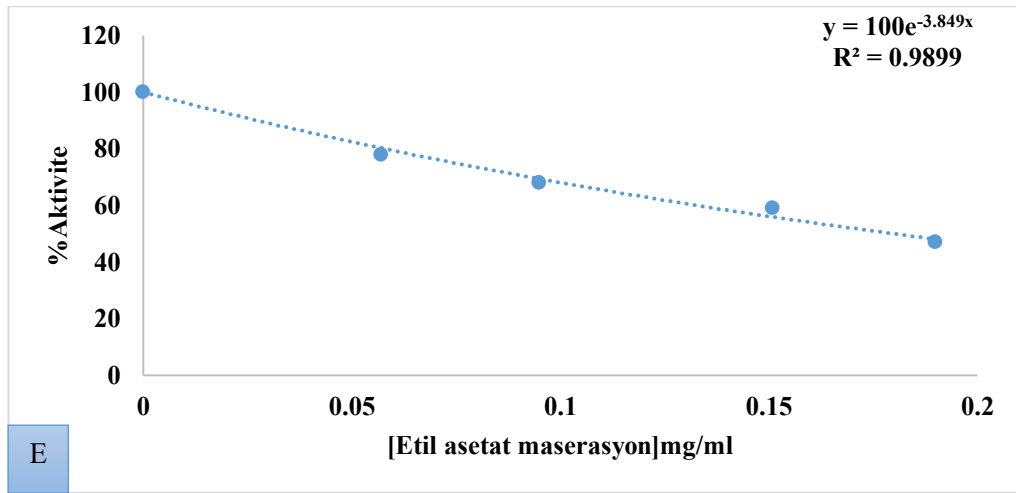
50 μL DTNB,

20 mikrolitre enzim

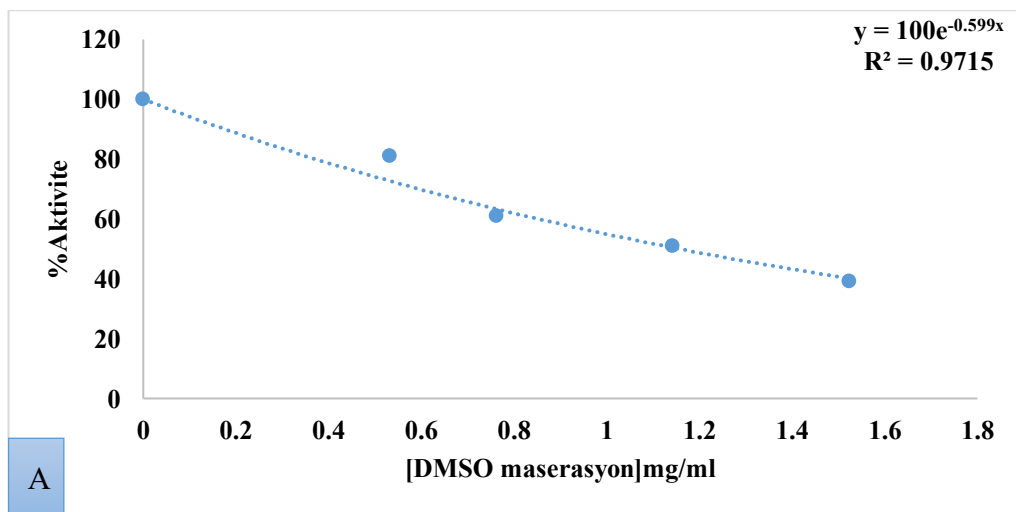
100 μL numune(kuşburnu ekstratları) eklendi Aynı işlem sonra 200, 300, 400, 500 μL miktarlar için gerçekleştirildi.), 412 nm de absorbans ölçümü yapıldı.

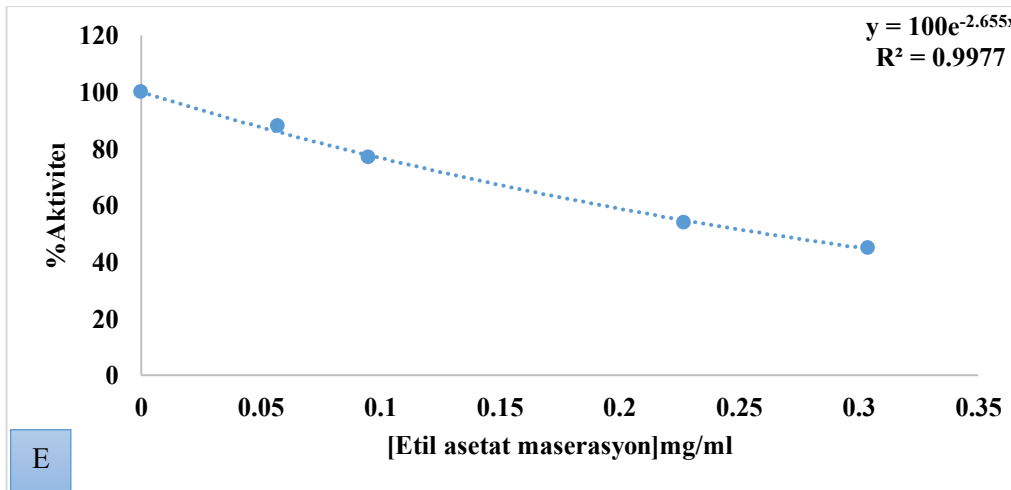
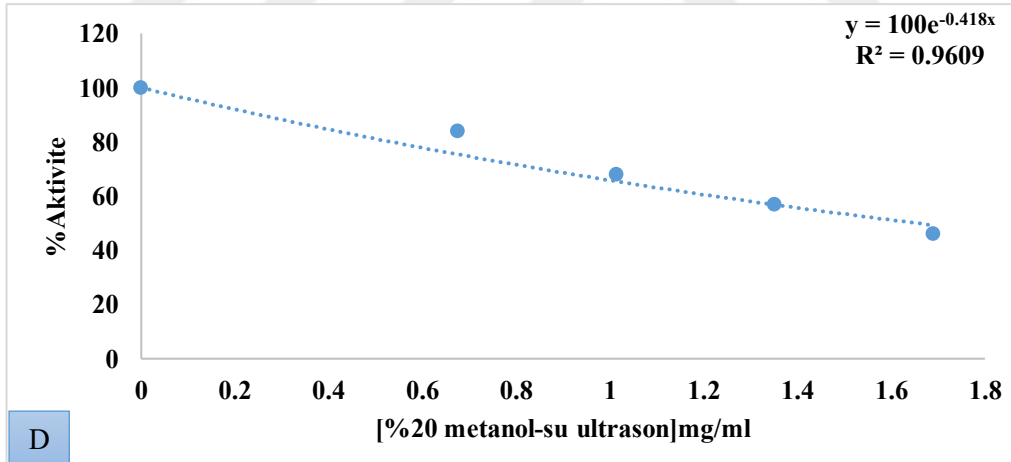
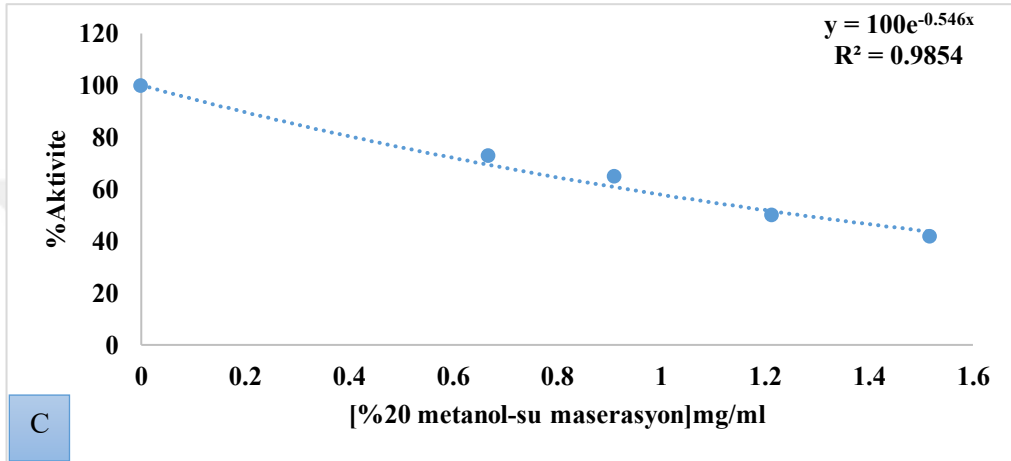
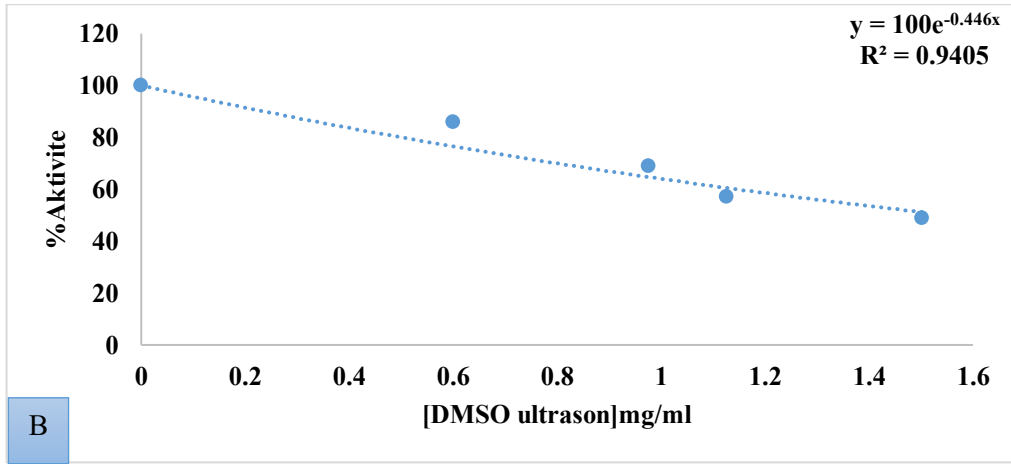
Kullanılan örnekler için farklı inhibitör konsantrasyonlarında aktiviteleri ölçülerek % aktivite olarak grafikleri çizilip, eğrinin denkleminde IC_{50} değerleri hesaplandı (Lineweaver ve Burk, 1934). AChE ve BChE enzim standart grafikleri şekil 22 ve şekil 23'de gösterilmiştir.

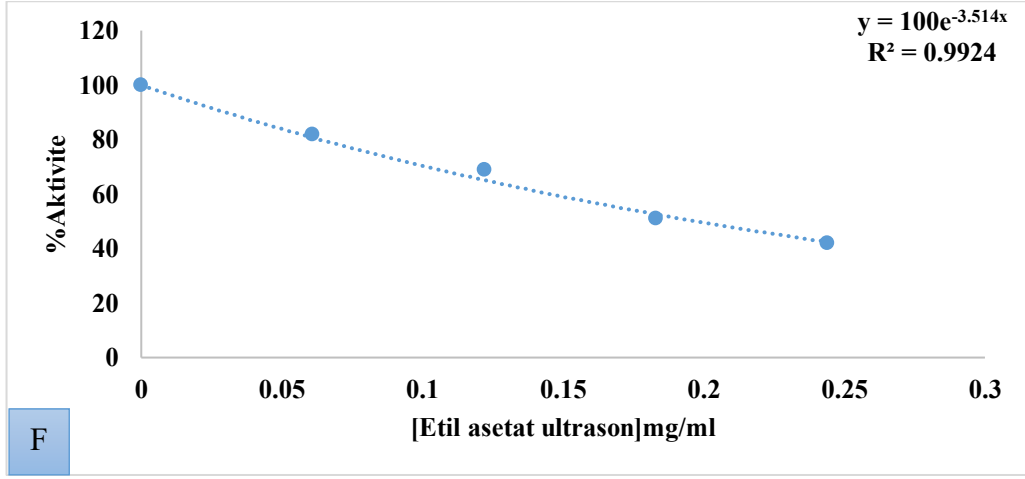




Şekil 22. AChE enziminin; **A:** DMSO Maserasyon standart grafiği; **B:** DMSO -Ultrasonik Destekli (UDE) Ekstraksiyon standart grafiği; **C:** Metanol-su (20:80) Masrasyon standart grafiği; **D:** Metano-su (20:80)-Ultrasonik Destekli (UDE) Ekstraksiyon standart grafiği; **E:** Etil Asetat Maserasyon standart grafiği ; **F:** Etil Asetat-Ultrasonik Destekli (UDE) standart grafiği.







Şekil 23. AChE enziminin; **A:** DMSO Maserasyon standart grafiği; **B:** DMSO -Ultrasonik Destekli (UDE) Ekstraksiyon standart grafiği; **C:** Metanol-su (20:80) Maserasyon standart grafiği; **D:** Metano-su (20:80)-Ultrasonik Destekli (UDE) Ekstraksiyon standart grafiği; **E:** Etil Asetat Maserasyon standart grafiği ; **F:** Etil Asetat-Ultrasonik Destekli (UDE) standart grafiği.

2.2.3. İstatistik

Ekstraktları birbirleriyle karşılaştırmak için ANOVA ve Duncan testleri uygulanmıştır. ANOVA, Varyans Analizi, XLSTAT (Addinsoft, 2024, XLSTAT istatistiksel ve veri analizi çözümü, New York, ABD) yardımıyla Microsoft Excel kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Toplam Fenolik İçerik (TPC) ve Flavonoid İçerik (TFC) Analiz Sonuçları

Toplam TPC ve TFC içerik analizlerine dair veriler tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. Toplam Fenolik (TPC) ve Toplam Flavonoid (TFC) Madde İçeriği

Ekstrakt	TPC mg GAE/g	TFC mg QE/g
DMM	41.08 ^b ± 1.39	200.04 ^e ± 1.72
DMU	51.09 ^c ± 2.80	271.80 ^f ± 5.69
EAM	26.73 ^a ± 1.43	143.71 ^a ± 5.01
EAU	40.44 ^b ± 2.19	220.90 ^c ± 6.89
MSM	45.51 ^b ± 2.53	237.04 ^d ± 2.24
MSU	45.51 ^b ± 2.39	256.60 ^e ± 4.90

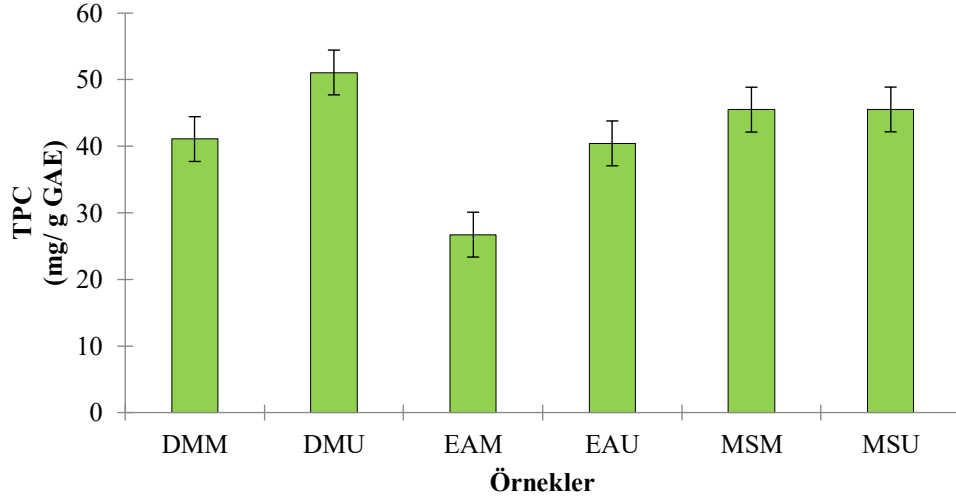
DMM: Dimetil sülfoksit-maserasyon; **DMU:** Dimetil sülfoksit- ultrasonikasyon; **EAM:** Etil asetat-maserasyon; **EAU:** Etil asetat-ultrasonikasyon; **MSM:**Metanol-su (20:80)-maserasyon; **MSU:** Metanol-su(20:80)-ultrasonikasyon. Aynı sütundaki farklı harfler (a-f) anlamlı derecede farklıdır (P < 0.05).

Tablo 9 ‘de görüldüğü üzere DMU en yüksek TPC içeriğine sahipti (51.09 mg GAE/g). Bunu MSM (45.51 mg GAE/g) MSU (45.51mg GAE/g) ekstraktları izlemekteydi. En düşük TPC içerik değeri EAM (26.73 mg GAE/g) ekstraktında gözlemlendi. Bununla birlikte EAU ekstraktının TPC içeriği (40.44 mg GAE/g) EAM’a göre anlamlı derecede daha yüksekti (p < 0.05). EAM örneği MSU, MSM, DMM ve EAU ile yapılan karşılaştırmalarda da anlamlı düzeyde daha düşük TPC değerlerine sahipti (p<0.0001). DMM, EAU, MSM ve MSU arasında anlamlı bir fark görülmedi (p>0.05).

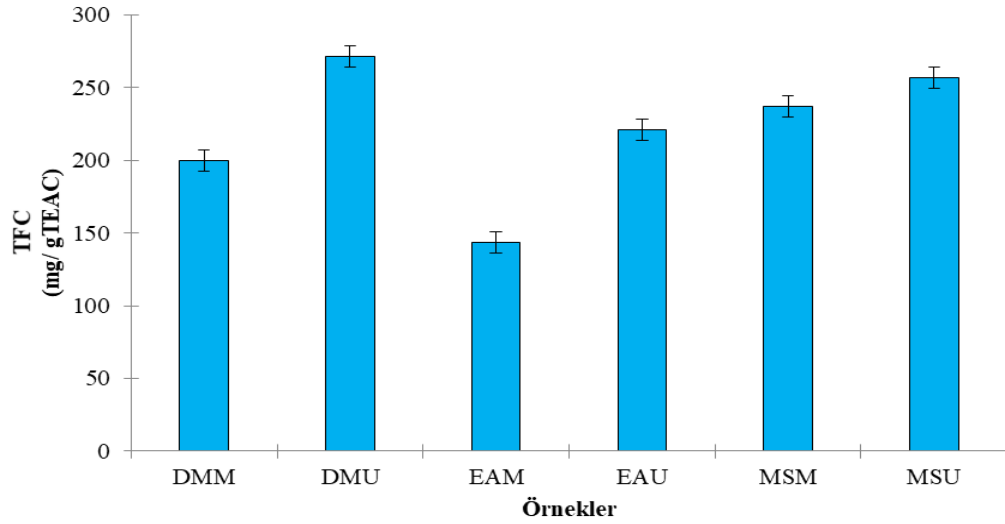
Örneklerin toplam flavonoid içeriği (TFC, mg/g TEAC) bakımından istatistiksel olarak birbirinden anlamlı düzeyde farklılık gösterdiğini görülmektedir. En yüksek TFC değerini ise yine DMU göstermekteydi (271.80 mg QE/g). DMU değerini sırası ile MSM (237.04 mg QE /g), MSU (256.60 mg QE /g) DMM (200.04 mg QE /g) ekstraktlarına ait değerler takip etmekteydi. TFC'nin en düşük değerinin 143.71mg QE /g ile EAM ekstraktında olduğu tespit edildi. DMU, MSU, MSM, EAU ve DMM örnekleriyle yapılan tüm karşılaştırmalarda anlamlı farklar elde edilmiştir (p<0.0001).

Ultrasonik etkinin MSM ve MSU hariç diğer tüm ekstraktlarda TPC ve TFC değerlerini yükselttiği tespit edildi. DMU'nun en yüksek TPC ve TFC değerlerine sahip bileşen olduğunu, bunun da ultrasonik ekstraksiyon işleminin bir sonucu olduğunu ve ultrasondan

en çok etkilendiğini kanaatine varıldı. DMU'nun aksine, EAM her iki yöntem için de en düşük TPC ve TFC değerlerini almıştır. TPC ve TFC analizlerine ait veriler Şekil 24 ve Şekil 25’de grafiksel olarak gösterildi.



Şekil 24. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözeltilere ait TPC değerleri



Şekil 25. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözeltilere ait TFC değerleri

3.2. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

3.2.1. DPPH Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

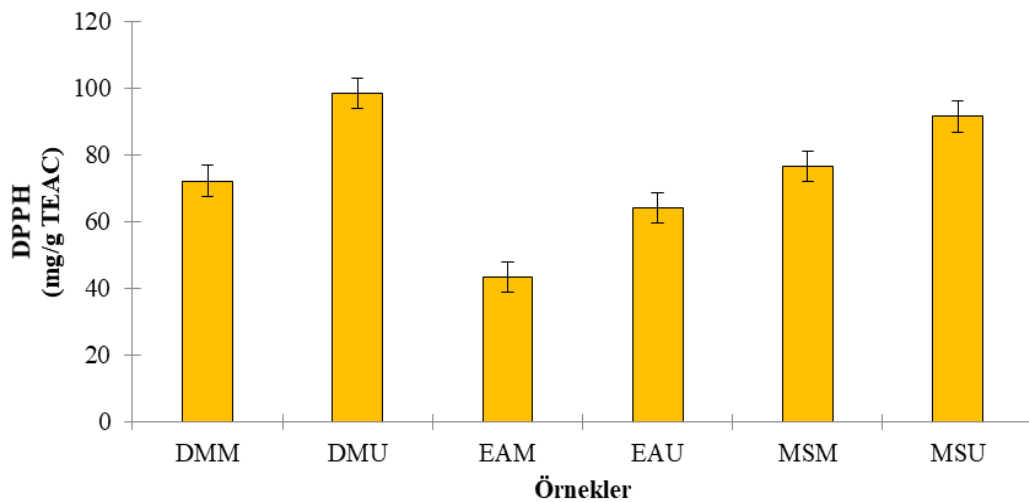
DPPH antioksidan aktivite analiz sonuçları tablo 10 ‘ de verilmiştir.

Tablo 10. DPPH Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

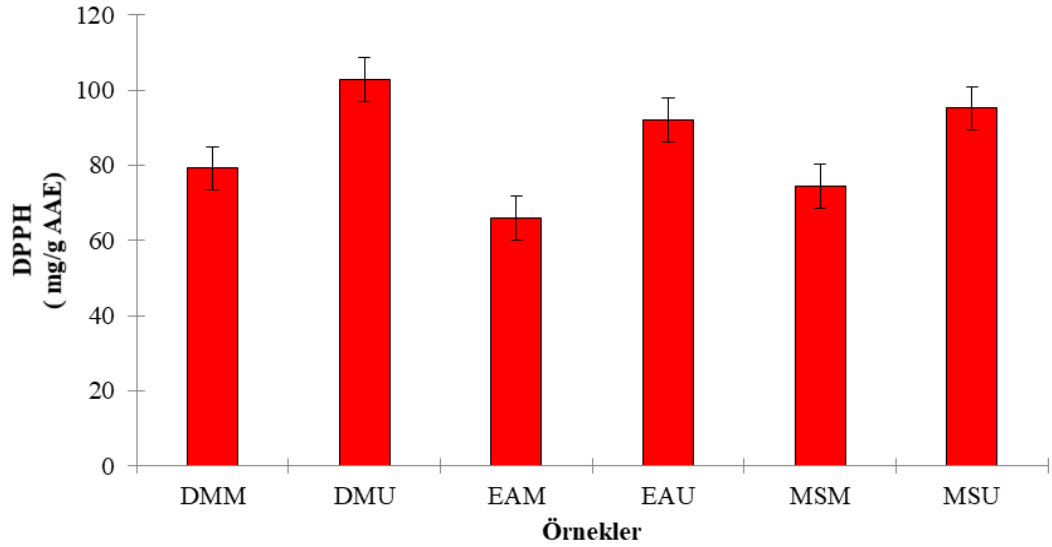
Ektrakt	DPPH mg TEAC/g	DPPH mg AAE/g
DMM	72.19 ^c ±3.34	79.20 ^b ±2.05
DMU	98.43 ^e ± 0.97	102.7 ^e ± 1.19
EAM	43.40 ^a ± 1.69	65.91 ^a ± 3.89
EAU	64.21 ^b ± 4.35	92.16 ^c ± 5.44
MSM	76.60 ^c ± 2.41	74.56 ^b ± 5.22
MSU	91.56 ^d ± 3.74	95.17 ^{cd} ± 2.98

DMM: Dimetil sülfoksit-maserasyon; **DMU:** Dimetil sülfoksit- ultrasonikasyon; **EAM:**Etil asetat-maserasyon; **EAU:** Etil asetat-ultrasonikasyon; **MSM:**Metanol-su(20:80)-maserasyon; **MSU:** Metanol-su(20:80)-ultrasonikasyon. Aynı sütundaki farklı harfler (a-f) anlamlı derecede farklıdır (P < 0.05).

Tablo 10'de görüldüğü üzere, DMU, DPPH aktivitesi (hem AAE/g hem de TEAC/g) açısından en yüksek değere sahip ekstraktır. Bu değerler sırası ile 102.7 mg AAE/g - 98.43 mg TEAC/g olarak bulundu. DMU tüm diğer ekstraktlardan anlamlı derecede yüksekti (p<0.05). Ayrıca, en düşük DPPH aktivitesine sahip ekstrakt EAM olup bu değerler sırası ile 43,40 mg TEAC/g ve 65,91 mg AAE/g olarak tespit edildi. Ultrasonik destekli ekstraktların DPPH değerlerinin tüm örnekler için daha yüksek olduğu görüldü. Ekstraktların DPPH değerlerinin grafik gösterimi şekil 26 ve şekil 27 de verilmiştir.



Şekil 26. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözücülerine ait DPPH (TEAC) değerleri MSU, TEAC ve AAE cinsinden DMU dan sonra en yüksek DPPH değerleri göstermekteydi (Sırası ile 91.56 mgTEAC/g ve 95.17 mg AAE/g).



Şekil 27. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözeltilerine ait DPPH (AAE) değerleri

3.2.2. ABTS Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

DPPH antioksidan aktivite analiz sonuçları tablo 11 'de verilmiştir.

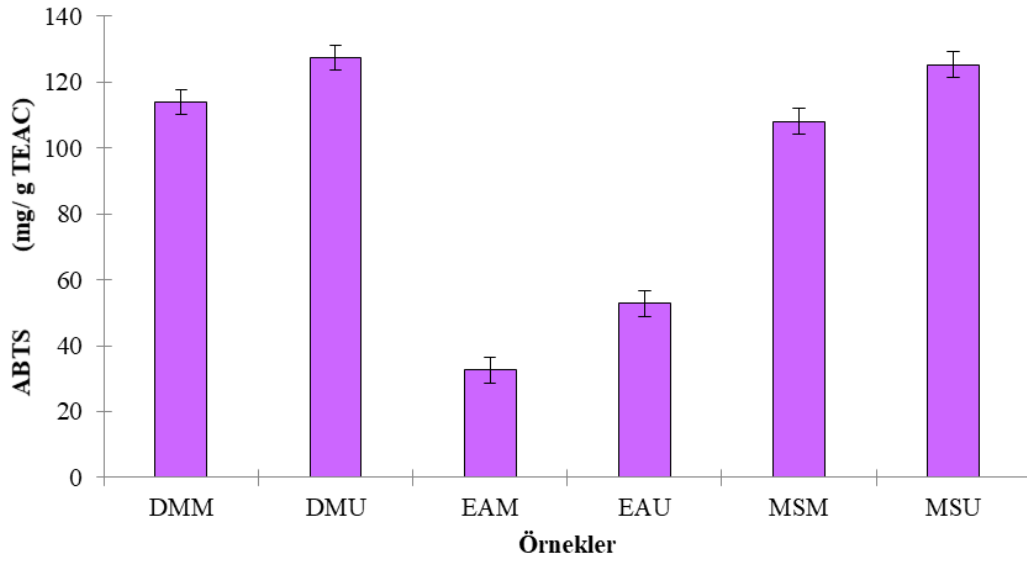
Tablo 11. ABTS Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

Ekstrakt	ABTS mg TEAC/g	ABTS mg AAE/g
DMM	113.90 ^d ±0.65	86.72 ^d ±0.50
DMU	127.4 ^e ±1.32	98.06 ^e ±2.50
EAM	32.55 ^a ±1.65	24.95 ^a ±1.25
EAU	52.86 ^b ±2.74	40.51 ^b ±2.08
MSM	108.08 ^c ±1.94	78.39 ^c ±1.47
MSU	125.35 ^e ±4.67	87.97 ^d ±1.99

DMM: Dimetil sülfoksit-maserasyon; **DMU:** Dimetil sülfoksit-ultrasonikasyon; **EAM:**Etil asetat-maserasyon; **EAU:** Etil asetat-ultrasonikasyon; **MSM:**Metanol-su(20:80)-maserasyon; **MSU:** Metanol-su(20:80)-ultrasonikasyon. Aynı sütundaki farklı harfler (a-e) anlamlı derecede farklıdır (P < 0.05).

Tablo 11 'de görüldüğü üzere DMU ve MSU hem TEAC hem de AAE cinsinden en yüksek değerlere (DMU için 127,4 mg TEAC/g - 98,06 mg AAE/g, MSU için 125.35 mg/g TEAC, 87.97 mg/g AAE) sahiptiler. DMU, MSM ve DMM örneklerinden anlamlı düzeyde daha yüksek değerlere sahipti (mg/g TEAC; p<0.0001). MSU ise, MSM ve DMM'ye göre daha yüksek değerlere sahipti (mg/g TEACcinsinden sırası ile p < 0.0001 ve p = 0.001). MSU ile DMU arasında ise mg/g TEAC cinsinden istatistiksel olarak anlamlı

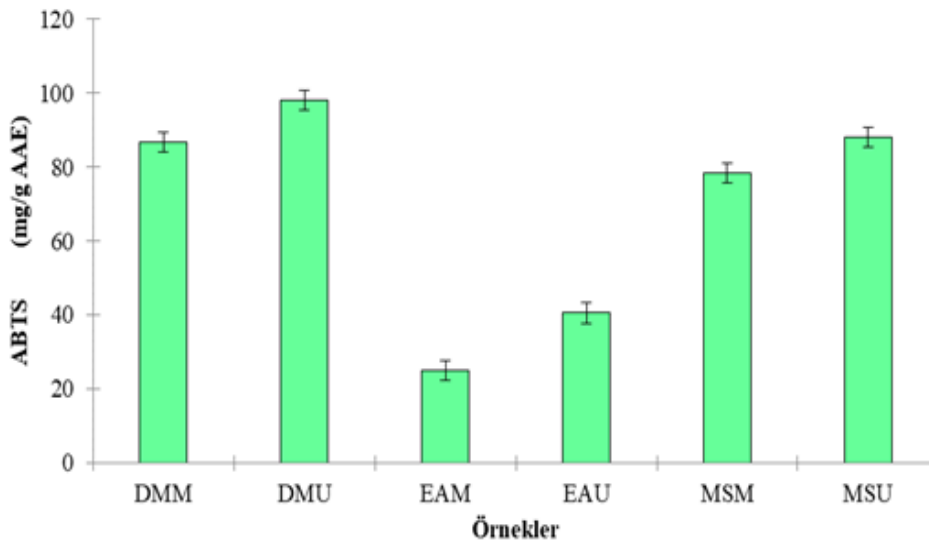
bulunmamıştır ($p = 0.423$). Ekstraktların TEAC cinsinden ABTS radikal süpürme kapasitesi sonuçları şekil 28’de verilmiştir.



Şekil 28. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözücülere ait ABTS (TEAC) değerleri

Kendi sınıflarında ultrasonik destekli ekstraktların (UDE) yine maserasyon yöntemine göre daha etkili ABTS değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Bununla beraber mg AAE/g cinsinden DMU’dan sonra en yüksek ABTS değerine sahip olan MSU ile DMM arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($P=0.492$). EAM en düşük değerlere sahip olup diğer tüm ekstraktlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıydı. Bu verilere göre ABTS radikal süpürme kapasitesi şu şekil 27 ‘de sıralanabilir:

DMU > MSU $\approx$ DMM > MSM > EAU > EAM (şekil 27).



Şekil

29. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözücülere ait ABTS (AAE) değerleri

3.2.3. FRAP Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

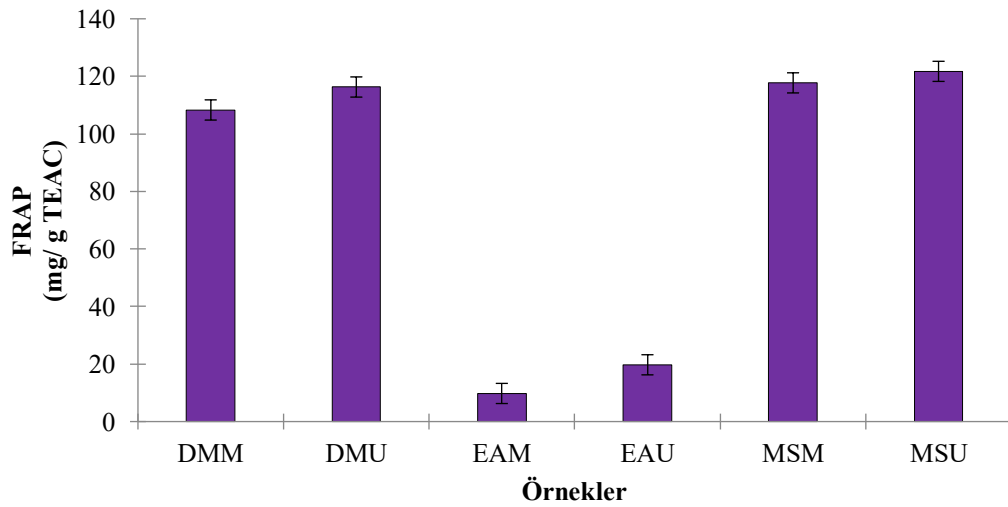
FRAP antioksidan aktivite analiz sonuçları tablo 12' de verilmiştir.

Tablo 12. FRAP Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

Ekstrakt	FRAP mg TEAC/g	FRAP mg AAE/g
DMM	108.3 ^c ± 2.23	78.62 ^d ± 1.60
DMU	116.29 ^d ± 2.59	87.38 ^e ± 2.10
EAM	9.77 ^a ± 0.20	7.54 ^a ± 0.49
EAU	19.73 ^b ± 0.52	15.36 ^b ± 0.37
MSM	117.73 ^{de} ± 0.81	70.30 ^c ± 1.75
MSU	121.73 ^e ± 4.27	81.28 ^e ± 2.31

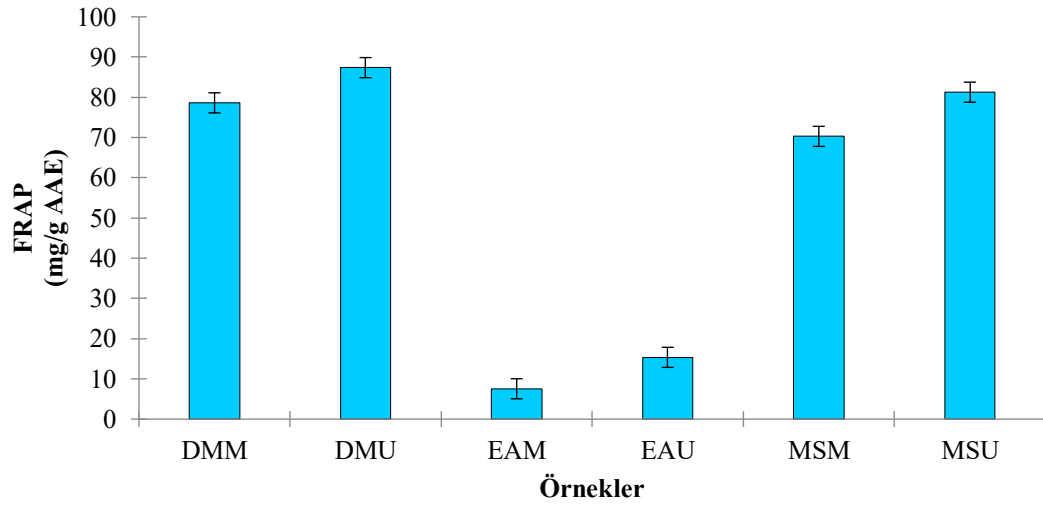
DMM: Dimetil sülfoksit-maserasyon; **DMU:** Dimetil sülfoksit- ultrasonikasyon; **EAM:**Etil asetat-maserasyon; **EAU:** Etil asetat-ultrasonikasyon;**MSM:**Metanol-su(20:80)-maserasyon; **MSU:** Metanol-su(20:80)-ultrasonikasyon. Aynı sütundaki farklı harfler (a-e) anlamlı derecede farklıdır (P < 0.05).

FRAP'ın TEAC cinsinden değerlerinde en yüksek antioksidan gücün MSU (121.74 mg/g) ve DMU (116.29 mg/g) ekstraktlarında olduğu tespit edildi. EAM (9.77 mg/g) ve EAU (19.72 mg/g) örnekleri diğer ekstraktlara göre belirgin şekilde daha düşük değerlere sahipti. FRAP-AAE sonuçları da bu dağılımla örtüşmektedir; DMU (87.38 mg/g) ve MSU (81.28 mg/g) en yüksek değerlere sahipken, EAM (7.57 mg/g) en düşük sonuca sahipti. FRAP (Ferrik Redükleme Antioksidan Gücü) analizlerinin TPC ve TFC ile uyumlu sonuçlar verdikleri görülmektedir. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözücülere ait FRAP (TEAC ve AAE cinsinden) değerleri şekil 30 ve şekil 31 de verilmiştir.



Şekil 30. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözücülere ait FRAP (TEAC) değerleri

EAM'ın hem TEAC hem de AAE cinsinden MSU, MSM, DMU ve DMM ekstraktları ile karşılaştırılmasında değerlerin anlamlı derecede birbirinden farklı olduğu bulundu ($p<0.0001$).



Şekil 31. Farklı ekstraksiyon tekniklerine ve çözücülere ait FRAP (TEAC) değerleri.

3.3. Antimikrobiyal Kuyucuk Difüzyon Analiz Sonuçları

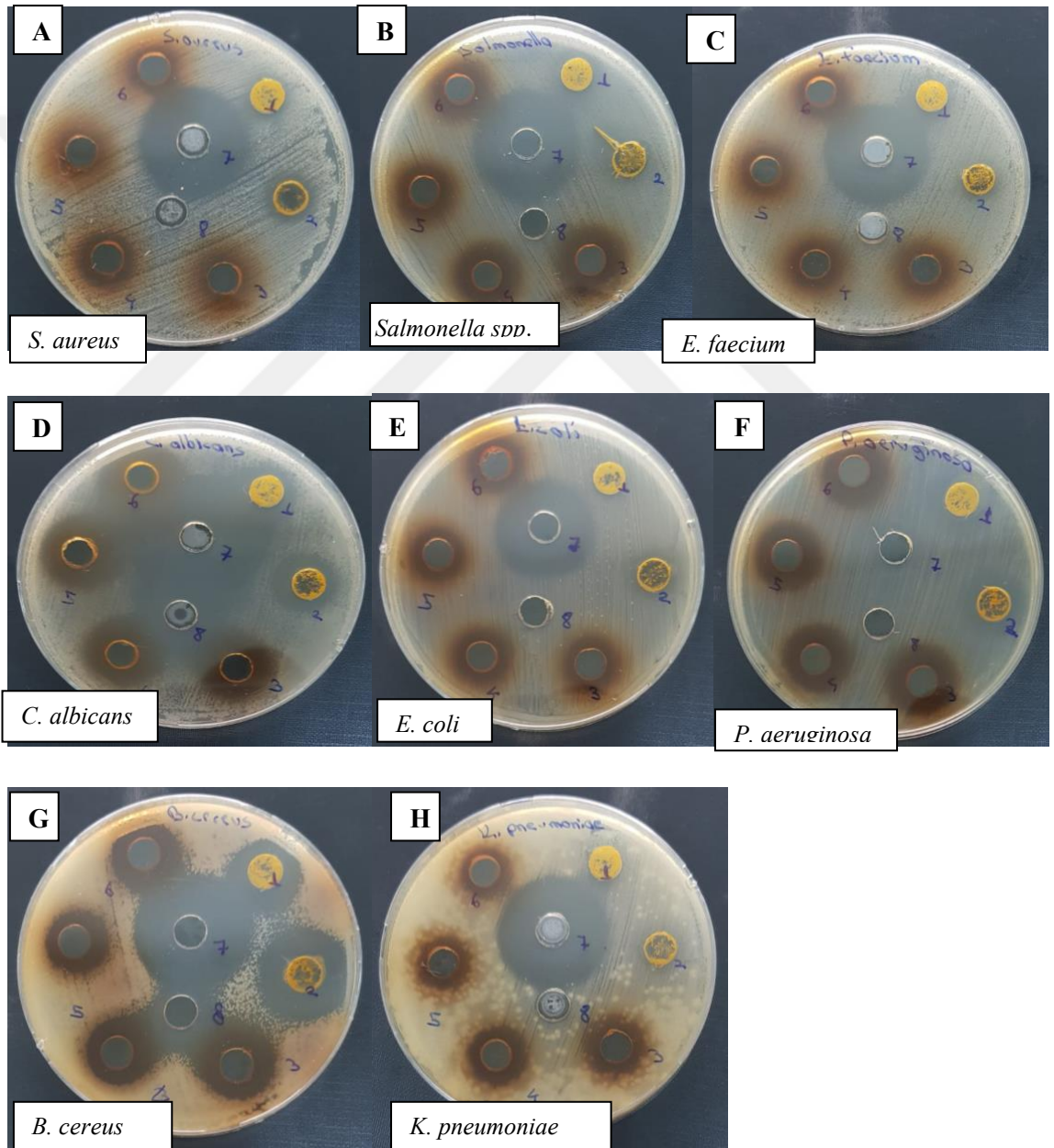
Antimikrobiyal kuyucuk difüzyon analiz sonuçları tablo 13 'de verilmiştir.

Tablo 13. Antimikrobiyal kuyucuk difüzyon analiz sonuçları

Ekst.	Mikroorganizmalar ve Kuyucuk Difüzyon Çapları (mm)							
	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonell spp.</i>	<i>E. faecium</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>K. pneumonia</i>
EAM	T.E.	T.E.	T.E.	13.5	T.E.	T.E.	19.1	T.E.
MSM	11.1	T.E.	T.E.	14.5	10.8	13.9	24.1	T.E.
DMM	13.4	17.3	15	18.3	13.7	19	19.5	12.8
EAU	16.6	18.4	13.1	21.3	15.4	19.4	17.3	15
MSU	11.6	16.1	13.8	19	14.6	18.1	16.7	13.6
DMU	13.1	14.6	14.7	22	16.7	19.8	18.4	14.2
CHL	29.4	29.7	29.7	31.9	27	T.E.	30.3	29.7
DMSO	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.

DMM: Dimetil sülfoksit-maserasyon; **DMU:** Dimetil sülfoksit- ultrasonikasyon; **EAM:**Etil asetat-maserasyon; **EAU:** Etil asetat-ultrasonikasyon; **MSM:**Metanol-su(20:80)-maserasyon; **MSU:** Metanol-su(20:80)-ultrasonikasyon. **CHL:** Kloramfenikol; DMSO negatif kontrol olarak kullanıldı. T.E: Tespit edilemedi. 8.5 mm çapın üzeri antimikrobiyal aktivite olarak pozitif kabul edildi.

Tablo 13'da görüldüğü üzere bütün ekstraktların mikroorganizmaya göre değişmekle beraber antimikrobiyal etkileri görüldü. *C. albicans* ve *B. cereus* tüm ekstraktlar tarafından antimikrobiyal aktivite gösterilen mikroorganizmalar olarak tespit edildi. DMU, *C. albicans*'a karşı en etkili ekstrak olarak belirlendi (22 mm). Bunu EAU ekstraktı izledi (21.3 mm). Yine diğer mikroorganizmalarla karşılaştırıldığında ekstraktların *B. cereus*'a karşı oldukça yüksek etkiye sahip oldukları belirlendi. *B. Cereus* hariç mikroorganizmalara karşı en düşük aktiviteye EAM ekstraktı sahipti. Bu ekstrakt sadece *C. albicans* ve *B. cereus*'a karşı etki göstermekteydi. DMU, MSU, EAU ve DMM tüm mikroorganizmalara karşı etkili idi.



Şekil 32. Ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerine ait disk görüntüleri. A: *S. Aureus*; B: *Salmonella spp.*; C: *E. faecium* D: *C. albicans*. E: *E. coli*, F: *P. aeruginosa* G: *B. cereus*. H : *K. pneumonia*.

3.4. Ekstraktlarda Minimal İnhibitör Konsantrasyonu (MIC) Değerleri

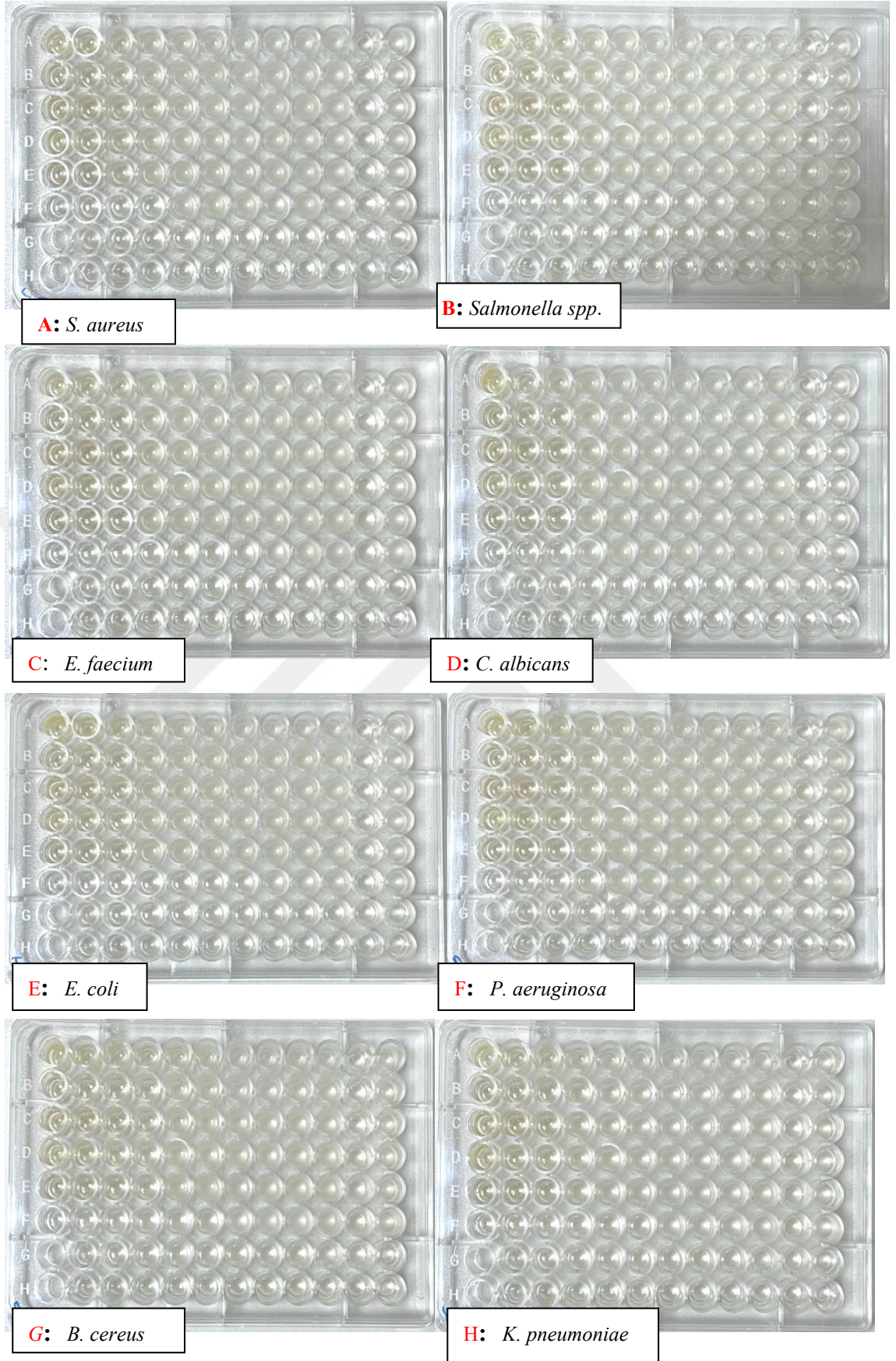
Ekstraktların minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri tablo 14’ da verilmiştir.

Tablo 14. Ekstraktların minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri

Mikroorganizmalar ve MIC Konsantrasyonu (µg/mL)								
Ekstraktlar	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonell spp.</i>	<i>E. faecium</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>K. pneumoniae</i>
EAM	472.5	236.25	236.25	472.5	236.25	236.25	118.13	236.25
MSM	1518	759	759	759	759	759	379.5	759
DMM	1904.25	952.13	952.13	952.13	952.13	952.13	476.06	952.13
EAU	305	152.5	152.5	152.5	152.5	152.5	76.25	152.5
MSU	1692	846	846	846	846	846	423	846
DMU	1878.5	939.25	939.25	939.25	939.25	939.25	469.63	939.25
CHL	32	4	8	64	4	64	8	8
DMSO	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.

CHL: Kloramfenikol pozitif control.

Tablo 14’da ekstraktların suşlar üzerindeki etkilerine dair minimal inhibitör konsantrasyonları (MIC) verilmiştir. Tablo incelendiğinde EAU’nun *B. Cereus* bakteri suşuna karşı MIC değerinin diğer tüm ekstraktlara ve diğer bakteri-maya suşlarına göre en düşük değer (76.25 µg/mL) görülmektedir. Yine tüm suşlarda EAU en düşük MIC derlerine sahipti. EAU’yu EAM değerleri takip etmekteydi. En yüksek değerler ise sırası ile DMM ve DMU ekstraktlarına aitti. Pozitif kontrol olarak kullanılan Kloramfenikol antiniyotiğinin çalışmamızda etkin olduğu görülmektedir. Yine negatif kontrol olarak kullanılan DMSO’nun sonuçları deneyin başarılı olduğunu göstermektedir.



Şekil 33. Ekstraktların antimikrobiyal aktivitelere ait minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) mikropłaka görüntüleri. **A:** *S. Aureus*; **B** *Salmonella spp.*; **C:** *E. faecium* **D:** *C. albicans*. **E:** *E. coli*, **F:** *P. aeruginosa* **G:** *B. cereus*. **H :** *K. pneumonia*.

3.5. Enzim İnhibisyon Analizleri

Ekstraktların Asetilkolinesteraz ve Bütirikolinesteraz enzim inhibisyon (IC_{50}) değerleri tablo 15’ da verilmiştir.

Tablo 15. Ekstraktların Asetilkolinesteraz ve Bütirikolinesteraz enzim inhibisyon (IC_{50}) değerleri

Ekstraktlar	ACHE IC_{50} mg/ml	BCHE IC_{50} mg/ml	ACHE R^2 değeri	BCHE R^2 değeri
EAM	$0,179 \pm 0,00071$	$0,259 \pm 0,00989$	0,99	0,99
MSM	$0,891 \pm 0,06081$	$1,264 \pm 0,05021$	0,98	0,98
DMM	$0,472 \pm 0,02051$	$1,152 \pm 0,01697$	0,97	0,97
EAU	$0,079 \pm 0,00424$	$0,196 \pm 0,00071$	0,98	0,99
MSU	$1,154 \pm 0,00141$	$1,651 \pm 0,01131$	0,90	0,95
DMU	$1,241 \pm 0,03606$	$1,547 \pm 0,03536$	0,99	0,93

Tablo 15’de görüldüğü üzere ekstraktlar içinde AChE bakımından en düşük IC_{50} değeri EAU, en yüksek IC_{50} değeri DMU’ya aitti. Yine BChE inhibitör etkisi için en düşük değere 0.196 mg/mL ile EAU ekstraktı sahipti ve bunu EAM izlemekteydi. En yüksek IC_{50} değerleri sırası ile MSU ve DMU ekstraktında görüldü. EAU hariç diğer çözücülerin ultrasonik ekstrakt versiyonlarında IC_{50} değerlerinde maserasyon ekstraktlarına göre artış görüldü.

4. TARTIŞMA

Bitkiler çeşitli sebeplerle birincil (primer) ve ikincil (sekonder) metabolit olarak adlandırılan bazı kimyasal maddeler üretirler. Fitokimyasal olarak da adlandırılan bu maddeler bitkilerin yaprak, meyve, gövde, kök, tohum gibi farklı kısımlarından elde edilebilmektedir. Fitokimyasallar içinde sekonder metabolitler çok eski zamanlardan beri tıp, eczacılık (ilaç ve etken madde üretimi), gıda, kozmetik gibi çeşitli alanlarda insanlığın yararına kullanılmaktadır ve günümüzde bu alanlarda oldukça geniş bir endüstriyel çeşitlilik sözkonusudur (Darak vd., 2024).

Çok sayıda sekonder metabolit olduğu varsayılmaktadır ve bazılarının düşük miktarlarda bulunmasından dolayı biyolojik aktiviteleri henüz tam olarak ortaya konmuş değildir (Twaji & Hasan 2022). Günümüzde sekonder metabolitlerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesine yönelik oldukça fazla sayıda çalışmaya rastlamak mümkündür. Bu çalışmalar içinde sekonder metabolitler içinde özellikle polifenolik bileşikler olarak adlandırılan grubun antioksidan etkileri başta olmak üzere antimikrobiyal, antidiyabetik, antikanser, anti-inflamatuvar, yara iyileştirici gibi farklı etkilerine dair çalışmalar dikkat çekmektedir (Kılınç vd, 2020). Fenolik bileşiklerden başka vitaminler, antosiyaninler karotenoidler, alkaloidler, bitkisel lifler, esansiyel ve non esansiyel bazı yağ türleri, yağ asitleri gibi diğer bazı bileşikler de fitoterapi ve diğer terapötik uygulamalara kaynaklık etmektedirler (Bist ve Survy, 2024; Abhishek vd., 2025).

Günümüzde sağlık içerikleri açısından çeşitli bitkisel doğal ürünlere olan ilgi artarak devam etmektedir. Beslenme alışkanlıklarının değişmesi, hazır, dondurulmuş gıdaların çeşitlenmesi, ailesel boyutta geleneksel yemek yapma ve yeme kültürünün zayıflaması gibi durumlar modern insanın vücutta oluşan eksikliği ve bunun neden olabileceği sağlık problemlerini çözmek için özellikle bitkisel kaynaklı doğal ürünlere yönelimini arttırmıştır. Bu ürünlerin bir kısmı takviye gıdalar olarak hap veya suda çözülür tablet şeklinde satıldığı gibi büyük bir kısmı bitkisel çay veya diğer besin türü olarak doğal biçimde tüketilmektedir (Darak vd. 2024).

Her ne kadar doğal olarak yararları ortaya konmuş olsa da bu ürünlerden maksimum biyoaktif yararlanım elde edebilmek için özütlerini verimli şekilde ortaya çıkarmak gerekmektedir. Maserasyon, demleme, damıtma ve basınçlama gibi klasik yöntemler her zaman en yüksek verimi sağlamayabilir (Abhishek vd., 2025). Biyoaktif fitokimyasalların ekstraksiyon süreçlerinde bu bileşiklerin bozunma süreleri, maksimum miktarlarda ve çeşitlilikte elde edilebilirlikleri, saflaştırılabilirlikleri, ortama bitkisel kısımdaki zararlı

diğer bileşiklerin karışmasının önlenmesi gibi faktörlere dikkat etmek gerekmektedir. Bu nedenle söz konusu geleneksel ekstraksiyon yöntemleri yanında teknolojinin de ilerlemesine bağlı olarak bu moleküllerin elde edilmesinde farklı özütleme (ekstraksiyon) yöntemleri de kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemler birbirlerinden bağımsız olabildiği gibi karma uygulamalar da yapılabilmektedir (Abhishek vd., 2025).

Ekstraksiyon sırasında çözücü, çözücü-çözünen madde oranı, çözünme süresi, sıcaklık, basınç, pH verimi etkileyen en temel parametreler olarak ve genel olarak hemen her ekstraksiyon metodunda karşımıza çıkmaktadır. Ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) yöntemlerinde bu parametrelere ek olarak sonikasyon süresi, gücü (şiddeti) ve sonikasyonun gerçekleştiği sıcaklık, nem gibi parametreler de dikkate alınmaktadır (Esclapez vd., 2011). UAD’de amaç hücre duvarının yılılarak hücre içeriğinin dışarıya salınımı ve difüzyonunun hızlandırılması sağlamk olup bunun için termal, mekanik ve kavitasyon etkilerinden yararlanmaktır (Chemat vd, 2017; Shen vd., 2023). UAE için birden fazla sonikasyon metodu mevcut olup dokuz bozucu (detexturation), sonokapiller etki, sonoporasyon bunlardan bazılarıdır (Shen vd., 2023).

Çalışmamızda çözücü bazında değerlendirildiğinde, dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılan ekstraktların (özellikle ultrasonik ekstraksiyonla birleştirilen DMU dahil) tüm parametrelerde en yüksek değerlere sahip oldukları tespit edildi. DMU örneği, TPC (51.09 mg/g GAE), TFC (271.80 mg/g TEAC) ve DPPH, FRAP (FRAP TEAC hariç), ABTS analizlerinde en yüksek antioksidan değerlerle sahip en etkili ekstraksiyon türü ve çözücüsü olmuştur. Bu bulgu, DMSO'nun fenolik bileşiklerin çözünürlüğü açısından oldukça uygun bir çözücü olduğunu göstermektedir. Metanol-su (20:80v/v) karışımı kullanılan örneklerde de özellikle ultrasonik ekstraksiyon (MSU) yöntemi, maserasyon yöntemine (MSM) kıyasla daha yüksek TPC, TFC ve antioksidan kapasite sağlamıştır. MSU örneği, DMU’nun ardından ikinci en güçlü biyolojik aktiviteye sahip ekstrakt olarak dikkat çekmiştir. Bu da hem çözücü polaritesinin hem de fiziksel ekstraksiyon yönteminin ekstrakt içeriğine önemli ölçüde etki ettiğini göstermektedir. Bununla beraber etil asetat çözücüsü ile elde edilen ekstraktlarda, özellikle maserasyon yöntemiyle elde edilen EAM ekstraktının, hem fenolik/-lavonoid içerik hem de tüm antioksidan aktivite parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde en düşük değerlere sahip olduğu görüldü.

Sonuç olarak, çözücü tipi ve ekstraksiyon yöntemi, ekstraktların fonksiyonel özellikleri üzerinde belirleyici faktörlerdir. Bu çalışmada dimetil sülfoksit ve ultrasonik ekstraksiyon kombinasyonu, kuşburnu meyvesinden biyoaktif madde elde etmede en etkili

yaklaşım olarak öne çıkmıştır. Metanol-su karışımı ile ultrasonik ekstraksiyon da yüksek verim sunarken, etil asetat ekstraktları TPC, TFC, ABTS, FRAP ve DPPH analizleri sonularına içerik ve aktiviteler açısından sınırlı kalmıştır.

DMSO'nun güçlü bir polar çözücü olması bu çözücünün fenolik bileşiklerin daha etkili şekilde ekstrakte olmalarını sağladığı literatürde ifade edilmektedir (Dhanani vd., 2017). Ercişi ve arkadaşları (Ercisli vd, 2017), Rosa canina meyvesi üzerine yapılan benzer bir çalışmada da fenolik madde açısından DMSO'nun üstün çözünürlük sağladığı belirtilmiştir. Çalışmamızdaki bulgular maserasyon ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen örneklerin, maserasyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlara göre daha yüksek biyoaktif madde içeriklerine sahip olmaları ultrasonik dalgaların hücre duvarlarını parçalayarak bitki dokusundan etkin madde geçişini artırdığını belirten görüşünü desteklemektedir (Chemat vd., 2017; Ghafoor vd., 2009).

Kuşburnu meyvelerinin geleneksel maserasyon ekstraksiyon yöntemine dair modifikasyon içeren pekçok çalışma mevcuttur. Meyvenin ultrasonik destekli ekstraksiyonuna ise daha az rastlanmaktadır. Montazari ve arkadaşları (2011), İran kuşburnu meyvelerinin fitokimyasal içerik ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesine yönelik olarak gerçekleştirdikleri çalışmada meyve ekstraktlarını hazırlamak için 6 farklı çözücü (metanol, su, aseton, kloroform, etil asetat ve n-hekzan) kullanmışlardır. Maserasyon yöntemini tercih ettikleri çalışmalarında son aşamada çözücülerin rotary evaporatörde uçurulmasının ardından kalıntıları bizim çalışmamızda olduğu gibi DMSO ile çözerek ekstraktları hazırlamışlardır. Araştırmacılar çalışmalarında en yüksek TPC içeriğine metanolik ekstraktın sahip olduğunu (424.6 ± 1.8 mg GAE/g ekstrakt), bunu aseton (295.5 ± 4.2 mg GAE/g Ekstrakt) ve sulu ekstraktların (220.2 ± 5.9 mg GAE/g Ekstrakt) takip ettiğini belirlemişlerdir. Çalışmalarında n-hekzan en düşük TPC profiline sahipti. Bununla beraber çalışmamızda da çözücü olarak kullandığımız etil asetatın Montazari'nin çalışmasında TPC bakımından metanolik, aseton ve su çözücülerinin ardından geldiği ve bu durumun çalışmamızda da maserasyon etilasetat ekstraktının en düşük TPC içeriğine (26.7 mg GAE/g) sahip olması bulgusu ile benzerlik gösterdiği görüldü. Montazari ve arkadaşlarının çalışmasında TFC bakımından TPC içeriğindeki sıralama geçerliydi (TFC: Metanol ekst.>Aseton eks.>Sulu eks.> Etil Asetat eks.>Kloroform eks.> n-hekzan).

Turan ve arkadaşları (2021), kuşburnu meyvelerinin toplam fenolik, karetenoid miktarı ve antioksidan aktiviteleri üzerine farklı ultrasonik destekli ekstraksiyon şartlarındaki düzeylerinin belirlenmesine yönelik çalışmalarında farklı ultrasonik sıcaklık

(20-30-40 derece), genlik (%15- 50 ve 100) ve süreleri (3, 6, 9, 12 ve 15 dk) kullanarak bu parametrelerdeki değişiklikleri incelemişlerdir. Bu çalışmada çözücü olarak sadece metanol kullanılmış, ancak çözücü oranı değiştirilmiş ve bu orandaki ekstraksiyon sırasında diğer parametrelerle kombine edilmiştir. Araştırmacılar ultrasonikasyon süresi arttıkça TPC içeriğinin anlamlı derecede arttığını, %25 ve % 50 genlik-frekans-karşılaştırmalarında yine %50 genlikte TPC değerinin %25'e göre arttığını ancak %100 genlikte ise % 50 genliğe göre TPC miktarında düşüş olduğunu belirttiler. Yine aynı çalışmada sıcaklığın etkisine yönelik incelemede 20 0C'de TPC değeri 3.94 mg /g Kuru madde (KM) ike 40 0C'de bu değerin 4.52 mg/g KM olduğu ifade edilmiştir (p > 0.05). Çözücü olarak etanol, metanol ve suyun kullanıldığı ve 3 farklı ticari kuşburnu çay poşetlerinin ultrasonik ve sokslet ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği başka bir çalışmada 40 kHz genlik ve 25 0C sabit sıcaklıkta değişken faktörler olarak çözücü çözünen madde oranı (%100- %50), süre (30, 60 ve 90 dk ultrasonikasyon süresi) kullanılmış ve TPC değerlerinin zamana bağlı olarak arttığı tespit edilmiş (İlbay vd., 2013).

Maserasyon ve UDE yöntemlerinin kullanılarak başka bir bitki türünde, keçiboynuzunda TPC değerlerini karşılaştırıldığı başka bir çalışmada çözücü olarak %60'lık etanol kullanılmıştır. Çalışmada araştırmacılar UDE için 59 0C sıcaklık ve 30 dk ekstrasyon süresi, maserasyon içinse 25 0C sıcaklık de 24 saat ekstraksiyon süresi uygulamışlar ve TPC değerlerini maserasyon için 2.54, UDE için 3.12 g GAE/ 100 KM olarak tespit etmişlerdir (Saviç vd., 2019)

Çalışmamızda 8 adet mikroorganizma (Gram -, Gram + bakteriler ve 1 maya suşu) kullanıldı. Tüm ekstraktlar tarafından C. albicans ve B cereus suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite tespit edildi. Tüm ekstraktar içinde DMU, C. albicans'a karşı en etkili ekstrak olarak belirlendi (22 mm). Bunu EAU ekstraktı izledi (21.3 mm). Yine diğer mikroorganizmalarla karşılaştırıldığında ekstraktların B cereus'a karşı oldukça yüksek etkiye sahip oldukları belirlendi. B. Cereus hariç mikroorganizmalara karşı en düşük aktiviteye EAM ekstraktı sahipti ve bu ekstrakt B cereus ve C albicans dışında diğer suşlara karşı aktivite göstermemişti. Kuşburnu bitkisinin çeşitli kısımlarının antimikrobiyal aktivitesini belirlemeye yönelik çeşitli çalışmalar mevcut olup kuşburnu meyvesi bu kısımların başında gelmektedir. Bununla beraber ekstrakt metodu, özellikle çözücü türü, toplanma zamanı ve toplandığı yer (coğrafi koşullar) antimikrobiyal aktivite sonuçlarını etkileyebilmektedir (Miljković vd., 2024) . Erzurum bölgesinden toplanmış kuşburnu meyvelerinin antimikrobiyal aktivitelerine yönelik bir çalışmada maserasyon ile elde edilmiş metanolik ekstraktın E. coli, B. Subtilis ve S.aureus'a karşı etkili olmadığı

görülmüştür (Yılmaz, & Ercişli 2011). Kuşburnu meyveleri için maserasyon yönteminin uygulandığı ve 6 farklı çözünün kullanıldığı bir çalışmada metanolik ekstraktların *S. aureus* ve *C. albicans*'a karşı daha etkili olduğu, *E. coli*'ye karşı daha düşük etki gösterdiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada belirli mikroorganizmalara etki gösterirken kloroform ve n-hekzanın hiçbir mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir (Montazari vd, 2011). Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitede rol oynadığına dair belirgin bulgular olmakla beraber mekanizmalar tam olarak aydınlatılmış değildir. Bu mekanizmalarla ilgili bu bileşiklerin antimikrobiyal etkiyi sağlayan çeşitli hücresel enzimlere bağlanarak bunları aktive etmeleri enzimlere zar geçirgenliğinin yeniden düzenlenmesi mikroorganizmalarda geçirgenliğin modifikasyonu sayesinde bazı ve hücre içi molekülleri etkileyerek hücre duvarı arasındaki bütünlüğün bozulması gibi öneriler örnek gösterilebilir (Stapleton vd., 2004; Taguri, vd., 2006).

Asetilkolinesterazın (AChE), nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol oynadığı ve bunu inflamatuvar yanıtı, apoptozu, oksidatif stresi ve patolojik proteinlerin agregasyonunu etkileyerek gerçekleştirdiği yönünde görüş vardır ve nörodejeneratif hastalıkların oluşumunu önleyebilecek ve seyrini yavaşlatabilecek yeni bileşikler için bir arayış söz konusudur (Walczak., & Herbet, 2021). Kuşburnu içeriğindeki yüksek fenolik ve antioksidan bileşikler sayesinde nörodejeneratif hastalıklara neden olan serbest radikalleri etkisiz hale getirmekte ve yüksek fenolik içeriği sayesinde sinir ağındaki asetilkolinin artmasına katkıda bulunarak sinirsel bağlantıyı geliştirmektedir. Bitkilerin bazı klinik etkileri antioksidan aktiviteleriyle yakından ilişkili olduğundan, antioksidanların, özellikle de bitkilerin ve bileşenlerinin diyetle ve takviye olarak kullanılması, Alzheimer AD ilerlemesini yavaşlatmak ve nöronal dejenerasyonu en aza indirmekle ilgili olabilir (Howes ve ark., 2003).

Sinir sisteminde etkin olan bir başka enzim de bütirilkolinesteraz (BChE) enzimidir ve yapılan çalışmalarda Alzheimer hastalarının beyin dokularında bu enzim miktarının normal seviyelere göre oldukça fazla olduğu görüldüğünden asetilkolinesteraz (AChE) enzim inhibisyonunu sağlayan ilaçların bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonunda etkinliğinin söz konusu olabileceği ifade edilmektedir (Gezici & Koçum, 2021).

Çalışmamızda AChE bakımından en düşük IC₅₀ değeri EAU, en yüksek IC₅₀ değeri DMU'ya aitti. Yine BChE inhibitör etkisi için en düşük değere 0.196 mg/mL ile EAU ekstraktı sahipti ve bunu EAM izlemekteydi. En yüksek IC₅₀ değerleri sırası ile MSU ve DMU ekstraktında görüldü. EAU hariç diğer çözücülerin ultrasonik ekstrakt versiyonlarında IC₅₀ değerlerinde maserasyon ekstraktlarına göre artış görüldü. EAU'nun

antioksidan kapasite analizlerinde düşük değerlere sahip AChE ve BChE enzim inhibitör aktivitesi bakımından etkinliği ilginç bir sonuç olmakla beraber literatürde polaritesi yüksek çözücülerin daha düşük inhibitör aktivitesi olduğuna yönelik çalışmalar mevcuttur. Nadpal ve arkadaşları (2018), üç farklı kuşburnu türünde (*Rosa dumalis* Bechst. , *R. dumetorum* Thuill. ve *R. sempervirens* L) maserasyon yöntemi kullanarak hazırladıkları farklı konsantrasyonlardaki sulu ve metanolik ekstraktlarda AChE IC50 değerini 1,23 - 7,97 mg/mL aralığında bulmuş olup bu verileri orta düzeyli inhibitör etki olarak tanımlamışlardır. Başka bir çalışmada ise benzer şekilde polar çözücüler etanol ve su ile bunlara göre daha az polar olan dikolorometanı kullanılmış, su ve etanolün AChE inhibitör etkisi tespit edilememiştir (Boğa vd., 2011).

Çözücü polaritesinin diğer ekstraksiyon faktörleri ile beraber enzim inhibisyonu üzerine etkisini açıklarken etkinin aslında ortama geçen ürünlerle ilişkili olduğunu vurgulamak daha doğru olabilir. Bitki kısımlarında bulunan fenolik bileşiklerin, minerallerin ve vitaminlerin çözücü polaritesine göre özüte geçme verimi farklılık gösterebilir. Nadpal vd, (2018), metanolik ekstrak ve maserasyon yöntemi kullanarak 45 standart fenolik taraması içinde 14 adet fenolik bileşik elde etmişlerdir. Bunlar içinde çalışmalarında kullandıkları 3 farklı kuşburnu türünde en fazla ellagik asit, gallik asit, protokatekuik asit elde ederken sadece birinde p- hidroksibenzoik ve ferulik asit tespit etmişlerdir. Oysa kuşburnu meyvelerinde türe göre göre değişmekle beraber en fazla rastlanan fenolik türlerinin başında kateşinler gelmektedir. Söz konusu çalışma, polar çözücü ve maserasyon yöntemi kullanılarak elde edilen fenoliklerin asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine inhibitör etkilerine dair önemli bir örnektir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, Kuşburnu (*Rosa canina*) meyvesinden farklı ekstraksiyon yöntemleri (maserasyon ve ultrasonik ekstraksiyon) ile üç farklı çözücü (dimetil sülfoksit, metanol-su ve etil asetat) kullanılarak elde edilen ekstraktların fenolik ve flavonoid içerikleri ile antioksidan kapasiteleri (DPPH, FRAP, ABTS), antimikrobiyal etkinlikleri (dizk infüzyon ve MIC) ve Asetilkolinesteraz ile Bütirikolinesteraz enzimleri üzerine inhibitör etkileri kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere, ekstraksiyon yöntemi ve kullanılan çözücünün, ekstraktın kimyasal ve biyolojik özellikleri üzerinde belirleyici rol oynadığını ortaya koymuştur. Buna göre:

1. Toplam fenolik madde (TPC) ve toplam flavonoid madde (TFC) açısından en yüksek değerlere sahip olan ekstrakt dimetil sülfoksit-ultrasonik (DMU) yöntemiyle elde edilmiştir. DMU, aynı zamanda DPPH, FRAP (FRAP TAEC hariç) ve ABTS analizlerinde de en yüksek antioksidan kapasiteye sahip ekstrakt olarak tespit edildi. Metanol-Su (20:80) ultrasonik ekstrakt (MSU) bu parametreler açısından DMU dan sonra gelmekteydi.

2. Ultrasonik destekli ekstraksiyon ürünleri maserasyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlardan daha yüksek TPC, TFC ve antioksidan aktiviteye sahipti. Bu durum UDE yönteminin mevcut çözücüler açısından daha etkili olduğunu göstermektedir.

3. Organizmaya göre farklılık görülmekle beraber bütün ekstraktların mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkileri tespit edildi. Tüm ekstraktlar *C. albicans* ve *B. cereus*'a karşı aktivite gösterdi. DMU, *C. albicans*'a karşı en etkili ekstrak olarak belirlendi (22 mm). Bunu EAU ekstraktı izledi (21.3 mm). Yine diğer mikroorganizmalarla karşılaştırıldığında ekstraktların *B. cereus*'a karşı oldukça yüksek etkiye sahip oldukları belirlendi. *B. Cereus*'a karşı en etkili ekstrakt ise MSM idi (24.1 mm). *B. Cereus* hariç mikroorganizmalara karşı en düşük aktiviteye EAM ekstraktı sahipti. EAU ve EAM en güçlü MIC değerlerine sahipti. En zayıf değerleri ise DMU ve DMM göstermekteydi. Antimikrobiyal aktivitede ultrasonik ve maserasyon yöntemleri arasında belirgin bir fark görülmedi. Aynı zamanda belirli bir ekstraktın antimikrobiyal üstünlüğü gözlenmedi. Farklı organizmalara karşı farklı ekstraktlar farklı sonuçlar gösterdi.

4. AChE bakımından en düşük IC₅₀ değeri EAU, en yüksek IC₅₀ değeri DMU'ya aitti. Yine BChE inhibitör etkisi için en düşük değere 0.196 mg/mL ile EAU ekstraktı sahipti ve bunu EAM izlemekteydi. Bu durum polifenoliklerin polar –nonpolar çözücü durumuna göre ekstrakta geçme potansiyelleri ve enzimlerin aktivitelerinde inhibisyonlarının bu bileşiklere bağlı olduğu görüşünü desteklemekteydi.

5. Çalışmada elde edilen ekstraktların fenolik bileşik analizi (örneğin HPLC ile) gerçekleştirilebildiğinde daha geniş ve kesin değerlendirme imkanı olabilir.

6. Maserasyon yöntemine göre UAE destekli polar çözücülerin kullanılması antioksidan içerik (polifenolik bileşik) ve daha yüksek antioksidan aktivite elde edilmesi açısından tavsiye edilebilir.



KAYNAKÇA

- Abhishek, R., Kumar, S., Singh, A., Verma, M., & Pandey, A. K. (2025). Evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of *Rosa* species from Himalayan region. *Industrial Crops and Products*, 198, 118421.
- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 12(1), 1–10.
- Ahmed, S., Shah, G. H., & Khan, M. R. (2015). Evaluation of phytochemical and antioxidant potential of different fractions of *Rosa canina* L. fruit. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28(4), 1239–1246.
- Akyol Ö. (2003). Şizofreni Hastalarında Mangan Süperoksit Dismutaz (Mn-SOD) Gen Polimorfizminin Araştırılması, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Sağlık .
- Ames, B. N., Cathcart, R., Schwiers, E., & Hochstein, P. (1981). Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: A hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(11), 6858-6862.
- Amorati, R., et al. (2022). Synthetic Phenolic Antioxidants: Mechanisms and Applications . *Journal of Medicinal Chemistry*, 65(3), 1234-1245.
- Anokwuru, C. P., Mpofu, A., Odindo, A. O., & Ajayi, N. F. (2011). Antioxidant activity and phenolic content of selected medicinal plants from the Eastern Cape, South Africa. *African Journal of Biotechnology*, 10(59), 12638–12645.
- Arosio, P., & Levi, S. (2002). Ferritin, iron homeostasis, and oxidative damage. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(4), 457–467.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 360438.
- Aziz, M. A., Diab, A. S., and Mohammed, A. A. (2019). “Antioxidant categories and mode of action,” in *Antioxidants* (IntechOpen).
- Bakker, S., Grecksch, G., & Matthies, H. (1999). Nitric oxide modulates long-term potentiation in the hippocampus. *Neurobiology of Learning and Memory*, 71(2), 183–195.DOI: 10.1006/nlme.1998.3862.
- Ballard, C. G., Greig, N. H., Guillozet-Bongaarts, A. L., & Holmes, C. (2005). Cholinesterase inhibitors: From the weapons of classical warfare to modern therapeutic agents for Alzheimer's disease. *CNS Drugs*, 19 (11), 887-906.

- Barja, G. (2004). Free radicals and aging. *Trends in Neurosciences*, 27(10), 595–600. DOI: 10.1016/j.tins.2004.07.005.
- Bektaş, N. (2005). *Bazı fenolik asitler ve kombinasyonlarının antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesi* (Yayınlanmamış yüksek lisans tezi). Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Belfar, A. (2018). *Study of the antioxidant, antibacterial, and anticorrosive power of phenolic extracts of the plant Limoniastrum guyonianum (Dur.)* (Yayınlanmamış yüksek lisans tezi). University of Kasdi Merbah, Ouargla, Algeria.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1), 70-76.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.
- Bist, P., & Survy, A. (2024). Antioxidant potential and phenolic profiling of Rosa canina L.: A comparative study of wild and cultivated sources. *Journal of Food Biochemistry*, 48(3), e13045
- Boğa, M., Hacıbekiroğlu, I., & Kolak, U. (2011). Antioxidant and anticholinesterase activities of eleven edible plants. *Pharmaceutical Biology*, 49(3), 290–295.
- Braverman, N. E., & Moser, A. B. (2012). Functions of plasmalogen lipids in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822(9), 1442-1452.
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414 (6865), 813-820.
- Butterfield, D. A., & Halliwell, B. (2019). Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 20(3), 148-160.
- Cadet, J., Davies, K. J. A., Medeiros, M. H. G., Di Mascio, P., & Wagner, J. R. (2017). Formation and repair of oxidatively generated damage in cellular DNA. *Free Radical Biology and Medicine*, 107, 13-34.
- Cemeroğlu, B. (2013a). *Meyve ve sebze işleme teknolojisi (Cilt 1.)*. Kültür ve Turizm Bakanlığı Yayınlar.
- Chandimali, N., Bak, S. G., Park, E. H., Lim, H. J., Won, Y. S., Kim, E. K., Park, S. I., & Lee, S. J. (2025). Free radicals and their impact on health and antioxidant defenses: a review. *Cell death discovery*, 11(1), 19.
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., Calina, D., & Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and

- antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in chemistry*, 11, 1158198.
- Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61, 192-208.
- Chemat, F., Abert-Vian, M., & Cravotto, G. (2017). Green extraction of natural products: Strategies from essential to complex matrices. *Trends in Food Science & Technology*, 28, 159–168.
- Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]. (2007). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard M7-A7. *Clinical and Laboratory Standards Institute*.
- Cueva, C., Moreno-Arribas, M. V., Martín-Álvarez, P. J., Bills, G., Vicente, M. F., Basilio, A., ... & Bartolomé, B. (2010). Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in Microbiology*, 161(5), 372-382.
- Darak, M., Yılmaz, G., Kılıç, S., & Aydın, H. (2022). Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. fruits from different regions of Turkey. *Journal of Food Science and Technology*, 59(6), 2345–2353.
- Darak, M., Yılmaz, G., Kılıç, S., & Aydın, H. (2024). Comparative analysis of bioactive compounds and antioxidant activity in wild and cultivated *Rosa canina* L. fruits. *Journal of Functional Foods*, 108, 105634.
- Davies, M. J. (2016). Protein oxidation and peroxidation. *The Biochemical Journal*, 473 (7), 805-825.
- Demir, F., Özcan, M., (2001). Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey. *Journal of Food Engineering*, 47(4):333–336.
- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017). The effect of extraction solvents and characterization of phenolics in bioactive extracts of *Rosa indica*, *Rosa damascena* and *Rosa centifolia*. *Natural Product Research*, 31(21), 2568–2574.
- Dölek, Ü. (2013). *Bazı kuşburnu (Rosa sp.) türlerinde optimal hasat zamanının ve fitokimyasal değişimlerin belirlenmesi* (Doktora tezi). Gaziosmanpaşa University, Institute of Science. Tokat.
- Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47–95. DOI: 10.1152/physrev.00001.2002.
- Duman, T. (2014) *Kuşburnu (Rosa Canina) nektarında toplam fenolik madde ve suda çözülen vitaminlerin ısı parçalanma kinetiği*. (Yüksek Lisans Tezi). Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.

- EFSA. (2020). Re-evaluation of Butylated Hydroxyanisole (BHA) as a Food Additive . *EFSA Journal*, 18(5), e06123.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* , 7(2), 88–95.
- Ercisli, S., (2007). Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry*, 104(4):1379–1384.
- Ercişli, S., Orhan, E., Yilmaz, A., Sevik, H., & Agar, G. (2017). Phenolic profile and antioxidant activity of *Rosa canina* L. fruits from Turkey. *Journal of Food Processing and Preservation* , 41(4), e13059.
- Ernster, L., & Dallner, G. (1995). Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1271(1), 195–204.
- Esclapez, M. D., Pérez-Alonso, M. J., & Herrero-Martínez, J. M. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and extracts from *Rosa* species. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), 835–841. ₂
- Evans, P. (2000). Oxygen free radicals in cell culture and aging. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*, 36(5), 260–269.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135.
- Forman, H. J., Zhang, H., & Rinna, A. (2009). Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, 30(1-2), 1-12.
- Fubini, B., & Hubbard, A. (2003). Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(12), 1507-1516.
- Fukai, T., & Ushio-Fukai, M. (2011). Superoxide dismutases: Role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxidants & Redox Signaling* , 15(6), 1583–1606. DOI: 10.1089/ars.2011.3999
- Gao, X., Zhang, Y., & Wang, P. (2019). Antioxidant properties of *Rosa canina* L. fruit extracts. *Journal of Functional Foods*, 58 , 103-111.
- Gezici, M., & Koçum, G. (2021). Antioxidant and antimicrobial activities of *Rosa canina* L. fruit extracts obtained by different extraction methods. *Journal of Food Science and Technology* , 58(8), 3123–3131.

- Ghafoor, K., Juhaimi, F. A., Özcan, M. M., & Ahmed, I. A. M. (2009). Determination of mineral, vitamin and phenolic content of *Rosa canina* fruit. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(13), 1029–1032.
- Gregg, C., Shikatani, E. A., Nobrega, J. N., & Richter, L. (2005). Iron accumulation in the substantia nigra of Parkinson's disease visualized using magnetic resonance imaging. *Movement Disorders*, 20(3), 341–345
- Groot, H. (1994). Reactive oxygen species in tissue injury. *Hepato-Gastroenterology*, 41, 328-332.
- Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., & Riechel, T. L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1887-1892.
- Halliwell, B. & Aruoma, O.I. (1997). Free radicals and antioxidants: The need for in vivo markers of oxidative stress. İçinde O.I. Aruoma ve S.L. Cuppett (Eds.), *Antioxidant Methodology in vivo and in vitro Concepts*, 1-22, AOCS Press.
- Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141, 312–322.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5th ed.). Oxford University Press.
- Heves, M. D. (2008). *Akyıldız (Ornithogalum sigmoideum Freyn Et Sint.)'ın antioksidan aktivitesi* (Yüksek lisans tezi), İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Hillman, R. S., & Gitlin, J. D. (2002). Serum ceruloplasmin and hepcidin: Key regulators of iron homeostasis. *Seminars in Hematology*, 39(4), 254–261.
- Howes, M. J., & Perry, N. S. (2011). The role of phytochemicals in the treatment and prevention of dementia. *Drugs & Aging*, 28 (6), 439-468.
- Howes, M. J., Houghton, P. J., & Steventon, G. B. (2003). Plants used in Chinese and Indian herbal medicine for improvement of memory and cognitive function. *International Journal of Gerontology*, 1(2), 111–135.
- İlbay, Z., Şahin, S., & Kirbaşlar, Ş. İ. (2013). Investigation of Polyphenolic Content of Rose Hip (*Rosa canina* L.) Tea Extracts: A Comparative Study. *Foods (Basel, Switzerland)*, 2(1), 43–52.
- Johnson, J. R., et al. (2018). Optimization of the Folin-Ciocalteu method for total phenolic content determination in microplate format. *Journal of Food Science*, 83 (4), 1234-1240.

- Kahraman, E. (2009). *Kuşburnu (Rosa canina L.) meyvesinin bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi* (Yüksek lisans tezi). Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Kamış, R., et al. (2022). Optimization of aluminum chloride colorimetric method for total flavonoid determination in microplate format. *Analytical Biochemistry*, 630, 114-120.
- Karasakal, A. (2007). *Kuşburnu bitkisinde spektrofotometrik yöntemle askorbik asit tayini* (Yüksek lisans tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Kaya Dikici, N. (2021). *Fenolik asitlerin DNA metilasyonu üzerine etkilerinin araştırılması* (Yüksek lisans tezi). Pamukkale University, Institute of Science. Denizli.
- Kell, D. B. (2010). Iron behaving badly: Inappropriate iron chelation as a major contributor to the aetiology of vascular and other progressive inflammatory and degenerative diseases. *BMC Medical Genomics*, 3(1), 1–17.
- Kılınç, A., & Kılınç, K. (2003). *Nitrik oksit biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri*. Palme Yayıncılık.
- Kılınç, K., Demir, S., Turan, I., Mentese, A., Orem, A., Sonmez, M., Aliyazicioglu, Y. (2020). Rosa canina extract has antiproliferative and proapoptotic effects on human lung and prostate cancer cells. *Nutrition and Cancer*. 72(2), 273-282.
- Klaassen, C. D. (Ed.). (1999). *Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons* (5th ed.). McGraw-Hill.
- Koolen, H. H., da Silva, F. M., Gozzo, F. C., de Souza, A. Q., & de Souza, A. D. (2013). Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. *Food Research International*, 51(2), 467-473.
- Köseoğlu Yılmaz, P. (2015). *Kahve örneklerinde fenolik asitlerin HPLC ile tayini için metot geliştirilmesi ve validasyonu* (Doktora tezi), İstanbul University, Institute of Health Sciences. İstanbul.
- Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: Current state. *Nutritional Journal*, 15(71).
- Letari, O., & Tiano, L. (2007). Coenzyme Q10 and mitochondrial dysfunction: Impact on experimental models and human diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 13(8), 845–858.
- Lin, M. T., & Beal, M. F. (2006). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*, 443 (7113), 787-795.

- Lineweaver, H., & Burk, D. (1934). The determination of enzyme dissociation constants. *Journal of the American Chemical Society* , 56(3), 658–666.
- Liu, R. H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 134(12), 3479S-3485S.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4 (8), 118-126.
- Madamanchi, N. R., Vendrov, A., & Runge, M. S. (2005). Oxidative stress and vascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 25 (1), 29-38.
- Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Jiménez-Moreno, N., Ancín-Azpilicueta, C., & Rodríguez-Yoldi, M. J. (2017). Therapeutic Applications of Rose Hips from Different Rosa Species. *International journal of molecular sciences*, 18(6), 1137.
- Martínez, M. C., & Andriantsitohaina, R. (2009). Reactive oxygen species and extracellular calcium signaling: Translation of this cross-talk into clinical practice. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10(2), 158–166.
- Meister, A. (1994). Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Research*, 54 (7), 1969s-1975s.
- McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide Dismutase: An Enzymic Function for Erythrocyte (Hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry* , 244(22), 6049–6055.
- Montazari, S., Sahari, M. A., & Barzegar, M. (2011). Evaluation of antioxidant activity and phenolic content of some Iranian medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research* , 5(14), 3398–3405.
- Murphy, M. P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal*, 417 (1), 1-13.
- Nađpal, JD., Lesjak, MM, Mrkonjić ZO, Majkić TM, Četojević-Simin DD, Mimica-Dukić NM, Beara IN. (2018). Phytochemical composition and in vitro functional properties of three wild rose hips and their traditional preserves. *Food Chem*, 15;241:290-300.
- Nas, S., & Kadakal, C. (2002). Kuşburnu (*Rosa canina* L.) meyvesinin bazı kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi. *Gıda*, 27(4), 235–238.
- Nawar, W. W. (1996). Lipids. In O. R. Fennema (Ed.), *Food chemistry* (3rd ed., pp. 225–319). Marcel Dekker.
- Negrean, V., Popa, M., Ionescu, C., & Mocan, A. (2024). Phytochemical profile and antioxidant potential of *Rosa canina* L. fruit extracts from different regions of Romania. *Food Chemistry* , 435, 137890.

- Newsholme, P., Cruzat, V. F., Keane, K. N., Carlessi, R., & de Bittencourt, P. I. H. (2016). Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. *Biochemical Journal*, 473 (24), 4527-4550.
- Orhan, I., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yilmaz, G., Kan, Y., ... & Choudhary, M. I. (2007). Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species. *Food Chemistry*, 103 (4), 1247-1254.
- Osaki, S., Johnson, D. A., & Frieden, E. (1966). The ferroxidase activity of ceruloplasmin. *Journal of Biological Chemistry*, 241(13), 2746–2752.
- Öz, M., Baltacı, C., Deniz, İ. (2018). Gümüşhane yöresi kuşburnu (*Rosa canina* L.) ve siyah kuşburnu (*Rosa pimpinellifolia* L.) meyvelerinin c vitamini ve şeker analizleri. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2, 284-292.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
- Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87 (1), 315-424.
- Pacifici, R. E., & Davies, K.J. (1991). Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: The free-radical theory of aging revisited. *Gerontology*, 37(1-3), 166-180.
- Packer, L., Weber, S. U., & Rimbach, G. (1995). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of aging-associated oxidative stress. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 764(1), 58–67.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2 (5), 270-278.
- Parr, A.J. and Bolwell, G.P. (2000) Phenols in the Plant and in Man. The Potential for Possible Nutritional Enhancement of the Diet by Modifying the Phenols Content or Profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 985-1012.
- Pelli, K., & Lyly, M. (2003). *Les antioxydants dans l'alimentation*. Institutes National de la Recherche Agronomique.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30 (1), 11–26. doi:10.1007/s12291-014-0446-0
- Pietta, P.-G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1042.

- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11), 1142–1145.
- Prior, R. L., & Wu, X. (2020). Phenolics and their role in antioxidants: From structure to biological activity. *Journal of Berry Research*, 10(1), 1–15.
- Radak, Z., Chung, H. Y., & Goto, S. (2008). Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(2), 153–159.
- Radi, R. (2013). Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant. *Journal of Biological Chemistry*, 288 (37), 26464–26472.
- Raha, S., & Robinson, B. H. (2000). Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends in Biochemical Sciences*, 25(10), 502–508.
- Rao, P. S., Kalva, S., Yerramilli, A., & Mamidi, S. (2011). Free radicals and tissue damage: Role of antioxidants. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(4), 2–7.
- Reisz, J. A., Bansal, N., Qian, J., Zhao, W., & Furdai, C. M. (2014). Effects of ionizing radiation on biological molecules: Mechanisms of damage and emerging methods of detection. *Antioxidants & Redox Signaling*, 21(2), 260–292.
- Reiter, R. J., Rosales-Corral, S., Tan, D. X., Jou, M. J., Galano, A., & Xu, B. (2016). Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: One of evolution's best ideas. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74(21), 3863–3881.
- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49 (11), 1603–1616.
- Samuni, Y., Goldstein, S., Dean, O. M., & Berk, M. (2013). The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830 (8), 4117–4129.
- Savic Gajic, I., Savic, I., Boskov, I., Žerajić, S., Markovic, I., & Gajic, D. (2019). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Black Locust (*Robinia pseudoacacia*) Flowers and Comparison with Conventional Methods. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 8(8), 248
- Schelterns, P., & Feldman, H. (2003). Treatment of Alzheimer's disease: Current status and new perspectives. *The Lancet Neurology*, 2(9), 539–547.
- Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. In *Diagnostics, Oxidative Prevention and Stress: Therapy* (Chapter 1, pp. 1–37). American Chemical Society.

- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., & De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(1), 91-100.
- Sharma, S., Shrivastav, B. R., & Shrivastav, A. (2013). Free radicals, antioxidants, and oxidative stress. *International Journal of Advanced Research*, 1(9), 252–258.
- Shen, Y., Li, X., Wang, J., Zhang, H., & Liu, T. (2023). Phenolic composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Rosa canina* L. fruit extracts: In vitro and in vivo evaluation. *Antioxidants*, 12(4), 891.
- Shen, Y., Li, X., Wang, J., Zhang, H., & Liu, T. (2023). Phenolic composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Rosa canina* L. fruit extracts: In vitro and in vivo evaluation. *Antioxidants*, 12(4), 891
- Shi, H., Noguchi, N., & Niki, E. (1999). Comparative study on dynamics of antioxidative action of alpha-tocopheryl hydroquinone, ubiquinol, and alpha-tocopherol against lipid peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine*, 27, 334–346.
- Sies, H. (1991). Oxidative stress: From basic research to clinical application. *American Journal of Medicine*, 91(Suppl 3C), 30-38.
- Sies, H. (2017). Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biology*, 11, 613-619.
- Silva, S., Costa, E. M., Calhau, C., Morais, R. M., & Pintado, M. E. (2007). Antioxidant activity of polyphenolic fractions from *Rosa canina* L. fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (25), 10229-10235.
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28 (1), 49-55.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16 (3), 144-158.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Soler-Rivas, C., Espín, J. C., & Wichers, H. J. (2000). An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochemical Analysis*, 11 (5), 330-338.
- Stadtman, E. R., & Levine, R. L. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, 25(3), 207–218.

- Stahl, W., & Sies, H. (2002). Introduction: Reactive oxygen species. *Research monographs*, 7, 1-2.
- Stapleton, P. D., Shah, S., Hamilton-Miller, J. M., Hara, Y., Nagaoka, Y., Kumagai, A., Uesato, S., & Taylor, P. W. (2004). Anti-*Staphylococcus aureus* activity and oxacillin resistance modulating capacity of 3-O-acyl-catechins. *International journal of antimicrobial agents*, 24(4), 374–380
- Stocker, R., Yamamoto, Y., McDonagh, A. F., Glazer, A. N., & Ames, B. N. (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 235(4792), 1043-1046.
- Taguri, T., Tanaka, T., and Kouno, I. (2006). Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 29, 2226–223
- Tohma, H., Işık, M., Korkmaz, M., Bursal, E., Gülçin, İ., & Koşal, E. (2015). Determination of antioxidant properties of *Gypsophila bitlisensis* bark. *International Journal of Pharmacology*, 11(4), 366–371.
- Tulchinsky, T. H., Varavikova, E. A., & Cohen, M. J. (2023). Environmental and occupational health. In T. H. Tulchinsky, E. A. Varavikova, & M. J. Cohen (Eds.), *The New Public Health* (4th ed., pp. 681–750). Academic Press.
- Turan, I., Demir, S., Kilinc, K., Yaman, S.O., Misir, S., Kara, H., Genc, B., Mentese, A., Aliyazicioglu, Y., Deger, O. (2018). Cytotoxic effect of *Rosa canina* extract on human colon cancer cells through repression of telomerase expression. *Journal of pharmaceutical analysis*, 8(6), 394-399. DOI: 10.1016/j.jpha.2017.12.005.
- Türkben, C., Uylaser, V., & Incedayi, B. (2010). Effects of different maturity periods and processes on nutritional components of rosehip (*Rosa canina* L.). *International Journal of Food Science & Technology*, 45 (1), 21-28.
- URL-1, Merck, [igmaaldrich.com/TR/en/products/analytical-chemistry/analytical-chromatography/solvents/ethylacetate?srsltid=AfmBOop3ZvMyFaNE0Mm0I62LVgvKvY6nS0Yp9kybzBRKU7VqN6n65U-x](https://www.sigmaaldrich.com/TR/en/products/analytical-chemistry/analytical-chromatography/solvents/ethylacetate?srsltid=AfmBOop3ZvMyFaNE0Mm0I62LVgvKvY6nS0Yp9kybzBRKU7VqN6n65U-x). 08.05.2025.
- URL-2. <https://isotope.com/dimethyl-sulfoxide-dms>o, 07.05.2025
- Vašák, M., & Meloni, G. (2017). Chemistry and biology of mammalian metallothioneins. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 16(7), 1067-1078.
- Walczak, M., & Herbet, M. (2021). Antioxidant properties and phenolic compounds of selected wild fruits with potential for functional food production. *Journal of Functional Foods*, 85, 104632.

- Wanasundara, P., & Shahidi, F. (2005). Antioxidants: Science, technology, and applications. In F. Shahidi (Ed.), *Bailey's industrial oil and fat products* (6th ed.).
- Wang, Y., et al. (2023). Nanoparticle-Based Antioxidants in Cancer Therapy . *Advanced Materials*, 35(12), 2201234.
- Weiss, J., et al. (2021). Encapsulation of Antioxidants in Nanocarriers: Principles and Applications . *Trends in Food Science & Technology*, 110, 456-467.
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(12), 4026–4037.
- Yıldırım, H. T. (1998). *Bitki örneklerinin hazırlanması ve kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi*. Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Yıldız, H., & Nergiz, C. (1996). Bir gıda maddesi olarak kuşburnu. In *Gümüşhane Kuşburnu Sempozyumu Bildiriler Kitabı* (pp. 309–318). Gümüşhane.
- Yılmaz, H., “Üzümsü meyveler”, *Metro Gastro*, 40: 54, (2007).
- Young, I. S., & Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176-186.
- Zhang, H., Tsao, R., & Thompson, J. E. (2016). Dietary polyphenols and their role in cancer prevention. *Current Opinion in Food Science*, 8 , 12-18.
- Zhang, L., et al. (2022). Lipid Nanoparticles Loaded with Vitamin C for Skin Protection . *Journal of Cosmetic Dermatology*, 21(4), 1234-1245.
- Zhao, C., Zhang, H., Wang, Y., Liu, X., & Li, T. (2019). Phenolic profiles and antioxidant activity of different *Rosa* species: A comparative study. *Antioxidants*, 8(9), 356.

ÖZGEÇMİŞ

Mohammed Abdulsamed Hafedh – Hafedh

İlk, orta ve lise eğitimini Zubeyr kentinde tamamladı. 2010-2011 yıllarında Irak'ın güneyindeki Basra kentinde bulunan Basra Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji (Mikrobiyoloji) Bölümü'nde eğitimine başlamış ve 2014-2015 yıllarında mezun olmuştur. Üniversiteden 2015 yılında mezun olduktan sonra özel bir tıbbi laboratuvarlarda çalışmaya başladı ve halen bu görevi sürdürmektedir. 2021 yılında Gümüşhane Üniversitesi Yükseköğretim Enstitüsü Biyoteknoloji Bölümü'nde yüksek lisans programına başladı.

Yayınlar:

Kılınç, K., Aygöl İ., Akmeşe, O., Baltacı, C., **Hafedh, M.A.** (2025). Evaluation of antioxidant, antimicrobial, and α -amylase enzyme inhibition properties of Rosa canina seed extracts prepared with different solvents using maceration and ultrasound-assisted extraction methods. *Turk J Anal Chem*, 7(2); 2025, 85–96.