

T.C.
ARTVİN ÇORUH ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ORMAN ENDÜSTRİ MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**OĞUL OTU (*Melissa officinalis* L.) BİTKİSİNİN KİMYASAL
İÇERİKLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS

Özkan KARAKOL

Danışman

Prof. Dr. Şule CEYLAN

ŞUBAT, 2026

BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ

Artvin Çoruh Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsüne Yüksek Lisans Tezi / Doktora Tezi olarak sunduğum “Oğul otu (*Melissa officinalis* L.) bitkisinin kimyasal içerikleri ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi” başlıklı bu çalışmayı;

☒ Baştan sona kadar danışmanım Prof Dr. Şule CEYLAN’ın sorumluluğunda tamamladığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metin içerisinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı taahhüt ederim.

☒ Turnitin benzerlik programından alınmış olan özgünlük raporuna göre tezin benzerlik oranının % 15 olduğunu beyan ederim.

Aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Lisansüstü Eğitim-Öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

☒ Tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.

☐ Tezim sadece Artvin Çoruh Üniversitesi yerleşkelerinden erişime açılabilir.

☐ Tezimin 6 ay süreyle erişime açılmasını istemiyorum. Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.

...../...../2026

Özkan KARAKOL

ORCID NO: 0000-0003-0183-1810

İmza

T.C.
ARTVİN ÇORUH ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ORMAN ENDÜSTRİ MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**OĞUL OTU (*Melissa officinalis* L.) BİTKİSİNİN KİMYASAL İÇERİKLERİ VE
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Özkan KARAKOL
ORCID NO: 0000-0003-0183-1810

Başkan : Prof. Dr. Hüseyin PEKER

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Şule CEYLAN

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Abdi ATILGAN

ONAY:

Bu Yüksek Lisans tezi, Artvin Çoruh Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından 04/02/2026 tarihinde oybirliği ile uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

.../.../2026

Prof. Dr. Kerem ÇOŞKUN

Enstitü Müdürü

ÖN SÖZ

“Oğul otu (*Melissa officinalis* L.) bitkisinin kimyasal içerikleri ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi” konusunda yapılan bu çalışma; Artvin Çoruh Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Tez konusundaki bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Şule CEYLAN’a teşekkürlerimi sunarım. Literatür araştırmalarımnda yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. Hüseyin PEKER’e teşekkür ederim.

Elde edilen verilerin analiz edilmesinde ve tezin yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Öğr. Gör. Kemal Vehbi İMAMOĞLU ve Öğr. Gör. Kamil ÖZTÜRK’e, ayrıca laboratuvar çalışmaları konusunda yardımlarını esirgemeyen Emrecan Yoldaş ACAY’a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen annem Güler KARAKOL’a, daima arkamda duran ve iyiliğimiz için çabalayan babam Durdu KARAKOL’a, varlığını her zaman hissettiren ağabeylerim Çağlar KARAKOL ve Tahir Selçuk KARAKOL’a, bu çalışmada bir çok yardımı dokunan ve yardımını esirgemeyen Dr. Deniztan ULUTAŞ KARAKOL’a içten teşekkürlerimi sunarım. Bu süreçte sabrı, anlayışı, desteği ve birikimiyle her zaman yanımda olan eşim Dr. Seda KAVALLI KARAKOL’a da ayrıca teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasının, tıbbi ve aromatik bitkiler alanında yapılacak ileriki araştırmalara katkı sağlamasını temenni ederim.

Özkan KARAKOL

Artvin – 2026

İÇİNDEKİLER

KISALTMA DİZİNİ	VII
ŞEKİL LİSTESİ	VIII
TABLO LİSTESİ.....	IX
ÖZET	X
ABSTRACT	XI
1 GİRİŞ.....	1
1.1. Genel Bilgiler	1
1.2. Fenolik Bileşikler	4
1.2.1. Flavonoidler	4
1.2.2. Fenolik Asitler.....	5
1.3. Antioksidanlar	5
1.4. Antimikrobiyal Aktivite	6
1.5. Uçucu Yağ İçeriği ve Bileşen Profili.....	8
1.5.1. Uçucu Yağların Karakteristik Yapısı ve Özellikleri	8
1.5.2. Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonunun Tanımlanması.....	8
1.6. <i>Melissa officinalis</i> L. Bitkisinin Genel Özellikleri.....	10
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
2.1. Materyal.....	12
2.1.1. Çalışmada Kullanılan Test Mikroorganizmaları	12
2.1.2. Mikroorganizmaların Çoğaltılmasında Kullanılan Besiyerleri	13
2.1.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	14
2.1.4. Deneylerde Kullanılan Bazı Ekipmanlar.....	14
2.1.5. Analizlerde Kullanılan Bitkinin Ekstrakt Çözeltilisinin Hazırlanışı	15
2.2. Antioksidan Analizleri	15
2.2.1. Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesine Yönelik Analiz.....	16
2.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesine Yönelik Analiz.....	17
2.2.3. CUPRAC (Bakır(II) İyonu İndirgeme) Testi ile Antioksidan Ölçümü.....	18
2.2.4. FRAP (Fe ³⁺ İndirgeme Gücü) Analizi.....	18
2.2.5. DPPH• Analizi ile Serbest Radikal Giderme Etkisinin Ölçülmesi	19
2.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	20
2.3.1. Bakterilerin İncelenmesinde Kullanılan Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi.....	20

2.3.2. Maya Suşlarının İncelenmesinde Kullanılan Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi.....	21
2.4. Uçucu Yağ Profili Üzerine Yapılan Analizler.....	21
2.4.1. SPME Yöntemiyle Numune Ekstraksiyon Prosedürü.....	21
2.4.2. Gaz Kromatografisi–Kütle Spektrometresi (GC/MS) Analizi	22
2.4.3. Tespit Edilen Bileşenlerin Kimyasal Tanımlanması	23
2.5. HPLC-UV (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi–Ultraviyole Dedektör) Uygulamasıyla Fenolik Profilin Belirlenmesi	24
3. BULGULAR.....	26
3.1. Antioksidan Gücün Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar	26
3.1.1. Toplam Fenolik Maddeye İlişkin Ölçüm Bulguları	26
3.1.2. Toplam Flavonoid Maddeye İlişkin Ölçüm Bulgular	27
3.1.3. FRAP Ölçümüne İlişkin Bulgular	28
3.1.4. CUPRAC Ölçümüne İlişkin Bulgular	29
3.1.5. DPPH• Ölçümüne İlişkin Bulgular	30
3.2. Antimikrobiyal Etki Analizi ve Bulgular	31
3.3. Uçucu Yağ İçeriğine İlişkin Bulgular	33
3.4. HPLC-UV ile Fenolik İçerik Üzerine Bulgular	36
4. TARTIŞMA.....	40
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
KAYNAKLAR.....	52
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	58

KISALTMA DİZİNİ

CFU	Toplam bakteri sayımının birimi
CUPRAC	Cu (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
dk	Dakika
DMSO	Dimetil sülfoksit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FeSO ₄ .7H ₂ O	Demir (II) sülfat hepta hidrat
FRAP	Fe ⁺³ indirgeme gücü
g	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GC/MS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
HPLC-UV	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IC ₅₀	Yüzde 50'lik kısım için inhibisyon konsantrasyonu
mg	Miligram
MHA	Mueller hinton agar
MHB	Mueller-Hinton broth
MİK	Minimum inhibe edici konsantrasyon
mL	Mililitre
mmol	Milimol
PDA	Patates dekstroza agar
QE	Kuersetin
RI	Alıkonma indeksi
RT	Alıkonma zamanı
SPME	Katı faz mikroekstraksiyon yöntemi
TAB	Tıbbi ve aromatik bitki
TEAC	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
TPTZ	Tripiridiltriazin
Troloks®	6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
UV/VIS	Ultraviyole ve görünür ışık
µg	Mikrogram
µmol	Mikromol

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. 1 Klorojenik asidin kimyasal formülü.....	5
Şekil 1. 2. <i>Melissa officinalis</i> L. (Oğul otu) bitkisi	10
Şekil 2. 1 Çalışmada kullanılan <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisine ait örnek	12
Şekil 2. 2. <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin ekstraksiyon işlemi	15
Şekil 2. 3. <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin antioksidan aktivite deney çalışmaları	16
Şekil 2. 4. Analizlerde kullanılan UV/VIS (Ultraviyole–Görünür Bölge) spektrofotometre cihazı.....	16
Şekil 2. 5 Tripiridil triazin (TPTZ).....	19
Şekil 2. 6 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2. 7 <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin antimikrobiyal aktivite deneysel çalışmaları 20	
Şekil 2. 8 Doğrudan daldırma SPME’nin genel prensibinin şematik gösterimi. (Weggler ve ark., 2020).....	22
Şekil 2. 9 Analizlerde kullanılan GC/MS (Gaz Kromatografisi–Kütle Spektrometresi) cihazı.....	23
Şekil 2. 10 <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin ekstraksiyon ve çözücü uzaklaştırma işlemi	24
Şekil 2. 11 Analizlerde kullanılan HPLC-UV cihazı	25
Şekil 3. 1 Toplam fenolik madde tayininde kullanılan grafik	27
Şekil 3. 2 Toplam flavonoid madde tayininde kullanılan kalibrasyon grafiği	28
Şekil 3. 3 FRAP analizinde kullanılan kalibrasyon grafiği	29
Şekil 3. 4 CUPRAC analizinde kullanılan kalibrasyon grafiği	29
Şekil 3. 5 DPPH radikal süpürme aktivitesi sonuç grafiği	31
Şekil 3. 6 HPLC-UV cihazında 280 nm dalga boyunda elde edilen 15 adet standart fenolik bileşiğe ait kromatogram	37
Şekil 3. 7 HPLC-UV cihazında 315 nm dalga boyunda elde edilen 15 adet standart fenolik bileşiğin kromatogramı.....	38
Şekil 3. 8 <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin 280 nm’de elde edilen HPLC-UV kromatogramı	39
Şekil 3. 9 <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin 315 nm’de elde edilen HPLC-UV kromatogramı	39

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2. 1 Araştırmada yararlanılan ekipmanlar	14
Tablo 2. 2 <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin toplam fenolik madde içeriği için kullanılan deneysel koşullar	17
Tablo 2. 3 <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin toplam flavonoid madde içeriği için kullanılan deneysel koşullar	17
Tablo 2. 4 <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin CUPRAC tayini için kullanılan deneysel koşullar	18
Tablo 2. 5 <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin FRAP tayini için kullanılan deneysel koşullar	19
Tablo 3. 1 <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin antioksidan aktivite deneylerinden elde edilen sonuçlar.....	30
Tablo 3. 2 <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin DPPH• analizinden elde edilen sonuçlar....	31
Tablo 3. 3 <i>Melissa officinalis</i> L. bitkisinin antimikrobiyal aktivite sonuçları (µg/mL) ..	32
Tablo 3. 4 <i>Melissa officinalis</i> L. uçucu yağında GC/MS analizi ile belirlenen bileşenler.....	33
Tablo 3. 5 HPLC analizinde yararlanılan standart fenoliklerin formülleri.....	36
Tablo 3. 6 280 nm dalga boyunda belirlenen standart fenoliklerin tutunma zamanları ..	38
Tablo 3. 7 315 nm dalga boyunda tespit edilen standart fenoliklerin tutunma zamanları	38

OĞUL OTU (*Melissa officinalis* L.) BİTKİSİNİN KİMYASAL İÇERİKLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Özkan KARAKOL

Bu çalışmada, *Melissa officinalis* L. bitkisinin antioksidan, antimikrobiyal, fenolik bileşen ve uçucu yağ profilleri bütüncül bir yaklaşımla değerlendirilmiştir. Araştırmada ilk olarak bitkinin metanolik ekstraktı hazırlanmış ve antioksidan kapasitesi çeşitli spektrofotometrik yöntemlerle analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre toplam fenolik madde içeriği 7.78 ± 0.43 mg GAE/g, toplam flavonoid içeriği ise 5.09 ± 0.06 mg kuersetin/g olarak belirlenmiş; bu değerler oğul otunun yüksek fenolik zenginliğini ve buna bağlı antioksidan potansiyelini ortaya koymuştur. DPPH• analizi sonucunda IC_{50} değerinin 0.91 mg/mL olması, bitkinin güçlü radikal süpürme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca FRAP ve CUPRAC analizlerinden sırasıyla 0.13 μ mol $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ /g numune ve 0.65 mmol TEAC/g değerleri elde edilmiştir.

Antimikrobiyal analizlerde *Melissa officinalis* L. metanolik ekstraktının bakteri ve maya türlerine karşı 2000–4000 μ g/mL aralığında değişen MİK değerleri sergilediği belirlenmiştir. Özellikle *Candida albicans* ve *Candida krusei* üzerinde 2000 μ g/mL düzeyinde, *Candida glabrata* üzerinde ise 4000 μ g/mL düzeyinde antifungal aktivite gözlenmesi, oğul otunun maya türlerine karşı seçici bir etki gösterebileceğini düşündürmektedir. GC-MS analizleri sonucunda toplam 27 uçucu yağ bileşiği tanımlanmış; menthalactone, (Z)-anethole, pentadecanolide, isoisopulegol, menthone ve limonene en baskın bileşenler olarak saptanmıştır. HPLC-UV analizinde ise standart fenoliklerden yalnızca klorojenik asit belirlenmiş ve miktarı 45.52 ppm (%40.3) olarak hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, Antioksidan, Fenolik bileşen, GC-MS, Melisa otu, *Melissa officinalis* L., Uçucu yağ

INVESTIGATION OF CHEMICAL CONTENTS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF LEMON BALM (*Melissa officinalis* L.) PLANT

Özkan KARAKOL

In this study, the antioxidant, antimicrobial, phenolic compound, and essential oil profiles of *Melissa officinalis* L. were evaluated with a holistic approach. The plant material was first subjected to extraction using methanol, and its antioxidant capacity was analyzed by various spectrophotometric methods. The total phenolic content was determined as 7.78 ± 0.43 mg GAE/g, and the total flavonoid content as 5.09 ± 0.06 mg quercetin/g. These values demonstrate the high phenolic content and associated antioxidant potential of lemon balm. The IC_{50} value of 0.91 mg/mL as a result of DPPH• analysis indicated that the plant has a strong radical scavenging capacity. Furthermore, FRAP and CUPRAC analyses yielded values of 0.13 μ mol FeSO₄.7H₂O/g sample and 0.65 mmol TEAC/g, respectively.

Antimicrobial analyses revealed that the methanolic extractive of *Melissa officinalis* L. exhibited MIC values ranging from 2000 to 4000 μ g/mL against bacteria and yeast species. Antifungal activity was observed especially against *Candida albicans* and *Candida krusei* at 2000 μ g/mL, and against *Candida glabrata* at 4000 μ g/mL, suggesting that lemon balm may have a selective effect against yeast species. GC-MS analyses identified a total of 27 essential oil compounds; menthalactone, (Z)-anethole, pentadecanolide, isoisopulegol, menthone, and limonene were the most dominant components. HPLC-UV analysis identified only chlorogenic acid among standard phenolics, and its amount was calculated as 45.52 ppm (40.3%).

Keywords: Antimicrobial, Antioxidant, Essential oil, GC-MS, Lemon balm, *Melissa officinalis* L., Phenolic component

1.1. Genel Bilgiler

Bitkiler, yüzyıllardır insanlar tarafından hem besin kaynağı hem de hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde doğal şifa unsurları olarak kullanılmıştır. Bu kapsamda yaprak, çiçek, meyve ve kök gibi farklı bitki kısımları, geleneksel tıp uygulamalarında önemli bir yer tutmuştur. Tıbbi ve aromatik bitkiler arasında yer alan *Melissa officinalis* L. (oğul otu), özellikle sedatif, sakinleştirici ve anksiyolitik etkileriyle öne çıkmaktadır. Hoş aromatik özellikleri sayesinde gıda endüstrisinde de yaygın kullanım alanı bulan bu bitki, hem geleneksel hem de modern tıp uygulamalarında önemli bir potansiyele sahiptir (Kennedy ve ark., 2004).

Modern tıbbın bazı durumlarda yetersiz kalması, insanları alternatif tedavi yöntemlerine yöneltmiştir. Özellikle antibiyotiklerin aşırı kullanımı sonucunda mikroorganizmaların direnç geliştirmesi, araştırmacıları bitkisel kaynaklı tedavilere yönlendirmiştir. Tıbbi ve aromatik bitkilerin, farmakolojik etkileri ve düşük yan etki profilleri nedeniyle yeniden ilgi görmeye başladığı günümüzde, oğul otu gibi bitkiler üzerine yapılan bilimsel çalışmaların sayısında artış gözlenmektedir (Shahina Naz ve ark., 2007).

Günümüzde gelişen teknoloji ve değişen çevresel koşullar, insanların pek çok zararlı faktöre maruz kalmasına yol açmaktadır. Zirai ilaçlar, çevre kirliliği, UV ışınları ve çeşitli kimyasallar bu etkenler arasında sayılabilirken; yoğun iş temposu ve hayat koşulları da psikolojik yükün ağırlaşmasına katkıda bulunmaktadır. Bu dış çevre ve psikolojik koşullar vücutta oksidatif stresin gelişmesini tetikleyebilmektedir. Serbest radikaller, hücrelerde var olan molekülleri deforme ederek çeşitli sağlık problemlerine yol açabilmekte; özellikle hücre ölümü ve kanser gibi ciddi sonuçlara sebep olabilmektedir. (Hochstein ve Atallah, 1988; Benzie, 2003).

Serbest radikallerin sebep oldukları oksidatif reaksiyonlara karşı direnç gösteren organik bileşiklere antioksidan bileşikler denmektedir. Yaşlanma, kanser ve diyabet gibi tedavisi

zor olan problemlere yol açan serbest radikal mekanizmalı reaksiyonların önlenmesi ancak antioksidan bileşikler yardımıyla mümkün olmaktadır (Halliwell, 1992).

Bu süreçlerin olumsuz etkilerini azaltmada antioksidan savunma sistemi ile antioksidan içeren gıdaların rolü oldukça önemlidir. Antioksidan bileşikler, serbest radikalleri etkisiz hâle getirerek hücrelerin zarar görmesini önler. Özellikle antioksidan bakımından zengin besinlerin tüketilmesi, bu zararlı etkilerin azalmasına katkı sağlayarak çeşitli hastalıkların ortaya çıkma riskini düşürebilir. Kısacası, oksidatif stresin ve serbest radikal oluşumunun kontrol altına alınması, dengeli bir beslenme düzeni ve yeterli antioksidan alımıyla mümkün olmaktadır (Pellegrini ve ark., 2009).

Dünya genelinde yaklaşık 250 bin farklı bitki türü bulunmaktadır ve bunların 35 bin ila 70 bininin tedavi amaçlı kullanıldığı bilinmektedir (Mukerji, 1997). Modern tıpta kullanılan birçok ilacın kökeninin bitkisel olması, tıbbi bitkilerin değerini bir kez daha gözler önüne sermektedir. Oğul otu da bu kapsamda değerlendirilen bitkilerden biridir ve uçucu yağlar, fenolik bileşikler ile flavonoidler gibi aktif bileşenleri sayesinde çeşitli tıbbi ve aromatik uygulamalarda kullanılmaktadır (Miguel, 2010).

Fenolik bileşikler, oğul otunun farmakolojik özelliklerini büyük ölçüde destekleyen bileşenlerdir. Bu doğal antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek hücresel hasarı önleme potansiyeline sahiptir. Bu özelliği sayesinde oksidatif stres kaynaklı hastalıkların tedavisinde faydalı olabileceği düşünülmektedir (Shahidi ve Naczki, 1995). DPPH, FRAP ve CUPRAC gibi farklı antioksidan kapasite belirleme yöntemleriyle gerçekleştirilen analizler, *Melissa officinalis* L.'nin belirgin düzeyde yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Apak ve ark., 2004).

Oğul otunun içeriğindeki uçucu yağlar da oldukça değerlidir. Sitral, sitronellal ve geraniol gibi monoterpenler, bu yağların ana bileşenlerini oluşturur. Bu bileşenler, antimikrobiyal, antifungal ve antiviral özellikler sergilemektedir. Ayrıca uçucu yağların sakinleştirici etkileri, oğul otunun depresyon ve anksiyete gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmasına olanak tanımaktadır. Antimikrobiyal etkileri açısından değerlendirildiğinde, disk difüzyon ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) yöntemleriyle gerçekleştirilen çalışmalar, oğul otunun hem bakterilere hem de maya türlerine karşı etkili olduğunu göstermektedir. Özellikle *Candida* türleri üzerindeki antifungal etkisi dikkat çekicidir (Miguel, 2010).

Geleneksel tıpta, oğul otu çok yönlü bir bitki olarak karşımıza çıkar. Ortaçağ'da zihinsel rahatlama sağlamak ve hafızayı güçlendirmek için kullanılmış, Osmanlı döneminde ise mide rahatsızlıklarını hafifletmek ve uyku düzenini sağlamak amacıyla tüketilmiştir. Günümüzde oğul otunun çayı, hem sindirimi kolaylaştırıcı hem de yatıştırıcı bir içecek olarak yaygın bir şekilde tercih edilmektedir (Diken, 2009).

Son yıllarda, organik ve doğal ürünlere olan talep artışı, oğul otu gibi bitkilerin kullanımını daha da yaygınlaştırmıştır. Doğal antioksidanlar, hem sağlık hem de gıda endüstrisi için büyük bir potansiyele sahiptir. Oğul otunun içerdiği fenolik bileşikler, bu potansiyelin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Ayrıca, fitokimya ve fitoterapi alanındaki gelişmeler, bu bitkinin kimyasal bileşenlerinin daha detaylı bir şekilde incelenmesine olanak tanımış ve yeni kullanım alanlarının ortaya çıkmasını sağlamıştır (Miguel, 2010).

Melissa officinalis L., geleneksel ve modern tıbbın kesişim noktasında yer alır. Hem şifalı özellikleri hem de aromatik yapısıyla dikkat çeken bu bitki, medikal ve farmasötik uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca, yapılan çalışmalarda oğul otunun antiviral özellikler sergilediği bilinmektedir (Behzadi ve ark., 2023).

Melissa officinalis L.'nin gelecekteki potansiyeli oldukça yüksektir. Gelişen analitik ve biyoteknolojik yöntemler ile artan bilimsel çalışmalar, bu bitkinin biyokimyasal yapısının ve etki mekanizmalarının daha ayrıntılı biçimde anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. Özellikle antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri sayesinde oğul otu, modern ilaç sanayisi ve fonksiyonel ürün geliştirme çalışmaları için önemli bir doğal kaynak olma özelliğini sürdürmektedir (Shakeri ve ark., 2016).

Sonuç olarak, oğul otunun kimyasal yapısı ve biyolojik özellikleri, onun sadece geleneksel bir bitki olmanın ötesine geçtiğini ve modern sağlık çözümlerinde önemli bir yer edindiğini ortaya koymaktadır. Doğal ürünlere olan ilginin giderek artmasıyla, oğul otunun önemi ve kullanımı da paralel şekilde artacaktır (Diken, 2009).

Bu bilgiler doğrultusunda çalışmanın amacı; tıbbi ve aromatik bir bitki olan *Melissa officinalis* L.'nin antioksidan kapasitesini (DPPH●, FRAP, toplam flavonoid, toplam polifenol ve CUPRAC analizleri ile), antimikrobiyal aktivitesini (Disk difüzyon ve MİK yöntemleri ile), uçucu yağ bileşenlerini (SPME ve GC-MS teknikleri ile) ve fenolik bileşen profilini (HPLC-UV yöntemi ile) ortaya koymaktır.

1.2. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkilerde doğal olarak bulunan, yapısal unsurlarına ve halka yapısına göre isimlendirilen, bir veya birden fazla hidroksil (-OH) grubu içeren aromatik bileşiklerdir. Bu bileşikler genellikle suda çözünür ve antioksidan özellikleri ile bilinir. Bitkisel fenolikler, insan sağlığına faydaları ile öne çıkan ilk bileşikler arasında yer alır. Fenolik bileşikler, proteinlerle kompleks oluşturarak çökelti oluşturma kapasitesine sahip olup, bu durum gıda endüstrisinde önemli bir rol oynamaktadır (Cemeroğlu ve Cemeroğlu, 1998).

Polifenollerin Sınıflandırılması

Polifenoller, temel olarak flavonoidler (flavanoller, flavonoller, flavonlar, flavanonlar, isoflavanonlar ve antosiyanidinler) ve flavonoid olmayanlar (fenolik asitler, stilbenler ve lignanlar) şeklinde iki ana gruba ayrılır (Shahidi ve Yeo, 2016). Meyve ve sebzelerde az miktarda da olsa bulunurlar ve yapıları hidroksil grupları ve aromatik halkaları ile karakterize edilir.

1.2.1. Flavonoidler

Fenolik bileşikler içinde en önemli grubu oluşturan flavonoidler, yapısal olarak flavonlar, flavonoller, flavanonlar, antosiyanidinler, kateşinler ve izoflavonoidler olmak üzere altı gruba ayrılmaktadır. Flavonoidler, genellikle tüm bitki dokularında sentezlenebilir ve gıdalarda yaygın olarak bulunurlar (Shahidi ve Ho, 2005; Vermerris ve Nicholson, 2006).

Flavonoidler, C6-C3-C6 yapısına sahip olup, iki fenil halkası ile bir propan zincirini içermektedir. Genellikle diyetle alınan flavonoidler glikozid şeklindedir ve bağırsaklardan emilimleri daha zor gerçekleşir (De Pascual-Teresa ve ark., 2007). Flavonoidlerin sağlığa etkileri arasında bağışıklık sistemini güçlendirme, romatizmal hastalıkları tedavi etme ve kanser hücrelerinin artışı engellemenin bulunduğu belirtilmektedir (Spencer, 2007).

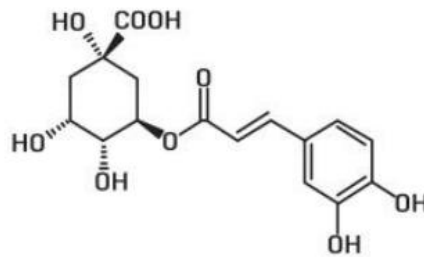
Fenolik bileşenler, meyve ve sebzelerde az oranlarda bulunmalarına rağmen, doğal antioksidanlar olarak önemli işlevler üstlenirler. Bitkiler, stres altındayken fenolik bileşiklerini sentezleyerek kendilerini koruma mekanizmalarını devreye sokarlar. Fenolik bileşiklerin sağlık üzerindeki olumlu etkileri, bilimsel araştırmalarla desteklenmekte ve gıda endüstrisinde kullanılma potansiyeli artmaktadır (Atak ve ark., 2017; Halliwell, 2000).

1.2.2. Fenolik Asitler

Fenolik asitler, aromatik karbonik asitler olarak bilinir ve serbest halde bulunanları hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinamik asitler olarak iki grupta incelenir (Acar ve Gökmen, 2005). Fenolik maddelerin alt grubunda yer alan bu asitler, fenil-propanoid metabolizmasından türemektedir (Anklam, 1998). Özellikle gıda endüstrisinde, ilaç sanayisinde ve tıp alanında fenolik bileşiklerin araştırmalarında önemli bir artış gözlemlenmiştir. Polifenoller, bitkilerde çeşitli etkileri olan önemli bileşikler olarak öne çıkar; antioksidan, anti-viral ve anti-inflamatuar etkileri ile insan sağlığı açısından büyük önem taşırlar (Fang ve Bhandari, 2010).

Klorojenik Asit

Klorojenik asitler, doğada yaygın olarak bulunan fenolik bileşiklerdir. Bazı türleri, insan beslenmesinde sık karşılaşılan polifenoller arasında yer almakta olup, en bilinen kaynaklarından biri kahvedir (Nardini ve ark., 2002). Bu bileşik; yaban mersini, elma, patates, kahve ve çay gibi pek çok meyve ve sebzede bulunur. Doğada klorojenik asit yönünden en zengin kaynak ise yeşil kahve çekirdekleridir. Ayrıca klorojenik asit; antiapoptotik, antienflamatuar, antifibrotik ve güçlü antioksidan özellikleri ile dikkat çeker (Domitrović ve ark., 2014). Kahve çekirdeklerinde doğal olarak bulunan klorojenik asitler, yüksek antioksidan kapasiteye sahip önemli bileşenlerdendir (Şekil 1.1).



Şekil 1. 1 Klorojenik asidin kimyasal formülü

1.3. Antioksidanlar

Serbest radikaller, çevresel faktörler ve sağlıklı yaşam tarzları sonucu vücutta oluşan, hücrelere zarar verebilen reaktif moleküllerdir. Soluduğumuz kirli hava, sağlıklı besin gruplarındaki zararlı maddeler, yanlış beslenme ve fiziksel aktivite yetersizliği serbest radikal oluşumunu tetiklemektedir. Serbest radikallerin vücutta oluşturduğu zararlı

etkiler, hücrelerin DNA'sına, proteinlerine ve lipidlerine zarar vererek hücre ölümü ve yaşlanmayı hızlandırmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013).

Bu bağlamda, antioksidanlar serbest radikallere karşı koruyucu bir işlev görmektedir. Antioksidanlar, hücrelerin sağlığını korumak, hastalıklara karşı direnç sağlamak ve yaşlanmayı geciktirmek için önemlidir. Antioksidanların etkileri arasında serbest radikallerin inaktive edilmesi, zincir reaksiyonlarının kırılması ve hücresel hasarların onarılması bulunmaktadır (Dündar ve Aslan, 1999; Pham-Huy ve ark., 2008).

Gıda sanayisinde antioksidan kullanımı, lipid oksidasyonunu azaltmak, besin kalitesini sürdürmek ve gıdanın raf ömrünü uzatmak amacıyla gereklidir. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne göre, antioksidanlar “yağların ransidleşmesi ve renk farklılıkları gibi oksidasyonun neden olduğu bozulmaları önleyerek, besinlerin raf ömürlerinin uzatılmasını sağlayan maddeler” olarak tanımlanmaktadır (İşbilir, 2008; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013).

Antioksidanların kaynakları, doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Doğal antioksidanlar arasında flavonoidler, fenoller, vitaminler ve karotenoidler gibi bileşikler yer alırken; sentetik antioksidanlar arasında BHT (Bütillenmiş Hidroksi Toluen), BHA (Bütillenmiş Hidroksi Anisol) ve TBHQ (Tersiyer Bütil Hidrokinon) gibi maddeler bulunmaktadır (Huang ve ark., 2005). Ancak sentetik antioksidanların aşırı dozda alınması insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedir (Branen, 1975; Halliwell ve Gutteridge, 1996).

Sonuç olarak, antioksidanlar serbest radikallere karşı savunma mekanizması oluşturarak sağlığımızı korumakta önemli bir rol oynamaktadır. Doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanların beslenmemizdeki yeri büyükken, sentetik alternatiflerin dikkatli bir şekilde kullanılmasına ihtiyaç vardır. Doğru beslenme alışkanlıkları ve antioksidan bakımından zengin gıdaların tüketimi, hastalıklara yakalanma riskini azaltarak daha sağlıklı bir yaşam sürmemizi sağlamaktadır.

1.4. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite, mikroorganizmaların (bakteri, virüs, mantar ve protozoa gibi) gelişimini inhibe eden veya öldüren maddelerin etki gücünü ifade eder. Gıda sanayisinde, antimikrobiyal maddeler, gıda ürünlerinin bozulmasını önlemek ve insan sağlığını korumak amacıyla kullanılmaktadır. Antimikrobiyal maddeler, doğal ve sentetik olmak

üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Doğal antimikrobiyal maddeler arasında bitki özütleri, esansiyel yağlar ve fenolik bileşikler yer alırken; sentetik antimikrobiyal maddeler, çeşitli kimyasal bileşenler içermektedir (Branen ve Davidson, 1983; Nostro ve ark., 2000).

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde kullanılan çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Disk difüzyon, sıvı seyreltme ve mikrobiyal sayım gibi yöntemler, antimikrobiyal etkinin değerlendirilmesinde sıkça başvurulmuş tekniklerdir. Disk difüzyon yöntemi, belirli bir antimikrobiyal madde ile inoküle edilmiş bir agar yüzeyine yerleştirilen disklerin etrafında oluşan inhibisyon alanlarının ölçülmesiyle gerçekleştirilir. Bu yöntemde, maddelerin etkinliği, inhibisyon alanının çapı ile belirlenir (Esen, 2008; Alzokery ve Nakahara, 2003).

Antimikrobiyal aktivite, genellikle üç ana mekanizma ile gerçekleşir: hücre duvarı sentezinin inhibisyonu, hücre membranı üzerindeki etkinin sağlanması ve DNA/RNA sentezinin engellenmesi. Antibakteriyel maddeler, bakterilerin hücre duvarı yapısını bozarak veya zarı geçirgen hale getirerek mikroorganizmaların yaşamsal fonksiyonlarını bozarlar. Ayrıca, bazı antimikrobiyal bileşenler, bakteriyel DNA ve RNA sentezini inhibe ederek, mikroorganizmaların üremesini engeller (Akyüz, 2007; Öztürk, 2009).

Bitki kökenli antimikrobiyal maddeler, gıda güvenliğini sağlama konusunda büyük önem taşımaktadır. Çeşitli bitki özütleri, antibakteriyel özellikleri ile öne çıkmaktadır. Örneğin, sarımsak (*Allium sativum*), zencefil (*Zingiber officinale*) ve hardal (*Brassica spp.*) gibi bitkiler, çeşitli mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici etkiler göstermektedir (Burt, 2014). Bununla birlikte, bitki özütlerinin etkinliği, içerdikleri aktif bileşenlerin konsantrasyonuna, türüne ve hazırlanma yöntemine bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

Antimikrobiyal direnç, özellikle antibiyotiklerin aşırı kullanımı ve yanlış uygulamaları sonucunda ortaya çıkan önemli bir sağlık sorunudur. Bu durum, hem insan sağlığı hem de gıda güvenliği açısından ciddi tehditler oluşturmaktadır. Antimikrobiyal direncin önlenmesi amacıyla, doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin kullanımı, sentetik antimikrobiyal maddelere alternatif olarak giderek daha fazla önerilmektedir (Toroğlu ve Çenet, 2006).

Sonuç olarak, antimikrobiyal aktivite, gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından kritik bir öneme sahiptir. Doğal antimikrobiyal maddelerin araştırılması ve kullanımı, mikroorganizmaların gelişimini önlemek ve antibiyotik direncini azaltmak için etkili bir

strateji olarak değerlendirilmektedir. Bitkisel antimikrobiyal ajanların, geleneksel antibiyotiklerle birleştirilmesi, mikroorganizmalara karşı daha etkili bir koruma sağlayabilir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013; Nazri ve ark., 2011).

1.5. Uçucu Yağ İçeriği ve Bileşen Profili

1.5.1. Uçucu Yağların Karakteristik Yapısı ve Özellikleri

Uçucu yağlar, antik çağlardan itibaren başta Mısır, Yunan ve Roma medeniyetleri olmak üzere birçok uygarlıkta tedavi edici özellikleri nedeniyle aromaterapi, masaj ve hidroterapi gibi uygulamalarda kullanılmıştır. Günümüzde ise bu doğal bileşikler, hoş kokuları ve biyolojik aktiviteleri sayesinde kozmetik, parfümeri ve kişisel bakım ürünleri endüstrilerinde önemli bir hammadde konumundadır (Bakkali ve ark., 2008). Son yıllarda uçucu yağların önemi, antimikrobiyal, antioksidan ve antienflamatuvar özelliklerinin belirlenmesiyle birlikte ilaç geliştirme ve biyoteknolojik uygulamalarda daha da artmıştır (Menichini ve ark., 2011).

Uçucu yağlar, oda sıcaklığında çoğunlukla sıvı halde bulunan, karakteristik ve hoş kokulara sahip doğal bileşiklerdir. Bu özelliklerinden dolayı eterik yağlar veya esanslar olarak da adlandırılmaktadır. Genellikle sudan daha düşük yoğunluğa sahip olan uçucu yağlar optik aktiflik gösterebilmekte ve yüksek kırılma indisleri ile karakterize edilmektedir. Işık, hava ve oksijenle temas ettiklerinde oksidasyon ve reçineleşme eğilimi gösterdiklerinden, kimyasal stabilitelerinin korunması amacıyla koyu renkli ve hava geçirmez kaplarda saklanması önerilmektedir (Bakkali ve ark., 2008). Uçucu olmaları nedeniyle buharlaştıktan sonra kalıntı bırakmazlar. Genellikle renksiz yapıda olmalarına karşın, bazı türlerde mavi, yeşil veya açık sarı tonları da görülebilir (Kılıç, 2008).

1.5.2. Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonunun Tanımlanması

Bitkilerdeki pek çok doğal bileşik terpen yapılıdır ve bu nedenle bitkisel kökenli uçucu yağların ana bileşenlerini terpenler ve terpen türevleri oluşturmaktadır (Dhifi ve ark., 2016). Uçucu yağlarda bulunan bu bileşikler, çoğunlukla su distilasyonu yoluyla elde edilir ve bitkiye özgü kokunun oluşumundan sorumludur (Linskens ve Jackson, 1997).

Terpenler, organik çözücülerde çözünür, ancak suda çözünmeyen yapılardır. Bitkinin türüne bağlı olarak, terpenler bitkinin tamamında veya belirli organlarında birikirler. Özellikle Rosaceae, Lamiaceae, Apiaceae, Asteraceae ve Rutaceae familyaları, yüksek

miktarda uçucu bileşik içeren bitki grupları arasında yer almaktadır (Linskens ve Jackson, 1997).

Uçucu yağlar, biyoaktif bileşenler açısından zengindir. Bu bileşenler, bitkilerin sağlık ve iyilik hallerine katkıda bulunur ve hücreler arasında bilgi taşınmasında önemli rol oynar (Linskens ve Jackson, 1997). Ayrıca, hormon dengesi üzerinde etkili olabilecek bazı bileşenleri içerirler, bu da onların tıbbi kullanımını destekler (Çelik ve Çelik, 2007).

Terpenler

Terpenler, beş karbon atomundan oluşan izopren birimlerinin birleşmesiyle meydana gelen doğal bileşiklerdir. Terpenlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri, içerdiği izopren birimi sayısına göre değişiklik gösterir. Bu özellik, bileşiklerin yapısal çeşitliliğini ve biyolojik işlevlerini anlamada temel bir kriterdir. Uçucu yağlarda yer alan terpenler, içerdiği karbon atomu ve uçuculuk düzeyine göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılır:

Monoterpenler (C_{10}): Yüksek oranda uçucu olup genellikle karakteristik koku veren bileşiklerdir.

Seskiterpenler (C_{15}): Monoterpenlere göre daha büyük moleküllerdir ve çoğunlukla daha ağır kokular taşırlar.

Diterpenler (C_{20}): Uçuculuğu daha düşük, yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir.

Triterpenler (C_{30}) ve Steroller: Genellikle uçucu olmayan, ancak bitkilerin yapısal bütünlüğünde önemli rol oynayan bileşiklerdir.

Karotenoidler: Bitkilere renk veren pigment yapısındaki bileşiklerdir ve terpen türevlerindendir.

Bu terpenik yapıların oranı, uçucu yağların biyolojik aktivitesi, koku profili ve endüstriyel kullanım alanlarını belirleyen önemli bir faktördür (Linskens ve Jackson, 1997).

Uçucu yağlarda en yoğun olarak bulunan bileşik grubu terpenlerdir, ancak bunlara ek olarak aldehytler, esterler, alkoller, fenoller, azot ve kükürt içeren bileşikler de bulunabilmektedir (Dhifi ve ark., 2016). Bu kimyasal yapılar, yaprak yüzeyinde ya da bitki hücresinin içinde lokalize olabilir. Genellikle serbest formda, bazen de organik asitlerle, glikozitlerle veya proteinlerle bağlı şekilde bulunurlar.

1.6. *Melissa officinalis* L. Bitkisinin Genel Özellikleri

Melissa officinalis L., halk arasında melisa, oğul otu ya da limon otu olarak bilinen, çok yıllık, aromatik ve otsu bir bitkidir. Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasına ait olan bu tür, morfolojik olarak kalp biçimli, dişli kenarlı ve üst yüzeyi hafif tüylü yapraklarıyla tanınır; karakteristik limon kokusu, bitkinin en ayırt edici özelliğidir (Şekil 1.2) (Moradkhani ve ark., 2010).

Oğul otu bitkisi kökeni Güney Avrupa ve Akdeniz havzasına dayanan, çok yıllık ve otsu bir bitkidir. Bitki, limon benzeri karakteristik aromatik kokusuyla tanınmakta olup Haziran–Eylül ayları arasında çiçeklenmektedir. Oğul otunun kendine özgü aromatik kokusu, bünyesinde bulunan uçucu yağlardan kaynaklanmaktadır. Literatürde uçucu yağ oranının genellikle %0,01–0,25 aralığında değiştiği bildirilmekte ve yağın temel bileşenlerini terpenik aldehytler ile alkol türevleri oluşturmaktadır. Bitki, hem tıbbi-aromatik bitki üretimi hem de süs bitkisi yetiştiriciliği kapsamında geniş bir kullanım alanı bulmaktadır (Ceylan, 1997). Oğul otu bitkisi, iyi drene edilmiş, organik maddece zengin ve pH'sı 5–7 arasında değişen topraklarda en iyi gelişimi gösterir; güneşli veya yarı gölgeli bölgeleri tercih eder (Moradkhani ve ark., 2010).

Oğul otu bitkisi farklı etnomedikal sistemlerde uzun yıllardır kullanılan tıbbi bir bitkidir. Geleneksel kullanımlarının birçoğu günümüzde yapılan farmakolojik çalışmalarla doğrulanmış olup, özellikle anksiyete ve merkezi sinir sistemiyle ilişkili bazı bozuklukların tedavisinde potansiyel bir bitki olarak değerlendirilmektedir. Günümüzde de melisa bitkisi, farmasötik formülasyonlarda, fonksiyonel gıdalarda ve aromaterapide sıklıkla kullanılmaktadır (Shakeri ve ark., 2016).



Şekil 1. 2. *Melissa officinalis* L. (Oğul otu) bitkisi

Zengin fitokimyasal içeriği ve ortaya konan biyolojik potansiyelleri sayesinde oğul otu bitkisi dñnya genelinde geleneksel ve tıbbi kullanımı yaygın olan önemli bir bitki olarak değerdendirilmektedir. Lamiaceae familyasına ait bitkilerde; uçucu yağlar, monoterpenik aldehitler ve seskiterpenler, ayrıca diterpenler, triterpenler, tanenler, fenolik asitler ve flavonoidler gibi biyolojik ve ekonomik açıdan değerli çeşitli sekonder metabolitlerin bulunduğu rapor edilmiştir. Bu zengin kimyasal çeşitlilik, oğul otunun farmakolojik potansiyelinin ve geniş kullanım alanlarının temelini oluşturmaktadır (Carnat ve ark., 1998; Moradkhani ve ark., 2010).

Farmakolojik çalışmalar, oğul otu bitkisinin antioksidan, antimikrobiyal ve antienflamatuvar aktivitelere sahip olduğunu; ayrıca antispazmodik, anksiyolitik ve nöroprotektif etkiler göstererek merkezi sinir sistemi üzerinde olumlu etkiler oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Bu biyolojik aktiviteler, bitkinin sadece geleneksel tıpta değil, aynı zamanda modern farmasötik, kozmetik ve gıda endüstrisinde de değerdendirilen önemli bir doğal terapötik ajan olarak öne çıkmasını sağlamaktadır (Shakeri ve ark., 2016).

Sonuç olarak oğul otu bitkisi zengin fitokimyasal içeriği, güçlü biyolojik aktiviteleri ve geniş terapötik potansiyeliyle, doğanın en değerli tıbbi bitkilerinden biri olarak hem geçmişin hem de günümüzün tedavi yaklaşımlarında kalıcı bir yere sahiptir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Melissa officinalis L. örneği, Mardin ilinde faaliyet gösteren yerel bir aktardan temin edilmiştir. Elde edilen bitki materyali, laboratuvar ortamında öğütülerek ince toz formuna getirilmiş ve tüm analizler bu toz formdaki örnekler üzerinden gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.1).



Şekil 2. 1 Çalışmada kullanılan *Melissa officinalis* L. bitkisine ait örnek

2.1.1. Çalışmada Kullanılan Test Mikroorganizmaları

Bu araştırmada, *Melissa officinalis* L.'nin antimikrobiyal potansiyelinin değerlendirilmesinde kullanılan fungal ve bakteriyel mikroorganizmaların saf izolatları, çeşitli ulusal ve uluslararası kültür koleksiyonlarından temin edilmiştir. Söz konusu mikroorganizmalar, Amerika Birleşik Devletleri Tarım Araştırma Servisi Kültür Koleksiyonu (NRRL), Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu (ATCC), Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ve bazı ticari kültür depolarından elde edilmiştir.

Çalışmada bakteri suşları olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Proteus vulgaris* NRRL B-123, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* NRRL B-4378, *Streptomyces griseolus* NRRL B-1062, *Pseudomonas citronellosis* NRRL B-2504, *Bacillus velezensis* NRRL B-14580, *Gordonia rubripertincta* NRRL B-3906 ve *Escherichia coli* ATCC 8739 kullanılmıştır.

Maya türleri olarak ise *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC 2001 ve *Candida krusei* ATCC 6258 izolatlarından yararlanılmıştır.

Tüm mikroorganizma stokları, %15 gliserol içeren besiyerlerinde -85°C’de saklanmıştır. Kültürlerin sürekliliğinin sağlanabilmesi amacıyla Nutrient Agar (NA) (Merck 1.05450.0500), Patates Dekstroz Agar (PDA) (Merck 1.10130), Mueller Hinton Agar (MHA) (Sigma M-9552) ve Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) (Fluka 84088) gibi besi ortamları kullanılmıştır.

Belirli aralıklarla alınan alt kültürler +4°C’de korunmuş, antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde ise uygun besi ortamlarının yanı sıra mikrodilüsyon yöntemi için RPMI 1640 besiyeri tercih edilmiştir.

2.1.2. Mikroorganizmaların Çoğaltılmasında Kullanılan Besiyerleri

Bu araştırmada kullanılan mikroorganizma suşları, ilgili depo kültürlerinden temin edilmiştir. Bakteriyel izolatlar, Mueller Hinton Agar (MHA) ortamında; fungal izolatlar ise önceden hazırlanmış agar petri kutularından elde edilmiştir. Elde edilen fungal izolatlar, Patates Dekstroz Agar (PDA) besiyerine aktarılmış; bakteri izolatları ise Mueller Hinton Broth (MHB) (Merck 1.10293) sıvı besi ortamına inoküle edilerek çoğaltılmıştır (Özşen, 2011). *Melissa officinalis* L. bitkisinin belirlenen bakteri ve fungus türleri üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin incelenmesinde, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından yayımlanan standart prosedürler esas alınmıştır. Deneysel çalışmalarda, mikrodilüsyon yöntemi kullanılmış ve bakteriler için M100-S16, funguslar için M38-A2 ve mayalar için M27-A2 protokollerinde tanımlanan koşullarda bazı uyarlamalar yapılarak testler yürütülmüştür (M38-A2, 2008; M100-S16, 2006; M27-A2, 2002). Antimikrobiyal aktivite testlerinde referans ilaç olarak antifungal deneylerde ketokonazol ve amfoterisin B, antibakteriyel deneylerde ise tetrasiklin ve kloramfenikol standart bileşikleri kullanılmıştır.

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada gerçekleştirilen tüm deneylerde kullanılan kimyasal maddeler analitik saflık derecesine sahiptir. Çalışmada yararlanılan başlıca kimyasallar arasında neokuproin, metanol, etil asetat, sodyum hidroksit, etanol ve dietil eter yer almakta olup, bu maddeler Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Almanya) ve Merck (Darmstadt, Almanya) gibi güvenilir tedarikçilerden temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan fenol reaktifi, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH●), TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-S-triazin) ve Folin–Ciocalteu’s reaktifi, Fluka Chemie GmbH (Buchs, İsviçre) firmasından sağlanmıştır. Ayrıca Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametil kroman-2-karboksilik asit) standardı, Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Almanya)’dan satın alınmıştır. Analizlerin yürütülmesinde kullanılan diğer kimyasallar arasında karbon tetraklorür, sülfürik asit, ferrik klorür, glasiyal asetik asit, potasyum klorür, hidroklorik asit ve sodyum asetat yer almakta olup, bu maddelerin tamamı Merck (Darmstadt, Almanya) şirketinden satın alınmıştır.

2.1.4. Deneylerde Kullanılan Bazı Ekipmanlar

Bu araştırmada kullanılan cihazlar, ekipmanlar ve bunlara ait marka/model bilgileri Tablo 2.1’de özetlenmiştir. Çalışmada kullanılan tüm cihazlar, analizlerin güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini sağlamak amacıyla düzenli kalibrasyondan geçirilmiştir.

Tablo 2. 1 Araştırmada yararlanılan ekipmanlar

Cihaz Adı	Marka / Model
HPLC	IKA, China
GC-MS	Shimadzu QP 2010, Japan
Evaporatör	Elite LaChrom, Hitachi, Japonya
Spektrofotometre Cihazı	Shimadzu, Japan
Çalkalama Cihazı	Heidolph
Yüksek Hassasiyetli Terazî	IKA, China
Karıştırmalı Su Banyosu	Nüve, ST402, Ankara, Türkiye
Vorteks Karıştırıcı	Labnet VX 100, Inc. NJ, USA
Manyetik Karıştırıcı	IKA, China
Yarı otomatik Pipet	Eppendorf
Etüv	Binder ED 53, Germany

2.1.5. Analizlerde Kullanılan Bitkinin Ekstrakt Çözeltisinin Hazırlanışı

Bu çalışmada kullanılan *Melissa officinalis* L. örneği, Mardin ilinden temin edilmiştir. Bitki örnekleri, analiz öncesinde bir bıçaklı blender yardımıyla ince toz haline getirilmiştir. Tartım işlemi sonucunda yaklaşık 10 gram bitki örneği alınarak ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur.

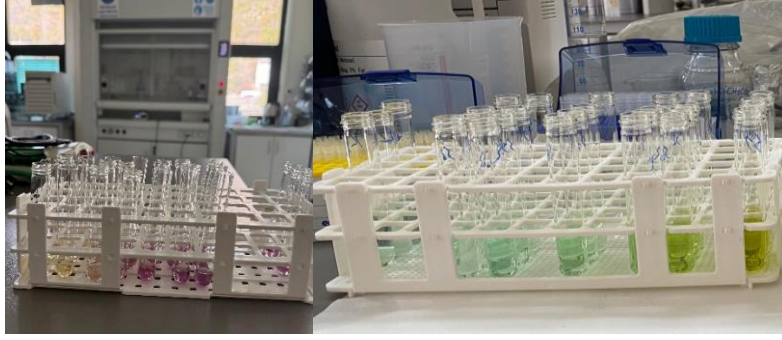
Ekstraksiyon için, toz haline getirilen bitki materyali üzerine yaklaşık 40 mL metanol çözücüsü eklenmiş ve karışım oda sıcaklığında, 24 saat boyunca çalkalayıcı cihazında sürekli karıştırılmıştır. Süre sonunda elde edilen süspansiyon, süzgeç kâğıdı kullanılarak süzölmüş ve hacim sabitleninceye kadar yeniden metanol ilavesi yapılmıştır (Şekil 2.2). Elde edilen *Melissa officinalis* L. ekstraktı, çeşitli kimyasal analizlerde kullanılmıştır. Ekstraktın toplam flavonoid ile toplam polifenol miktarları tespit edilmiş; bunun yanı sıra CUPRAC, DPPH• ve FRAP yöntemleri kullanılarak antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Buna ek olarak, ekstraktın antimikrobiyal potansiyelini değerlendirmek amacıyla disk difüzyon ve minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) yöntemleri uygulanmıştır.



Şekil 2. 2. *Melissa officinalis* L. bitkisinin ekstraksiyon işlemi

2.2. Antioksidan Analizleri

Bu çalışmada *Melissa officinalis* L. bitkisinin antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla farklı analitik yöntemlerden yararlanılmıştır. Bitki ekstraktının toplam flavonoid ve fenolik madde içerikleri ile antioksidan aktiviteleri, CUPRAC, DPPH ve FRAP yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2. 3. *Melissa officinalis* L. bitkisinin antioksidan aktivite deney çalışmaları

Elde edilen veriler, örneklerin UV/VIS Spektrofotometre (Şekil 2.4) cihazında ölçülen absorbans değişimleri temel alınarak analiz edilmiştir. Bu sayede, *Melissa officinalis* L. ekstraktının serbest radikal giderme kapasitesi ve indirgeme gücü nicel olarak belirlenmiştir.



Şekil 2. 4. Analizlerde kullanılan UV/VIS (Ultraviyole–Görünür Bölge) spektrofotometre cihazı

Bu çalışmada, antioksidan aktiviteyi belirlemeye yönelik analiz yöntemleri her biri için ayrı alt başlıklar altında ayrıntılı biçimde açıklanmıştır.

2.2.1. Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesine Yönelik Analiz

Melissa officinalis L. bitkisinin toplam fenolik bileşen miktarı, spektrofotometrik analiz yöntemi esas alınarak belirlenmiştir (Slinkard ve Singleton, 1977). Analiz sonucunda elde edilen veriler Tablo 2.2’de özetlenmiştir.

Uygulanan yönteme göre, örneklerdeki çözünür fenolik bileşikler, Folin–Ciocalteu reaktifi ile reaksiyona sokularak 760 nm dalga boyunda renkli bir kompleks oluşturur. Bu renk değişimi, örneklerdeki fenolik madde miktarının belirlenmesinde temel alınmıştır. Kuantifikasyon aşamasında, gallik asit standardı kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve bitki ekstraktından elde edilen absorbans değerleri bu eğriye göre değerlendirilmiştir.

Tablo 2. 2 *Melissa officinalis* L. bitkisinin toplam fenolik madde içeriği için kullanılan deneysel koşullar

	Kör	Standart	Numune
Saf Su	700 µL	680 µL	680 µL
Standart (çeşitli konsantrasyonlarda)	-	20 µL	-
Numune	-	-	20 µL
0,5 N Folin Reaktifi	400 µL	400 µL	400 µL
Tüpleri karıştırıp, 3 dakikalık inkübasyondan sonra			
%10 Na ₂ CO ₃	400 µL	400 µL	400 µL
Örnekler 2 saat sonra absorbans 760 nm absorbans kullanılarak ölçüm yapılır.			

2.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesine Yönelik Analiz

Melissa officinalis L. bitkisinin toplam flavonoid içeriği, spektrofotometrik yöntem esas alınarak belirlenmiştir (Zhishen ve ark., 1999). Bu analiz sonucunda elde edilen bulgular Tablo 2.3'te sunulmuştur. Bu yöntemin temelinde, flavon ve flavonol türü bileşiklerde yer alan hidroksil ve keto yapısındaki moleküllerin asidik koşullarda alüminyum klorür (AlCl₃) ile etkileşerek kararlı kompleksler meydana getirmesi prensibi yatmaktadır. Buna ek olarak, flavonoidlerin yapısında bulunan dihidroksil gruplarıyla alüminyum klorür reaksiyona girerek renkli komplekslerin oluşumuna neden olur. Analizlerde kuersetin standart madde olarak kullanılmış; 1-0,03125 mg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda ölçümler gerçekleştirilmiştir. Bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve örneklerin flavonoid miktarları bu eğriye göre hesaplanmıştır.

Tablo 2. 3 *Melissa officinalis* L. bitkisinin toplam flavonoid madde içeriği için kullanılan deneysel koşullar

	Kör	Standart	Numune
Numune	—	—	500 µL
Standart	—	500 µL	—
Metanol	4800 µL	4300 µL	4300 µL
%10 Al(NO ₃) ₃	100 µL	100 µL	100 µL
1M NH ₄ CH ₃ COO ⁻	100 µL	100 µL	100 µL
40 dakika beklemeden sonra 415 nm absorbansta ölçümler yapılır.			

2.2.3. CUPRAC (Bakır(II) İyonu İndirgeme) Testi ile Antioksidan Ölçümü

Bu analizde, CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) yöntemi kullanılarak *Melissa officinalis* L. ekstraktının indirgeme gücü belirlenmiştir. Bu yöntemin temeli, neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) adlı bileşiğin bakır (II) iyonlarıyla moleküler yapı oluşturma yeteneğine dayanmaktadır (Apak ve ark., 2004). Reaksiyon sonucunda oluşan Cu(II)-neokuproin (Cu(II)-Nc) kompleksi, 450 nm dalga boyunda absorbanans göstermektedir. Ekstrakttaki antioksidan bileşikler, bu kompleksi Cu(I)-neokuproin [Cu(I)-Nc] formuna indirger; böylece elektron verme kapasiteleri ölçülerek antioksidan aktiviteleri nicel olarak belirlenir. Deneylerde Troloks® standart bileşiği referans olarak kullanılmıştır. Ölçümler 1-0,03125 mM konsantrasyon aralığında gerçekleştirilmiş ve sonuçlar TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi) birimi cinsinden ifade edilmiştir (Tablo 2.4).

Tablo 2. 4 *Melissa officinalis* L. bitkisinin CUPRAC tayini için kullanılan deneysel koşullar

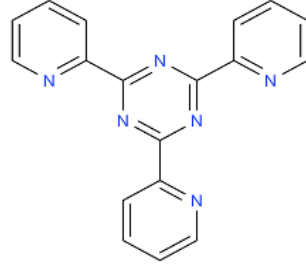
	Kör	Standart	Numune
10mM CuCl ₂	1 mL	1 mL	1 mL
7,5 mM Neocuproin	1 mL	1 mL	1 mL
NH ₄ CH ₃ COO ⁻ Tamponu (1M pH 7,0)	1 mL	1 mL	1 mL
Standart	-	0.2 mL	-
Numune	-	-	0.2 mL
Su	1.1 mL	0.9 mL	0.9 mL

60 dakika beklemeden sonra 450 nm absorbansta ölçümler yapılır.

2.2.4. FRAP (Fe³⁺ İndirgeme Gücü) Analizi

Melissa officinalis L. ekstraktının indirgeme kapasitesinin belirlenmesinde, geliştirilen FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) yöntemi uygulanmıştır (Benzie ve Strain, 1996). Bu yöntemin temeli, Fe³⁺ (ferrik) iyonlarının tripiridiltiazin (TPTZ) (Şekil 2.5) bileşiği ile kompleks oluşturarak indirgenmesi prensibine dayanmaktadır (Tablo 2.5). Analiz sürecinde, düşük pH koşullarında bulunan Fe³⁺-TPTZ (ferrik tripiridiltiazin) kompleksi, ekstraktta yer alan antioksidan bileşikler tarafından Fe²⁺-TPTZ (ferröz) formuna indirgenmektedir. Bu indirgenmiş kompleksin 593 nm dalga boyunda ölçülen absorbanans değeri, örneğin toplam indirgeme kapasitesinin göstergesi olarak kabul edilir (Benzie ve Strain, 1996; Huang ve ark., 2005).

Melissa officinalis L. bitkisinin metanol ekstraktı ile gerçekleştirilen analiz sonucunda elde edilen FRAP değeri, TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi) cinsinden hesaplanmış ve sonuçlar μmol Troloks/g birimiyle ifade edilmiştir.



Şekil 2. 5 Tripiridiltriazin (TPTZ)

Tablo 2. 5 *Melissa officinalis* L. bitkisinin FRAP tayini için kullanılan deneysel koşullar

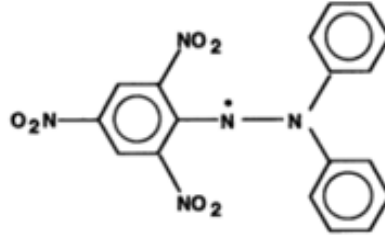
	Kör	Standart	Numune
FRAP Reaktifi	3 mL	3 mL	3 mL
Numune	-	-	100 μL
Troloks (Değişen kons.)	-	100 μL	-
Destile Su	100 μL	-	-
4 dakika bekletildikten sonra 593 nm absorbans kullanılarak ölçüm yapılır.			

2.2.5. DPPH• Analizi ile Serbest Radikal Giderme Etkisinin Ölçülmesi

Melissa officinalis L. ekstraktının serbest radikal giderme kapasitesi, tanımlanan DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Şekil 2.6) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Molyneux, 2004). Deneyde, 4 mg/100 mL derişimde metanol içinde hazırlanmış DPPH• çözeltisi kullanılmıştır. Bitki ekstraktının farklı konsantrasyonları hazırlanmış ve her birine 750 μL hacminde DPPH• çözeltisi ilave edilmiştir.

Karışımlar oda sıcaklığında, karanlık ortamda ve 1 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Sürenin sonunda, DPPH• radikalinin maksimum absorbans gösterdiği 517 nm dalga boyunda ölçümler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen absorbans değerleri, farklı konsantrasyonlara karşılık gelen radikal süpürme yüzdeleri kullanılarak grafiksel olarak değerlendirilmiştir. Grafik sonuçlarına dayanarak, %50 inhibisyon değerini temsil eden IC_{50} değerleri mg/mL cinsinden hesaplanmıştır. Deneylerde referans standart olarak Troloks® bileşiği kullanılmıştır. Elde edilen verilere göre, bitki ekstraktının

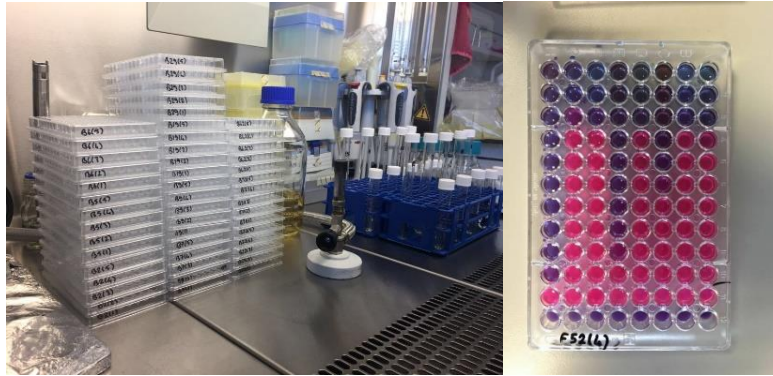
konsantrasyonuna karşılık gelen değerler, standart Troloks'a ne kadar yakınsa, DPPH● radikalini nötralize etme kapasitesi de o oranda yüksek bulunmuştur.



Şekil 2. 6 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) kimyasal yapısı

2.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Melissa officinalis L. bitkisinin metanol ekstraktının antibakteriyel ve antifungal özellikleri in vitro koşullarda değerlendirilmiştir. Bu amaçla, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi uygulanmıştır (Amsterdam, 1996). Tetrasiklin ve kloramfenikol standart antibiyotik olarak antibakteriyel etkinin belirlenmesinde kullanılmış; antifungal analizlerde ise ketokonazol ve amfoterisin B referans bileşikler tercih edilmiştir. Tüm standart kimyasallar Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Analizler, elde edilen sonuçların güvenilirliğini artırmak amacıyla iki bağımsız test şeklinde yürütülmüş ve her bir deney iki kez tekrarlanarak doğrulanmıştır (Şekil 2.7).



Şekil 2. 7 *Melissa officinalis* L. bitkisinin antimikrobiyal aktivite deneysel çalışmaları

2.3.1. Bakterilerin İncelenmesinde Kullanılan Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Melissa officinalis L. ekstraktının antibakteriyel etkisinin değerlendirilmesinde, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından yayımlanan M100-S16 standart protokolü temel alınarak sıvı mikrodilüsyon yöntemi uygulanmıştır (M100-S16, 2006).

Bitki ekstraktının minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri, 96 oyuklu mikrotiter plaklar kullanılarak belirlenmiştir. Bakteriyel kültürler, çift kuvvetli Mueller-Hinton Broth (MHB) besiyerinde (Merck, Almanya) bir gece boyunca inkübe edilmiştir. Elde edilen süspansiyonların yoğunluğu, MacFarland No: 0.5 standardı esas alınarak yaklaşık 10^8 CFU/mL düzeyine ayarlanmıştır. Bitki ekstraktı, %10 dimetilsülfoksit (DMSO) içinde çözülmüş ve MHB ortamında 15,63-4000 µg/mL aralığında seyreltmeler hazırlanmıştır. Negatif kontrol olarak yalnızca DMSO kullanılmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar, iki kez 100 µL MHB ile seyreltilmiş ve bakteri izolatları ile inoküle edilmiştir. Plaklar, 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, canlılık kontrolü amacıyla resazurin çözeltisi (Sigma-Aldrich) eklenmiş ve renk değişimi gözlenmiştir. MİK değeri, bakteriyel büyümeyi tamamen inhibe eden en düşük ekstrakt konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Elde edilen MİK sonuçları, amfoterisin B ve kloramfenikol standart bileşikleriyle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

2.3.2. Maya Suşlarının İncelenmesinde Kullanılan Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

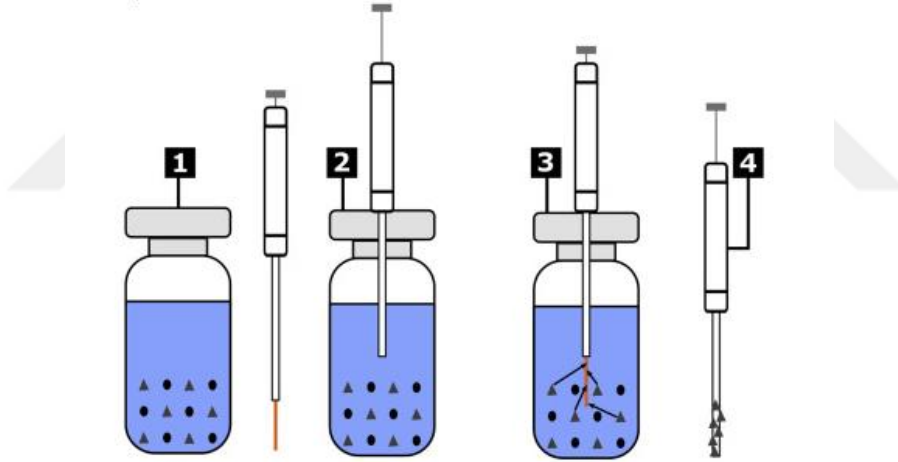
Melissa officinalis L. ekstraktının maya türleri üzerindeki antifungal etkisi, CLSI M27-A2 protokolü esas alınarak sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir (M27-A2, 2002). Analizler, 96 oyuklu mikrotiter plaklar kullanılarak ve besi ortamı olarak RPMI-1640 (Sigma, Almanya) besiyeri tercih edilerek gerçekleştirilmiştir. Deneylerde, $0.5-2.5 \times 10^3$ hücre/mL yoğunluğunda hazırlanan maya süspansiyonları (MacFarland 0.5 standardı) ile inokülasyon yapılmıştır. Bitki ekstraktı, 250–2000 µg/mL aralığında olacak şekilde son konsantrasyon değerleriyle test edilmiştir. Plaklar 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmış; ardından, büyümenin değerlendirilmesi için resazurin çözeltisi eklenmiştir. MİK değeri, hücre çoğalmasını tamamen engelleyen en düşük ekstrakt konsantrasyonu olarak tanımlanmıştır. Elde edilen sonuçlar, %100 büyüme inhibisyonu sağlayan minimum değer üzerinden hesaplanarak ifade edilmiştir.

2.4. Uçucu Yağ Profili Üzerine Yapılan Analizler

2.4.1. SPME Yöntemiyle Numune Ekstraksiyon Prosedürü

Uçucu yağ tayininde tercih edilen katı faz mikroekstraksiyon (SPME) yöntemi; çözücü kullanımına ihtiyaç duymaması, kısa sürede uygulanabilir olması, ekonomikliği ve yüksek verim sağlaması gibi avantajları nedeniyle diğer uçucu yağ analiz yöntemlerine göre üstünlük göstermektedir (Şekil 2.8). Bu çalışmada, *Melissa officinalis* L. bitkisinden

5 g örnek alınmış ve bıçaklı öğütücü yardımıyla küçük parçalara ayrılmıştır. Hazırlanan örnekler, silikon-kauçuk septumlu kapakla kapatılmış cam şişelere aktarılmış ve her bir şişeye 10 mL hacminde bitki materyali eklenmiştir. Şişenin üst kısmında kalan boşluk bölgesine katı faz mikroekstraksiyon aparatı yerleştirilmiştir. Uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu amacıyla, bu boşluk kısmına DVB/Karboxen/PDMS kaplamalı lif takılmıştır. Ekstraksiyon öncesinde, SPME lifleri 250°C’de 5 dakika boyunca GC şırıngası içinde şartlandırılmıştır. Ekstraksiyon işlemi, manyetik karıştırıcı üzerinde 80°C sıcaklıkta, 5–10 dakika süreyle karıştırılarak gerçekleştirilmiştir. Uçucu bileşikler, ekstraksiyon lifine adsorbe edildikten sonra gaz kromatografisi (GC) enjektörüne aktarılmıştır. Analizlerde akış hızı 1 mL/dk olan helyumdan faydalanılmıştır. Enjeksiyon işlemi 250°C’de ve 1:30 bölme oranında (split mode) yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, *Melissa officinalis* L. bitkisinin uçucu bileşen profilini ortaya koyacak şekilde raporlanmıştır. Analizde kullanılan ekstraksiyon süresi, sıcaklık koşulları ve bekleme süreleri bildirilen yöntem referans alınarak optimize edilmiştir (Renda ve ark. 2016).



Şekil 2. 8 Doğrudan daldırma SPME’nin genel prensibinin şematik gösterimi. (Weggler ve ark., 2020)

2.4.2. Gaz Kromatografisi–Kütle Spektrometresi (GC/MS) Analizi

Melissa officinalis L. bitkisinin uçucu yağ bileşenlerinin tanımlanmasında Agilent 5977B GC/MS gaz kromatografisi (Şekil 2.9) kullanılmıştır. Analizlerde, 30 m × 0.25 mm iç çap ve 0.25 µm film kalınlığına sahip TRB-5MS kılcal kolon tercih edilmiştir. Gaz kromatografisi sistemi, yine Agilent markasına ait 5977B GC/MS kütle dedektörü ile entegre çalışacak şekilde yapılandırılmıştır. Analiz işlemleri 1:30 bölme oranında (split mode) gerçekleştirilmiştir. Kullanılan fırın programı; başlangıçta 40°C’de 2 dakika bekleme, ardından sıcaklığın 240°C’ye yükseltilmesi ve 3 dakika bu sıcaklıkta

sabitlenmesi, sonrasında ise 250°C’de 4 dakika süreyle ısıtma adımlarını içermektedir. Böylece toplam analiz süresi 55 dakika olarak tamamlanmıştır. Cihazın kütle transfer hattı sıcaklığı 200°C, enjektör sıcaklığı ise 250°C olarak ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum (%99.999 saflıkta) kullanılmış ve akış hızı 1 mL/dk olacak şekilde sabitlenmiştir. İyonizasyon işlemi elektron çarpan iyonizasyon (EI) modunda yürütülmüş, iyonizasyon enerjisi 70 elektronvolt (eV) olarak belirlenmiştir. Kütle spektrumları 40-400 m/z (kütle/yük oranı) aralığında kaydedilmiştir. Tüm analiz koşulları, Renda ve ark. (2016) tarafından önerilen yöntem temel alınarak optimize edilmiştir.



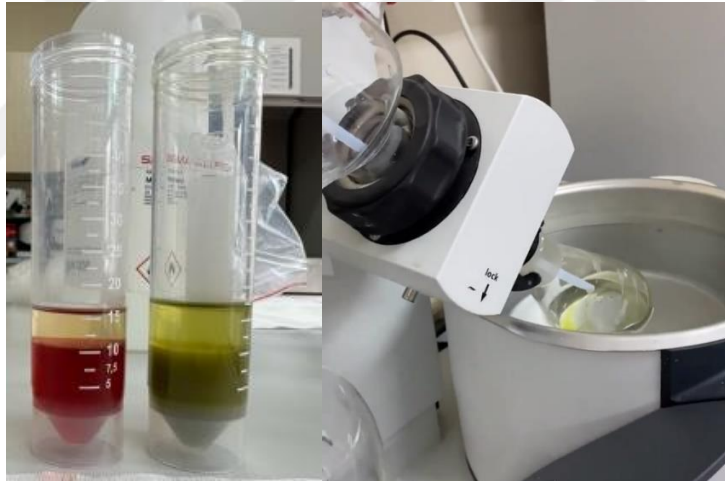
Şekil 2. 9 Analizlerde kullanılan GC/MS (Gaz Kromatografisi–Kütle Spektrometresi) cihazı

2.4.3. Tespit Edilen Bileşenlerin Kimyasal Tanımlanması

Melissa officinalis L. bitkisinden elde edilen uçucu yağ bileşenlerinin tanımlanmasında, C₇’den C₃₀’a kadar olan n-alkan referans serisi kullanılmıştır. Bileşiklerin alıkonma indeksleri (retention index), Kovats yöntemi esas alınarak hesaplanmıştır (Kovats, 1958). Elde edilen uçucu bileşenlerin kimyasal yapıları, kütle spektrumlarının karşılaştırılması yoluyla belirlenmiştir. Tanımlama aşamasında, elde edilen spektral veriler FFNSC 1.3 (Flavor and Fragrance Natural and Synthetic Compounds) kütüphane veritabanı ile karşılaştırılarak doğrulanmıştır (FFNSC, 2008).

2.5. HPLC-UV (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi–Ultraviyole Dedektör) Uygulamasıyla Fenolik Profilin Belirlenmesi

Melissa officinalis L. bitkisinin fenolik bileşiklerinin tayininde kullanılmak üzere, bitki ekstraktı metanol çözücüsünde 24 saat süreyle çalkalayıcıda karıştırılarak hazırlanmıştır. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra karışım, süzgeç kâğıdı kullanılarak süzölmüş ve süzöntüdeki metanol çözücüsü evaporatör yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Elde edilen kalıntı, 10 mL distile su (pH = 2) içerisinde çözülmüş; ardından sırasıyla dietil eter (5 mL) ve etil asetat (5 mL) çözücöleriyle, her biri üç kez tekrarlanacak şekilde ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır (Şekil 2.10). Elde edilen organik faz, evaporatör balonuna alınarak 45°C sıcaklıkta bulunan döner buharlaştırıcı (rotavapor) sisteminde çözücölerden arındırılmıştır. Son aşamada, evaporatör balonunda kalan kuru özüt üzerine 2 mL metanol ilave edilerek kalıntı tamamen çözülmüştür. Elde edilen çözelti, 0.45 µm membran filtreden süzölmüş ve fenolik bileşiklerin kantitatif analizi HPLC-UV cihazı (Şekil 2.11) ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2. 10 *Melissa officinalis* L. bitkisinin ekstraksiyon ve çözücü uzaklaştırma işlemi

HPLC-UV analizi, UV-VIS dedektör içeren Agilent 1260 Infinity II model cihaz kullanılarak (Şekil 2.11), 280–315 nm dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Analizlerde, ters faz C18 kolonu (150 mm × 4.6 mm, 5 µm; Fortis) kullanılmış ve ayırım işlemi, asetik asit, saf su ve asetonitril içeren gradient elüsyon programı ile yürütölmüştür. Sistemdeki A rezervuarı, %2 oranında asetik asit çözeltisi içerirken; B rezervuarı, %70–30 oranında asetonitril–saf su karışımından oluşmaktadır. Numunelerin ve standart çözeltilerin enjeksiyon hacmi 20 µL, hareketli fazın akış hızı 0.75 mL/dak, kolon sıcaklığı ise 30°C olarak optimize edilmiştir. Tüm analizler, Can ve ark. tarafından bildirilen metodoloji esas alınarak gerçekleştirilmiştir (Can ve ark., 2015).



Şekil 2. 11 Analizlerde kullanılan HPLC-UV cihazı

3. BULGULAR

3.1. Antioksidan Gücün Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar

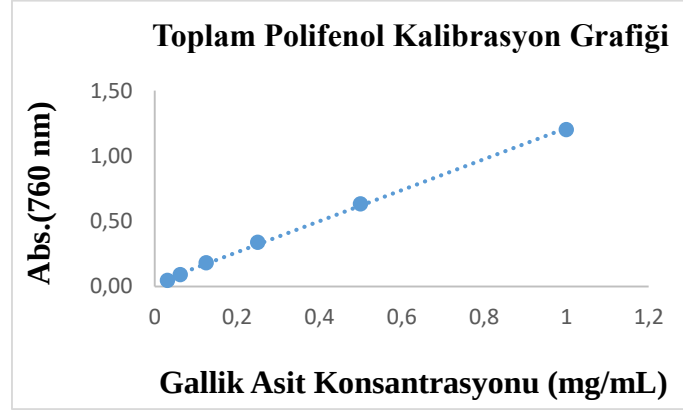
Bu tezde, *Melissa officinalis* L. bitkisinin antioksidan kapasitesi farklı spektrofotometrik yöntemler kullanılarak belirlenmiştir. Antioksidan aktivite analizlerinde UV–VIS spektrofotometrik yöntem temel alınmış ve elde edilen veriler doğrultusunda bitki ekstraktının antioksidan bileşen içerikleri hesaplanmıştır. Metanol ekstraktı üzerinde gerçekleştirilen analizler sonucunda; toplam flavonoid miktarı mg kuersetin eşdeğeri/g numune (mg QE/g), toplam fenolik madde içeriği mg gallik asit eşdeğeri/g numune (mg GAE/g), CUPRAC değeri mmol Troloks eşdeğeri/g numune (mmol TE/g), DPPH• radikal süpürme aktivitesi IC₅₀ (mg/mL) ve FRAP değeri µmol Troloks eşdeğeri/g numune (µmol TE/g) olarak hesaplanmıştır.

Analizlerden elde edilen tüm nicel veriler Tablo 3.1, Tablo 3.1 ve Şekil 3.1’de özetlenmiştir. Bu sonuçlar, *Melissa officinalis* L. ekstraktının antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ve fenolik bileşenlerce zengin bir kimyasal profili bulunduğunu göstermektedir.

3.1.1. Toplam Fenolik Maddeye İlişkin Ölçüm Bulguları

Analizlerin ilk aşamasında, *Melissa officinalis* L. bitkisinin metanolik ekstraktı hazırlanarak toplam fenolik madde tayini gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşik miktarının belirlenmesinde gallik asit standart madde olarak kullanılmıştır. Standart eğrinin oluşturulması aşamasında, konsantrasyon değerleri (x-ekseninde) ve 760 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri (y-ekseninde) esas alınmıştır. Elde edilen ölçümler doğrultusunda, konsantrasyon ile absorbans arasında güçlü bir doğrusal ilişki saptanmış ve bu ilişkiye ait doğrusal regresyon denklemi $y = 1.1865x + 0.0253$ şeklinde elde edilmiştir. Korelasyon katsayısı ($R^2 = 0.9991$) olarak belirlenmiş olup, bu değer ölçüm güvenilirliğinin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir (Şekil 3.1). Bu standart kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak, 100 g bitki numunesindeki toplam fenolik bileşik miktarı mg gallik asit eşdeğeri (mg GAE/100 g) olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar, *Melissa*

officinalis L. ekstraktının fenolik bileşikler bakımından zengin bir içeriğe sahip olduğunu göstermektedir.

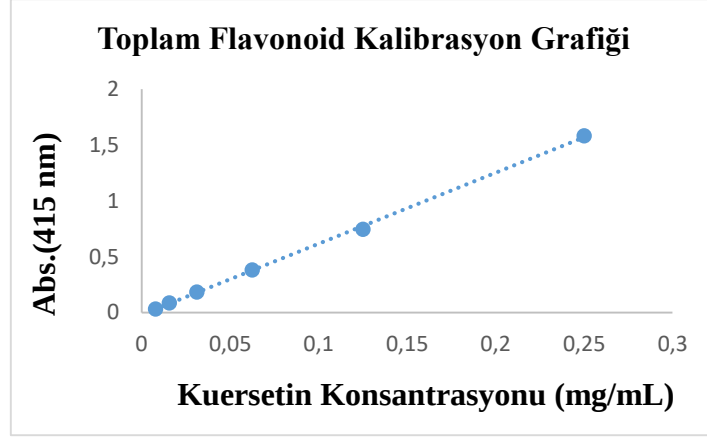


Şekil 3. 1 Toplam fenolik madde tayininde kullanılan grafik

Deney sonucuna göre, *Melissa officinalis* L. bitkisinin metanolik ekstraktında ölçülen toplam fenolik bileşik miktarı 7.78 ± 0.43 mg GAE/g numune olarak belirlenmiştir (Tablo 3.1). Bu sonuç, oğul otu ekstraktının dikkate değer düzeyde fenolik bileşik içerdiğini ve bu bileşenlerin bitkinin antioksidan kapasitesine önemli ölçüde katkı sağladığını göstermektedir.

3.1.2. Toplam Flavonoid Maddeye İlişkin Ölçüm Bulgular

Bu analizde, *Melissa officinalis* L. bitkisinin metanolik ekstraktındaki toplam flavonoid miktarının belirlenmesi amacıyla kuersetin standart bileşiği kullanılmıştır. Standart eğri oluşturulurken, konsantrasyon değerleri x-ekseninde, 415 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri y-ekseninde olacak şekilde grafiksel ilişki tanımlanmıştır. Elde edilen standart eğrinin doğrusal denklemine göre, $y = 6.3568x + 0.0196$ olup, korelasyon katsayısı $R^2 = 0.9994$ olarak hesaplanmıştır. Bu yüksek korelasyon değeri, ölçümlerin doğrusal doğrulukta ve güvenilir bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (Şekil 3.2). Standart eğriden elde edilen veriler doğrultusunda, bitki ekstraktının toplam flavonoid madde içeriği, mg kuersetin eşdeğeri/g numune (mg QE/g) cinsinden hesaplanmıştır. Bu sonuç, *Melissa officinalis* L. ekstraktının flavonoid bileşikler açısından zengin bir kimyasal profile sahip olduğunu ve antioksidan kapasitesine önemli katkı sağladığını göstermektedir.

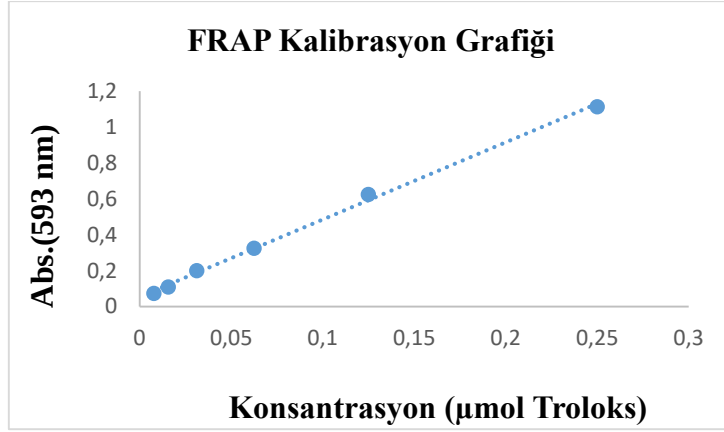


Şekil 3. 2 Toplam flavonoid madde tayininde kullanılan kalibrasyon grafiği

Grafikten sağlanan değerlere bakıldığında, *Melissa officinalis* L.'nin metanolik ekstraktındaki toplam flavonoid madde miktarı, 5.09 ± 0.06 mg kuersetin eşdeğeri/g numune (mg QE/g) olarak ölçülmüştür (Tablo 3.1). Bu sonuç, oğul otu ekstraktının önemli düzeyde flavonoid bileşik içerdiğini ve bu bileşenlerin bitkinin antioksidan etkinliğine anlamlı bir katkı sağladığını göstermektedir.

3.1.3. FRAP Ölçümüne İlişkin Bulgular

Bu analizde, *Melissa officinalis* L. bitkisinin antioksidan kapasitesi FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntemde, Fe(III)-TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin) kompleksinin indirgenerek Fe(II)-TPTZ formuna dönüşmesi esas alınmıştır. Elde edilen indirgenme düzeyi, örneğin demir iyonlarını indirgeme gücüyle orantılı olarak antioksidan kapasitesini göstermektedir. Analiz kapsamında, Troloks standart antioksidan bileşiği olarak kullanılmış ve farklı konsantrasyon değerlerine ait ölçümlerden kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Elde edilen standart eğriden yararlanılarak, bitki ekstraktının 1 mmol L^{-1} Troloks eşdeğeri Fe^{3+} indirgeme kapasitesi hesaplanmıştır. Oluşturulan kalibrasyon eğrisi Şekil 3.3'te verilmiştir.

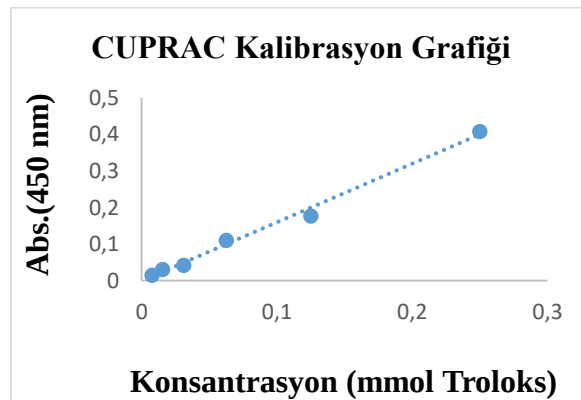


Şekil 3. 3 FRAP analizinde kullanılan kalibrasyon grafiği

Tablo 3.1’de gösterildiği üzere, *Melissa officinalis* L. bitkisinin metanolik ekstraktı, FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) analizi sonucunda 0.13 ± 0.01 µmol $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{g}$ numune değerine sahip bulunmuştur.

3.1.4. CUPRAC Ölçümüne İlişkin Bulgular

Melissa officinalis L. bitkisinin antioksidan kapasitesi, CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntem, Cu^{2+} –neokuproin (Cu^{2+} –Nc) kompleksinin, örnekte bulunan antioksidan bileşikler tarafından elektron alarak Cu^+ –neokuproin [Cu^+ –Nc] formuna indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Elde edilen indirgenme miktarı, örneğin antioksidan aktivitesiyle doğru orantılıdır. Analizlerde 450 nm dalga boyu üzerinden absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında, standart madde olarak Troloks kullanılmış ve farklı konsantrasyon değerlerine ait ölçümlerle doğrusal bir ilişki elde edilmiştir. Troloksun çeşitli konsantrasyonlarından yararlanılarak oluşturulan bu kalibrasyon eğrisi Şekil 3.4’te verilmiştir.



Şekil 3. 4 CUPRAC analizinde kullanılan kalibrasyon grafiği

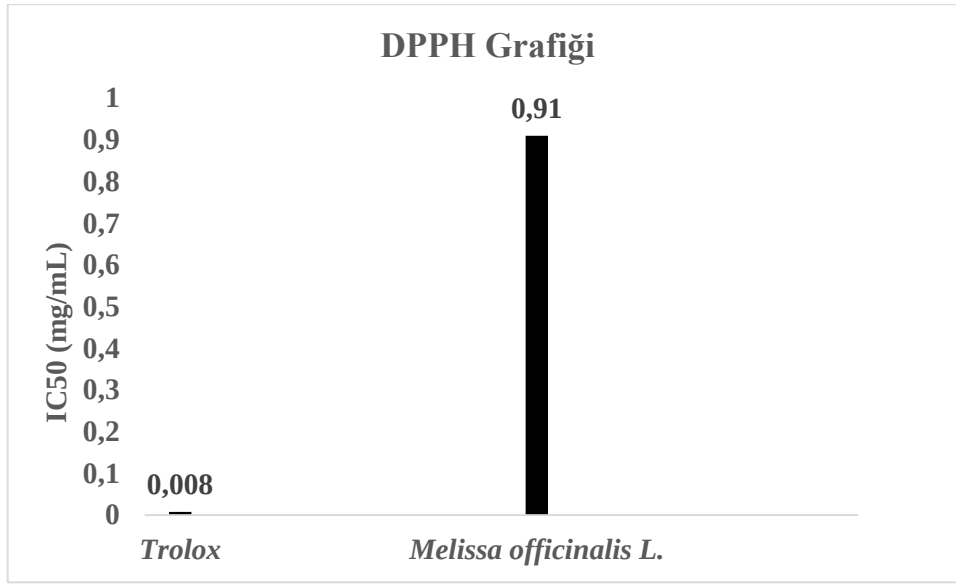
Tablo 3.1’de gösterildiği üzere, *Melissa officinalis* L. bitkisinin metanolik ekstraktı CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) analizine göre 0.65 ± 0.02 mmol TEAC/g numune değerine sahip bulunmuştur.

3.1.5. DPPH• Ölçümüne İlişkin Bulgular

Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde en yaygın kullanılan yöntemlerden biri olan DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürme testi, *Melissa officinalis* L. bitkisinin metanolik ekstraktına uygulanmıştır. Ticari olarak temin edilen DPPH• çözeltisi kullanılmıştır. Artan numune konsantrasyonları x-ekseninde, 517 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri ise y-ekseninde olacak şekilde grafiksel olarak gösterilmiştir. Oluşturulan grafikten yararlanılarak, maksimum absorbans değerinin yarısına karşılık gelen örnek konsantrasyonu IC_{50} değeri olarak belirlenmiştir. Bu değer, numunenin radikal giderme (süpürme) kapasitesini ifade etmektedir. Ölçüm sonucunda küçük IC_{50} değerleri, yüksek antioksidan aktiviteye işaret etmektedir; çünkü daha düşük konsantrasyonda bile radikal temizleme etkisi daha yüksektir. Elde edilen sonuçlara göre, *Melissa officinalis* L. bitkisinin DPPH• testi sonucunda antioksidan aktivite değeri $IC_{50} = 0.91$ mg/mL olarak belirlenmiştir (Şekil 3.5, Tablo 3.2). Karşılaştırma amacıyla kullanılan standart antioksidan Troloks bileşiğinin IC_{50} değeri 0.008 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç, oğul otu ekstraktının DPPH• radikali üzerinde yüksek düzeyde serbest radikal temizleme aktivitesi gösterdiğini ve güçlü antioksidan potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Tablo 3. 1 *Melissa officinalis* L. bitkisinin antioksidan aktivite deneylerinden elde edilen sonuçlar

Numune	FRAP Testi (μ mol FeSO ₄ .7H ₂ O/g numune)	CUPRAC Testi (mmol TEAC/g numune)	Toplam Polifenol Analizi (mgGAE/g numune)	Toplam Flavonoid Analizi (mg kuersetin/g numune)
<i>Melissa officinalis</i> L.	0.13 ± 0.01	0.65 ± 0.02	7.78 ± 0.43	5.09 ± 0.06



Şekil 3. 5 DPPH radikal süpürme aktivitesi sonuç grafiği

Tablo 3. 2 *Melissa officinalis L.* bitkisinin DPPH• analizinden elde edilen sonuçlar

Örnek	DPPH• Deneyi Sonucu (mg/mL)
Troloks Standardı	0.008
<i>Melissa officinalis L.</i>	0.91

3.2. Antimikrobiyal Etki Analizi ve Bulgular

Melissa officinalis L. bitki özütünün antioksidan özelliklerinin yanı sıra, antimikrobiyal etkisi de değerlendirilmiştir. Bu kapsamda, üçü maya suşu, onu ise bakteri türü olmak üzere toplam on üç mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.3). Çalışmada, antimikrobiyal içerik testlerinde özellikle biyofilm oluşturan ve klinik öneme sahip mikroorganizma türleri seçilmiştir. Bu seçim, günümüzde artan antibiyotik direnci ve biyofilm kaynaklı enfeksiyonların önemine dikkat çekmek amacıyla yapılmıştır. Antibakteriyel ve antifungal aktivitelerin belirlenmesinde, MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) yöntemi uygulanmıştır. Deneysel prosedürler, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından belirlenen standart protokoller esas alınarak yürütülmüştür. Buna göre; fungal izolatlar için M38-A2 (2008), maya suşları için M27-A2 (2002) ve bakteri kültürleri için M100-S16 (2006) standartları kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, *Melissa officinalis L.* ekstraktının bazı gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı belirgin düzeyde antibakteriyel etki, ayrıca test edilen bazı maya türlerine karşı antifungal aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur (Tablo 3.3).

Tablo 3. 3 *Melissa officinalis* L. bitkisinin antimikrobiyal aktivite sonuçları (µg/mL)

Bakteri	<i>Melissa officinalis</i> L.	Kloramfenikol	Tetrasiklin
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	>	0.5	0.125
<i>Proteus vulgaris</i> NRRL B-123	>	0.5	8
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	>	0.125	0.25
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	4000	1	8
<i>Bacillus subtilis</i> NRRL B-4378	>	0.125	0.125
<i>Streptomyces griseolus</i>	>	0.125	0.125
<i>Pseudomonas citronellosis</i>	>	1	0.25
<i>Bacillus velezensis</i>	>	4	4
<i>Gordonia rubripertincta</i>	4000	0.125	0.25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	>	0.25	1
Candida	<i>Melissa officinalis</i> L.	Amfoterisin B	Ketokonazol
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	2000	0.25	0.0625
<i>Candida glabrata</i> ATCC 2001	4000	0.125	0.0625
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	2000	0.25	0.125

Antibakteriyel test sonuçlarında elde edilen verilere göre, *Melissa officinalis* L. bitkisinin metanolik ekstraktı, analizde yararlanılan mikroorganizmalar üzerinde 2000–4000 µg/mL aralığında değişen MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) değerleriyle antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Analiz sonuçları, oğul otu ekstraktının bakterilere kıyasla maya türleri üzerinde daha yüksek düzeyde etki gösterdiğini, dolayısıyla belirgin bir antifungal potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bakteriler arasında, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Gordonia rubripertincta* NRRL B-3906 türlerinde 4000 µg/mL düzeyinde daha zayıf antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. Maya suşları arasında, *Candida albicans* ATCC 90028 ve *Candida krusei* ATCC 6258'e karşı 2000 µg/mL, *Candida glabrata* ATCC 2001'e karşı ise 4000 µg/mL MİK değeriyle antifungal etki belirlenmiştir. Elde edilen bu bulgular, *Melissa officinalis* L. bitki ekstraktının özellikle *Candida* türleri üzerinde belirgin antifungal aktiviteye sahip olduğunu, ayrıca test edilen bakterilere karşı doz bağımlı bir antimikrobiyal etki profili sergilediğini ortaya koymaktadır.

3.3. Uçucu Yağ İçeriğine İlişkin Bulgular

Mardin ilinden temin edilen *Melissa officinalis* L. bitkisinden elde edilen uçucu yağ örnekleri, Gaz Kromatografisi–Kütle Spektrometresi (GC/MS) cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda, bitki uçucu yağında toplam 36 farklı bileşen tanımlanmıştır. Elde edilen bu bileşikler; monoterpenler, seskiterpenler, aldehitler, ketonlar, alkoller, yağ asitleri, eterler, esterler, karboksilik asit ve diğer bileşikler olmak üzere on ana kimyasal grupta sınıflandırılmıştır. Tanımlanan bileşenler ve oranları Tablo 3.4’te verilmiştir. Bileşiklerin kimyasal tanımlamaları, elde edilen kütle spektrumlarının FFNSC (2008) kütüphane verileriyle karşılaştırılması ve literatürde bildirilen Kovats alıkonma indeksleri temel alınarak yapılmıştır. Bu analiz sonuçları, *Melissa officinalis* L. uçucu yağının bileşiminde yer alan ana bileşenlerin terpenoid yapıda olduğunu ve bitkinin karakteristik aromatik özelliklerinin bu bileşiklerden kaynaklandığını göstermektedir.

Tablo 3. 4 *Melissa officinalis* L. uçucu yağında GC/MS analizi ile belirlenen bileşenler

No	Bileşikler	RT (dak) (Alıkonma zamanı)	Alan %	^a RI (İndeks)
Monoterpenler				
1	α -Pinene	8.696	0.29	935
2	β -Pinene	10.259	0.44	977
3	Sabinene	10.178	0.25	975
4	Limonene	12.269	6.65	1032
5	Eucalyptol	12.377	2.03	1034
6	(E)- β -Ocimene	12.695	0.13	1042
7	Isopulegol	17.941	7.87	1180
8	Menthone	17.076	6.97	1157
9	α -Terpineol	18.499	0.13	1194
10	Pulegone	20.295	0.18	1244
11	Carvone	20.456	0.40	1248
12	Piperitone	20.836	3.69	1267
13	Carvacrol	22.569	0.27	921
14	Dihydrojasmon	30.147	0.23	1536

Tablo 3.4 (devamı)

		Toplam	29.53	
Seskitерpenler				
15	Aromadendrene	26.647	2.35	1427
16	α -Humulene	27.772	0.13	1461
17	β -Chamigrene	28.572	0.31	1486
18	γ -Cadinene	28.670	0.51	1489
19	Caryophyllene oxide	31.868	0.12	1593
		Toplam	3.42	
Aldehitler				
20	Pelargonaldehyde	15.236	0.11	1108
21	Capronaldehyde	51.451	0.28	2339
		Toplam	0.39	
Ketonlar				
22	Acetoin	1.635	1.86	650
23	Menthallactone	27.333	25.27	1448
24	Ethylene brassylate	33.327	0.30	1642
		Toplam	28.43	
Alkoller				
25	2-Ethylhexanol	11.111	0.32	1034
26	Benzyl alcohol	12.513	0.14	1038
		Toplam	0.46	
Yağ asitleri				
27	2-methyl butyric acid	6.053	0.24	858
28	Valeric acid	10.578	0.52	987
29	Palmitic acid	42.157	0.55	1948
30	16-hydroxy-6-hexadecenoic acid omega lactone	45.465	0.35	2103
		Toplam	1.66	

Tablo 3.4 (devamı)

Eter				
31	(Z)-Anethole	21.970	20.59	1290
	Toplam		20.59	
Esterler				
32	Isopulegyl acetate	22.961	0.93	1318
33	Diethyl phthalate	32.147	1.80	1601
34	Methyl palmitate	41.315	0.12	1524
35	Pentadecanolide	46.497	12.41	2147
	Toplam		15.26	
Karboksilik Asitler				
36	Isovaleric acid	5.745	0.17	844
Diğer				
37	Tanımlanamayanlar	1112-50.702	0.08-0.31	-
	Toplam		1.09	
Toplam Oranlar			100	

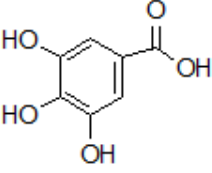
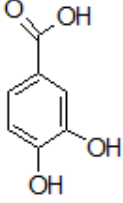
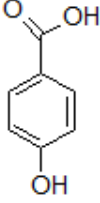
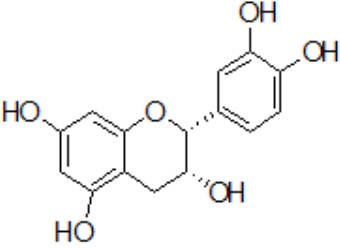
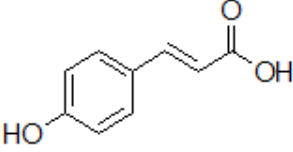
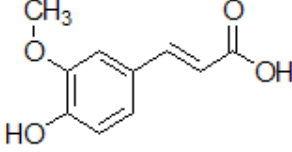
^aRI (aritmetik retansiyon indeksi) değerleri, polar olmayan TRB-5MS kolonunda, C₇–C₃₀ aralığındaki n-alkanların alıkonma süreleri dikkate alınarak hesaplanmıştır.

Kalın yazılan bileşikler, uçucu yağın ana bileşenlerini temsil etmektedir. Analiz sonuçları incelendiğinde, pyrazine 2-methoxy bileşiğinin kolondan ilk elüsyon gösteren bileşik olduğu (RT = 1.112 dk), en uzun alıkonma süresine sahip bileşiğin ise capronaldehyde olduğu belirlenmiştir (RT = 51.350 dk). *Melissa officinalis* L. uçucu yağında en yüksek oranlarda saptanan bileşikler sırasıyla menthalactone (%25.27), (Z)-Anethole (%20.59), pentadecanolide (%12.41), isoisopulegol (%7.87), menthone (%6.97) ve limonene (%6.65) olmuştur. Ayrıca, daha düşük oranlarda piperitone (%3.69), aromadendrene (%2.35), acetoin (%1.86), diethyl phthalate (%1.80) bileşenleri tespit edilmiştir. Geriye kalan bileşiklerin oranı ise genellikle %1'in altında bulunmuştur.

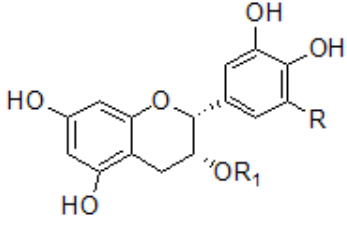
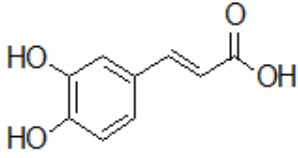
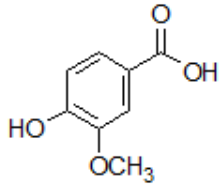
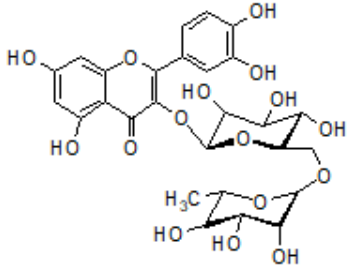
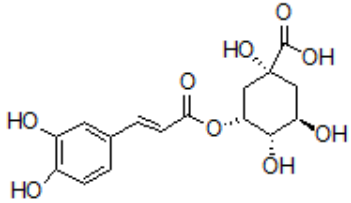
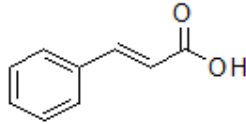
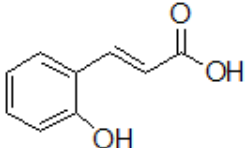
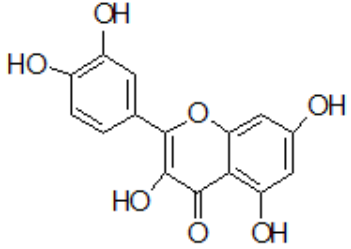
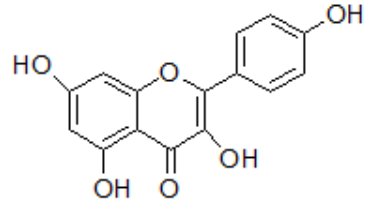
3.4. HPLC-UV ile Fenolik İçerik Üzerine Bulgular

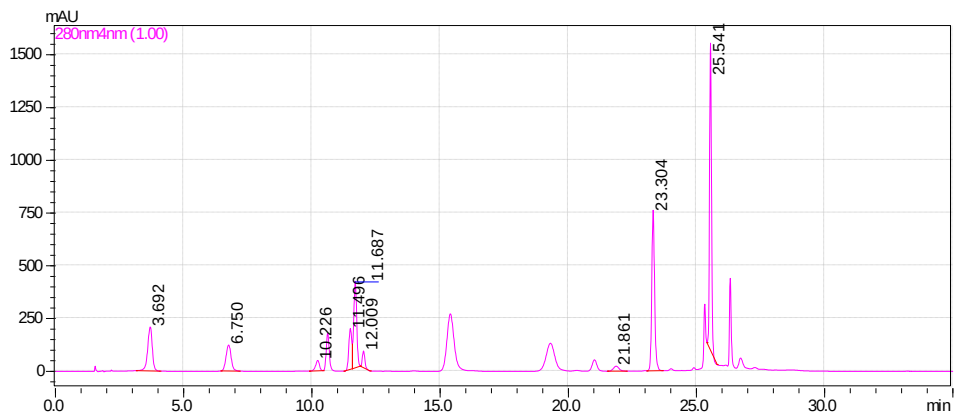
Melissa officinalis L. bitkisinin fenolik bileşen profilini belirlemek amacıyla hazırlanan metanolik özüt, çözücüsü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldıktan sonra sırasıyla etil asetat ve dietil eter ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon işleminin ardından geriye kalan kalıntı kısmına belirli hacimde metanol eklenmiş ve bu çözelti HPLC-UV cihazında analiz edilmiştir. Analiz sırasında, mobil faz olarak asetik asit, su ve asetonitril karışımından oluşan bir gradyan sistem kullanılmıştır. Elde edilen kromatogramlar, cihazın 280-315 nm dalga boyu aralığında çalışan UV dedektörü ile kaydedilmiştir. Örneğe ait kromatogram üzerinde elde edilen alıkonma (retention) zamanları, cihazda aynı koşullarda çalışılan 15 farklı standart fenolik bileşik ile karşılaştırılmıştır. Böylece numunedeki fenolik bileşenlerin kimlikleri, elüsyon süreleri ve pik alanları dikkate alınarak tanımlanmıştır. Analizlerde kullanılan standart fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları Tablo 3.5’te, standartlara ait kromatogram örnekleri ise Şekil 3.6 ve Şekil 3.7’de verilmiştir. Ayrıca, elde edilen bileşenlerin alıkonma zamanları ve konsantrasyon değerleri sırasıyla Tablo 3.6 ve Tablo 3.7’de sunulmaktadır.

Tablo 3. 5 HPLC analizinde yararlanılan standart fenoliklerin formülleri

		
Gallik Asit	Protokatekuik asit	<i>p</i> -OH benzoik asit
		
Epikateşin	<i>p</i> -Kumarik asit	Ferulik asit

Tablo 3.5 (devamı)

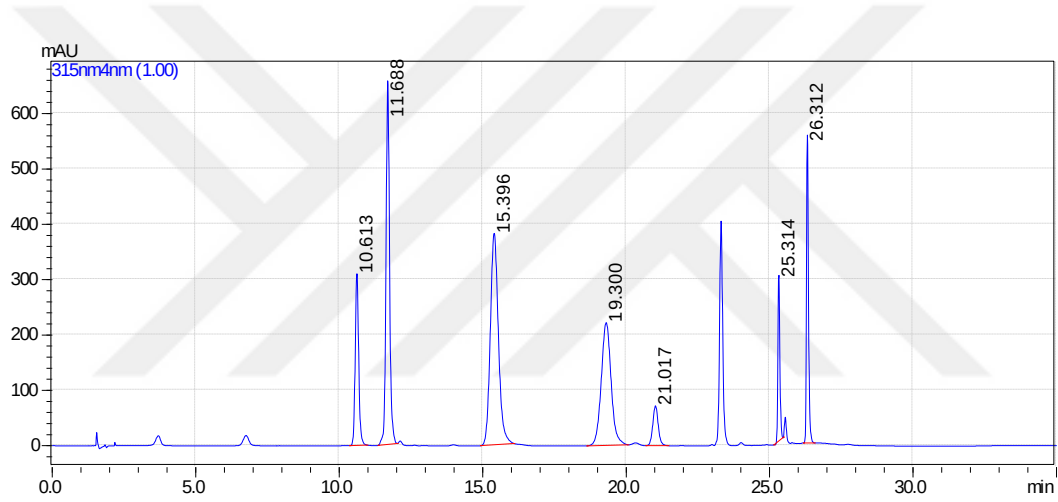
		
Kateşin	Kafeik asit	Vanilik asit
		
Rutin	Klorojenik asit	<i>t</i> -Sinnamik asit
		
<i>o</i> -Kumarik asit	Kuersetin	Kaemferol



Şekil 3. 6 HPLC-UV cihazında 280 nm dalga boyunda elde edilen 15 adet standart fenolik bileşiğe ait kromatogram

Tablo 3. 6 280 nm dalga boyunda belirlenen standart fenoliklerin tutunma zamanları

Bileşik	RT (Tutunma zamanı)
1. Gallik Asit	3.70
2. Protokatekuik asit	6.75
3. Kateşin	10.22
4. Vanilik asit	11.49
5. Epikatesin	12.01
6. <i>p</i> -OH benzoik asit	21.86
7. <i>o</i> -kumarik asit	23.30
8. t-sinnamik asit	25.54

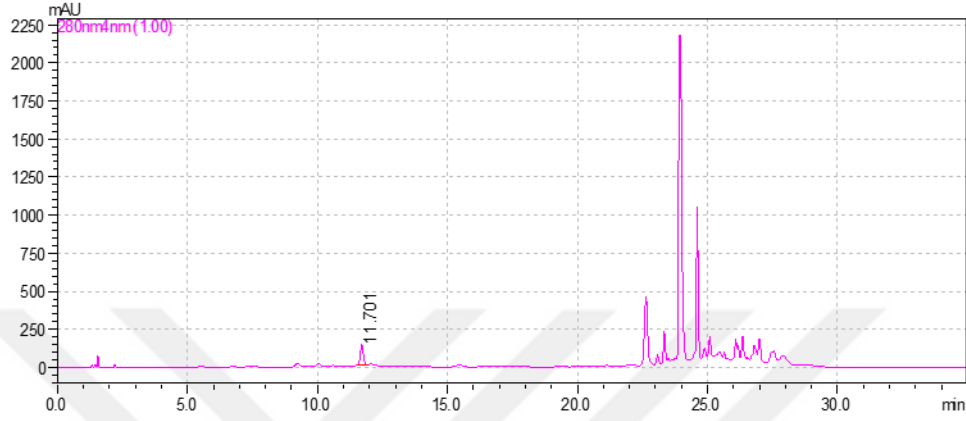


Şekil 3. 7 HPLC-UV cihazında 315 nm dalga boyunda elde edilen 15 adet standart fenolik bileşiğin kromatogramı

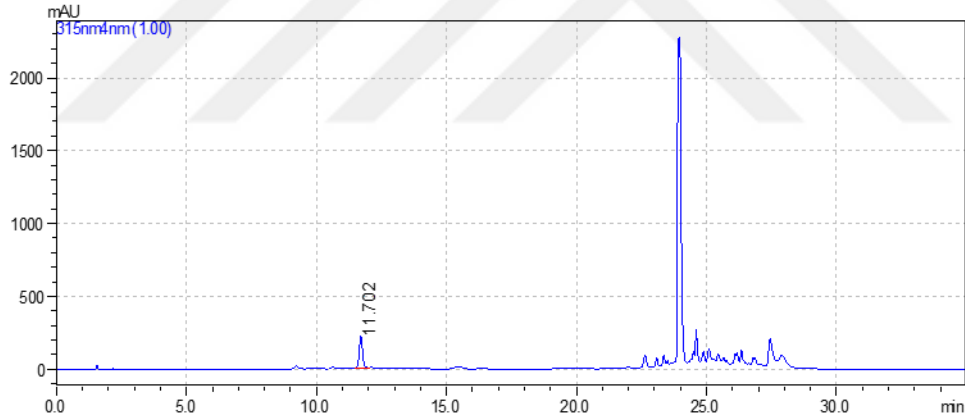
Tablo 3. 7 315 nm dalga boyunda tespit edilen standart fenoliklerin tutunma zamanları

Bileşik	RT (Tutunma zamanı)
1.Klorojenik asit	10.61
2.Kafeik asit	11.69
3. <i>p</i> -kumarik asit	15.39
4.Ferulik asit	19.30
5.Rutin	21.02
6.Kuersetin	25.31
7. Kaemferol	26.31

HPLC-UV deneyinden tespit edilen sonuçlara göre, Şekil 3.8 ve Şekil 3.9 incelendiğinde, kullanılan 15 standart fenolik bileşik arasından *Melissa officinalis* L. bitki ekstraktında sadece bir fenolik bileşiğin tespit edildiği belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre; klorojenik asit: 45,52 ppm (%40,3) olarak saptanmıştır. Diğer standart fenolik bileşiklere ise *Melissa officinalis* L. özütünde rastlanmamıştır.



Şekil 3. 8 *Melissa officinalis* L. bitkisinin 280 nm’de elde edilen HPLC-UV kromatogramı



Şekil 3. 9 *Melissa officinalis* L. bitkisinin 315 nm’de elde edilen HPLC-UV kromatogramı

4. TARTIŞMA

Tıbbi-aromatik bitkilerin farklı kullanım alanlarını bilimsel olarak değerlendirebilmek için, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri ile bunları belirleyen fenolik bileşikler ve uçucu yağ bileşenlerinin nicel-nitel profillerinin ortaya konması kritik önemdedir. Bu bağlamda, *Melissa officinalis* L.'in zengin fenolik içeriği ile uçucu yağındaki terpenoid bileşenlerin farmakolojik etkilerin temel belirleyicileri olduğu literatürde geniş biçimde gösterilmiştir. Bu tezde Mardin ilinden temin edilen *Melissa officinalis* L. örnekleri üzerinde; antimikrobiyal aktivite, toplam flavonoid ve toplam fenolik madde miktarları, farklı yöntemlerle antioksidan özellikler (DPPH●, FRAP, CUPRAC), ayrıca uçucu yağ ve HPLC-UV ile fenolik bileşen içerikleri sistematik olarak belirlenmiş; elde edilen sonuçlar güncel *Melissa officinalis* L. literatürüyle karşılaştırmalı biçimde tartışılmıştır.

Melissa officinalis L. Lamiaceae familyasına ait, aromatik kokulu, çok yıllık otsu bir bitkidir. Bitkinin yaprakları kalp biçiminde, kenarları dişli ve limon benzeri kokusuyla karakterizedir. Fitokimyasal olarak oldukça zengin bir tür olup; fenolik asitler, flavonoidler ve uçucu yağ bileşikler bakımından yüksek çeşitlilik göstermektedir. Bu özelliklerinden dolayı tıp, kozmetik ve gıda endüstrilerinde geniş kullanım alanına sahiptir.

Çalışmanın ilk aşamasında *Melissa officinalis* L.'nin metanol içinde ekstraktı hazırlanmış ve bu ekstraktın toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde içerikleri ile antioksidan aktiviteleri (DPPH●, FRAP, CUPRAC yöntemleri) belirlenmiştir.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin yüksek antioksidan kapasiteleri genellikle bünyelerindeki fenolik bileşiklerden kaynaklanmakta olup, bu maddeler serbest radikallerin etkisini azaltarak biyolojik sistemlerde oksidatif dengeyi korurlar (Song ve ark., 2010). Nitekim fenolik bileşiklerin bitkisel ekstraktlarda antioksidan gücün temel belirleyicisi olduğunu bildirmişlerdir. (Dragland ve ark., 2003; Cai ve ark., 2004).

Spiridon ve arkadaşları tarafından Romanya'da yetişen *Melissa officinalis* L. üzerine yapılan bir çalışmada toplam fenolik madde miktarı 54.9 ± 2.14 mg GA/g ve toplam flavonoid madde miktarı ise 25.8 ± 6.26 mg rutin eşdeğeri/g (mg R/g) bulunmuştur. DPPH

yöntemine göre ise antioksidan aktivitesini $IC_{50}=87.28 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlemişlerdir (Spiridon ve ark., 2011). Ülgen ve arkadaşlarının çalışmasında Bolu’da doğada yetişen *Melissa officinalis* L. ile in vitro (laboratuvar ortamında) yetiştirilen *Melissa officinalis* L. karşılaştırılmış; toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriklerin doğada yetişen oğul otu bitkisinde sırasıyla $374.35 \pm 1.3 \text{ mg GAE/g}$ ve $327.61 \pm 1.6 \text{ mg kateşin/g (mg CE/g)}$, in vitro ortamında olan oğul otu bitkisinde ise $31.66 \pm 0.7 \text{ mg GAE/g}$ ve $32.50 \pm 0.6 \text{ mg CE/g}$ olduğu bildirilmiştir. Ayrıca DPPH serbest radikal süpürme testinde doğada yetişen örneğinin $IC_{50}=34.86 \mu\text{g/mL}$ değerine sahip olduğu, in vitro örneğin ise IC_{50} değerinin $200 \mu\text{g/mL}$ ’nin üzerinde bulunduğu ve bu nedenle doğada yetişen örneğinin daha güçlü antioksidan kapasite gösterdiği belirtilmiştir (Ülgen ve ark., 2023). Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar olan toplam fenolik madde ($7.78 \pm 0.43 \text{ mg GAE/g}$), toplam flavonoid madde miktarı ($5.09 \pm 0.06 \text{ mg QE/g}$) ve DPPH antioksidan aktivitesi ($IC_{50}=0.91 \text{ mg/mL}$) literatürdeki Spiridon ve arkadaşları ile Ülgen ve arkadaşları tarafından elde edilen sonuçlardan daha düşük çıktığı görülmüştür.

Brezilya’dan elde edilen *Melissa officinalis* L. yaprakları üzerine yapılan bir çalışmada, ekstraksiyon çözücüsü olarak bu çalışmadan farklı olarak hekzan kullanılmış ve toplam fenolik madde miktarı $177 \pm 13 \text{ mg GA/g}$ ve toplam flavonoid madde miktarı ise $26 \pm 3 \text{ mg GAE/g}$ bulunmuştur. FRAP ve DPPH yöntemine göre antioksidan aktivitesi ise sırasıyla $61 \pm 6 \text{ mg troloks eşdeğeri/g (mg TE/g)}$ ve $IC_{50}=17 \mu\text{g/mL}$ şeklinde ölçülmüştür (Franco ve ark., 2018). Yine bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlar (toplam flavonoid ve fenolik madde miktarları, DPPH radikal süpürme antioksidan değeri) Franco ve arkadaşları tarafından elde edilen sonuçlardan düşük çıkmıştır. FRAP yöntemine göre bizim çalışmamızda antioksidan aktivite $0.13 \pm 0.01 \mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ şeklinde ölçülmüşken, Franco ve arkadaşları tarafından bu değer $61 \pm 6 \text{ mg TE/g}$ şeklinde bulunarak, Brezilya’dan elde edilen *Melissa officinalis* L. bitkisinin Türkiye/Mardin’den elde edilene göre daha yüksek FRAP antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Literatürdeki daha yüksek sonuçlara göre bizim çalışmamızda daha düşük sonuçlar elde edilmesi; bitkinin yetiştigi yerlerin yükselti farkları, kullanılan ekstraksiyon yöntemi, koşulları, çözücü farkı gibi etkenlerin fenolik birikim ve antioksidan özelliği güçlü biçimde etkileyebileceğini düşündürmektedir.

2016 yılında Popova ve arkadaşları tarafından Bulgaristan’ın Plovdiv bölgesinden elde edilen *Melissa officinalis* L. bitkisinin kurutulmuş hali su içerisinde demleme ve kaynatma olacak şekilde iki farklı yöntemle ekstraksiyona tabii tutulmuş ve ekstraksiyon yönteminin

değişmesiyle, toplam fenolik madde içeriği ile FRAP ve CUPRAC yöntemine göre ise antioksidan aktivitelerinin de değiştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmaya göre *Melissa officinalis* L. yapraklarının kaynatılmasıyla elde edilen özütün toplam fenolik madde miktarı 43.51 ± 1.50 mg GAE/g iken demlemesiyle elde edilen özütün toplam fenolik madde miktarı ise 27.17 ± 0.51 mg GAE/g şeklinde ölçülmüştür. Antioksidan aktivitesi ise kaynatılmasıyla elde edilen özütün FRAP yöntemine göre 1133.24 ± 11.54 μ mol Trolox eşdeğeri/g (μ mol TE/g) iken demlemesiyle elde edilen özütün antioksidan aktivitesi 679.49 ± 10.63 μ mol TE/g bulunmuştur. CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivitesi ise kaynatılmasıyla elde edilen özütün 1228.71 ± 46.07 μ mol TE/g iken demlemesiyle elde edilen özütün 715.54 ± 4.79 μ mol TE/g şeklinde ölçülmüştür (Popova ve ark., 2016). Bizim bu çalışmamızda ise CUPRAC yöntemine göre antioksidan aktivite 0.65 ± 0.02 mmol TEAC/g numune olarak ölçülmüş yani literatürdeki hem kaynatma hem de demleme ile elde edilmiş özütlerin antioksidan aktivitesine göre *Melissa officinalis* L. bitkisinin daha düşük CUPRAC antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Yine benzer şekilde toplam fenolik madde miktarı ve FRAP yöntemine göre antioksidan aktivitesi de literatürde verilenden (Popova ve ark., 2016) daha düşük çıkmıştır.

Köksal ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *Melissa officinalis* L. yaprakları Türkiye'nin Erzurum ilinde yerel bir pazardan temin edilmiş, yapraklar toz haline getirilip 25°C'de kullanıma kadar saklanmıştır. Aynı çalışmada yapraklardan hazırlanan su ekstraktı ve etanol ekstraktı için antioksidan sonuçları raporlanmış; DPPH• radikal süpürme testinde su ekstraktının $IC_{50}=31.4$ μ g/mL, etanol ekstraktının ise $IC_{50}=202.7$ μ g/mL olduğu belirtilmiştir (Köksal ve ark., 2011). Köksal ve ark. yaptığı bu çalışmaya göre *Melissa officinalis* L. bitkisinin su ve etanol içindeki özütünün bizim çalışmamızdaki metanol içindeki özütünden daha fazla DPPH radikal giderme antioksidan aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur. Bu bulgular, ekstraksiyon çözücüsünün ve yönteminin antioksidan yanıtı belirgin biçimde değiştirebildiğini ve aynı bitkide bile farklı ekstraktların farklı etkinlik profilleri sergileyebileceğini göstermektedir.

Çalışmanın diğer kısmında *Melissa officinalis* L.'nin metanolik özütü disk difüzyon ve minimum inhibisyon konsantrasyonu yöntemleriyle değerlendirilmiş, özütün test edilen mikroorganizmalara karşı 2000–4000 μ g/mL aralığında değişen MİK değerleriyle antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlar, özütün bakterilere kıyasla maya türlerinde daha etkili olduğunu ve antifungal potansiyelin öne çıktığını göstermiş;

bakteriler arasında *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Gordonia rubripertincta* NRRL B-3906 suşlarında 4000 µg/mL düzeyinde daha zayıf aktivite izlenirken, mayalarda *Candida albicans* ATCC 90028 ve *Candida krusei* ATCC 6258 için 2000 µg/mL, *Candida glabrata* ATCC 2001 için 4000 µg/mL MİK değeriyle antifungal aktivite saptanmıştır.

Melissa officinalis L. (Lamiaceae), çeşitli etnomedikal, terapötik ve mutfak uygulamalarına sahip çok yıllık bir bitkidir. Geleneksel olarak uçuk, yaralar, enfeksiyonlu ısırtıklar, ülserler ve paraziter rahatsızlıklar dahil olmak üzere çeşitli durumların tedavisinde kullanılmıştır; bu nedenle, Abdel ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma *M. officinalis*'in toplam etanol ekstresinin ve farklı fraksiyonlarının çeşitli insan patojenik mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal potansiyelini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Çalışmadan elde edilen verilere göre genel olarak, test edilen örnekler, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 1,65 ile 191,40 µg/mL arasında değişen MIC değerleriyle değişen inhibitör potansiyeller gösterirken, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı antibakteriyel etki kaydedilmemiştir. Oğul otu bitki özütü ve ondan elde edilen fraksiyonlar ayrıca *Candida albicans*, *Candida krusei* ve *Candida glabrata*'ya karşı 0,30–345,10 µg/mL MİK değerleriyle kayda değer antifungal aktivite göstermiştir (Abdel ve ark., 2019). Bizim bu çalışmamızda da literatürdekine benzer şekilde *Melissa officinalis* L. bitkisinin bakterilerden daha çok maya türlerine karşı etkili olduğu bulunmuştur.

2008 yılında Romanya'da yapılan Tuchilus ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada *Melissa officinalis* L. bitkisinden elde edilen yağın gram pozitif bakteriler olan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Bacillus cereus* ATCC 14579'a karşı sırasıyla 600 ve 300 µg/mL, gram negative bakteriler olan *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı 4000 µg/mL MIC değeriyle antibakteriyel etki gösterirken, bir maya suşu olan *Candida albicans* ATCC 10231'e karşı ise 600 µg/mL MIC değerleriyle antifungal etki göstermiştir (Tuchilus ve ark., 2008). Bizim bu çalışmamızda ise *Melissa officinalis* L. bitkisinden elde edilen özütün gram pozitif bakterilerden sadece *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Gordonia rubripertincta*'ya karşı 4000 µg/mL MİK değeriyle antibakteriyel etki gösterirken gram negatif bakterilere karşı etki göstermediği bulunmuştur. Bununla birlikte maya suşları olan *Candida albicans* ATCC 90028 ve *Candida krusei* ATCC 6258 için 2000 µg/mL, *Candida glabrata* ATCC 2001 için 4000 µg/mL MİK değeriyle antifungal aktivite

saptanmıştır. Yani literatürdeki *Tuchilus* ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma ile bizim çalışmamız benzer şekilde *Melissa officinalis* L. bitkisinin gram negatif bakterilerden daha çok gram pozitif bakterilere karşı etkili olduğu ve özellikle de daha çok maya suşlarına karşı antifungal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

2014 yılında Cezayirde yetişen *Melissa officinalis* L. bitkisi üzerine yapılan bir çalışmada antimikrobiyal aktivite disk difüzyon ve MİK yöntemiyle 7 bakteri (3 adet gram pozitif ve 4 adet gram negatif bakteri), 2 maya ve 3 mantar üzerinde değerlendirilmiş; inhibisyon zonlarının gram pozitif bakterilerde 17 ile 18 mm, gram negatif bakterilerde 14 ile 21 mm aralığında olduğu, *Candida albicans* için 36 mm'ye ulaştığı ve *Fusarium oxysporum albedinis* ile *Fusarium oxysporum lini* gibi fitopatojenik mantarlarda 34 ile 38 mm aralığında inhibisyon oluşturduğu bildirilmiştir (Abdellatif ve ark., 2014). Bu çalışmadan da anlaşılabacağı gibi oğul otunun antifungal aktivitesinin, antibakteriyel aktivitesine göre yine daha yüksek olduğu görülmüş ve elde edilen sonuçlar bizim çalışmamızla paralel sonuç vermiştir.

Melissa officinalis L. uçucu yağları üzerine yapılan çalışmalar da bitkinin antimikrobiyal özelliklerini doğrulamaktadır. Oğul otu uçucu yağının bileşiminde geranial (%44.5), neral (%30.4) ve citronellal (%12.3) gibi bileşenlerin baskın olduğunu ve bu uçucu bileşenlerin özellikle *Candida albicans* ve *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı belirgin antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmiştir (Dukić ve ark., 2004). Yapılan bir başka araştırmada ise *Melissa officinalis* L. özütlerinin gram pozitif bakterilere (özellikle *Staphylococcus epidermidis*) karşı daha yüksek inhibisyon gücü sergilediği, buna karşın gram negatif bakterilere karşı etkinliğin daha sınırlı olduğu raporlanmıştır (Hancianu ve ark., 2008). Bu literatür sonuçları, bizim çalışmamızda oğul otu ekstraktının *Candida* türlerine karşı daha yüksek antifungal potansiyele sahip olduğu bulgusuyla uyumluluk göstermektedir.

Bolu'da yetişen *Melissa officinalis* L. üzerine yapılan çalışmada toplam on tane bakteri üzerine, bunlardan üç tanesi gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*) yedi tanesi ise gram negatif (*Serratia marcescens*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*) olmak üzere etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre gram pozitif bakterilere karşı inhibisyon zonlarının 11-15 mm aralığında değiştiği ve gram negatif bakterilere karşı ise inhibisyon zonlarının 8-10 mm aralığında olduğu bulunmuştur. Yani oğul otunun yine gram negatif

bakterilerden daha çok gram pozitif bakteriler üzerine etkili olduğu görülmüş ve en yüksek etki ise gram pozitif bakteri olan *Streptococcus pyogenes* 'e karşı 15 ± 0.6 mm inhibisyon zonu ile ölçülmüştür (Ülgen ve ark., 2023).

Bitkilerde kendiliğinden doğal şekilde bulunan uçucu yağ bileşenleri ve fenolik bileşikler, bilhassa bakteriyel ajanlara karşı yeni antibakteriyel suşların olası kaynakları olarak kayda değer bir role sahiptir. Bu doğal yapılar, enfeksiyon hastalıklarının iyileştirilmesinde kullanılabilme potansiyeline sahip olup, antimikrobiyal özellikleri sayesinde terapötik açıdan etkili bileşenler olarak değerlendirilmektedir. (Sandri ve ark., 2007; Torbati ve ark., 2013). Bu bağlamda, *Melissa officinalis* L. özütünün elde edilen antifungal etkisi, özellikle *Candida albicans* ve *Candida krusei* gibi klinik öneme sahip patojenler üzerinde gelecekteki terapötik uygulamalara ışık tutabilecek düzeydedir.

Çalışmanın başka bir bölümünde ise *Melissa officinalis* L. bitkisinden elde edilen uçucu maddeler, GC-MS cihazı ile araştırılarak 36 tane uçucu madde tanımlanmıştır. Menthalactone (%25.27), (Z)-Anethole (%20.59), pentadecanolide (%12.41), isoisopulegol (%7.87), menthone (%6.97) ve limonene (%6.65) bileşikler, en yüksek oranlarda olduklarından ana bileşenler olarak tanımlanmıştır.

İranda 2012 yılında *Melissa officinalis* L. uçucu yağı üzerine yapılan bir çalışmada yöntem olarak su destilasyonu ve GC/MS yöntemi uygulanmış ve bitkinin çiçeklenme dönemi öncesi, çiçeklenme dönemi ve çiçeklenme dönemi sonrası olmak üzere üç ayrı dönemde uçucu yağ bileşenleri incelenmiştir. Bitkilerin uçucu yağlarının çoğunun çiçeklenme öncesi dönemde bulunduğunu göstermişlerdir. Çiçeklenme öncesi dönemde toplam 37 adet bileşen tanımlanmıştır ve oğul otuna ait başlıca bileşenler dekadienal (%29,38), geraniol (%25,3), kariofillen oksit (%8,75) ve geranil asetat (%5,41) şeklinde bulunmuştur. Çiçeklenme döneminde bitki uçucu yağlarının başlıca bileşenleri olarak 36 bileşik tanımlanmış: dekadienal (%28,04), geraniol (%24,97), kariofillen oksit (%7,55), kariofillen E (%4,65) şeklindedir. Çiçeklenme sonrası dönemde ise başlıca bileşenler olarak 16 bileşen tanımlanmıştır ve bu bileşenler karvakrol (%37,62), metil sitronellat (%32,34), geranil asetat (%5,82), kariofillen (%5,50) olarak sıralanmıştır (Saeb ve Gholamrezaee, 2012).

Başka bir uçucu yağ çalışmasında Cezayirde yetişen *Melissa officinalis* L. bitkisinin uçucu yağları su destilasyonu, GC/MS ve Gaz Kromatografisi-Alev İyonizasyon Dedektörü (GC-FID) yöntemleri ile açığa çıkarılmış ve toplam yağın %94,10'unu temsil

eden toplam 63 bileşik tanımlanmıştır. Bitkinin başlıca bileşeni geranial (%44,20), diğer baskın bileşenler ise neral (%30,20) ve sitronellal (%6,30) olarak raporlanmıştır (Abdellatif ve ark., 2014). Yine Abdellatif ve arkadaşları tarafından 2021 yılında yapılan bir başka çalışmada *Melissa officinalis* L. bitkisi için toplam 78 bileşik tanımlanmış olup bu bileşikler toplam yağın %94,090'ını oluşturmuştur. Bu yağ, çok yüksek oranda oksijenli monotерpenler (%84,980) ile karakterize edilmiştir ve bunların arasında neral (%31,720), geranial (%45,060) ve sitronellal (%6,420) başlıca bileşenler olarak tanımlanmıştır (Abdellatif ve ark., 2021).

Romanya'da 2021 yılında yapılan bir çalışmada *Melissa officinalis* L. bitkisine ait toplam yağın %98,79'unu temsil 36 adet uçucu bileşen tanımlanmış olup başlıca bileşenler beta-kübeben (%27,66), beta-karyofillen (%27,41), alfa-kadinen (%4,72), karyofillen oksit (%4,09) ve alfa-kadinol (%4,07) şeklinde verilmiştir (Radulescu ve ark. 2021). İran'da yapılan bir çalışmada ise oğul otu için başlıca uçucu bileşenler olarak trans-carveol (28.89%), citronellol (25.24%), δ -3carene (5.26%), citronellal (4.9%), geraniol (2.2%), 1octene-3-ol (2.03%) and spathulenol (2.06%) olarak verilmiştir (Adinee ve ark., 2008).

Literatürde var olan *Melissa officinalis* L. bitkisine ait uçucu yağ bileşenleri ile bizim bu çalışmamızdaki uçucu yağ bileşenleri farklılık göstermektedir. Uçucu yağ bileşiminde gözlenen farklılıklar, miktarı ve oranı, bitkinin yetiştirme dönemi, toprak yapısı, depolama koşulları, hasat dönemi, ekstraksiyon ve distilasyon yöntemleri, mevsimsel değişimler, iklim özellikleri ile coğrafi faktörler gibi çevresel ve teknik unsurlara bağlı olarak farklılıklar ortaya çıkabilmektedir (Evren ve Tekgüler, 2011).

Bu araştırmanın son bölümünde ise HPLC-UV yönteminden yararlanılarak fenolik bileşen deneyi yapılmış, analiz için yararlanılmış olan 15 tane standart yapıdan *Melissa officinalis* L. bitkisinde yalnızca klorojenik asit fenolığının bulunduğu gözlemlenmiştir. Kalan 14 adet bileşiğe oğul otu bitkisinde rastlanmamıştır. Çalışmamızda klorojenik asit miktarı: 45,52 ppm (%40,3) olarak bulunmuştur.

Hanganu ve arkadaşları tarafından Romanya'dan elde edilen *Melissa officinalis* L. bitkisine HPLC-UV ile fenolik bileşen analizi yapılmış ve analiz sonucunda bizim çalışmamızdan farklı olarak, kaftarik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, luteolin ve apigenin gibi toplam 6 adet fenolik bileşik değişik miktarlarda elde edilmiştir (Hanganu ve ark., 2008).

2014 yılında Ibragić ve arkadaşları tarafından Bosna Hersek ile Türkiye’den elde *Melissa officinalis* L. bitkisinin fenolik bileşenleri HPLC-UV tekniği ile açığa çıkarılmış ve elde edilen fenolik bileşik miktarları kıyaslanmıştır. Bosna Hersek oğul otu örneği için gallik asit (0.38 mg/g), klorojenik asit (0.14 mg/g), kafeik asit (0.25 mg/g) ve rosmarinik asit (5.10 mg/g) iken Türkiye oğul otu örneği için gallik asit (0.22 mg/g), klorojenik asit (0.23 mg/g), kafeik asit (0.73 mg/g) ve rosmarinik asit (0.24 mg/g) şeklinde bulunmuştur. Bosna Hersek oğul otu örneğinin Türkiye’den elde edilen oğul otuna göre miktar olarak daha çok fenolik bileşiğe sahip olduğu bulunmuştur (Ibragić ve ark., 2014). Bizim bu çalışmamızda ise oğul otunda sadece klorojenik asit fenoliğinin bulunduğu görülmüştür (45,52 ppm) ve bu değer Ibragić ve arkadaşları tarafından oğul otu için bulunan klorojenik asit (0.14 mg/g) fenoliği miktarından daha yüksektir.

Ülgen ve arkadaşlarının çalışmasında Bolu’da doğada yetişen *Melissa officinalis* L. ile in vitro (laboratuvar ortamında) yetiştirilen *Melissa officinalis* L. fenolik bileşikleri karşılaştırılmış; HPLC-DAD (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi – Diyot Dizi Dedektörü) analizi sonucunda her iki grupta da baskın fenoliğin rosmarinik asit olduğu bulunmuştur. Doğada yetişen oğul otu örneğinde rosmarinik asit miktarının 190.56 ± 0.5 mg/g, in vitro oğul otu örneğinde ise 3.58 ± 1.4 mg/g olduğu görülmüştür. Ayrıca oğul otu örneğinde rutin (doğada yetişen için 8.58 ± 0.7 mg/g, in vitro ortamında yetişen için 0.07 ± 0.01 mg/g) ve mirisetin (doğada yetişen için 2.76 ± 0.5 mg/g; ortamında yetişen için 0.64 ± 0.36 mg/g) fenolik bileşenlerin de olduğu raporlanmıştır (Ülgen ve ark., 2023).

Cezayir’de yürütülen bir çalışma *Melissa officinalis* L.’nin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktlarında HPLC–DAD tekniği kullanılarak fenolik bileşen analizi yapılmış ve baskın bileşiğin rosmarinik asit (%55.39) bulunmuştur. Aynı fraksiyonda kafeik asit (%1.58), kuersetin (%8.32), mirisetin (%7.78), luteolin (%7.86), kaempferol (%1.11) ve apigenin (%0.94) gibi fenoliklerin de bulunduğunu raporlanmıştır (Abdellatif ve ark., 2023).

Birçok araştırma, *Melissa officinalis* L. bitkisinin yüksek antioksidan kapasitesini sahip olduğu zengin fenolik bileşik içeriğine bağlamaktadır. Bitkinin rosmarinik asit, kafeik asit, ferulik asit, klorojenik asit, kuersetin ve luteolin gibi bileşikler doğal antioksidan özelliklerinden sorumlu bileşikler olarak öne çıkmaktadır. Bu bileşikler, serbest radikalleri nötralize ederek oksidatif stresi azaltmakta ve hücre koruyucu etkiler göstermektedir (Miraj ve ark., 2017).

Fenolik bileşenlerin çeşitliliği, bitkisel türün yetiştiği bölgeye, iklime, bitkinin gelişim evresine ve ekstraksiyon solventine bağlı olarak farklılık gösterebilir. Bununla birlikte, *Melissa officinalis* L.'nin hem uçucu yağ hem de fenolik bileşen bakımından zengin profili, bitkinin antioksidan, antimikrobiyal ve farmakolojik açıdan değerli bir kaynak olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

Elde edilen bulgular, oğul otunun zengin fenolik içeriği, güçlü antioksidan özellikleri ve özellikle *Candida* türlerine karşı sergilediği belirgin antifungal etkisiyle, hem doğal bir farmasötik ajan hem de fonksiyonel gıda bileşeni olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca uçucu yağında saptanan menthalactone, anethole (Z) ve limonene gibi bileşikler, bitkinin biyolojik aktivitesine katkı sağlayan başlıca kimyasal bileşenler olarak öne çıkmaktadır.

Yapılan literatür taramaları sonucunda, *Melissa officinalis* L. üzerine gerçekleştirilen araştırmaların genellikle bitkinin ya antioksidan, ya antimikrobiyal, ya da uçucu yağ bileşenleri üzerine odaklandığı; ancak bu özellikleri aynı çalışma kapsamında birlikte inceleyen bütüncül araştırmaların oldukça sınırlı olduğu belirlenmiştir. Bu açıdan değerlendirildiğinde, bu tez çalışması *Melissa officinalis* L. bitkisinin fenolik madde profili, antioksidan kapasitesi, antimikrobiyal etkinliği ve uçucu yağ bileşenlerinin eşzamanlı olarak analiz edilmesi bakımından literatürdeki ilk kapsamlı örneklerden biri olma özelliğini taşımaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tıbbi ve aromatik bitkiler, sahip oldukları biyolojik aktif bileşikler sayesinde hem farmasötik hem de gıda endüstrisinde önemli doğal kaynaklar arasında yer almaktadır. Bu bitkilerin içerik profilleri; yetiştirme koşulları, iklim, toprak yapısı ve çevresel faktörlere bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenle, bitkilerin biyolojik aktivitelerinin ve kimyasal bileşimlerinin bölgesel olarak değerlendirilmesi, onların terapötik ve endüstriyel potansiyellerinin doğru biçimde belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Bu tez kapsamında, Mardin bölgesinden alınan *Melissa officinalis* L. bitkisinin uçucu yağ ve fenolik bileşen profili ile antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri çok yönlü olarak incelenmiştir.

Araştırmada ilk olarak bitkinin metanolik ekstraktı hazırlanmış ve antioksidan kapasitesi çeşitli yöntemlerle değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre toplam fenolik madde miktarı 7.78 ± 0.43 mg GAE/g, toplam flavonoid madde miktarı ise 5.09 ± 0.06 mg kuersetin/g olarak belirlenmiştir. DPPH• radikal giderme testi sonucunda $IC_{50} = 0.91$ mg/mL değeri hesaplanmış, bu da bitkinin güçlü bir radikal süpürme kapasitesi taşıdığını ortaya koymuştur. FRAP ve CUPRAC analizlerinde sırasıyla $0.13 \mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ ve 0.65 mmol TEAC/g değerleri elde edilmiştir.

Melissa officinalis L. ekstraktının antimikrobiyal aktivitesi, bakteriler ve maya suşlarına karşı geniş bir yelpazede değerlendirilmiştir. Çalışmada belirlenen Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerleri $2000\text{--}4000 \mu\text{g/mL}$ aralığında değişmiştir. Özellikle *Candida albicans* ve *Candida krusei* türlerine karşı $2000 \mu\text{g/mL}$ düzeyinde belirgin antifungal etki gözlemlenirken, *Candida glabrata* suşuna karşı etkinliğin $4000 \mu\text{g/mL}$ seviyesinde olduğu tespit edilmiştir. Bakterilerden *Staphylococcus epidermidis* ve *Gordonia rubripertincta* türlerine karşı ise $4000 \mu\text{g/mL}$ düzeyinde zayıf antibakteriyel etki belirlenmiştir. Bu sonuçlar, oğul otunun bakterilere kıyasla maya türlerine karşı daha belirgin bir antifungal potansiyele sahip olduğunu ve doğal antifungal ajan olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

GC-MS analizi sonucunda, *Melissa officinalis* L. uçucu yağında toplam 36 farklı bileşik tespit edilmiştir. Analiz sonuçları incelendiğinde, pyrazine 2-methoxy bileşiğinin kolondan ilk elüsyon gösteren bileşik olduğu (RT = 1.112 dk), en uzun alıkonma süresine sahip bileşiğin ise capronaldehyde olduğu belirlenmiştir (RT = 51.350 dk). *Melissa officinalis* L. uçucu yağında en yüksek oranlarda saptanan bileşikler sırasıyla menthalactone (%25.27), (Z)-Anethole (%20.59), pentadecanolide (%12.41), isoisopulegol (%7.87), menthone (%6.97) ve limonene (%6.65) olmuştur. Bu bileşikler, genellikle monoterpen ve oksijenli terpenoid yapısında olup bitkiye karakteristik limon aroması kazandırmakta ve biyolojik aktivitesine katkı sağlamaktadır. Ayrıca, daha düşük oranlarda piperitone (%3.69), aromadendrene (%2.35), acetoin (%1.86), diethyl phthalate (%1.80) bileşenleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, literatürde bildirilen *Melissa officinalis* L. uçucu yağ profiliyle büyük ölçüde benzerlik göstermektedir ve çevresel faktörlerin bitkinin kimyasal kompozisyonuna etkisini ortaya koymaktadır.

HPLC-UV analizi sonucunda *Melissa officinalis* L. bitkisinde kullanılan 15 standart fenolik bileşikten yalnızca klorojenik asit tespit edilmiştir. Bu bileşiğin miktarı 45.52 ppm (%40.3) olarak belirlenmiştir. Diğer 41 adet fenolik bileşiğe ise *Melissa officinalis* L. bitkisinde rastlanmamıştır. Elde edilen bu sonuç, bitkinin antioksidan kapasitesinin büyük ölçüde klorojenik asit varlığından kaynaklandığını ve bu bileşiğin bitkinin fenolik profilinde baskın rol oynadığını göstermektedir.

Genel olarak, bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar *Melissa officinalis* L. bitkisinin güçlü antioksidan ve antifungal özellikler taşıdığını, uçucu yağ bileşenlerinin ise bu biyolojik aktiviteleri desteklediğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, oğul otunun doğal antioksidan ve antimikrobiyal ajan olarak hem farmasötik, hem de gıda endüstrisinde potansiyel bir bileşen olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Bitkinin zengin fenolik yapısı, serbest radikal temizleme gücü ve uçucu yağ profili, onu fonksiyonel gıda katkı maddesi veya doğal koruyucu ajan olarak da değerli kılmaktadır.

Gelecekte yapılacak çalışmalarda, *Melissa officinalis* L.'nin biyolojik etkilerinin moleküler mekanizmalarının araştırılması önerilmektedir. Özellikle antifungal ve antienflamatuvar etkilerinin hücresel düzeyde incelenmesi, bu bitkinin terapötik potansiyelini daha net ortaya koyacaktır. Ayrıca ekstraksiyon verimini artırmak amacıyla ultrases destekli, mikrodalga destekli veya süperkritik CO₂ ekstraksiyon yöntemlerinin uygulanması, bitkinin aktif bileşenlerinin daha yüksek oranda elde edilmesine katkı sağlayabilir. Farklı coğrafi bölgelerde yetişen *Melissa officinalis* L. popülasyonlarının

kimyasal bileşimlerinin karşılaştırılması ise çevresel faktörlerin bileşik profiline etkisini daha ayrıntılı biçimde açıklayacaktır.

Deneylede kullanılacak özütün hazırlanmasında çözücü olarak metanol tercih edilmiştir. Bununla birlikte, aseton, su, eter ve etanol gibi farklı çözücülerden yararlanılarak da özütler hazırlanabilir ve aynı analizler tekrarlanabilir. Bu sayede, bitkinin farklı çözücülerde elde edilen deney sonuçları karşılaştırılarak en uygun çözücü belirlenebilir.

Melissa officinalis L. bitkisinin uçucu yağlarının açığa çıkarılmasında SPME ekstraksiyon metotundan faydalanılmıştır. Bununla birlikte, farklı ekstraksiyon teknikleri kullanılarak da benzer çalışmalar yapılabilir ve elde edilen veriler karşılaştırmalı olarak değerlendirilebilir.

Ayrıca *Melissa officinalis* L. bitkisine yönelik antimikrobiyal aktivite testleri uygulanmıştır. Bunun yanı sıra, aynı bitki türü üzerinde anti-lipaz ve anti-üreez enzim aktiviteleri incelenebilir; ayrıca antikanser ve antienflamatuar gibi diğer biyolojik aktiviteleri de araştırılarak belirlenebilir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması *Melissa officinalis* L. bitkisinin antioksidan, antimikrobiyal, uçucu yağ ve fenolik bileşen profillerini bir arada değerlendiren ilk kapsamlı araştırmalardan biridir. Elde edilen bulgular, bitkinin doğal, güvenilir ve sürdürülebilir bir biyolojik ajan olarak hem bilimsel hem de endüstriyel açıdan önemli bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu yönüyle çalışma, oğul otunun çok yönlü biyolojik etkinliğini belgeleyerek, ileride yapılacak fitofarmasötik, fonksiyonel gıda ve kozmetik ürün geliştirme çalışmalarına bilimsel bir temel sağlamaktadır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Naime, W. A., Fahim, J. R., Fouad, M. A., & Kamel, M. S. (2019). Antibacterial, antifungal, and GC–MS studies of *Melissa officinalis*. *South African Journal of Botany*, 124, 228-234.
- Abdellatif, F., Boudjella, H., Zitouni, A., & Hassani, A. (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian *Melissa officinalis* L. *EXCLI Journal*, 13, 772–781.
- Abdellatif, F., Akram, M., Begaa, S., Messaoudi, M., Benarfa, A., Egbuna, C., ... & Simal-Gandara, J. (2021). Minerals, essential oils, and biological properties of *Melissa officinalis* L. *Plants*, 10(6), 1066.
- Abdellatif, F., Begaa, S., Messaoudi, M., Benarfa, A., Ouakouak, H., Hassani, A., Sawicka, B., & Simal-Gandara, J. (2023). *HPLC–DAD analysis, antimicrobial and antioxidant properties of aromatic herb Melissa officinalis L., aerial parts extracts*. *Food Analytical Methods*, 16, 45–54. <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02385-1>.
- Acar, J. ve Gökmen, V. (2005). Fenolik Asitler. *Gıda Bilimi ve Teknolojisi*.
- Adinee, J., Piri, K., & Karami, O. (2008). Essential oil component in flower of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 4(3), 277-278.
- Akyüz, L. (2007). *Antimikrobiyal Bileşikler ve Etki Mekanizmaları*. *Gıda Teknolojisi Dergisi*.
- Alzokery, M. E., & Nakahara, K. (2003). Antimicrobial Properties of Natural Plant Extracts. *International Journal of Food Safety*.
- Amsterdam, D., 1996. Susceptibility Testing of Antimicrobials in Liquid Medium. In: Baltimore, L.V., Williams, M.D. ve Wilikins, Eds., *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4th Edition, 52-111.
- Anklam, E. (1998). Phenolic compounds in food. *Food Chemistry*.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E., (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26): 7970-7981.
- Atak, E., Yıldız E., Uslu M., (2017). Phenolic Compounds in Fruits and Vegetables: A Review. *Food Chemistry*.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475.
- Behzadi, A., Imani, S., Deravi, N., Mohammad Taheri, Z., Mohammadian, F., Moraveji, Z., ... & Behfarnia, P. (2023). *RETRACTED: Antiviral Potential of Melissa*

- officinalis L.: A Literature Review. *Nutrition and metabolic insights*, 16, 11786388221146683.
- Benzie, I.F.F. ve Strain, J.J., (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) assay a measure of "Antioxidant power": The FRAP assay", *Analytical Biochemistry*, 239:70-76.
- Benzie, I.F.F., (2003). Evolution of dietary antioxidants. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 136:113-126.
- Branen, A. L. ve Davidson, P. M. (1983). Antimicrobials in Foods. *Food Technology*.
- Branen, A. L. (1975). Toxicology and biochemistry of food antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 52(4), 59-64.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74(17), 2157–2184.
- Can, Z., Yıldız, O., Şahin, H., Turumtay, E. A., Silici, S., Kolaylı, S., (2015). An Investigation of Turkish Honeys: Their Physico-Chemical Properties, Antioxidant Capacities and Phenolic Profiles, *Food Chemistry*, 180: 133-141.
- Carnat, A. P., Carnat, A., Fraisse, D., & Lamaison, J. L. (1998). The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, 72(5), 301-305.
- Cemeroğlu, A. P. ve Cemeroğlu, B. S., (1998). Sağlık açısından gıda fenolikleri, *Gıda Teknolojisi Dergisi*, 3(9): 52-55.
- Ceylan, A., (1997). Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yağ İçerenler). Ege Üniv. Ziraat Fakültesi Yayın No: 481, Ders Kitabı, 306 s.
- Çelik, E., Çelik, G. Y., (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2): 1-6.
- De Pascual-Teresa, S., Sanchez-Moreno, C., Granado, F., Olmedilla, B., De Ancos, B., & Cano, M. P., (2007). Short and mid-term bioavailability of flavanones from oranges in humans, *Current Topics in Nutraceutical Research*, 5(2/3): 129-134.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Review. *Molecules*, 21(7), 1-30.
- Diken, M. E., (2009). *Bazı şifalı bitkilerin antioksidan içerikleri*, Yüksek Lisans Tezi. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
- Domitrović, R., Cvijanović, O., Šušnić, V., Katalinić, N., (2014). Renoprotective mechanisms of chlorogenic acid in cisplatin-induced kidney injury, *Toxicology*, 324: 98-107.
- Dragland, S., Senoo, H., Wake, K., Holte, K., Blomhoff, R. (2003). Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants, *The Journal of nutrition*, 133(5): 1286-1290.

- Dukić, N. M., Božin, B., Soković, M., Simin, N., & Kujundžić, S. (2004). Antimicrobial and antioxidant activity of *Melissa officinalis* L. essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(9), 2485–2489.
- Dündar, Y., Aslan, R., (1999). Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller, antioksidanlar, *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, 2(2): 134-142.
- Esen, M., (2008). *Verbascum pinetorum* (Boiss.) O. Kuntze bitki ekstraktının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Evren, M., & Tekgüler, B. (2011). Uçucu yağların antimikrobiyel özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(3), 28-40.
- Fang, Z., Bhandari, B., (2010). Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10): 510-523.
- Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, M. (2013). Tibbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 6(2), 233-265.
- FFNSC. Gc/Ms Library Ver.1.3 (2008). Flavor and fragrance natural and synthetic compounds. *Shimadzu*, Kyoto, Japan.
- Franco, J. M., Pugine, S. M. P., Scatoline, A. M., & de Melo, M. P. (2018). Antioxidant capacity of *Melissa officinalis* L. on biological systems. *Eclética Química Journal*, 43(3), 19–29. <https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v43.3.2018.p19-29>.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M. (1996). Free radicals in biology and medicine. *Oxford University Press*.
- Halliwell, S. (1992). Teaching English in the Primary Classroom. *Harlow: Longman*
- Halliwell, B. (2000). The Antioxidant Paradox. *Nature*.
- Hancianu, M., Aprotosoia, A. C., Gille, E., Poiată, A., Tuchiluş, C., Spac, A., & Stănescu, U. (2008). Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of essential oil of *Melissa officinalis* L. from Romania. *Revista medico-chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iasi*, 112(3), 843-847.
- Hanganu, D., Vlase, L., Filip, L., Sand, C., Mirel, S., & Indrei, L. L. (2008). The study of some polyphenolic compounds from *Melissa officinalis* L.(Lamiaceae). *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*, 112(2), 525-529.
- Hochstein, P. ve Atallah, A.S., (1988). The nature of oxidant and antioxidant systems in the inhibition of mutation and cancer. *Mutation Research*, 202:363-75
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856.
- Ibragić, S., Salihović, M., Tahirović, I., & Toromanović, J. (2014). Quantification of some phenolic acids in the leaves of *Melissa officinalis* L. from Turkey and Bosnia. *Bull. Chem. Tech. Bosnia Herzegovina*, 42, 47-50.

- İşbilir, Ş.S. (2008). Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Doktora Tezi. 117s. Trakya Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kennedy, D. O., Little, W., & Scholey, A. B. (2004). Attenuation of laboratory-induced stress in humans after acute administration of *Melissa officinalis* L. *Psychosomatic Medicine*, 66(4), 607–613
- Kılıç, A., (2008). Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10(13): 37-45.
- Kovats, E., (1958). Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil 1: retentionsindices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone, *Helvetica Chimica Acta*, 41: 1915-1932.
- Köksal, E., Bursal, E., Dikici, E., Tozoğlu, F., & Gülçin, İ. (2011). Antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(2), 217–222.
- Linskens, H. F., Jackson, J. F, (1997). Modern methods of plant analysis, Vol. 19: *Plant Volatile Analysis*, Springer, Germany.
- M100-S16, (2006). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Sixteenth informational supplement, *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) [formerly NCCLS], Wayne, Pennsylvani, USA, 26, 3, 188 s.
- M27-A2, (2002). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast approved standard, Second Edition, *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) [formerly NCCLS], Wayne, Pennsylvani, USA, 22, 15, 51 s.
- M38-A2, (2008). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi, approved standard, second edition, *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) [formerly NCCLS], Wayne, Pennsylvani, USA, 22, 16, 51 s.
- Menichini, F., Tundis, R., Bonesi, M., Loizzo, M. R., Conforti, F., Statti, G., De Cindio, B., Houghton, P. J., & Menichini, F. (2011). The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Citrus medica* L. cv. Diamante essential oil. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 2230–2237
- Miguel, M. G., (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils, *A Short Review Molecules*, 15: 9252-9287.
- Miraj, S., Rafieian-Kopaei, & Kiani, S. (2017). *Melissa officinalis* L: A Review study with an antioxidant prospective. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 22(3), 385-394.
- Molyneux, P., (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26: 211-219.
- Moradkhani, H., Sargsyan, E., Bibak, H., Naseri, B., Sadat-Hosseini, M., Fayazi-Barjin, A., & Meftahizade, H. (2010). *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant. *J. Med. Plants Res*, 4, 2753-2759.
- Mukerji, K. G. (1997). *Plant Genetic Resources: Characterization and Evaluation*. Chapman & Hall, London.

- Nardini, M., Cirillo, E., Natella, F., Scaccini, C., (2002). Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption, *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(20): 5735-5741.
- Nazri, N. M., Ahmat, N., Adnan, A., Mohamad, S. S., & Ruzaina, S. S. (2011). In vitro antibacterial and radical scavenging activities of Malaysian table salad. *African Journal of Biotechnology*, 10(30), 5728-5735.
- Nostro, A., Germanò, M. P., D'Angelo, V., Marino, A., & Cannatelli, M. A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in applied microbiology*, 30(5), 379-384.
- Özşen, Ö., (2011). İzoforon Analoglarının Sentezi, Biyotransformasyonu ve Biyolojik Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Kimya Bölümü, 62.
- Öztürk, B. (2009). Antimikrobiyal Aktivite ve Bakteriyel Direnç. *Food Control Journal*.
- Pellegrini, N., Miglio, C. ve Del Rio, D., (2009). Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 (Suppl 2): 12-22.
- Popova, A., Dalemka, Z., Mihaylova, D., Hristova, I., & Alexieva, I. (2016). *Melissa officinalis* L.- GC profile and antioxidant activity. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(4), 634–638.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89-96.
- Radulescu, M., Jianu, C., Lukinich-Gruia, A. T., Mioc, M., Mioc, A., Şoica, C., & Stana, L. G. (2021). Chemical composition, in vitro and in silico antioxidant potential of *Melissa officinalis* subsp. *officinalis* essential oil. *Antioxidants*, 10(7), 1081.
- Renda, G., Tosun, G., Yaylı, N., (2016). SPME GC/MS Analysis of Three *Ornithogalum* L. Species from Turkey, *Records of Natural Products*, 10: 497-502.
- Saeb, K., & Gholamrezaee, S. (2012). Variation of essential oil composition of *Melissa officinalis* L. leaves during different stages of plant growth. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S547-S549.
- Sandri, I. G., Zacaria, J., Fracaro, F., Delamare, A. P. L., & Echeverrigaray S. (2007). Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria, *Food Chem.*, 103(3), 823-828.
- Shahidi, F. ve Naczki, M. (1995). Food Phenolics: Sources and Properties. *Food Chemistry*.
- Shahidi, F. ve Ho, C. (2005). Phenolic Compounds: Properties and Applications. *Food Chemistry*.
- Shahidi, F., Yeo, J., 2016. Insoluble-bound phenolics in food. *Molecules*, 21(9): 1216.
- Shakeri, A., Sahebkar, A., & Javadi, B. (2016). *Melissa officinalis* L. – A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 188, 204–228.

- Shahina Naz, S. N., Samia Ahmad, S. A., Rasool, S. A., Rahmanullah Siddiqi, R. S., & Sayeed, S. A. (2007). In vitro antibacterial activity of the extracts derived from *Terminalia catappa*.
- Slinkard, K., Singleton, V. L., (1977). Total Phenol Analyses: Automation and Comparison with Manual Methods, *American Journal of Enology and Viticulture*, 28: 49-55.
- Song, F. L., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xiao, Q., Kuang, L., & Li, H. B. (2010). Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected Chinese medicinal plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(6), 2362–2372.
- Spencer, J. P. (2007). Flavonoids: Their Role in Health and Disease. *Phytochemistry*.
- Spiridon, I., Colceru, S., Anghel, N., Teaca, C. A., Bodirlau, R., & Armatu, A. (2011). Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano (*Origanum vulgare*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and lemon balm (*Melissa officinalis*) from Romania. *Natural Product Research*, 25(17), 1657–1661. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.521502>.
- Vermerris, W. ve Nicholson, R. (2006). Flavonoid Chemistry and Its Role in Health. *Plant Biology*.
- Torbati, M. A., Nazemiyeh, H., Lotfipour, F. S., Asnaashari, S., Nemati, M., Fathiazad, F. (2013). Composition and Antibacterial Activity of *Heracleum Transcaucasicum* and *Heracleum Anisactis* Aerial Parts Essential Oil, *Adv Pharm Bull.*, 3(2): 415-418.
- Toroğlu, S., & Çenet, M. (2006). Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2), 12-20.
- Tuchilus, C., Poiata, A., Hancianu, M., Cioanca, O., & Stanescu, U. (2008). Antimicrobial activity of *Melissa officinalis* L. essential oil.
- Ülgen, C., Birinci Yıldırım, A., & Uçar Türker, A. (2023). *Melissa officinalis*: Antibacterial and antioxidant potential, phenolic profile and enzyme activities (PAL, SOD and CAT). *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 26(5), 1075–1085. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.1170784>.
- Weggler, B. A., Gruber, B., Teehan, P., Jaramillo, R., & Dorman, F. L. (2020). Inlets and sampling. In *Separation science and technology* (Vol. 12, pp. 141-203). *Academic Press*.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., (1999). The Determination of Flavonoid Contents on Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radical, *Food Chemistry*, 64(4): 555-559.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

Özkan KARAKOL Tez Son Teslim Benzerlik

ORJİNALLİK RAPORU

% 15	% 12	% 9	% 7
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 3
2	Submitted to Artvin Ąoruh Ąniversitesi Öğrenci Ödevi	% 3
3	acikerisim.uludag.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	9lib.net İnternet Kaynağı	<% 1
6	www.artvin.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to Anadolu University Öğrenci Ödevi	<% 1
8	www.scipub.org İnternet Kaynağı	<% 1
9	acikerisim.firat.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
10	Submitted to Ankara University Öğrenci Ödevi	<% 1
11	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1