



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

***Pistacia terebinthus* GALİNİN BAZI  
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**Mesude ALGAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Kasım-2019**  
**BATMAN**  
**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ KABUL VE ONAYI

Mesude ALGAN tarafından hazırlanan “*Pistacia terebinthus galinin bazı biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi*” adlı tez çalışması 22/11/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

#### Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Nurullah AKCAN

#### Danışman

Doç. Dr. Nesrin HAŞİMİ

#### Üye

Dr. Öğr. Üyesi İ. Selçuk KURU

### İmza

  
.....

  
.....

  
.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

  
Prof. Dr. Şahnaz TİĞREK  
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından BTÜBAP-2017-Yüksel Lisans-10 nolu proje ile desteklenmiştir.

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## **DECLARATION PAGE**

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Mesude ALGAN

22.11.2019

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### *Pistacia terebinthus* GALİNİN BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Mesude ALGAN

Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nesrin HAŞİMİ

2019, 62 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Nesrin HAŞİMİ  
Dr. Öğr. Üyesi Nurullah AKCAN  
Dr. Öğr. Üyesi İ. Selçuk KURU

*Pistacia terebinthus* üzerinde oluşumu *Slavum aff. mordvilkoii* afiti tarafından indüklenen galden hazırlanan petrol eteri, aseton, metanol ve su ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemiyle, toplam fenolik miktarları galik asite, toplam flavonoid içerik kersetine eşdeğer olarak; antioksidan aktiviteleri DPPH, ABTS ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak belirlendi.

Tüm ekstraktlar farklı düzeylerde antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. En yüksek inhibisyon zonu (14 mm) aseton ekstresi tarafından *S. aureus*'a karşı, en düşük MİK değeri (50 µg/ml) aseton ekstresi tarafından *C. albicans*'a karşı ve en düşük MBK değeri (500 µg/ml) ise yine aseton ekstresi tarafından *S. aureus* ve *S. pyogenes*'e karşı kaydedilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı açısından en zengin ekstraktın aseton ekstresi olduğu (204.28 µgGAs/mg ekstre), toplam flavonoid içerik açısından en zengin ekstraktın ise etanol ekstresi (21.21 µgQEs/mg ekstre) olduğu belirlendi. Antioksidan aktivite açısından petrol eteri ekstresi aktivite göstermezken diğer ekstraktlar pozitif kontrollere yakın/yüksek aktivite göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Gal, antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite, *Pistacia terebinthus*

## ABSTRACT

### MS THESIS

#### DETERMINATION OF SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *Pistacia terebinthus* GALL

Mesude ALGAN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF  
BATMAN UNIVERSITY  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE OF BIOLOGY

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Nesrin HAŞİMİ

2019, 62 Pages

#### Jury

Assoc. Prof. Dr. Nesrin HAŞİMİ  
Asst. Prof. Dr. Nurullah AKCAN  
Asst. Prof. Dr. İ. Selçuk KURU

The antimicrobial activity of petroleum ether, acetone, ethanol and water extracts of *Pistacia terebinthus* gall induced by *Slavum aff. mordvilkoii* was determined by disc diffusion method. The total phenolic amounts and total flavonoid content were determined as gallic acid and quercetin equivalent, respectively. The antioxidant activities were determined by DPPH, ABTS and CUPRAC methods.

All the extracts exhibited antimicrobial activity in different degrees. The highest inhibition zone (14 mm) was recorded by acetone extract against *S. aureus*, the lowest MIC value (50 µg/ml) was recorded by acetone extract against *C. albicans* and the lowest MBC value (500 µg/ml) was also recorded by acetone extract against *S. aureus* and *S. pyogenes*. In terms of total phenolic content, the richest extract was the acetone extract (204.28 µgGAs/mg extract), while the richest extract in terms of total flavonoid content was ethanol extract (21.21 µgQEs/mg extract). While the petroleum ether extract showed no antioxidant activity, other extracts showed near/high activity to positive controls.

**Key Words:** Gall, antimicrobial activity, antioxidant activity, *Pistacia terebinthus*

## ÖNSÖZ

Çalışmalarım süresince bilgisini ve ilgisini esirgemeyen çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Nesrin HAŞİMİ'ye emekleri için içtenlikle teşekkür ederim.

Çalıştığım gal örneğinin arazi çalışmaları kısmında ve teşhisinde emeği geçen Dr. Öğr. Üyesi Erdem SEVEN'e teşekkür ederim.

Eğitim-öğretim hayatım boyunca benden her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyen, her zaman sevgilerini hissettiğim, yanımda olan canım annem Sabahat ALGAN'a, babam Beşir ALGAN'a ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mesude ALGAN  
BATMAN-2019

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	viii
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	3
2.1. Botanik Bilgiler.....	3
2.1.1. <i>Pistacia</i> türlerinin antioksidatif etkisi.....	5
2.1.2. <i>Pistacia</i> türlerinin antienflamatuvar etkisi.....	5
2.1.3. <i>Pistacia</i> türlerinin antimikrobiyal etkisi .....	6
2.1.4. <i>Pistacia</i> türlerinin antikanser etkisi .....	7
2.2. Galler .....	7
2.3. Bakteriye Üreme .....	9
2.4. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri .....	10
2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar .....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Bitkisel Materyal ve Ekstraksiyon Yöntemi .....	17
3.2. Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi .....	17
3.3. Ekstrelerin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini .....	19
3.3.1. Ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoit madde miktar tayini .....	19
3.3.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi.....	22
3.3.3. ABTS (kasyon radikali giderim aktivitesi) yöntemi .....	23
3.3.4. CUPRAC yöntemi (bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi).....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	27
4.1. Ekstraksiyon Bulguları .....	27
4.2. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları.....	27
4.3. Antioksidan Aktivite Bulguları.....	29
4.3.1. Toplam fenolik ve flavonoit madde miktar tayini bulguları.....	29
4.3.2. DPPH yöntemi bulguları.....	30
4.3.3. ABTS yöntemi bulguları.....	32
4.3.4. CUPRAC yöntemi bulguları .....	33
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	41
ÖZGEÇMİŞ .....	54

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

### **Simgeler**

**µl** : Mikrolitre

**µg**: Mikrogram

**M** : Molar

**mg**: Miligram

**ml** : Mililitre

**mM**: Milimolar

**nm** : Nanometre

### **Kısaltmalar**

**AA**: Askorbik Asit

**ABTS** : 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)

**BHA** : Bütillenmiş hidroksi anisol

**BHT** : 2,6-di-t-bütil-1-hidroksitoluen

**DPPH** : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

**FCR** : Folin-Ciocalteu Reaktifi

**MİK**: Minimal İnhibitör Konsantrasyonu

**MBK**: Minimal Bakterisidal Konsantrasyonu

**NB**: Nutrient Broth

**CUPRAC**: Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi

## 1. GİRİŞ

Bitkisel tedavi yöntemleri eski çağlardan beri dünyada ve ülkemizde halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitkilerin tedavi edici etkilerinin hangi maddelerden kaynaklandığını belirlemek üzerine yapılan araştırmalar büyük bir hızla devam etmektedir. Tedavi amacıyla kullanılan birçok bitkinin içerdiği sekonder metabolitlerin saflaştırılarak yapılarının aydınlatılması, bunların farmakolojik ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi neticesinde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan doğal kaynaklı ilaç etkeni maddeleri bulunmuştur. Sentetik ilaç etken maddelerine oranla daha az yan etkiye sahip olan doğal kaynaklı maddeler daha fazla tercih edilmektedir.

Reaktif oksijen türleri (ROT) olarak bilinen  $O_2^{\cdot-}$  (süper oksit),  $H_2O_2$  (hidrojen peroksit) ve OH (hidroksil) aerobik koşullar altında in vivo olarak sürekli üretilir. Ökaryotik hücrelerde mitokondriyal solunum zinciri, mikrozomal sitokrom P450 enzimleri, flavoprotein oksidazlar ve peroksizomal yağ asidi metabolizması ROS'un en önemli hücre içi kaynaklarıdır (Castro ve Freeman, 2001; Lachance ve ark., 2001). Oksidatif stres, ateroskleroz ve ilgili vasküler hastalıklar, mutajenez ve kanser, nörodejenerasyon, immünolojik bozukluklar ve yaşlanma süreci gibi bazı kronik insan hastalıklarında önemli bir faktördür (Castro ve Freeman, 2001; Lachance ve ark., 2001). Kronik hastalıkların (kanser, kalp-damar hastalıkları, Alzheimer, vb.) fazlaşması insan ömrünün uzamasıyla birlikte günümüzde antioksidanlara olan ilgiyi arttırmıştır. Bunun nedeni, antioksidan bakımından zengin gıdaların tüketilmesinin ve/veya doğal antioksidanların beslenme takviyesinde kullanılmalarının hücrel yaşlanmayı ve birçok kronik hastalığı engellediğinin ve geciktirdiğinin bilimsel olarak kanıtlanmış olmasıdır.

Sentetik antioksidanların, lipit oksidasyon inhibitörleri olarak kullanılması gıda endüstrisinde iyi bilinmektedir. 1987'de bütillenmiş hidrokstoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) gibi yaygın olarak kullanılan yapay antioksidanların çok etkili olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, sentetik antioksidanların kararsızlıkları ve kanserojen promotörleri olarak şüpheli etkilerinden dolayı gıda ürünlerindeki kullanımları düşmektedir (Namiki, 1990; Pokorny, 1991). Bu nedenle, doğal katkı maddelerinin potansiyel antioksidanlar olarak incelenmesine ilgi artmaktadır. Birçok tıbbi bitki ve baharatın antioksidan özelliklerinin, yağlar ve yağlı yiyeceklerde lipit peroksidasyon sürecinin geciktirilmesinde etkili olduğu ve birçok araştırma grubunun ilgisini çektiği bildirilmektedir. Son 20 yılda çeşitli aromatik

bitkilerin antioksidan aktiviteleri üzerine bir takım çalışmalar bildirilmiştir (Brraco ve ark., 1981; Herrmann ve ark., 1981; Kramer, 1985; Lagouri ve ark., 1993).

Uzun zaman önce atalarımız hastalıkları tedavi etmek için bitkilerden ve diğer organizmalardan faydalanıyordu. Bu, bitkilerde bulunan ve farmasötik endüstrisi tarafından yeni ilaç geliştirilmesinde kullanılabilir olan farmakolojik olarak aktif bileşenlerin varlığı nedeniyledir. Bakteriyel enfeksiyonlar günümüzde dünya çapında ciddi bir sağlık sorunudur. Enfeksiyon tedavisinde kullanılan çok sayıda etkili antibiyotik vardır. Ancak, bakteriyel direnç gelişimi, bu ilaçları daha az etkili hale getirmiştir ve çoklu direnç problemini ortaya çıkarmıştır. Bu durum, yeni antibakteriyel maddelerin tasarımı, keşfi ve geliştirilmesine duyulan ihtiyacı haklı çıkarmaktadır. (Koehn ve Carter, 2005).

*Pistacia terebinthus* L. (Anacardiaceae), Akdeniz Bölgesi'nde ve Asya'da pek çok biyolojik aktiviteye sahip olan yaygın biçimde bulunan 20 *Pistacia* türünden biridir. *Pistacia* türleri, özellikle flavonoidler ve diğer fenolik bileşenler nedeniyle antimikrobiyal, anti-enflamatuar ve sitotoksik aktivitelerin yanı sıra antioksidan potansiyelleri nedeniyle araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Türkiye'de *P. terebinthus* ssp. *terebinthus* (menengiç olarak bilinir) yanık tedavisinde kullanılır. Yerel olarak menengiç sakızı olarak bilinen *P. terebinthus* ssp. dallarından toplanan reçine (*terebinthus* = *Terebenthina chia*, *T. cypria*), bronşitlerde ve diğer solunum ve idrar sistemi hastalıklarında antiseptik olarak kullanılır, ayrıca anti-enflamatuar ve antipiretik özelliklere de sahiptir (Baytop, 1984). Meyveleri kahve olarak tüketilir, meyvelerinden elde edilen yağ, yemeklik yağ olarak kullanılır (Baytop, 1984; Tanker ve Tanker, 1998).

Buradan yola çıkarak bu tez çalışmasında *Pistacia terebinthus* üzerinde oluşumu *Slavum aff. mordvilkoii* afidi tarafından indüklenen galin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesini belirlemeyi amaçladık. Literatüre baktığımızda çalışmamıza konu olan gal ile ilgili hiçbir çalışmaya rastlanmamış olması çalışmamızın özgün değerini arttırmaktadır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Botanik Bilgiler

*Pistacia* türleri Anacardiaceae familyasına ait olup, yaygın olarak terebentin ağacı olarak bilinen çok yıllık çiçekli bitkilerdir. *Pistacia terbinthus* L. iki evcikli, çok yıllık çalı veya küçük ağaç görünümünde olup 5 ila 10 m yüksekliğe kadar ulaşabilir. Kuru yerlerde, açık ormanlarda ve kayalıklarda, genellikle kalkerli yamaçlarda yetişen Akdeniz Ülkeleri ve Kanarya Adaları'na özgü bir bitkidir (Tutin ve ark., 1968). Kuzey Afrika, Arap Yarımadası ve Batı Asya'da da yetiştiği belgelenmiştir (Pulaj ve ark., 2016). Türkiye'nin ise batı ve güney bölgelerinde kuru kaya yamaçlarda ve çam ormanlarında yetişmektedir (Ozcan ve ark., 2009).

*Pistacia terbinthus* reçine, uçucu yağlar, proteinler, organik asitler, şekerler, flavonoidler ve tanenler dahil olmak üzere zengin bir kimyasal yapıya sahiptir (Asllani, 2002; Alvarez ve ark., 2009; Durmaz ve Goekmen, 2011). Bitki yapraklarının, gal oluşumunu indükleyen yaprak bitleri tarafından saldırıya uğraması sonucu yapraklarda gal oluşmaktadır (Alvarez ve ark., 2009). Galler %60 reçine, %36 tanenler ve %4 uçucu yağ içeriğine sahiptirler (Asllani, 1988). *Pistacia terebinthus*, terebentin kaynağı olarak bilinir ve aynı zamanda birçok ülkede geleneksel bir ilaç olarak kullanılır. Örneğin İran'da bitkinin yanması sonucu oluşan duman dezenfektan ve hava temizleyici olarak (Mohagheghzadeh ve ark., 2010), yaprakları yanık tedavisinde, dal reçinesi ise bronşit ve diğer solunum yolu hastalıkları ile ürolojik rahatsızlıklarda antiseptik, antienflamatuvar ve antipiretik olarak kullanılmaktadır (Topcu ve ark., 2007). Olgun meyveler; üriner sistem iltihabında diüretik olarak, mide ağrısı (Cakilcioglu ve Turkoglu, 2010), ülser (Polat ve ark., 2013), prostat sorunları, baş ağrısı gibi durumlarda kullanılmaktadır (Agelet ve Valles, 2003). Bu türün biyoherbisit (İsmail ve ark., 2012) ve antifungal (Potocnik ve ark., 2010) gibi başka birçok kullanımı vardır. Türkiye'de *Pistacia terebinthus* meyveleri yaygın olarak sütle hazırlanan ve menengiç kahvesi olarak bilinen kahve şeklinde tüketilmektedir (Baytop, 1984). Diğer bir tür olan *P. khinjuk* meyvelerinden elde edilen yağlar sabun yapımında olduğu kadar yemeklik yağ olarak da kullanılmaktadır (Agelet ve Valles, 2003).

Çizelge 2.1. Çeşitli *Pistacia* türlerinin etnobotanik kullanımı (Rauf ve ark., 2017)

Tür	Kullanılan kısımlar	Kullanım alanı
<i>P. integerrima</i>	Gal, kabuk, kök	Hepatit, karaciğer rahatsızlığı, antiinflamatuvar, antidiyabetik, kan temizleyici, gastrointestinal rahatsızlıklar, balgam sökücü, sarılık, mide ağrıları, ateş ve diyare
<i>P. lentiscus</i>	Yaprak ve kabuk	Öksürük, farenjit, egzema, mide ağrısı, böbrek taşı ve sarılık
<i>P. khinjuk</i>	Yaprak	Hepatit ve karaciğer rahatsızlıkları
<i>P. vera</i>	Tohum ve meyve	Abdominal rahatsızlıklar, abse, adet düzenleyici, morarmalar, göğüs rahatsızlıkları, kan dolaşımı, dizanteri, jinekopati, kaşıntı, romatizma, karaciğer sikloresizi, yara ve travma
<i>P. terebinthus</i>	Yaprak	Yenilebilir meyve, diüretik ve üriner enflamasyonlar
<i>P. lentiscus</i>	Yaprak ve kabuk	Öksürük, farenjit, egzema, mide ağrısı, böbrek taşı ve sarılık
<i>P. palaestina</i>	Yaprak, gal	Antiproliferatif
<i>P. weinmannifolia</i>	Yaprak ve kabuk	Dizanteri, bağırsak iltihabı, grip, travmatik kanamalar, baş ağrısı ve akciğer kanseri
<i>P. eurycarpa</i>	Yaprak, kabuk ve kök	Deri enfeksiyonları ve duodenal ülser

### 2.1.1. *Pistacia* türlerinin antioksidatif etkisi

Fenolik madde açısından zenginlik direkt olarak yüksek antioksidan etki ile ilişkilidir. Bu bakımdan *Pistacia* türlerinin antioksidan potansiyelini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. DPPH radikal süpürücü, ABTS<sup>+</sup> radikal süpürücü, nitrik oksit süpürücü ve  $\beta$ -karoten ağartıcı aktivite tayin yöntemleri bu amaç için kullanılmıştır.

*Pistacia integerrima* etilasetat eksterisinin hiper-ürisemik farelerde doza bağlı ürik asit düşürücü etkisinin olduğu bildirilmiştir. Kersetin, kamferol, rutin, apigenin vb. bileşenler antioksidan aktivitede kilit bileşenlerdir (Ahmad ve ark., 2008).

*P. lentiscus*'un kaynatılmış ve kaynatılmamış su ekstrelerinin hepatoprotektif (karaciğer koruyucu) etkisi ratlar üzerinde çalışılmış olup 4 ml/kg oral dozda ekstrelerin antihepatotoksit etki gösterdiği bildirilmiştir (Janakat ve Al-Merie, 2002).

*P. lentiscus* sabit yağları kan plazmasında karaciğer fonksiyonun etkilemeden aspartat transaminaz (AST) ve alanin transaminaz (ALT) düzeylerini düşürücü etkiye sahiptir (Djerrou ve ark., 2011).

*P. vera* tohum ekstreleri deri üzerinde fotoprotektif (ışığa karşı koruyucu) etkiye sahiptir. UVB ile indüklenen cilt kızarıklığına sahip bireylerde topikal uygulamalarla iyileşme sağlanmıştır. Buradaki aktif bileşenlerin kozmetik alanında kullanılabileceği bildirilmiştir (Martorana ve ark., 2013).

*P. lentiscus* meyvesindeki polifenollerin antioksidan ve antimutajenik aktivitesi bildirilmiş olup, ekstredeki gallik asidin antioksidan ve DNA onarım genlerinin ekspresyonunu teşvik ettiği sonucuna varılmıştır ki bu da polifenollerin antioksidatif etkisini açıklamaktadır (Abdelwahed ve ark., 2007)

*P. integerrima* meyvelerinin etanol ekstreleri askorbik asitten oldukça yüksek radikal süpürücü etki göstermiştir. Ekstrelerinin IC<sub>50</sub> değeri 5.75 ppm iken askorbik asidin IC<sub>50</sub> değeri 15.09 ppm olarak belirlenmiştir (İlahi ve ark., 2013).

Başka bir çalışmada ise *P. atlantica* yapraklarının radikal süpürücü etkisinin BHA'dan daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Peksel ve ark., 2013).

### 2.1.2. *Pistacia* türlerinin antienflamatuvar etkisi

İnsan veni endotel hücreleri üzerine yapılan çalışmada *P. integerrima* yaprak gallerinden elde edilen etil gallatın antienflamatuvar etkide rol aldığı bildirilmiştir (Mehla ve ark., 2011).

Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise *P. lentiscus* uçucu yağlarının hasarlı dokuya lökosit göçünü yavaşlattığı ve antienflamatuvar aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Serumdaki enflamatuvar sitokin (TNF-alpha ve IL-6) seviyelerindeki azalma antienflamatuvar aktiviteye atfedilmiştir (Maxia ve ark., 2011).

Toz haline getirilmiş *P. lentiscus* sakızının ratlarda günlük 100 mg/kg dozda uygulamasının inteflamatuvar sitokinlerin (TNF-alpha) ve intaselüler adhezyon molekül-1 (ICAM-1, IL-6, IL-8) seviyelerini muhtemelen düşürdüğü bildirilmiş olup Crohn hastalığında terapötik rolü olduğu düşünülmektedir (Gioxari ve ark., 2011).

*P. intergerrima* gali uçucu yağının duyarlaştırılmış gine domuzlarında bronşiyal astımı, lipoksijenaz enzimi ve mast hücrelerinin stabilizasyonu yolu ile iyileştirdiği bildirilmiştir (Shirole ve ark., 2014).

*P. integerrima* gallerinin metanol ekstrelerinin fosfodiesteraz-1 enzimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu enzim solunum yolu enflamasyonları ve solunum yolundaki düz kaslarının aşırı duyarlılığında rol alan bir enzimdir. Bu yüzden solunum yolu enflamasyonlarında bu enzimin inhibisyonu önemli rol oynar. Ayrıca galden saflaştırılan iki aktif bileşiğin de (naringenin ve 3,5,7,40-tetrahydroxy-flavanone) aynı etkiyi gösterdiği bildirilmiştir (Rauf ve ark., 2015).

### 2.1.3. *Pistacia* türlerinin antimikrobiyal etkisi

*P. lentiscus* reçinesinin antibakteriyel etkinliği doğrulanmıştır. Gastrik inflamasyona sebep olan *Helicobacter pylori* üzerinde, 125 mg/ml konsantrasyonda %50 oranında, 500 mg/ml konsantrasyonunda ise %90 oranında üremeyi inhibe edici etkiye sahip olduğu doğrulanmıştır. İnhibisyon mekanizmasının membran protrüzyonu ve apoptozisle ilgili olduğu sonucuna varılmıştır (Marone ve ark., 2001).

14 gün boyunca günde üç kez 350 mg *P. lentiscus* reçinesinin hastalara uygulanmasıyla yapılan randomize çalışmada, uygulamanın hastalardaki patojenleri yok ettiği bildirilmiştir. Kullanılan dozun iyi tolere edildiği ve herhangi bir yan etkisinin olmadığı, dozaj artışı veya ilaçlarla eşleştirmenin daha iyi etki gösterebileceği de ayrıca bildirilmiştir (Dabos ve ark., 2010).

*P. lentiscus* var. *Chia* uçucu yağının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* üzerinde farklı düzeylerde inhibe edici etkisi bildirilmiştir (Koutsoudaki ve ark., 2005).

Ayrıca, *P. lentiscus* yaprak uçucu yağı *Klebsiella pneumoniae* üzerinde güçlü antimikrobiyal aktivite sergilerken *P. integerrima* metanol ekstresi ise *B. subtilis* üzerinde (Mharti ve ark., 2011; Bibi ve ark., 2011), *P. vera* uçucu yağı da birçok bakteri ve maya üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir (Alma ve ark., 2004).

#### **2.1.4. Pistacia türlerinin antikanser etkisi**

*P.integerrima* ekstre ve fraksiyonları insan göğüs kanseri MCF-7 hücre hattı üzerinde test edilmiştir. Etil asetat ve kloroform fraksiyonları 200 µg/ml konsantrasyonda sırasıyla yaklaşık olarak %100 ve %97.4 inhibisyon oranı sergilemişlerdir. Doza bağlı etki söz konusudur (Bibi ve ark., 2012).

Bulantı ve kusma kanser tedavisi için kullanılan kemoterapötiklerin ortak yan etkilerini oluşturur. Bu yan etkilerin şiddetini azaltmak ve ilaç etkinliğini artırmak için antiemetikler aranır. Kimyasal maddeler (metoklopramid) ve antiemetik olarak kullanılan steroidler daha fazla komplikasyon oluşturur. Bu bağlamda *Pistacia* cinsi umut vaat edicidir. *P. vera* yaprak ve meyvelerinin su ekstresinin antiemetik etkisi piliçler üzerinde incelenmiştir. Kusma, bakır sülfat (oral olarak 60 mg/kg) ve ipeka (oral olarak 600 mg/kg) ile indüklenmiştir. Ekstreler intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Yaprak ekstresinin LD<sub>50</sub> değeri 666.5 mg/kg, meyve ekstresininki ise 565.7 mg/kg olarak belirlenmiştir. Ekstrelerin ölümcül olmayan maksimum dozları sırasıyla 100 mg/kg ve 150 mg/kg'dır. Uygulama sonrasında antiemetik aktivite merkezi ve/veya çevresel reseptörlere bağlı olarak çözülmüştür (Hosseinzadeh ve ark., 2011).

## **2.2. Galler**

Gal, bir organizmanın parazitlik aktivitesi nedeniyle bitki üzerinde oluşan anormal doku büyümeleridir (Redfern ve Shirley, 2002). Gal oluşumunu indükleyen organizmalar; virüsler, bakteriler, mantarlar ve böcekler olup böcekler bunların arasında en sofistike indükleyiciler olarak kabul edilir (Mani, 1964; Raman, 2011). Bitkilerde gal oluşumunu indükleyen böcekler parazitik otçullar olup bitki kaynaklarını tüketir. Aynı zamanda bitki dokusunda fizyoloji ve morfolojik değişikliklere neden olurlar. Bu büyüme transformasyonları hem gal indükleyici uyarılarının hem de bitkilerin bu uyarılara tepkilerinin sonucu olarak kabul edilir (Tschardtke, 1989; Wool, 1997).

Bitkide oluşan galler gelişmiş hücreler, dokular veya organlardan inşa edilir ki bu gelişim artan hücre boyutu (hipertrofi) ve/veya artan hücre sayısının (hiperplazi) yanı sıra doku kompozisyonundaki değişikliklerdir (Harris ve ark., 2003).

Gal oluşumunu indükleyen 13000 böcek türü bilinmekte olup bunun %10'unu (4401 tür) yaprak biti (afit) türleri oluşturmaktadır (Blackman ve Eastop, 1994). Gal oluşumunu indükleyen yaprak bitleri Adelgidae, Phylloxeridae ve Aphididae familyalarına aittir (Wool, 2005). Her yaprak biti türü birincil konakçı bitki türü üzerinde kendi soyunu geliştireceği karakteristik ve türe özgü bir gal oluşturur ki bu da yaprak biti ile konakçı bitki arasındaki birlikteliğin antik kökenini yansıtmaktadır (Moran, 1989). Son yıllarda *Pistacia* türleri (özellikle *Pistacia terebinthus*, *Pistacia palaestina* Bon. And *Pistacia atlantica* Desf.) üzerinde yaprak bitleri tarafından oluşturulan gallerin histoloji, biyoloji ve ekolojisi iyi incelenmiştir (Davatchi, 1958; Koach ve Wool, 1977; Wool ve Burstein, 1991; Wool ve Bar-El, 1995; Wool ve Bogen, 1999; Wool, 2005; Alvarez ve ark., 2009).

*Pistacia* türlerinde eşşek arısı ve yaprak bitlerinin neden olduğu çeşitli yaprak galleri etnomedikal öneme sahiptir (Rostas ve ark., 2013; Samra ve ark., 2015; Gerchman ve Inbar., 2011).

*Pistacia* gallerinin anti-enflamatuar, anti-astım, ishal önleyici, anti-pretik, analjezik, kan temizleyici, cilt yumuşatıcı, sindirim ve anti-emetik ajan olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Rauf ve ark., 2017). Gal ekstralarının *Bacillus*, *Pseudomonas* ve filamentöz fungus türlerine karşı antimikrobiyal etkisi kanıtlanmıştır (Samra ve ark., 2015).

*P. integerrima* ve *P. chinensis* galleri oldukça iyi araştırılmıştır. Bu gal ekstralarının ishal önleyici, anti-astım, anti-psoriatik, anti-piretik ve anti-hepatoprotektif etkilerinin olduğu kanıtlanmıştır (İsmail ve ark., 2011; Uddin ve ark., 2012a; Uddin ve ark., 2012b; Ullah ve ark., 2014; Shirole ve ark., 2015).

Monoterpenler,  $\alpha$ -pinen ve limonenin hakim olduğu gal terpen düzeyi normal bitki kısımlarından neredeyse 50 kat daha fazladır (Rand ve ark., 2014). Galin diğer kimyasal bileşenleri  $\beta$ -sitosterol, n-dekan-3-ol-yl-n-eikozanat, n-oktadekan-9,11-diol-7-one ve 3-oxo-9 $\beta$ -lanost-1,20 (22)-dien-26-oik asittir (Ahmad ve ark., 2010). *P. integerrima* galinin ishal önleyici etkisi içeriğindeki naringenin ve di-hidrokamferole atfedilmiştir (Shirole ve ark., 2015).

### 2.3. Bakteriyel Üreme

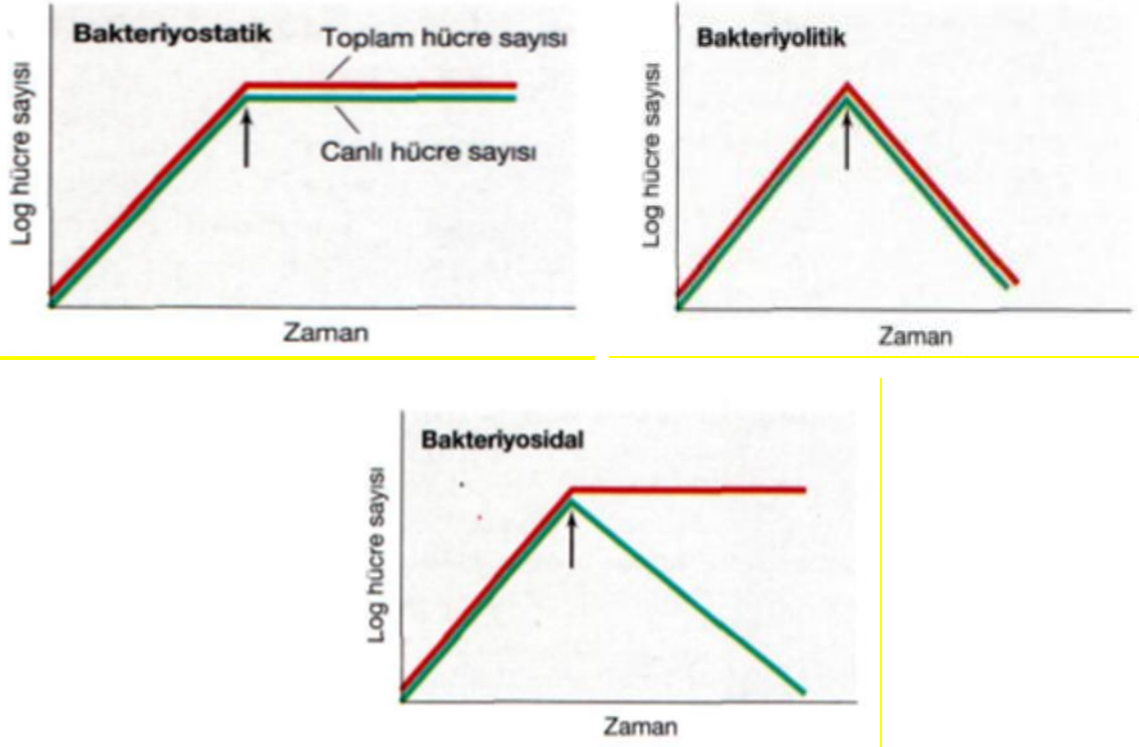
Bakterilerde bir generasyonu ortaya çıkması için gereken zaman oldukça değişkendir ve hem beslenme olanakları hem de genetik etmenlere bağlıdır. İdeal beslenme koşullarında *E.coli* bakterisi yaklaşık 20 dakikada döngüyü tamamlayabilir. Üssel olarak üremekte olan bakteriyel kültüre antimikrobiyal madde eklendiğinde 3 farklı etki gözlenir (Şekil 2.1):

- ✓ Bakteriyostatik
- ✓ Bakteriyosidal
- ✓ Bakteriyolitik

Bakteriyostatik maddeler çoğunlukla protein sentezi inhibitörleridir. Ve ribozomlara bağlanarak etki ederler. Eğer maddenin konsantrasyonu azaltılırsa madde ribozomdan ayrılır üreme tekrar başlar. Pek çok antibiyotik bu mekanizma ile etki eder.

Bakteriyosidal maddeler hücresel hedeflerine güçlü bir şekilde bağlanır ve seyreltme ile giderilemezler, ancak hücre bütünlüğünün ve hücresel içeriğin kaybı olarak ifade edilen lizis olayı meydana gelmez.

Bakteriyolitik maddeler madde eklendikten sonra bulanıklık veya hücre sayısındaki azalma şeklinde gözlemlenen hücre lizisi sonucu ölüme sebep olurlar. Bakteriyolitik maddeler penisillin gibi hücre duvarı sentezini engelleyen maddelere ek olarak sitoplazmik zarı parçalayan deterjanlar gibi kimyasallar bu grupta yer alır (Madigan ve Martinko, 2010).



Şekil 2. 1. Üç tip antimikrobiyal madde etkisi. Ok ile gösterilen zamanda, üremeyi inhibe eden konsantrasyon üssel olarak üremekte olan kültüre eklenmiştir (Madigen ve Martinka., 2010).

#### 2.4. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Antimikrobiyal duyarlılık testleri ilaç keşfi, epidemiyoloji ve terapötik sonucun tahmini için kullanılır.

“Altın çağ” devrinden sonra, kemoterapinin temel sorunları 1960’larda neredeyse bütün önemli antibiyotik gruplarının (tetrasiklinler, sefalosporinler, aminoglikosidler ve makrolidler) keşfedilmesiyle çözülmüştür. Fakat bugünlerde bu heyecan verici bileşikler mikrobiyal direncin artmasıyla etkisini kaybetmektedir (Mayers ve ark., 2009). Günümüzde, çoklu direnç gösteren bakterilerle ilişkili tedavi başarısızlıkları insan sağlığı açısından küresel endişeye neden olmuştur (Guschin ve ark., 2015; Martin ve ark., 2015). Bu sebeple, yeni antibiyotiklerin keşfedilmesi önemli bir bulgudur. Bitkiler, çeşitli hayvan organizmaları, prokaryotik bakteriler ve ökaryotik mikroorganizmalardan üretilen doğal kaynaklı ürünler günümüzde yeni ilaç moleküllerinin ana kaynakları olmaya devam etmektedir. Mikrobiyal ve bitkisel ürünler bugüne kadar keşfedilen antimikrobiyal bileşiklerin büyük bir kısmını kapsamaktadır (Berdy, 2005). Bitkiler ve diğer doğal kaynaklar, çok çeşitli kompleks ve yapısal olarak farklı bileşikler ihtiva ederler. Son zamanlarda, birçok araştırmacı bitki ve mikrobiyal

ekstraktları, uçucu yağlar, saf sekonder metabolitler ve potansiyel antimikrobiyal ajanlar olarak yeni sentezlenen moleküllerin araştırılmasına odaklanmıştır (Runyoro ve ark., 2006; Mabona ve ark., 2013; Nazzaro ve ark., 2013).

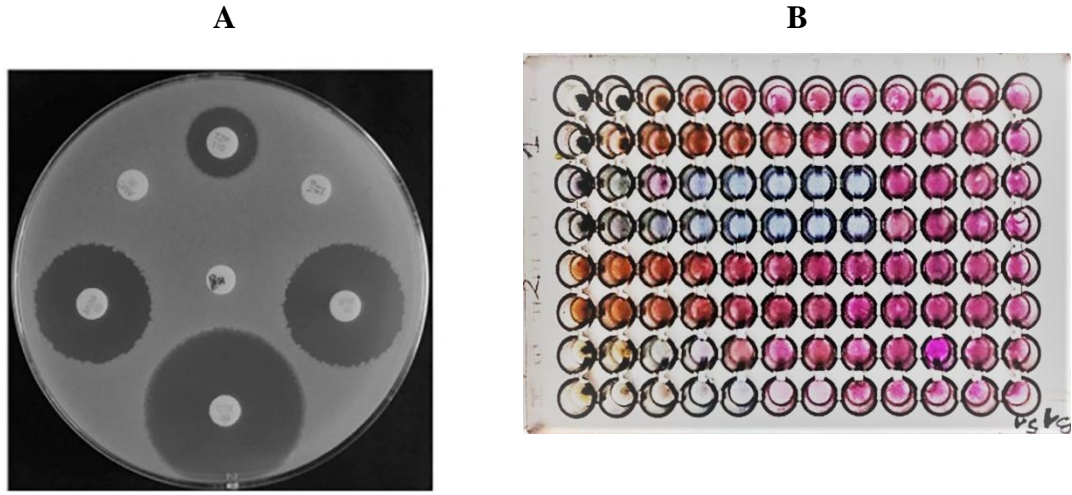
*İn vitro* antimikrobiyal aktiviteyi belirlemede birçok yöntem kullanılmaktadır. Bunların başlıcaları agar disk difüzyon ve broth dilüsyon yöntemleridir (Şekil 2.3).

Agar disk difüzyon metodu 1940 yılında geliştirilmiş olup birçok klinik mikrobiyoloji laboratuvarında antimikrobiyal duyarlılık testlerinde rutin olarak kullanılan yöntemdir (Heatley, 1944). Günümüzde “Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute-CLSI)” tarafından bakteriler ve mayaların test edilmesi için kabul görmüş ve onaylanmış standartlar yayınlanmaktadır (CLSI 2004, CLSI 2012). Bu yöntemde agar içeren petri kapları standardize edilmiş sayıda mikroorganizma içeren inokulum ile aşılanır. Ardından test bileşiğinin farklı konsantrasyonlarını içeren kağıt diskler (yaklaşık 6 mm çapında) petrilere yerleştirilir. Uygun sıcaklık ve sürede inkübasyon sonrasında diskler etrafında oluşan inhibisyon zonu antimikrobiyal aktiviteyi ifade eder. Genel olarak antimikrobiyal ajan 11ğara difüze olur ve test mikroorganizmasının çimlenmesini ve büyümesini engeller.



Şekil 2.2. Agar disk difüzyon metodu

Dilüsyon metotları minimal inhibitör konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesinde en uygun yöntemdir. MİK değeri antimikrobiyal ajanın gözle görünür üremeyi inhibe ettiği en düşük değer olarak ifade edilir ve sonuçlar  $\mu\text{g/ml}$  veya  $\text{mg/l}$  şeklinde belirlenir. Minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK) ise antimikrobiyal ajanın test mikroorganizmasının %99.9'unu öldürdüğü konsantrasyon olarak tanımlanır. Broth dilüsyon yöntemi (makrodilüsyon, mikrodilüsyon) en temel antimikrobiyal testlerindendir. Bu yöntemde antimikrobiyal ajanın seri dilüsyonları (örneğin; 1, 2, 4, 8, 16 ve 32  $\mu\text{g/ml}$ ) sıvı besiyeri içeren tüplerde hazırlanır. Tüplerin içerdiği sıvı besiyeri miktarı minimum 2 ml (makrodilüsyon) veya 96 kuyucuklu mikroplâtelere kullanılarak daha düşük miktarda (mikrodilüsyon) olabilir. Ardından her tüp 0.5 McFarland turbiditesine eşitlenmiş mikrobiyal inokulum ile aşılanır. Uygun sıcaklık ve sürede inkübasyon sonrasında değerlendirme yapılır.



Şekil 2.3. A. Agar disk difüzyon,

B. Broth mikrodilüsyon

Yukarıda bahsettiğimiz testler dışında;

- ✓ Antimikrobiyal gradyan yöntemi (Etest)
- ✓ Agar kuyucuk yöntemi
- ✓ İnce tabaka kromatografi (İTK)-biyootografi
- ✓ ATP biyoluminesans yöntemi
- ✓ Akış sitoflorometri yöntemi gibi yöntemler de kullanılmaktadır.

## 2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Serbest radikaller, bir atomik yörüngede eşleşmemiş bir elektron içeren bağımsız varlığa sahip herhangi bir moleküler tür olarak tanımlanabilir. Birçok radikal kararsız ve oldukça reaktiftir. Bir moleküle elektron verebilir veya molekülden elektron alabilir, bu nedenle oksidan veya indirgeyici görevi görürler (Cheeseman ve Slater., 1993). Reaktif oksijen türleri (ROT) oksijenden türetilen bir grup molekül ve serbest radikaldir. Bunlar ekzojen (ksenobiyotikler, radyasyon, kirleticiler vb.) ve endojen kökenli olabilirler. Endojen kökenliler mitokondriyal solunum (elektron taşıma zincirinde), oksidoredüktaz aktiviteleri, metal katalizli oksidasyon, NADPH oksidaz aktivitesi gibi hücrenin kendi metabolizması sonucu oluşur (Chen ve ark. 2003; Murphy, 2009; Robinson, 2008).

ROS artışı, stres durumuyla ilişkilendirilir ve kanser, kardiyovasküler hastalık, sinir hastalıkları, Alzheimer hastalığı, hafif bilişsel bozukluk, Parkinson hastalığı, alkol kaynaklı karaciğer hastalığı, ülseratif kolit, yaşlanma ve ateroskleroz gibi çok sayıda hastalığa neden olmaktan sorumludur. İnsan vücudu, serbest radikallerin ve diğer oksidanların zararlı etkilerini önleyen karmaşık bir doğal enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemine sahiptir. ROS'a karşı koruma, antioksidanların yeterli miktarda diyetle alımı ile artırılabilir. Antioksidanlar ve özellikle de antioksidan besinleri içeren yiyeceklerin, hastalıkların önlenmesinde büyük öneme sahip olabileceğini gösteren önemli kanıtlar vardır. Bununla birlikte, bilim insanları arasında tek bir antioksidandan ziyade bir antioksidan kombinasyonunun uzun vadede daha etkili olabileceği konusunda bir fikir birliği vardır. Antioksidanlar, dejeneratif hastalıkların başlamasını önleyerek veya erteleyerek yaşam kalitesini iyileştirmede büyük yarar sağlayabilir (Alam ve ark., 2013).

Lipit oksidasyonu, gıda kalitesinin bozulması, kötü kokuların ve aromaların oluşması, raf ömrünün azaltılması, doku ve rengin değişmesi ve gıdanın besin değerinin düşmesinde önemli bir nedendir (Alamed ve ark., 2009). Gıdalardaki lipid oksidasyon oranını ve derecesini kontrol etmek için birçok yöntem geliştirilmiştir, ancak antioksidanların eklenmesi en etkili yöntemdir. Antioksidanlar, temel olarak, gıda ürünlerinin duyuusal veya beslenme nitelikleri üzerinde herhangi bir olumsuz etkiye neden olmadan raf ömrünü uzatma özellikleri nedeniyle, bir gıda katkı maddesi grubu haline gelmiştir. Tarihsel olarak, gayak zamkı, 1930'larda özellikle hayvansal yağların stabilizasyonu için onaylanan ilk antioksidandı (Nanditha ve Prabhasankar, 2009). ABD Tarım Bakanlığı (USDA) Federal Tüzük Kanunu'na göre, "antioksidanlar, oksidasyon

nedeniyle bozulmayı veya renk bozulmasını geciktirerek gıdaları korumak için kullanılan maddelerdir” şeklinde tanımlanmaktadır. Gıda sisteminde kullanılacak olan antioksidanların ucuz, düşük konsantrasyonlarda etkili, toksik olmayan, son derece kararlı, koku, tat veya kendi rengine sahip olmayan; ürüne dahil edilebilirliği olan ve üründe iyi bir çözünürlüğe sahip olması gerekir (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015).

Günümüzde gıdalarda kullanım için izin verilen sentetik fenolik antioksidanlar; bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) üçüncül-butilhidrokinon (TBHQ), oktil gallat (OG) ve dodesil gallattır (DG). Bu sentetik fenolik antioksidanlar, yağların ve lipit içeren yiyeceklerin işlenmesi ve depolanması sırasında lipit oksidasyonunun başlangıcını önlemek veya geciktirmek amacıyla gıda endüstrisi tarafından yaklaşık 60 yıldır kullanılmaktadır. (Saad ve ark., 2007). Sentetik fenolik antioksidanların gıda maddelerinde kullanımı potansiyel toksisite etkileri nedeniyle hükümetler tarafından sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. BHA ve BHT'nin laboratuvar hayvanlarında yüksek seviyelerde kullanıldığında karaciğer hasarından ve karsinogenezden sorumlu olduğundan şüphelenilmektedir. BHA, TBHQ, 2-tert-butil-4-metilfenol (TBMP) ve PG'nin nükleik asit yapılı moleküller ile kompleksler oluşturma potansiyeline sahip olduğu ve DNA'nın çift sarmal yapısına zarar verebileceği bildirilmiştir. Dolayısıyla gıda endüstrisindeki kullanımları tüketici talebi ve güvenlik nedeniyle son zamanlarda düşmüştür. Doğal kaynaklı antioksidan bileşikler; flavonoidler, fenolik asitler, liganlar, terpenler, tokoferoller, fosfolipitler ve çok fonksiyonlu organik asitlerdir. Doğal antioksidanların kaynakları öncelikle bitkilerin her yerinde oluşabilecek bitki fenolikleridir. Meyvelerde, sebzelerde, kuruyemişlerde, tohumlarda, yapraklarda, köklerde ve kabuklarda bulunurlar. Etkili antioksidanlar ve serbest radikal temizleyicileri olan fenoliklerin biyolojik aktiviteleri üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır (Shahidi ve Ambigaipalan., 2015).

Son araştırmalar bir dizi bitki ürününün flavonoidler ve fenolik maddeler içerdiğini göstermiştir. Fenolik bileşikler veya polifenoller oksidasyona duyarlı hidroksillenmiş moleküllerdir. Birçok çalışma bu moleküllerin antiproliferatif, antidiyabetik, antikanser, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antiviral ve antioksidan aktiviteler gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahip olduğunu bildirmiştir. (Dey ve ark., 2016). Bu moleküller farklı yapıya sahip olsalar da genel olarak bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren aromatik bir halkaya sahiptirler. Fenolik antioksidan moleküllerinin radikal süpürme kapasitesi, serbest elektronun fenolik bileşiklerin

aramotik halkası üzerinde lokalizasyonla stabilizasyonu nedeniyle serbest radikal türlerinin çoğuna kıyasla daha stabil olan radikal olma yeteneğine dayanmaktadır.

Antioksidan kapasite analizleri, reaksiyon mekanizmalarına göre iki kategoriye ayrılabilir: Hidrojen Atom Transferleri (HAT) temelli analizler ve Tek Elektron Transferi (Single Electron Transfer- SET) temelli analizler (Prior ve ark., 2003).

HAT temelli analizler, iyonize olmayan çözücülerde antioksidan olarak görev yapan maddeden serbest radikale hidrojen atomu transferi esasına dayanır. Bu gruptaki yöntemler genel olarak bir sentetik serbest radikal oluşturucu, bir oksitlenebilir moleküler prop ve bir antioksidandan oluşur (Huang ve ark., 2005). İkinci kategori olan SET temelli analizler ise potansiyel antioksidan yeteneği, bir elektron transferi sonucu metaller, karboniller ve radikaller gibi herhangi bir bileşiği indirgeme yoluyla tespit eder. Reaksiyonun bitiş noktasının göstergesi olarak bir redoks reaksiyonu içerir. ABTS (Kation Radikali Giderim Aktivitesi) ve CUPRAC (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi) yöntemleri SET temelli analizlerdir. SET ve HAT reaksiyonları DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yönteminde olduğu gibi birlikte de ortaya çıkabilir.

Her bir radikal süpürme yöntemi çözeltiye eklenen radikallerin süpürülmesinden dolayı oluşan bir kolorimetrik veya flüoresan değişime dayanır. DPPH, ABTS ve CUPRAC yöntemlerinde kolorimetrik değişim belirli dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülür. Radikal süpürme yöntemi sonuçları farklı birimlerde ifade edilebilir. Ancak genellikle % inhibisyon oranı ve  $IC_{50}$  değeri ile ifade edilir. % inhibisyon oranı ortamdaki radikallerin süpürülme yüzdesini ifade ederken  $IC_{50}$  değeri ise ortamdaki radikallerin %50'sini süpürmek için gerekli olan antioksidan madde miktarını ifade eder (Hidalgo ve Almajano, 2017).

Antioksidan aktivite belirlenirken, tek bir antioksidan test modeline dayanarak karar verilmemelidir. Pratikte, antioksidan aktivitelerin değerlendirilmesi için çeşitli in vitro test prosedürleri vardır ve bunlar farklı açılardan değişiklik göstermektedir. Bu nedenle, bir yöntemi diğer biriyle karşılaştırmak zordur. Örneğin; Serbest radikal süpürücü yöntemleri arasında, DPPH yöntemi hızlı, basit ve diğer test modellerine kıyasla ucuzdur. Öte yandan, ABTS renk giderimi yöntemi hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlar için geçerlidir. Literatürde birçok in vitro antioksidan aktivite belirleme yöntemi vardır. Bunlar:

- ✓ Nitrik oksit süpürücü (giderimi) Yöntem
- ✓ Hidrojen peroksit süpürücü (giderimi) Yöntem
- ✓ Peroksinitrit radikal süpürücü (giderimi) Yöntem

- ✓  $\beta$ -Karoten Renk Açılım Yöntemi
- ✓ DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi
- ✓ ABTS Yöntemi (Kasyon Radikali Giderim Aktivitesi)
- ✓ CUPRAC Yöntemi (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi)
- ✓ FRAP (Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü) Yöntemi
- ✓ Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi
- ✓ Ferrisiyanür İndirgeme Gücü Yöntemi
- ✓ TRAP (Toplam Radikal Tutma Parametresi) Yöntemi
- ✓ Luminol Yöntemi (Kemilüminesans)
- ✓ Diklorofloresin-Diasetat Yöntemi
- ✓ ORAC (Oksijen Radikalini Absorplama Kapasitesi) Yöntemi
- ✓ Siklik Voltametri Yöntemi

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Bitkisel Materyal ve Ekstraksiyon Yöntemi

*Pistacia terebinthus* üzerinde oluşumu *Slavum aff. mordvilkoii* tarafından indüklenen gal örneği 03.09.2013 tarihinde Mezarlık'tan (Şirvan/ Merkez) Dr. Öğr. Üyesi Erdem SEVEN tarafından teşhis edilip toplandı (Muhabbet ve ark., 2010). Laboratuvarında örnekler (Şekil 3.1) böcek fosilleri ve larva kalıntılarından temizlenip kurutulduktan sonra havanda ezilerek toz haline getirildi.



Şekil 3.1. *P. terebinthus* galinin görünümü

Galın kuru ağırlığının ölçümü yapıldı ve 243 gram olduğu belirlendi. Ardından üzerine petrol eteri eklenerek (1.5 litre) iki gün bekletildi. Süzülme ve damıtma işlemi ile çözücü evaporatör yardımıyla uzaklaştırılıp petrol ekstresi elde edildi. İşlem 3 kez tekrarlandı. Açıkta bekletilip kurutulan örneğin üzerine aseton eklendi (1.5 litre) ve her ekleme için birgün beklenip bu işlem 6 gün boyunca renk açılana kadar devam etti. Çözücü evaporatör yardımıyla damıtılıp uzaklaştırıldı ve aseton ekstresi elde edildi. Aynı işlem etanol ve su ekstraheleri için de tekrarlandı. Elde edilen her ekstrenin ağırlığı alınıp cam kaplarda analiz yapılacağı zamana kadar +4 °C'de muhafaza edildi.

#### 3.2. Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri, Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615) bakteri ve mantar (*Candida*

*albicans* ATCC 10231) üzerinde çalışılarak belirlendi. Antimikrobiyal aktiviteyi tespit etmek için disk difüzyon ve broth dilüsyon yöntemleri uygulandı (NCCLS 1997, NCCLS 2009). Her mikroorganizmadan öze ile aşılama yöntemiyle ekim yapılan Nutrient broth (NB) sıvı besiyeri 12-16 saat 37 °C’de inkübasyona bırakıldı. Gecelik kültürü hazırlanan test mikroorganizmalarından 100 µl alınarak nutrient agar katı besiyeri üzerine yayma ekim yapıldı. Ardından tüm ekstrelerin hazırlanmış farklı konsantrasyonlarından 15 µl alınarak yayma ekim yapılan petrilere yerleştirilmiş steril kağıt disklerle emdirildi. Bakteriler için 37 °C’de 24 saatlik inkübasyon, mantar için 30 °C’de 48 saatlik inkübasyondan sonra inhibisyon zon çapları ölçüldü (Şekil 3.2). Aynı işlem pozitif (bakteri için ampicillin, mantar için fluconazole) ve negatif kontrol (Petrol eteri, aseton, etanol ve su) için de tekrarlandı. Her test farklı zamanlarda 3 tekrar halinde gerçekleştirildi.

Aktif olan ekstreler daha sonra minimal inhibitör konsantrasyonunun (MİK) ve minimal bakterisidal konsantrasyonları (MBK) belirlemek üzere işleme alındı. 100 µl seri dilüsyonları hazırlanan ekstreler, 90 µl sıvı besiyeri ve 10 µl mikroorganizma gecelik kültürü (0.5 McFarland’a eş turbidite) 96 kuyucuklu steril plakalara pipetlendi. Yukarıda bahsedilen uygun sıcaklıkta 24 saat inkübasyon sonrasında kuyucuklar değerlendirildi. Gözle görülür üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon ve sonraki iki kuyucuktan 100 µl alınıp katı besiyerine yayma ekim yapıldı. Uygun sıcaklık ve sürede inkübasyon sonrasında petrilere oluşan koloni sayısına göre MİK ve MBK değerleri belirlendi.



Şekil 3.2. Antimikrobiyal aktivite belirleme çalışmaları (disk difüzyon yöntemi)

### 3.3. Ekstrelerin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini

Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi, ABTS (Katyon Radikali Giderim Aktivitesi) Yöntemi, CUPRAC Yöntemi (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi) ile belirlendi. Ayrıca ekstrelerin toplam fenolik madde ve toplam flavonoit miktarı da literatürde belirtilen yöntemlerle belirlendi.

#### 3.3.1. Eksterelerin toplam fenolik ve flavonoit madde miktar tayini

Toplam fenolik içeriğin belirlenmesinde tipik olarak numunede bulunan fenolik grupların veya diğer potansiyel oksitlenebilir grupların sayısına dayanarak Folin-Ciocalteu yöntemi ile tespit edildi (Becker ve ark., 2004). Folin-Ciocalteu reaktifinin (FCR) kimyasal yapısı tam olarak bilinmemekle birlikte heteropolifosfotungstat-molibdat içerdiği düşünülmektedir. Elektron transfer reaksiyonu, antioksidanlar ve kompleks içinde indirgenen molibden arasında meydana gelir ki bu da spektrofotometrik olarak ölçülebilen mavi renkli grupların oluşumuna yol açar. Bu reaksiyon sadece alkali ortamda gerçekleşir (pH ~10), bu nedenle sodyum karbonatın eklenmesi çok önemlidir (Huang ve ark., 2005).

Örneklerin toplam fenolik içerikleri literatürde belirtilen (Slinkard ve Singleton, 1977) FCR yöntemi ile belirlendi. Standart olarak gallik asit kullanılmış olup sonuçlar pirokatekole eşdeğer olarak belirlendi.

Gerekli çözeltiler aşağıdaki gibi hazırlandı;

*% 2'lik Sodyum karbonat:* 2 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  100 ml'lik balon jöjeye koyulur ve bir miktar distile su ile çözülür. Çözünme tamamlandıktan sonra distile su ile 100 ml hacmine tamamlanır.

*Folin-Ciocalteu Fenol Reaktifi (Fosfotungstik-fosfomolibdik asit +  $\text{CuSO}_4$ ):* Satın alındığı şekilde kullanılmıştır.

*Gallik asit:* 47 mg gallik asit 10 ml etanolde çözülerek 2500  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda gallik asit çözeltisi hazırlanır.

**Yöntem:**

Farklı hacimlerde alınan gallik asit çözeltisi/ekstre



Distile su ile hacim 4.6 ml'ye tamamlandı



0.1 ml FCR



3 dk sonra

0.3 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi

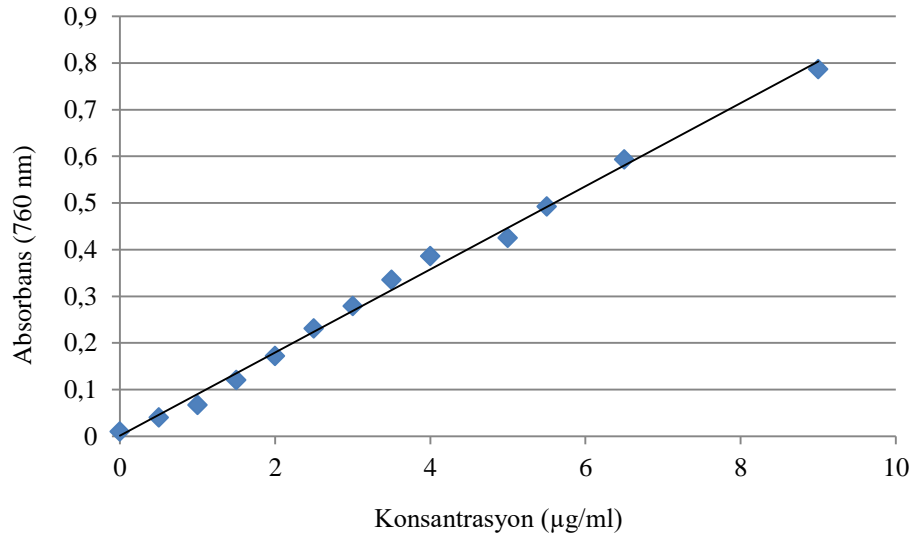


2 saat sonra

760 nm dalga boyunda spektrofotometrik okuma

Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri standart gallik asit grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi. Her bir örnekten üç paralel ölçüm yapıldı.

$$\text{Absorbans} = 0.0891 \text{ gallik asit } (\mu\text{g}) + 0.0013 \quad (R^2=0.9949)$$



**Şekil 3.1.** Gallik asit ölçü grafiği

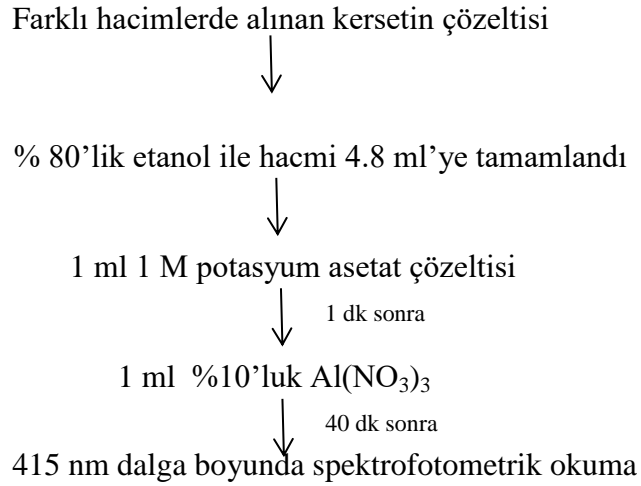
Ekstrelerin toplam flavonoit miktarları alüminyum nitrat yöntemi ile kersetine eşdeğer olarak belirlendi (Moreno ve ark., 2000).

Gerekli çözeltiler aşağıdaki gibi hazırlandı;

*% 10'luk Alüminyum nitrat:* 17.6 g  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  100 ml'lik balon jojeye konulup bir miktar distile su ile çözüldü. Distile su ile son hacmine çözünme gerçekleştikten sonra tamamlandı.

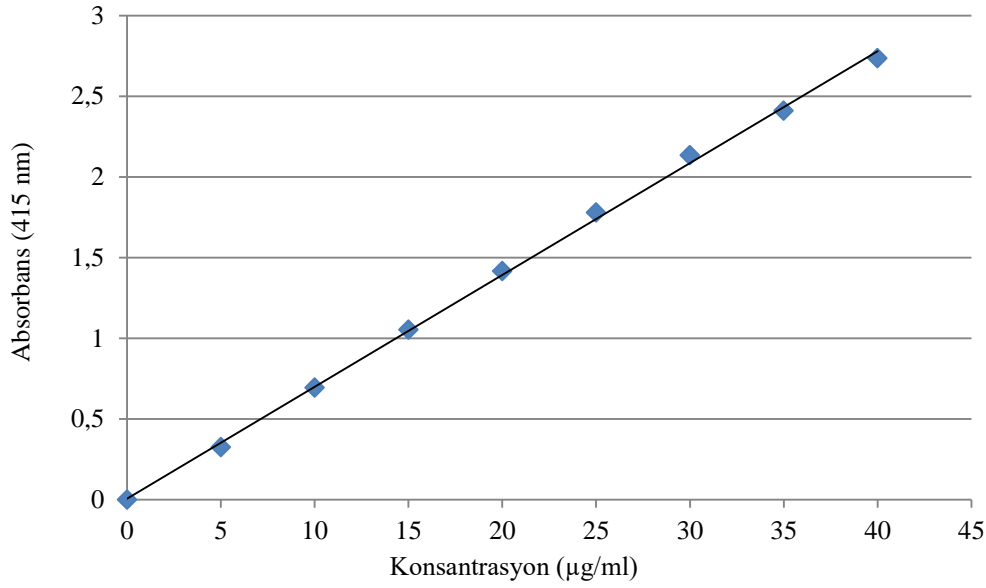
*1 M Potasyum asetat:* 9.6150 g  $\text{CH}_3\text{COOK}$  100 ml'lik balon jojeye konuldu ve bir miktar distile su ile çözülüp işlem tamamlandıktan sonra distile su ile son hacmine tamamlandı.

*Yöntem:*



Ekstrelerin toplam flavonoit miktarları standart kersetin grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi. Her bir örnekten üç paralel ölçüm yapıldı.

$$\text{Absorbans} = 0.0693 \text{ kersetin } (\mu\text{g}) + 0.007 \text{ (R}^2 = 0.9989\text{)}$$



Şekil 3.2. Kersetin ölçü grafiği

### 3.3.2. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yöntemi

Molekül 1,1- difenil- 2- pikrilhidrazil stabil bir serbest radikal olarak tanımlanır. Elektronun molekül üzerinden bir bütün olarak yerinden ayrılması sonucu molekül diğer birçok radikalde olduğu gibi dimerize olamaz. Elektronun lokalizasyonu yaklaşık 517 nm’de maksimum absorbans gösteren etanol/metanol çözeltisinde koyu mor bir renge yol açar. Genellikle antioksidan analiz aktiviteleri için kullanılan çözücüler olan metanol ve etanol kuvvetli bir şekilde hidrojen bağını kabul eder, bu nedenle hidrojen-koparma reaksiyonu çok yavaş gerçekleşir (MacDonald-Wicks ve ark., 2006). DPPH çözeltisinin rengi, hidrojen atomu verebilen bir substratın varlığında menekşe renginden açılarak sarıya döner.

Çalışmamızda ekstrelerimizin DPPH serbest radikal giderim aktivitesi Blois’in (1958) geliştirdiği yöntemle göre belirlendi.

Gerekli çözeltiler aşağıdaki gibi hazırlanmıştır;

*0.1 mM DPPH çözeltisi:* 4 mg DPPH tartılıp 100 ml metil alkol içerisinde çözüldü.

*BHT (2,6-di-*t*-bütil-1-hidroksitoluen) çözeltisi:* 10 mg BHT 10 ml etanol içinde çözülerek 1000 ppm'lik BHT çözeltisi hazırlandı.

*BHA (2- *t*-bütil-4-hidroksianisol) çözeltisi:* 10 mg BHA 10 ml distile suda çözülerek 1000 ppm'lik BHA çözeltisi hazırlandı.

*AA (Askorbik asit) çözeltisi:* 10 mg askorbik asit 10 ml distile suda çözülerek 1000 ppm'lik askorbik asit çözeltisi hazırlandı.

#### *Yöntem:*

1 ml farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstre ve pozitif kontrol

↓  
4 ml DPPH çözeltisi

↓ 30 dk karanlıkta bekletildi

517 nm dalga boyunda spektrofotometrik okuma yapıldı

Elde edilen absorbans değerleri aşağıdaki formülde yerine yerleştirilerek inhibisyon yüzdesi (%I) hesaplandı.

$$\%I = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}/A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

$A_{\text{kontrol}}$  kontrol tüpünün (test bileşikleri dışında tüm ayıraçları içeren tüp) absorbans değerini,  $A_{\text{örnek}}$  ise her bir konsantrasyon için hazırlanan tüpün absorbans değerini ifade etmektedir. Her test farklı zamanlarda 3 tekrar halinde gerçekleştirildi. Pozitif kontrol olarak BHT, BHA ve askorbik asit (AA) kullanıldı.

### **3.3.3. ABTS (kation radikali giderim aktivitesi) yöntemi**

Bu yöntemde, mavi-yeşil kromofor  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  (2,2-azino-bis (3-etilbenziazolin-6-sülfonik asit)) 'e bir antioksidan eklendiğinde oluşan renk kaybı spektrofotometre ile 414, 645, 734 veya 815 nm'de ölçülür (Re ve ark., 1999). Antioksidan,  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  'yi

ABTS'ye indirger ve rengini açar. ABTS katyon radikali, ABTS sulu çözeltisine potasyum peroksi disülfat ( $K_2S_2O_8$ ) eklenerek hazırlandı.

Gerekli çözeltiler aşağıdaki gibi hazırlandı;

*7 mM ABTS katyon radikali:* 19.2 mg ABTS tartılarak 5 ml suda çözüldü. Üzerine toz halinde 3.3 mg potasyum peroksi disülfat ( $K_2S_2O_8$ ) eklenip karıştırıldı. Karanlıkta oda sıcaklığında 12-16 saat bekletildi. Bekleme süresi sonunda çözelti kullanılmaya başlamadan önce absorpsiyonu  $\sim 0.70$  olacak şekilde seyreltildi.

*BHT (2,6-di-*t*-bütil-1-hidroksitoluen) çözeltisi:* 10 mg BHT 10 ml etanol içinde çözümlenerek 1000 ppm'lik BHT çözeltisi hazırlandı.

*BHA (2- *t*-bütil-4-hidroksianisol) çözeltisi:* 10 mg BHA 10 ml etanolde çözümlenerek 1000 ppm'lik BHA çözeltisi hazırlandı.

*AA (Askorbik asit) çözeltisi:* 10 mg askorbik asit çözeltisi 10 ml distile suda çözümlenerek 1000 ppm 'lik askorbik asit çözeltisi hazırlandı.

*Yöntem:*

1 ml Farklı konsantrasyonlardaki ekstre ve pozitif kontrol



4 ml ABTS



30 dk karanlıkta bekletildi

734 nm dalga boyunda spektrofotometrik okuma yapıldı

Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. ABTS katyon radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT, BHA ve askorbik asit kullanıldı.

### 3.3.4. CUPRAC yöntemi (bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi)

Bu yöntemde kromojenik oksitleyici belirteç olan bis (neokuproin) bakır (II) klorür, polifenollerle reaksiyona girer. Bu reaksiyonda reaktif polifenol grupları Cu (II) neokuproin kompleksini 450 nm’de maksimum absorbans gösteren renkli Cu (I) neokuproin şelatına indirger. Yöntem Apak ve ark. (2004) tarafından geliştirilmiştir.

Gerekli çözeltiler aşağıdaki gibi hazırlandı;

*Bakır (II) klorür dihidrat çözeltisi:* 42.62 mg  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  hassas terazide tartılarak 25 ml suda çözüldü.

*Amonyum asetat tamponu:* 1.927 g  $\text{NH}_4\text{OAc}$  hassas terazi ile tartılarak 25 ml suda çözüldü, pH= 7’ye ayarlandı.

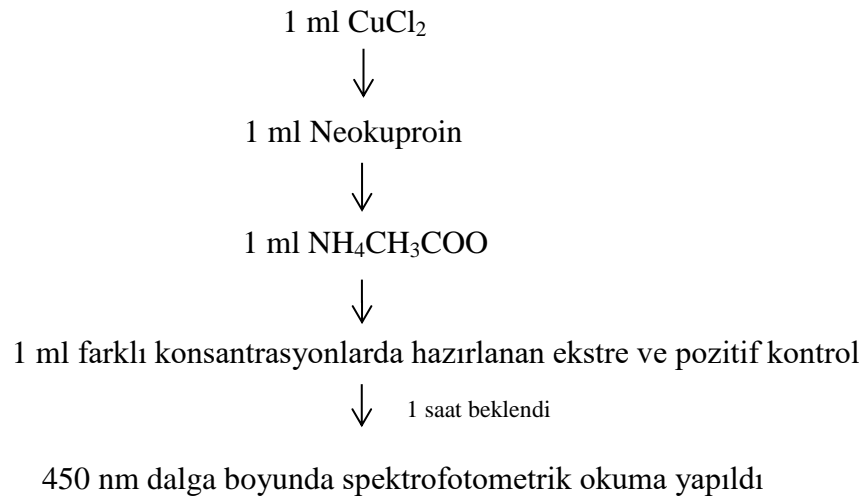
*Neokuproin çözeltisi:* 76.6 mg neokuproin hassas terazi ile tartılarak 50 ml %96’lık alkolde çözüldü.

*BHT (2,6-di-t-bütil-1-hidroksitoluen) çözeltisi:* 10 mg BHT 10 ml etanol içinde çözümlenerek 1000 ppm’lik BHT çözeltisi hazırlandı.

*BHA (2- t-bütil-4-hidroksianisol) çözeltisi:* 10 mg BHA 10 ml etanolde çözümlenerek 1000 ppm’lik BHA çözeltisi hazırlandı.

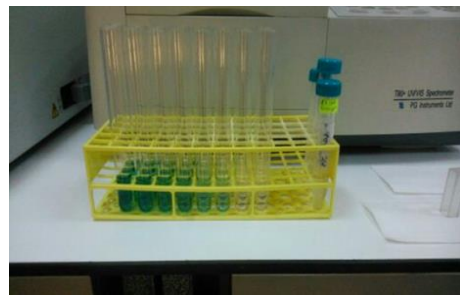
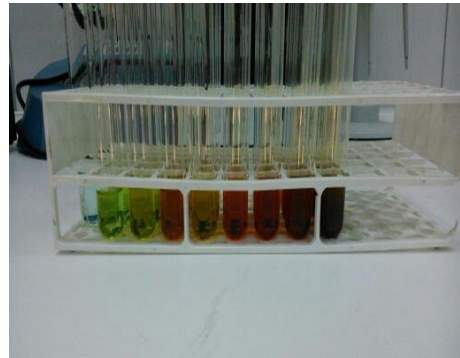
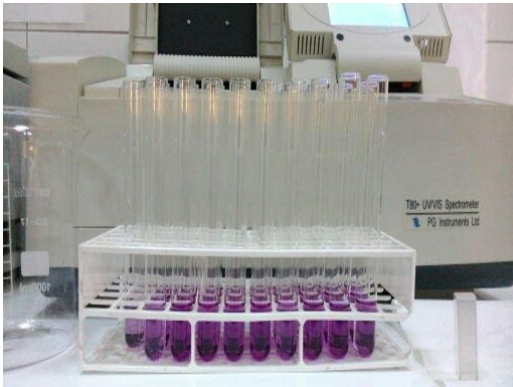
*AA (Askorbik asit) çözeltisi:* 10 mg askorbik asit çözeltisi 10 ml distile suda çözümlenerek 1000 ppm ’lik askorbik asit çözeltisi hazırlandı.

*Yöntem:*



Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı karşılaştırma yapılarak değerlendirildi.

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Pozitif kontrol olarak BHT, BHA, askorbik asit (AA) kullanıldı.



Şekil 3.3. Antioksidan aktivite belirleme çalışmaları

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Ekstraksiyon Bulguları

Çizelge 4.1. *P. terebinthus* galinden elde edilen ekstre miktarı ve % verim oranını içermektedir. Buna göre; en yüksek verim aseton ekstresinden (%14.37) elde edilmiş olup, bunu etanol (%9.45), petrol eteri (%7.54) ve su (%5.63) ekstreleri takip etmektedir.

Çizelge 4.1. Ekstre miktarı ve % verim oranları

Ekstreler	Ekstre miktarı (g)	% Verim
Petrol eteri	18.33	7.54
Aseton	34.94	14.37
Etanol	22.97	9.45
Su	13.70	5.63

### 4.2. Antimikrobiyal Aktivite Bulguları

Antimikrobiyal aktivite sonuçları Çizelge 4.2.'de disk difüzyon yöntemine göre inhibisyon zon çapları (mm), Çizelge 4.3.'de ise minimal inhibitör konsantasyonu (MİK) ve minimal bakterisidal konsantrasyonu (MBK) olarak verilmiştir.

Genel olarak bakıldığında ekstrelerin antimikrobiyal açıdan düşük ve orta düzeyde aktivite gösterdiği görülmektedir. Hiçbir ekstre *E.coli*'ye karşı aktivite göstermezken, petrol eteri ekstresi sadece *S. pyogenes* ve *C. albicans*'a karşı düşük aktivite göstermiştir (8 ve 9 mm zon çapı). Ekstreler arasında en yüksek aktiviteyi aseton ekstresi *S. aureus*'a karşı (14 mm zon çapı) göstermiştir. Ayrıca aseton ve etanol ekstreleri *P. aeruginosa*'ya karşı orta düzeyde aktivite sergilemiştir.

Çizelge 4.2. Ekstrelerin disk difüzyon yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal aktivite sonuçları

Ekstreler (mg/ml)	Gram negatif		Gram pozitif		Mantar/maya	
	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>C.albicans</i>	
<b>Petrol eteri</b>	10	AD	AD	AD	8±0.5	9±0
	20	AD	AD	AD	8±0	9±0
	30	AD	AD	AD	8±0	9±0
<b>Aseton</b>	10	AD	11 ±0.2	11 ±0.3	10 ±0	10 ±0.1
	20	AD	12 ±0	13 ±0.5	11 ±0.5	11 ±0.5
	30	AD	<b>13 ±0</b>	<b>14 ±0.1</b>	12 ±0.1	<b>13 ±0.1</b>
<b>Etanol</b>	10	AD	10 ±0.1	10 ±0	9 ±0.1	10 ±0
	20	AD	<b>13 ±0.5</b>	12 ±0.5	11 ±0	11 ±0
	30	AD	<b>13 ±0</b>	<b>13 ±0</b>	11 ±0.2	11 ±0.1
<b>Su</b>	10	AD	7 ±0.1	8 ±0.1	7 ±0.1	7 ±0.5
	20	AD	8 ±0.1	8 ±0	8 ±0	8 ±0.1
	30	AD	11 ±0.2	10 ±0	9 ±0.1	10 ±0.2
<b>Pozitif Kont.</b>	20±0.1	AD	35±0.2	19±0.2	30±0.3	

a: sonuçlar ortalama (mm) ±standart sapma olarak verilmiştir. pozitif kontrol bakteri için ampicillin, mantar için fluconazole AD: aktif değil

Disk difüzyon yönteminde aktivite sergileyen ekstrelerin MİK ve MBK değerleri belirlenmiş olup sonuçlar Çizelge 4.3.'te sunulmuştur. Çizelgeyi değerlendirirken düşük değerlerin güçlü aktiviteyi ifade ettiği ölçütüne göre değerlendirmemiz gerekmektedir. Buna göre; ekstrelerin sergilemiş olduğu MİK değerleri 50-1200 µg/ml; MBK değerleri ise 500-10000 µg/ml arasında değişmektedir.

Sonuçları incelediğimizde en düşük MİK değerinin (50 µg/ml) aseton ekstresinin *C.albicans*'a karşı; en düşük MBK değerinin (50 µg/ml) ise yine aseton ekstresinin Gram pozitif bakteriler üzerinde olduğunu görmekteyiz.

Çizelge 4.3. Ekstrelerin MİK ve MBK sonuçları

Ekstreler	$\mu\text{g/ml}$	Gram negatif		Gram pozitif		Mantar/maya
		<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.pyogenes</i>	<i>C. albicans</i>
Petrol eteri	MİK	AD	AD	AD	<b>100±0</b>	200±0.5
	MBK	AD	AD	AD	2000±0.3	900±0.2
Aseton	MİK	AD	200±0.5	<b>100±0.2</b>	<b>100±0.1</b>	<b>50±0.4</b>
	MBK	AD	1000±0.3	500±0.1	500±0.1	700±0
Etanol	MİK	AD	200±0.5	300±0.7	200±0.4	300±0
	MBK	AD	700±0.4	750±0.5	1000±0.6	1000±0.4
Su	MİK	AD	200±0	300±0.5	1100±0.5	1200±0.6
	MBK	AD	900±0	900±0.3	10000±0.5	5000±0

a: sonuçlar ortalama ( $\mu\text{g/ml}$ )  $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

AD: aktif değil

### 4.3. Antioksidan Aktivite Bulguları

#### 4.3.1. Toplam fenolik ve flavonoit madde miktar tayini bulguları

Tüm ekstrelerin toplam fenolik miktarı gallik asite, toplam flavonoit içeriği ise kersetine eşdeğer olarak belirlenmiştir. Çalışılan ekstreler arasında fenolik madde miktarı açısından en zengin ekstrenin aseton ekstresi ( $204.28 \pm 0.04$ ) olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.4.). Aseton ekstresini, etanol ( $202.59 \pm 0.02$ ), su ( $118.61 \pm 0.02$ ) ve petrol eteri ( $27.32 \pm 0.007$ ) ekstreleri takip etmektedir. 1 mg aseton ekstresindeki pirokatekole eşdeğer toplam fenolik madde miktarı 204.28 mikrogramdır.

Çizelge 4.4. Ekstrelerin toplam fenol ve flavonoit içerik sonuçları

Ekstreler	Fenolik içerik ( $\mu\text{gGAs/mg}$ ekstre)	Flavonoit içerik ( $\mu\text{gQEs/mg}$ ekstre)
Petrol Eteri	$27.32 \pm 0.007$	$6.2 \pm 0.6$
Aseton	$204.28 \pm 0.04$	$10.91 \pm 0.47$
Etanol	$202.59 \pm 0.02$	$21.21 \pm 0.14$
Su	$118.61 \pm 0.02$	$12.40 \pm 0.07$

Ekstrelerin toplam flavonoit içerikler sonuçlarını incelediğimizde (Çizelge 4.4.) flavonoit açısından en zengin ekstrenin etanol ekstresi ( $21.21 \pm 0.14$ ) olduğu gözlenmektedir. Bunu su ( $12.40 \pm 0.07$ ), aseton ( $10.91 \pm 0.47$ ) ve petrol eteri ekstreleri takip etmektedir ( $6.2 \pm 0.6$ ). 1 mg etanol ekstresindeki kersetine eşdeğer toplam flavonoit madde miktarı 21.21 mikrogramdır.

#### 4.3.2. DPPH yöntemi bulguları

Ekstre ve pozitif kontrollerin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi farklı konsantrasyonda (0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 100  $\mu\text{g/ml}$ ) ortamdaki radikallerin süpürülme yüzdesine (%I) göre değerlendirilmiştir (Çizelge 4.5.). Pozitif kontrol olarak kullanılan BHA, BHT ve askorbik asite göre aktivite karşılaştırmaları yapılmıştır.

Genel olarak baktığımızda ekstrelerin antioksidan açıdan oldukça aktif olduğunu görmekteyiz (petrol ekstresi dışında). Aseton ve etanol ekstreleri 10  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda en yüksek aktiviteyi sergilerken (~%96), su ekstresi bu aktiviteyi 25  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda göstermiştir. Bu aktivite değerine pozitif kontrollerden askorbik asit 10  $\mu\text{g/ml}$ , BHA 50  $\mu\text{g/ml}$ , BHT ise 100  $\mu\text{g/ml}$ 'nin üzerindeki konsantrasyonda ulaşabilmiştir.

Aynı konsantrasyondaki ekstreleri kendi arasında kıyasladığımızda etanol ekstresinin aktivitesinin diğer ekstrele göre daha yüksek olduğunu görmekteyiz. Ekstreleri pozitif kontrollerle kıyasladığımızda askorbik asitin aktivitesinin etanol ekstresinin aktivitesinden çok küçük bir fark ile yüksek olduğunu görmekteyiz. Öte yandan ekstreler pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'den daha yüksek aktivite göstermiştir. Petrol eteri ekstresi antioksidan aktivite göstermediği için çizelgede yer verilmemiştir.

**Çizelge 4.5.** Ekstre ve pozitif kontrollerin DPPH yöntemine göre belirlenen yüzde inhibisyon değerleri

<b>K</b>	<b>Aseton</b>	<b>Etanol</b>	<b>Su</b>	<b>AA</b>	<b>BHA</b>	<b>K</b>	<b>BHT</b>
<b>0.5</b>	6.12±0.00	17.32±0.0	0.38±0.00	2.60±0.08	9.43±0.02	<b>1</b>	0.79±0.00
<b>1</b>	17.93±0.02	24.44±0.00	4.19±0.00	10.66±0.01	5.21±0.01	<b>2</b>	3.05±0.02
<b>2</b>	32.89±0.00	41.99±0.00	12.31±0.01	37.0±0.03	28.47±0.00	<b>3</b>	4.51±0.01
<b>3</b>	44.51±0.01	48.15±0.01	23.36±0.01	55.01±0.05	38.11±0.00	<b>4</b>	6.74±0.01
<b>4</b>	48.75±0.03	62.81±0.00	29.48±0.00	66.03±0.05	55.52±0.03	<b>5</b>	9.41±0.00
<b>5</b>	73.73±0.04	70.82±0.01	39.06±0.00	74.24±0.01	60.42±0.02	<b>10</b>	19.83±0.01
<b>10</b>	96.95±0.00	95.91±0.00	68.31±0.02	97.7±0.003	78.35±0.00	<b>15</b>	23.84±0.00
<b>25</b>	97.15±0.00	96.53±0.00	95.69±0.00	97.31±0.00	94.03±0.00	<b>20</b>	29.26±0.01
<b>50</b>	97.31±0.00	96.49±0.00	95.59±0	97.11±0.00	96.6±0.00	<b>25</b>	33.67±0.01
<b>100</b>	97.43±0.00	96.53±0.00	95.27±0.00	96.48±0.00	97.23±0.00	<b>80</b>	76.89±0.002
						<b>90</b>	88.87±0.00
						<b>100</b>	89.6±0.01

*K*: konsantrasyonlar (µg/ml)

Sonuçlar ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir.

### 4.3.3. ABTS yöntemi bulguları

Ekstre ve pozitif kontrollerin ABTS yöntemiyle serbest radikali giderim aktivitesi farklı konsantrasyonda (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, ve 5 µg/ml) ortamdaki radikallerin süpürülme yüzdesine (%I) göre değerlendirilmiştir (Çizelge 4.7.). Pozitif kontrol olarak kullanılan BHA, BHT ve askorbik asite göre aktivite karşılaştırmaları yapılmıştır (Çizelge 4.6.).

Genel olarak baktığımızda ekstrelerin bu yöntemde oldukça aktif olduğunu görmekteyiz. Aseton, etanol ve su ekstreleri oldukça yakın aktivite sergilemiş olup en yüksek aktiviteye (%97) aseton ve etanol ekstreleri 5 µg/ml konsantrasyonda, su ekstresi bu aktiviteye 4 µg/ml konsantrasyonda ulaşmıştır. Petrol eteri ekstresi antioksidan aktivite göstermediği için çizelgede yer verilmemiştir.

Pozitif kontrollerden BHA ve BHT ekstrelerden daha düşük aktivite gösterirken askorbik asit ektrelere yakın bir aktivite sergilemiştir. BHT en yüksek aktiviteye (%94) 25 µg/ml, BHA (%96) 100 µg/ml, askorbik asit (%98) 4 µg/ml konsantrasyonda ulaşmıştır.

**Çizelge 4.6.** Pozitif kontrollerin ABTS yöntemiyle belirlenen inhibisyon yüzdesi değerleri

<b>BHT (µg/ml)</b>	<b>%I</b>	<b>BHA (µg/ml)</b>	<b>%I</b>	<b>AA (µg/ml)</b>	<b>%I</b>
<b>1</b>	17.45±0.001	<b>5</b>	6.92±0.008	<b>1</b>	26.95±0.02
<b>2</b>	41.0±0.01	<b>10</b>	8.03±0.009	<b>2</b>	51.50±0.02
<b>3</b>	68.04±0.002	<b>20</b>	14.95±0	<b>3</b>	77.83±0.05
<b>5</b>	85.12±0.0005	<b>30</b>	21.00±0.0005	<b>4</b>	98.89±0.1
<b>10</b>	90.53±0.001	<b>40</b>	38.11±0.001		
<b>25</b>	94.82±0.004	<b>50</b>	51.34±0		
		<b>75</b>	90.60±0.001		
		<b>100</b>	96.23±0.001		

Sonuçlar ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir.

Çizelge 4.7. Ekstrelerin ABTS yöntemine göre belirlenen yüzde inhibisyon değerleri

Aseton (µg/ml)	%I	Etanol (µg/ml)	%I	Su (µg/ml)	%I
0.1	6.58±0.02	0.1	5.13±0.001	0.1	1.94±0.004
0.2	12.84±0.03	0.2	8.55±0.02	0.2	13.38±0.01
0.3	14.52±0.02	0.3	11.75±0.01	0.3	11.87±0.04
0.4	16.70±0.003	0.4	12.88±0.002	0.4	17.05±0.04
0.5	23.06±0.02	0.5	22.71±0.04	0.5	22.07±0.06
0.6	28.07±0.01	0.6	22.5±0.02	0.6	16.29±0.001
0.7	32.20±0.05	0.7	23.14±0.05	0.7	19.32±0.01
0.8	34.38±0.03	0.8	32.12±0.008	0.8	23.31±0.005
0.9	35.47±0.009	0.9	31.1±0.03	0.9	31.3±0.02
1	40.01±0.004	1	31.37±0.02	1	32.37±0.02
2	62.33±0.02	1.5	41.2±0.002	1.5	43.28±0.02
5	97.83±0.0005	2	55.31±0.003	2	59.95±0.04
		2.5	75.78±0.02	3	78.17±0.006
		3	86.023±0.008	4	97.02±0.002
		5	97.29±0.002		

Sonuçlar ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir.

#### 4.4.4. CUPRAC yöntemi bulguları

Ekstre ve pozitif kontrollerin CUPRAC yöntemiyle antioksidan aktivitesi farklı konsantrasyonda (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 µg/ml) belirlenmiştir (Çizelge 4.8. ve

Çizelge 4.9.). Bu yöntemde sonuçlar absorbans değerleri ile ifade edilmektedir. Kontrole karşı yapılan okumada artan absorbans değeri artan aktiviteyi ifade etmektedir. Pozitif kontrol olarak kullanılan BHA, BHT ve askorbik asite göre aktivite karşılaştırmaları yapıldı.

Bu yöntemde aseton ekstresi diğer ekstrelerden daha yüksek aktivite sergilemiştir. Aseton ekstresinin 10 µg/ml konsantrasyonda 1.89 absorbans değeri ölçülürken aynı konsantrasyonda etanol ekstresinin absorbans değeri 1.41 su ekstresinin absorbans değeri ise 0.49 olarak ölçülmüştür.

**Çizelge 4.8.** Ekstrelerin CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorbans değerleri

Konsantrasyon µg/ml	Aseton	Etanol	Konsantrasyon µg/ml	Su
1	0.44±0.06	0.13±0.01	5	0.25±0.04
2	0.59±0.04	0.38±0.008	10	0.49±0.02
3	0.76±0.05	0.44±0.03	15	0.73±0.04
4	0.92±0.04	0.48±0.03	20	0.95±0.07
5	1.12±0.07	0.68±0.1	25	1.26±0.01
6	1.26±0.06	0.87±0.05	30	2.17±0.02
7	1.47±0.02	1.01±0.002	35	2.57±0.09
8	1.59±0.09	1.07±0.13	40	2.83±0.02
9	1.80±0.08	1.36±0.02	50	3.50±0.07
10	1.89±0.19	1.41±0.01		

Sonuçlar ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir.

Aynı konsantrasyon baz alınarak pozitif kontrollerin aktivitelerini değerlendirdiğimizde BHT 2.00, BHA 0.09, askorbik asit ise 0.35 absorbans değeri sergilemiştir. Bu veriler ışığında ekstre ve pozitif kontrolleri değerlendirdiğimizde aktivite sıralaması BHT > aseton ekstresi > etanol > su ekstresi > askorbik asit > BHA şeklinde olmaktadır. Petrol eteri ekstresi antioksidan aktivite göstermediği için çizelgede yer verilmemiştir.

Çizelge 4.9. Pozitif kontrollerin CUPRAC yöntemiyle belirlenen absorbands değerleri

BHT (µg/ml)	Absorbans	BHA (µg/ml)	Absorbans	AA (µg/ml)	Absorbans
1	0.019±0.03	10	0.09±0.011	2	0.30±0.21
2	0.30±0.015	20	0.13±0.004	5	0.33±0.01
3	0.58±0.10	30	0.4±0.031	10	0.35±0.02
4	0.72±0.02	40	0.57±0.40	20	1.80±0.18
5	1.10±0.17	50	0.80±0.04	50	3.55±0.05
6	1.40±0.10	60	0.85±0.07	100	3.73±0.12
7	1.56±0.03	70	0.1±0.25		
8	1.63±0.01	80	1.25±0.40		
9	1.77±0.12	90	2.20±0.06		
10	2.00±0.14				

sonuçlar ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir.

Literatüre baktığımızda *Pistacia* türleri ve bu türlerin biyolojik ve fitokimyasal özellikleri üzerine birçok çalışma görmek mümkündür. Ancak *Pistacia* türü galleri üzerine yapılmış çalışmalar çok az olup, çalıştığımız gal üzerine yapılmış hiçbir literatüre rastlanmamıştır.

Othman ve ark. (2019), Libya'da yetişen *Pistacia atlantica* ekstresinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini araştırıp 6 polifenol izole etmişlerdir. Ekstrelerin DPPH radikal süpürücü aktiviteleri değerlendirildiğinde etil asetat ekstresinin 77 µl konsantrasyonda % 96.4 inhibisyon oranı, 8.41 µg/ml IC<sub>50</sub> değeri ile yüksek aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Beş bakteri suşu ve mantarlara karşı çalışılan etil asetat ekstresi, 20 mm'lik inhibisyon zonu ile *Staphylococcus aureus*'a karşı aktivite gösterirken, metanol ekstresi *Bacillus subtilis*'e karşı 19.5 mm inhibisyon zonu ile en iyi antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir.

Mandrone ve ark. (2019), içinde *P. lentiscus* ve *P. terebinthus ssp. terebinthus*'un da bulunduğu Sardunya'da yetişen 36 bitki ekstresinin biyolojik aktivitelerini araştırmışlardır. Her iki türün yaprak ekstralarının yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve *P. terebinthus ssp terebinthus* yaprak ekstresinin daha yüksek

flavonoit içerik ve düşük sitotoksositeye sahip olduğu bildirilmiştir. *P. lentiscus* meyve ve yaprak ekstresinin *S. aureus* ATCC 25293 üzerindeki MİK değeri sırasıyla 144.0 µg/ml ve 27.3 µg/ml iken; *P. terebinthus* yaprak ekstresinin ise 62.9 µg/ml olduğu bildirilmiştir. *P. lentiscus* ekstreleri *E. coli* ATCC 25922 suşu üzerinde aktivite sergilemezken *P. terebinthus* yaprak ekstresinin MİK değerinin 156.3 µg/ml olduğu tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz antimikrobiyal aktivite sonuçlarında *E. coli* ATCC 25922 suşu üzerinde aktivite gözlemlenmemiz bu çalışma ile uyum içindedir.

Karygianni ve ark. (2019), *Pistacia lentiscus*'tan elde ettikleri bileşiklerin oral mikrobiyal büyüme üzerindeki inhibe edici aktivitesini araştırmışlardır. *P. lentiscus*'tan elde edilen bileşikler arasında oleanolik asit, 9.8 µg/ml (*P. gingivalis*) ile 625 µg/ml (*F. nucleatum*, *P. micra*) arasında değişen MİK değerleriyle hemen hemen tüm mikroorganizmalara karşı etkili olmuştur. 24Z-izomasticadienolik asit varlığında, zorunlu anaeroblar için ortalama inhibitör konsantrasyon 2.4 µg/ml ile 625 µg/ml olduğu bildirilmiştir. 24Z-izomasticadienolik asit için MİK değeri 39 µg/ml (*Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*) ve 78 µg/ml (*Streptococcus mutans*) arasında hesaplanmıştır. Test edilen tüm bileşiklerin, *Prevotella intermedia*'ya karşı hiçbir etki göstermediği ancak oleanolik asitin, test edilen oral patojenlere, özellikle streptokoklar ve anaerobik oral mikroorganizmalara karşı inhibe edici aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Bouyahya ve ark. (2019), yaptıkları kapsamlı çalışmada *P. lentiscus* yaprak ve meyve uçucu yağlarının antikanser, antioksidan antiparazitik ve antibakteriyel etkilerini araştırmışlardır. Yaprak uçucu yağlarının ana bileşenleri myren (%33.46) ve a-pinen (%19.20) iken limonen (%18.26) ve a-pinen (%20.46) meyve uçucu yağlarının ana bileşenleri olarak belirlenmiştir. Antioksidan aktivite ABTS, FRAP ve DPPH testleri ile belirlenmiştir. Meyve uçucu yağı yaprak uçucu yağından daha yüksek aktivite göstermiş olup, DPPH, FRAP ve ABTS testinde sırasıyla  $IC_{50} = 29.64 \pm 3.04$  g/ml,  $IC_{50} = 38.57 \pm 4.22$  g/ml ve  $IC_{50} = 73.80 \pm 3.96$  g/ml antioksidan kapasite sergilemiştir. Antikanser etkisi RD ve L20b adenokarsinom kanserli hücre hatları üzerinde incelenmiştir. Meyve uçucu yağı, RD ve L20B hücre hatları üzerinde sırasıyla  $26.43 \pm 2.18$  g/ml ve  $33.02 \pm 2.84$  µg/ml  $IC_{50}$  değerlerinde belirgin sitotoksik etkiler göstermiştir. Antiparaziter etkile üç *Leishmania* türüne (*Leishmania infantum*, *Leishmania major* ve *Leishmania tropica*) karşı değerlendirilmiş olup yaprak uçucu yağı, *L. major*'a karşı ( $IC_{50} = 17.52 \pm$

1.26 g/ml), meyve uçucu yağları *L. infantum*'a karşı ( $IC_{50} = 08 \pm 0.83 \mu\text{g/ml}$ ) önemli bir sitotoksikite göstermiştir. Bununla birlikte, meyve uçucu yağları, *Pseudomonas aeruginosa*'ya (% 0.125 (v/v)) karşı en düşük MİK değeri sergilemiştir. *P. lentiscus* uçucu yağlarının olağanüstü antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal özellik gösterdiği bildirilmiştir.

Di Lodovico ve ark. (2018), *Pistacia vera* L. yağ reçinesinin ve levofloksasinin (LVX) dirençli *Helicobacter pylori* suşlarına karşı sinerjik bir kombinasyon oluşumunu araştırmışlardır. Yağ reçinesinin ve LVX'in MİK değerleri sırasıyla 780-3120 mg/l ve 012-2 mg/l arasında olduğu bildirilmiştir. Yağ reçinesinin LVX ile sinerjik bir etki gösterdiği ve LVX'e dirençli suşlarda etkinlik kazandığı ifade edilmiştir. Yağ reçinesi ve LVX'in, petek güvesini (*Galleria mellonella*) *H. pylori* infeksiyonuna karşı sırasıyla %62 ve %63 hayatta kalma oranıyla koruduğu bildirilmiştir. *Pistacia vera* L. yağ reçinesinin, *H. pylori* antibiyotik direnci mücadelesinde LVX'in etkinliğini geri kazanmak için umut verici bir güçlendirici olarak kabul edilebilir sonucuna varmışlardır.

Taghizadeh ve ark. (2018), antep fıstığı (*Pistacia khinjuk*) kabuğundan elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi, antibakteriyel, antioksidan aktiviteleri ile sitotoksik etkisini araştırmışlardır. Antibakteriyel aktivite sonuçlarında *Staphylococcus aureus*'u en duyarlı suş olarak belirlemişlerdir (MİK ve MBK = 16  $\mu\text{g/ml}$ ). Antioksidan aktivite  $IC_{50}$  değerleri 19.03  $\mu\text{g/ml}$  (DPPH radikal süpürücü) 49.22  $\mu\text{g/ml}$  ( $\beta$ -karoten renk açılımı) olarak belirlenmiştir. Sitotoksik testlerin  $IC_{50}$  endekslerini, MCF-7, PC3 ve DU-145 hücre hatları için sırasıyla 29.6, 37.3 ve 41.1  $\mu\text{g/ml}$  olarak tespit etmişlerdir.

La Camera ve ark. (2018), klinik olarak izole ettikleri *Staphylococcus* türlerinin 23'ünün koagülaz pozitif *S. aureus* ve 21'inin de MRSA olduğunu tespit etmişlerdir. Doğal antep fıstığı (*P. vera* L.) ve kavrulmuş antep fıstığı ekstralarının bu mikroorganizmalar üzerine etkisini araştırmışlardır. Ekstrelerin toplam fenol içeriği, doğal antep fıstığında ( $359.04 \pm 8.124 \text{ mg/100 g}$  Gallik asit), kavrulmuş antep fıstığından ( $225.18 \pm 5.055 \text{ mg/100 g}$  Gallik asit) daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Doğal antep fıstığındaki yüksek toplam fenol içerik DPPH yöntemi ile elde edilen antioksidan aktivite ile ilgilidir. Doğal antep fıstığı  $IC_{50}$  değeri 0.85 mg/ml, kavrulmuş antep fıstığı  $IC_{50}$  değeri 1.15 mg/ml olduğu tespit edilmiştir. Her iki ekstrenin *S. aureus* 6538P ve *Staph. spp.* izolatlarına karşı aktif olduğu, bildirilmiş

olup kavrulmuş antep fıstığının daha yüksek aktivite (MİK değerleri 31.25 ile 2000 mg / ml arasında değişmektedir) sergilediği bildirilmiştir.

Çoban ve ark. (2017), Aydın'dan topladıkları *Pistacia terebinthus* L. yaprak ekstralarının antimikrobiyal etkilerini bazı patojen mikroorganizmalara karşı incelemişlerdir. Metanol, etil asetat ve kaynar su ekstralarının antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemiyle 6 bakteri, 2 mantar ve küf türleri üzerinde belirlenmiştir. Tüm ekstraların *S. aureus* ATCC 25923 ve *M. smegmatis* ATCC 607 üzerinde aktivite gösterdiği ancak hiçbir ekstrenin *E. coli* ATCC 35218 üzerine aktivite göstermediği saptanmıştır. Ek olarak, etanol ve etil asetat ekstresi, iki patojen bakteri (*S. typhimurium* ATCC 14028 ve *C. xerosis* ATCC 373) ve mayalara (*C. albicans* ATCC 10231 ve *C. useis* ATCC 9950) karşı antimikrobiyal etkilere sahip olduğu bildirilmiştir. Metanol ekstresi sadece *K. pneumoniae* ATCC 13882'ye karşı aktif iken, kaynatılmış su ekstresi *S. aureus* ATCC 25923'e karşı etkili olduğu ifade edilmiştir. Elde ettiğimiz antimikrobiyal aktivite sonuçları bu çalışma ile uyum içerisindedir. Bu çalışmada olduğu gibi biz de *E. coli*'ye karşı aktivite gözlemleyemezken, *C. albicans* ve *S. aureus*'a karşı aktivite elde ettik.

Durak ve Uçak (2015), 12 farklı *P. terebinthus* meyvesinin yağ asidi profilinin karakterizasyonu, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini çalışmışlardır. Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri (TPC'ler) 12.189 mg GAE/1000 g ekstre 36.392 mg GAE/1000 g ekstre arasında değiştiği bildirilmiştir. Ekstrelerin DPPH radikal süpürücü aktiviteleri geniş bir aralıkta (%8.86 - %64.43) değişmekte olup ve TPC'lerle yüksek oranda korele olduğu tespit edilmiştir. *Salmonella typhimurium*'un, ekstrelere *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus*'tan daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Ekstrelerin yağ asidi kompozisyonu göz önüne alındığında, palmitik asit, oleik asit ve linoleik asit sırasıyla baskın doymuş, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri olduğu gözlenmiştir.

Ulukanlı ve ark. (2012), *Pistacia terebinthus* L. spp. *palaestina* (Boiss.) uçucu yağının kimyasal yapısı, antibakteriyel ve insektisidal aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında *P. terebinthus*'un yapraklarından elde edilen uçucu yağında ana bileşiklerin,  $\alpha$ -pinen (%19.97), sabinen (%15.43),  $\beta$ -pinen (%8.57) ve terpinen-4-ol'un (%9.65) olduğunu bildirmişlerdir. Antibakteriyel disk difüzyon testinde uçucu yağın, standart antibiyotiklere kıyasla hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakterilerin büyümesinde geniş spektrumlu bir aktivite sergilemiş olduğunu ve insektisidal

aktivitede de, *Acanthoscelides obtectus* ve *Tribolium castaneum* olmak üzere iki önemli zararlı böcek türü üzerinde önemli bir aktivite gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Orhan ve ark. (2012), çalışmalarında dört terebint kahve markası ve *Pistacia terebinthus* L.'nin meyvelerinin etil asetat ve metanol ekstralarının nöroprotektif etkileri, asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz, tirozinaz enzim inhibisyonları ve antioksidan etkilerini incelemişlerdir. Ekstrelerin, butirilkolinesteraza (200 µg/ml'de %9.78-45.74) karşı orta düzeyde inhibisyona ve DPPH'ye karşı güçlü bir temizleme aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. FRAP ve metal şelasyon testlerinde güçlü aktivite ve PRAP testinde tutarlı aktivite göstermişlerdir. Oleik asit, majör yağ asidi olarak tanımlanırken, uçucu yağda apinen (%26.31) baskın olarak bulunmuştur.

*Pistacia* türlerini konu alan biyolojik aktivite ve fitokimyasal çalışmaların sayısını arttırmak mümkündür. Çalışılan gal ile ilgili daha önce yapılmış çalışmaların olmayışı elde ettiğimiz sonuçları literatürle kıyaslama konusunda kısıtlı alan oluşturmaktadır. Buna göre sonuçlarımızı bitkinin diğer kısımları üzerine yapılmış yukarıda özetlenen çalışmalarla kıyasladığımızda çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar literatürle uyumludur. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarını değerlendirdiğimizde literatürle uyumlu olarak ekstralarımızın *E.coli*'ye karşı aktivite göstermediği ve *S. aureus*'un ise ekstrelelere karşı duyarlı olduğunu görmekteyiz.

İkincil metabolit içeren aromatik ve tıbbi bitkilerin antioksidan, antifungal, antibakteriyel aktivitelerinin olduğu bilinmekte olup, gıdalarda koruyucu ve ilaç olarak kullanılmaktadırlar. Bu aktiviteleri sahip oldukları ana kimyasal bileşenler ve eser bileşenlerin sinerjik ve antagonistik etkilerinden kaynaklanabilmektedir (Adrar ve ark., 2016; . Bendif ve ark., 2017). Fenolik bileşiklerin antibakteriyel aktivitesini açıklayan bazı mekanizmalar düşünülmüştür. Hücrenin proton itici gücünü, elektron akışını ve aktif taşımayı bozup sitoplazmik membranda bozukluk yaratarak bu aktiviteyi sergiledikleri öne sürülmüştür (Burt, 2004).

Bitkilerdeki fenolik/flavonoit içerik ile antioksidan aktivite arasında korelasyon olduğu bilinen bir gerçektir. Özellikle fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesini kanıtlayan sayısız çalışma vardır. Çalışmamıza konu olan galin aseton, etanol ve su ekstralarının toplam fenolik madde açısından zengin olduğu saptanmıştır. Ekstrelerin sahip olduğu fenolik içerikle orantılı olarak çalışılan tüm antioksidan aktivite yöntemlerinde yüksek aktivite elde edilmiştir. İçerdikleri fenolik madde zenginliği açısından ekstralar aseton, etanol ve su olarak sıralanırken DPPH, ABTS ve CUPRAC

yöntemlerinde elde edilen aktivite değerleri de aseton, etanol ve su ekstresi olarak sıralanmaktadır. Bu da fenolik madde zenginliği ile antioksidan aktivite arasındaki korelasyonu destekler niteliktedir.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

*Pistacia terebinthus* üzerinde oluşumu *Slavum aff. mortvilkoii* afidi tarafından indüklenen galin petrol eteri, aseton, etanol ve su ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi, MİK ve MBK değerleri ile, antioksidan aktiviteleri DPPH, ABTS ve CUPRAC yöntemiyle araştırılmıştır.

### Sonuçlar

1. Ekstrelerden elde ettiğimiz antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre aseton ve etanol ekstresi en iyi antimikrobiyal aktiviteyi sergilerken petrol eteri ekstresi çalışılan mikroorganizmalardan sadece *S. pyogenes* ve *C. albicans*'a karşı düşük aktivite göstermiştir. *E. coli*'ye karşı hiçbir ekstre aktivite göstermezken, *S. aureus*'un ise ekstrelerle karşı duyarlı olduğunu görmekteyiz.

2. Ekstrelerin zengin fenolik içeriğe sahip olduğu ve toplam fenolik içerik zenginliği bakımından aseton, etanol, su ve petrol eteri ekstresi olarak sıralandığı tespit edilmiştir.

3. Antioksidan aktivite analizlerinden oldukça yüksek aktiviteler elde edilmiştir. Aseton, etanol ve su ekstraları pozitif kontrollerden yüksek/yakın aktivite göstermiştir.

4. Çalışmamızda toplam fenolik içerik ile antioksidan aktivite korelasyonunu destekler nitelikte bulgular elde edilmiştir.

5. Çalışmamıza konu olan gal ile ilgili literatürde bu güne kadar herhangi bir kayda rastlanmamıştır. Bu açıdan çalışmamızın özgün değeri oldukça yüksektir.

### Öneriler

1. Çalışmada söz konusu galin artan polaritedeki çözücülerde farklı ekstralarının biyolojik aktiviteleri araştırılmış olup bu ekstralar arasında sadece petrol eteri ekstresi aktivite göstermemiştir. Buradan çalıştığımız galin çeşitli polaritelerde kimyasal içeriğe sahip olduğu sonucuna varabiliriz. Bu bağlamda söz konusu galin endüstriyel kullanımı için çalışmalar yapılması gerektiğini önermekteyiz.

2. Aseton, etanol ve su ekstralarının pozitif kontrollere yakın/yüksek aktivite sergilemiş olması doğal kaynaklı alternatif antioksidan maddelerin keşfedilmesine katkı sağlayacaktır.

3. Aseton, etanol ve su ekstraları fenolik açıdan zengin ekstralardır. Bu ekstraların kimyasal yapıları belirlenerek çok yönlü kullanım adına çalışmalar yapılabileceğini önermekteyiz.

## KAYNAKLAR

- Abdelwahed, A., Bouhlel, I., Skandrani, I., Valenti, K., Malika, K., Guiraud, P., Steiman, R., Mariotte, A. M., Ghedira, K., Laporte, F., Franca, M. G. D., and Ghedira, L. C., 2007, Study of antimutagenic and antioxidant activities of gallic acid and 1,2,3,4,6- pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*: Confirmation by microarray expression profiling, *Chemico Bioogcall Interactions*, 165: 1–13.
- Adrar, N., Oukil, N., and Bedjou, F., 2016, Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination, *Industrial Crops and Products*, 88: 112–119.
- Agelet, A., and Vallès, J., 2003, Studies on pharmaceutical ethnobotany in the region of Pallars (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula), Part II. New or very rare uses of previously known medicinal plants, *Journal Ethnopharmacol*, 84: (2–3), 211–27.
- Ahmad, N.S., Farman, M., Najmi, M.H., Mian, K.B., and Hasan, A., 2008, Pharmacological basis for use of *Pistacia integerrima* leaves in hyperuricemia and gout, *Journal Ethnopharmacol*, 117: 478–482.
- Ahmad, S., Ali, M., Ansari, S.H., and Ahmed, F., 2010, Phytoconstituents from the galls of *Pistacia integerrima* Stewart, *Journal of Saudi Chemical Society*, 14: 409–412.
- Alam, N., and Bristi N. J., 2013, Rafiquzzaman Md. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21: 143–152.
- Alamed, J., Chaiyasit, W., McClements, D. J., and Decker, E. A., 2009, Relationship between free radical scavenging and antioxidant activity in foods, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 2969–2976.
- Alma, M.H., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Digrak, M., Efe, F.T., and Yilmaz, N., 2004, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish pistachio (*Pistacia vera* L.), *Journal Agricultural Food Chemistry*, 52: 3911–3914.
- Alvarez, R., Encina, A., and Perez Hidalgo, N., 2009, Histological aspects of three *Pistacia terebinthus* galls induced by three different aphids: *Paracletus cimiciformis*, *Forda marginata* and *Forda formicaria*, *Plant Science*, 176: 303–314.

- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., and 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.
- Asllani, U., 1988, *Esencat e bimëve aromatike të Shqipërisë*, Tiranë, Shqipëri: Stepia Botuese 8 Nentori.
- Asllani, U., 2002, *Esencat e bimëve aromatike e mjekësore të trevave Shqipëtare* (The essences of Aromatic Plants and Medicinal Herbs in Albanian Regions), Tiranë, Albania: ILAR.
- Baytop, T., 1984, *Türkiye’de bitkiler ile tedavi*, Istanbul: publications of the Istanbul University.
- Becker, E. M., Nissen, L. R., and Skibsted, L. H., 2004, Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects, *European Food Research and Technology*, 219, 6: 561-571.
- Bendif, H., Boudjeniba, M., Miara, M. D., Biçiku, L., Bramucci, M., and Caprioli, G., 2017, *Rosmarinus eriocalyx*: an alternative to *Rosmarinus officinalis* as a source of antioxidant compounds, *Food Chemistry*, 218: 78–88.
- Berdy, J., 2005, Bioactive MİK robialmetabolites, *Journal Antibiot*, 58: 1–26.
- Bibi, Y., Nisa, S., Chaudhary, F. M., and Zia, M., 2011, Antibacterial activity of some selected medicinal plants of Pakistan, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11, 52, doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-11-52>.
- Bibi, Y., Nisa, S., Zia, M., Waheed, A., Ahmad, S., and Chaudhary, . F., 2012, The study of anticancer and antifungal activities of pistacia integerrima extract in vitro, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 74: 375–379.
- Blackman, R. L., and Eastop, V. F., 1994, Aphids on the world’s trees: an identification and information guide, *CAB International*, 987.

- Blois, M. S., 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181, (1199–1200).
- Brraco, U., Loliger, J., and Viret, J., 1981, Production and use of natural antioxidants, *Journal of American Oil Chemical Society*, 58: 686±690.
- Bouyahya, A., Assemiana, I. C. C., Mouzounta, H., Bouraisa, I., Et-Touysa, A., Fellah, H., Benjouadc, A., Dakka, N., and Bakria, Y., 2019, Could volatile compounds from leaves and fruits of *Pistacia lentiscus* constitute a novel source of anticancer, antioxidant, antiparasitic and antibacterial drugs?, *Industrial Crops ve Products*, 128: 62–69.
- Burt, S., 2004, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223– 253.
- Cakilcioglu, U., and Turkoglu, I., 2010, An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey), *Journal Ethnopharmacology*, 132, 1: 165–75.
- Castro, L., and Freeman, B. A., 2001, Reactive oxygen species in human health and disease, *Journal of Nutrition*, 17: 161– 165.
- Cheeseman, K. H., and Slater, T. F., 1993, An introduction to free radicals chemistry, *British Medical Bulletin*, 49: 481–493.
- Chen, Q., Vazquez, E. J., Moghaddas. S., Hoppel, C. L., and Lesnefsky, E. J., 2003, Roduction of reactive oxygen species by mitochondria: central role of complex III, *The Journal of Biological Chemistry*, 278, 38: 36027–36031.
- CLSI, Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts, approved guideline, CLSI document M44-A. CLSI, 940, *West Valley Road, Suite 1400*, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA, 2004.
- CLSI, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, approved standard, 7th ed., CLSI document M02-A11, Clinical and laboratory standards institute, 950 *West Valley Road, Suite 2500*, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012.
- Dabos, K. J., Sfika, E., Vlatta, L. J., and Giannikopoulos, G., 2010, The effect of mastic gum on *Helicobacter pylori*: a randomized pilot study, *Phytomedicine*, 17: 296–299, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2009.09.010>.

- Davatchi, G. A., 1958, Etude comparative sur la biologie et le polymorphisme des aphides gallicoles des Pistacia d'Asie Centrale, du Moyen-Orient, du bassin m\_editerran\_éen et du Nord Africain, *Revue de Pathologie Entomologie Agricole Francaise*, 37: 5–166.
- Dey, T. B., Chakraborty, S., Jain, K. K., Sharma, A., and Kuhad, R. C., 2016, Antioxidant phenolics and their microbial production by submerged and solid state fermentation process: A review, *Trends Food Science Technology*, 53: 60–74.
- Di Lodovico, S., Napoli, E., Di Campoli, E., Di Fermo, P., Gentile, D., Ruberto, G., Nostro, A., Marini, E., Cellini, L., and Di Giulio, M., 2018, Pistacia vera L. oleoresin and levofloxacin is a synergistic combination against resistant *Helicobacter pylori* strains, 9:4646 <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40991-y>
- Djerrou, Z., Hamdi-Pacha, Y., Belkhiri, A.M., Djaalab, H., Riachi, F., Serakta, M., Boukeloua, A., and Maameriet, Z., 2011, Evaluation of *Pistacia lentiscus* fatty oil effects on glycemic index, liver functions and kidney functions of New Zealand rabbits, *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8: 214–219, doi:<http://dx.doi.org/10.4314/ajtcam.v8i5S.27>.
- Durak, M. Z., and Uçak, G., 2015, Solvent optimization and characterization of fatty acid profile and antimicrobial and antioxidant activities of Turkish *Pistacia terebinthus* L. extracts, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39: 10-19, doi:10.3906/tar-1403-63.
- Durmaz, G., and Goekmen, V., 2011, Changes in oxidative stability, antioxidant capacity and phytochemical composition of *Pistacia terebinthus* oil with roasting, *Food Chemistry*, 128, 2: 410–4.
- Orhan, İ.E., Sezer, Senol, F., Rifat, Gulpinar, A., Sekeroglu, N., Kartal, M., and Sener, B., 2012, Neuroprotective potential of some terebinth coffee brands and the unprocessed fruits of *Pistacia terebinthus* L. and their fatty and essential oil analyses, *Food Chemistry*, 130: 882–888.
- Gerchman, Y., and Inbar, M., 2011, Distinct antimicrobial activities in aphid galls on *Pistacia atlantica*, *Plant Signal. Behav*, 6, 2008–2012, <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3337195&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

- Gioxari, A., Kaliora, A.C., Papalois, A., Agrogiannis, G., Triantafillidis, J.K., and Andrikopoulos, N.K., 2011, Pistacia lentiscus resin regulates intestinal damage and inflammation in trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis, *Journal of Medicinal Food*, 14: 1403–1411, doi:http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2010.0240.
- Guschin, A., Ryzhikh, P., Rumyantseva, T., Gomberg, M., and Unemo, M., 2015, Treatment efficacy, treatment failures and selection of Mycoplasma genitalium during treatment of male urethritis with Josamycin, *BMC Infectious Diseases*, 15: 1–7.
- Harris, M. O., Stuart, J. J., Mohan, M., Nair, S., Lambs, R. J., and Rohfritsch, O., 2003, Grasses and gall midges: plant defense and insect adaptation, *Annual Review of Entomology*, 48: 549–577.
- Heatley, N. G. 1944, A method for the assay of penicillin, *Biochem Journal*, 38: 61–65.
- Herrmann, K., Schutte, M., and Muller, H., 1981, Über die antioxidative Wirkung von Gewürze, *Deutsch Lebensm Rdsch*, 77: 134±138.
- Hidalgo, G. I., and Almajano, M. P., 2017, Extraction of Antioxidants, Phenolic Content and Radical Scavenging Determination: A Review, *Chemical Engineering Department*, Universitat Politècnica de Catalunya, Avinguda Diagonal 647, Barcelona E-08028.
- Hosseinzadeh, H., Behravan, E., and Soleimani, M., 2011, Antinociceptive and anti-inflammatory effects of pistacia vera leaf extract in mice, Iran, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research IJPR*, 10: 821–828.
- Huang, D., Ou, B., and Prior, R. L., 2005 The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 53:1841–1856.
- İlahi, I., Samar, S., Khan, I., and Ahmad, I., 2013, In vitro antioxidant activities of four medicinal plants on the basis of DPPH free radical scavenging, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26: 949–952,
- İsmail, M., Shafiq-ur-Rahman, N., Muhammad, N., Mohani, M. A., Khan, B., and Hussain, J., 2011, Pharmacognostic and phytochemical investigation of the stem bark of *Pistacia integerrima* Steud ex Brandis, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5: 3891–3895.

- İsmail, A., Lamia, H., Mohsen, H., and Bassem, J., 2012, Herbicidal potential of essential oils from three mediterranean trees on different weeds, *Curr Bioact Compd*, 8, 1: 3–12.
- Janakat, S., and Al-Merie, H., 2002, Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*, *Journal Ethnopharmacol*, 83: 135–138, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12413719>, [Accessed 30 September 2016].
- Karygianni, L., Cecere, M., Argyropoulou, A., Hellwig, E., Skaltsounis, A. L., Wittmer, A., Tchorz, J. P., and Al-Ahmad, A., 2019, Compounds from *Olea europaea* and *Pistacia lentiscus* inhibit oral microbial growth, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19, 51.
- Koach, J., and Wool, D., 1977, Geographic distribution and host specificity of gall-forming aphids (Homoptera, Fordinae) on *Pistacia* trees in Israel, *Marcellia*, 40: 207–216.
- Koehn, F. E., and Carter, G. T., 2005, The evolving role of natural products in drug discovery, *Nature Reviews Drug Discovery*, 4 (3) :206-20.
- Koutsoudaki, C., Krsek, M., and Rodger, A., 2005, Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* Var. chia, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 7681–7685.
- Kramer, R. E., 1985, Antioxidants in clove, *Journal of American Oil Chemical Society*, 62: 111±113.
- La Camera, E., Bisignano, C., Crisafi, G., Smeriglio, A., Denaro, M., Trombetta, D., and Mandalari, M., 2018, Biochemical Characterization of Clinical Strains of *Staphylococcus* spp. and Their Sensitivity to Polyphenols-Rich Extracts from Pistachio (*Pistacia vera* L.), *Pathogens*, 7, 4, 82.
- Lachance, P. A., Nakat, Z., and Jeong, W., 2001, Antioxidants: an integrative approach, *Nutrition*, 17: 835– 838.
- Lagouri, V., Blekas, G., Tsimidou, M., Kokkini, S., and Boskou, D., 1993, Composition and antioxidant activity of essential oil from Oregano plants grown in Greece, *Z Lebensmitt Unters Forsch*, 197: 20±23.

- Mabona, U., Viljoen, A., Shikanga, E., Marston, A., and Vuuren, S. V., 2013, Antimicrobial activity of Southern African medicinal plants with dermatological relevance: from an ethnopharmacological screening approach, to combination studies and the isolation of a bioactive compound, *Journal Ethnopharmacol*, 148: 45–55.
- MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G., and Garg, M. L., 2006, Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 2046-2056.
- Madigan, M. T., and Martinko, J. M., 2010, Brock, Mikroorganizmaların Biyolojisi, Çökmüş, C. *Palme yayıncılık*, Ankara, 677-678.
- Mandrone, M., Bonvicinib, F., Lianza, M., Sannac, C., Maxi, A., Gentilomib, G. A., and Polia, F., 2019, sardinian plants with antimicrobial potential. Biological screening with multivariate data treatment of thirty six extracts, *Industrial Crops and Products*, 137, 557–565.
- Mani, M. S., 1964, Ecology of plant galls, Dr. W. Junk, The Hague, the Netherlands.
- Marone, P., Bono, L., Leone, E., Bona, S., Carretto, E., and Perversi, L., 2001, Bactericidal activity of pistacia lentiscus mastic gum against helicobacter pylori, *Journal Chemotherapy*, 13: 611–614, doi:<http://dx.doi.org/10.1179/joc.2001.13.6.611>.
- Martin, I. Sawatzky, P. Liu, G. Mulvey, MR., 2015, Antimicrobial resistance to *Neisseria gonorrhoeae* in Canada: 2009–2013, *Canada Communicable Disease Report*, 41: 35–41.
- Martorana, M., Arcoraci, T., Rizza, L., Cristani, M., Bonina, F.P., Saija, A., Trombetta, D., and Tomaino, A., 2013, In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effect of pistachio (*Pistacia vera L.*, variety Bronte) seed and skin extracts, *Fitoterapia*, 85: 41–48. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2012.12.032>.
- Maxia, A., Sanna, C., Frau M. A., Piras, A., Karchuli, M.S., and Kasture, V., 2011, Anti-inflammatory activity of *Pistacia lentiscus* essential oil: involvement of IL-6 and TNF-alpha, *Natural Product Communications*, 6: 1543–1544.

- Mayers, D. L., Lerner, S. A., Ouelette, M., Kaye, K. S., and Marchaim, D., 2009, Antimicrobial Drug Resistance C: Clinical and Epidemiological Aspects, *Springer Dordrecht Heidelberg London*, 2: 681–1347.
- Mehla, K., Balwani, S., Kulshreshtha, A., Nandi, D., Jaisankar, P., and Ghosh, B., 2011, Ethyl gallate isolated from *Pistacia integerrima* Linn inhibits cell adhesion molecules by blocking AP-1 transcription factor, *Journal Ethnopharmacol*, 137: 1345–1352. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.068>.
- Mharti, F. Z., Lyoussi, B., and Abdellaoui, A., 2011, Antibacterial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* used in Moroccan folkloric medicine, *Natural Product Communications*, 6: 1505–1506, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22164794>, [Accessed 22 June 2015].
- Mohagheghzadeh, A., Faridi, P., and Ghasemi, Y., 2010, Analysis of Mount Atlas mastic smoke: a potential food preservative, *Fitoterapia*, 81, 6: 577–580.
- Moran, N. A., 1989, A 48-million-year-old aphid–host plant association and complex life cycle: biogeographic evidence, *Science*, 245: 173–175.
- Moreno, M. I. N., Isla, M. I., Sampietro, A. R., and Vattuone, M. A., 2000, Comparison of the free radical-scavenging activity of Propolis from several regions of Argentina, *Journal of Ethnopharmacology*, 71: 109–114.
- Muhabbet, K., Koçak, Ö, A., and Seven, E., 2010, Güney Doğu Anadolu’da Baizongia Rond. Ve Slavum Mord. cinsleri hakkında (Hemiptera, Aphididae), *Centre for Entomological Studies*, Ankara, 61:14-16.
- Murphy, M. P., 2009, How mitochondria produce reactive oxygen species, *Biochemical Journal*, 417, 1: 1–13.
- Namiki, M., 1990, Antioxidants/antimutagens in food, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29: 273±300.
- Nanditha, B., and Prabhasankar, P., 2009, Antioxidants in bakery products: A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49: 1–27.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppala, L., and De Feo, V., 2013, Effect of essential oils on pathogenic bacteria, *Pharmaceuticals*, 6, 1451–1474.

- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 1997, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test, 6th ed, Approved Standard, Wayne Pa, M2-A6.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 2009, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. approved standard 8th ed, Wayne Pa, M08-A8.
- Othman, S. O. K., El-Hashash, M. A., Hussein, S. A., M. El-Mesallamy, A. M. D., A.Rizk, S., and Elabbar, F. A., 2019, Phenolic Content as Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Pistacia atlantica* Desf. (Anacardiaceae) Extract from Libya, *Egypt Journal Chemistry*, 1: 21–28.
- Ozcan, M. M., Tzakou, O., and Couladis, M., 2009, Essential oil composition of the turpentine tree ( *Pistacia terebinthus* L.) fruits growing wild in Turkey, *Food Chem*, 114: 282-285.
- Peksel, I., Arisan, R., and Yanardag. R., 2013, Radical scavenging and anti-acetylcholinesterase activities of aqueous extract of wild pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.) leaves, *Food Sci Biotechnol*, 22: 515–522, doi:http://dx.doi.org/10.1007/s10068-013-0109-6.
- Prior, R. L., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L., Hampsch-Woodill, M., Huang, D., Ou, B., and Jacob, R., 2003, Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples, *Journal Agricultural Food Chemistry*, 51: 3273–3279.
- Polat, R., Cakilcioglu, U., and Satil, F., 2013, Traditional uses of medicinal plants in Solhan (Bingöl - Turkey), *Journal Ethnopharmacol*, 148, 3:951–63.
- Potocnik, I., Vukojevic, J., Stajic, M., Tanovic, B., and Rekanovic, E., 2010, Sensitivity of mycogone perniciosa, pathogen of culinary-medicinal button mushroom *Agaricus bisporus* (J. Lge) imbach (Agaricomycetidae), to selected fungicides and essential oils, *Inter Journal Medicine Mushrooms*, 12, 1: 91–8.
- Poyrazoğlu Çoban, E., Bıyık, H., Törün, B., and Yaman, F., 2017, Evaluation the Antimicrobial Effects of *Pistacia terebinthus* L. and *Papaver rhoeas* l. Extracts Against Some Pathogen Microorganisms, *Research Article*, 51(3): 377-380. DOI: 10.5530/ijper.51.3s.51.
- Pokorny, J., 1991, Natural antioxidant for food use, *Trends in Food Science Technology*, 9: 223-227.
- Pulaj, B., Mustafa, B., Nelson, K., Qave, C. S., and Hajdari, A., 2016, Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Pistacia terebinthus* essential oils

- derived from wild populations in Kosovo, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, 147.
- Raman, A., 2011, Morphogenesis of insect-induced plant galls: facts and questions, *Flora*, 206, 517–533.
- Rand, K., Bar, E., Ben-Ari, M., Lewinsohn, E., and Inbar, M., 2014, The mono- and sesquiterpene content of aphid-induced galls on *Pistacia palaestina* is not a simple reflection of their composition in intact leaves, *Journal Chem Ecol*, 40, 632–642, <http://dx.doi.org/10.1007/s10886-014-0462-9>.
- Rauf, A., Saleem, M., Uddin, G., Siddiqui, B. S., Khan, H., Raza, M., Hamid, S. Z., Khan, A., Maione, F., Mascolo, N., and De Feo, V., 2015, Phosphodiesterase-1 inhibitory activity of two flavonoids isolated from *Pistacia integerrima* J.L. Stewart Galls, *Evid Based Complement Altern Medicine*, 506-564, doi:<http://dx.doi.org/10.1155/2015/506564>.
- Rauf, A., Patel, S., Uddin, G., Siddiqui, B.S., Ahmad, B., Muhammad, N., Mabkhot, Y. N., and Hadda, T. B., 2017, Phytochemical, ethnomedicinal uses and pharmacological profile of genus *Pistacia*, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86: 393–404.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice, E.C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radicale Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- Redfern, M., and Shirley, P., 2002, British plant galls: identification of galls on plants and fungi, *Field Studies*, 10: 207–531.
- Robinson, J. M., 2008, Reactive oxygen species in phagocytic leukocytes, *Histochem Cell Biol*, 130, 2: 281–297.
- Rostas, M., Maag, M., Ikegami, D., and Inbar, M., 2013, Gall volatiles defend aphids against a browsing mammal, *BMC Evol Biol*, 13, 193, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2148-13-193>.
- Runyoro, D. K., Matee, M. I., Ngassapa, O. D., Joseph, C. C., and Mbwambo, Z. H., 2006, Screening of Tanzanian medicinal plants for anti-Candida activity, *BMC Complement Altern Med*, 6, 11.
- Saad, B., Sing, Y. Y., Nawi, M. A., Hashim, N. H., Ali, A. S. M., Saleh, M. I., Sulaiman, S. F., Talib, K. M., and Ahmad, K., 2007, Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC, *Food Chemistry*, 105: 389–394.
- Samra, S., Ghanim, M., Protasov, A., Branco, M., and Mendel, Z., 2015, Genetic diversity and host alternation of the egg parasitoid *Ooencyrtus pityocampae* between the pine processionary moth and the caper bug, *PLoS One*, 10, e0122788, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0122788>.

- Shahidi F., and Ambigaipalan P., 2015, Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects, *Journal of Functional Foods*, 18: 820–897.
- Shirole, R. L., Shirole, N. L., Kshatriya, A. A., Kulkarni, R., and Saraf, M. N., 2014, Investigation into the mechanism of action of essential oil of *Pistacia integerrima* for its antiasthmatic activity, *Journal Ethnopharmacol*, 153: 541–551, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.02.009>.
- Shirole, R. L., Shirole, N. L., and Saraf, M. N., 2015, In vitro relaxant and spasmolytic effects of essential oil of *Pistacia integerrima* Stewart ex Brandis Galls, *Journal Ethnopharmacol*, 168: 61–65, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep>, [2015.02.001].
- Slinkard, K., and Singleton, V.L., 1977, Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods, *American Journal of Enology and Viticulture*, 28: 49–55.
- Taghizadeha, S. F., Davarynejada, G., Asilib, J., Riahi-Zanjanic, B., Nematia, S. H., and Karimid, G., 2018, Chemical composition, antibacterial, antioxidant and cytotoxic evaluation of the essential oil from pistachio (*Pistacia khinjuk*) hull , *Microbial Pathogenesis*, 124: 76–81.
- Tanker, M., and Tanker, N., 1998, *Farmakognozi* (2nd ed.), Ankara: Ankara University, *Faculty of Pharmacy Publication*, No: 65, Ankara, Turkey.
- Topcu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarikuerkue, C., Ozturk, M., and Ulubelen, A., 2007, A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 103, 3: 816–22.
- Tscharntke, T., 1989, Changes in shoot growth of *Phragmites australis* caused by the gall maker *Giraudiella inclusa* (Diptera: Cecidomyiidae), *Oikos*, 54: 370–377.
- Tutin, T. G., Heywood, V. H., Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M., Webb, D. A., Ball, P. W., Chater, A. O., and Ferguson, I. K., 1968, *Flora Europaea* vol. 2. Great Britain: Cambridge at the university press; *National Plant Germplasm System*. [<http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?28653>].
- Uddin, G., Rauf, A., Al-Othman, A. M., Collina, S., Arfan, M., Ali, G., and Khan, I., 2012a, Pistagremic acid, a glucosidase inhibitor from *Pistacia integerrima*, *Fitoterapia*, 83, 1648–1652, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote>, [2012.09.017].
- Uddin, G., Rauf, A., Arfan, M., Waliullah, I., Khan, M., Ali, M., Taimur, I., and ur-Rehman, S., 2012b, Pistagremic acid a new leishmanicidal triterpene isolated from *Pistacia integerrima* stewart, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 27: 646–648. <http://dx.doi.org/10.3109/14756366.2011.604853>.
- Ullah, H., Rauf, A., Ullah, Z., Fazl-i-Sattar, M., Anwar, A.H.A., Shah, G., Uddin, K., and Ayub, H., 2014, Density functional theory and phytochemical study of Pistagremic acid, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 118: 210–214. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2013.08.099>.

- Ulukanlı, Z., Karabörklü, S., Öztürk, B., Çenet, M., and Balcılar, M., 2012, Chemical composition, antibacterial and insecticidal activities of the essential oil from the *pistacia terebinthus* l. spp. palaestina (boiss.) (anacardiaceae), *Journal of Food Processing and Preservation*, ISSN 1745-4549.
- Wool, D., and Burstein, M., 1991, A galling aphid with extra life-cycle complexity: population ecology and evolutionary considerations, *Research on Population Ecology*, 33: 307–322.
- Wool, D., and Bar-El, N., 1995, Population ecology of the galling aphid *Forda formicaria* von Heyden in Israel: abundance, demography and gall structure, *Israel Journal of Zoology*, 41: 175–192.
- Wool, D., 1997, The shapes of insect galls: insect control, plant constraints and phylogeny. In: Raman A. (Ed), Ecology and evolution of plant-feeding insects in natural and man-made environments, *International Scientific Publications*, New Delhi, India, pp 203–212.
- Wool, D., and Bogen R., 1999, Ecology of the gall-forming aphid, *Slavum wertheimae*, on *Pistacia atlantica*: population dynamics and differential herbivory, *Israel Journal of Zoology*, 45: 247–260.
- Wool, D., 2005, Gall-inducing aphids: biology, ecology and evolution, In: Raman R., Schaefer C. W., Withers T. M. (Eds), Biology, ecology, and evolution of gall-inducing arthropods, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp 73–132.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Mesude ALGAN  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Midyat 05.05.1989  
**Telefon** : 05414394772  
**Faks** :  
**e-mail** : mesudealgan900@gmail.com

### EĞİTİM

Derece	Adı, İl, İlçe	Bitirme Yılı
Lise	: Fatih lisesi, Batman, Merkez	2006
Üniversite	: Batman Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Batman	2014
Formasyon	: Siirt Üniversitesi, Siirt	2015

### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2014-2015	Gazi Anadolu Erkek İmam Hatip Lisesi	Biyoloji Öğretmeni
2015-2016	Özel Uygulama Merkezi	Özel Eğitim
2017-2018	Halk Eğitim Merkezi	Biyoloji Öğretmeni
2018-2019	Batman Final Temel Lisesi	Biyoloji Öğretmeni
2019-	Batman Final Gültepe Kurs Merkezi	Biyoloji Öğretmeni

### UZMANLIK ALANI

Antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite,mik

### YABANCI DİLLER

İngilizce (B2)  
Romence (A2)

### YAYINLAR

Nesrin Haşimi, **Mesude Algan**. The Radical Scavenging Activity of *Pistacia terebinthus* gall. Sympoium on EuroAsian Biodiversity, pp:123, Antalya/Turkey, 23-27 May 2016.

Nesrin Haşimi, **Mesude Algan**. The Antimicrobial Activity of *Pistacia terebinthus* Gall Induced by *Slavum aff. mordvilkoii* Aphid. 5th International Molecular Biology and Biotechnology Congress, pp:33, Skopje/Macedonia, 25-29 August 2016.

Nesrin Haşimi, Mehmet Boğa, **Mesude Algan**, Erdem Seven. The Enzyme Inhibitory Activity of *Pistacia terebinthus* Gall. International Eurasian Conference On Biological and Chemical Sciences . Ankara / Turkey, 26 - 27 April 2018.