

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POLYGALA MAJOR JACQ. BİTKİSİNİN ANTİOKSİDAN VE
ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Lana Arif Ali ALİ

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

SUBAT 2023

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POLYGALA MAJOR JACQ. BİTKİSİNİN ANTİOKSİDAN VE
ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Lana Arif Ali ALİ

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr.Öğr.Üyesi Semra YILMAZER KESKİN

ŞUBAT 2023

Lana Arif Ali ALİ tarafından hazırlanan “*Polygala major* Jacq. Bitkisinin Antioksidan ve Antibakteriyel Özelliklerinin Araştırılması” adlı tez çalışması 20.02.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Jüri Başkanı : **Doç.Dr. Ayşe AVCI**
Sakarya Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Dr. Öğr. Üyesi**
Semra YILMAZER KESKİN
(Danışman)
Sakarya Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Doç.Dr. Fatih SÖNMEZ**
Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “*Polygala major* Jacq. Bitkisinin Antioksidan ve Antibakteriyel Özelliklerinin Araştırılması” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(20/03/2023)

Lana Arif Ali ALİ







TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Dr.Öğr.Üyesi Semra YILMAZER KESKİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda yer alan analizler kısmında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç.Dr. Ayşe AVCI ve değerli arkadaşım Mohammed HAMK'a teşekkürlerimi sunarım.

FTIR ve LCMS çalışmalarında yardımını esirgemeyen çok değerli hocam Doç.Dr.Can Serkan KESKİN e teşekkür ederim.

Bu araştırma boyunca maddi ve manevi desteklerinden dolayı eşim Mohammed ALBAYATI, harikalar ötesi kızlarım Zahraa ALBAYATI ve Batool ALBAYATI'ya ve aileme teşekkür ederim.

Lana Arif Ali ALİ



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
TABLO LİSTESİ	xv
ŞEKİL LİSTESİ	xvii
ÖZET	xix
SUMMARY	xxi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1. Tezin Kapsamı	2
1.2. Tezin Amacı	3
1.3. Literatür Araştırması	3
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1. Antioksidanlar Hakkında Genel Bilgi	9
2.1.1. 1.1.-Difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) radikal giderim kapasite yöntemi ...	12
2.2. Fenolik Bileşikler Hakkında Genel Bilgi	13
2.2.1. Folin-Ciocalteu ayırıcı (FCR) ile toplam fenolik yöntemi	15
2.3. Flavonoidler Hakkında Genel Bilgi	16
2.4. Antibakteriyel Aktiviteler Hakkında Genel Bilgi	18
2.4.1. Disk difüzyon yöntemi	20
2.4.2. <i>P. major</i> Jacq Bitkisinin Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesinde	
Kullanılan Bakteriler	20
2.4.2.1. <i>Bacillus cereus</i>	20
2.4.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.4.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
2.4.2.4. <i>Escherichia coli</i>	22
2.5. Koca sütotu (<i>P. major</i> jacq) Bitkisinin Genel Özellikleri	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1. Kullanılan Araç-Gereç ve Kimyasal Maddeler	25
3.1.1. Bitkisel materyal	25
3.1.2. Kimyasallar	25
3.1.3. Kullanılan araç gereçler	25
3.2. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	26
3.3. Deneysel Çalışmalar	26
3.3.1. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin geleneksel yöntemle ekstraksiyonu	26
3.3.2. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin ultrasonikasyon ekstraksiyonu	27
3.3.3. Folin-Ciocalteu yöntemiyle toplam fenolik madde tayini	27
3.3.4. Alüminyum klorür yöntemi ile toplam flavonoid madde tayini	28
3.3.5. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayini	28

3.3.6. Ekstraksiyon verimi	29
3.3.7. <i>P. major</i> jacq. Bitkisinin ve Ekstrelerinin UV Spektrumları	29
3.3.8. <i>P. major</i> jacq. Bitkisinin ve Ekstrelerinin FTIR Spektroskopisi	29
3.3.9. <i>P. major</i> jacq. Ekstrelerinin LCMS Kromotogramları.....	29
3.3.10. Kuru Madde Tayini	30
3.3.11. Antibakteriyel Aktivite Tayini	30
4. DENEYSEL BULGULARI	31
4.1. Folin Ciocalteu Yöntemiyle Toplam Fenolik Madde Tayini Sonuçları.....	31
4.2. Alüminyum Klorür Yöntemi ile Toplam Flavonoid Madde Tayini Sonuçları	33
4.3. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Tayin Sonuçları.....	36
4.4. Ekstraksiyon Verimi Sonuçları.....	38
4.5. <i>P. major</i> jacq. Bitkisinin ve Ekstrelerinin UV Spektrum Sonuçları.....	38
4.6. <i>P. major</i> jacq. Bitkisinin ve Ekstrelerinin FTIR Sonuçları	41
4.7. Kuru Madde Tayini Sonuçları	44
4.8. Antibakteriyel Aktivite Tayini Sonuçları	44
4.9. <i>P. major</i> jacq. Ekstrelerinin LCMS Kromotogram Sonuçları.....	45
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR.....	51
KAYNAKLAR.....	55
EKLER.....	65
ÖZGEÇMİŞ	109

KISALTMALAR

AlCl₃	: Alüminyum klorür
BHT	: Bütillenmiş hidroksi toluen
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
dk	:Dakika
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrildrazil
FCR	: Folin-Ciocalteu Reaktifi
FTIR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GAE	: Gallik asite eşdeğer
IC₅₀	: % 50 inhibisyona ulaşmak için gerekli antioksidan derişimi
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LPS	: Lipopolisakkarit
MHA	: Muller Hinton Agar
Na₂CO₃	: Sodyum karbonat
NaNO₂	: Sodyum nitrit
QE	: Kuersetin
ROT	: Reaktif oksejen türleri
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SR	: Serbest radikal
TFM	: Toplam fenol miktarı
UDE	: Ultrasonik destekli ekstraksiyon



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Fenolik bileşiklerin karbon sayılarına göre sınıflandırılması.....	15
Tablo 4.1. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek - yaprak aseton, etanol ve metanol geleneksel ve ultrasonik ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları mg GAE/g kuru madde	33
Tablo 4.2. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek - yaprak aseton, etanol ve metanol geleneksel ve ultrasonik ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları mg QE/g kuru madde	35
Tablo 4.3. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek – yaprak aseton, etanol ve metanol geleneksel ve ultrasonikasyon ekstraktlarının DPPH giderim aktivite değerleri.....	37
Tablo 4.4. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek - yaprak aseton, etanol ve metanol geleneksel ve ultrasonikasyon ekstraksiyon verimi	38
Tablo 4.5. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek, yaprak ve tüm ekstraktlarının FTIR spektrumları.....	44
Tablo 4.6. <i>P. major</i> jacq. çiçek ve yapraklarının kuru madde miktarları.....	44
Tablo 4.7. <i>P. major</i> jacq. ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri (mm zon)	45
Tablo 4.8. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek ve yapraklarında bulunan muhtemel fitokimyasal bileşikler	48



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1.	DPPH molekülünün antioksidan madde ile reaksiyonu	13
Şekil 2.2.	Fenol molekülünün açık yapısı	14
Şekil 2.3.	Gallik asitin açık yapısı	16
Şekil 2.4.	Flavonoidlerin genel yapısı	17
Şekil 2.5.	<i>Polygala major</i> jacq. bitkisi	24
Şekil 3.1.	<i>Polygala major</i> jacq. bitkisinin hazırlanma aşamaları	25
Şekil 3.2.	<i>Polygala major</i> jacq bitkisinin geleneksel ekstraksiyon aşamaları	27
Şekil 3.3.	<i>Polygala major</i> jacq bitkisinin ultrasonikasyon ekstraksiyon aşamaları	27
Şekil 4.1.	Gallik asit standart grafiği	31
Şekil 4.2.	<i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek - yaprak aseton, etanol ve metanol ekstralelerinin toplam fenolik madde miktarları	32
Şekil 4.3.	<i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek - yaprak aseton, etanol ve metanol ultrasonik ekstralelerinin toplam fenolik madde miktarları	32
Şekil 4.4.	Kuersetin standart grafiği	33
Şekil 4.5.	<i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol ekstralelerinin toplam flavonoid madde miktarları	34
Şekil 4.6.	<i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek - yaprak aseton, etanol ve metanol ultrasonik ekstralelerinin toplam flavonoid madde miktarları	35
Şekil 4.7.	<i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol ekstralelerinin DPPH giderimi	36
Şekil 4.8.	<i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek - yaprak aseton, etanol ve metanol ultrasonik ekstralelerinin DPPH giderimi	37
Şekil 4.9.	<i>P. major</i> jacq. bitkisinin aseton ekstraktlarının absorpsiyon spektrumları	39
Şekil 4.10.	<i>P. major</i> jacq. bitkisinin etanol ekstraktlarının absorpsiyon spektrumları	39
Şekil 4.11.	<i>P. major</i> jacq. bitkisinin metanol ekstraktlarının absorpsiyon spektrumları	39
Şekil 4.12.	Aseton, etanol ve metanolde gallik asit standardının UV spektrumları ..	40
Şekil 4.13.	Aseton, etanol ve metanolde kuersetin standardının UV spektrumları ..	40
Şekil 4.14.	<i>P. major</i> jacq. yaprak (a) ve yaprak ekstraktlarının (aseton (b), etanol (c), ve metanol (d)) FTIR spektrumu	42
Şekil 4.15.	<i>P. major</i> jacq. çiçek (a) ve çiçek ekstraktlarının aseton (b), etanol (c), ve metanol (d) FTIR spektrumu	42
Şekil 4.16.	<i>P. major</i> jacq. yaprak ultrasonik ekstralelerinin aseton (a), etanol (b) ve metanol (c) FTIR spektrumu	43
Şekil 4.17.	<i>P. major</i> jacq. çiçek ultrasonik ekstralelerinin aseton (a), etanol (b) ve metanol (c) FTIR spektrumu	43

Sekil 4.19. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin, (a) <i>Bacillus cereus</i> , (b) <i>Staphylococcus aureus</i> , (c) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , (d) <i>Escherichia coli</i> O157:H7, (My1,2) metanol yaprak ektresinin bakteriler üzerinde etkisi.....	45
Şekil 4.20. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek etanol ekstrelerinin negatif iyon LCMS kromotogramı	47
Şekil 4.21. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin çiçek etanol ekstrelerinin pozitif iyon LCMS kromotogramı	47
Şekil 4.22. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin yaprak etanol ekstrelerinin negatif iyon LCMS kromotogramı	47
Şekil 4.23. <i>P. major</i> jacq. bitkisinin yaprak etanol ekstrelerinin pozitif iyon LCMS kromotogramı	48



POLYGALA MAJOR JACQ. BİTKİSİNİN ANTİOKSİDAN VE ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bitkiler sağlık açısından büyük önem taşımaktadır. Bitki ekstrelerinden elde edilen bileşenlerin kullanımı özellikle ilaç endüstrisinde önem kazanmaktadır. Bu çalışmada Türkiye’de yetişen ve tedavi amaçlı da kullanılabilen koca sütotu olarak bilinen *Polygala major* jacq. bitkisinin antioksidan ve antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. *Polygala major* jacq., bitkisi başlangıçta Avusturya’dan tanımlanmış ve İtalya’dan batı Rusya’ya kadar bir dağılım aralığına sahiptir. *Polygala* cinsine ait subtermofilik ve oligotrofik bir biki türüdür. Çayırarda ve çayırıklarda sıkça karşılaşılır. *Polygala* cinsinin diğer türleri gibi acı maddeler içermektedir. Dünyanın dört bir yanından 600’den fazla türden oluşur, bu türlerin 40’ı Çin’de mevcuttur. Türlerinin, enflamasyona, kardiyovasküler ve merkezi sinir sistemi bozukluklarına karşı çeşitli geleneksel kullanımları rapor edilmiştir.

Polygala major jacq. bitkisi 2022 Mayıs ayında Esentepe/Sakarya’dan toplanmıştır. Çiçek ve yaprak kısımları oda sıcaklığında kurutulup, blender ile öğütüldükten sonra üç çözücü (aseton, etanol ve metanol) ile ekstrakte edilerek toplam fenolik ve flavonoid madde içeriği, antioksidan ve antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır.

Her ekstrenin Folin Ciocalteu reaktifi (FCR) ile total fenolik madde içeriği, alüminyum klorür ($AlCl_3$) metodu ile total flavonoid madde içeriği ve 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) kullanarak serbest radikal giderimi tayini UV–vis spektroskopisi ile yapılmıştır. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi gibi hızlı ve hassas bir yöntem kullanılarak bitkinin çiçek ve yaprak kısımlarında bulunan fonksiyonel gruplar incelenmiştir. Toplam fenolik madde tayininde en yüksek değer $48,51 \pm 1,35$ mg GAE/g kuru madde yaprak etanol ultrasonik ekstraktında gösterirken, en düşük değer $29,04 \pm 2,93$ mg GAE/g kuru madde çiçek aseton ultrasonik ekstraktında belirlenmiştir, toplam flavonoid tayininde değerler $4,17 \pm 39$ - $16,56 \pm 0,72$ mg QE/g kuru madde arasında değerlendirilmiştir. DPPH giderim aktivitesi ise en yüksek değer $\%50,40 \pm 0,25$ yaprak metanol ultrasonik ekstraktında ve en düşük değer $\%39,90 \pm 1,25$ yaprak aseton ultrasonik ekstraktında belirlenmiştir.

Koca sütotu (*Polygala major* jacq.) bitkisinin antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Antibakteriyel aktivite ise *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri gibi enfeksiyona neden olabilen farklı bakterilere karşı belirlenmiştir. *Polygala major* jacq. bitkisinin yaprak metanol ekstraktı *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı $10,5 \pm 0,6$ mm çapında zon oluşturduğu gözlenmiştir. Diğer bakteri türlerine daha düşük etkisi olduğu belirlenirken *Escherichia coli* O157:H7 türüne etki etmediği gözlenmiştir.



INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF *POLYGALA MAJOR* JACQ.

SUMMARY

Plants have been of great importance in terms of human health from ancient times to the present day. Before the introduction of chemical medicines, man relied on the healing properties of medicinal plants. Some people value these plants due to the ancient belief which says plants are created to supply man with food, medical treatment, and other effects. The use of components obtained from plant extracts is increasing rapidly, especially in the pharmaceutical industry. Metabolites formed during the secondary metabolism of plants are used in the treatment of many diseases, but very few of them are used as antimicrobials. Since plants are complex structures containing different components, the biological effect of each is different. Accordingly, the degree of showing antimicrobial and antioxidant properties differs for each plant.

Many medicinal plants have great antioxidant potential. Antioxidants reduce the oxidative stress in cells and are therefore useful in the treatment of many human diseases, including cancer, cardiovascular diseases and inflammatory diseases. The antioxidants are extracted from the stems, roots, flowers, leaves, fruits and seeds of several important medicinal plants. In recent years, the emergence of antibiotic resistant bacteria and unwanted side effects in the synthetic drugs, which are used for the treatment of different inflammation diseases, has pioneered to produce antibiotics and drugs with the natural origin.

Since these functions of plant are of great importance, a study on this subject has been preferred. In this study, the antioxidant and antibacterial activity of milkweed (*polygala major* jacq.) plant, was investigated. This plant is grown in Turkey and can also be used for therapeutic purposes. It is subthermophilic and oligotrophic species belonging to the genus *polygala*. It is common in meadows. Like other species of the genus *polygala*, they are considered poisonous plants in grasslands. *Polygala major* jacq. was identified from Austria and has a distribution range from Italy to western Russia.

Extraction is a critical method for isolating the effective component in plants. There are several parameters concerned in the extraction of antioxidative components from plant tissues. This includes the types of solvent, the ratio of solvent-to-sample, the extraction temperature and the extraction time. Ultrasonic probe extraction possesses greater solvent penetration into plant tissues due to the formation of cavitation bubble collapse, thus improving its solvent extraction ability.

Polygala major jacq. plant was collected from Esentepe/ Sakarya in May 2022. The flower and leaf parts were dried at room temperature, powdered with a blender, and extracted by using ultrasonic probe and normal extract method. Extract solutions are ethanol, methanol and acetone, antioxidant and antibacterial activity of *P. major* jacq. were determined by different methods.

In order to determine the antioxidant capacity of the plant, the total phenolic content of each extract was determined with Folin Ciocalteu reagent, this method is developed by Singleton. It is used to measure the total phenolic compounds. The principle of FCR method is based on the transfer of electrons from phenolic compounds and other reducing compounds to molybdenum. The formation of blue complexes is evaluated spectrophotometrically at 750-765 nm. In this method we used gallic acid as standard curve. Phenolic compounds, with distinct and powerful antioxidant capabilities, can act as effective radical scavengers and diminish their devastating effects on body. Phenolic compounds are the major antioxidant contents of plant-based food products and have attracted increasing attention in scientific research, owing to their positive and restraining effects on the serious disorders caused by oxidative stress such as, inflammation, allergies and cancer.

The total amount of flavonoid substances was determined by the aluminum chloride method. In this method we used quercetin as standard curve. Flavonoids, as phenolic compounds, are also attracting great consideration due to their positive biological activities, comprising antioxidant, antiviral, antibacterial, anti-diabetic and anti-cancer activities. The total flavonoids content, as a significant index is usually used to check the quality and therapeutic value of traditional medicines.

The DPPH free radical scavenging activity were determined by UV-vis spectroscopy. The 2,2-Diphenyl-1- picrylhydrazyl, DPPH method is rapid, simple and inexpensive assay for measuring the ability of different compounds to act as free radical scavengers and to evaluate the antioxidant activity of foods and plants.

Using a fast and sensitive method such as Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy, the functional groups in the flower and leaf parts of the plant were investigated. The presence of polyphenols and flavonoids were also confirmed by FTIR

The highest value in the determination of total phenolic substance 48.51 ± 1.35 mg GAE/g dry matter in leaf ethanol ultrasonic extract, lowest value 29.04 ± 2.93 mg GAE/g dry matter flower acetone ultrasonic extract, values in total flavonoid were ranged between 4.17 ± 0.39 - 16.56 ± 0.72 mg QE/g dry matter. DPPH removal activity was the highest value $50.40 \pm 0.25\%$ in leaf methanol ultrasonic extract and the lowest value $39.90 \pm 1.25\%$ was determined in the ultrasonic extract of leaf acetone.

The disk diffusion method is classified as an agar diffusion method because the plant extract to be tested diffuses from its reservoir through the agar medium seeded with the test microorganism. Generally, the reservoir is a filter paper disk, which is placed on top of an agar surface. If tested plant extracts are microbiologically active, an inhibition zone develops around the filter paper disk after incubation. The diameter of the inhibition zone properly describes the antimicrobial potency of plant extracts. Disk diffusion method was used to determine the antibacterial activity of the milkweed (*polygala major* jacq) plant extracts.

The extracts were evaporated by using vakum evaporatore and then the antibacterial properties were determined against different microorganisms that can cause infection. Disk diffusion by the Kirby-Bauer method is a standardized technique for testing rapidly growing pathogens. Briefly, a standardized inoculum is swabbed onto the surface of MH agar. Because reproducibility depends on the log growth phase of organisms, fresh subcultures are used. Filter paper disks impregnated with a standardized concentration of a plant extract are placed on the surface, and the size of the zone of inhibition around the disk is measured after overnight incubation.

The microorganisms are used *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* O157,H7, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* bacteria. *Polygala major* jacq. it was observed that the leaf methanol extract of the plant formed a zone about 10.50 ± 0.6 mm in diameter against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria, it was determined that it has a lower effect on other bacterial species, but it did not affect *Escherichia coli* O157,H7 species. In the antibacterial tests of *P. major* jacq. plant with various bacteria, it is understood that the antibacterial active substance in the leaf part of the plant is best dissolved in methanol, one of the solvents we used. Today, in the face of increasing resistance to antimicrobial agents, *P.major* jacq. the active biological components in the plant can be evaluated as an important alternative source.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahip bitkiler uzun yıllardan beri gıda endüstrisinde ve sağlık üzerinde olan olumlu etkileri nedeniyle sağlık sektöründe kullanılmaktadır. Bazı bitkiler güçlü antioksidan özellikleriyle, kanser hastalığını önleme, kardiyovasküler hastalıklardan korunma, anti-aging ve antioksidan etkileri, stres azaltılması, gastrointestinal bozuklukların düzenlenmesi gibi yararlı özelliklere sahiptirler ve bundan dolayı alternatif gıda katkıları olarak kullanılmaktadırlar (Marcheafave ve ark, 2019).

Serbest radikaller yapısında konjuge olmayan elektronlar bulundurduklarından kararlı bir bileşik oluşturmak için diğer moleküller, atomlar ve hatta tek tek elektronlarla eşleşmeye çalıştıklarından dolayı çok reaktiflerdir. Bu yüzden reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikallerin birçok organizmada moleküler dönüşümlere ve gen mutasyonlarına neden olması oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır ve birçok hastalığa sebep olduğu bilinmektedir. Antioksidan maddeler serbest radikallere karşı endojen bir hücrel antioksidan savunma işlevi gösterebilirler (Zoral ve Turgay, 2014). Ratnam ve ark. (2006) antioksidanların, vücudun bağışıklık sistemine zarar veren hastalıklar, nörolojik, yaşlanma ve diğer hastalıklar üzerinde tedavi edici ve önleyici etkileri olduğunu göstermiştir.

İnsan vücudunda bulunan ve gıdalarla alınan antioksidanların, hastalığa neden olduğu düşünülen serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif hasarla mücadelede önemli etkisinin olduğunu bilinmektedir. Ancak antioksidanların koruyucu etkilerinin insan vücudunda üretilenler için sınırlı olduğu bilindiğinden reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimi biyolojik sistemin antioksidan kapasitesini aştığında oksidatif stres oluşmaktadır. Bu nedenle, antioksidanların diyetle alınması kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların önlenmesinde ve yaşlanmanın geciktirilmesinde önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir (Thomas ve ark, 2010).

Yapay antioksidanların kanserojenik etkilerinin ortaya çıkması nedeniyle gıda, kozmetik ve farmasötik ürünlerde doğal antioksidanların kullanımı giderek yaygınlaşmıştır. Bitkiler, ikincil metabolitleri, uçucu yağları ve polifenollerini içermesi nedeniyle antioksidanların ana kaynağıdır (Skendi ve ark, 2017).

Yapay antimikrobiyallerin kullanımı; antimikrobiyal direnç, çevresel problemler, yan etkiler ve yüksek maliyet gibi olumsuz sonuçlara neden olduğundan, doğal antimikrobiyel ajanların kullanımı önem kazanmakta ve bu konudaki çalışmalar hızlanmaktadır. Çeşitli patojenik mikroorganizmaların gelişiminin inhibisyonunu değerlendirebilmek amacıyla kapsamlı çalışmalar yapıldığı bilinmektedir (Aleksic ve Knezevic, 2014).

1.1. Tezin Kapsamı

Bu çalışmada *Polygala major* jacq. bitkisinin antioksidan ve antibakteriyel aktivitesini araştırmak için Esentepe/Sakarya'dan 2022 yılının Mayıs ayında toplanmıştır. Çiçek ve yaprak kısımları oda sıcaklığında kurutulup, blender ile öğütüldükten sonra etanol, metanol ve aseton çözücülerini ile farklı yöntemler kullanarak ekstrakte edilmiştir. Antioksidan ve antibakteriyel aktivitesini belirlemek için kullanılmıştır.

P.major jacq. bitkisinin Folin Ciocalteu reaktifi ile toplam fenolik madde içeriği, alüminyum klorür yöntemi ile toplam flavonoid madde miktarı ve DPPH serbest radikal süpürücü ile antioksidan aktivite tayini yapılmıştır. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi gibi hızlı ve hassas bir yöntem kullanılarak bitkinin çiçek ve yaprak kısımlarında bulunan fonksiyonel gruplar incelenmiştir.

P. major jacq. bitkisinin antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Antibakteriyel özellikleri ise *B. cereus*, *E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterileri gibi enfeksiyona neden olabilen farklı bakterilere karşı belirlenmiştir. Sonuçlara göre *P. major* jacq. bitkisinin yaprak metanol ekstraktı *P.aeruginosa* bakterisine karşı 10,5±0,6 mm çapında zon oluşturduğu gözlenmiştir. Diğer bakteri türlerine daha düşük etkisi olurken *E. coli* O157:H7 türüne etki etmediği gözlenmiştir.

1.2. Tezin Amacı

Çalışmamızın amacı literatürde daha önce araştırılmamış *P. major* jacq. bitkisinin yaprak ve çiçek kısımları kurutularak hazırlanan çeşitli çözücülerdeki ekstrelerde antioksidan ve antibakteriyel aktiviteyi incelemek, bulunan fenolik madde bileşenlerin ve flavonoidlerin miktarını belirlemek, bu bileşenlerin varlığını Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ve UV spektrumu ile desteklemektir.

Literatürde yer alan metotları kullanılarak bu bitki kısımlarının antibakteriyel, antioksidan, fenolik ve flavonoid içeriklerini incelemek, kullanılan metotların hakkında bulgular elde etmek ve bu metotların sonuçlarını rakamsal bir şekilde ifade etmek amaçlanmıştır.

1.3. Literatür Araştırması

Tıp sektöründeki uygulamalarda, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ilaçlarına karşı sürekli gelişen direnç çok yaygınlaşmıştır. Enfeksiyon hastalıklarının iyileştirmesinde bu ilaçlara karşı artan direnç gittikçe insan sağlığını daha fazla tehdit etmektedir. Mikroorganizmaların bu antibakteriyel ilaçlara karşı dirençleri ile mücadelelerden bir tanesi de yeni antimikrobiyellerin keşfedilmesidir. Bu nedenle çok sayıda bitkilerin farmakolojik özellikleri araştırma konusu olmuştur. Doğadaki bir çok bitkinin eskiden olduğu gibi günümüzde de hastalıklarla mücadelede alternatif bir kaynak olduğu bilinmektedir. Bitkilerin antimikrobiyal potansiyelleri, mikroorganizmaların sıklıkla kullanılan antibiyotiklere karşı yarattıkları direnç sayesinde çok sayıda çalışmalara konu olmuştur (Tanış ve ark, 2010).

Bozin ve ark. (2008) olgunlaşmış ve tam olarak olgunlaşmamış sarımsak bitkisini (*Allium sativum* L.) yaprakları ile beraber %80 metanol ile ekstrakte etmişlerdir. Toplam fenolik madde miktarlarında olgunlaşmış bitkinin 0,05 mg GAE/g ekstrakt olarak, olgunlaşmamış bitkinin ise 0,98 mg GAE/g ekstrakt olarak tespit edilmiştir. Bitkiler olgunlaştıkça toplam fenolik madde miktarının düşmesi bitkinin uçucu yağlarında bulunan kükürt bileşikleri ve terpenoid maddelerinin artmasından kaynaklanmaktadır.

Zeytin (*Olea europaea* L) yapraklarının toplam fenolik madde miktarı ve DPPH radikal giderim aktivitesinin belirlenmeye çalışıldığı bir araştırmada, farklı konsantrasyonlarda etanol (% 0, %25, %50) kullanılarak ekstraksiyon işlemleri 3 ve 9 dk süre boyunca gerçekleştirilmiştir. Üç dk gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde %0, %25, %50 etanol konsantrasyonlarında toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 5,32±0,02, 13,35±0,08, 14,06±0,09 mg GAE/g ekstrakt olarak tespit edilirken, 9 dk süre ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde ise 15.85±0,11, 16.04±0,10, 20,61±0,14 mg GAE/g ekstrakt olarak tespit edilmiştir. DPPH radikal giderim aktivitesi sonuçları ise, 3 dk sürede ekstrakte edilen zeytin yapraklarının %0, %25, %50 konsantrasyonlarında DPPH antioksidan kapasiteleri sırasıyla 27,06±0,01, 24,78±0,05, 32,71±0,06 µmol trolox/g örnek olarak tespit edilirken, 9 dk boyunca ekstrakte edilen zeytin yapraklarının DPPH antioksidan kapasitesi 31,10±0,08, 30,46±0,07, 33,31±0,08 µmol trolox/g örnek olarak rapor edilmiştir (Zuntar ve ark, 2019).

Rakhimzhanova ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada, *Stellaria media* L. bitkisi etanol ve su ile ekstrakte edilerek toplam fenolik madde miktarı 21,43±0,12 mgGAE/g, flavonoid 22,30±1,45 mgQE/g ve antioksidan IC50:49,72±0,57 mg/mL aktivitelerini belirlemişlerdir.

Arıdurdu ve Arabacı (2013) *Salvia officinalis* bitkisini dört farklı çözücü ile ekstrakte ederek yaptıkları çalışmada toplam fenolik madde miktarı etanol ekstraktında 43,55, metanol ekstraktında 23,62, etil asetat ekstraktında 18,29 ve aseton ekstraktında 11,58 mg GAE/g ekstre olarak bildirmişlerdir. DPPH serbest radikal giderim sonuçları ise sırasıyla metanol (% 90,89), etil asetat (% 90,48), etanol (% 86,31) ve aseton ekstresi (% 84,78) olarak tespit edilmiştir.

Tabaraki ve ark. (2012) nar (*Punica granatum* L.) kabuğundan toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerleri incelerken ekstraksiyon için ultrason destekli ekstraksiyon yöntemini kullanmışlardır. Çözücü olarak, etanol, su, metanol, aseton ve etil asetat kullanılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı, 5506,42-8923,24 mg gallik asit/100 gram kuru madde, DPPH değeri ise %60,12- %83,52 inhibisyon değerleri arasında olduğu kaydedilmiştir.

Chew ve ark. (2021) *Hibiscus cannabiruous* L. yapraklarının flavonoid ve DPPH radikali giderim aktivitesini araştırırken çözücü olarak etanol ile ultrasonik ekstraksiyon kullandıklarında toplam flavonoid madde miktarı 3,84-48,20 mgCHE/g kuru madde arasında iken DPPH gideriminde de 15,86-33,99 mg TEAC/g kuru madde arasında değiştiğini rapor etmişlerdir.

Polygala hongkongensis bitkisi, çoğunlukla Guangdong, Jiangxi, Fujian ve Sichuan eyaletleri gibi güney Çin’de yayılış göstermekte olup şifalı otları, halk hekimliğinde öksürüğü durdurmak için, kan akışını teşvik etme ve balgam çıkarmanın bir çaresi olarak kullanılmaktadır. HPLC, silika jel ve sephadeks gibi kromatografları kullanarak bitkiden bileşikler izole edilip bileşiklerin yapıları UV, FTIR spektral analizlerle belirlenmiştir. Bu bitkiden polihongkonggalin, 3,6’-di-O-sinapoil-sukroz, tenuifolisid A , glomeratoz D ve cis-syringinnin elde edildiği rapor edilmiştir (Wu ve ark, 2007).

Polygala tenuifolia bitkisinin kökleri demansı önlemek için Çin’de yaygın olarak kullanılmaktadır. Çin’deki farklı ekim bölgelerinden ve hasat mevsimlerinden alınan otuziki numunedeki fenol miktarları belirlenerek ilkbaharda toplanan örneklerin diğer mevsimlerde toplananlara göre daha yüksek fenol içeriğine sahip oldukları rapor edilmiştir (Li ve ark, 2007).

Cai ve ark. (2004) 112 tür bitkinin antioksidan aktivite ve fenolik bileşenlerini karakterize etmişlerdir. Bu bitkilerden biri *P. tenuifoli* metanol ve su kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı 0,82-0,99 g GAE/100g kuru madde, antioksidan aktivite ise 85,1-133,8 µmol trolox/100 g kuru madde olarak tespit edilmiştir.

Polygala arillata bitkisinin kökü, doğu tıbbında tonik olarak ve bazı hastalıkların tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir, Nguyen ve ark. (2020) *P. arillata* köklerinin fitokimyasal profiline ilişkin yaptıkları araştırmada, spektroskopik yöntemler kullanarak, bir oligosakkarit esterinin (1, poligalosid), bir glikoz esterinin (7, arillatosid) ve beş sakkaroz esterinin (2-6) izolasyonu yapılmıştır. Bu benzersiz bileşikler dahil olmak üzere *P. arillata*’da çeşitli oligosakkarit esterlerinin bulunması bitkinin tıbbi kullanımlarında potansiyel olduğunu düşündürmektedir.

Deng ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada, *Polygala tenuifolia* bitkisinin ve bitkiye ait aktif bileşenlerin, antiinflamasyon, antioksidan, antinöronal apoptoz, merkezi kolinerjik sistemi güçlendirme ve nöronal proliferasyonu teşvik ederek Alzheimer hastalığına etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Tanış ve ark. (2010) *Polygonaceae* familyası üyesi çok yıllık otsu bir bitki olan *Rheum ribes* L. bitkisinin üç farklı çözücü ile hazırlanan ekstrelerinin bazı Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere (*Micrococcus luteus* NRLL B-4375, *S.aureus* ATCC 25923, *P. auruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Bacillus megaterium* DSM 32) karşı antibakteriyal aktivitelerini araştırmışlardır. Disk difüzyon yöntemine göre yapılan çalışmada denenen bütün bakterilere karşı farklı seviyelerde inhibisyon etki gösterirken etanol ekstraktlarının hekzan ve kloroforma göre daha fazla etkili olduğu rapor edilmiştir.

Tanış ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada, dört tür *Nigella* cinsi (çörek otu) bitkinin çiçek, gövde, yaprak ve tohumlarının kloroform, aseton ve metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini disk difüzyon yöntemiyle 16 tür mikroorganizma kullanarak araştırmıştır. *Nigella sativa* tohumlarının asetonik ekstraksiyonunda Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde önemli bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir.

Eghdami ve Sadeghi (2010) yaptıkları bir çalışmada, *Achillea millefolium* L. bitkisini, metanol ve su ile ekstrakte ederek total fenolik ve flavonoid içeriğini sırasıyla FCR ve $AlCl_3$ yöntemini kullanılarak belirlemişlerdir. Ayrıca, antioksidan kapasite, DPPH serbest radikal yakalama metodu ile test edilmiştir. Antioksidan, flavonoid ve toplam fenolik içerik seviyelerinin pozitif ve önemli ölçüde ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Dinçoğlu (2019) mercan köşk olarak bilinen *Origanum onites* L. bitkisinin antibakteriyel aktivitesini belirlemek için beş farklı çözücüde ekstrakte etmiş ve beş farklı bakteriye (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis* ve *Brucella spp.*) karşı disk diffüzyon yöntemiyle incelenmiştir. Bu ekstreler dört bakteriye (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni* ve *Salmonella enteritidis*) karşı değişik seviyelerde antibakteriyel aktivite gösterirken *Brucella spp.*'ye karşı bir etkisinin olmadığı rapor

edilmiştir. *O. onites* L. bitkisinin antibakteriyel aktivitesi olduğu ve gıda sektöründe kullanılabileceği rapor edilmiştir.





2. GENEL BİLGİLER

2.1. Antioksidanlar Hakkında Genel Bilgi

Oksidasyon işlemini önleyen, serbest radikalleri tutma ve dengeleme gücüne sahip maddeler antioksidanlar olarak adlandırılırlar. Antioksidanlar bastırıcı, toplayıcı, zincir kırıcı ve onarıcı olmak üzere dört etkiye sahiptirler. Serbest oksijen radikali ile etkileşerek bir hidrojen vermek suretiyle aktivitesini azaltmak ya da inaktif hale dönüşmesini sağlamak antioksidanların bastırıcı etkileri olarak bilinmektedir. Vitaminler ve flavonoidler antioksidanların bastırıcı etkilerine örnek verilebilir. Antioksidan enzimler gibi serbest oksijen radikaline etki ederek onu yakalamaya veya zayıf moleküle dönüşmesini sağlayan etkiye antioksidanların toplayıcı etkilerine örnek verilebilir. Zincir kırıcı etkileri ise; serbest oksijen radikalini bağlayarak zincirini kırıp aktivitelerini önlemektir. Zincir kırıcı etkiye sahip antioksidanlara mineraller ve hemoglobin örnek olarak verilebilmektedir. Proteaz ve transferazlar serbest radikallerin oluşturduğu hasarın onarmasında etkili olan antioksidanlardır ve bu tür antioksidanlara onarıcı antioksidanlar denilmektedir (Keser, 2018).

Antioksidanlar, protein ve DNA ya zarar vererek genomik hastalıklara ve kansere yol açan serbest radikalleri temizleme kapasitesine sahiptir (Karima ve ark, 2015). Antioksidanlar, radikal oluşumunu önlemek, radikal reaksiyonları sona erdirmek, oluşan radikalleri etkisiz hale getirmek ve hasar gören molekülleri ortadan kaldırmakla sorumludurlar. Reaktif oksijen moleküllerin üretimini ve çeşitli antioksidan savunmaları arasındaki uyumsuzluk, antioksidanların yetmezliğinden ve/veya reaktif oksijen moleküllerinin çoğalmasından ortaya çıkan oksidatif stresle sonuçlanmaktadır (Arıdur ve Arabacı, 2013).

Farklı metabolik reaksiyonlar esnasında insan vücudunda oluşan Reaktif Oksijen Türleri (ROT), oksijenin tamamen indirgenmediğinde üretilen radikal ve radikal olmayan oksijen türlerini içermektedir. Düşük ROT seviyeleri hücrelerin savunmasında, hücreler arası sinyal iletiminde gereklidir, aynı zamanda yüksek ROT seviyeleri veya antioksidan sisteminin yetmezliği oksidatif strese ve birçok

hastalıklara (kanser, kardiovasküler v.b.) neden olmaktadır. ROT, insan vücudunda değişik biyokimyasal reaksiyonların sonucunda oluştuğu gibi bitkilerde de lipid peroksidasyonu sonucunda oluşmaktadır. (Rakhimzhanova ve ark, 2018).

Serbest radikaller dış orbitallerinde eşleşmemiş elektron bulunduran moleküllerdir. Bu kararsız moleküller etrafındaki moleküller ile reaksiyona girerek kararlı hale gelmek isterler. ROT'ların düşük düzeyleri, patojen mikroorganizmalara karşı savunma mekanizması ve hücrelerarası haberleşme gibi biyolojik etkiler gösterirken, yüksek derişimleri DNA, lipid ve proteinlerde zedelenme hatta hücre ölümüne neden olur (Canbay ve ark, 2003).

Gıda endüstrisinde üretilen yiyecek ve içeceklerde bozunmayı önlemek ve raf ömrünü uzatmak için sentetik antioksidanlar olan BHA (bütillenmiş hidroksi anisol) ve BHT (bütillenmiş hidroksi toluen) sıklıkla kullanılmaktadır. Fakat sentetik olan bu bileşiklerin sağlık sorunlarına neden olduğu birçok çalışma tarafından bildirilmektedir (Dawn ve ark, 1996).

Aşırı reaktif oksijen türlerinin, temel makro molekülleri yok ederek kardiyovasküler hastalıklara veya kansere yol açtıkları bilindiğinden oksidatif stresi veya hasarı önlemek için doğal antioksidanların kullanılması giderek daha fazla önem arz etmektedir. Bu antioksidanlar çeşitli biyolojik aktivitelere ve sağlık yararlarına sahip olan polifenoller gibi gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Liu. ve ark, 2022). Yapılan araştırmalarda doğal antioksidanlara olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Enzimler, hayvan kaynaklı ürünler ve bitkiler doğal antioksidan kaynaklarıdır (Bulca, 2014). Bitkiler, reaktif oksijen türlerine karşı çeşitli antioksidatif bileşikler içerdiğinden, doğal antioksidanların önemli bir kaynağıdır.

Diyetsel antioksidanlar, vücuttaki reaksiyonlarda ara ürün olarak üretilen veya dışarıdan alınan serbest radikallerin eşleşmemiş elektronu yanına kendilerinden bir elektron bağışlayarak onları kararlı hale getiren bileşenlerdir. Vücuttaki antioksidan enzimler sinerjik bir etkiyle çalışarak serbest radikalleri yakalamaktadır. Tokoferoller, karotonoidler, polifenoller, C vitamini ve selenyum çok önemli diyetel antioksidanlardır. Bunların eksikliği DNA'nın oksidasyonuna neden olarak hücre zedelenmesini artmaktadır (Erbaş, 2006).

Aerobik organizmalarda, aerobik solunum ve substrat oksidasyonu neticesinde oluşan reaktif oksijen türleri, antioksidan enzim sistemleri tarafından detoksifiye edilir (Büyükuslu ve Yiğitbaşı, 2015).

Serbest radikaller oldukça reaktif bileşiklerdir, lipitler, proteinler ve DNAlar gibi biyolojik molleküllerde oksidatif hasara neden olabilirler. Antioksidanlar oksijen içeren bileşiklerin yanı sıra serbest radikaller tarafından üretilen oksidasyon işlemlerini geciktiren ve inhibe edebilen maddelerdir. Bu nedenle, kalp hastalığı, kanser ve felç gibi çeşitli kronik hastalıkların yanı sıra gıda bozulmalarını önlerler. Doğal antioksidanlardan zengin olan içecek ve yiyecekleri tüketmek bu hastalıkların önleminde yardımcı olur (Puangbanlanga ve ark, 2019).

Birçok ilaç hammaddesi olarak bitkilerin üretmiş olduğu flavonoit, terpenoit ve emetinler, bunlar bitkilerin uçucu yağlarında bulunan bileşiklerdir. Aromatik bitkiler ve yağları ilaç, diyet ve kozmetik gibi birçok endüstride antimikrobiyel koruyucu madde olarak kullanılmaktadır. Serbest radikallerin etkilerini yok eden antioksidanlar birçok araştırma tarafından bildirilmektedir. Sentetik antioksidanların vücudumuzu olumsuz yönde etkilediği günümüzde daha iyi anlaşılması için doğal antioksidanların saflaştırması ile ilgili yoğun çalışmalar yapılmaktadır (Karasu ve Öztürk, 2014).

Antioksidanlar iki geniş kategoriye ayrılır: enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar. Bu antioksidanlardan bazıları, düşük moleküler ağırlıklı enzimler ve enzim kofaktörleri gibi enzimler içerir. Yaygın enzimatik olmayan antioksidanlar birçok gıda kaynağından elde edilir. Diğer diyet antioksidanları vitaminler ve mineraller olarak bilinmektedir (Ratnam ve ark, 2006).

Antioksidanların aktivite tayini için gaz kromatografisi, sıvı kromatografisi ve kolorimetri gibi alete dayalı yöntemler kullanılmaktadır. Sıvı kromatografisi ve gaz kromatografisi, karmaşık numunelerdeki antioksidanların ayrılmasında ve tanımlanmasında etkili teknikler olmasına rağmen zaman alıcı ve pahalıdır. Kolorimetri ise daha düşük analiz maliyeti sağladığı, daha kolay gerçekleştirildiği ve daha hızlı analiz süresi sağladığı için antioksidan aktivite analizi için daha yaygın bir tekniktir (Puangbanlang ve ark, 2019). Antioksidan aktivite belirlenmesinde 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal yakalama, linoleik tiyosiyanat sistemi, tiobarbitürik asit ve β -karoten-linoleat ile olmak üzere dört farklı yöntem ile

belirlenebilmektedir. *P.major* jacq. bitkisinde antioksidan aktiviteyi belirlemek için DPPH radikal yakalama yöntemi kullanılmıştır.

2.1.1. 1.1.-Difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) radikal giderim kapasite yöntemi

İlk olarak 1958’de Blois antioksidanların radikal süpürme potansiyelini veya hidrojen bağışlarını pratik veya analitik olarak ölçmek için uygun bir reaktif olarak DPPH’nın kullanımını tanıtmıştır. DPPH gıdalardaki kimyasalların antioksidan aktivitelerini belirlemek için sıkça kullanılmaktadır (Chen ve ark, 2020).

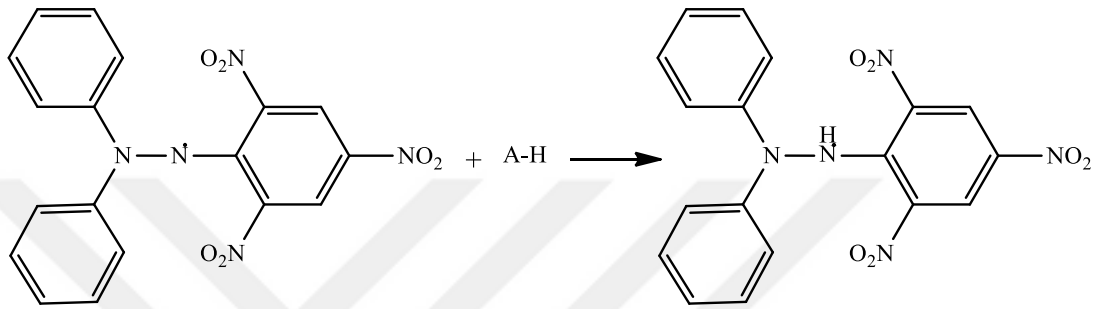
DPPH radikal süpürme metodu, antioksidan kapasiteyi belirlemek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. DPPH radikalini tüketme kabiliyetini değerlendirme yöntemi, reaksiyonlardan sonra DPPH radikalinin absorbansındaki azalmanın spektrofotometrik ölçümüdür. (Oliveira ve ark., 2016). DPPH ticari olarak temin edilebilen stabil bir organik nitrojen radikalidir (Huang ve ark., 2005). DPPH, güvenli, ucuz ve vücuttaki serbest radikal stabilizasyon mekanizmasına göre çalışan serbest radikal reaktifidir (Ihsanpuro ve ark, 2022).

DPPH serbest radikal süpürme yeteneği analiz yöntemi, doğal ekstraktların antioksidan kapasitesini ölçmek için yaygın bir yöntemdir. DPPH radikali, metanol çözeltisinde oksitlenmiş formu maksimum 517 nm civarında absorbansa sahip bir kimyasaldır. Bu yöntem, çoklu numune çözünürlüğüne sahip birçok numunenin geri kazanım aktivitesini izlemek için basit, hızlı ve ucuz bir yöntem olarak tanımlanmaktadır. Ancak ışığa, oksijene ve kirliliğe duyarlılık bu yöntemi kullanırken bazı sınırlamalara neden olmaktadır (Mot ve ark, 2011).

DPPH metodu ile antioksidan kapasite, oda sıcaklığında metil alkol gibi organik çözügenlerdeki sentetik radikalleri yakalanması ile değerlendirilmektedir. DPPH radikalinin sahip olduğu tek elektron sebebi ile spektrofotometrede 517 nm’de belirgin absorbsiyon bandı vermektedir. Bu tek elektron, serbest radikallerin yakalayıcısının bulunmasıyla reaksiyona girerek çiftleşen elektron sayısı ile ilgili oluşan spektrofotometrik renksizleşme sonucunda absorbsiyon azalır. Radikallerin tek elektronunun çiftleşmesiyle meydana gelen bu DPPH absorbsiyonundaki renksizlik, bileşiklerin herhangi bir enzimatik potansiyele bağlı olmaksızın serbest radikalleri yakalama aktivitesini göstermektedir (Çalikoğlu ve Bayrak, 2005).

IC₅₀, serbest radikalleri %50 oranında engelleyebilen antioksidan aktiviteye sahip ekstraktların konsantrasyonudur. Örneklerin IC₅₀ seviyeleri ne kadar düşük olursa, antioksidan kapasite etkisi o kadar yüksek olmaktadır (Pourmorad, 2006).

Temel olarak bu yöntemde, antioksidanların radikal DPPH'ye proton transfer reaksiyonu, 517 nm'de absorbansta bir azalmaya yol açar (Şekil 2.1). Prosedür, absorbanın stabil hale gelinceye kadar görünür bir spektrofotometre ile izlenmesine dayanmaktadır (Albayrak ve ark, 2010).



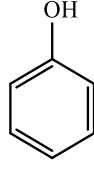
Şekil 2.1. DPPH molekülünün antioksidan madde ile reaksiyonu

2.2. Fenolik Bileşikler Hakkında Genel Bilgi

Fenolikler, fenolik asitler, polifenoller ve flavonoidleri de içeren yaklaşık 8000 adet doğal olarak oluşan bileşik içerir (Nerantzaki ve ark, 2011). Fenolik bileşikler bir veya birden çok hidroksil grubun aromatik halkaya direkt bağlanmasıyla oluşmaktadır (Şekil 2.2). (Sohal, 2002). Fenolik maddelerin kronik ve bazı kanser hastalıklarını önlemede önemli bir ajan olduğu öne sürülmektedir. Biyolojik rollerinin yanı sıra, toplam fenolik içerik gıdanın kalite durumunun temel bir göstergesidir (Nerantzaki ve ark, 2011).

Fenolikler, bitkilerde pentoz fosfat, şikimik asit ve fenilpropan yollarından türetilen ve metal şelatlama özelliklerine de sahip olan ikincil metabolitlerdir. Bitkisel ilaçların antioksidanlar olarak potansiyel terapötik rolü, son zamanlarda serbest radikallerin neden olduğu doku hasarını azaltmada rol aldığı bilinmektedir. Çay, meyve, sebze ve baharatlarda geleneksel olarak kullanılan iyi bilinen doğal antioksidanlara ek olarak, bazı doğal antioksidanlar da ticari olarak antioksidan katkı maddeleri ve diyet takviyeleri olarak kullanılmaktadır. Bitkilerin antioksidan

aktivitesinin içerdikleri fenolik bileşiklerden kaynaklanabileceği söylenmektedir (Sohal, 2002).



Şekil 2.2. Fenol molekülünün açık yapısı

Fenolikler, doğal antioksidanların en önemli sınıfını oluşturan hemen hemen bitkilerin her kısmında bulunan polifenolik bileşenlerdir. En yaygın bitki fenolik antioksidanları flavonoidler, sinamik asit türevleri, tokoferoller ve fenolik asitlerdir (Tunalıer ve ark, 2002).

Farklı ve güçlü antioksidan özelliklere sahip fenolik bileşikler, etkili radikal temizleyiciler olarak hareket ederler ve bunların vücut üzerindeki yıkıcı etkilerini azaltabilirler. İltihaplanma, alerji ve kanser gibi hastalıklarda olumlu ve kısıtlayıcı etkileri nedeniyle bilimsel araştırmalarda artan bir ilgi görmektedir. Fenolik bileşikler içeren gıdalar, kanın antioksidan içeriğini artırarak yıkıcı radikalleri etkisiz hale getirmekte olduğu rapor edilmiştir (Bagheri ve ark, 2021).

Fenoller antioksidan etkiyi kapsayan birçok biyolojik aktiviteye (antimikrobiyal, antiviral, antiinflamatuvar) sahip olduğu rapor edilmiş, yenilebilir ve yenilemez bitkilerde yaygın olarak bulunabilirler. Bitkilerin ürettiği bu bileşikler ayrıca tirozinaz gibi farmasötik enzimleri inhibe edebildiklerinden dolayı farmasötik alanda ilgi çekmektedir. (Rakhimzhanova ve ark, 2018).

Normal şartlarda oksijen radikalinin neden olduğu zarar, organizmanın etkili antioksidan sistemlerince kontrol altına alınmaktadır. Patolojik durumlarda ise oksidan ve antioksidan denge değişmektedir. Yapılan araştırmalarda, fenolik antioksidanların oksidatif baskı sonucu meydana gelen hücre ölümlerini engellediği bildirilmiştir. Bitki fenoliklerinin antioksidan aktiviteleri redoks özelliklerinden dolayıdır. Bu nedenle indirgeyici ajanlar, hidrojen vericiler ve tekli oksijen engelleyiciler olarak etki gösterirler. Fenolik antioksidanlar, Ca^{+2} homeostasisi üzerindeki etkisiyle koroner kalp yetmezliğinde önleyici role sahiptirler. (Deveci ve ark, 2016).

Harborne ve Simmonds (1964) tarafından yapılan çalışmada fenolik bileşiklerinin karbon sayılarına göre bir sınıflandırması Tablo 2.1’de verilmiştir (Eren, 2011).

Tablo 2.1. Fenolik bileşiklerin karbon sayılarına göre sınıflandırılması

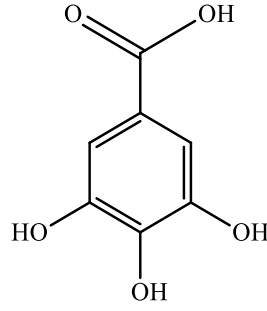
Yapısı	Sınıfı
C6	basit fenolikler
C6-C1	fenolik asitler ve ilgili bileşikler
C6-C2	asetofenonlar ve fenilasetik asitler
C6-C3	sinamik asitler, sinamil aldehitler, sinamil alkoller
C6-C3	kumarinler, izokumarinler, chromene
C15	chalkone, aurone, dihidrochalkon
	Flavan, flavanon, flavanonol, antosiyanidinler
C30	biflavon
C6-C1-C6	benzofenonlar, xanthone, stilbene
C6-C2-C6	
C6, C10, C14	Kinon
C18	betasiyaninler

Gıda veya bitki ekstraktlarındaki toplam fenolik içeriğin belirlenmesi, spektrofotometrik ve kromatografik yöntemler kullanarak gerçekleştirilebilir. Toplam fenoliklerin tayini için Folin-Ciocalteu deneyi en yaygın olarak kullanılan spektrofotometrik yöntemdir (Nerantzaki ve ark, 2011).

2.2.1. Folin-Ciocalteu ayırıcı (FCR) ile toplam fenolik yöntemi

Singleton tarafından geliştirilen bu yöntem ile toplam fenolik madde içeriği ölçmek için kullanılmaktadır (Singleton ve ark, 1965). Bu metodun esası, fenolik bileşiklerden ve diğer indirgeyici bileşiklerden elektronların molibdene aktarılmasına dayanmaktadır. Mavi komplekslerin oluşumu 750-765 nm’de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Albayrak ve ark, 2010).

Açık yapısı Şekil 2.3’de verilen gallik asit genellikle standart bileşik olarak kullanıldığında sonuçlar gallik asit eşdeğerleri olarak verilmektedir. Yapılan son çalışmalarda tanenler, kafeik asit ve vanilik asidi de standart bileşiği olarak kullanılmaktadır (Prior ve ark, 2005).



Şekil 2.3. Gallik asitin açık yapısı

FCR metodunun, gıda ve bitki ekstraktlarının antioksidan kapasitesini belirlemek için kolay, tekrarlanabilir ve güvenilir bir metot olduğu bilinmektedir. FCR reaktifleri ticari olarak mevcuttur (Magalhaes ve ark, 2008).

2.3. Flavonoidler Hakkında Genel Bilgi

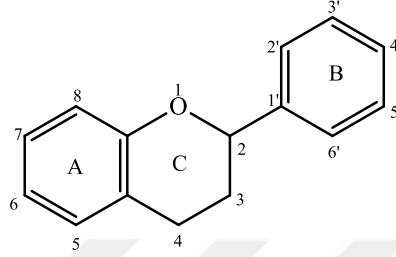
Flavonoidler, bir propan zinciri ile birleştirilmiş iki benzen halkasından oluşan bir difenilpropan (C₆-C₃-C₆) yapısına sahip fenolik bileşiklerdir (Ak, 2006; İşbilir, 2008).

Fenolik yapıları nedeniyle antioksidan özellikler sergilerler ve bazı flavonoidler hücreleri ve dokuları ROT'lerinin olumsuz etkilerinden önemli ölçüde korurlar (Groot ve Rauen, 1998; Vermerris ve Nicholson, 2006). Flavonoidler, serbest radikal süpürücüler, hidrolitik ve oksidatif enzimlerin inhibisyonu ve antiinflamatuvar etkiler gibi iyi bilinen özelliklere sahip organizmaları serbest radikallerin neden olduğu hasarlardan ve hidrojen kaynaklı oksidatif strese koruma yeteneğine sahiptirler (Eren, 2011).

Flavonoidlerin, serbest radikal süpürücüler ve antioksidanlar olarak hareket ettiği bilinmektedir. 2-fenil halkası üzerinde orta veya para hidroksil grupları olan flavonollerin güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinirken, 5 ve 7 pozisyonundaki serbest hidroksil gruplarının prooksidatif etkileri olduğu gösterilmiştir (Ramarathnam ve ark, 1988).

Bugün 4000 flavonoidin bitkilerden izole edildiği bilinmektedir. Açık yapısı Şekil 2.4'de verilen flavonoidlerin biyokimyasal aktivitesi, kimyasal yapılarına ve bu yapının farklı varyasyonlarına bağlıdır. Diyet flavonoidleri, hidroksil, metoksi ve glikozidik yan grupların düzenine ve A-B halkaları arasındaki konjugasyon ilişkisine

göre değişir. Aromatik halkalar A ve B, hetero halka ise C olarak tanımlanır. Karbon atomları C halkasında oksijen ile başlayarak numaralandırılırken, B halkasındaki karbon atomları bir indeks (') ile başlayarak numaralandırılır. Yenilebilir bitkilerde flavonoidler çoğunlukla 3-glikozitler ve polimerler şeklinde bulunur. Flavonoitlerin glikozidik birimi esas olarak glikozdur, ancak glikoz, ramnoz, arabinoz ve galaktoz da bulunabilir (Heim ve ark, 2002).



şekil 2.4. Flavonoidlerin genel yapısı

Flavonoidler ve fenolik antioksidanlar, anomerik hidroksil grubundaki bir hidrojen atomunu lipid serbest radikallerine başışlayarak lipid oksidasyonunu önlerler. Bileşiğin yapısı antioksidan aktivitesi, fenolik bileşiklerdeki -OH gruplarının sayısı ve flavonoidlerin B halkasının 5-OH, 3-OH ve 4-OH grupları antioksidan aktivitelerini etkiler. Birçok doğal antioksidan, özellikle flavonoidler, farklı biyolojik rollere sahiptir. Meyve ve sebze tüketimi ile kanser ve kardiyovasküler hastalık arasındaki ters orantı, meyvelerdeki flavonoidlerin bolluğundan kaynaklanmaktadır (Miller ve Larrea, 2002).

Bitkilerde ikincil metabolitler olarak bilinen flavonoidler, kronik hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. Flavonoidler, antioksidan, antiinflamatuvar ve immün modülasyon gibi biyolojik fonksiyonlara sahip olduğu birçok çalışma tarafından bildirilmektedir. Serbest radikallerin üretimini engelleyerek ve onları doğrudan temizleyerek antioksidan etkiler gösteren bitki flavonoidlerinin antioksidan etkinliği sıklıkla rapor edilmiştir (Huang ve ark, 2022).

Diyet flavonoidleri ısııl işleme çok hassastır ve düşük karalılıkları nedeniyle ısııl işlemden sonra biyoaktiviteleri genellikle bozulur (Gao ve ark, 2022).

Flavonoidler doğal ürünlerde bol miktarda bulunur ve insan sağlığında biyolojik işlevler yapar. Örneğin, soğanın yapısında bulunan kuersetin güçlü bir antioksidan, antidiyabetik ve antikanser etkilere sahiptir (Hsu ve ark, 2022).

Flavonoidlerin doz alınımının artmasıyla total kolesterol ve LDL kolesterolün plazma konsantrasyonlarının düştüğü bilinmektedir. Kuersetin açısından zengin elma ve soğan tüketimi arttığında koroner kalp hastalığı mortalitesi azalmaktadır. Doğal flavonoidlerin en yaygın örnekleri kamferol, kuersetin ve mirisetindir. Kuercetin, bitkilerde yaygın olarak bulunan flavonoid ve fenolik bileşenlerin ana bileşiğidir. Soğan, brokoli, domates, çay, kırmızı şarap, fındık, zeytinyağı ve elma kabuklarında bol miktarda bulunmaktadır. Flavonoidlerin dihidroksi türevleri flavanonlardır. En yaygın örnekler naringenin, naringin, hesperidin ve hesperetindir. Genistein, daidzein ve onun glikozitleri flavonoidlerin izomerleri olan izoflavonların örneklerindendir. Flavonoller, flavonolün C halkasındaki çift bağlı oksijen atomuna -CH₂ grubu eklendiğinde oluşur. Flavanoller, flavonoidlerin indirgenmiş türevleridir (Ross ve Kasum, 2002).

Flavonoidler heterosiklik C- halkasının oksijenlenme modeline göre flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanoller, antosiyanidinler ve izoflavonlar olmak üzere altı alt sınıfa ayrılmaktadır. Flavonoidlerin bitki büyümesinde önemli roller oynadığı ve farmakolojik aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir (Liu ve ark, 2022). *P.major* jacq. bitkisinin flavonoid madde miktarı alüminyum klorür yöntemi ile belirlenmiştir.

2.4. Antibakteriyel Aktiviteler Hakkında Genel Bilgi

Antibakteriyel aktivite testi, bakteri üremesinde yaygın olan bakteriler için yapılan bir test olup bakterilerin hızlı üremesi için optimum seviyeler gereklidir. Bu optimum koşullar uygun olursa bölgedeki bakteri popülasyonu hızla artabilmektedir. Antibakteriyel aktivite testi ile ortamdaki bakteri yoğunluğu hakkında bilgi alınabilir. Antibakteriyel analizine duyulan ihtiyaç, belirli ortamların bakteri üremesi için ideal koşullara sahip olmasıdır. Bakteriler hızla çoğalabilen organizmalardır. Böylece yaşam döngüleri için optimum sıcaklığa ulaştıklarında katlanarak büyürler (Naz ve ark, 2007).

Çoğu zaman kaplanmış yüzeyde bakteri üremesini önleyen kaplama malzemesi ile bakteri aktivitesi en aza indirilebilse de, bazı durumlarda bu uygulama gerçekleştirilememektedir. Bakterilerin belirli sıcaklık ve nem değerleri arasında daha iyi yaşadığı gözlemlenmiştir. Bazı bakteriler su ortamında gelişirken, bazılarının gelişmesi için ortamdaki belirli bir nem seviyesi kritiktir. Bu nedenlerle

bakterilerin büyük bir bölümünün sıcak ortamları tercih ettiği söylenebilir. Bakteriler belirli bir sıcaklık değeri ile yaşarlar. Çoğu zaman karşıt örnekler olsa da, çoğu bakteri en güçlü şekilde 25-45°C arasındaki sıcaklıklarda hayatta kalabilirler. Bu sıcaklıkların dışında bakterilerin çok uzun süre hayatta kalamadığı iyi bilinmektedir. (Shan ve ark, 2007).

Hava damlacıkları arasında yolunu bulan bakteriler üst solunum yollarına girerek insanların sağlığı için tehlike oluşturmaktadır. Genellikle akciğerlere girerek çeşitli hastalıklara neden olurlar. Bakteri popülasyonları seramik, ahşap yüzeyler, cam yüzeyler, kapı kolları, plastik yüzeyler üzerinde bulunabilirler ve bu ortamlarda hayatta kalmaya, üremeye devam edebilirler. Bu nedenle antimikrobiyal aktivite testinin doğru yapılması önemlidir. Dezenfektanlar, bakteri üremesini engellemek için ajanlar olarak kullanılabilir. Bakteriler hemen hemen her yüzeyde yaşam alanı bulabilirken, son yıllarda antimikrobiyal yüzeyler oluşturarak bakteri üremesini en aza indiren ortamlar tasarlamak mümkün olmuştur (Bele ve ark, 2009).

Bakteriler Gram boyasına göre ikiye ayrılmaktadır, Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerdir. Farkları ise Gram negatif bakterilerde stoplazmik membran, ince bir peptidoglikan tabakası ve tekrar bir dış tabaka bulunmaktadır. Peptidoglikan tabakası Gram negatiflerde, Gram pozitiflere göre çok ince bir tabaka iken, esas farklılığı oluşturan en dışta bulunan lipopolisakkarit (LPS) tabakasıdır. LPS tabakası, bakterilerin hidrofobisitesini arttıran, ozmotik basınca karşı daha dayanıklılık sağlayabilen ve bakterilerin patojenik aktivitesine sebep olan bir tabakadır. Fakat doğal dirençte etkili mekanizmanın stoplazmik tabakaya yerleşim gösteren aktif pompa proteini olduğu bilinmektedir ve son yıllarda Gram pozitiflerde de yaygın olarak gözlenmiştir (Erdoğan ve Everest, 2013).

Antibakteriyel aktivitelerin belirlenmesinde farklı yöntemler, agar plug difüzyon yöntemi, agar kuyusu difüzyon yöntemi, antimikrobiyal gradyan yöntemi ve disk difüzyon yöntemi kullanılmaktadır. *P. major* Jacq. bitkisinin antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi ile farklı gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı etkileri incelenmiştir.

2.4.1. Disk difüzyon yöntemi

Rutin laboratuvarlarda antibiyotik duyarlılığını saptanmak için en çok kullanılan metot disk difüzyon metodudur. Ucuz ve uygulaması kolay olan bu metot Kirby Bauer tarafından geliştirilmiştir. Kağıt disklere emdirilen antibiyotığın, duyarlılığı araştırılan mikroorganizmanın ekim yapıldığı besiyerine difüze olma esasına dayanmaktadır. Bu nedenle; belirli bir miktar antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler, denecek olan mikroorganizmanın yoğun bir şekilde enjekte edilmiş olan katı agara yerleştirilir. İnkübasyon süresi bittiğinde ilacın inhibisyon sağladığı diskin çevresinde üreme görülmez. Mikroorganizma ilaca ne kadar hassas ise, diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu o kadar büyük olacaktır. İnhibisyon zonunun çapı mm olarak ölçülerek, standart zon tablolarına göre değerlendirmeler yapılır ve mikroorganizmanın kullanılan antimikrobiyal ajana karşı hassasiyet durumu belirlenmektedir (Anesini ve Perez, 1993).

Disk difüzyon yönteminin temeli mikroorganizmaların çoğalmasındır. Mikroorganizmalar katı bir ortama aşılır ve antimikrobiyel maddeler ortamın yüzeyine yerleştirilmiş bir diskten yayılır. Antimikrobiyal maddenin etkinliği, disk çevresinde oluşan zonları ölçülerek belirlenir. Disk difüzyon yöntemi kullanım kolaylığı açısından dünyada en yaygın kullanılan yöntemdir. Besiyeri olarak Müller-Hinton agar önerilir. Difüzyon kültürü, katı bir ortamın yüzeyinde uygun yoğunlukta mikroorganizmaların süspanse edilmesiyle elde edilir. Normal büyüyen organizmaların 1:1000 oranında seyreltilmesi ve yavaş büyüyen organizmaların 1:100 veya 1:10 oranında seyreltilmesi önerilir. Diskler laboratuvar ve piyasada yapılabilmektedir (Hazır, 2004).

2.4.2. *P. major* Jacq Bitkisinin Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesinde Kullanılan Bakteriler

2.4.2.1. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus, çubuk şeklinde, Gram pozitif, fakültatif anaerob ve hareketli bir bakteri olup endospor oluşturma özelliğine sahiptir. Toprak kaynaklı bir bakteri olan *B. cereus*, çeşitli gıdalarda yaygın olarak bulunmakta ve gıda kaynaklı hastalıklara yol açmaktadır. Birçok *B. cereus* suşu toksin üretme özelliğine sahip ve enfeksiyon hastalıklara neden olmaktadır. *B. cereus*, çiğ gıdalarda bulunabildiği gibi pişmiş

gıdalarda da bulunabilmektedir. Donmuş ve pastörize ürünlerde de canlı sporların bulunması ve depolama sırasında düşük sıcaklıklarda bile germine olabilmeleri son zamanlarda *B. cereus* hakkındaki endişeleri arttırmıştır (Çilak ve Halkman, 2018).

B. cereus bakterisinde spor oluşumunu tetikleyen en önemli faktör ise besin yetmezliğidir. Ortamda besin olarak karbon, azot veya bazı durumlarda fosfor kaynağı bulunmadığı zamanlarda *Bacillus* türlerinin büyüyen hücreleri sporlanmaktadır. Spor oluşumu ayrıca aşırı yüksek ya da düşük sıcaklıklar ile mineral madde, tuz ve şeker gibi hipertonik ortam koşullarında da gerçekleşebilmektedir (Fundagül ve ark, 2013).

B.cereus besin zehirlenmesi, endokardit, bakteriyemi ve sepsis gibi enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Bu enfeksiyöz hastalıklar arasında en sık emetik ve diareli besin zehirlenmesi görülmektedir. Ayrıca keratit ve panoftalmit gibi göz enfeksiyonları, yanık, yara ve cilt enfeksiyonları, menenjit, alt solunum yolu enfeksiyonları gibi hastalıklara neden olabilmektedir (Mengeloğlu ve ark, 2011).

2.4.2.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcaceae familyasına ait Gram pozitif, sporsuz ve yuvarlak üzüm taneleri şeklindedir. *Staphylococcus* türleri fakültatif anaerobik bakterilerdir (hem aerobik hem de anaerobik ortamda yaşayabilirler). *Staphylococcus aureus* suşları toksin oluşturma özelliğine sahiptirler (Atlı, 2007). *S. aureus* bir çok antibiyotiğe direnç göstererek çoğu hastane için önemli bir soruna yol açmaktadır (Gülbandılar, 2009).

Staphylococcus aureus hastane veya toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilen önemli bir patojen bakteridir. *S. aureus*'un bazı suşları insanlarda intoksikasyon belirtileri gösteren maddeler oluştururlar. Bu maddeler sindirim sisteminde meydana getirdiği olumsuz etkilerinden dolayı enterotoksin olarak adlandırılmaktadır. *S. aureus* enterotoksinlerinin neden olduğu intoksikasyonlarda inkübasyon süreleri kısa olup alındıktan yaklaşık 2-4 saat sonra klinik semptomlar oluşturmakta ve bu semptomlar 48 saat sonra tekrar kaybolmaktadır (Alişarlı, 2002).

2.4.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa nın bazı türleri patojen olup Gram negatif, sporsuz, flagellalı, hareketli, doğada toprak, bitki ve sularda yoğun olarak bulunmaktadır. Bazı türleri oksidaz pozitif, bazıları oksidaz negatiftir. Türlerin

tamamı katalaz pozitif ve fermentasyon yapmayan bakterilerdir (Şen ve Halkman, 2006).

Beslenme gereksinimlerinin oldukça basit oluşu, çoğalabilmesi için geniş bir sıcaklık aralığına ihtiyaç göstermesi (20-42 °C), yüksek tuz konsantrasyonuna, farklı çevre koşullarına dayanıklı oluşu, çoğu antibiyotiklere karşı dirençli oluşu ve nemli ortamlarda kolaylıkla üreyebilmesi gibi sahip olduğu önemli fizyolojik özellikleri nedeniyle de farklı ekolojik ortamlarda fırsatçı bir patojen olarak da karşımıza çıkmakta ve bütün dünyada gıda endüstrilerinde, ilaç ve hastane ortamında sorun oluşturmaktadır. *P. aeruginosa* enfeksiyonları konakçının immun sisteminin zayıflamasının yanı sıra bakteriye ait çok çeşitli virulans faktörlerinin de katkısı ile ortaya çıkar. *P. aeruginosa* hücre yüzey komponentleri, ekstraselüler enzimler ve toksinleri içeren çeşitli virulans faktörlere sahiptir. *P. aeruginosa* nemli ortamda bulunmayı sever. İnsanda aksilla ve kulak gibi nemli ortamlarda rahatlıkla üreyebilmektedir (Sırıkten ve Öz, 2017).

P. aeruginosa, kistik fibrosis, yanık enfeksiyonu ve HIV hastaları gibi immun sistemi baskılanmış hastalarda enfeksiyonlara neden olabilir. Akut ve kronik enfeksiyon boyunca farklı virulans etmenleri üretebilen *P. aeruginosa*, hastane enfeksiyonlarının % 16, hastane kökenli üriner sistem enfeksiyonlarının % 12 ve cerrahi enfeksiyonlarının % 8' inin etkenidir (Bayrakal, 2008).

2.4.2.4. *Escherichia coli*

Escherichia coli, *Enterobacteriaceae* ailesinde *Escherichia* cinsinde yer alan Gram negatif, fakültatif anaerob, hareketli, spor oluşturmeyen çomak şeklinde bir bakteridir. Patojenik olanlar oluşturduğu hastalığın tipine ve sahip olduğu virulens özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. *E. coli* suşları bağırsak dışı ve bağırsak (ekstraintestinal ve intestinal) enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Sıvı kültürlerde hızlı üreyerek, tek başına ya da çiftler halinde görülür. Bağırsak enfeksiyonlarında, ishal yapar ve bir kısım toksin üretirler (termolabil enterotoksin, Yüksek molekülü bir toksin olup 15 dk, 60 °C'de inaktif olmaktadır ve termostabil enterotoksin, Düşük molekül ağırlıklı bir toksindir ve 100 °C'de 15 dk içinde inaktif olmaktadır (Omerovic ve ark, 2017).

E. coli, sahip olduğu flagella, kapsül, hücre duvarı ve sentezlediği enterotoksinler, sitotoksinler ve hemolizinler gibi virölens faktörleriyle hayvan türlerinde üriner sistem enfeksiyonları ve enterik enfeksiyonlar gibi değişik hastalıklara neden olmaktadır. *E. coli*'nin hayvan türlerine göre değişik serotiplere sahip olduğu ve bu serotiplerin de farklı patojenik karakterler sergilediği bilinmektedir. Patojen serotipler arasında O157, O1:K1 ve O78:K80 bulunmaktadır. *E. coli* her ortamda bulunabileceği ve farklı çevre koşullarında uzun süre canlı kalabileceği bildirilmektedir. Suşlar arasında özellikle O157 serotipinin daha dayanıklı olduğu, dışkıda 50 gün, toprakta 130 gün canlı kaldığı ve bu süre içinde infektivitesini koruduğu rapor edilmektedir (Gülhan, 2003).

İnsanlarda oldukça şiddetli enfeksiyonlara neden olan *E. coli* 0157:H7 suşu özellikle son yıllarda adından sıklıkla bahsedilen gıda kaynaklı bir patojen olarak bilinmektedir. *E. coli* 0157:H7 kontamine et yanında süt ve süt ürünlerinin de neden olduğu çok sayıda salgın hastalıklar rastlanmıştır. *E. coli* 0157:H7 suşunun biyokimyasal özellikleri diğer *E. coli* suşlarına benzemektedir. *E. coli*'ler gibi optimum olarak 37°C'de ve pH 7,0-7,2'de gelişir. Bakteri ısıya duyarlıdır ve pastörizasyon ısısında inaktive olmaktadır (Gümüşsoy ve Gönülalan, 2005).

2.5. Koca sütotu (*P. major* jacq) Bitkisinin Genel Özellikleri

Bilimsel adı *Polygala major* jacq. olan, *Polygala* cinsine ait subtermofilik ve oligotrofik bir bitki türüdür. Çayırılarda ve çayırıklılarda sıkça karşılaşılr. *Polygala* cinsinin diğer türleri gibi acı maddeler içermektedir. Romanya halkı tarafından çiçeklenme özelliklerinden dolayı süt otu, koruyucu ve orakçı olarak adlandırılmaktadır. Bitki kök, gövde, yaprak ve çiçek kısmından oluşur (Georgescu, 2011).

Polygala major jacq., başlangıçta Avusturya'da tanımlanmış olup İtalya'dan batı Rusya'ya kadar bir dağılım aralığına sahiptir. Şekil 2.5'de gösterilmekte olan *P. major* jacq. bitkisi uzun korolla tüpleri çanak kanatları kadar uzun, açıkça dışa dönük omurgalar, tüysüz sepal kanatlar ve 3 mm'den uzun jinoforlar içerdinden *Polygala* cinsinin diğer türlerinden farklıdır. Türün özellikle çiçeklerinin boyutu, rengi ve sepal kanatlarının şekli bakımından çok değişken olduğu kaydedilmiştir (Lyskov ve ark, 2019).



Şekil 2.5. *Polygala major* Jacq. bitkisi

Polygalaceae familyasının en temsilli cinsi olan *Polygala* cinsine aittir, dünyanın dört bir yanından 600'den fazla türden oluşur, bu türlerin 40'ı Çin'de mevcuttur. *P. altomontana*, *P. caudata*, *P. flavescens*, *P. glomerata*, *P. japonica*, *P. molluginifolia*, *P. Sibirica* ve *P. Tenuifolia* gibi türlerinin, enflamasyona, kardiyovasküler ve merkezi sinir sistemi bozukluklarına karşı çeşitli geleneksel kullanımları rapor edilmiştir. Aynı zamanda bu türlerin fitokimyasal çalışmaları, triterpenler, terpenoidler, flavonoidler, benzofenonlar ve polisakkaritler içerdiklerini bilinmektedir. (Dubois ve ark, 2020).

Polygala tenuifolia bitkisinin ve bitkiye ait aktif bileşenlerin, anti inflamasyon, antioksidan, anti nöronal apoptoz, merkezi kolinerjik sistemi güçlendirme ve nöronal proliferasyonu teşvik etme gibi Alzheimer hastalığına karşı etkisi olduğu rapor edilmiştir (Deng ve ark, 2020).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç-Gereç ve Kimyasal Maddeler

3.1.1. Bitkisel materyal

Deneylerde kullanılan *P. major* jacq. bitkisi 2022 Mayıs ayında Esentepe/Sakarya'dan toplandı ve analizlerde kullanıldı. Bitki toplandıktan sonra yaprak ve çiçek kısımlarına ayrılarak oda sıcaklığında kurutulmaya bırakıldı (Şekil 3.1). Kurutulduktan sonra deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere mekanik olarak öğütülerek toz haline getirildi.



Şekil 3.1. *Polygala major* jacq. bitkisinin hazırlanma aşamaları

3.1.2. Kimyasallar

Analizlerde kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik kalitededir. Gallik asit (GA), kuersetin (QE), 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Sigma-Aldrich (Germany), etanol, metanol, aseton, Folin-Ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat, alüminyum klorür ve sodyum nitrit Merck (Darmstadt, Germany) firmasından temin edilmiştir.

3.1.3. Kullanılan araç gereçler

Shimadzu UV-2600 PC UV-VIS recording spectrophotometer UV, RÜCHI switzerland v-850 Evaporatör, buzdolabı (liebherr, medline), terazi (precisa gr-200), karıştırıcı (Vortex 2 genie ve shaker ql- 861), blender (fakir), santrifüj (rotina 420-

hettich, Germani), otomatik pipet (100-1000 µL smart, 50-200 µL isolab), etüv (termal), IKA KS 4000 çalkalamalı inkübatör cihazı, FTIR spektrometer (PerkinElmer Spectrum Two), saf su cihazı (Milli-Q A10 toc monitör) ve ultrasonik homojenizatör (bandelin), LCMS analizleri Shimadzu marka LCMS-9030 model cihazda Q-TOF analizör kullanılarak yapılmıştır.

3.2. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- Toplam fenolik madde tayininde kullanılan çözeltiler:

%10'luk Na₂CO₃ çözeltisinin hazırlanması: 10 g Na₂CO₃ 100 mL saf su içerisinde çözüldü.

1000 mg/L Gallik asit çözeltisinin hazırlanması: 100 mg Gallik asit 100 mL'lik balon jojeye alınarak saf su ile hacme tamamlandı.

- Toplam flavonoit madde tayininde kullanılan çözeltiler:

% 10'luk AlCl₃ çözeltisinin hazırlanması: 2,5 g Alüminyum klorür 25 mL'lik balon jojeye alınarak saf su ile hacme tamamlandı.

%5'lik NaNO₂ çözeltisinin hazırlanması: 1.25g NaNO₂ 25 mL'lik balon jojeye alınarak saf su ile hacme tamamlandı.

- DPPH serbest radikali temizleme kapasitesi yönteminde kullanılan çözeltiler:

DPPH çözeltisinin hazırlanması: 2 mg DPPH tartılarak 100 mL metanol ile çözüldü.

3.3. DeneySEL Çalışmalar

3.3.1. *P. major* jacq. bitkisinin geleneksel yöntemle ekstraksiyonu

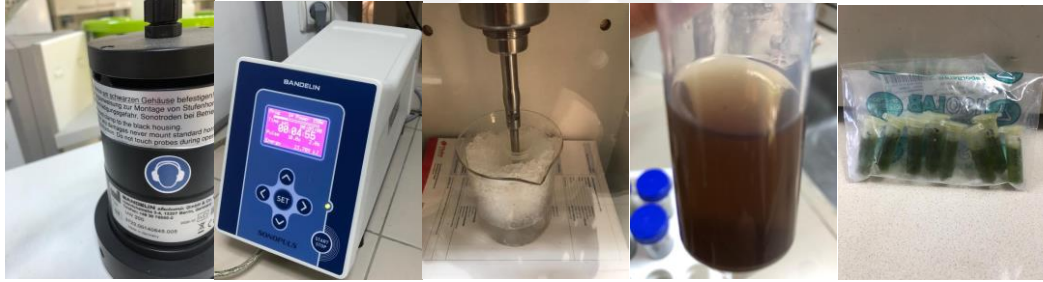
P. major jacq. yaprak ve çiçek kısımlarından ayrı ayrı 0,5 g alınarak üzerine 20 mL çözücü (%80 aseton, %80 etanol, %80 metanol) eklendikten sonra 30 °C sıcaklıkta, 150 rpm'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda çözeltiler 4000 rpm'de 15 dk santrafüj edildi, süzgeç kağıdından süzülde ve ekstratlar eppendorf tüplerine aktararak deneylerde kullanılmak üzere -22 °C sıcaklıkta muhafaza edildi (Kaya ve Taşkın, 2016). Antibakteriyel çalışmalar için süzüntülerin evaporatörde çözücülerini uçuruldu, kalan katı ekstraktın tartımı alındı ve buzdolabında muhafaza edildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *Polygala major* jacq bitkisinin geleneksel ekstraksiyon aşamaları

3.3.2. *P. major* jacq. bitkisinin ultrasonikasyon ekstraksiyonu

P. major jacq. bitkisinin yaprak ve çiçek kısımlarından 0,5 g alındı 20 mL çözelti (%80 aseton, %80 etanol, %80 metanol) ile 50 mL'lik tüpler içine aktarıldı. Ultrasonik prob ile ekstrakt edildi. Ultrasonikasyon işleminde kullanılan koşullar ise güç 150 w, frekans 30 khz, sıcaklık 20 °C, prob çapı 13 mm ve süre 10 dk olacak şekilde kullanıldı. Daha sonra karışımlar 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi ve süzgeç kağıdından süzüldü. Ekstreleri eppendrof tüplerine aktarılarak deneylerde kullanmak için -22 °C sıcaklıkta muhafaza edildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *Polygala major* jacq bitkisinin ultrasonikasyon ekstraksiyon aşamaları

3.3.3. Folin-Ciocalteu yöntemiyle toplam fenolik madde tayini

Ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarları Singleton ve Rossi (1965) yöntemi modifiye edilerek kullanıldı. Numuneler için 100 µL ekstrakt, 200 µL Folin Ciocalteu reaktifi, 2 mL saf su, 3 dk bekledikten sonra 1 mL Na₂CO₃ çözeltisi eklendi, deney tüpleri karıştırılarak 1 saat karanlık ortamda, oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda numunelerin absorpsansları UV Spektrofotometresi'nde 765 nm'de okutuldu. Analizler bütün denemelerde üç paralel olacak şekilde çalışılmıştır.

Standart olarak kullanılan gallik asit çözeltisinden farklı konsantrasyonlar (50, 100, 200, 300, 400, 500 ppm) hazırlandı, her çözeltiden 100 µL alındı, 200 µL Folin

Ciocaltaeu reaktifi, 2 mL saf su eklendi 3 dk bekledikten sonra 1 mL Na₂CO₃ çözeltisi eklendi, deney tüpleri karıştırılarak 1 saat karanlık ortamda, oda sıcaklığında bekletildi ve UV spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda okutuldu. Absorbans değerleri y-ekseninde ve konsantrasyon değerleri ise x-ekseninde gösterilerek bir standart çalışma grafiği hazırlandı. Elde edilen standart doğru denklemi $y=0,0032x+0,0178$ olarak tespit edildi. Standart grafiğe göre tüm bitki ekstraktlarındaki toplam fenolik madde mg gallik asit eşdeğeri GAE/ g kuru madde olarak hesaplandı.

3.3.4. Alüminyum klorür yöntemi ile toplam flavonoid madde tayini

P. major jacq. ekstraktlarının toplam flavonoid miktarları kuersetine eşdeğer olarak alüminyum klorür yöntemi modifiye edilerek belirlendi (Eghdami ve Sadeghi, 2014). Toplam flavonoid madde tayini için 100 µL ekstre üzerine 300 µL saf su, 30 µL NaNO₂ eklendikten sonra 5 dk bekletildi. Daha sonra 30 µL AlCl₃, 200 µL NaOH (1mM) ve 340 µL saf su eklenerek karışımların absorbans değerleri UV spektrofotometrede 510 nm dalga boyunda üç paralel olacak şekilde ölçüldü.

Toplam flavonoid madde analizinde standart olarak kullanılan kuersetinin farklı konsantrasyonlarda (800, 600, 400, 200, 100, 60, 40, 10 ppm) çözeltileri hazırlandı ve 510 nm dalga boyunda UV spektrofotometresi ile ölçüldü. Toplam flavonoid madde içeriği mg kuarsetin eşdeğeri (QE)/gram kuru madde olarak ifade edilmiştir.

3.3.5. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayini

P. major jacq. ekstraktlarının serbest radikal giderim aktiviteleri DPPH serbest radikali kullanılarak yöntemin modifiye edilmesi ile belirlendi (Brand William, 1995). Ekstre numunelerinden 200 µL örnek alınarak üzerine DPPH çözeltisinden 3 mL ilave edildi. Oda sıcaklığında karanlık ortamda 30 dk inkübasyondan sonra 517 nm’de absorbansları üç paralel olarak ölçülmüştür. Serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki eşitliği kullanılarak hesaplandı (3.1).

$$\text{DPPH Giderim Aktivitesi (\% İnhibisyon)} = \frac{A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100 \quad (3.1)$$

A_{Kontrol} kontrolün absorbansı, $A_{\text{Örnek}}$ örneğin absorbansıdır.

3.3.6. Ekstraksiyon verimi

P. major jacq. bitkisinin yaprak ve çiçek ekstraları 50°C sıcaklıkta evaporatörde uçuruldu. Elde edilen katı ekstraların tartımı alındı ve ekstraksiyon verimi hesaplaması için kullanıldı (3.2).

$$\text{Ekstraksiyon verimi (\%)} = \frac{W_1}{W_2} \times 100 \quad (3.2)$$

Burada, W_1 , buharlaştırdıktan sonra ekstraktın ağırlığı ve W_2 , kurutulmuş numune miktarıdır.

3.3.7. *P. major* jacq. Bitkisinin ve Ekstrelerinin UV Spektrumları

Bu çalışmada *P. major* jacq bitkisinden elde edilen ekstraları seyreltmek için her ekstreten 100 µL örnek alındı deney tüpüne aktarıldı üzerine 7,9 mL kendi ekstrakt çözeltisinden (%80 aseton, %80 etanol, %80 metanol) ilave edildi ve çalkalandı daha sonra UV spektrofotometrede 200-600 nm dalga boyu aralığında incelendi.

3.3.8. *P. major* jacq. Bitkisinin ve Ekstrelerinin FTIR Spektroskopisi

P. major jacq. bitkisinin yaprak ve çiçeğinin öğütülmüş tozu ve bitkinin yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen ekstralar 4000-400 cm⁻¹ aralığında tarayarak yapılarındaki fonksiyonel gruplara ait spesifik pikler gözlemlendi.

3.3.9. *P. major* jacq. Ekstrelerinin LCMS Kromatogramları

P. major jacq. bitkisinin çiçek ve yaprak etanol ekstralarından 200 µL alınarak 3 mL %80'lik etanol içerisinde seyreltilmiştir. Kullanılan mobil faz asetonitril ve 30 mM formik asitten oluşurken akış oranı 0,5 mL/dk ve analiz süresi 35 dk'dır. Kolon sıcaklığı 25 °C'de sabit tutulmuştur. Kolon olarak CN kolon (3 µm, 15 cm, 4 mm) kullanılmıştır ve numune miktarı 10 µL'dir. Gradient elüsyondaki formik asit oranları 0-8 dk %95'te sabit tutulmuştur. 8 ile 13 dk arasında %95'ten %85'e düşürülmüştür. 13-18 dk 85'ten 70'e, 18-20 dk %70'ten %65'e, 20-24 dk %65'ten %40'a, 24-27 dk %40'tan %20'e, 27-30 dk arası %20'den %10'a, 30-32 dk arası %10'dan %5'e kademeli olarak düşürülmüştür. 32-35 dk arasında ise %5'ten %95'e arttırılmıştır (Görgüç ve ark., 2020). Kütle spektrumları pozitif ve negatif iyonizasyon modlarında elektrosprey iyonizasyon yöntemi ve Q-TOF analizörü

kullanılarak alınmıştır. Arayüzey voltajı 4,0 kV, sıcaklığı 300 °C'dir. Nebilizör gaz (helyum) akışı 3,0 L/dk'dır.

3.3.10. Kuru Madde Tayini

Kuru madde tayininde *P.major* jacq. bitkisinin çiçek ve yaprakları etüvde 106 °C sıcaklıkta 24 saat boyunca kurutulmaya bırakıldı. Tartımlar 4., 8. ve 24. saatlerde alındı ve nem derecesi belirlendi.

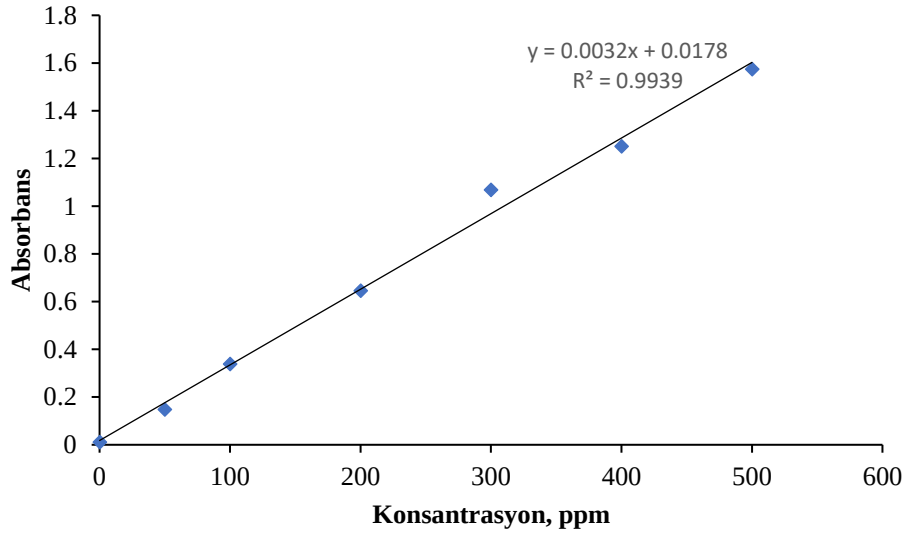
3.3.11. Antibakteriyel Aktivite Tayini

Bu çalışmada *P. major* jacq. ekstrelerinin antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi için *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* bakteri suşları kullanıldı. Bakteri suşları 10 mL'lik triptik soya kültürüne aşılanarak 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. *P. major* jacq. metanol ekstreleri 3 mL saf su ile çözüldü, selüloz membran filtre (22µm) ile filtre edilerek eppendrof tüplerine aktarıldı. Steril edilerek ve 45-50 °C'ye kadar soğutulan Müller Hinton Agar, steril Petri kutularına 15 mL aktarıldı ve besiyerinin homojen bir şekilde dağılması sağlanarak 4 °C'de buzdolabında 1,5-2 saat bekletildi. Triptik soya kültüründen bakteriler 50 µL alındı, Müller Hinton Agara aşılanarak 30 dk bekletildi. Steril boş antibiyotik diskler (6 mm çap) aşılanan agara belirli aralıklarla dizildi ve hazırlanan bitki ekstrelerinden 20 µL alınarak steril disklerin üzerine eklendi. Petriler 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. Bütün testler dört paralel olacak şekilde yapıldı. Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak değerlendirildi.

4. DENEYSEL BULGULARI

4.1. Folin Ciocalteu Yöntemiyle Toplam Fenolik Madde Tayini Sonuçları

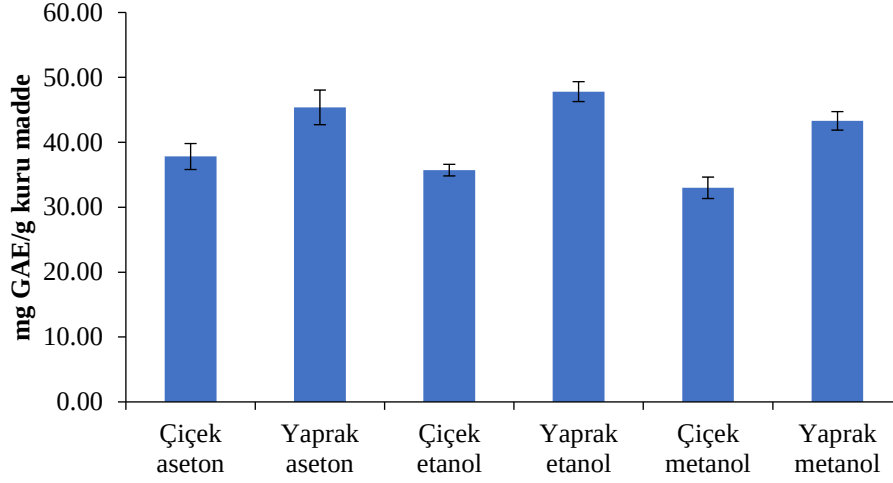
Folin Ciocalteu reaktifi kullanılarak yapılan toplam fenolik bileşik tayininde Gallik asit ile elde edilen standart grafik Şekil 4.1’de gösterilmektedir.



Şekil 4.1. Gallik asit standart grafiği

Yukarıdaki kalibrasyon denklemi kullanılarak hesaplanan *P. major* jacq. bitkisinin ekstrelerinin toplam fenolik bileşik içerikleri Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Toplam fenolik madde tayininde en yüksek değerler yaprak ekstraktlarında gözlemlendi. Yaprak ekstraktlarında çözücü farklılığına göre sıralanması etanol>aseton>metanol ekstraktı şeklindedir ve sırasıyla $47,81 \pm 1,53$, $45,38 \pm 2,67$ ve $43,31 \pm 1,42$ mgGAE/g kuru madde olarak belirlenmiştir.

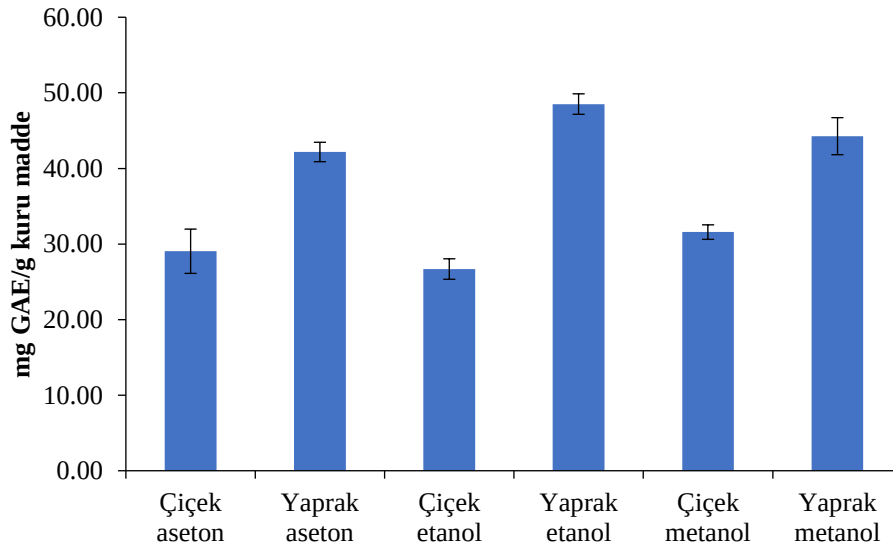
Çiçek ekstraktlarında çözücü farklılığına göre sıralanması ise aseton>etanol>metanol ekstraktı şeklindedir ve sırasıyla $37,81 \pm 2,00$, $35,71 \pm 0,90$ ve $32,99 \pm 1,65$ mgGAE/g kuru madde olarak bulunmuştur.



Şekil 4.2. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları

Şekil 4.3’de *P. major* jacq. bitkisinin ultrasonik ekstraktlarının total fenolik bileşik içerikleri en yüksek değerler yaprak ekstraktlarında gözlemlendi. Çözücü farklılığına yaprak ekstraktları etanol>metanol>aseton olurken değerleri sırasıyla $48,51 \pm 1,35$, $44,27 \pm 2,45$ ve $42,18 \pm 1,29$ mg GAE/g kuru madde olarak belirlendi.

P. major jacq. bitkisinin ultrasonikasyon çiçek ekstraktlarının çözücü farklılığına göre sıralaması ise metanol>aseton>etanoldür ve değerler sırasıyla $31,57 \pm 0,96$, $29,04 \pm 2,93$ ve $26,69 \pm 1,35$ mg GAE/g kuru madde olarak gözlemlendi.



Şekil 4.3. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol ultrasonik ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları

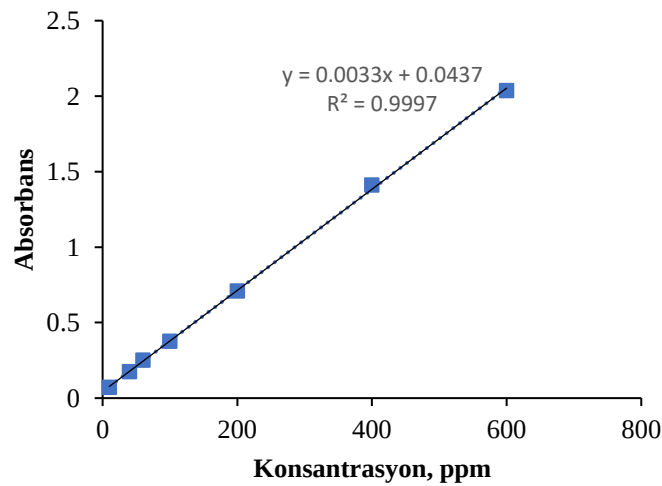
Bitkinin her iki ekstraksiyon yönteminden elde edilen çiçek ve yaprak ekstratlarında bulunan toplam fenolik madde değerleri birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte *P. major* jacq. bitkisinin hem geleneksel hem de ultrasonikasyon ekstratlarının toplam fenolik madde içeriğinin yaprak kısmında çiçek kısmına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol geleneksel ve ultrasonik ekstratlarının toplam fenolik madde miktarları mg GAE/g kuru madde

Numuneler	Geleneksel ekstraksiyon (mg GAE/g kuru madde)	Ultrasonikasyon ekstraksiyon (mg GAE/g kuru madde)
Çiçek aseton	37,81±2,00	29,04±2,93
Yaprak aseton	45,38±2,67	42,18±1,29
Çiçek etanol	35,71±0,90	26,69±1,35
Yaprak etanol	47,81±1,53	48,51±1,35
Çiçek metanol	32,99±1,65	31,57±0,96
Yaprak metanol	43,30±1,42	44,27±2,45

4.2. Alüminyum Klorür Yöntemi ile Toplam Flavonoid Madde Tayini Sonuçları

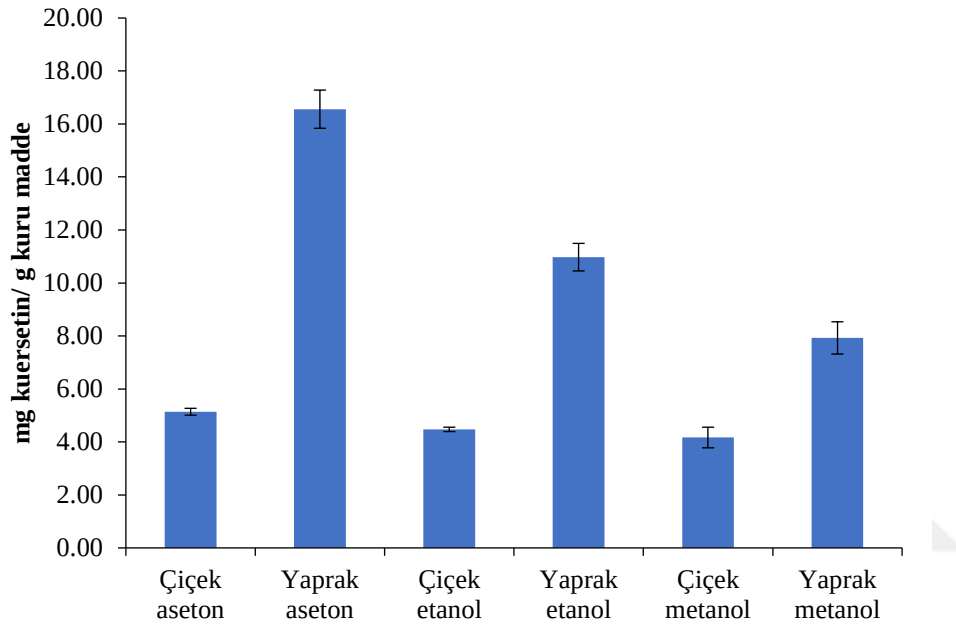
P. major jacq. ekstraktlarının toplam flavonoid madde tayinleri kuersetine eşdeğer olarak alüminyum klorür yöntemi ile belirlendi. Kuersetin kullanılarak elde edilen standart çalışma eğrisi grafiği Şekil 4.4'de görülmektedir.



Şekil 4.4. Kuersetin standart grafiği

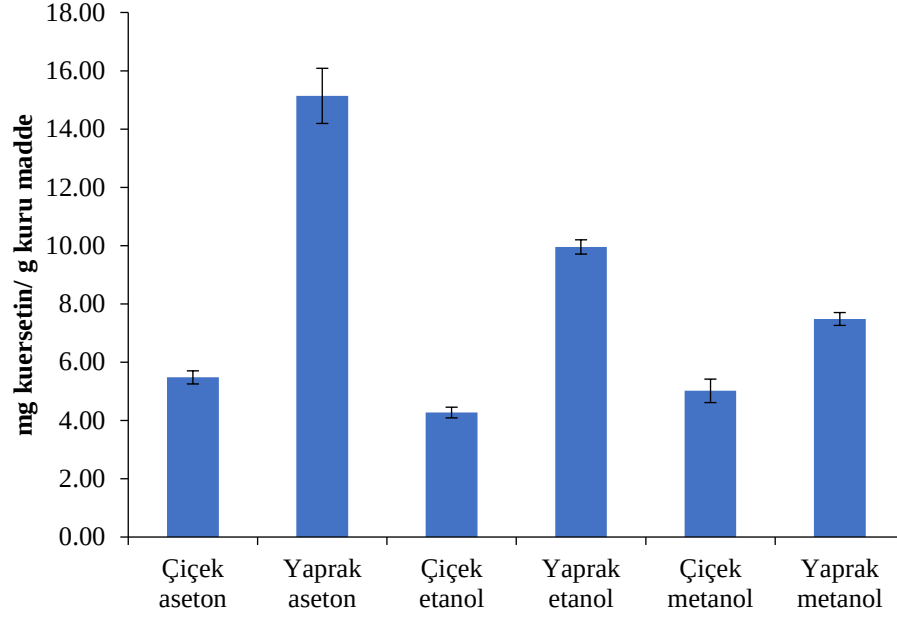
P. major jacq. bitkisinin farklı çözücülerdeki ekstratların total flavonoid madde içerikleri Şekil 4.5’de gösterilmiştir. Yaprak ekstraktlarında çözücü farklılığına göre sıralandığında aseton>etanol>metanol olurken değerler sırasıyla $16,56 \pm 0,72$, $10,97 \pm 0,52$ ve $7,93 \pm 0,61$ mg kuersetin/g kuru madde olarak hesaplandı.

Çiçek ekstraktlarında çözücü farklılığına göre sıralanması ise aseton>etanol>metanol şeklindedir ve değerler sırasıyla $5,14 \pm 0,13$, $4,47 \pm 0,08$ ve $4,17 \pm 0,39$ mg kuersetin/g kuru madde olarak belirlendi.



Şekil 4.5. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol ekstratlarının toplam flavonoid madde miktarları

Şekil 4.6’da *P. major* jacq. bitkisinin ultrasonik ekstratların total flavonoid madde bileşik içerikleri yaprak ekstraktlarında çözücü farklılığına göre sıralanması aseton>etanol>metanol şeklindedir ve değerler sırasıyla ($15,14 \pm 0,95$, $9,95 \pm 0,24$ ve $7,48 \pm 0,22$) mg kuersetin/g kuru madde olarak hesaplanırken çiçek ekstraktlarında aseton>metanol>etanol şeklindedir ve değerler sırasıyla ($5,48 \pm 0,22$, $4,02 \pm 0,40$ ve $4,27 \pm 0,18$) mg kuercetin /g kuru madde olarak gözlemlendi.



Şekil 4.6. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol ultrasonik ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları

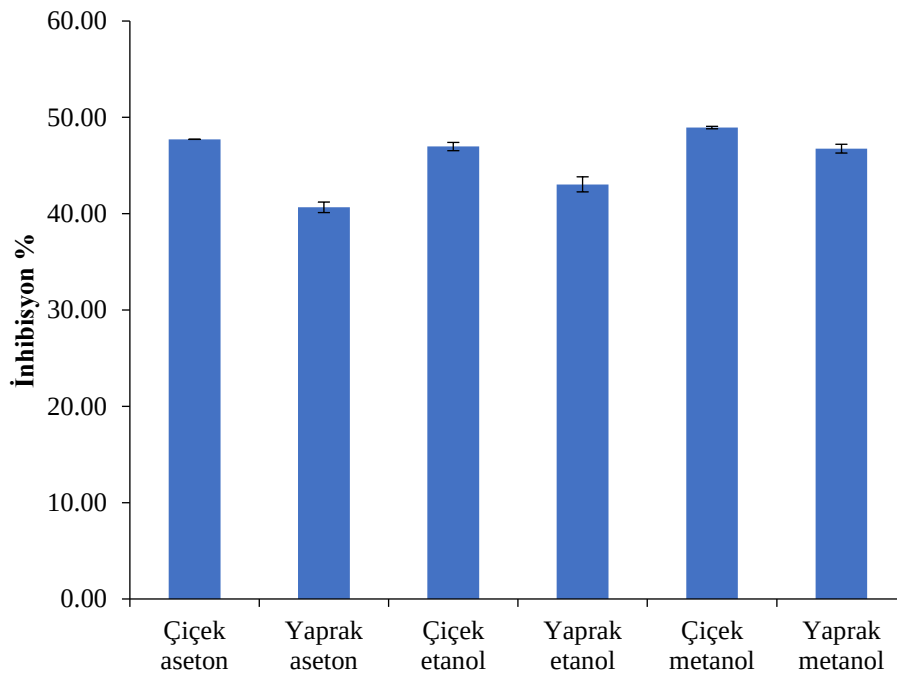
Bitkinin her iki ekstraksiyon yönteminden elde edilen çiçek ve yaprak ekstraktlarında bulunan toplam flavonoid madde miktarlarının birbirine yakın değerlerde olduğu Tablo 4.2’de görülmektedir. Bununla birlikte *P. major* jacq. bitkisinin hem geleneksel hem de ultrasonikasyon ekstraktlarının toplam flavonoid madde içeriğinin yaprak kısmında çiçek kısmına göre daha yüksek değerler elde edilmiştir.

Tablo 4.2. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol geleneksel ve ultrasonik ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları mg QE/g kuru madde

Numuneler	Geleneksel ekstraksiyon (mg QE/g kuru madde)	Ultrasonikasyon ekstraksiyon (mg QE/g kuru madde)
Çiçek aseton	05,14±0,13	05,48±0,22
Yaprak aseton	16,56±0,72	15,14±0,95
Çiçek etanol	04,44±0,08	04,27±0,18
Yaprak etanol	10,97±0,52	09,95±0,24
Çiçek metanol	04,17±0,39	05,02±0,40
Yaprak metanol	07,93±0,61	07,48±0,22

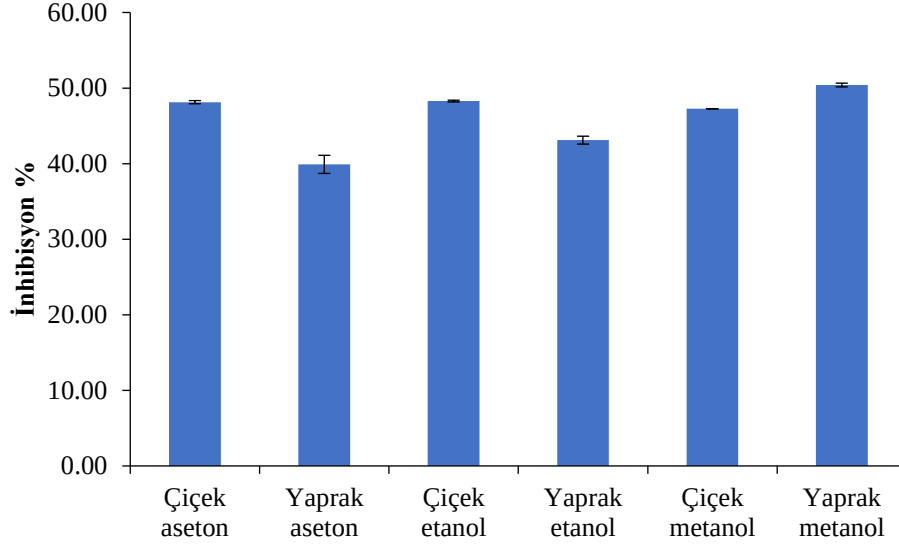
4.3. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Tayin Sonuçları

P. major jacq. ekstraktlarının DPPH serbest radikali giderim aktivitesi 1000 µg/mL konsantrasyonda tayin edildi. Normal ekstraksiyon sonuçlarına göre en yüksek DPPH giderim aktivitesini, çiçek metanol ekstraktı (%48,94±0,13) gösterirken en düşük DPPH giderim aktivitesini ise yaprak aseton ekstraktı (%40,66±0,55) gösterdi. Bitki ekstraktlarının DPPH giderim aktivitesi çözücü farklılıklarına göre metanol>etanol>aseton şeklinde kaydedildi. Şekil 4.7’de gösterilen sonuçların çözücü farklılığına göre ve tüm bitki ekstraktlarında metanoldeki % inhibisyon değerlerinin en fazla olduğu görüldü.



Şekil 4.7. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol ekstraktlarının DPPH giderimi

Şekil 4.8’de ultrasonik ekstraksiyon sonuçlarına göre en yüksek DPPH giderim aktivitesi yaprak metanol ekstraktı (%50,40±0,25), en düşük DPPH giderim aktivitesini ise yaprak aseton ekstraktı (%39,90±1,20) gösterdi. Bitki ultrasonik ekstraktlarının DPPH giderim aktivitesi çözücü farklılıklarına göre sıralandığında metanol>etanol>aseton olduğu görüldü.



Şekil 4.8. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol ultrasonik ekstraktlarının DPPH giderimi

Bitkinin geleneksel ve ultrasonikasyon ekstraksiyondan elde edilen çiçek ve yaprak ekstraktlarının DPPH radikal giderim aktivite değerleri birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte *P. major* jacq. bitkisinin hem geleneksel hem de ultrasonikasyon ekstraktlarının DPPH giderim aktivite değerleri yaprak ve çiçek kısımlarında birbirine yakın olmakla birlikte metanol ultrasonikasyon hariç çiçek ekstraktlarında yaprak ekstraktlarına göre biraz daha fazla olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol geleneksel ve ultrasonikasyon ekstraktlarının DPPH giderim aktivite değerleri

Numuneler	Geleneksel ekstraksiyon (% inhibisyon)	Ultrasonikasyon ekstraksiyon (% inhibisyon)
Çiçek aseton	47,72±0,00	48,13±0,21
Yaprak aseton	40,66±0,55	39,90±1,20
Çiçek etanol	46,97±0,43	48,28±0,12
Yaprak etanol	43,04±0,73	43,11±0,52
Çiçek metanol	48,94±0,13	47,26±0,00
Yaprak metanol	46,75±0,46	50,40±0,25

4.4. Ekstraksiyon Verimi Sonuçları

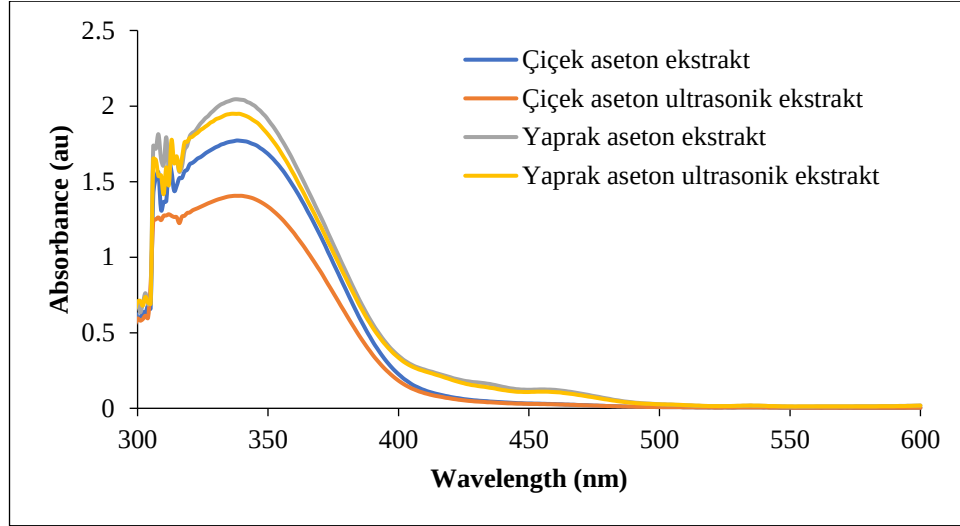
P. major jacq. bitkisinin aseton, etanol ve metanol çözücülerinde ekstraksiyon verimi Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Geleneksel ve ultrasonikasyon ekstraksiyolarda çiçek örneklerinin ekstraksiyon verimi yaprak örneklerine göre daha yüksektir. Çözücüler açısından bakıldığında en yüksek ekstraksiyon verimi metanol ekstraktlarında gözlenirken en düşük değerler etanol ekstraktlarında gözlenmiştir.

Tablo 4.4. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek-yaprak aseton, etanol ve metanol geleneksel ve ultrasonikasyon ekstraksiyon verimi

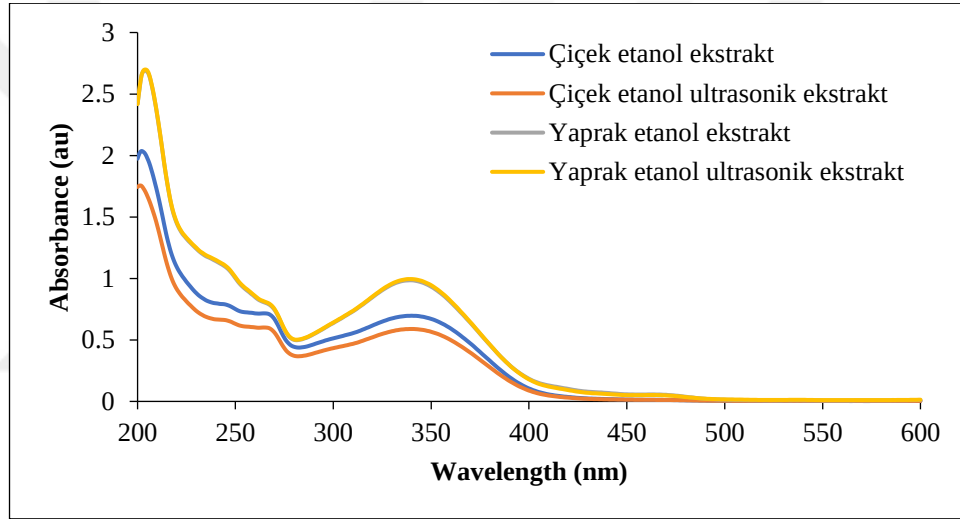
Çözücü %80	Örnek	Geleneksel ekstraksiyon verimi, %	Ultrasonik ekstraksiyon verimi, %
Aseton	<i>P. major</i> jacq. çiçek	36,72 ± 0,004	36,80 ± 0,003
	<i>P. major</i> jacq. yaprak	27,52 ± 0,004	30,20 ± 0,004
Etanol	<i>P. major</i> jacq. çiçek	28,64 ± 0,004	28,80±0,002
	<i>P. major</i> jacq. yaprak	21,72 ± 0,011	22,90±0,010
Metanol	<i>P. major</i> jacq. çiçek	42,44 ± 0,011	44,02±0,001
	<i>P. major</i> jacq. yaprak	28,44 ± 0,006	31,38±0,002

4.5. *P. major* jacq. Bitkisinin ve Ekstrelerinin UV Spektrum Sonuçları

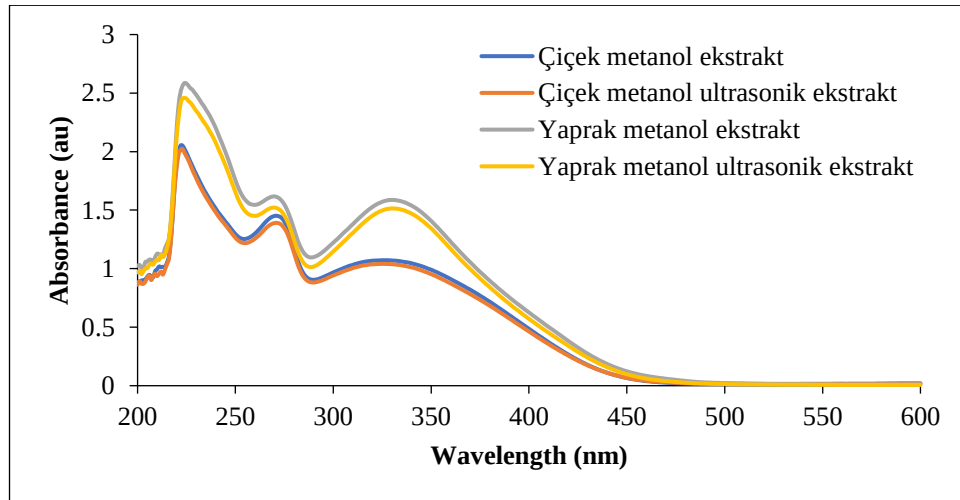
Aseton, etanol ve metanol çözücülerinde *P. major* jacq. çiçek ve yaprak ekstraktlarının UV spektrum pikleri Şekil 4.9-4.11'de gösterilmiştir. Aseton, etanol ve metanol ekstraktların üçünde de 340 nm'de absorban gözlenmiştir. Flavanoidlerin UV spektrumları tipik iki spektrum verir. Band A'da 310-350 nm aralığında flavonlar yer alırken 350-385 nm aralığında flavonoller bulunmaktadır (Arora ve Itankar, 2018). Band B 250-290 nm aralığında bulunmaktadır. 270-290 nm aralığında flavonollerin maksimum absorban verdiği aralıkta çoğu fenoliklerde absorplandığından tespitleri UV spektrumu ile mümkün olamamaktadır (Tsimogiannis ve ark., 2007).



Şekil 4.9. *P. major* jacq. bitkisinin aseton ekstraktlarının absorpsiyon spektrumları

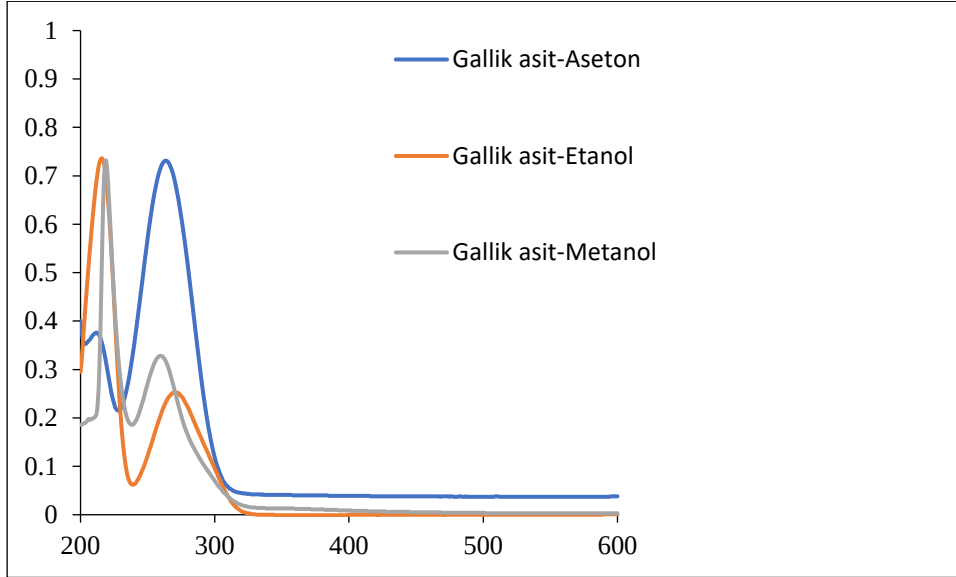


Şekil 4.10. *P. major* jacq. bitkisinin etanol ekstraktlarının absorpsiyon spektrumları

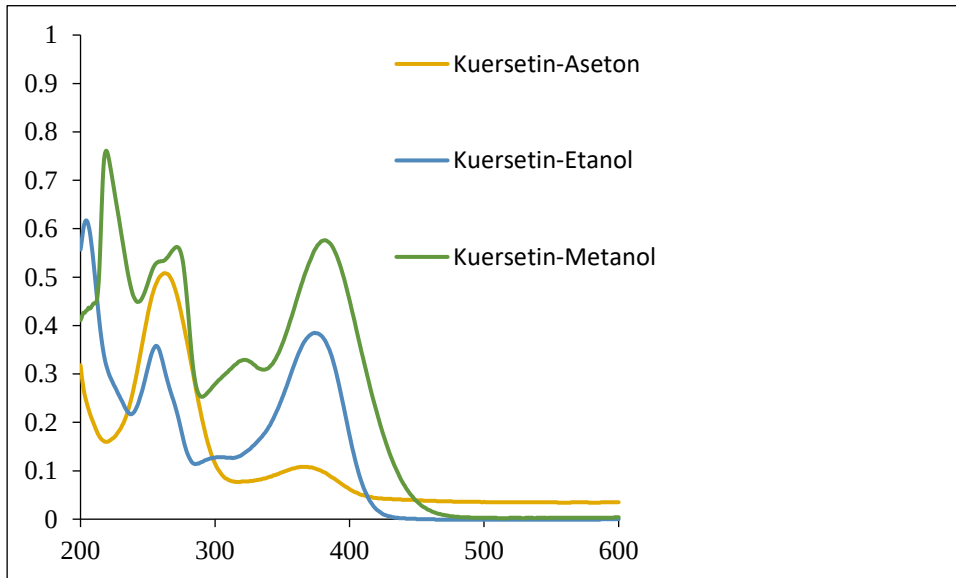


Şekil 4.11. *P. major* jacq. bitkisinin metanol ekstraktlarının absorpsiyon spektrumları

Fenolik-flavonoid bileşiklerin tayininde kullanılan standartlar olan gallik asit ve kuersetinin metanol, etanol ve aseton ile çözülüp UV spektrumları da Şekil 4.12 ve Şekil 4.13’de görüldüğü gibi gallik asit 216-219 nm ve 260-271 nm’de iki tepe noktası verirken, kuersetin yaklaşık 204-219 ve 256-272, 305-322 ve 374-382 nm’de olmak üzere dört tepe sergilemiştir.



Şekil 4.12. Aseton, etanol ve metanolde gallik asit standardının UV spektrumları



Şekil 4.13. Aseton, etanol ve metanolde kuersetin standardının UV spektrumları

4.6. *P. major* jacq. Bitkisinin ve Ekstrelerinin FTIR Sonuçları

Şekil 4.14'de *P. major* jacq. bitkisinin ham yaprak tozunun, aseton, etanol, metanol ekstralarının ve Şekil 4.15'de ham çiçek tozunun, aseton, etanol, metanol ekstralarının FTIR spektrumları verilmiştir.

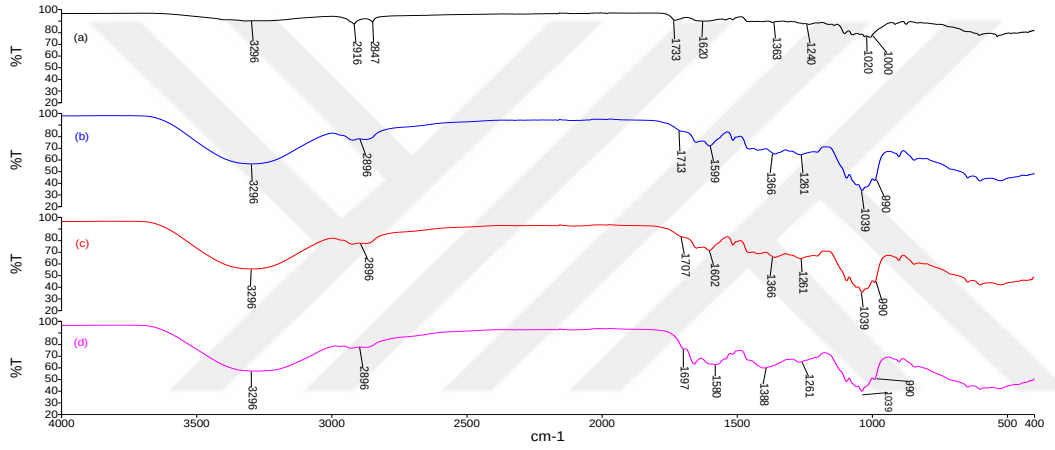
Fenolik bileşikler ve alkollerde bulunan -OH gruplarına ait geniş O-H gerilme titreşimi 3300-3200 cm^{-1} tüm örneklerde gözlenmiştir (Coates, 2000) Ham çiçek ve yaprak numunelerinde 2916 ve 2847 cm^{-1} deki pikler aromatik olmayan C-H gruplarının gerilme titreşimini temsil etmektedir. Çiçek ve yaprak ekstralarında de bulunan bu pikler (iki tepe varken tek tepe olmuş) daha hafiftir. Ham yaprak, aseton, etanol ve metanol ekstralarında sırasıyla 1733, 1713, 1707 ve 1697 cm^{-1} de bulunan pikler karbonil grubu (C=O) gerilme piklerini temsil etmektedir. Aromatik C=C grubu titreşimi ham yaprak, aseton, etanol ve metanol ekstralarında sırasıyla 1620, 1599, 1602 ve 1580 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. 1500-500 cm^{-1} bölgesi, spesifik bir bileşiğe özgü olan parmak izini bölgesini ifade etmektedir. Parmak izi bölgesindeki yapraklardan aseton, etanol ve metanol ekstraları ile hemen hemen benzer spektrumlar elde edilirken, ham yaprak örneğinde biraz farklıdır. Bu bölgedeki 1020 ve 1240 cm^{-1} 'deki pikler, C-O grubunun gerilme titreşimini, 1300 cm^{-1} civarındaki pikler, O-H grubunun eğilme titreşimini ifade ederken 1200 cm^{-1} ve 1000 cm^{-1} civarındaki piklerin C-O-C grubunun gerilme titreşimine aittir (Tucureanu ve ark., 2016).

Ham çiçeğin FTIR spektrumları ve aseton, etanol ve metanol ekstraları, yaprak örnekleriyle neredeyse aynı olası hem yapraklarda hem de çiçeklerde aynı fonksiyonel grupların varlığını göstermiştir. Bununla birlikte, ham yapraklarda O-H gerilme titreşiminin (3300-3200 cm^{-1} şiddeti ham çiçeğe göre daha yüksektir. Buna karşılık, 2917 ve 2849 cm^{-1} 'de ham çiçeklere ilişkin pikler, ham yapraklara ait aynı piklerden daha şiddetli olmuştur. Şekil 4.16 ve Şekil 4.17'te ultrasonik ekstralarının FTIR spektrumlarından geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen spektrumlar ile birbirine çok benzediği görülmektedir.

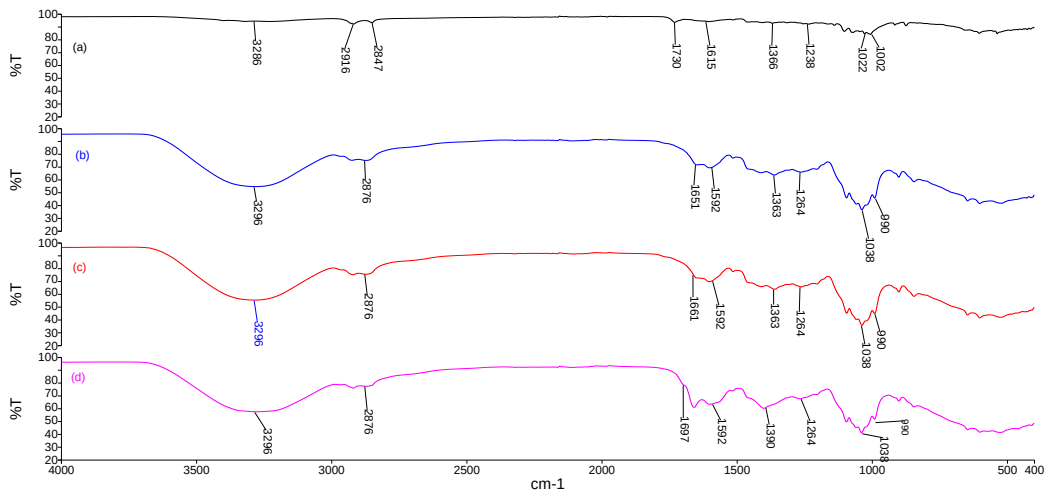
Gallik asit ve kuersetinin FTIR spektrumları ise Şekil 4.18'de gösterilmiştir. Gallik asit spektrumunda 3493, 3345, ve 3269 cm^{-1} 'deki pikler gallik asidinin yapısındaki farklı O-H gruplarına, 1701 cm^{-1} 'de C=O grubunu ve 1615 cm^{-1} 'de alkenlerdeki C=C

bağına aittir (Alfei ve ark., 2020). 1607 ve 1538 cm^{-1} 'deki pikler, gallik asidin yapısındaki aromatik halkadaki C-C bağlarının gerilme titreşimlerine aitken 1300-1000 cm^{-1} bölgesindeki pikler, C-O gerilme titreşimine ve O-H bağlarının eğilme titreşimini ifade etmektedir (Naz, ve ark., 2014). Kuersetin FTIR spektrumunda O-H grubunun gerilme ve eğilme titreşimleri sırasıyla 3272 cm^{-1} ve 1349 cm^{-1} olarak ortaya çıkmıştır. 1664 cm^{-1} 'deki pik, C=O grubuna, aromatik C=C ve C-C grubunun titreşim pikleri sırasıyla 1607 cm^{-1} ve 1559 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. 1241 cm^{-1} ve 1090 cm^{-1} 'deki pikler C-O grup titreşimini ifade etmiştir.

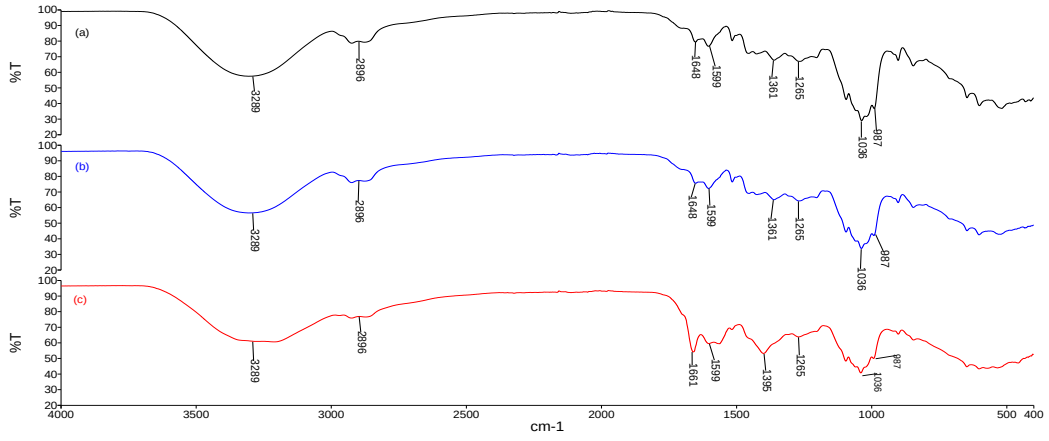
P. major jacq. bitkisinin çiçek, yaprak ve tüm ekstrelerinin FTIR spektrumları Tablo 4.5'de özetlenmiştir.



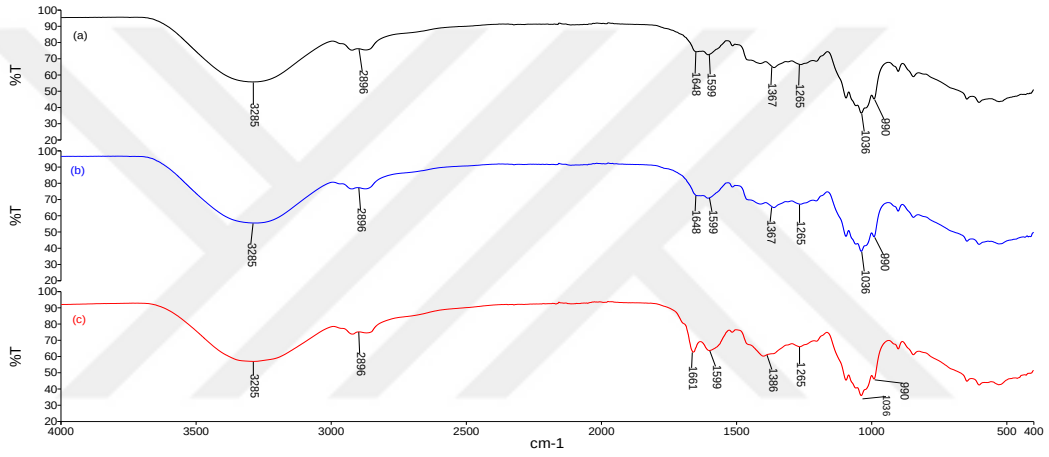
Şekil 4.14. *P. major* jacq. yaprak (a) ve yaprak ekstraktlarının (aseton (b), etanol (c), ve metanol (d)) FTIR spektrumu.



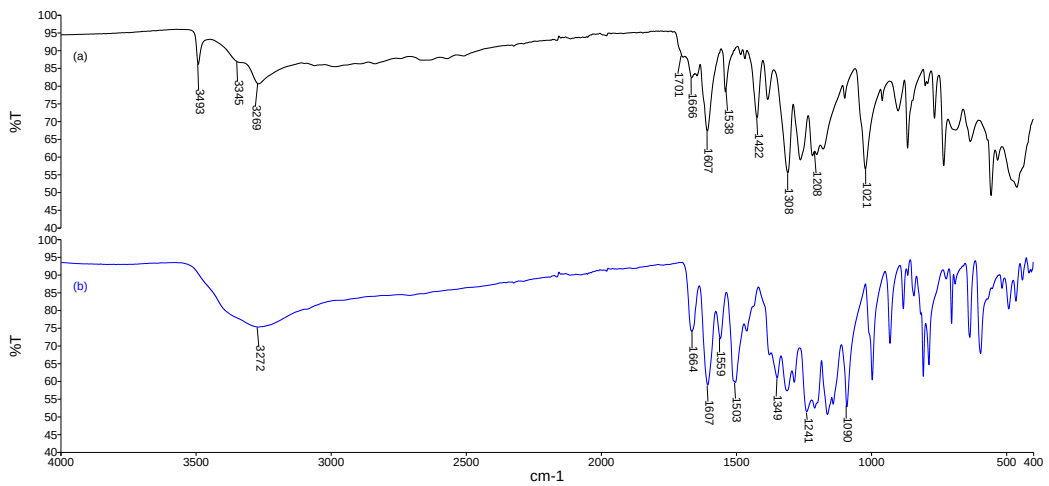
Şekil 4.15. *P. major* jacq. çiçek (a) ve çiçek ekstraktlarının aseton (b), etanol (c), ve metanol (d) FTIR spektrumu.



Şekil 4.16. *P. major* jacq. yaprak ultrasonik ekstrelerinin aseton (a), etanol (b) ve metanol (c) FTIR spektrumu.



Şekil 4.17. *P. major* jacq. çiçek ultrasonik ekstrelerinin aseton (a), etanol (b) ve metanol (c) FTIR spektrumu.



Şekil 4.18. Gallik asit (a) ve kuersetin (b) FTIR spektrumları.

Tablo 4.5. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek, yaprak ve tüm ekstrelerinin FTIR spektrumları

<i>P. major</i> jacq.	O-H gerilme (cm ⁻¹)	C-H gerilme (cm ⁻¹)	C=O gerilme (cm ⁻¹)	C=C titreşimi (cm ⁻¹)	C-O gerilme (cm ⁻¹)	O-H eğilme (cm ⁻¹)	C-O-C gerilme (cm ⁻¹)	
Geleneksel ekstraksiyon	Çiçek	3296	2916, 2817	1760	1615	1238, 1022	1366	1002
	Yaprak	3296	2916, 2817	1733	1620	1240, 1020	1363	1000
	Çiçek-aseton	3296	2876	1651	1592	1264, 1038	1363	990
	Çiçek-etanol	3296	2876	1661	1592	1264, 1038	1363	990
	Çiçek-metanol	3296	2876	1697	1592	1264, 1038	1390	990
	Yaprak-aseton	3296	2896	1713	1599	1261, 1039	1366	990
	Yaprak-etanol	3296	2896	1707	1602	1261, 1039	1366	990
	Yaprak-metanol	3296	2896	1697	1580	1261, 1039	1388	990
Ekstraksiyon	Çiçek-aseton	3285	2896	1648	1599	1265, 1036	1367	990
	Çiçek-etanol	3285	2896	1648	1599	1265, 1036	1367	990
	Çiçek-metanol	3285	2896	1661	1599	1265, 1036	1386	990
	Yaprak-aseton	3289	2892	1648	1599	1265, 1036	1361	987
	Yaprak-etanol	3289	2892	1648	1599	1265, 1036	1361	987
	Yaprak-metanol	3289	2892	1661	1599	1265, 1036	1395	987

4.7. Kuru Madde Tayini Sonuçları

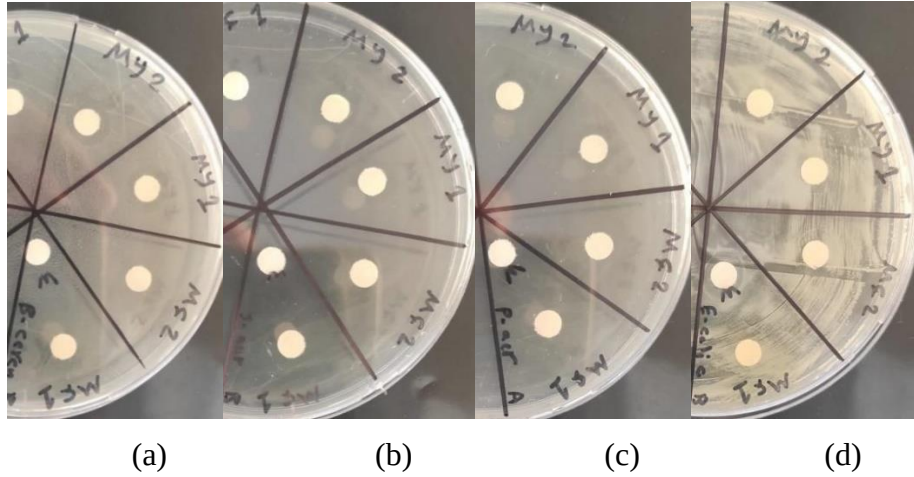
P. major jacq. çiçek ve yapraklarının kuru madde miktarları Tablo 4.6’de verilmiştir.

Tablo 4.6. *P. major* jacq. çiçek ve yapraklarının kuru madde miktarları

Örnek	Nem Oranı %	Kuru Madde Miktarı
<i>P. major</i> jacq. çiçek	7,78 ± 0,2	92,21 ± 0,2
<i>P. major</i> jacq. yaprak	12,75 ± 0,4	87,25 ± 0,4

4.8. Antibakteriyel Aktivite Tayini Sonuçları

Araştırmada kullanan *P. major* jacq bitkisinin ekstrelerinin antibakteriyel aktiviteleri Tablo 4.8’de gösterilmektedir. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek kısmından hazırlanan ekstrelerin genel anlamda antibakteriyel etkilerinin olmadığı gözlenmiştir. Buna karşın yaprak kısmından yapılan ekstraktların antibakteriyel bileşenlere sahip olduğu gözlenmektedir. Yaprak kısımlarından elde edilen metanol ekstrelerinin önemli oranda antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Şekil 4.18’de görülmektedir.



Sekil 4.19. *P. major* jacq. bitkisinin, (a) *Bacillus cereus*, (b) *Staphylococcus aureus*, (c) *Pseudomonas aeruginosa*, (d) *Escherichia coli* O157:H7, (My1,2) metanol yaprak ekstresinin bakteriler üzerinde etkisi

Tablo 4.7’de görüldüğü gibi yaprak metanol ekstresi en fazla *Pseudomonas aeruginosa*’ya karşı ($10,5 \pm 0,6$) mm çapında inhibisyon zonu oluşturan antibakteriyel etkiye sahiptir. Metanol ile elde edilen yaprak ekstraktı *S. aureus*’a karşı $9,75 \pm 0,5$ mm ve *B. cereus*’a karşı $10,00 \pm 0,0$ mm’lik inhibisyon zonu oluşturmıştır. *P. major* jacq. bitkisinin yaprak kısmından metanol ile elde edilen ekstraktın test edilen mikroorganizmalardan sadece *Escherichia coli* O157, H7 üzerinde etkili olmadığı gözlenmektedir.

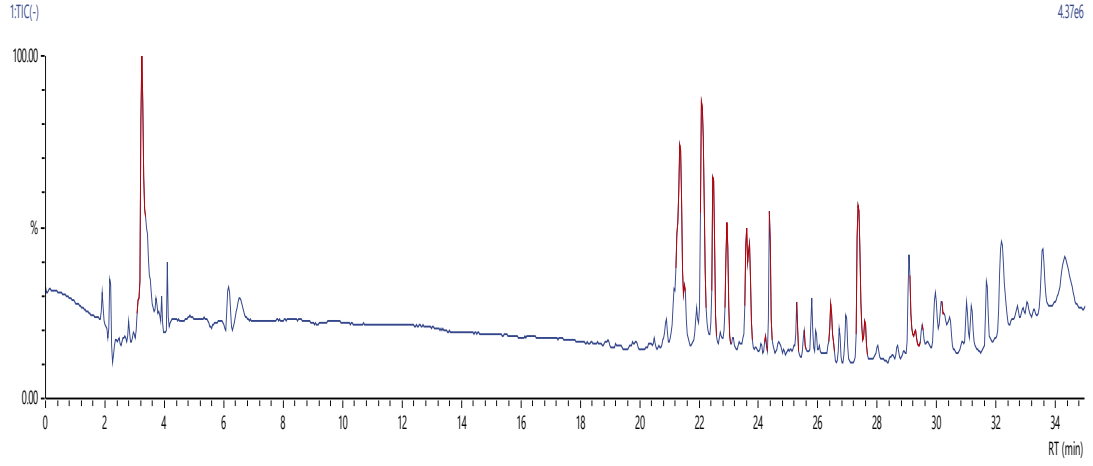
Tablo 4.7. *P. major* jacq. ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri (mm zon)

Bakteriler	<i>P. major</i> jacq. yaprak (mm)	<i>P. major</i> jacq. çiçek (mm)
<i>Bacillus cereus</i>	$10,00 \pm 0,0$	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	$9,75 \pm 0,5$	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$10,50 \pm 0,6$	-
<i>Escherichia coli</i> O157,H7	-	-

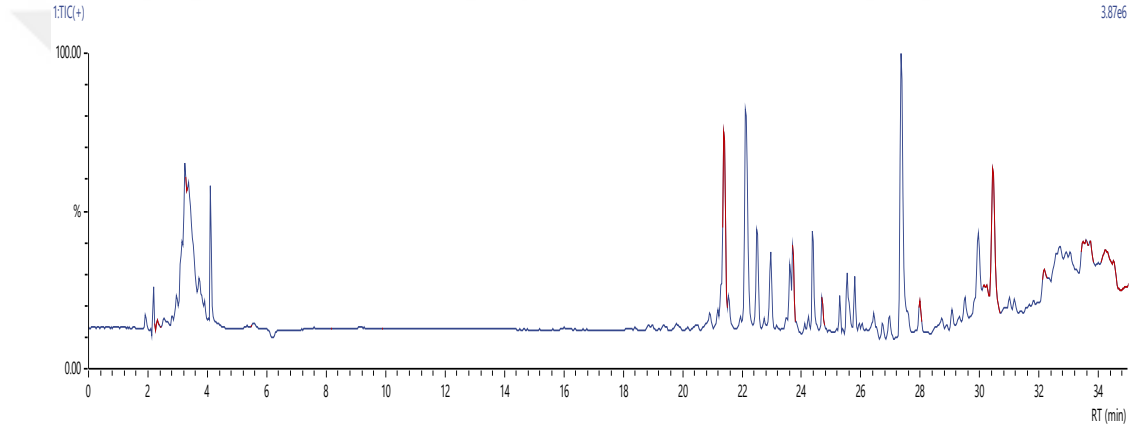
4.9. *P. major* jacq. Ekstrelerinin LCMS Kromotogram Sonuçları

P. major jacq. yaprak ve çiçek etanol ekstraktlarının LCMS negatif ve pozitif iyon kromotogramları Şekil 4.20-4.23’de verilmiştir. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek ve yapraklarında sırasıyla toplam 53 ve 67 fitokimyasal bileşik olabileceği tespit edildi (Tablo 4.8). Bu bileşiklerin hemen hemen hepsinin farmasötik etkileri olduğu rapor edilmiştir. Bunlardan çok çeşitli fitomedikal aktivitelere sahip bir flavonoid olan

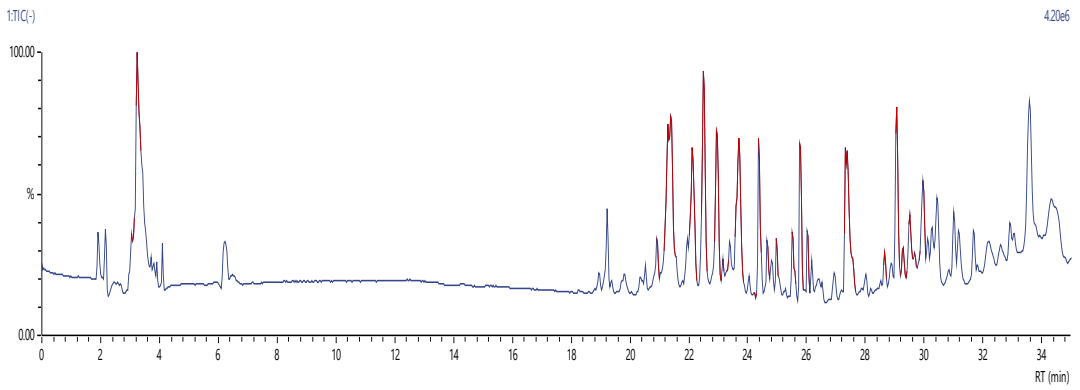
eupatorin (1), prostat kanserinin tedavisinde önemli katkısı olduğu rapor edilmiştir. (Tousi ve ark., 2021). Sinensetin (2) ise güçlü antikanser aktivitelere, çeşitli diğer farmakolojik faydalara sahip olduğu ve minimum toksisite ile amaçlanan aktivitelere önemli rol oynadığı bilinmektedir (Jie ve ark.,2020). Singh ve ark. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada acacetinin (7), güçlü anti-enflamatuar ve anti-kanser aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Eupatilin (50), gastrit ve peptik ülserleri tedavi etmek için yaygın olarak kullanılıp gastrointestinal motiliteyi olumlu yönde etkilediği rapor edilmiştir (Ryoo ve ark.,2014). Bir başka çalışmada ombuinin (11) geniş spektrumlu antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir (Nooreen ve ark.,2017). Vanilik asit (49) çeşitli gıda ürünlerinde aroma maddesi olarak kullanılmasının yanısıra antikanser, antiobezite, antidiyabetik, antibakteriyel, antiinflamatuar ve antioksidan etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir (Kaur ve ark., 2022). Sinapik (51) ve ferulik asit (33) fenetil esterleri, testiküler Leydig hücrelerinde kolesterol ve steroid biyosentezini iyileştirdiği bildirilmiştir (Basque ve ark.,2023). Rahaman ve ark. (2023) tarafından yapılan çalışmada gallik asidin (30), antibakteriyel direncin üstesinden gelmek için vankomisin ile bir adjuvan görevi gördüğü ve bu ilacın stafilokokal eklem enfeksiyonları için alternatif bir tedavi olarak eklem içi enjeksiyon yoluyla uygulanabildiği rapor edilmiştir. Daidzeinin (28) ise nitrik oksit (NO) stresine karşı hücre ölümünü azaltıp ve NO varlığında bile mitokondriyal miktarı arttırabildiği kanıtlanmıştır (Ito ve ark., 2023). Doğal olarak oluşan ve sentetik kalkon türevleri, proliferasyon, anjiyogenez, metastaz, iltihaplanma ve kanser epigenetiğinin düzenlenmesi gibi kanser özelliklerine karşı biyolojik aktiviteler sergilemektedir (WalyEldeen ve ark.2023). Subscandeninin (13) antioksidan ve antidiyabetik aktivite, serbest radikal temizleme ve α -glukosidaz enzimini inhibe etme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (Olawale ve ark. 2022). Saquiba ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada persikogenin (14) MCF-7, HeLa ve HT-29 hücrelerinde antikanser etkileri olduğu ve biyoaktif terapötik ajanlar olarak uygulandığı rapor edilmiştir. Apigenin (3), kanser hücrelerinde bulunan hipoksi kaynaklı direnci tersine çevirebildiği açıklanmıştır (Li ve ark., 2020). Naringenin (4) ve kuersetinin (6) fenolik bileşenleri olarak INS-1E hücrelerinde glukoz uyarımlı insülin sekresyonu ve glikoz hassasiyetini geliştirdiği bilinmektedir (Bhattacharya ve ark., 2014).



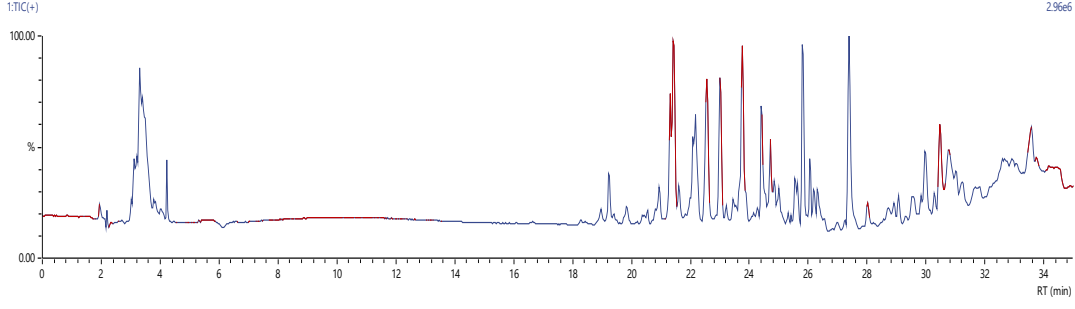
Şekil 4.20. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek etanol ekstralarının negatif iyon LCMS kromotogramı



Şekil 4.21. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek etanol ekstralarının pozitif iyon LCMS kromotogramı



Şekil 4.22. *P. major* jacq. bitkisinin yaprak etanol ekstralarının negatif iyon LCMS kromotogramı



Şekil 4.23. *P. major* jacq. bitkisinin yaprak etanol ekstralarının pozitif iyon LCMS kromatogramı

Tablo 4.8. *P. major* jacq. bitkisinin çiçek ve yapraklarında bulunan muhtemel fitokimyasal bileşikler

No	Bileşik (MA, g/mol)	<i>P.major</i> jacq.	RT*(dk)	(M ⁺)	(M+H) ⁺	(M-H) ⁺
1	Eupatorin (5,3'-dihidroksi-6,7,4'-trimetoksiflavon) (344,3)	Yaprak-çiçek	27,39	344	-	-
2	Sinensetin (3',4',5,6,7-pentametoksiflavon) (372,36)	Yaprak-çiçek	29,96	372	-	-
3	Apigenin (5,7,4'-trihidroksiflavon) (270,24)	Yaprak-çiçek	26,97	-	271	-
4	Naringenin (4',5,7-trihidroksiflavanon) (272,25)	Yaprak	28,90	-	273	-
5	3,5,7-trihidroksi-2-fenilkroman-4-on (272,25)	Yaprak	28,87	-	-	271
6	Kuersetin (3,5,7,3',4'-pentahidroksiflavon) (302,24)	Yaprak	24,83	-	303	-
7	Acacetin (5,7-dihidroksi-4'-metoksiflavon) (284,26)	Yaprak-çiçek	24,27	-	285	-
8	3,5,7-trihidroksi-6-metoksiflavon (300,26)	Yaprak-çiçek	24,46	-	301	-
9	5,7-dihidroksi-3',4'-dimetoksiflavon (314,29)	Yaprak-çiçek	25,54	-	315	-
9	5,7-dihidroksi-3',4'-dimetoksiflavon (314,29)	Yaprak-çiçek	25,51	-	-	313
10	5-hidroksi-6,7,4'- trimetoksiflavanon (330,33)	Yaprak-çiçek	24,46	-	331	-
11	Ombuin (3,5,3'-trihidroksi-7,4'-dimetoksiflavon) (330,29)	Yaprak-çiçek	26,39	-	-	329
12	6-Metoksiluteolin (316,26)	Yaprak-çiçek	25,54	316	-	-
13	Subskandenin (5,7- dihidroksi-8,4'- dimetoksiflavanon) (316,31)	Yaprak-çiçek	23,76	-	317	-
14	Persikogenin (5,3'-dihidroksi-7,4'-dimetoksiflavanon) (316,31)	Yaprak-çiçek	25,51	-	-	315
15	İzokuersitrin (kuersetin-3-O-glukopiranosid) (464,38)	Yaprak-çiçek	24,83	-	465	-
16	Odoratin (2-hidroksi-4',5',6,4-tetrametoksi kalkon) (344,36)	Yaprak-çiçek	27,39	344	-	-
16	Odoratin (2-hidroksi-4',5',6,4-tetrametoksi kalkon) (344,36)	Yaprak-çiçek	27,37	-	-	343
17	3,5-Dihidroksi-7-metoksi-flavanon (286,28)	Yaprak-çiçek	18,41	-	287	-

Tablo 4.8. (Devamı) *P. major* jacq. bitkisinin çiçek ve yapraklarında bulunan muhtemel fitokimyasal bileşikler

No	Bileşik (MA, g/mol)	<i>P.major</i> jacq.	RT*(dk)	(M ⁺)	(M+H) ⁺	(M-H) ⁺
18	Luteolin (5, 7, 3', 4'-tetrahidroksi flavon) (286,24)	Yaprak-çiçek	23,53	-	287	-
19	Kuersetin 7,4-dimetil eter (331,30)	Yaprak	26,18	331	-	-
20	4',5,6,7-tetrametoksiflavon (skutellarein tetrametil eter) (342,34)	Yaprak-çiçek	27,82	-	343	-
21	2,4-dihidroksi-4',5',6'- trihidroksi kalkon (288,25)	Yaprak-çiçek	30,45	288	-	-
21	2,4-dihidroksi-4',5',6'- trihidroksi kalkon (288,25)	Yaprak-çiçek	26,93	-	-	287
22	Kuersetin-7,3',4'- trimetileter (344,32)	Yaprak-çiçek	27,39	344	-	-
23	Mirisetin (318,24)	Yaprak-çiçek	32,62	318	-	-
24	Kalkon (208,26)	Yaprak-çiçek	29,57	-	209	-
24	Kalkon (208,26)	Yaprak-çiçek	29,50	-	-	207
25	Visenin (apigenin 6,8-di-C-glukosid) (626,52)	Yaprak-çiçek	23,76	626	-	-
25	Visenin (apigenin 6,8-di-C-glukosid) (626,52)	Yaprak-çiçek	23,69	-	-	625
26	Luteolin-7-O- glukuronid (462,36)	Yaprak-çiçek	28,90	-	463	-
27	Kuersetin-3-O-glukosid (464,38)	Yaprak-çiçek	28,90	464	-	-
28	Daidzein (7,4'-dihidroksiisoflavon) (254,24)	Yaprak-çiçek	28,69	-	255	-
28	Daidzein (7,4'-dihidroksiisoflavon) (254,24)	Yaprak-çiçek	28,64	-	-	253
29	(+)-Kateşin (290,27)	Yaprak	28,69	-	291	-
29	(+)-Kateşin (290,27)	Yaprak	28,50	-	-	289
30	Gallik asit (170,12)	Yaprak-çiçek	32,25	170	-	-
31	Siringik asit (198,17)	Yaprak-çiçek	28,69	-	199	-
32	Protokatekuik asit (154,22)	Yaprak-çiçek	18,41	154	-	-
33	Ferulik asit (194,18)	Yaprak-çiçek	31,81	194	-	-
33	Ferulik asit (194,18)	Yaprak-çiçek	30,42	-	-	193
34	Veratrik asit (182,17)	Yaprak-çiçek	16,62	182	-	-
35	Benzenpropanoik asit (150,17)	Yaprak	27,82	-	151	-
36	Hidroksi-ferulik asit (210,18)	Yaprak	29,52	210	-	-
36	Hidroksi-ferulik asit (210,18)	Yaprak	28,64	-	-	209
37	Luteolin-4'-O-rutinosid (596,17)	Yaprak-çiçek	21,25	-	-	595
38	6,3'-dimetoksiluteolin (347,30)	Yaprak-çiçek	3,89	-	-	346
39	Apigenin-7,4'-dimetil eter (298,29)	Yaprak-çiçek	33,04	-	-	297
40	4-Metoksisinamik asit (178,18)	Yaprak	32,60	-	-	177
41	Kafeik asit (180,16)	Yaprak-çiçek	3,05	-	-	179
42	Sinapik asit (224,21)	Yaprak	29,67	-	-	223
43	Mirisetin heksosid (480,38)	Yaprak-çiçek	25,27	-	-	479
44	Kaempferol-4'-glukosid (448,38)	Yaprak-çiçek	32,18	-	-	447
45	p-Koumarik asit (164,16)	Yaprak-çiçek	4,10	-	-	163
46	p-Hidroksibenzoik (138,12)	Yaprak-çiçek	29,27	-	-	137
47	3-fenil-1-(2,4,6-trihidroksifenil) prop-2-en-1-one (256,25)	Yaprak-çiçek	34,31	-	-	255

Tablo 4.8. (Devamı) *P. major* jacq. bitkisinin çiçek ve yapraklarında bulunan muhtemel fitokimyasal bileşikler

No	Bileşik (MA, g/mol)	<i>P.major</i> jacq.	RT*(dk)	(M ⁺)	(M+H) ⁺	(M-H) ⁺
48	Agestricin C (6-hidroksi-5,7,3',4'-tetrametoksiflavanon) (360,36)	Yaprak-çiçek	25,51	-	-	359
49	Vanillik asit (168,18)	Yaprak	26,39	-	-	169
50	Eupatilin (5-hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavanon) (358,30)	Çiçek	2,175	358	-	-
51	Sinapik asit (224,21)	Çiçek	22,498	-	225	-
52	Sinamik asit (148,16)	Çiçek	33,713	-	149	-
53	Vanillik asit (168,18)	Çiçek	25,390	-	169	-
54	Nevadensin (5,7-dihidroksi-6,8,4'-trimetoksiflavanon) (344,32)	Yaprak	18,26	344	-	-
55	Hesperidin (hesperetin-7-rutinosid) (610,6)	Yaprak-çiçek	21,41	-	611	-
56	Kuersetin-3-O- α -L-rhamnopyranosil-(1-6)- β -D-galactopyranosid (610,52)	Yaprak- çiçek	21,40	-	-	609
57	Visenin-2 (594,5)	Yaprak -çiçek	22,15	-	595	-
58	Padmatin (taksifolin-7-metil eter) (318,28)	Yaprak-çiçek	28,69	-	-	319
59	Apigenin-5-O- β -D-glukopiranosid (432,4)	Yaprak	18,96	-	433	-
59	Apigenin-7-O- β -D- glukopiranosid (432,4)	yaprak	18,3	-	-	431
60	Kuersetin-3-O- β -D-glukuronid (478,36)	Yaprak-çiçek	26,97	-	479	-
61	Narcissin (izorhamnetin-3-rutinosid) (624,54)	Yaprak-çiçek	23,76	-	625	-
61	Narcissin (izorhamnetin-3-rutinosid) (624,54)	Yaprak-çiçek	23,69	-	-	623
62	Kuersetin-3-O- α -L-arabinosid (434,35)	Yaprak-çiçek	25,30	-	435	-
62	Kuersetin-3-O- α -L-arabinosid (434,35)	Yaprak-çiçek	25,27	-	-	433
63	Kuersetin-3-O-rutinosid-7-O-glikozit (772,66)	Yaprak-çiçek	24,71	772	-	-
63	Kuersetin-3-O-rutinosid-7-O-glikozit (772,66)	Yaprak-çiçek	23,38	-	-	771
64	Spireasalicin (Kuersetin-3-O-[6''-(4'''-hidroksi-2'''-metilenbutirol)]- β -D-glukopiranosid) (562,48)	Yaprak-çiçek	20,42	-	563	-
65	(+)-Kateşin-7- α -L-arabinofuranosid (422,38)	Yaprak-çiçek	28,90	-	423	-
66	3,5- Dikaffeoilkinik asit (516,45)	Yaprak-çiçek	26,53	516	-	-
67	Kikorik asit (474,37)	Yaprak	21,60	-	475	-
68	5-O-feruloilkinik asit (368,3)	Yaprak-çiçek	22,55	-	369	-
69	Apigenin- 7-O-glukuronid (446,36)	Yaprak-çiçek	20,93	446	-	-
70	Amentoflavon(538,45)	Yaprak	19,22	538	-	-
71	Hiperosit (464,38)	Yaprak	24,83	-	465	-

*RT: Retention time (alıkonma zamanı)

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR

Bitkilerde bulunan tüm kısımlar doğal antioksidanlar içermektedir. Radikal giderici ve antibiyotik fonksiyon gösteren antioksidanlara örnek olarak vitaminler, fenoller, fenolik asitler, yağ asitleri ve flavonoidler gibi bileşikler verilebilir. Sebze ve meyve tüketimi arttıkça insanların kalp-damar hastalıkları, kanser ve ölüm oranlarında azalmalara yol açtığı bir çok araştırma tarafından bildirilmiştir. Bitkilerin bu özellikleri yüksek oranda içerdikleri tokoferoller, vitaminler, steroller, flavonoidler, fenoller, fenolik asitler, ve yağ asitleri gibi temel bileşen gruplarından kaynaklanmaktadır (Keser, 2018).

Bu nedenle bitkilerin ihtiva ettiği fitokimyasal bileşik olarak adlandırılan temel bileşenlerin kalitatif ve kantitatif testlerinin yapılması ve gerektiğinde bunların izolasyon ve üretimi biyokimyasal çalışmalar açısından çok önemlidir. Bütün bu bilgiler ışığında bu çalışmada daha önce üzerinde araştırmalar yapılmamış *P. major* jacq. bitkisinin potansiyel olarak sahip olduğu biyoaktif özelliklerin tam olarak belirlenebilmesi için toplam fenolik madde, flavonoid içerik, antioksidan aktivite ve antibakteriyel özellikler incelenmiştir.

P. major jacq. bitkisinin normal ve ultrasonik ekstraksiyon içinde yaprak kısmının toplam fenolik madde miktarı çiçek kısmına göre daha yüksek olduğunu ve kendi aralarında farklı çözücüler ile olan ekstraksiyon sonucu elde edilen toplam fenolik madde miktarı değerlerinin birbirlerine yakın değerlerde olduğu görülmektedir. Yaprak etanol ultrasonikasyon ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda en yüksek toplam fenolik madde miktarı ($48,51 \pm 1,35$ mgGAE/g kuru madde) gözlenirken en düşük toplam fenolik madde miktarı çiçek etanol ultrasonikasyon ekstraksiyon ($26,69 \pm 1,35$ mgGAE/g kuru madde) ile elde edilmiştir.

Flavonoid madde miktarı ise hem normal hem de ultrasonik ekstraksiyonlarda yaprak kısmında özellikle aseton ekstraktlarında neredeyse çiçek kısmındakinin üç katıdır diğer çözeltilerde ise yaprak kısmının çiçek kısmından yaklaşık olarak iki katı değerlere sahip olduğu görülmektedir.

Bu bilgilerden yola çıkarak *P. major* jacq. bitkisinin yaprak kısmı fitokimyasal açısından çiçek kısmına göre daha zengin olduğu anlaşılmaktadır. Araştırmalar, toplam fenolik madde ve antioksidan etki arasında paralel bir ilişki olduğunu göstermiştir (Eren, 2011). Wannes ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada da, *Myrtus communis* var. (Mersin) bitkisinin yaprak, çiçek ve sap kısımlarının toplam fenolik madde ve flavonoid miktarlarını belirlemek amacıyla metanol ile ekstraksiyonları sonucunda toplam fenolik madde miktarı ve toplam flavonoid miktarı yaprak kısmında diğer kısımlara göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

DPPH giderim aktivitesinde en yüksek yaprak metanol ultrasonik ekstraktı ($50,40 \pm 0,25$), en düşük ise yaprak aseton ultrasonik ekstraktı ($39,90 \pm 1,20$) ile elde edildi. Radojkovi ve ark. (2012) yaptığı çalışmada ile dut (*Mulberry morus* spp. L., Moraceae) bitkisinin yaprak, kök ve meyve kısımlarının serbest radikal süpürücü kapasitesi belirlenmek için DPPH radikali kullanıldığında dut yapraklarının antioksidan kapasitesinin (IC_{50} 0,0124 mg/mL), meyve ve kök kısımlarının antioksidan aktivitelerinden (IC_{50} sırasıyla 0,1469 ve 0,0274 mg/mL) daha yüksek olarak rapor etmişlerdir. Sbieh ve ark. (2022) *Chiliadenus iphinoides* bitkisinin antioksidan aktivitesini incelediklerinde bitkiyi dört farklı çözücü ile ekstrakt etmişlerdir. Antioksidan aktivitesi metanol ekstraktında diğer ekstraktlara göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Geleneksel ve ultrasonikasyon ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik, toplam flavonoid madde ve DPPH giderim aktivite değerleri birbirine çok yakın olduğu gözlenmiştir. Toplam fenolik madde değeri ultrasonikasyon yaprak etanol ekstraktlarında $48,51 \pm 1,35$ mgGAE/g kuru madde iken geleneksel yaprak etanol ekstraktlarında $47,81 \pm 1,53$ mgGAE/g kuru madde olarak gözlenmiştir. Aynı şekilde toplam flavonoid madde değeri ultrasonikasyon yaprak aseton ekstraktlarında $15,14 \pm 0,95$ mgQE/g kuru madde, geleneksel yaprak aseton ekstraktlarında $16,56 \pm 0,72$ mgQE/g kuru madde olarak gözlenmiştir. DPPH giderim aktivite değerleri birbirine yakın olarak tespit edilmiştir. *P. major* jacq. bitkisinin aseton, etanol ve metanol çözücülerini ile ultrasonikasyonu 10 dk ile elde edilirken, geleneksel ekstraksiyon işlemi 24 saat boyunca yapılmıştır. Ultrasonikasyon yönteminin süresi kısa olduğu için toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve DPPH giderim aktivite değerleri geleneksel ekstraksiyon yönteminin değerlerine yakın olarak

gözlenmiştir. Bakht ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, *Camellia sinensis* (çay) bitkisinin beş türünü geleneksel ve ultrasonik prob kullanarak 30-50 °C’de ve 30 dk olarak ekstrate ettiklerinde antioksidan aktivite, fenolik madde ve flavonoid madde miktarını incelemişlerdir. Fenolik madde değerleri ultrasonik prob ile hazırlanan ekstraktlarda $32,73 \pm 0,10$ – $71,13 \pm 0,13$ mgGAE/g kuru madde arasındayken geleneksel ekstrakt değerleri $13,58 \pm 0,11$ – $36,23 \pm 0,12$ mgGAE/g kuru madde arasında gözlenmiştir. Flavonoid madde miktarı ve antioksidan aktivite değerleri ise ultrasonik prob ekstraktlarında yaklaşık normal ekstraktların iki katı kadar yüksek olarak değerlendirilmiştir.

P. major jacq. bitkisinin bazı Gram pozitif ve negatif bakteriler ile yapılan antibakteriyel denemelerinde elde edilen sonuçlar *P. major* jacq bitkisinin farklı kısımlarının farklı antibakteriyel etkiye sahip aktif bileşenleri içerdiğini doğrulamaktadır. *P. major* jacq. bitkisinin yaprak metanol ekstraktının Gram pozitif olan *B. cereus* ve *S. aureus*, gram negatif olan *P. aeruginosa* bakterilerine karşı birbirlerine yaklaşık değerlerde antibakteriyel etki ettiği gözlemlendi. Çiçek ekstraktlarının kullanılan dört bakteriye, yaprak ekstraktlarının ise *E. coli* O157:H7 bakterisine karşı antibakteriyel etki göstermediği tespit edilmiştir. Farklı çözücülerle bitkilerin farklı kısımları ekstrete edildiğinde farklı bakteri türlerinde etki ettiği bilinmektedir. Bazzaz ve ark. (2004) yaptığı çalışmada *Polygonaceae* familyasına ait olan *Rheum ribes* bitkisinin gövde kısmının metanol ekstraktı, yaprak ve kök kısımlarına göre daha düşük antibakteriyel etki gösterirken, bir diğer çalışmada ise gövde kısmının etanol ekstraktı daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği ortaya çıkmıştır (Tanış ve ark, 2010).Yapılan bir diğer çalışmada, *Calotropis procera* bitkisinin antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. bitkinin sap, yaprak ve çiçek kısımları metanol, n-heksan ve diklorometan ile ekstrete edilmiştir. Antibakteriyel aktiviteyi belirlemek için agar well difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Yaprak metanol ekstraktı 12,5 mm inhibisyon zon gösterirken sap ve çiçek ekstraktları daha düşük zon göstermiştir. Çalışma Sonuçlarını çözücüler açısından değerlendirilmede en iyi çözücü metanol olduğu gözlenmiştir (Amini ve ark, 2022).

Çalışmamıza benzeyen araştırmalardan da anlaşıldığı gibi bitkilerdeki farklı kısımların kimyasal yapı farklılıkları ve çözücü farklılıkları fenolik madde, flavonoid ve antioksidan aktivite değerlerini direkt etkilemektedir. Ayrıca araştırmadan elde

edilen bulgular doğrultusunda, yeni teknolojiler ile daha kısa sürede ve hemen hemen aynı miktarda fenolik madde içeriğine sahip ekstraktlar elde edildiği anlaşılmaktadır. Bitkilerden daha kısa sürede fenolik ve flavonoid madde elde etmek için ultrasonik destekli ekstraksiyonu daha tercih edilebilir bir metot olduğu sonucuna varılmıştır.

P. major jacq. bitkisinin ekstreleri ile analizlerde standart olarak kullanılan gallik asit ve kuersetinin UV spektrumları 200-600 nm aralığında alınmıştır. Sonuç olarak UV spektrumu, ekstrelerdeki bileşiklerin flavonoid flavonoller kategorisine ait olabileceğini göstermiştir. UV bölgesinde piklerin meydana gelmesi, *P. major* jacq. çiçek ve yaprak ekstrelerinde fenoliklerin ve flavonoidlerin varlığını doğrulamıştır.

P. major jacq. bitkisinin çiçek-yaprak ve ekstrelerinin FTIR spektrumları yapılarında benzer fitokimyasal bileşiklerin olduğunu doğrulamıştır. Ayrıca LCMS kromatogramlarında muhtemel fitokimyasal bileşiklerin fonksiyonel gruplarına ait spesifik pikler FTIR spektrumlarında gözlenmiştir.

Bu çalışmada yapılan analizlerin sonuçlarını tıp, kimya, biyokimya, mikrobiyoloji, farmakoloji ve daha birçok sektörde yapılan çalışmalara öncülük edeceğini ve bu sektörlerde bitkisel kaynaklı ürünlerin kullanmasına çok büyük değer katacaktır.

Günümüzde antimikrobiyel ajanlarına karşı artan direnç karşısında, *P. major* jacq. bitkisinde bulunan aktif biyolojik bileşenler bir alternatif kaynak olarak değerlendirilebilmektedir.

KAYNAKLAR

- Ak, T. (2006). *Curcumin'in Antioksidan ve Antiradikal Özelliklerinin İncelenmesi* [Yüksek Lisans Tezi] Atatürk Üniversitesi
- Albayrak, S., Sağdıç, O., & Aksoy, A. (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi, Enstitüsü Dergisi*, 26(4):401-409.
- Aleksic, V., ve Knezevic, P. (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169(4), 240–254. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.10.003>
- Alfei, S., Barbara Marengo, B., & Cinzia Domenicotti, C. (2020). Development of a Fast, Low-Cost, Conservative and Ecological Method for Quantifying Gallic Acid in Polymeric Formulations by FTIR Spectroscopy in Solution. *Analytical Chemistry*, doi.org/10.1002/slct.202000690
- Alişarli, M., Sağun, E., Alemdar, S., & Akkaya, L. (2002). Kremalı Pastalarda *Staphylococcus aureus* Suşlarının Gelişme ve Enterotoksin Oluşturma Özellikleri Üzerine Etki Yapan Faktörler. *Turk J Vet Anim Sci*, 26 - 535-542
- Amini, M.H., Ashraf, K., Lim, S.M., Ramasamy, K., Manshoor, N., Afiq, A., & Salim, F. (2022). Phytochemical profiling, salt impurities removal and in vitro antibacterial evaluation of *Calotropis procera* twig, leaf and flower extracts. *South African Journal of Botany*, 000(2022) 1-12
- Anesini, C., ve Perez, C. (1993). Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacy*, 39: 119-128.
- Arıdur, R., ve Arabacı, G. (2013). Ciğertaze otu (*salvia officinalis*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin Belirlenmesi. *SAÜ. Fen Bil. Der.* 17. Cilt, 2. Sayı, s. 241-246, 2013.
- Arora, S. ve Itankar, P. (2018). Extraction, isolation and identification of flavonoid from *Chenopodium album* aerial parts. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 8 (2018) 476-482
- Atlı, O. (2007). *Enstitüsü klinik örneklerden izole edilen staphylococcus aureus suşlarının antibiyotik duyarlılığının incelenmesi* [Yüksek lisans tezi] Ankara Üniversitesi
- Bagheri, N., Al Lawati H., & Hassanzadeh, J. (2021). Simultaneous determination of total phenolic acids and total flavonoids in tea and honey samples using an integrated lab on a chip device. *Food Chemistry*, 342:128338. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.128338. PMID: 33069528.

- Bakht, M., Geesi, M.H., Riadi, Y., Imran, M., Ali, M. I., Ahsan, M.J., & Ajmal, N. (2019). Ultrasound-assisted extraction of some branded tea: Optimization based on polyphenol content, antioxidant potential and thermodynamic study. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26 - 1043- 1052.
- Basque, A., Touaibia, M., & Martin, L.J. (2023). Sinapic and ferulic acid phenethyl esters increase the expression of steroidogenic genes in MA-10 tumor Leydig cells. *Toxicology in vitro*, vol 86, 105505
- Bayrakal, V. (2008), *Pseudomonas aeruginosa enfeksiyonu gelişiminde, etken-konak etkileşiminin karşılıklı kinetiği* [Yüksek lisans tezi] Dokuz Eylül Üniversitesi
- Bazzaz, B.S.F., Khajehkaramadin, M., & Shokooheizadeh, H.R. (2004). In Vitro Antibacterial Activity of Rheum ribes Extract Obtained from Various Plant Parts Against Clinical Isolates of Gram-Negative Pathogens. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, (2005) 2: 87-91.
- Bele, A.A., Jadhav, V.M., Nikam, S.R., & Kadam, V.J. (2009). Antibacterial Potential of Herbal Formulation, *Research Journal of Microbiology*, 4 (4): 164-167, 2009.
- Bhattacharya, S., Oksbjerg, N., J. F. Young, J.F. & Jeppesen, P.B. (2014). Caffeic acid, naringenin and quercetin enhance glucose-stimulated insulin secretion and glucose sensitivity. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 16: 602–612.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., & Igic, R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry*, 111(4), 925–929. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.071>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C. (1995). Use of a free-radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.-Lebensm.-Wiss. Technol.* 28(1), 25-30.
- Bulca, S. (2014). Çörek Otunun Bileşenleri ve Bu Yağın ve Diğer Bazı Uçucu Yağların Antioksidan Olarak Gıda Teknolojisinde Kullanımı. *Journal of Adnan Menderes University, Agricultural Faculty*, 2: 29-36.
- Büyükuslu, N., ve Yiğitbaşı, T. (2015). Reaktif Oksijen Türleri ve Obezitede Oksidatif Stres. *MÜSBED* 2015;5(3):197-203, DOI: 10.5455/musbed.20150604061607
- Canbay, E., Çelik, K., Dökmetaş, S., Karadayı, K., Turan, M., Keleştemur, F., Şen, M. (2003). Tiroid Kanseri Hastalarında Değişen Antioksidan Enzim Aktivitesi ve Lipid Peroksidasyonu, *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 25 (4):151 – 156, 2003
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.* 2004 Mar 12;74(17):2157-84. doi: 10.1016/j.lfs.2003.09.047. PMID: 14969719; PMCID: PMC7126989.
- Chen, X., Liang, L., & Han C. (2020). Borate suppresses the scavenging activity of gallic acid and plant polyphenol extracts on DPPH radical: A potential interference to DPPH assay, *Food Science and Technology*, 131, 109769.

- Chew, S.Y., Teoh, S.Y., Sim, Y.Y., & Nyam, K.L. (2021). Optimization of ultrasonic extraction condition for maximal antioxidant, antimicrobial, and antityrosinase activity from *Hibiscus cannabinus* L. Leaves by using the single factor experiment, *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 25 (2021) 100321
- Coates, J. (2000). Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. Encyclopedia of Analytical Chemistry, pp. 10815–10837
- Çalıkoğlu, E., ve Bayrak, A. (2005). Siyah Çay Aroması, Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu
- Çilak, G., ve Halkman, A.K. (2018). Çeşitli besiyerlerinin *Bacillus cereus* sporlanmasındaki etkisi üzerine bir araştırma. *the journal of food* (2018) 42 (2): 347-355 doi: 10.15237/gida.GD18016
- Dawn, B.M., Allan, D., & MandColleen, M.S. (1996). Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach, Lippincott Williams & Wilkins Baltimore, Maryland.
- Deng, X., Zhao, S., Liu, X., Han, L., Wang, R., Wang, Hao, H., Jiao, Y., Hancan, S., & Bai, C. (2020). Polygala tenuifolia: a source for anti-Alzheimer's disease drugs. *Pharmaceutical biology*, 58, 410-416. doi: 10.1080/13880209.2020.1758732
- Deveci, H. A., Nur, G., Kırpık, M., Harmankaya, A., & Yıldız, Y. (2016). Fenolik Bileşik İçeren Bitkisel Antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9 (1), 26-32. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/kujs/issue/30865/338472>
- Dinçoğlu, A.H. (2019). Mercanköşk (*Origanum Onites* L.) Bitkisinin Bazı Gıda Patojenleri Üzerine Antibakteriyel Etkinliğinin Saptanması. *Journal of Health Sciences Institute* <http://dergipark.gov.tr/maeusabed>, MAKU J. Health Sci. Inst. 2019, 7(2): 139-146. doi: 10.24998/maeusabed.656858
- Dubois, M.A.L., Delaudeb, C., & Offera, A.C.M. (2020). A review on the phytopharmacological studies of the genus Polygala. *Journal of Ethnopharmacology*, journal homepage: www.elsevier.com/locate/jethpharm
- Eghdami, A., ve Sadeghi, F. (2010). Determination of Total Phenolic and Flavonoids Contents in Methanolic and Aqueous Extract of *Achillea Millefolium*. *Saveh, Iran, Org. Chem. J.* 2010, 2, 81-84
- Erbaş, M. (2006). Yeni Bir Gıda Grubu Olarak Fonksiyonel Gıdalar. Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu
- Erdoğan, E.A., ve Everest, A. (2013). Antimicrobial activities of aqueous extracts and essential oils of two endemic species from Turkey. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 12 (2): 221-224.
- Eren E. (2011). *Bazı Soğans Bitkilerinin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi* [Yüksek Lisans Tezi] Sakarya Üniversitesi

- Fundagül, E., Küçükçetin A., Certel M. (2013), bacillus türlerinin probiyotik olarak değerlendirilmesi, *Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, GIDA* (2013) 38 (4): 247-254 doi: 10.5505/gida.2013.32042
- Gao, Y., Xi, W., Shao, P., Wu, W., Chen, H., Fang, X., Mu, H., Xiao, J., Gao, H. (2022). Impact of thermal processing on dietary flavonoids, *Current opinion in Food Science*, 48, 100915.
- Georgescu, M.I. (2011). Morphological Characters Variabilities Of Some Populations Of Species *Polygala Major Jacq.*, *Scientific Papers, UASVM Bucharest, Series A, Vol. LIV*, 2011, ISSN 1222-5339.
- Görgüç, A., Özer, P., Yılmaz, F.M. (2020). Simultaneous effect of vacuum and ultrasound assisted enzymatic extraction on the recovery of plant protein and bioactive compounds from sesame bran. *Journal of Food Composition and Analysis*, 87 103424. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103424>
- Groot, H., ve Rauen, M. (1998). Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundamental Clinic Pharmacology*, 1998; 12, 249-255.
- Gülbandılar, A. (2009). Kütahya Yöresinde Burun Mukozasındaki *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığının ve Antibiyotik Duyarlılığının Araştırılması. *Dumlupınar üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi*, Sayı 18, Nisan 2009, ISSN- 1302- 3055.
- Gülhan, T. (2003). Sağlıklı Görünen Hayvanların Dışkılarından İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Biyokimyasal, Enterotoksijenik ve Verotoksijenik Özelliklerinin Belirlenmesi. *65080 Van-TÜRKİYE YYÜ. Vet. Fak. Derg.* 2003, 14 (1): 102-109 102
- Gümüşsoy, G.F., ve Gönülalan, Z. (2005), Kayseri ilinde köy pazarlarında satılan taze peynirlerde Enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 suşunun araştırılması. *Journal of Health Sciences* 14(1) 13-19, 2005
- Hazır, S. (2004). The Antimicrobial Effect of Garlic (*Allium sativum* L.). *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*. 33: 93-100.
- Heim, K.E., Tagliaferro, R., & Bobilya, D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2002; 13, 572-584.
- Hsu, C., Tsai, H.Y., Chang, C.F., Yang, C.C., & Su, N.W. (2022). Discovery of a novel phosphotransferase from *Bacillus subtilis* that phosphorylates a broad spectrum of flavonoids. *Food Chemistry*, Volume 400, 30 January 2023, 134001, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134001>
- Huang, X., Bian Y., Liu, T., Xu, Z., Song, Z., Wang, F., Li, T., & Li, S. (2022). Antioxidant potential and in vitro inhibition of starch digestion of flavonoids from *Crataegus pinnatifida*. *Heliyon*. 2022 Oct 13;8(10):e11058. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e11058. PMID: 36281416; PMCID: PMC9587323.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 53:4303-4310

- Ihsanpuro, S.I., Gunawan, S., Ibrahim, R., & Aparamarta, H.W. (2022). Extract with high 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) inhibitory capability from pericarp and seed of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) using microwave-assisted extraction (MAE) two-phase solvent technique. *Arabian Journal of Chemistry*. Article 104310, Vol 15, Issue 12
- Ito, S., Sasaki, H., Gotow, T., Suetake, I., & Nagai, K. (2023). Soy isoflavone daidzein protects Neuro cells from NO stress via activation of ampk-pgc1 α pathway followed by mitochondrial enhancement. *PharmaNutrition*, 2023, 100337
- İşbilir, Ş.S. (2008). *Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi* [Doktora Tezi] Trakya Üniversitesi
- Jie, L.H., Jantan, I., Yusoff, S., Jalil, J., Husain, K. (2020). Sinensetin: An Insight on Pharmacological Activities, Mechanisms of Action and Toxicity. *Frontiers in Pharmacology*, 11: 554304
- Karasu, K., ve Öztürk, E. (2014). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kanatlılarda Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkileri. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Special Issue*: 2, 2014,
- Karima, S., Farida, S., & Mihoub, Z.M. (2015). Antioxidant And Antimicrobial Activities Of Plantago Major. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, ISSN- 0975-1491 Vol 7, Issue 5, 2015
- Kaur, J., Gulati, M., Singh, S.K., Kuppusamy, G., Kapoor, B., Mishra, V., Gupta, S., Arshad, M.F., Porwal, O., Jha, N.K., Chaitanya, M.V.N.L., Chellappan, D.K., Gupta, G., Gupta, P.K., Dua, K., Khursheed, R., Awasthi, A., & Corrie, L. (2022). Discovering multifaceted role of vanillic acid beyond flavours: Nutraceutical and therapeutic potential. *Trends in Food Science & Technology*, vol 122, April 2022, Pages 187-200
- Kaya, B., ve Taşkın, U. (2016). Hidrofobik bitki ekstraktının kapsüle edilmesi için nanopartikül sisteminin hazırlanması ve fizikokimyasal, biyolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, Tr. J. Nature Sci. 2016 Vol. 5 No. 1
- Keser, F. (2018). *Bazı Yenilebilir Bitkilerin Antiradikal, Antibakteriyel ve Antikanser Özellikleri İle İçerdikleri Fitokimyasal Bileşiklerin Saptanması* [Yüksek Lisans Tezi] Fırat Üniversitesi, (142117109) 2018.
- Li, J., Dong, X., Jiang, Y., Gao, Q., Jiang, Z., Cheung, A.W.H., Duan, R., Dong, T.T.X., Tu, P., & Tsim, K.W.K. (2007). Simultaneous Determination Of Phenols In Radix Polygalae By High Performance Liquid Chromatography: Quality Assurance Of Herbs From Different Regions And Seasons. *J Sep Sci*. 2007 Nov;30(16):2583-9. doi: 10.1002/jssc.200700118. Affiliations expand, PMID: 17722189
- Li, K., Li, M., Luo, Z., Yulan Mao, Y., Yonglin Yu, Y., He, Y., Zhou, J., Fei, Y., Yuxia Pei, Y., & Cai, K. (2020). Overcoming the hypoxia-induced drug resistance in liver tumor by the concurrent use of apigenin and paclitaxel. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 526 (2020) 321-327

- Liu, J.Z., Lyu, H.C., Fu, Y.J., Jiang, J.C., & Cui, Q. (2022). Simultaneous extraction of natural organic acid and flavonoid antioxidants from *Hibiscus manihot* L. flower by tailor-made deep eutectic solvent. *LWT - Food Science and Technology*, 163 (2022) 113533 Available
- Liu, M., Ai, Q., Wang, S., & Shuai, Y. (2022). Analysis on influence factors for transmission measurements of absorbing and scattering media based on the internal optical-path of FTIR spectrometer. *Measurement*, Volume 203, 15 November 2022, 111963, <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2022.111963>
- Liu, F., Wang, Y., Corke, H., ve Zhu, H. (2022). Dynamic changes in flavonoids content during congou black tea processing. *LWT - Food Science and Technology*, 170 (2022) 114073
- Lyskov, D., Pastore, J.F.B., & Samigullin, T. (2019). One for all: molecular study of *Polygala* major complex (Polygalaceae) in Southwest Asia. *Plant Syst Evol* 305, 975–984 (2019). <https://doi.org/10.1007/s00606-019-01618-x>
- Magalhaes, L.M., Segundo M.A., Reis S., & Lima J.L.F.C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Anal. Chim. Acta.*, 613;1-19.
- Marcheafave, G. G., Tormena, C. D., Daiane, E., Rakocevic, M., Bruns, R. E., & Scarminio, I. S. (2019). Experimental mixture design solvent effects on pigment extraction and antioxidant activity from *Coffea arabica* L. leaves. *Microchemical Journal*, 146 (January), 713–721. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.01.073>
- Mengeloğlu, F.Z., Terzi, H. A., & Bilici, M. (2011). Kateter kaynaklı *Bacillus cereus* bakteriyemisi olgusu ve izolatlar arasındaki klonal ilişkinin PFGE ile araştırılması. *Dicle Tıp Derg* /2011; 38 (3): 358-360, doi: 10.5798/diclemedj.0921.2011.03.0050
- Miller, N.J., ve Larrea, M.B. (2002). Flavonoids and other plant phenols in the diet: Their significance as antioxidants. *Journal of Nutritional and Environmental Medicine*, 2002; 12, 39-51.
- Mot, C.A., Dumitrescu, S.R., & Sarbu, C. (2011). Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV-VIS spectroscopic data. *Journal of Food Composite and Analysis*, 24:516-522.
- Naz, S., Ahmad, S., Rasool, S.A., Siddiqi, R., & Sayeed, S.A. (2007). In vitro Antibacterial Activity of the Extracts Derived from *Terminalia catappa*. *Research Journal of Microbiology*, 2 (2): 180-184
- Naz, S., Khaskheli, A.R., Aljabour, A., Kara, H., Talpur, F.N., Sherazi, S.T.H., Khaskheli, A.A., & Jawaid, S. (2014). Synthesis of Highly Stable Cobalt Nanomaterial Using Gallic Acid and Its Application in Catalysis. Hindawi Publishing Corporation, 686925, 6. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/686925>

- Nerantzaki, A.A., Tsiafoulis, C.G., Charisiadis, P., Kontogianni, V.G., & Gerothanassis, I.P. (2011). Novel determination of the total phenolic content in crude plant extracts by the use of ^1H NMR of the -OH spectral region. *Anal Chim Acta*. 2011 Feb 28;688(1):54-60. doi: 10.1016/j.aca.2010.12.027. Epub 2010 Dec 23. PMID: 21296205.
- Nguyen, D.H., Doan, H.T., Vu, T.V., Pham, Q.T., Khoi, N.M., Huu, T.N., & Thuong, P.T. (2020). Oligosaccharide And Glucose Esters From The Roots Of *Polygala Arillata*. *Nat Prod Res*. 2020 Oct;34(20):2900-2906. doi: 10.1080/14786419.2019.1597353. Epub 2019 Apr 10., Affiliations expand, PMID: 30966795
- Nooreen, P., Singh, S., Singh, D.K., Tandon, S., Ahmad, A. & Luqman, S. (2017). Characterization and evaluation of bioactive polyphenolic constituents from *Zanthoxylum armatum* DC., a traditionally used plant. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Vol 89, page 366-375
- Olawale, F., Olofinisan, K., & Iwaloye, O. (2022). Biological activities of *Chromolaena odorata*. *South African Journal of Botany*, Vol 144, Pages 44-57
- Oliveira, G.K., Tormin, T.F., Sousa, R.M., de Oliveira, A., de Morais, S.A., Richter, E.M., & Muñoz, R.A. (2016). Batch-injection analysis with amperometric detection of the DPPH radical for evaluation of antioxidant capacity. *Food chemistry*, 192, 691-7.
- Omerovic, M., Müştak, H.K., & Kaya, İ.B. (2017). *Escherichia coli* Patotiplerinin Virülens Faktörleri. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 2017; 28 (1): 1-6 Derleme / Review Article
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5 (11):1142-1145.
- Prior, R.L., Wu, X., & Karen, S. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Food and Dietary Supplements. *Journal of Agriculture. Food Chemistry*, 53: 4290-4302.
- Puangbanlanga, C., Sirivibulkovita, K., Nacaprachab, D., & Sameenoia, Y. (2019). A paper-based device for simultaneous determination of antioxidant activity and total phenolic content in food samples. *Talanta* 198 (2019) 542–549, Contents lists available at ScienceDirect, journal homepage: www.elsevier.com/locate/talanta
- Radojkovi, M.M., Zekovi, Z.P., Vidovi, S.S., Ko, D.D., & Maškovi, P.Z. (2012). Free radical scavenging activity and total phenolic and flavonoid contents of mulberry (*Morus* spp.L., Moraceae) extracts. *Hem Ind.*, 66, 547–552. <https://doi.org/10.2298/HEMIND111111002R>.
- Rahaman, S.N., Ayyadurai, N., & Anandasadagopan, S.K. (2023). Synergistic effect of vancomycin and gallic acid loaded MCM-41 mesoporous silica nanoparticles for septic arthritis management. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2023, 104353

- Rakhimzhanova, A., Kılınçarslan, Ö., & Mammadov, R. (2018). *Stellaria media* ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin belirlenmesi ve fenolik bileşenlerinin karakterizasyonu. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8 (2) , 165-173 . Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ordubtd/issue/42031/505984>.
- Ratnam, V.D., Ankola, D.D., Bhardwaj, D.K., Sahana, M.N.V., & Ravi, K. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Control Release*, 113:189-207.
- Ross, J.A., ve Kasum, C.M. (2002) Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*, 2002; 22, 19-34.
- Ryoo, S.B., Oh, H.K., Yu, S.A., Moon, S.H., Choe, E.K., Oh, T.Y., & Park, K.J.(2014). The Effects of Eupatilin on Motility of Human Lower Gastrointestinal Tracts. *The Korean Journal of Physiology& Pharmacology*, 18(5): 383–390
- Saquiba, Q., Ahmed, S., Ahmad, M.S., Al-Rehaily, A.J., Siddiqui, M.A., Faisal, M., Ahmad, J., Alsaleh, A.S., Alatar, A.A. & Al-Khedhairi, A.A. (2020). Anticancer efficacies of persicogenin and homoeriodictyol isolated from *Rhus retinorrhoea*. *Process Biochemistry*, 95 (2020) 186–196
- Sbieh, R., Al-Lahham, S., & Jaradat, N. (2022). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of four different extracts derived from the aerial parts of *Chiliadenus iphinoides*. *European Journal of Integrative Medicine*, 54 (2022) 102149
- Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D., & Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts, *International Journal of Food Microbiology*, 117: 112-119, 2007.
- Sırıken, B., ve ÖZ, V. (2017) *Pseudomonas aeruginosa*: Özellikleri ve Quorum Sensing Mekanizması. *Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi* 18: 42-52 (2017/2) arastirma.tarim.gov.tr/bursagida, ISSN 1303-3107.
- Singh, P.S., Gupta, P., Meena, A., & Luqman,S. (2020). Acacetin, a flavone with diverse therapeutic potential in cancer, inflammation, infections and other metabolic disorders. *Food and Chemical toxicology*, vol 145, 111708
- Singleton, V.L., ve Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*, 16 (1965) 144- 158.
- Skendi, A., Irakli, M., ve Chatzopoulou, P. (2007). Journal of applied research on medicinal and aromatic plants analysis of phenolic compounds in Greek plants of Lamiaceae family by HPLC. *Journal of Dermatological Science*, 6, 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.02.001>
- Sohal, R.S. (2002). Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. *Free Radical Biology and Medicine*, 2002; 33, 37-44.

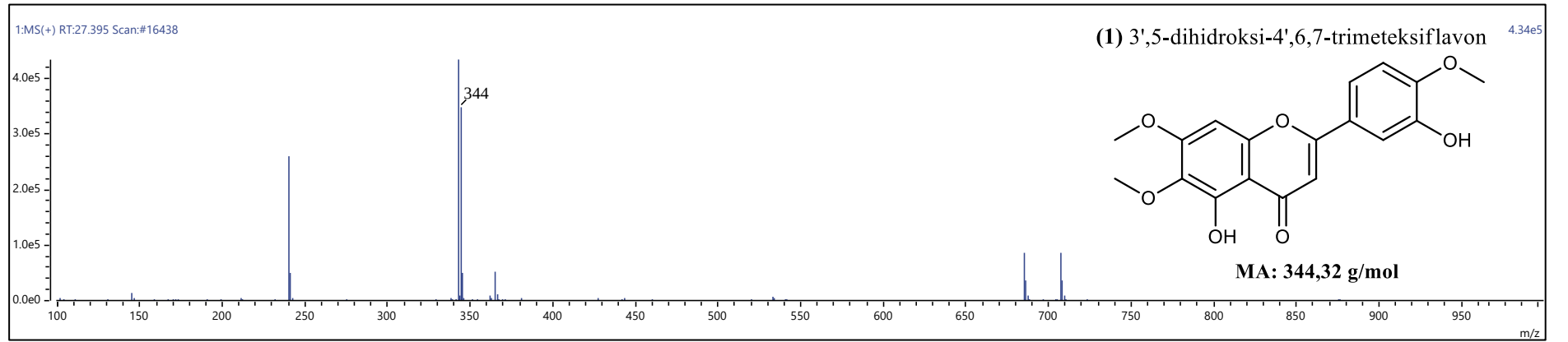
- Şen, A., ve Halkman, A.K. (2006). Çiğ Sütte *Pseudomonas aeruginosa* Sayılması için Yöntem Modifikasyonları Üzerine Çalışmalar. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, Cilt: 04 Sayı: 02 Sayfa: 2-13, www.mikrobiyoloji.org/pdf/702060202.pdf.
- Tabaraki, R., Heidarizadi, E., & Benvidi, A. (2012). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. *journal homepage: www.elsevier.com/locate/seppur*, Separation and Purification Technology 98 (2012) 16–23
- Tanış, H., Aygan, A., & Digrak, M. (2009). Antimicrobial Activity of Four *Nigella* species Grown in Southern Turkey. *Int J Agric Biol*, 11-6: 771-774.
- Tanış, H., Karcıoğlu, L., Dıraz, E., & Aygan, A. (2010). Kahramanmaraş Bölgesinde Yetisen Işgın (*Rheum ribes* L.)'ın Antibakteriyal Aktivitesinin Belirlenmesi, *KSÜ Doğa Bil. Derg.*, 13(2), 2010.
- Thomas, R.H., Bernards, M.A., Drake, E.E., Guglielmo, G.C. (2010). Changes in the antioxidant activities of seven herb- and spice-based marinating sauces after cooking. *Journal of Food Composite and Analysis*, 23:244-252.
- Tousi, M.S., Sepehri, H., Khoei, S., Farimani, M.M., Delphi, L., Mansourizadeh, F. (2021). Evaluation of apoptotic effects of mPEG-b-PLGA coated iron oxide nanoparticles as a eupatorin carrier on DU-145 and LNCaP human prostate cancer cell lines. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 11 (2021) 108-121
- Tsimogiannis, D., Samiotaki, M., Panayotou, G., & Oreopoulou, V. (2007). Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. *Molecules*, 12, 593-606.
- Tucureanu, V., Matei, A., & Avram, A.M. (2016). FTIR Spectroscopy for Carbon Family Study. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, ISSN: 1040-8347, <https://doi.org/10.1080/10408347.2016.1157013>
- Tunalier, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K.H.C., Duman, H., & Kırimer, N. (2002). Bazı sideritis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler*, 29-31 Mayıs 2002.
- Vermerris, W., ve Nicholson, R. (2006). Phenolic compound Biochemistry Springer, 2006; 2-14.
- WalyEldeen, A.A., Sabet, S., El-Shorbagy, H.M., Abdelhamid, I.A., & Ibrahim, S.A. (2023). Chalcones: Promising therapeutic agents targeting key players and signaling pathways regulating the hallmarks of cancer. *Chemico- Biological Interactions*, 2023, 110297
- Wannes, W. A., Mhamdi, B., Sriti, J., Jemia, M., Ouchikh, O., Hamdaoui, G. Marzouk, B. (2010). Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var . *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food and Chemical Toxicology*, 48(5), 1362–1370. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.03.002>

- Wu, J.F., Chen, S.B., Chen, S.L., & Tu, P.F. (2007). The Chemical Constituents Of Polygala Hongkongensis Hemsl Article in Chinese. *Yao Xue Xue Bao*. 2007 Jul;42(7):757-61. Affiliations expand, PMID: 17882961
- Zoral, B., ve Turgay, Ö. (2014). Çeşitli gıda atıklarının toplam fenolik madde içeriğinin, antioksidan ve antimikrobiyel aktivitelerinin araştırılması. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 17(2).
- Zuntar, I., Hved, E.D., Šupljika, F., Poljanec, A., Dubrovi, I., & Jambrak, A.R. (2019). Phenolic and antioxidant analysis of olive leaves. *Foods* 2019, 8, 248 doi:10.3390/foods8070248

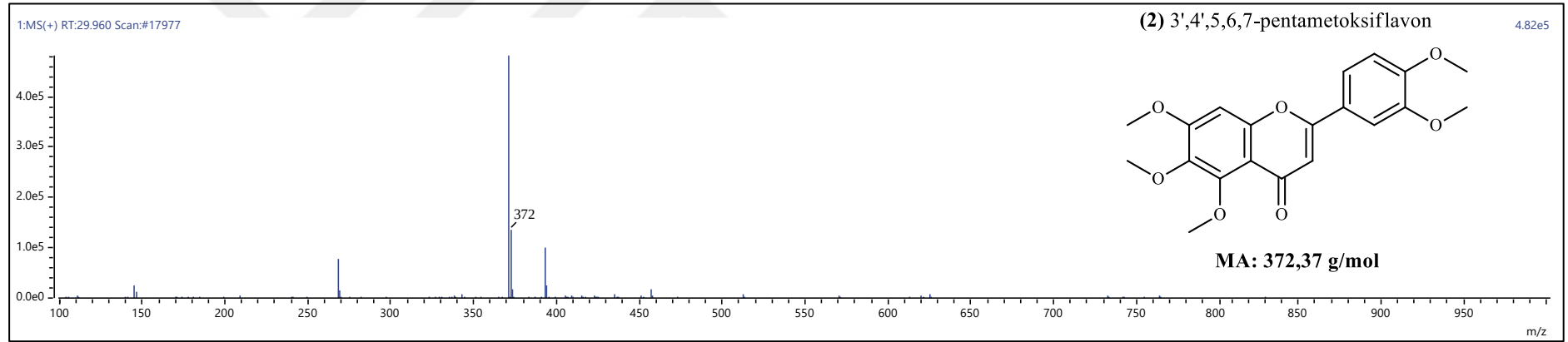


EKLER

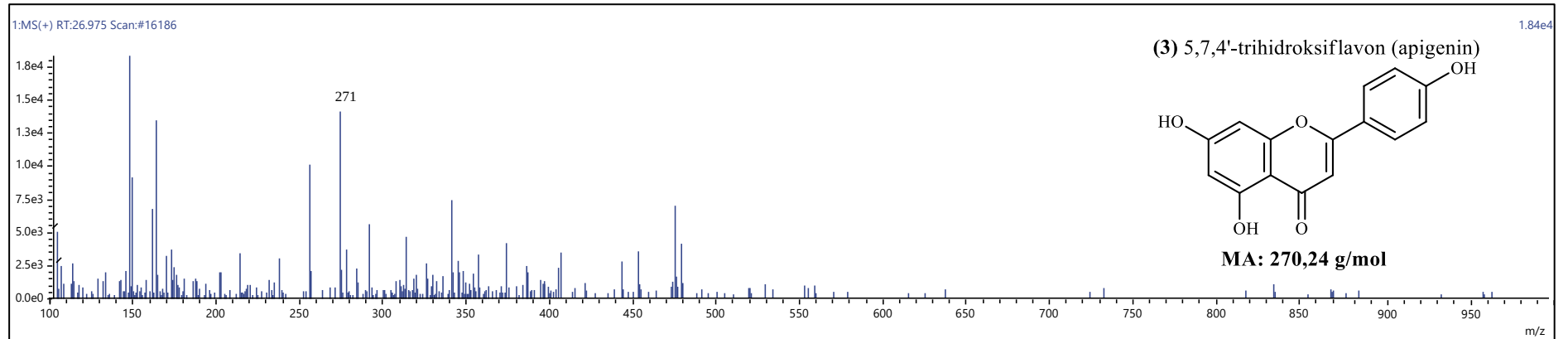
EK A.



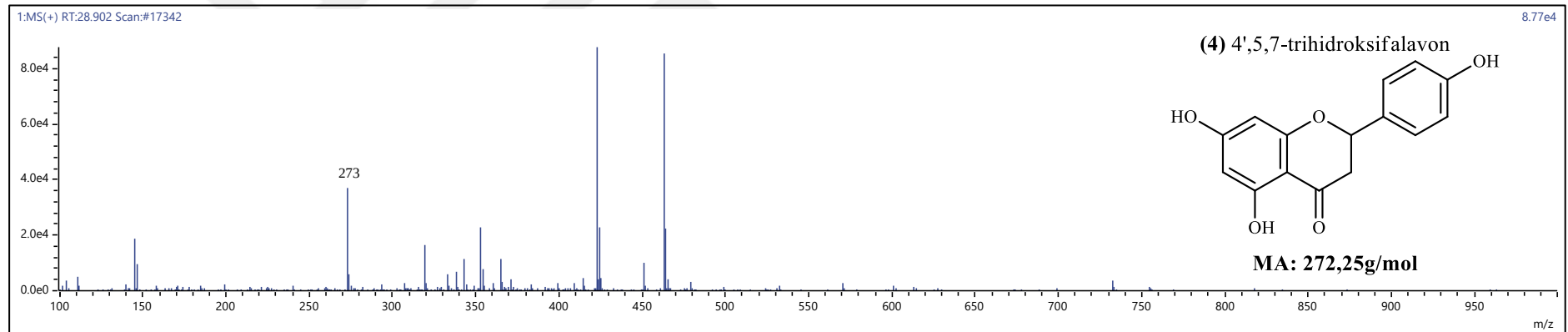
Şekil A.1.



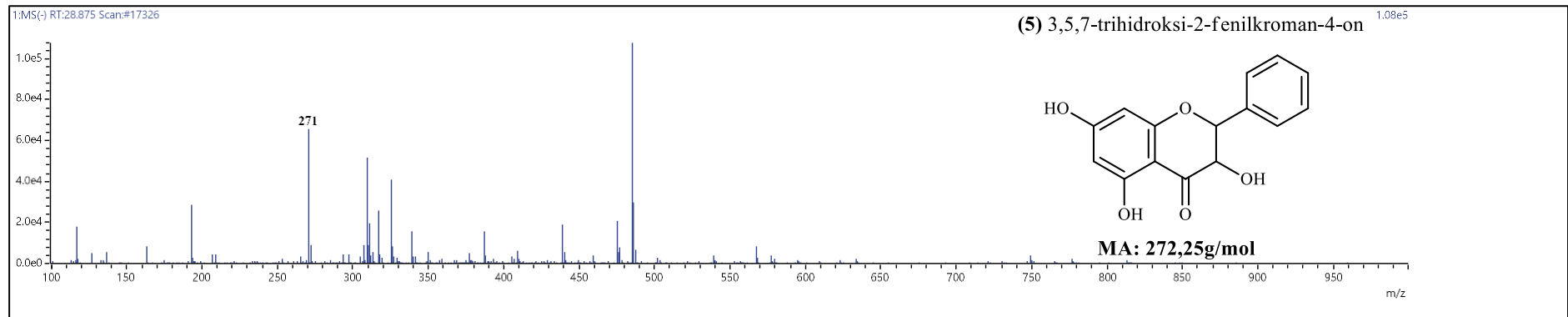
Şekil A.2.



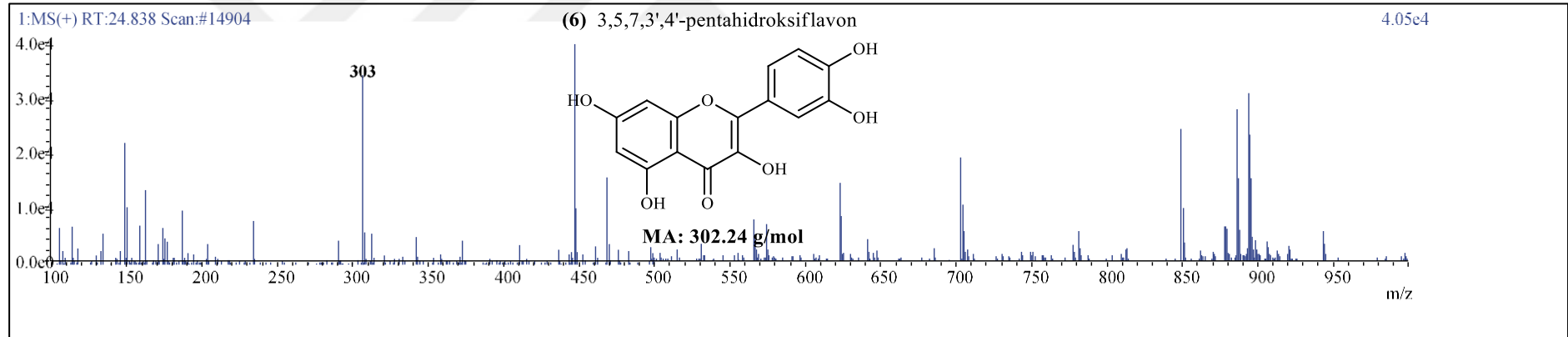
Şekil A.3.



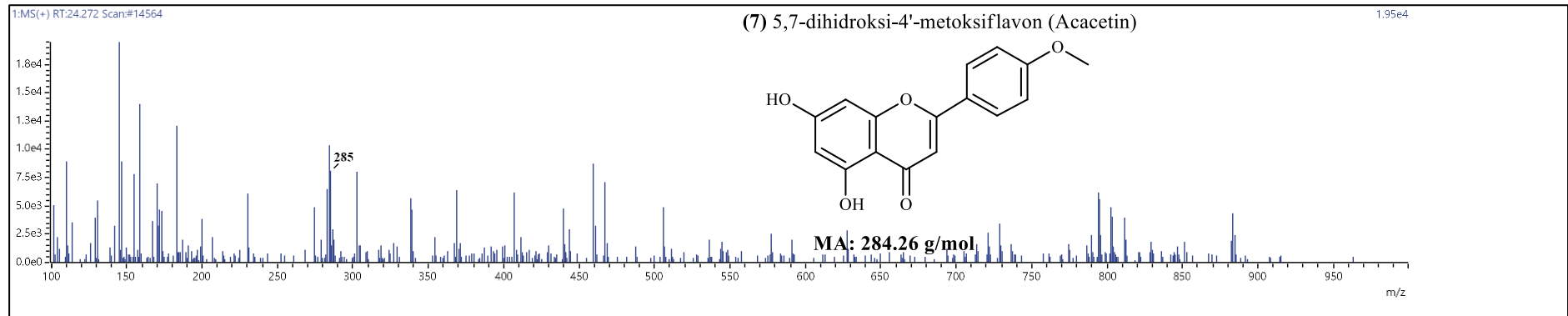
Şekil A.4.



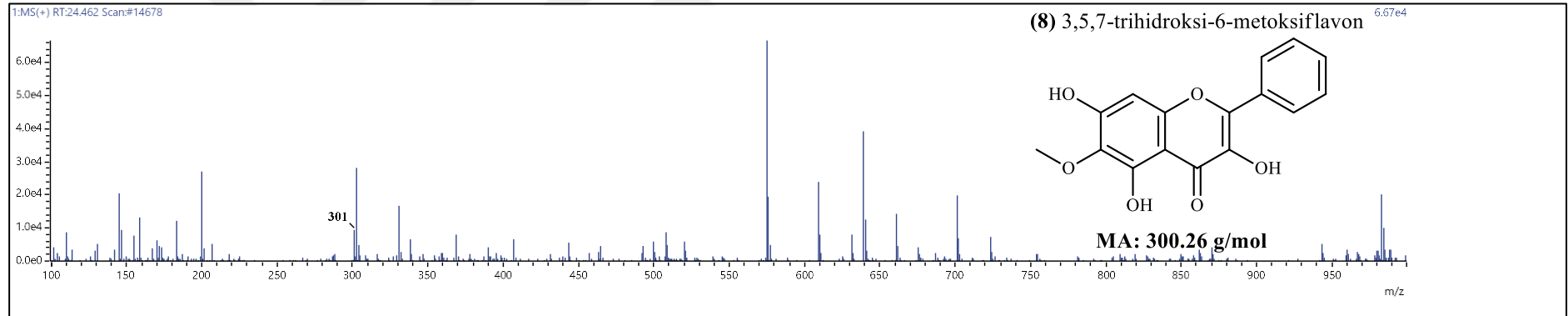
Şekil A.5.



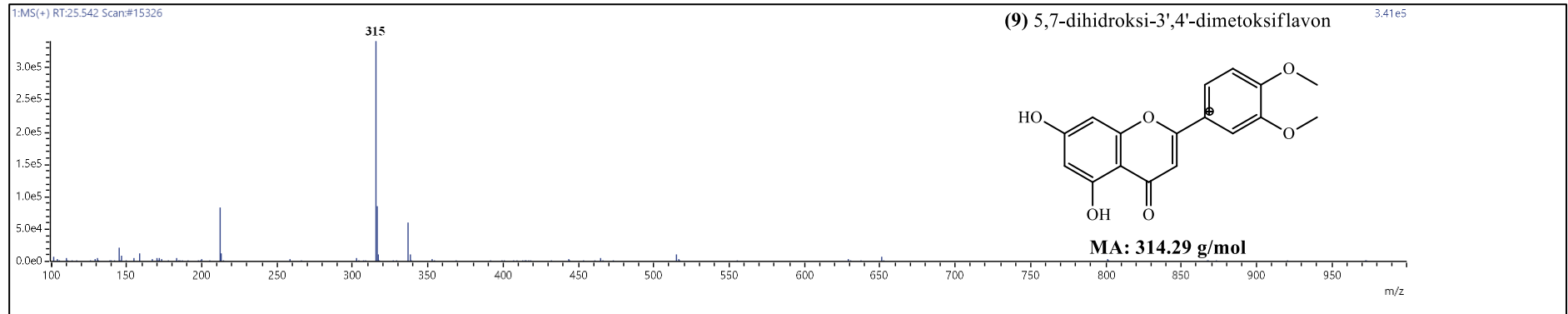
Şekil A.6.



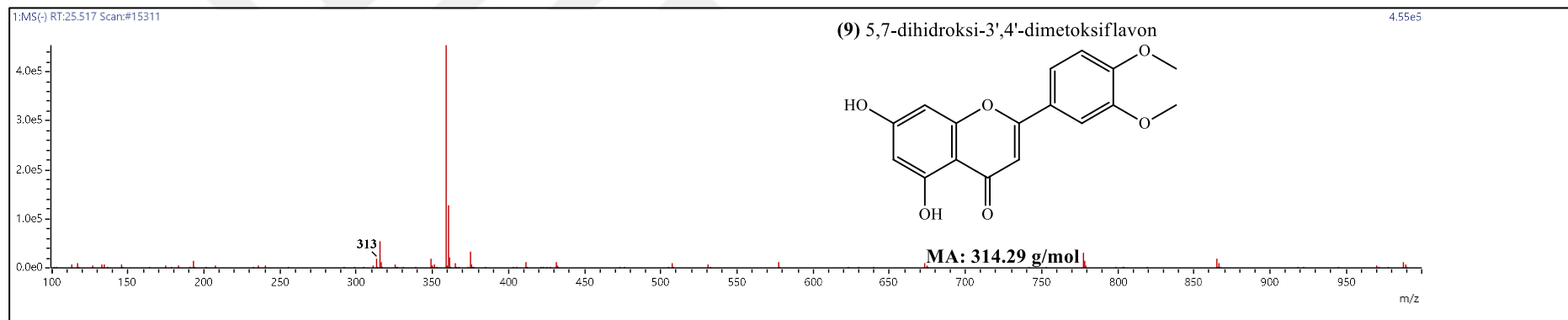
Şekil A.7.



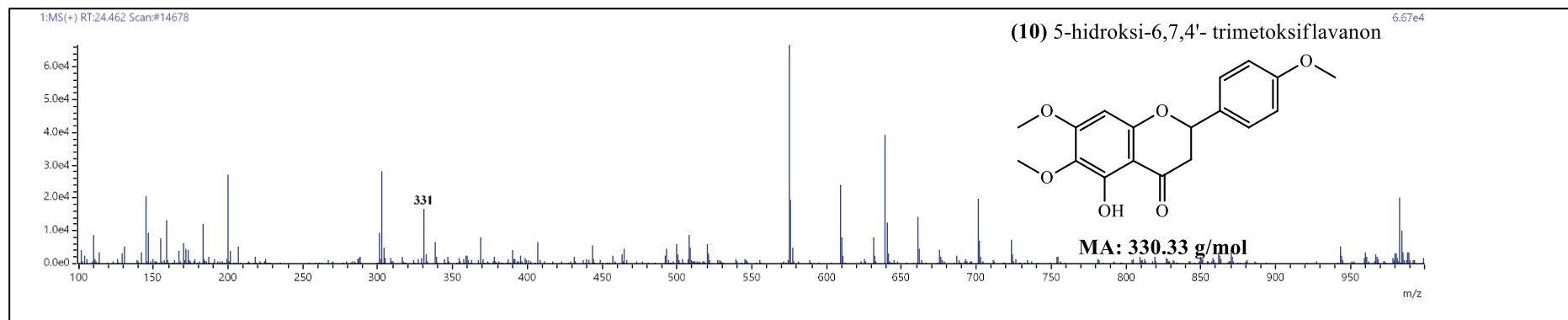
Şekil A.8.



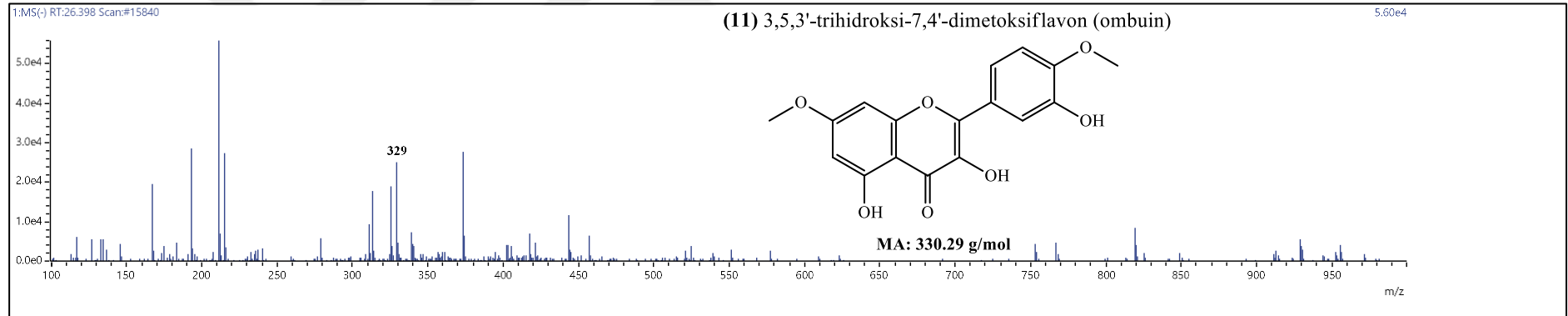
Şekil A.9.



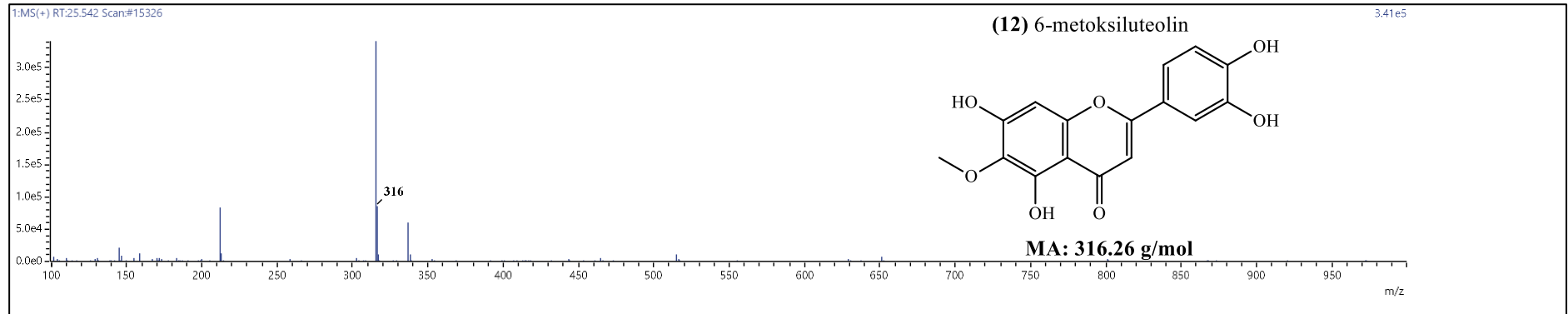
Şekil A.10.



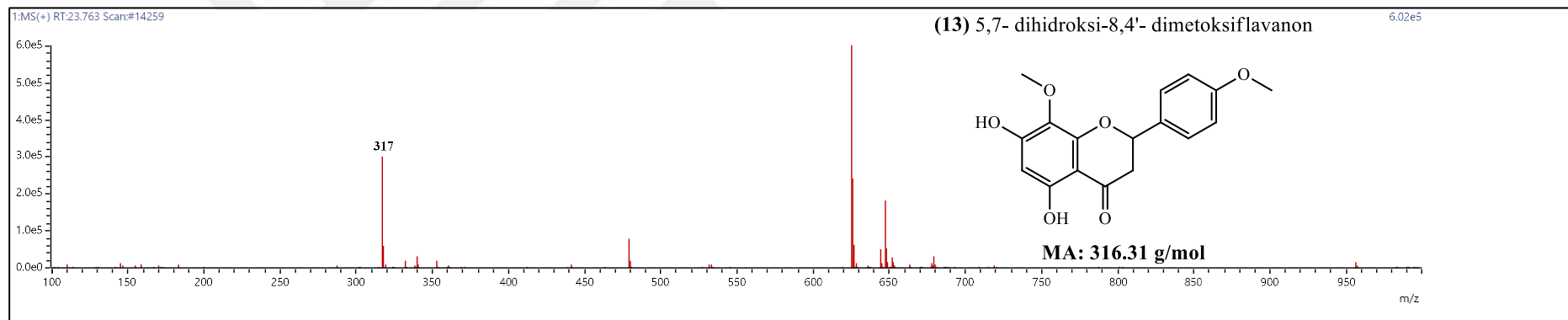
Şekil A.11.



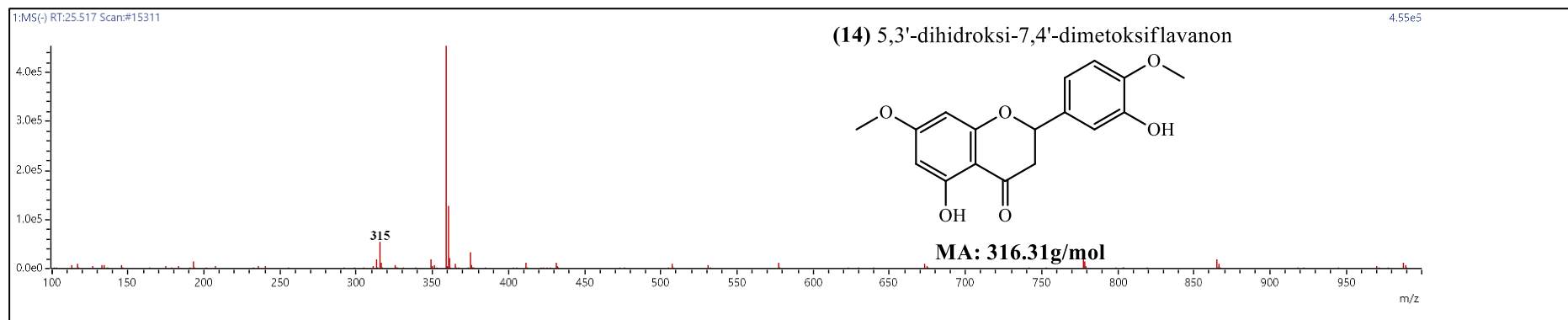
Şekil A.12.



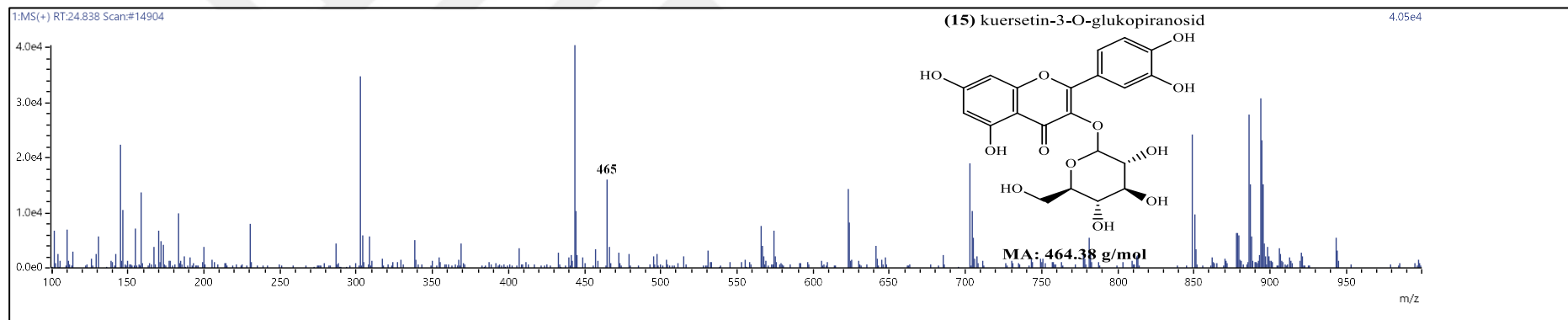
Şekil A.13.



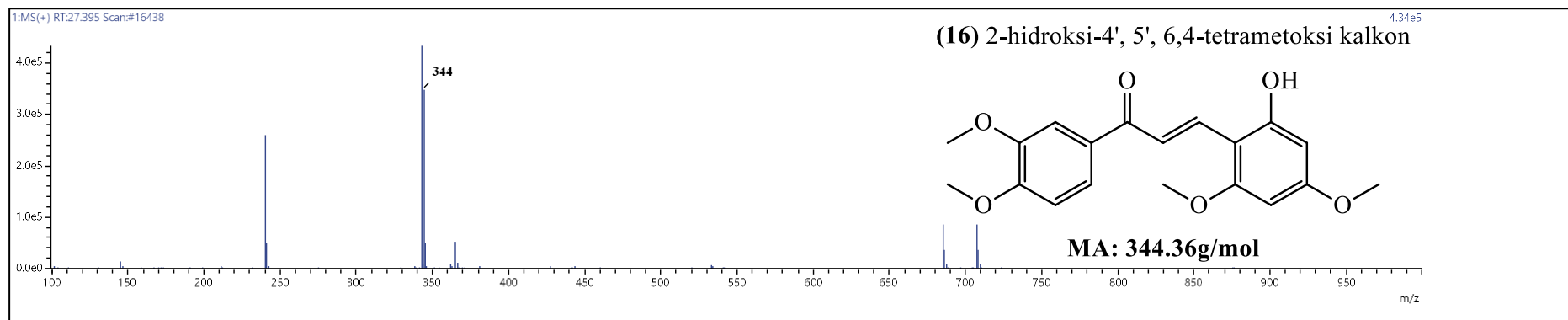
Şekil A.14.



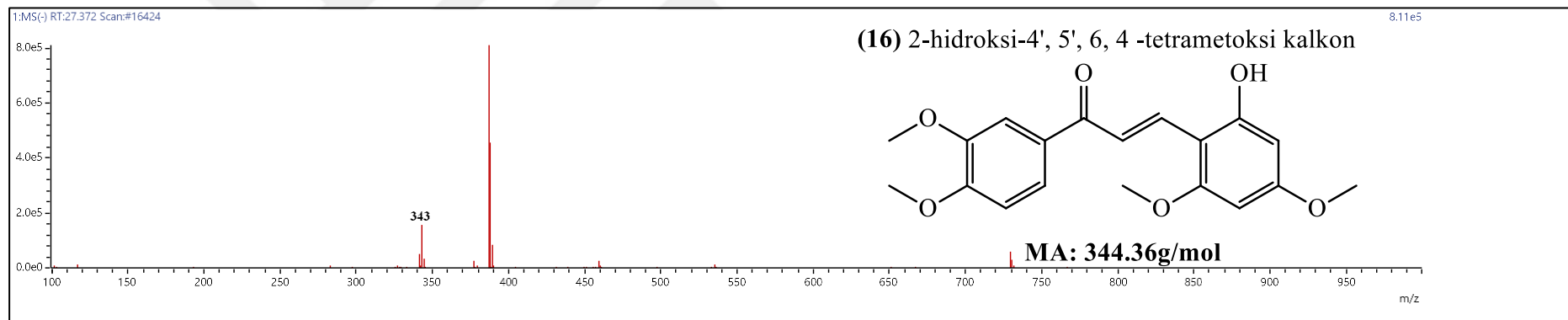
Şekil A.15.



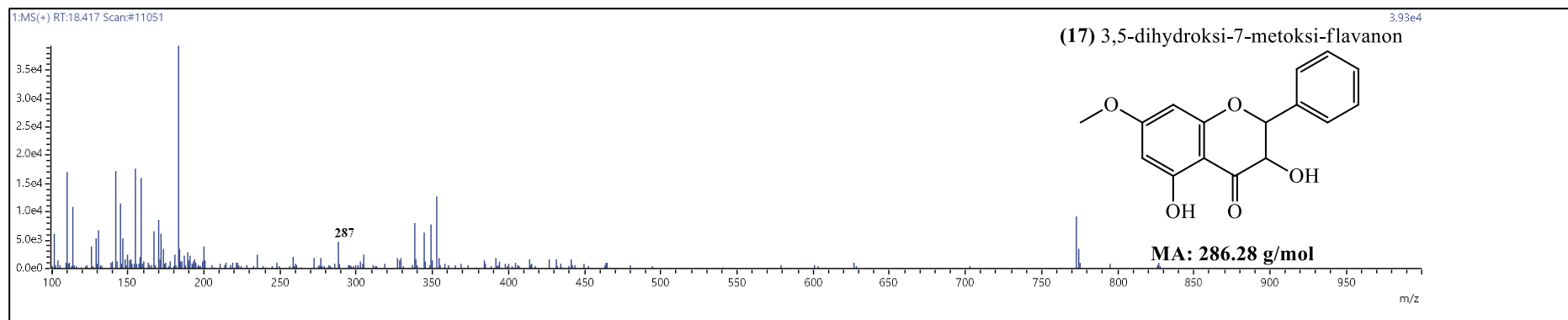
Şekil A.16.



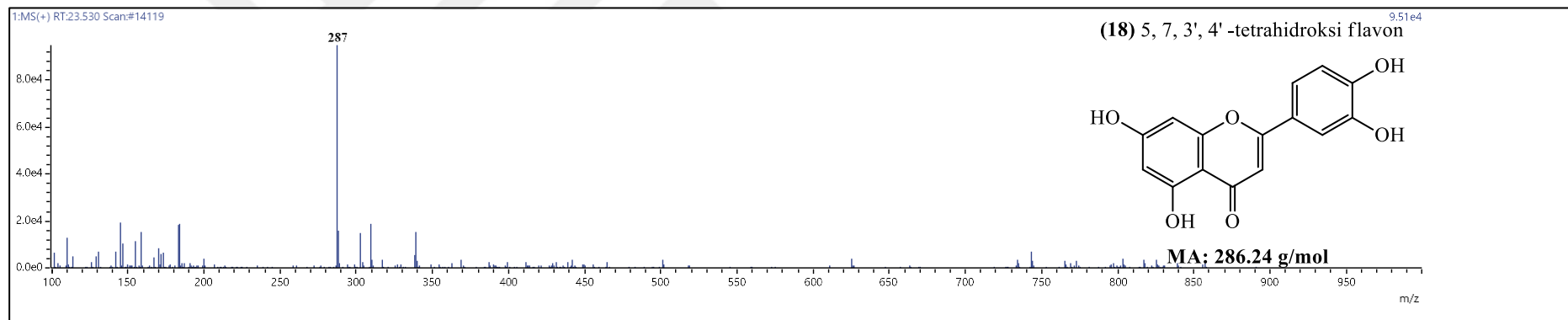
Şekil A.17.



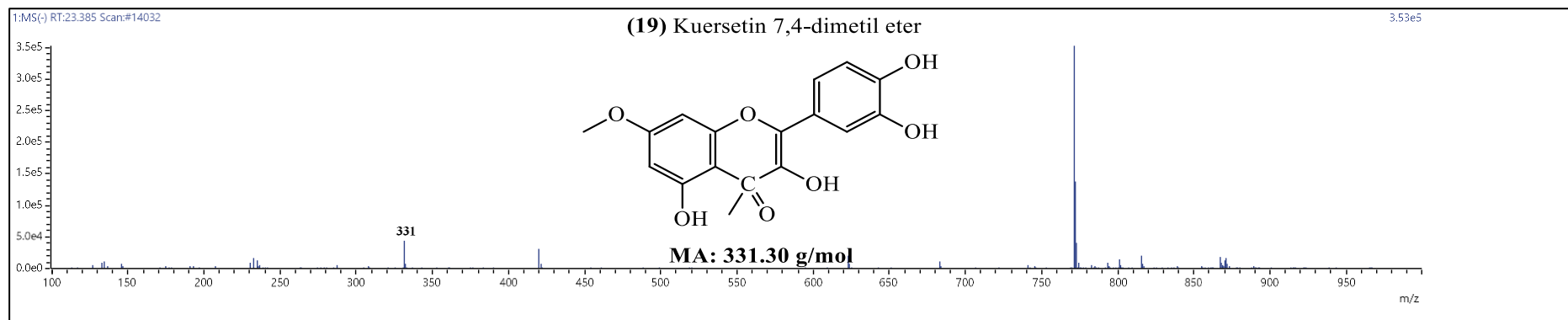
Şekil A.18.



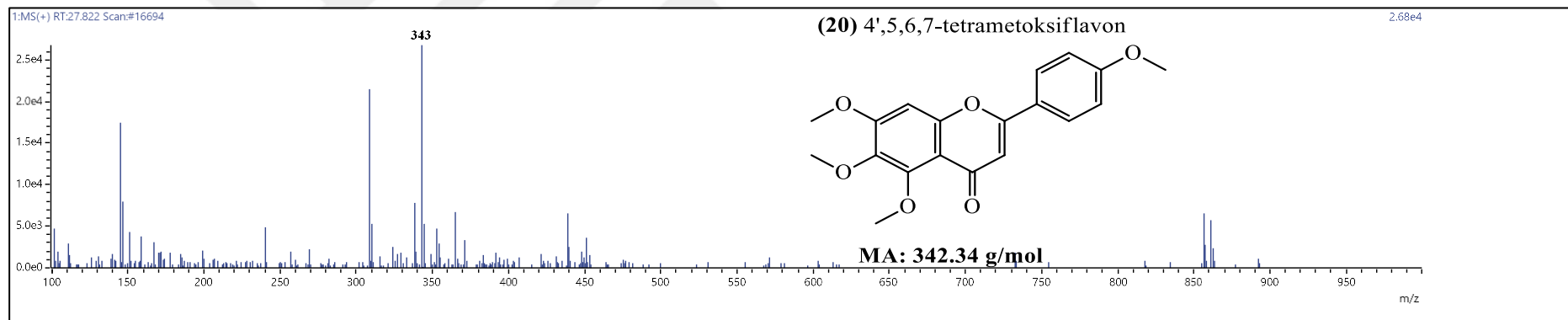
Şekil A.19.



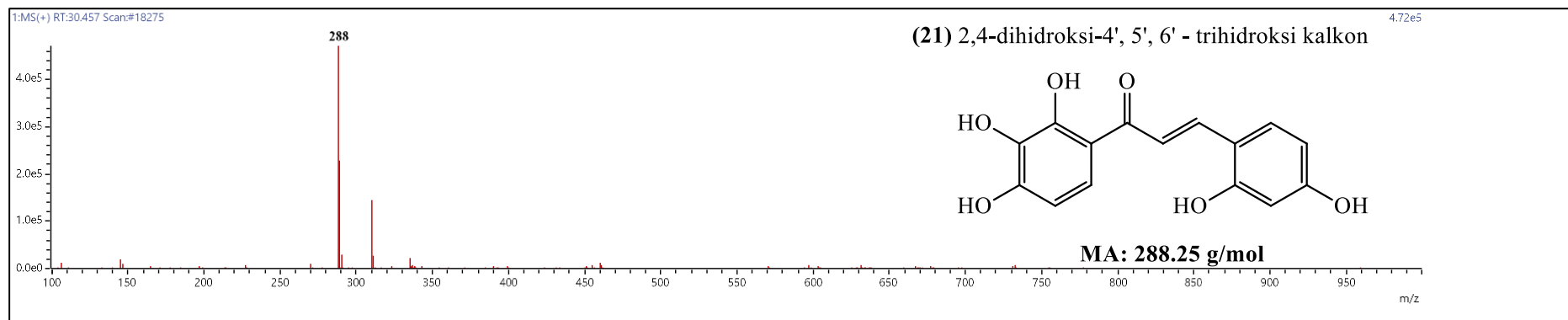
Şekil A.20.



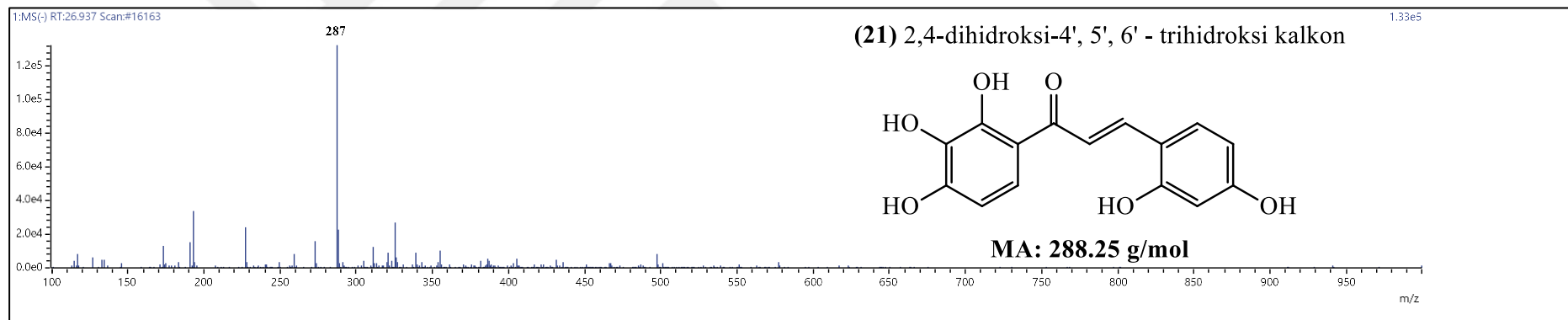
Şekil A.21.



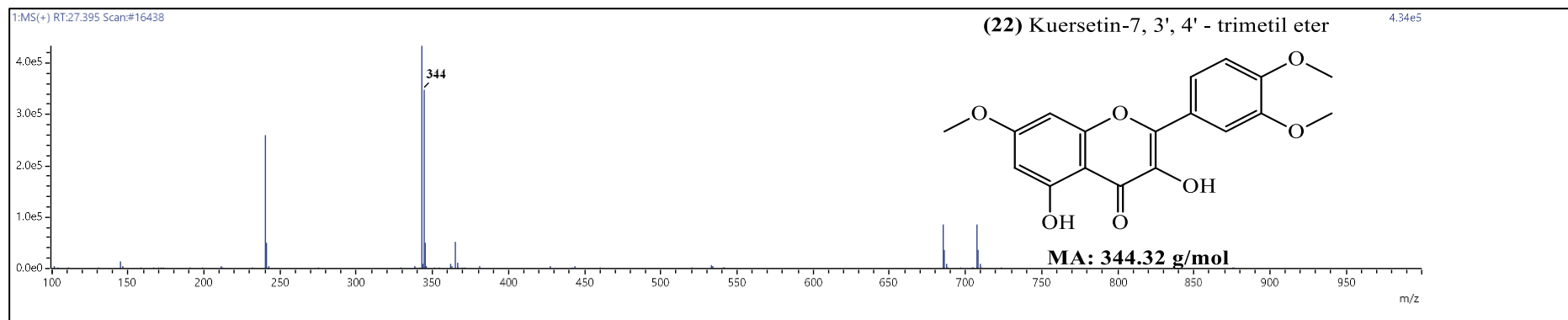
Şekil A.22.



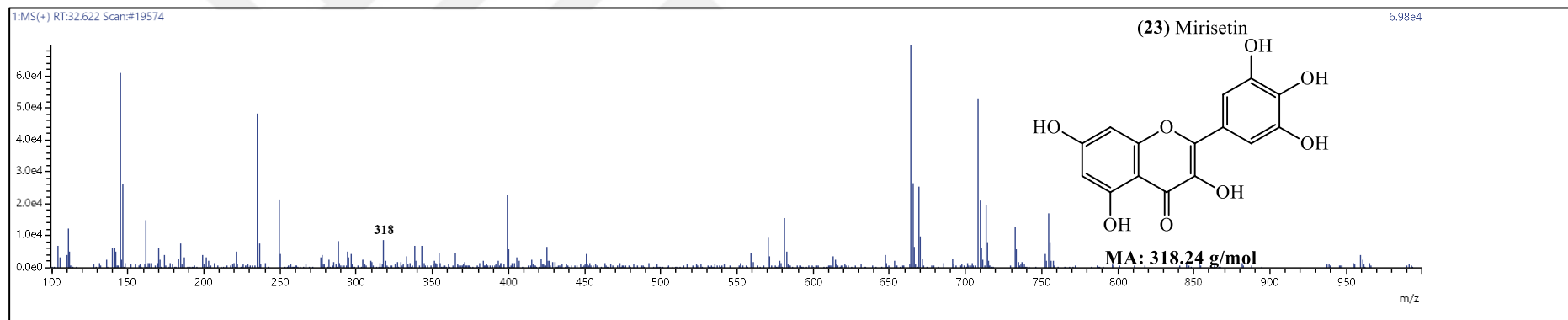
Şekil A.23.



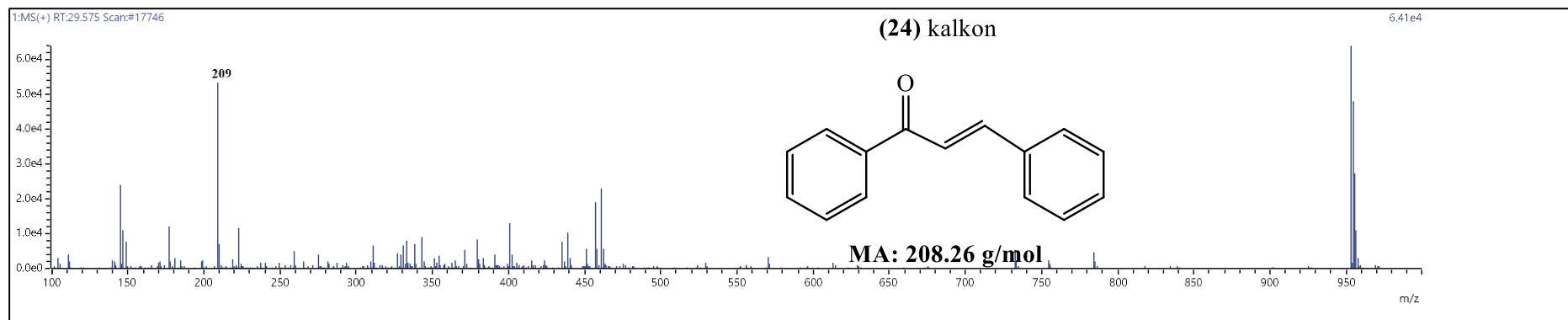
Şekil A.24.



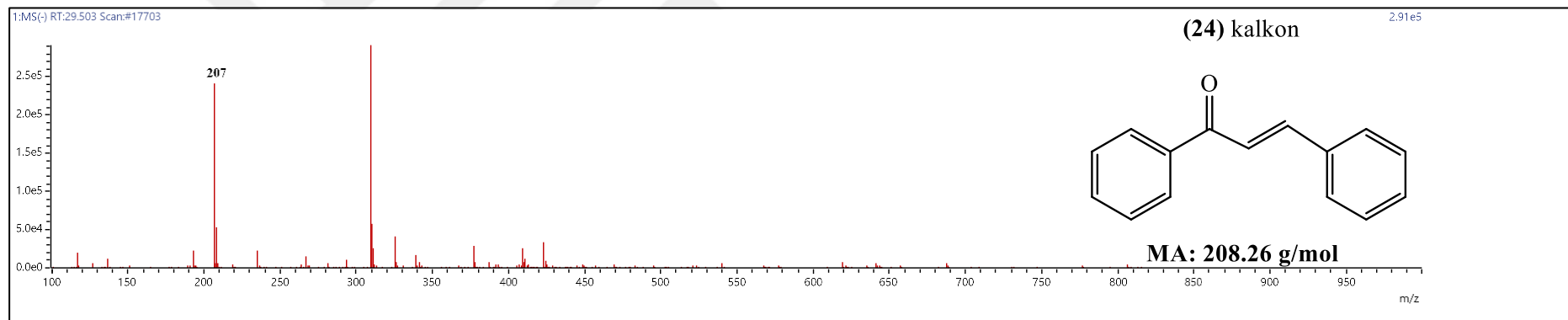
Şekil A.25.



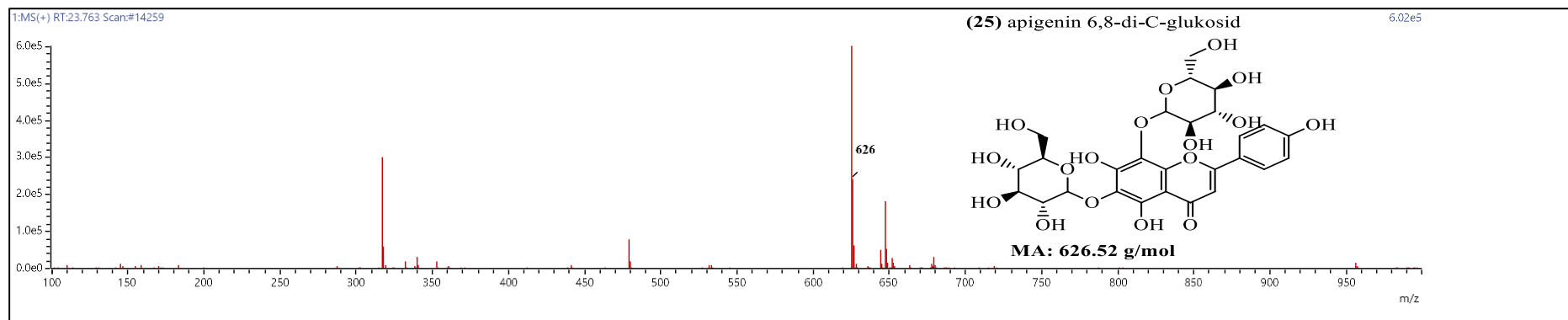
Şekil A.26.



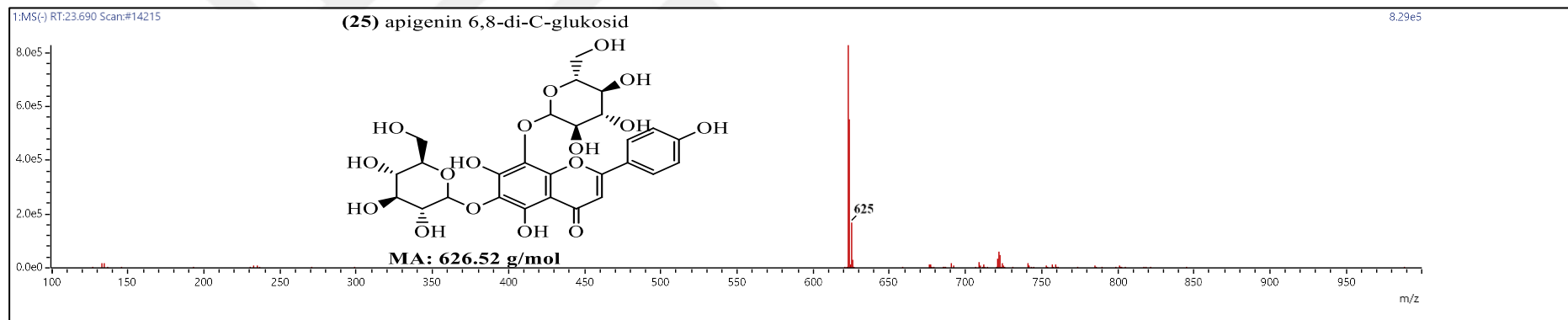
Şekil A.27.



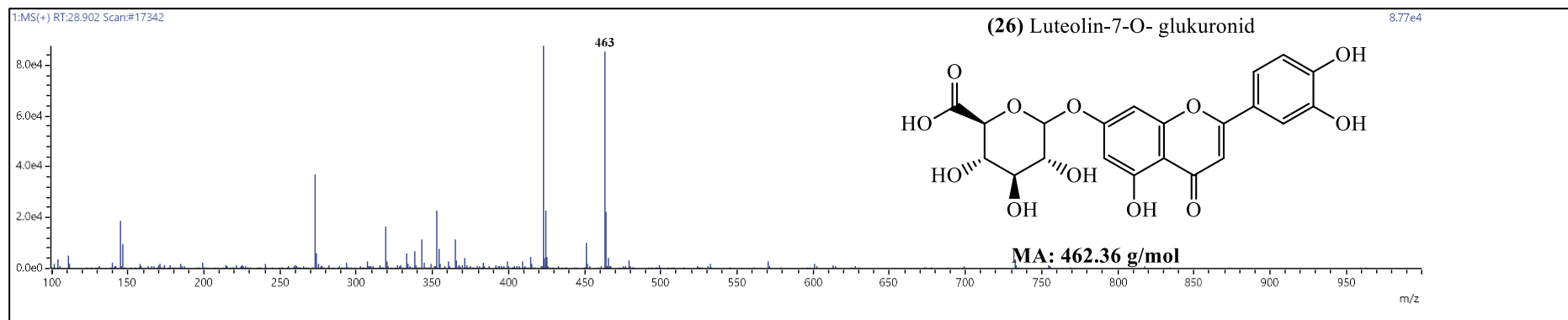
Şekil A.28.



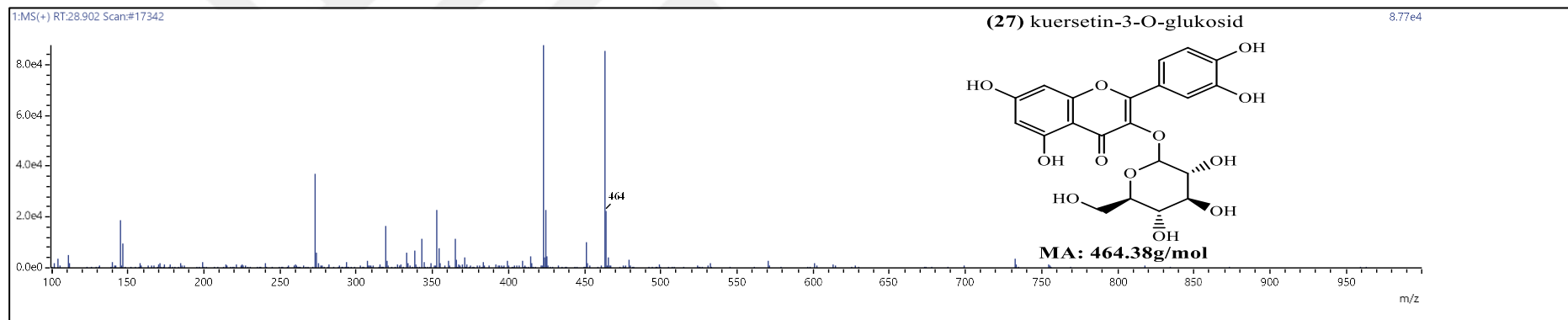
Şekil A.29.



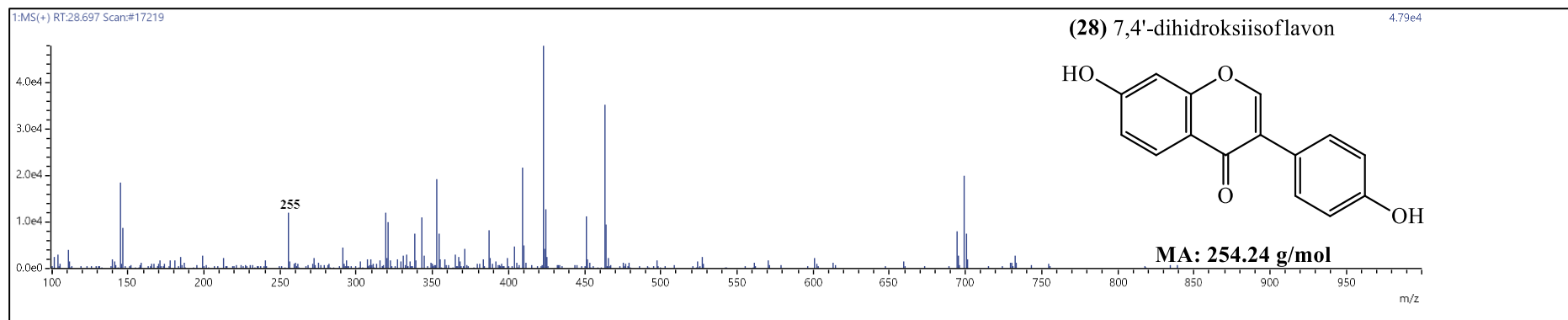
Şekil A.30.



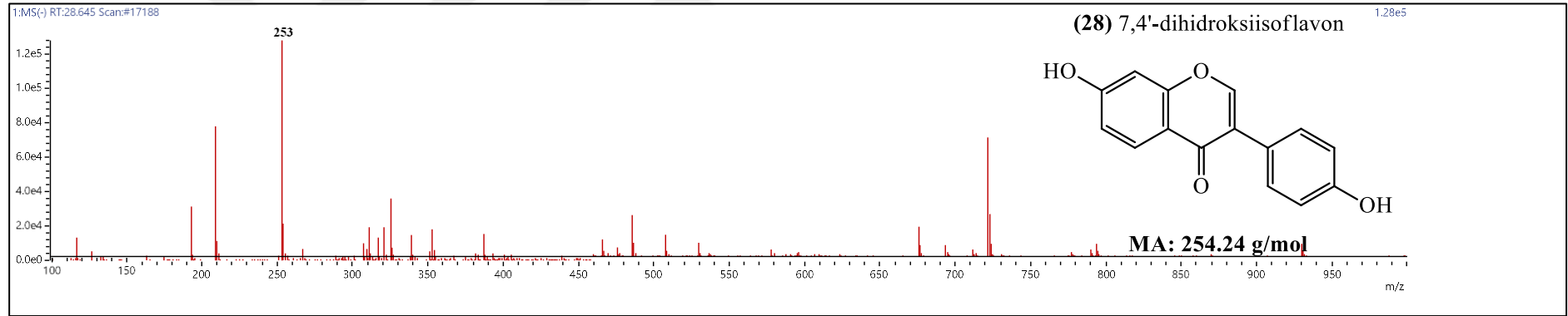
Şekil A.31.



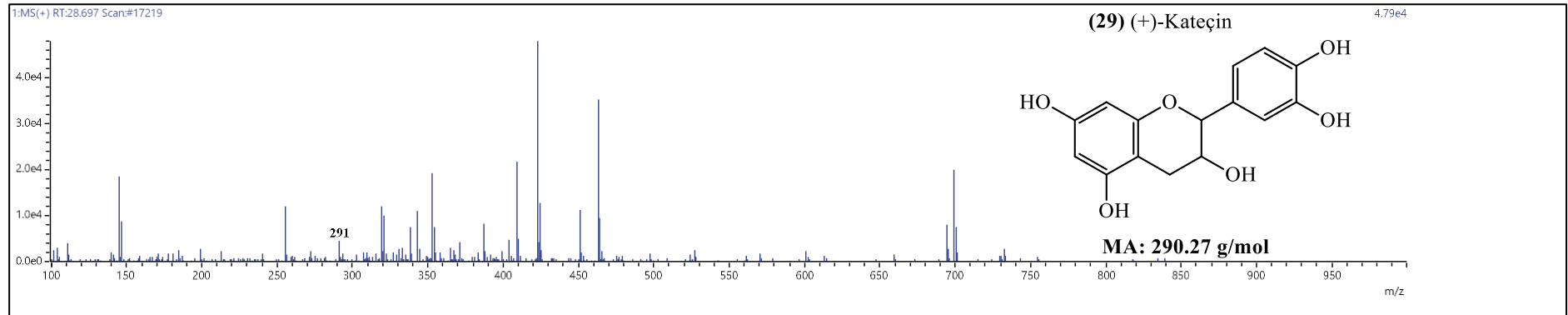
Şekil A.32.



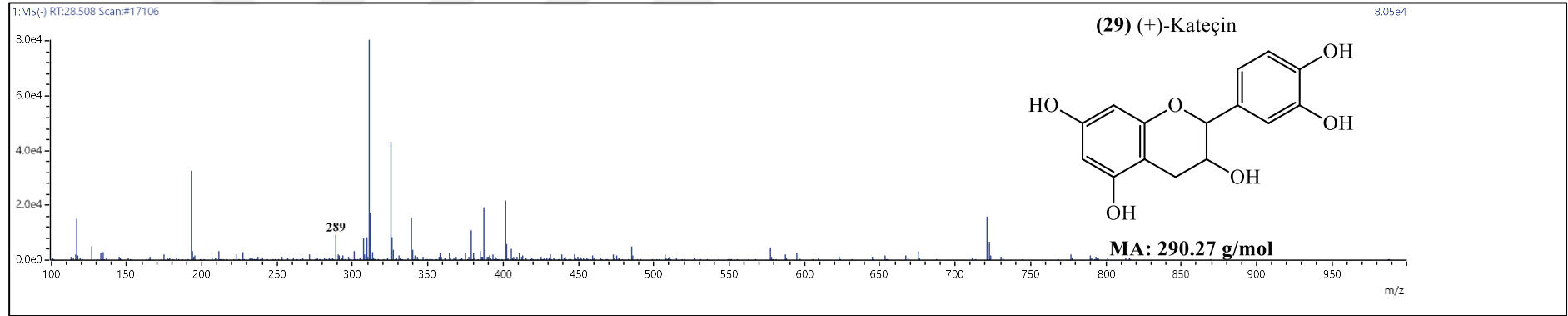
Şekil A.33.



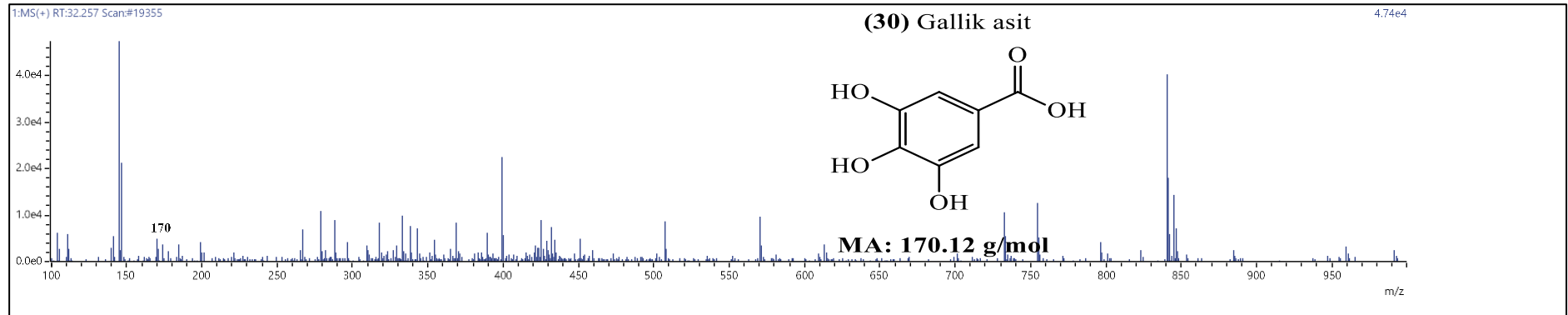
Şekil A.34.



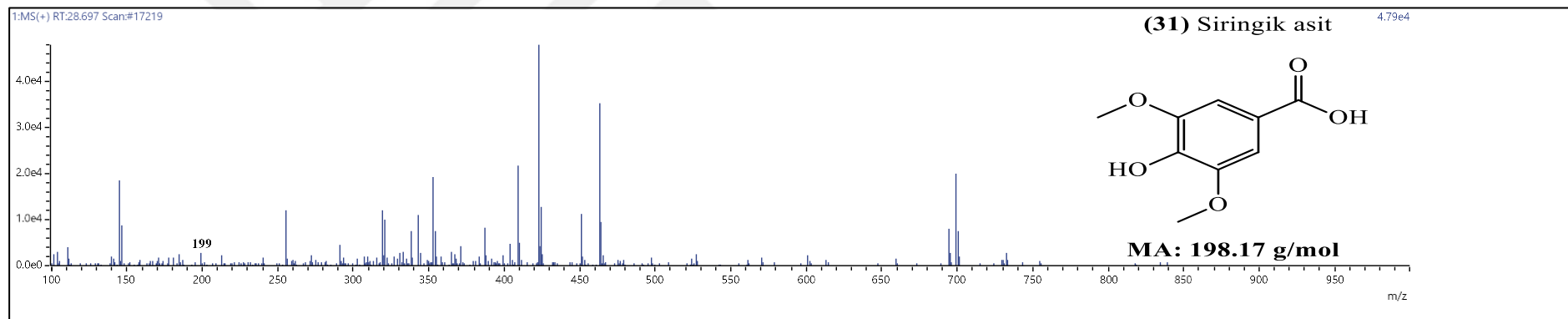
Şekil A.35.



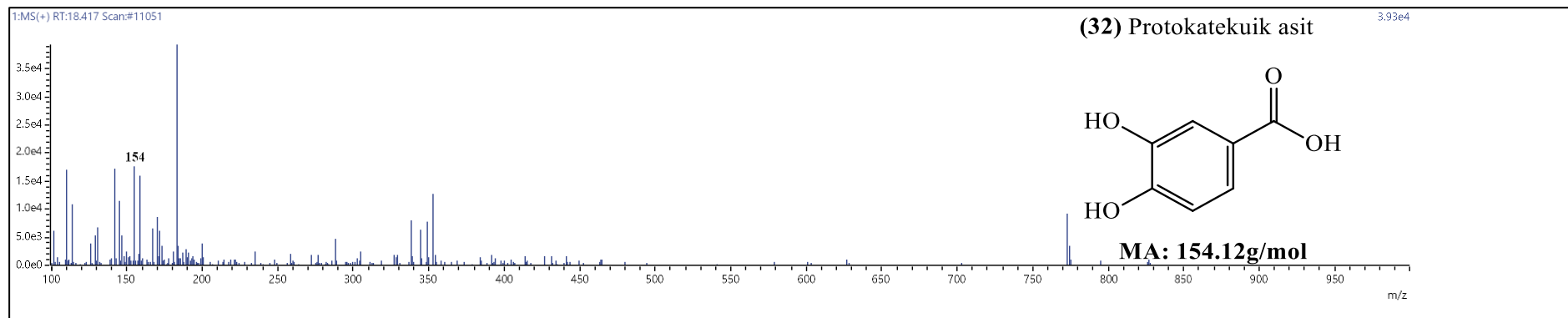
Şekil A.36.



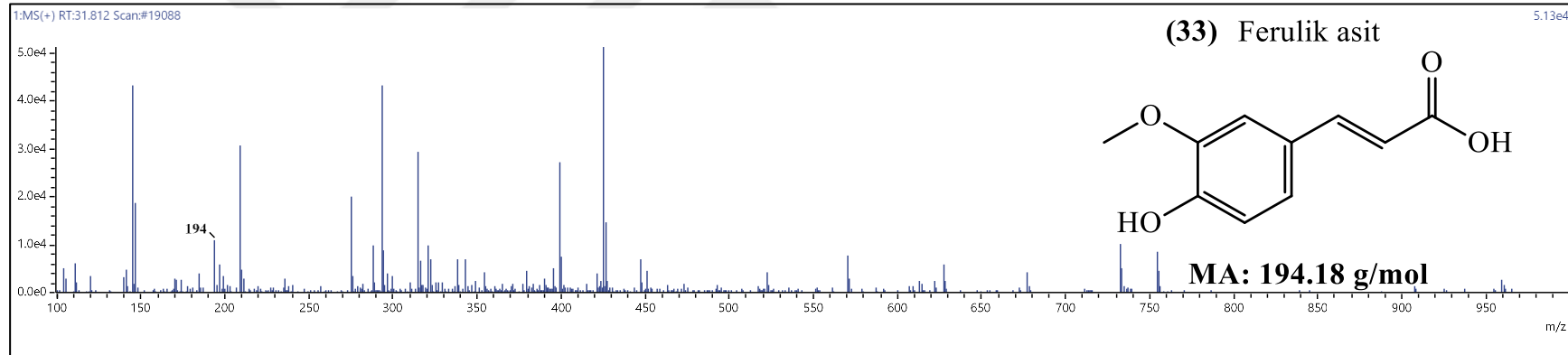
Şekil A.37.



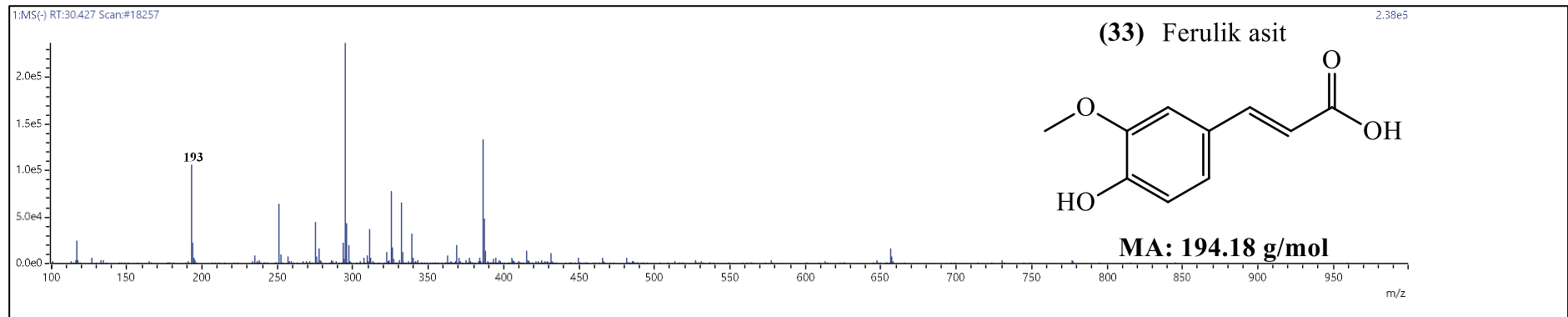
Şekil A.38.



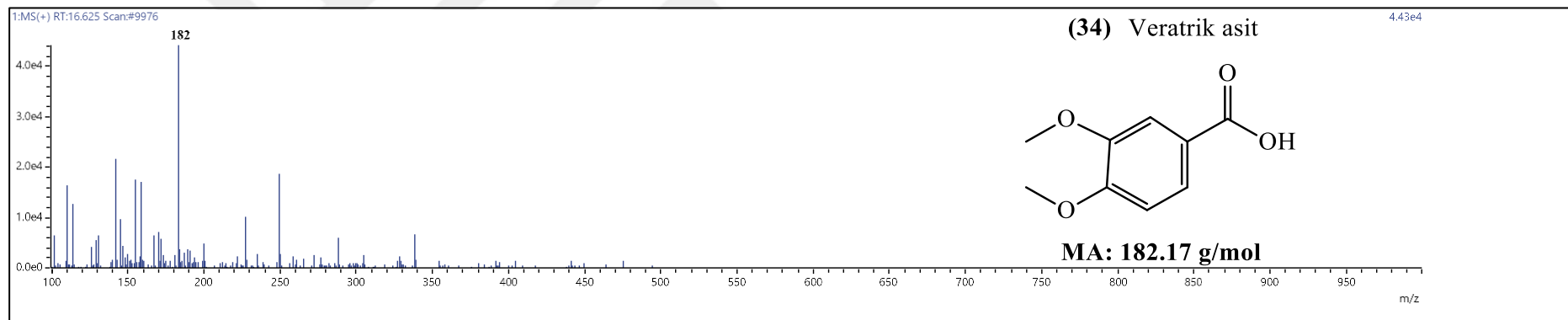
Şekil A.39.



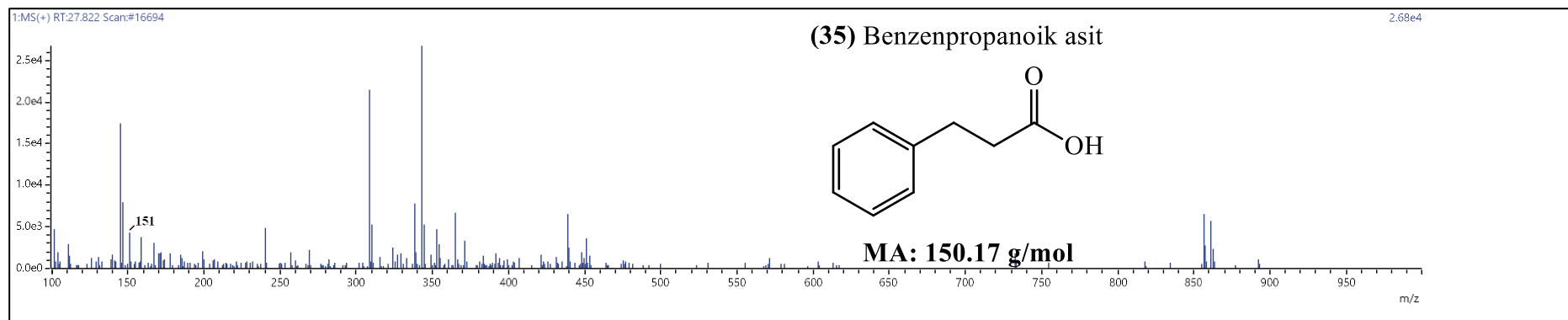
Şekil A.40.



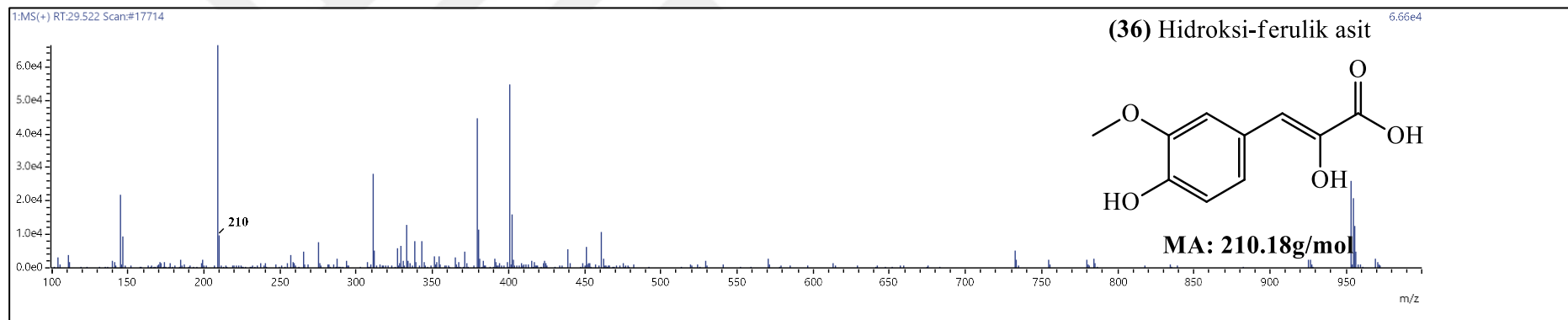
Şekil A.41.



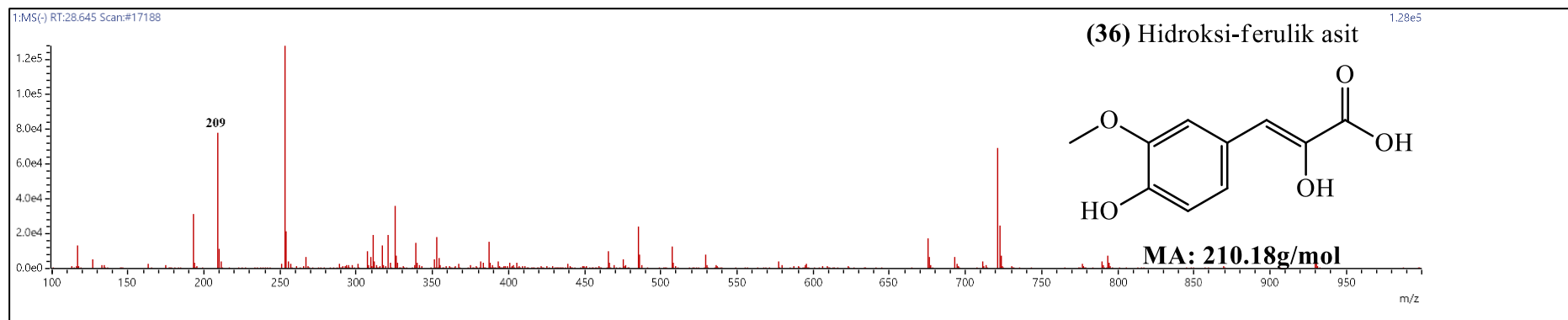
Şekil A.42.



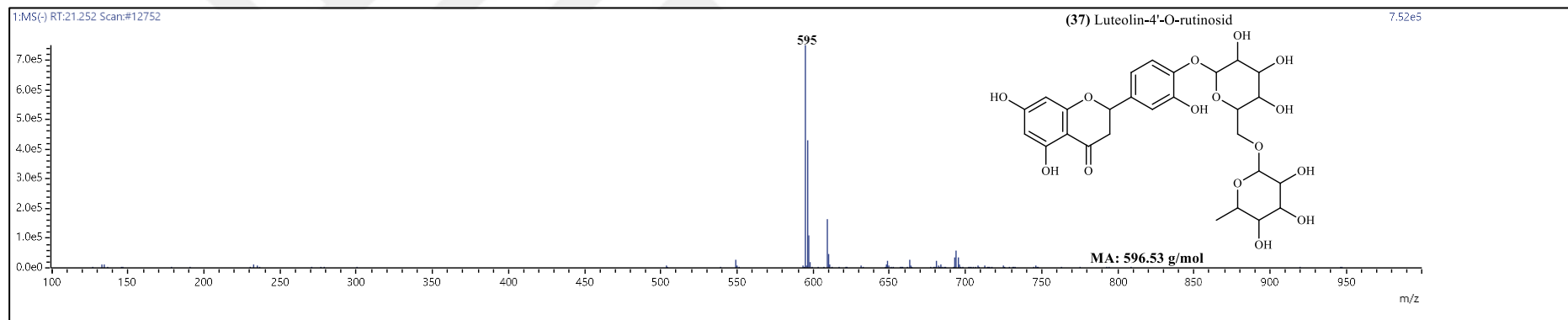
Şekil A.43.



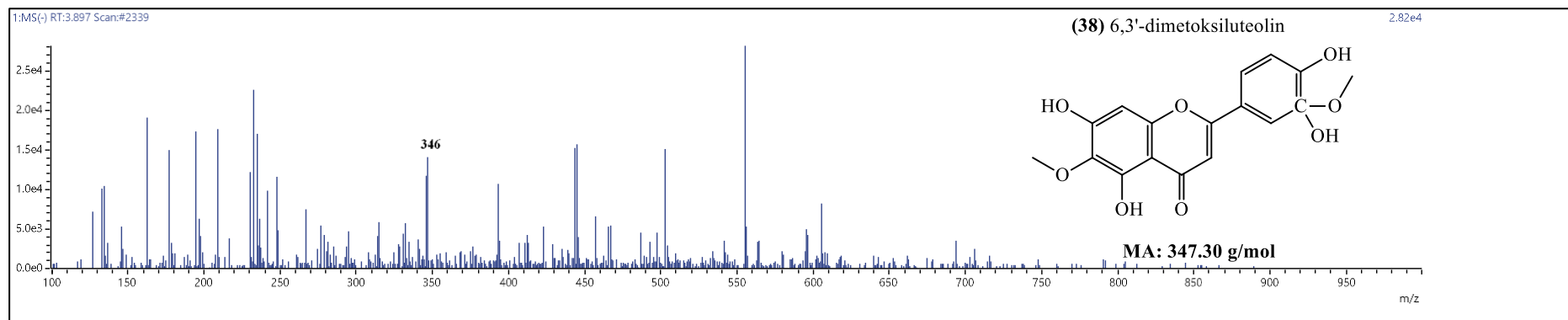
Şekil A.44.



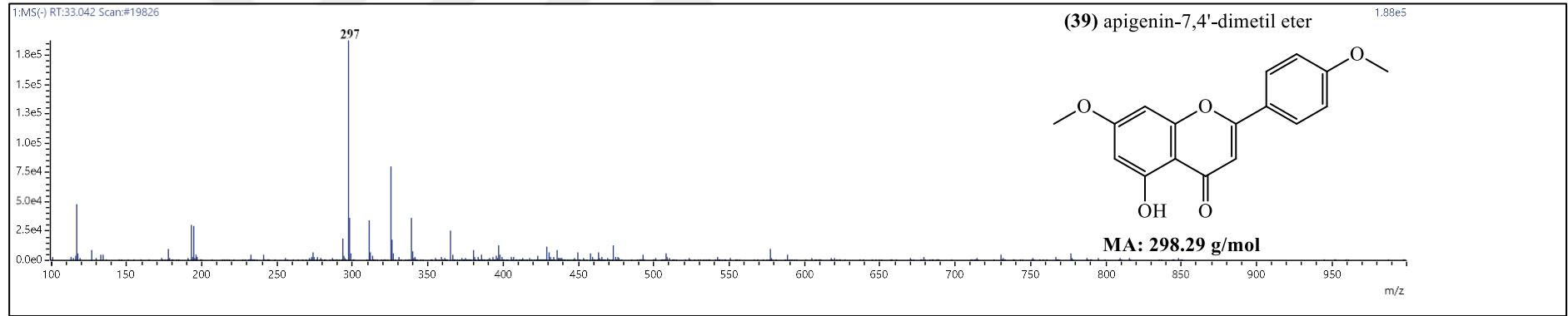
Şekil A.45.



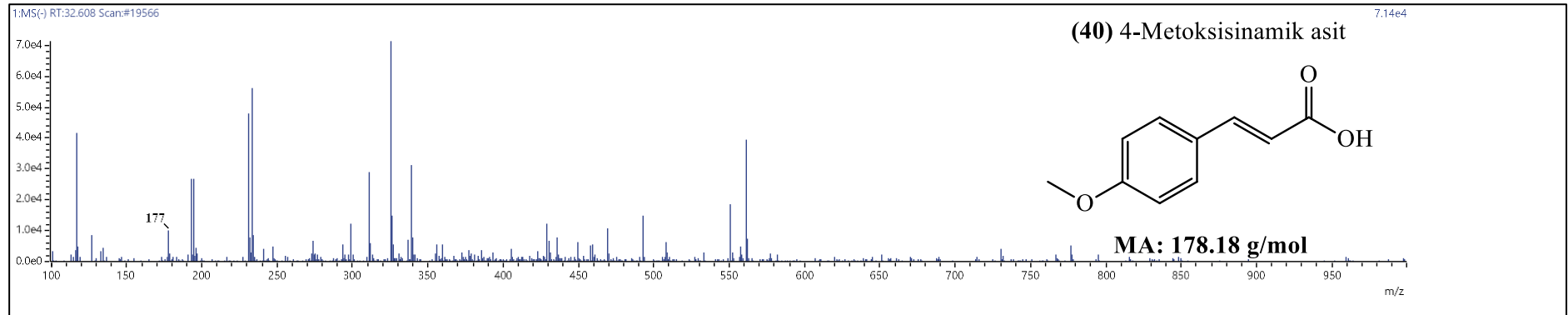
Şekil A.46.



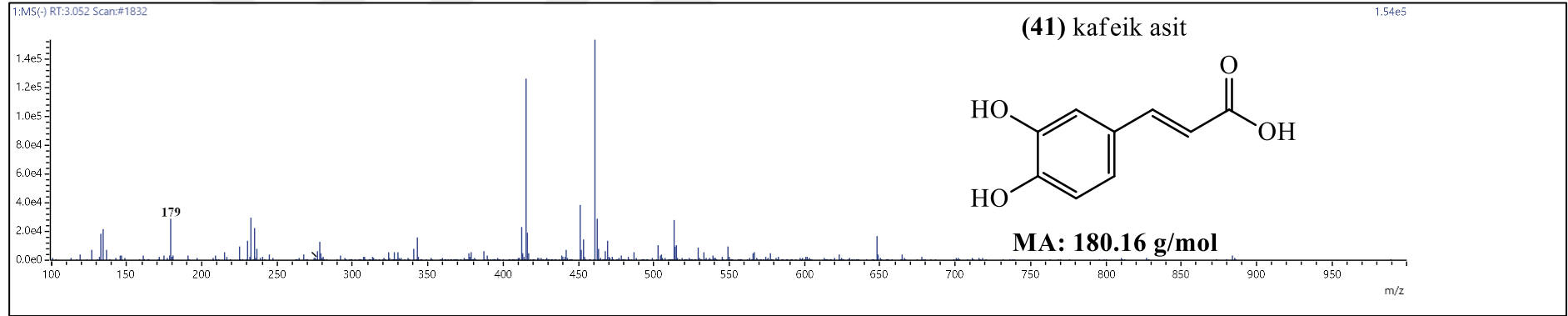
Şekil A.47.



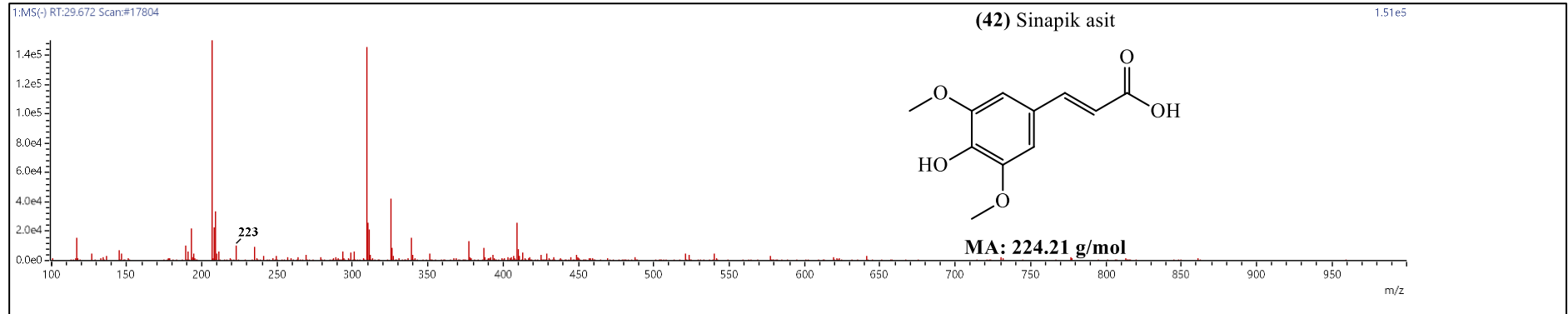
Şekil A.48.



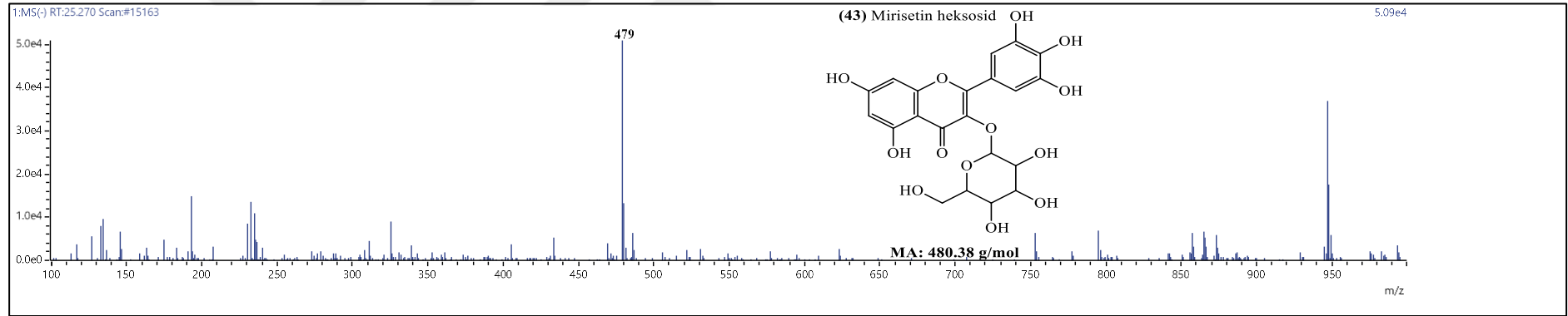
Şekil A.49.



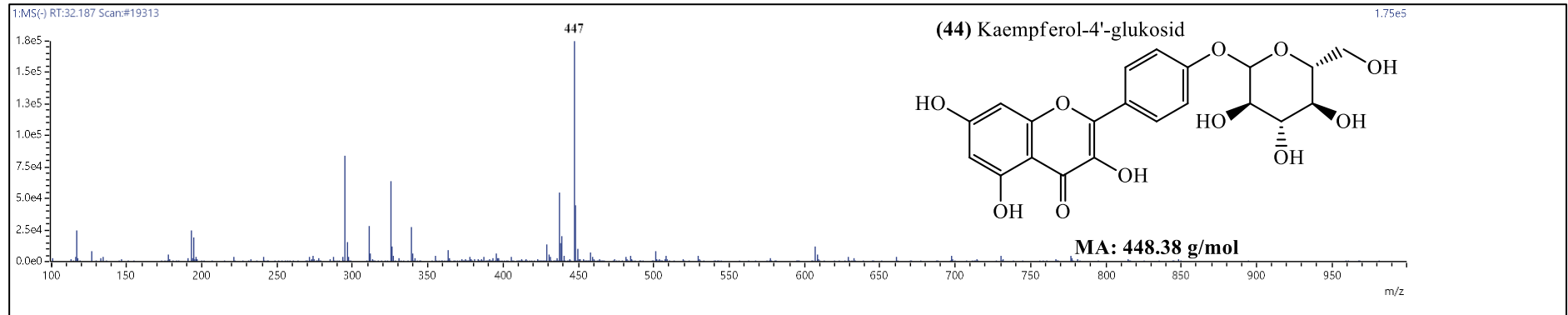
Şekil A.50.



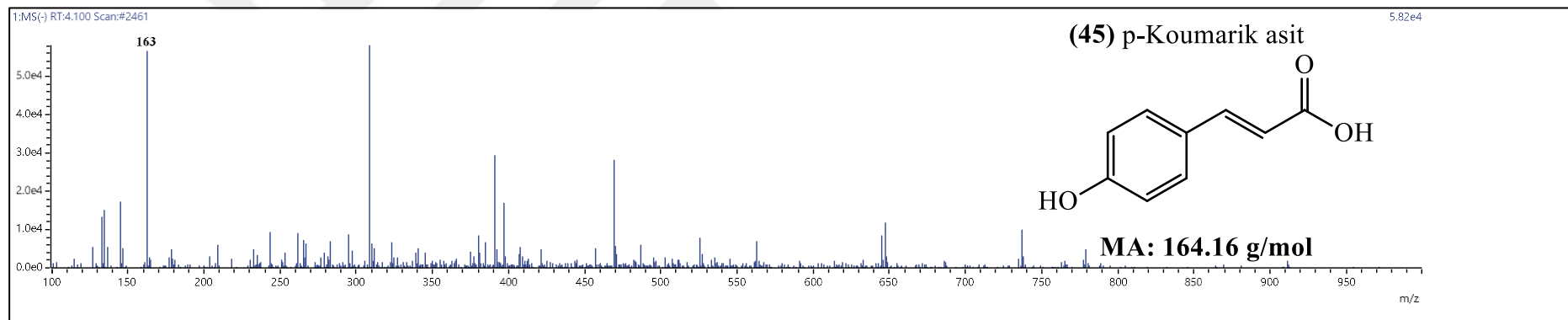
Şekil A.51.



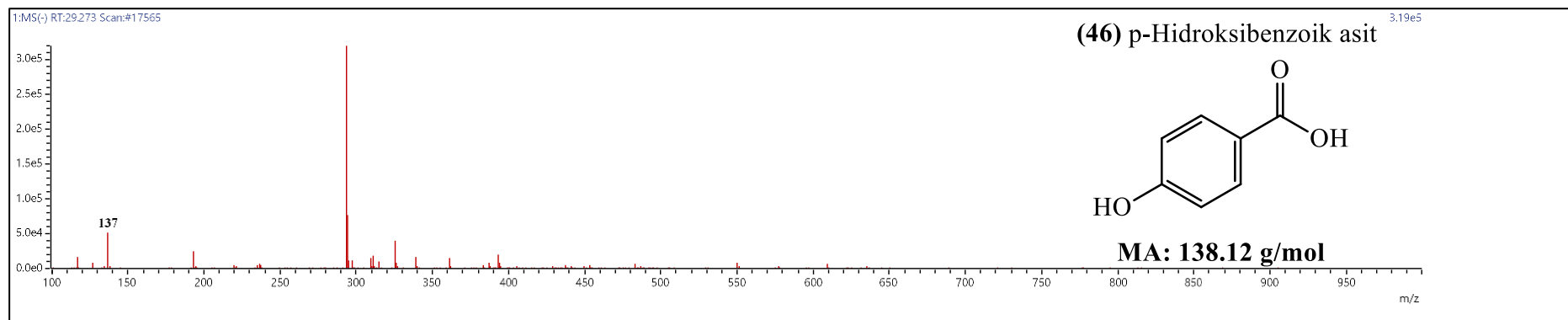
Şekil A.52.



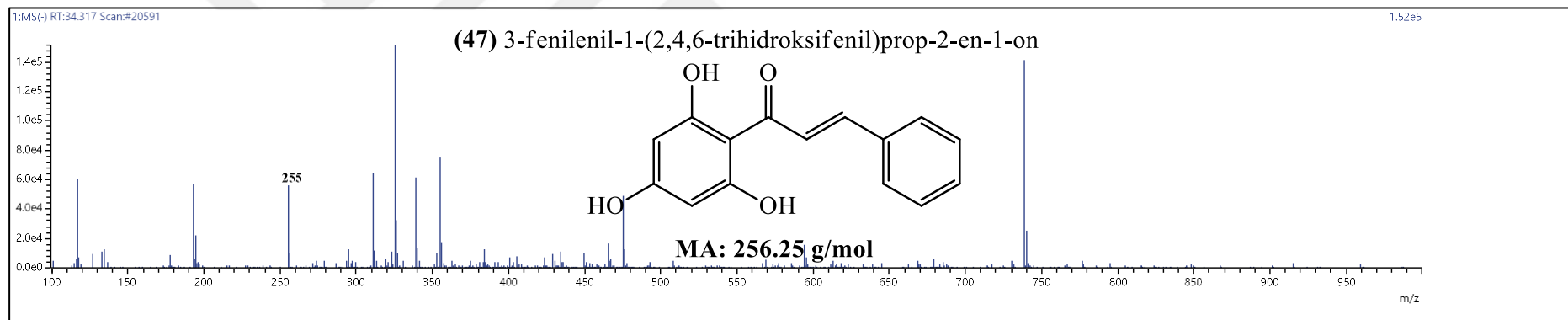
Şekil A.53.



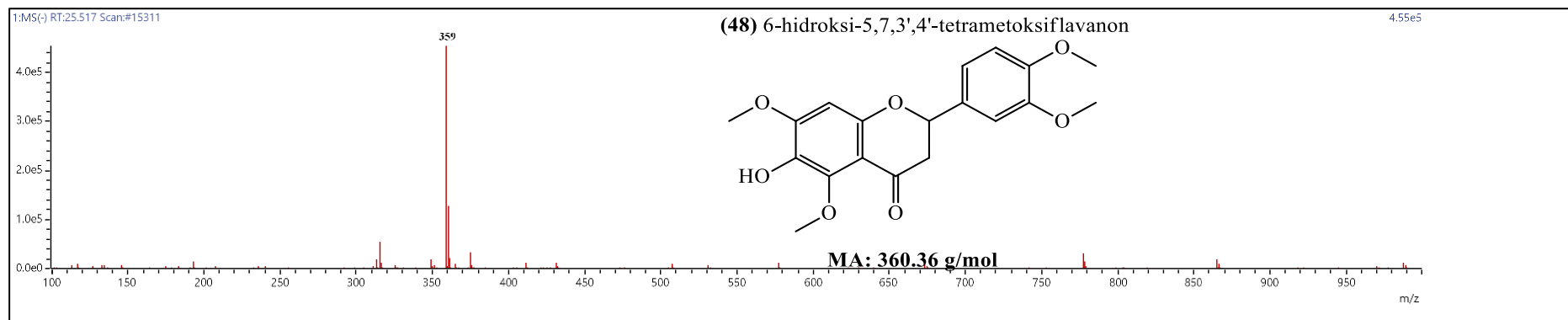
Şekil A.54.



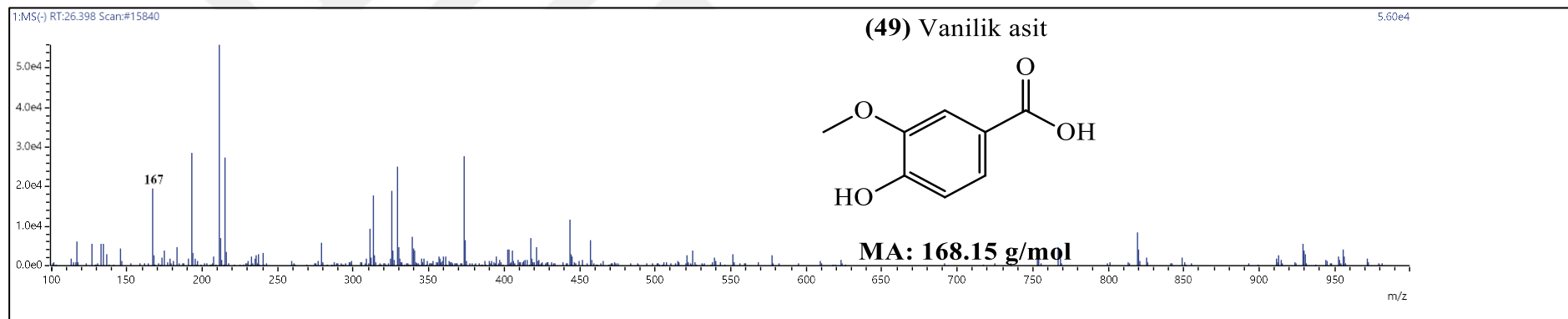
Şekil A.55.



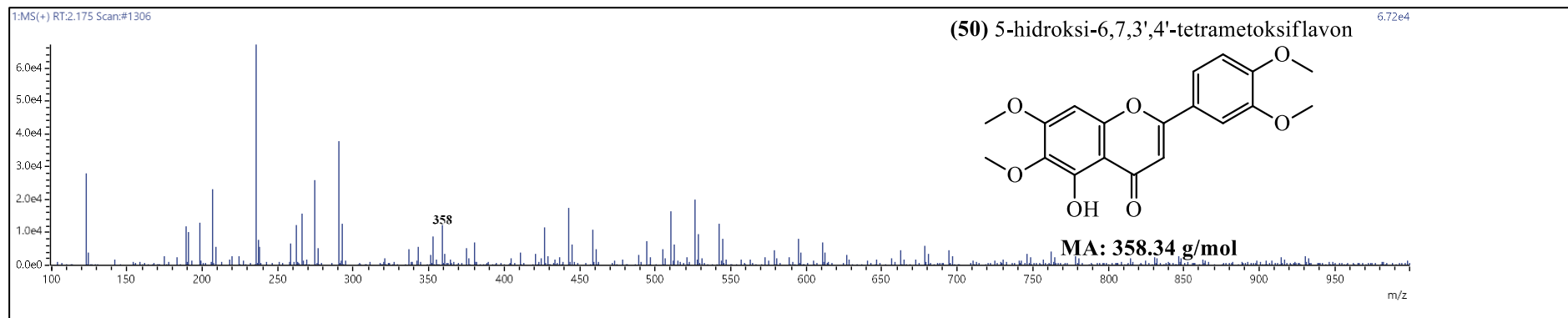
Şekil A.56.



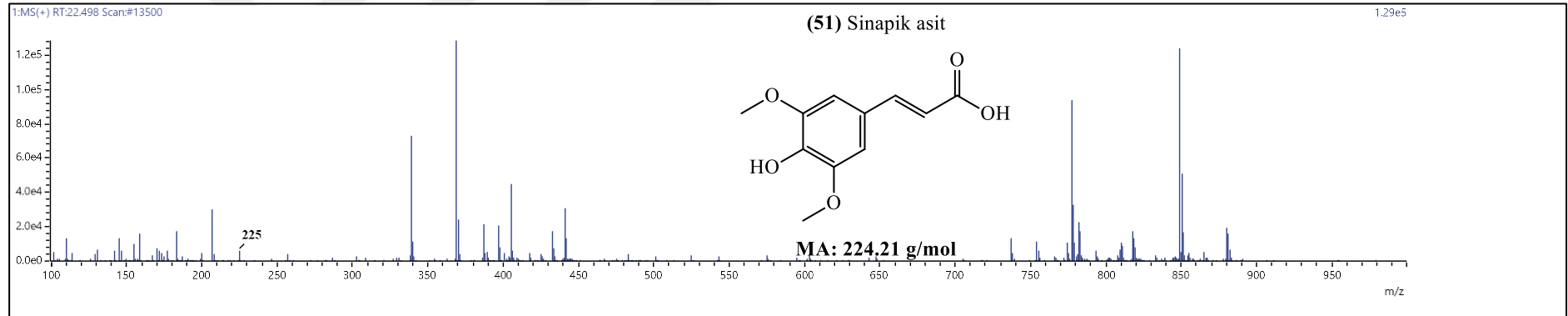
Şekil A.57.



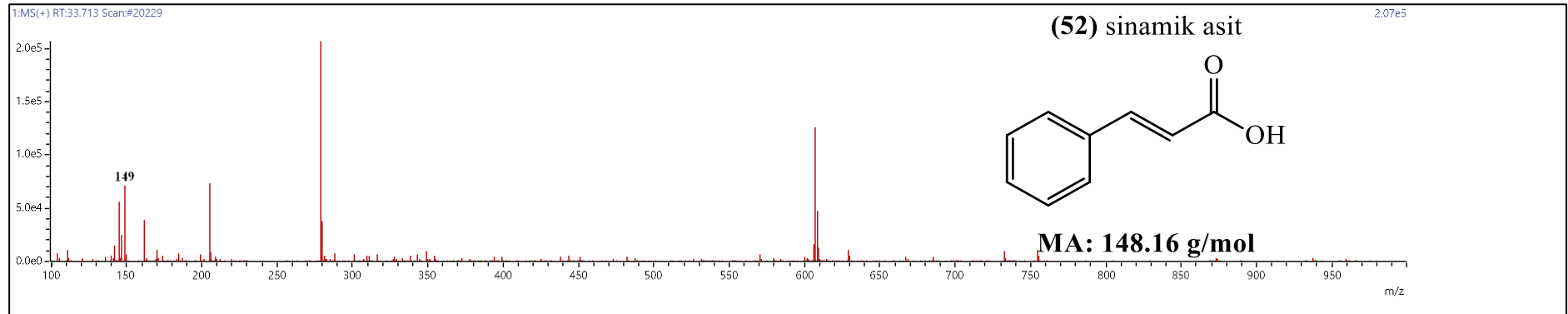
Şekil A.58.



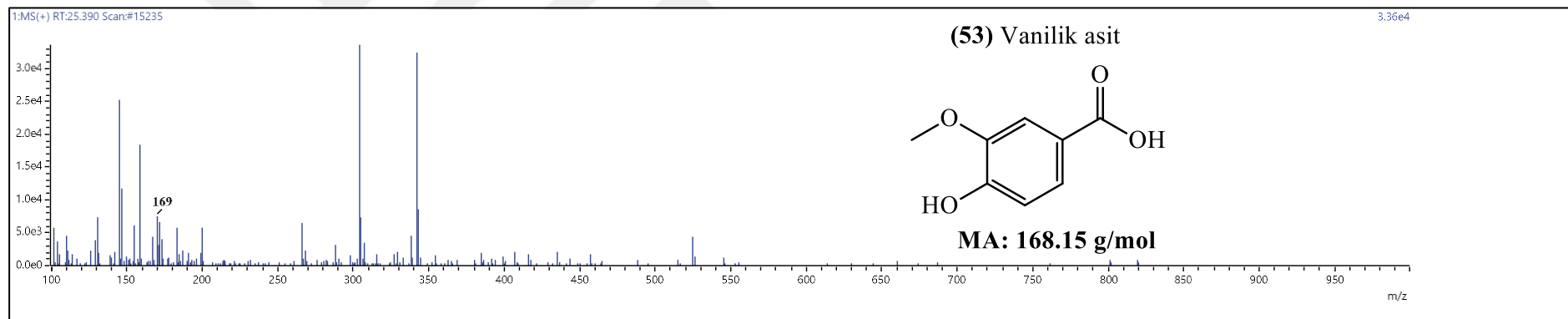
Şekil A.59.



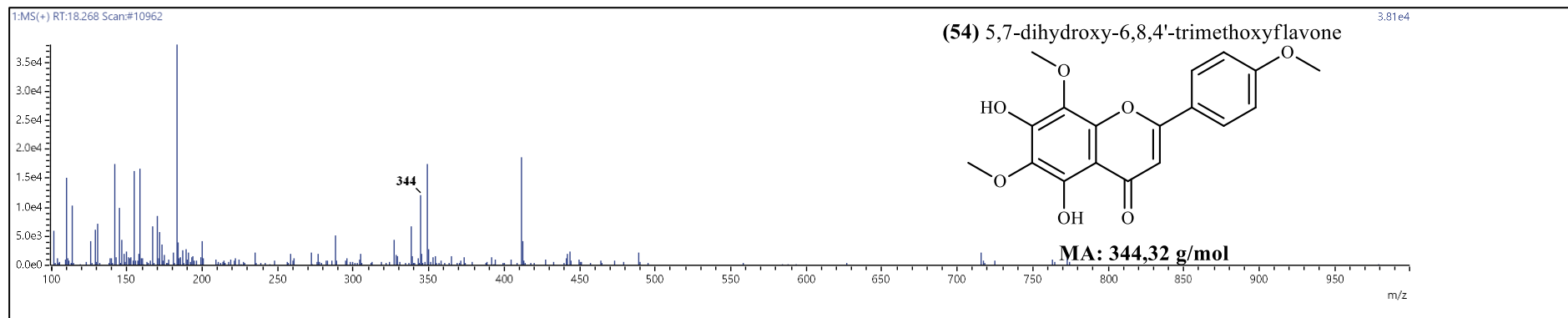
Şekil A.60.



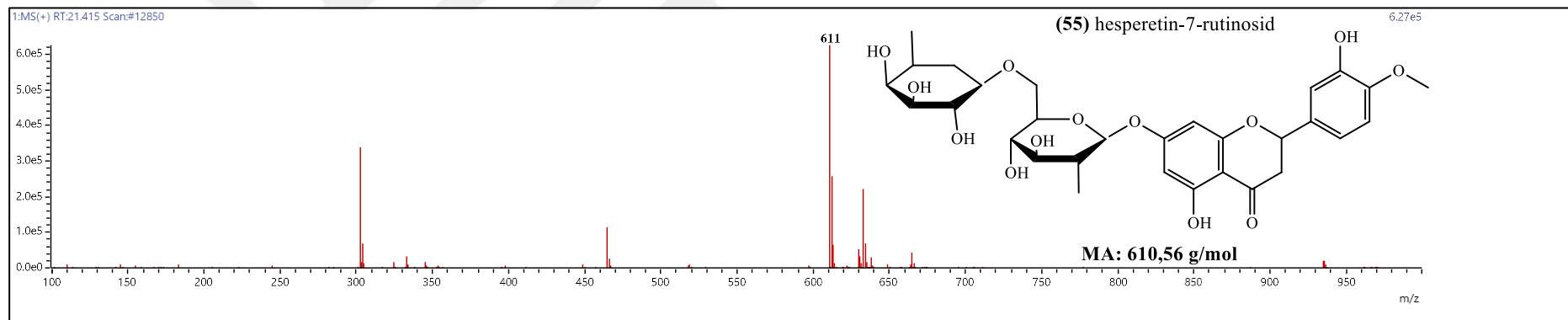
Şekil A.61.



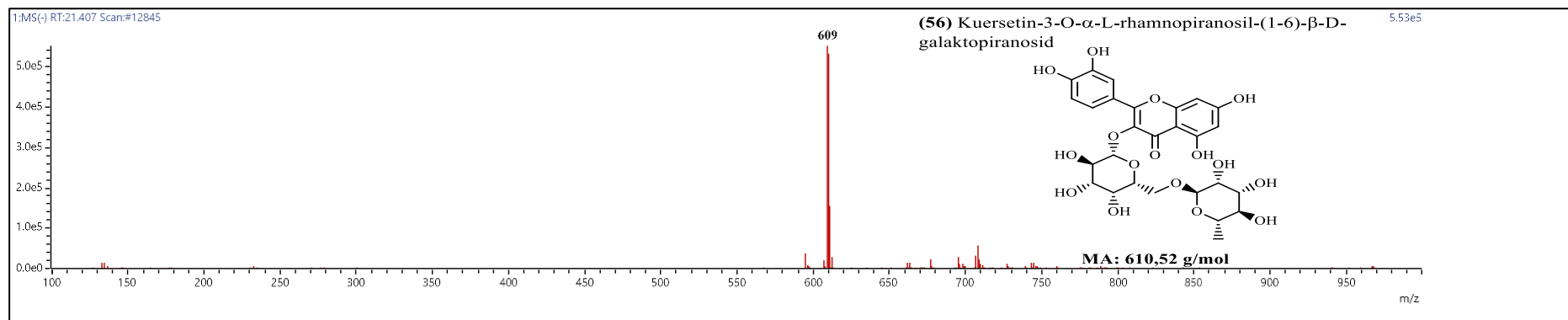
Şekil A.62.



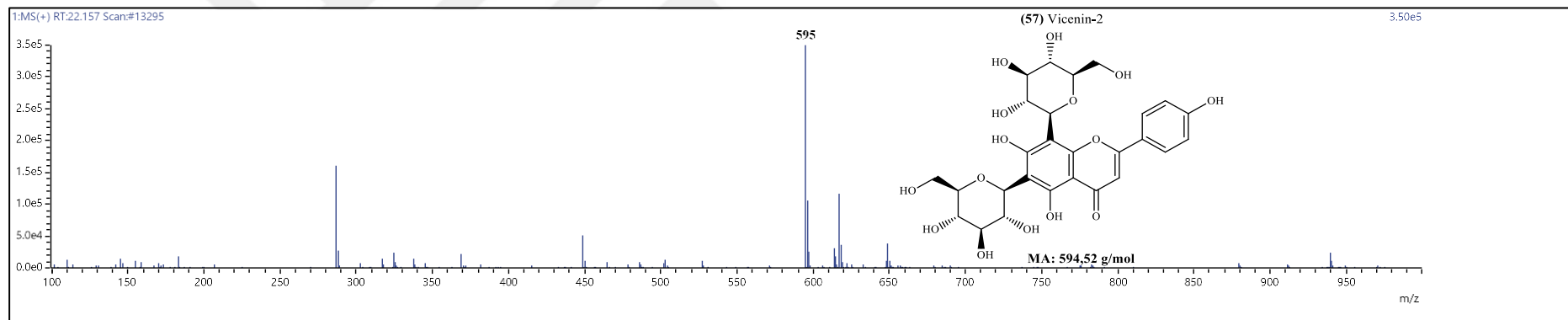
Şekil A.63.



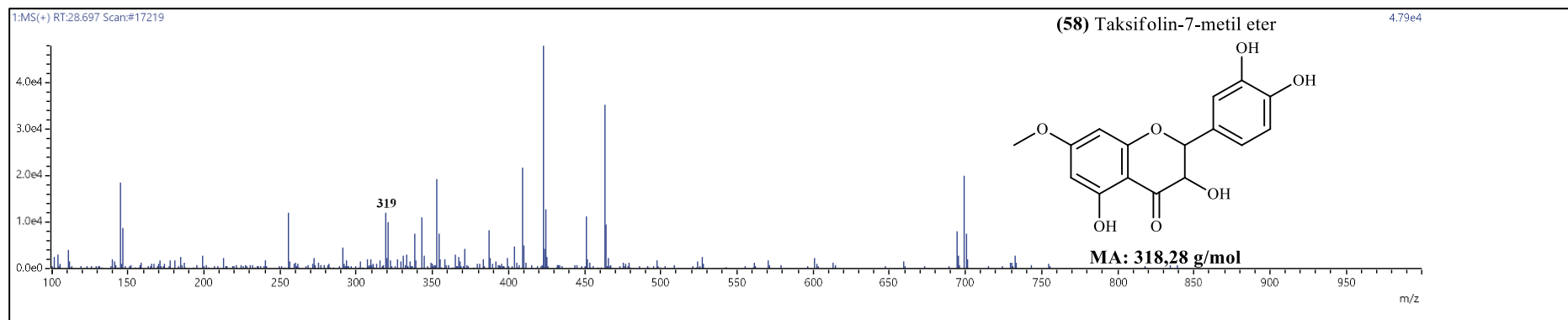
Şekil A.64.



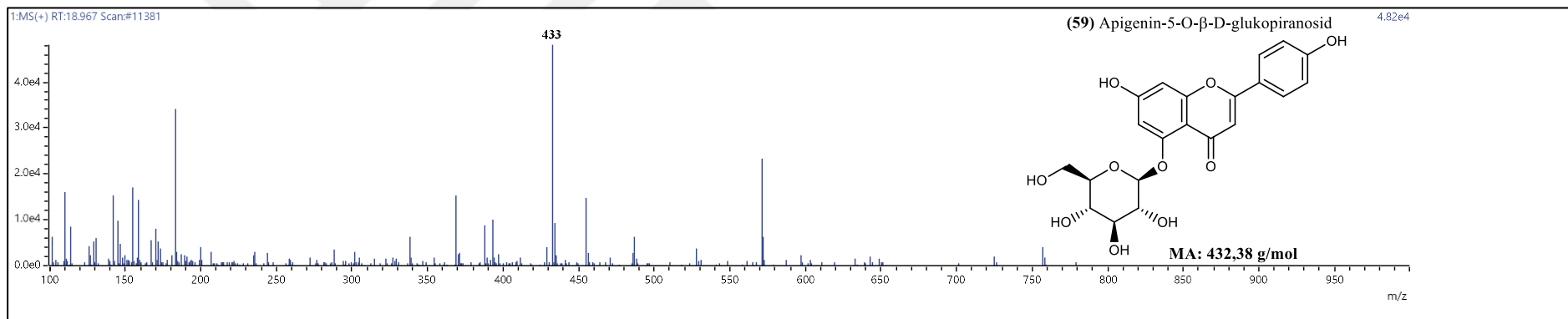
Şekil A.65.



Şekil A.66.

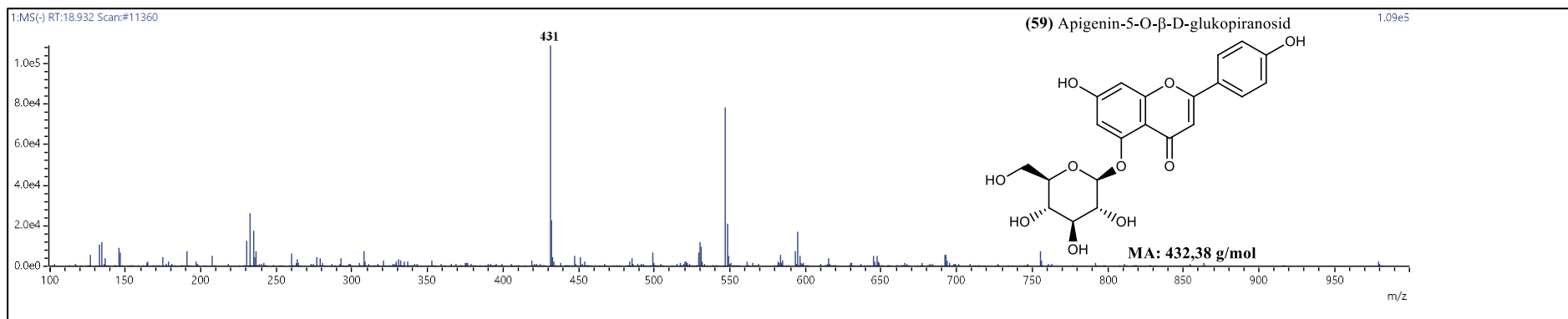


Şekil A.67.

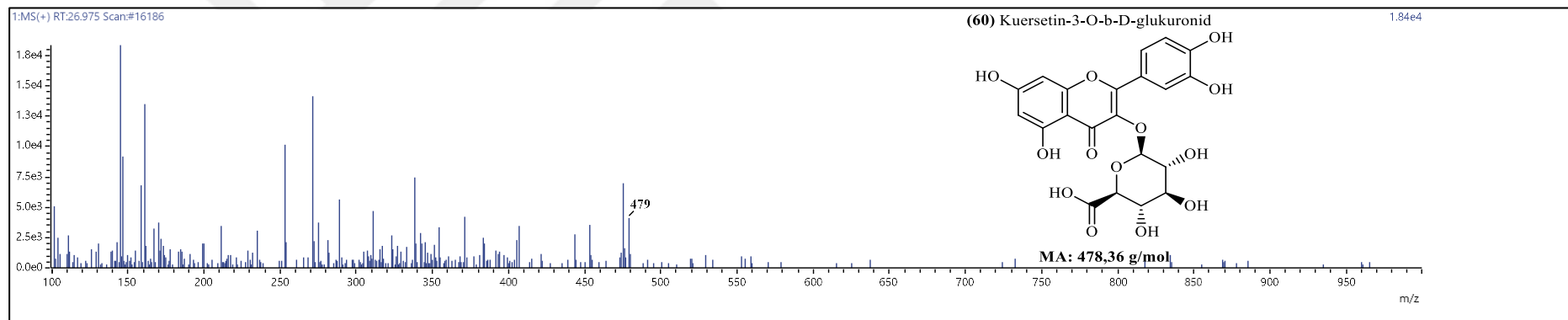


Şekil A.68.

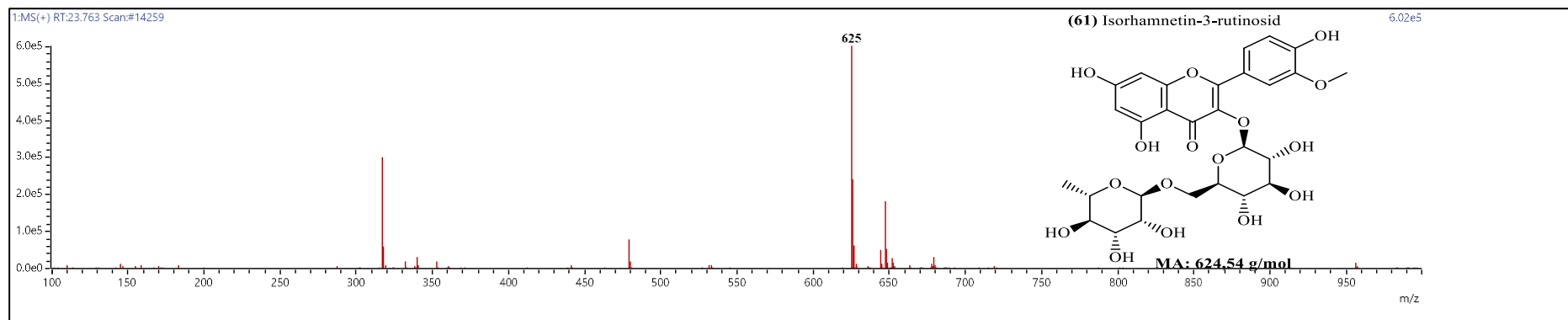
66



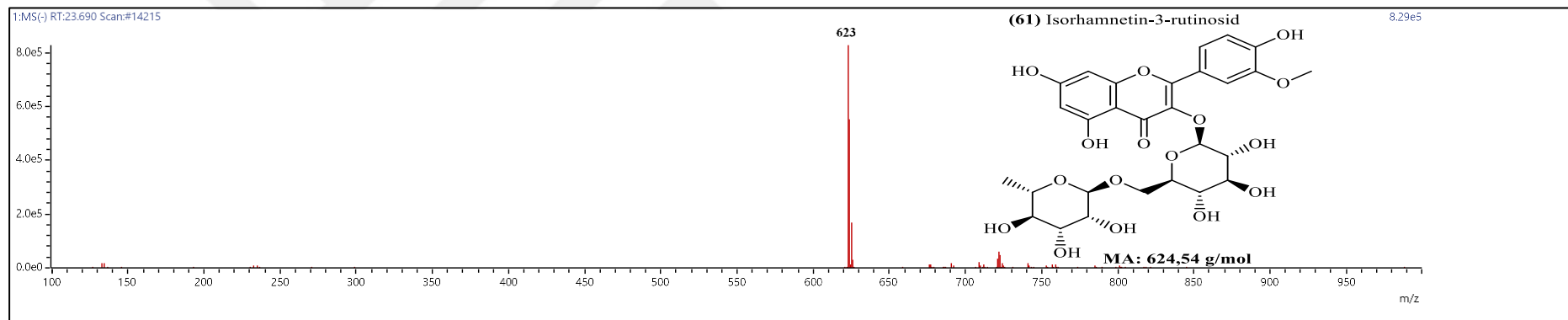
Şekil A.69.



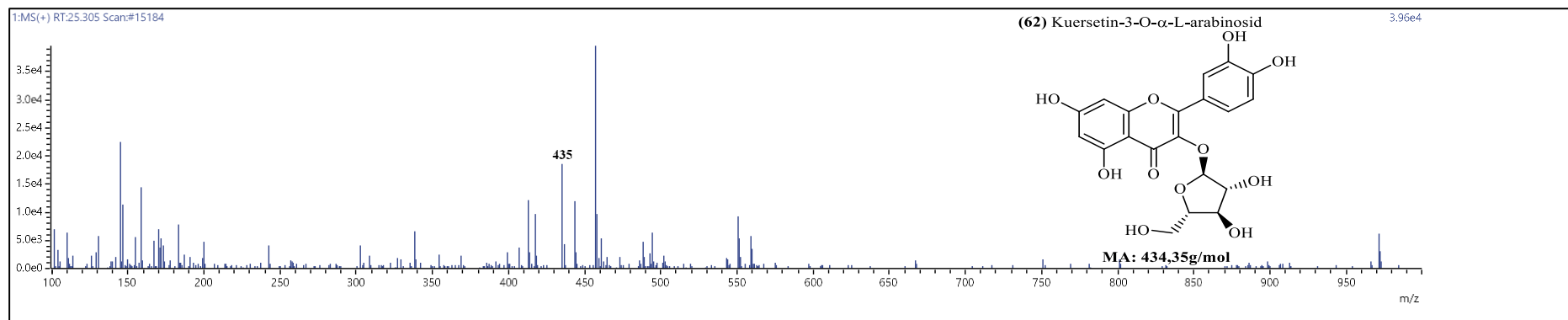
Şekil A.70.



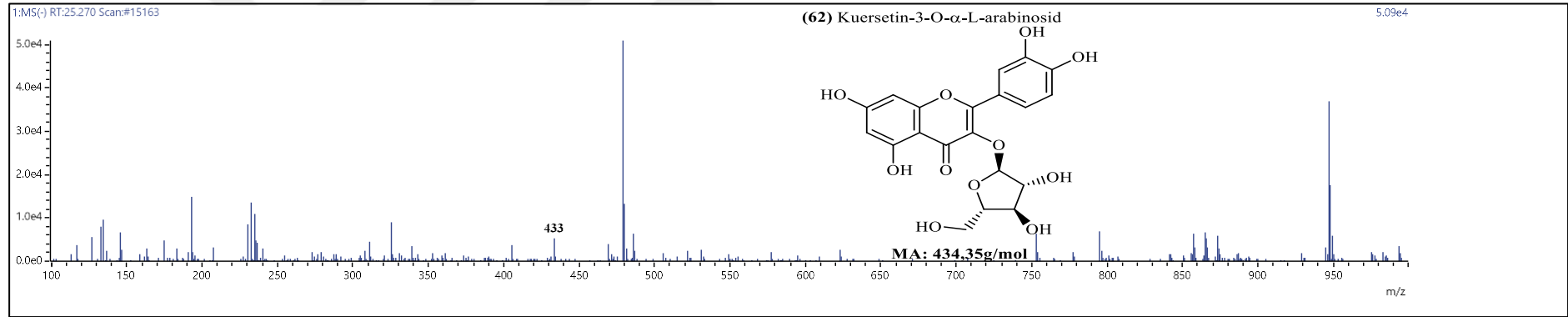
Şekil A.71.



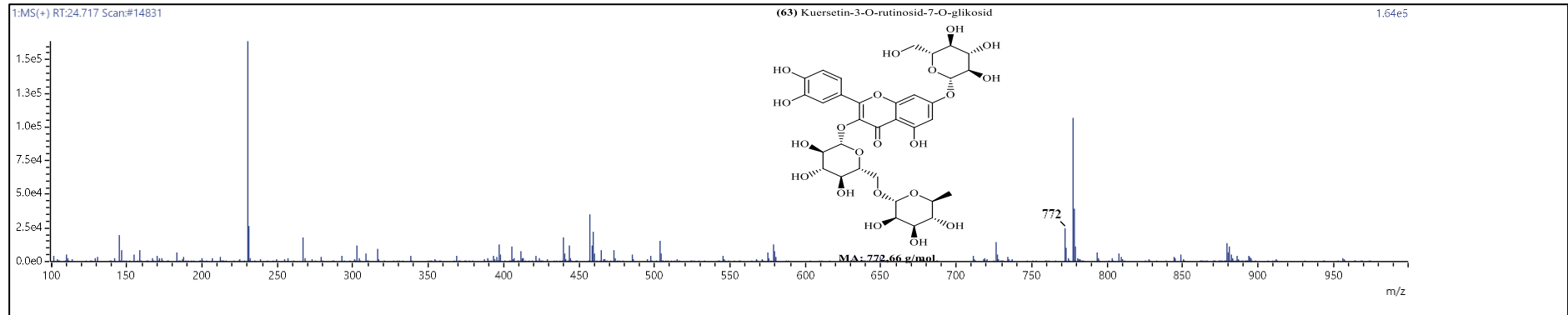
Şekil A.72.



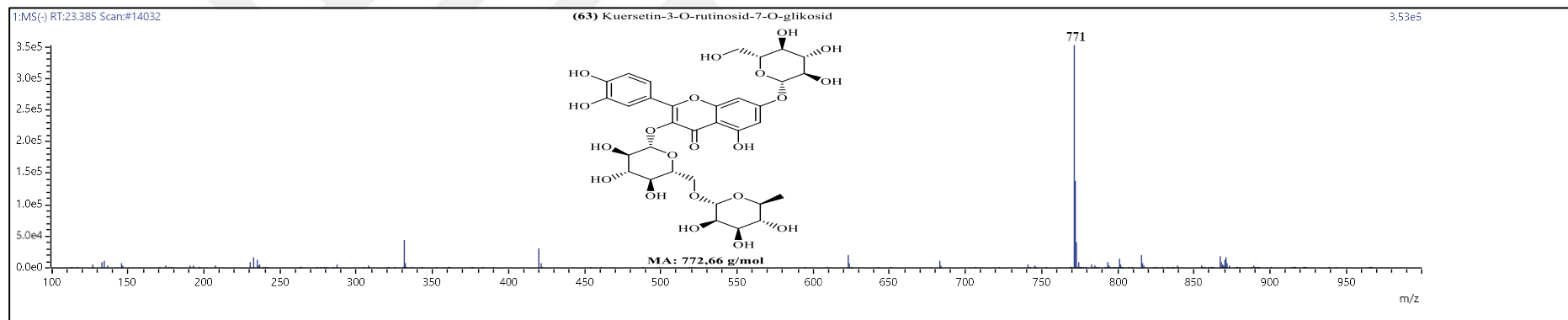
Şekil A.73.



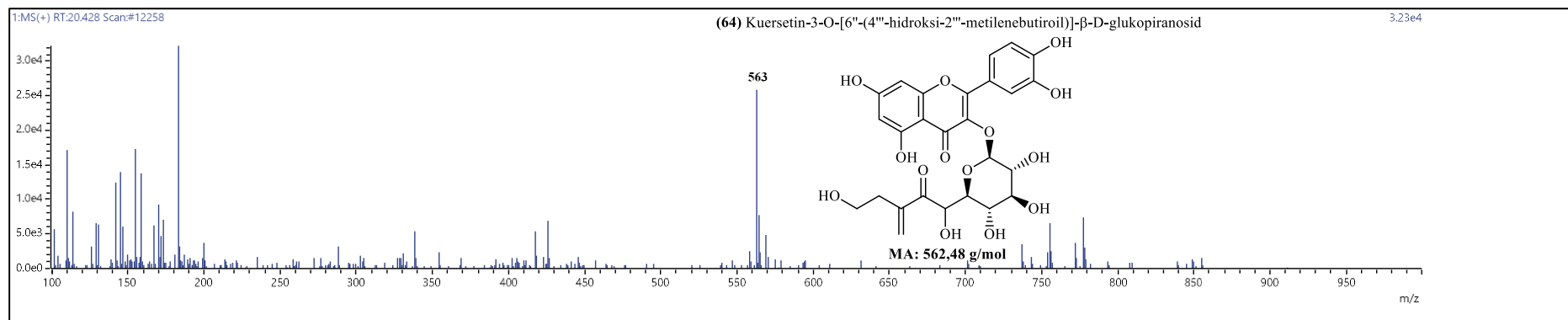
Şekil A.74.



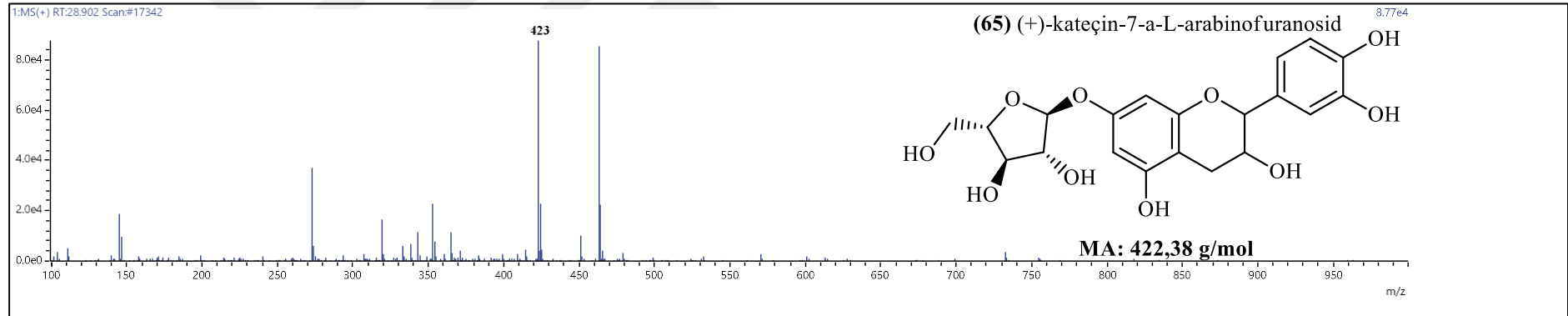
Şekil A.75.



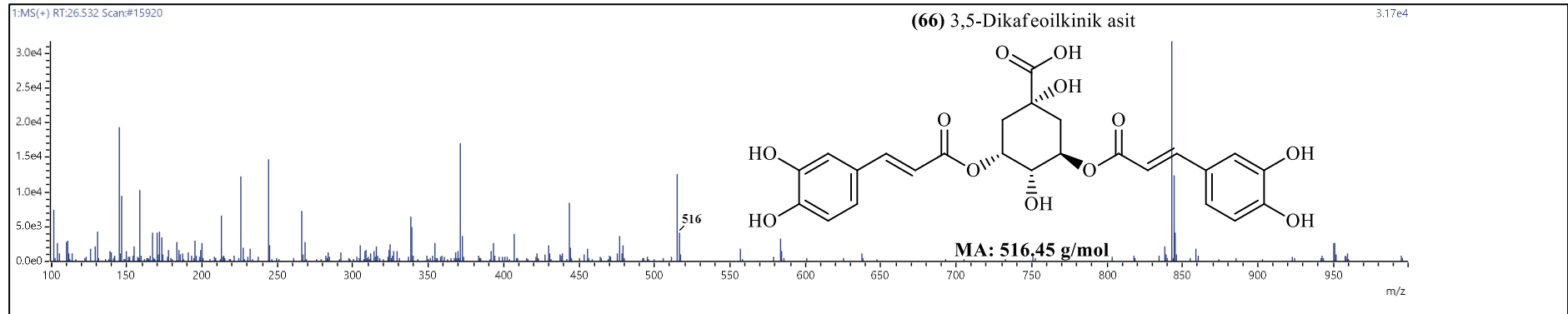
Şekil A.76.



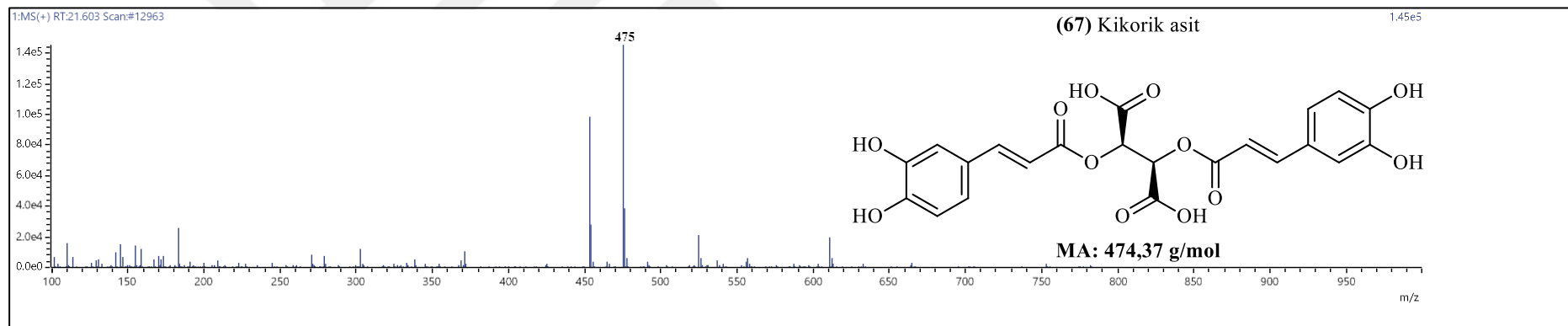
Şekil A.77.



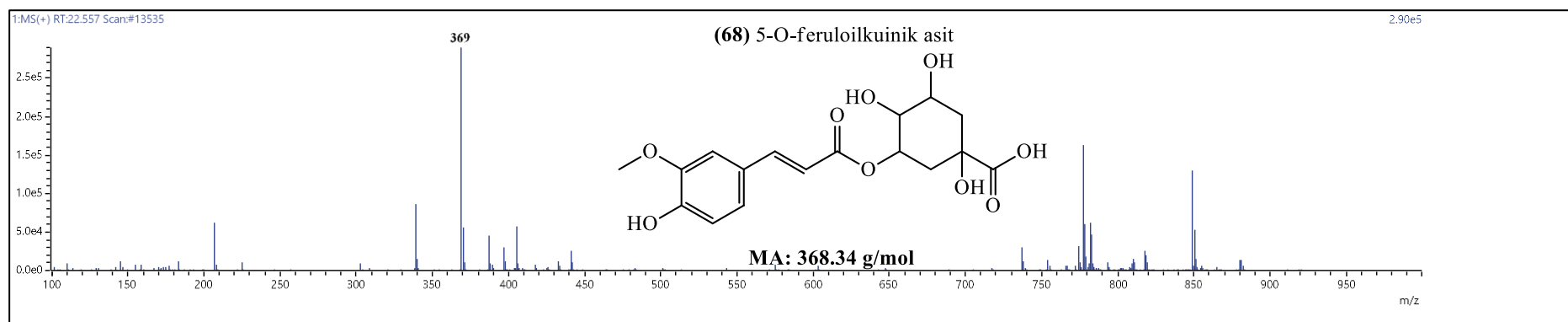
Şekil A.78.



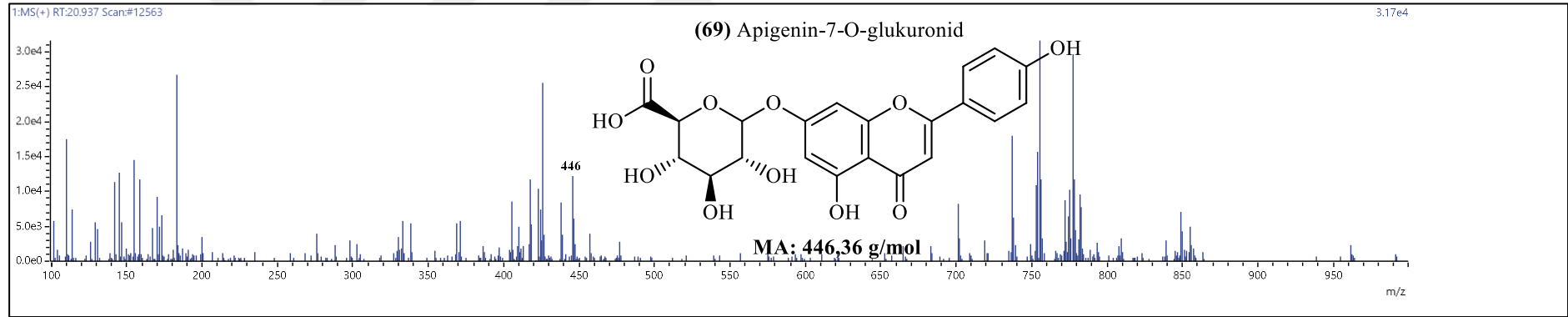
Şekil A.79.



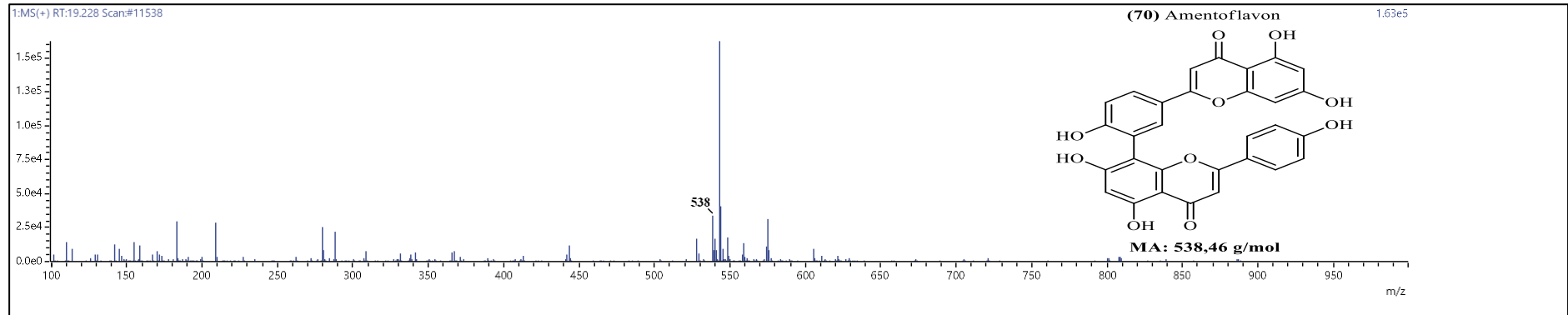
Şekil A.80.



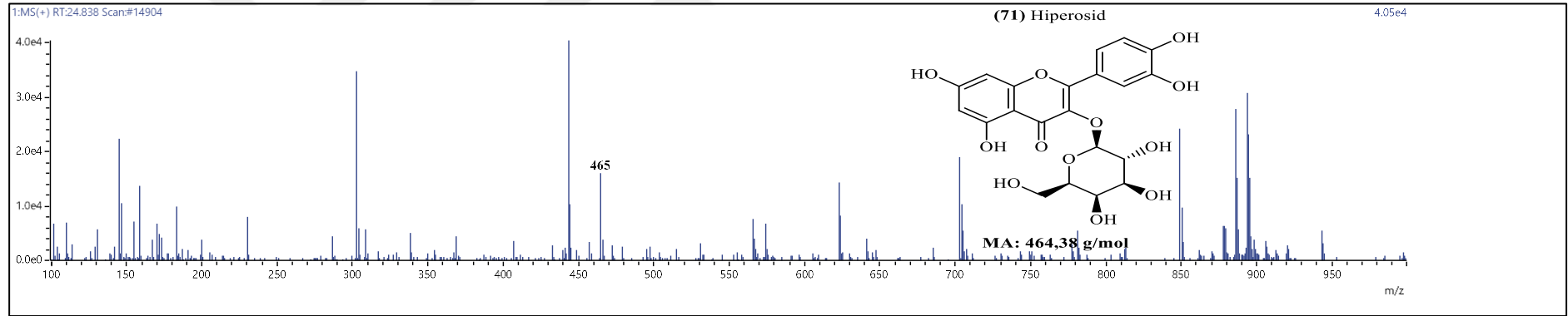
Şekil A.81.



Şekil A.82.



Şekil A.83.



Şekil A.84.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Lana Arif Ali ALİ

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2010, Tıbbi Teknikleri Fakültesi,
Laboratuvar Bölümü

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER :

- 2011-2018 yılları arasında Bağdat Devlet Hastahanesi

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER:

Yılmazer Keskin S., Avcı A., Ali L.A.A. ve Hamk M., (2022, 23-25, Kasım). Investigation of Total Phenolics and Flavonoid Contents of *Polygala major* Jacq. Using Different Solvents. 5th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, Ankara, Turkey.