

EYLÜL 2019

Yüksek Lisans Tezi-Biyoloji Anabilim Dalı

AYDIN ÇİÇEK

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Punica granatum* spp. (HİCAZ NARI)'den ELDE EDİLEN NAR
EKŞİSİNİN *Stenotrophomonas maltophilia* ÜZERİNE ETKİSİ VE
NAR ATIKLARININ BİYOLOJİK AKTİVİTESİ**

**BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**AYDIN ÇİÇEK
EYLÜL 2019**

***Punica granatum* spp. (HİCAZ NARI)'den ELDE EDİLEN NAR
EKŞİSİNİN *Stenotrophomonas maltophilia* ÜZERİNE ETKİSİ VE
NAR ATIKLARININ BİYOLOJİK AKTİVİTESİ**

**Gaziantep Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

Danışman

Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

**Aydın ÇİÇEK
Eylül 2019**



©2019[Aydın ÇİÇEK]

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tezin Başlığı : *Punica granatum* spp. (Hicaz Narı)'den Elde Edilen Nar Ekşisinin *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerine Etkisi ve Nar Atıklarının Biyolojik Aktivitesi

Öğrencinin Adı Soyadı: Aydın ÇİÇEK
Sınav Tarihi : 04.09.2019

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı


Prof. Dr. A. Necmeddin YAZICI
Enstitü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.


Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER
Enstitü Anabilim Dalı Başkanı ✓

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.


Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ
Danışman

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ

Doç. Dr. Dilek ALAGÖZ

İmzası


.....

.....

.....

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.

Aydın ÇİÇEK

ABSTRACT
EFFECT OF SOUR POMEGRANATE SAUCE HELD FROM *Punica granatum* spp. (HICAZ POMEGRANATE) ON *Stenotrophomonas maltophilia* AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF POMEGRANATE WASTE

ÇİÇEK, Aydın

M.Sc. in Graduate School of Natural & Applied Sciences

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

September 2019

73 pages

In this study, antimicrobial effect of sour pomegranate sauce samples produced from Hicaz pomegranate with two different formulations on *Stenotrophomonas maltophilia* and biological activities of extracts obtained from pomegranate waste (peel, membrane and seed) were investigated. For this purpose, two groups of sour pomegranate sauce were produced with and without the addition of lemon juice by traditional methods. The antimicrobial efficacy of lemon juice alone was also evaluated. Samples were prepared in different amounts and concentrations from sour pomegranate sauce and lemon juice samples and their effects on *S. maltophilia* were evaluated according to disc diffusion method. Antioxidant activities and DNA protective effects of extracts obtained from pomegranate wastes under different conditions were also determined. The samples produced in this thesis were analyzed in 3 replicates. The zone diameter measurements for determination of antimicrobial activity ranged from 7.33 ± 0.58 mm to 22.83 ± 0.76 mm. When these results are considered, it is determined that all sour pomegranate sauce and lemon juice samples have antimicrobial effect on *S. maltophilia* correlated with the dose administered. In addition, the combination of lemon juice and sour pomegranate sauce significantly increase the antimicrobial effect. According to the test results for the determination of antioxidant activity, it was found that the samples with the highest antioxidant activity were extracts from the membrane, but all extracts contained “very good” level (> 2 mmol trolox equiv / L) antioxidants. As a result of the test performed to determine the DNA protective activity, it was determined that the extracts used had a DNA protective effect, albeit to a limited extent. According to these results, sour pomegranate sauce as a natural antimicrobial agent has potential in food industry, pharmacology and clinical microbiology. In addition, pomegranate wastes are also valuable in terms of antioxidant and DNA protection.

Key Words: *Punica granatum*, Pomegranate sauce, Antimicrobial effect, *Stenotrophomonas maltophilia*

ÖZET
***Punica granatum* spp. (HİCAZ NARI)’den ELDE EDİLEN NAR EKŞİSİNİN**
***Stenotrophomonas maltophilia* ÜZERİNE ETKİSİ VE NAR ATIKLARININ**
BİYOLOJİK AKTİVİTESİ

ÇİÇEK, Aydın
Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ
Eylül 2019
73 sayfa

Bu çalışmada, Hicaz narından iki farklı formülasyon ile üretilmiş olan nar ekşisi örneklerinin, *Stenotrophomonas maltophilia* üzerine antimikrobiyal etkisi ve nar atıklarından (kabuk, zar ve çekirdek) elde edilen ekstraktlarının biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Bu amaçla geleneksel yöntemlerle limon suyu ilaveli ve ilavesiz olacak şekilde 2 grup nar ekşisi üretilmiştir. Ayrıca limon suyunun tek başına antimikrobiyal etkinliği de değerlendirilmiştir. Nar ekşisi ve limon suyu örneklerinden farklı inokulum miktarlarında ve konsantrasyonlarda numuneler hazırlanmış ve *S. maltophilia* üzerine etkileri disk difüzyon metoduna göre değerlendirilmiştir. Nar atıklarından farklı koşullarda elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri ve DNA koruyucu etkileri de belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında üretilen örnekler 3 tekrarlı olacak şekilde analize alınmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin tespiti için yapılan analizler sonucunda elde edilen zon çapı ölçümleri $7,33 \pm 0,58$ mm ile $22,83 \pm 0,76$ mm arasında değişmektedir. Bu sonuçlar dikkate alındığında uygulanan doz ile doğru orantılı olacak şekilde tüm nar ekşisi ve limon suyu örneklerinin *S. maltophilia* üzerine antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. İlaveten, limon suyu ve nar ekşisinin birlikte kullanımının antimikrobiyal etkiyi dikkate değer şekilde artırdığı görülmüştür. Antioksidan aktivite tayini için yapılan test sonuçlarına göre, en yüksek antioksidan aktiviteye sahip örneklerin zardan elde edilen ekstraktlar olduğu, ancak tüm ekstraktların “çok iyi” seviyede (>2 mmol troloks equiv/L) antioksidan içerdiği görülmüştür. DNA koruyucu aktivitenin belirlenmesi için yapılan test sonucunda kullanılan ekstraktların sınırlı düzeyde de olsa DNA koruyucu etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre nar ekşisinin doğal bir antimikrobiyal ajan olarak, gıda, farmakoloji ve klinik mikrobiyoloji açısından kullanım potansiyelinin yüksek olduğu; ilaveten nar atıklarının da antioksidan ve DNA koruyuculuğu açısından değerli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Punica granatum*, Nar Ekşisi, Antimikrobiyal Etki, *Stenotrophomonas maltophilia*

*“Her zaman yanımda olan,
sevgili ailemin tüm fertlerine ve
rahmetli annemin anısına”*

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan, Gaziantep Üniversitesi öğretim üyelerinden danışman hocam, sayın Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ 'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Örneklerin toplanmasında, preparasyonunda ve teşhislerinde yine desteklerini benden esirgemeyen değerli arkadaşlarım Sami Serhat TONUS'a ve Bekir Sıddık KURT'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışmada maddi destek sağlayan Gaziantep Üniversitesi BAP Yönetim Birimine (FEF.YLT.18.08 no'lu proje) teşekkürlerimi sunarım. Çalışma süresince beni her konuda destekleyen sevgili aileme ve tüm bu süreçte, her zaman yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, arkadaşım, dostum ve sevgili nişanlım, Doç. Dr. Şeniz KARABIYIKLI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ABSTRACT.....	v
ÖZET.....	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiii
BÖLÜM I.....	1
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM II	3
LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1 Nar Meyvesinin (<i>Punica granatum</i>) Genel Özellikleri	3
2.2 Nar Ekşisinin Genel Özellikleri	6
2.3. Nardan ve Nar Ürünlerinden Elde Edilen Ekstraktlar Üzerine Yapılmış Çalışmalar.....	6
2.4. Biyoaktif Bileşenler ve Etkileri ile DNA’da Oluşabilecek Hasarlar.....	10
2.4.1. Antibiyotikler	10
2.4.2. Serbest Radikaller	12
2.4.3. Antioksidanlar	14
2.4.4 DNA Mekanizması.....	20
2.5. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ’nın Genel Özellikleri	21
2.5.1. <i>S. maltophilia</i> ’nın Antibiyotiklere Direnci.....	22
2.5.2. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ’nın Neden Olduğu Hastalıklar	23
2.5.3. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Üzerine Yapılmış Çalışmalar	24
BÖLÜM III.....	26
MATERYAL VE METOT	26
3.1 Materyal.....	26
3.1.1 Nar Ekşisi	26
3.1.2 Limon Suyu	26
3.1.3 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	26
3.2. Metot	26

3.2.1. Antimikrobiyal Özelliklerin Test Edilmesi	27
3.2.2. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	29
3.2.3. DNA Koruyucu Aktivitenin Belirlenmesi.....	30
BÖLÜM IV	32
BULGULAR.....	32
4.1. Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçları	32
4.1.1. Limon suyu ilavesiz nar ekşisinin <i>S. maltophilia</i> 'a üzerine antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde elde edilen sonuçlar.....	32
4.1.2. Limon suyu ilaveli nar ekşisinin <i>S. maltophilia</i> 'a üzerine antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde elde edilen sonuçlar.....	34
4.1.3. Limon suyunun <i>S. maltophilia</i> 'a üzerine antimikrobiyal etkisi	35
4.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları	37
4.2.1. Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS)	37
4.2.2. Toplam Oksidan Seviyesi (TOS)	38
4.3. DNA Koruyucu Aktivite Sonuçları	39
BÖLÜM V.....	41
TARTIŞMA VE SONUÇ	41
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ.....	60

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1 Doğal nar suyunun bileşimi	5
Tablo 2.2 Nar ekşisinin duyusal özellikleri	6
Tablo 2.3 Serbest radikaller ve etkilediği moleküller	14
Tablo 2.4 Endojen ve eksojen antioksidanlar	15
Tablo 4.1 Limon suyu içermeyen nar ekşisinin antimikrobiyal etkisi	32
Tablo 4.2 Limon suyu içermeyen nar ekşisinin antimikrobiyal etkisi	33
Tablo 4.3 Limon suyu içeren nar ekşisinin antimikrobiyal etkisi	34
Tablo 4.4 Limon suyu içeren nar ekşisinin antimikrobiyal etkisi	34
Tablo 4.5 Limon suyunun antimikrobiyal etkisi	35
Tablo 4.6 Limon suyunun antimikrobiyal etkisi	36
Tablo 4.7 Çalışmada en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösteren örnekler	37
Tablo 4.8 Metanol ile ekstrakte edilen nar örneklerinin TAS değerleri	38
Tablo 4.9 Su ile ekstrakte edilen nar örneklerinin TAS değerleri	38
Tablo 4.10 TAS Referans Değerleri	38
Tablo 4.11 Metanol ile ekstrakte edilen nar örneklerinin TOS değerleri	39
Tablo 4.12 Su ile ekstrakte edilen nar örneklerinin TOS değerleri	39
Tablo 4.13 TOS Referans Değerleri	39

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. <i>S. maltophilia</i> , SMDP92 suşu ve flagellalarının elektron mikrografı.	22
Şekil 3.1. MHA besiyerinde <i>S. maltophilia</i> suşu	28
Şekil 4.1. <i>S. maltophilia</i> suşuna 20 µl inoküle edilmiş nar ekşisisinin etkisi	33
Şekil 4.2. <i>S. maltophilia</i> suşuna 40 µl inoküle edilmiş nar ekşisisinin etkisi	35
Şekil 4.3. <i>S. maltophilia</i> suşuna 40 µl inoküle edilmiş limon suyunun etkisi	36
Şekil 4.5. Nar kabuğu, çekirdeği ve zarının ekstraktlarının jel görüntüsü.....	40

KISALTMALAR LİSTESİ

ml	Mililitre
L	Litre
kob	Koloni oluşturma birimi
µl	Mikrolitre
g	Gram
SF	Serum Fizyolojik
°C	Santigrad derece
<i>S. maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
MHA	Mueller-Hinton Agar
McF	McFarland
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
ORT	Ortalama
STDS	Standart Sapma
SXT	Ko-trimoksazol
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
SOD	Süperoksit Dismutaz
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
CAT	Katalaz
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ETS	Elektron Taşıma Sistemi
DHLA	Dihidrolipoik Asit
Abs.	Absorbans

GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit)
HMF	5-hidroksimetilfurfural
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi



BÖLÜM I

GİRİŞ

Enfeksiyon etmenleri arasında önemli bir yer barındıran bakterilere karşı kullanılan antibiyotiklerin zamanla yenilerinin bulunması ihtiyacı doğmuştur. Antibiyotiklerin, gerekli ya da gereksiz hallerde özellikle düzensiz kullanılması bağlı olarak, günümüzde önemli sorunlardan biri olarak antibiyotik direnci karşımıza çıkmaktadır. Bununla beraber, rutinde kullanılan antibiyotikler birçok enfeksiyonun tedavisinde yeterli olmasına karşın, doğala yönelme eğilimi nedeniyle, antimikrobiyal etki gösteren farklı alternatiflerin bulunması ihtiyacı doğmuştur. Farklı antibiyotik moleküllerini keşfetmekte, tıbbi bitkilerin oldukça önemli bir yeri vardır [1,2].

Hastane enfeksiyonlarında (nozokomiyal), MRSA (Metisilin Dirençli *S.aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* gibi *Stenotrophomonas maltophilia* enfeksiyonu da son yıllarda giderek önem kazanmıştır. Antibiyotiklere olan direnç gelişimi gözlemlenmiş ve rutinde kullanılan antibiyotikler haricinde, antimikrobiyal etki gösteren farklı alternatiflerin bulunması ihtiyacı doğmuştur. Yapılan bu tez çalışması doğal kaynaklarımızın hastalıklarla mücadelede kullanılabilir bir alternatif olarak değerlendirilmesi açısından önem taşımaktadır. İlaveten tez çalışmasında, nar ekşisinin antimikrobiyal etkisinin araştırılmasının yanı sıra, nar ekşisi üretiminde ortaya çıkan atık kısımların (kabuk, zar ve çekirdek) da antioksidan ve DNA koruyucu etkisinin araştırılması deneme planına dahil edilmiş olup, çalışmadan elde edilen veriler atık değerlendirme ve çevre kirliliğinin engellenmesi açısından da önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı, bir çok gram pozitif ve gram negatif bakteri üzerine antimikrobiyal etkisi olduğu bilinen Hicaz narından elde edilen nar ekşisinin, son yıllarda hastane enfeksiyonlarında (nozokomiyal) önemli rol oynayan *Stenotrophomonas maltophilia* üzerine antimikrobiyal etkisinin araştırılması ile bu soruna doğal ve alternatif bir antimikrobiyal önerebilmektir. Ek olarak narın farklı

kısımlarından elde edilen ekstraktların antioksidan ve DNA koruyucu aktivitelerinin belirlenmesi ile nar atıklarının biyolojik aktivitesinin belirlenmesidir.



BÖLÜM II

LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Nar Meyvesinin (*Punica granatum*) Genel Özellikleri

Nar (*Punica granatum*) Punicaceae ailesinden olup, genel olarak tropikal ve subtropikal bölgelerde yetiştirilmektedir [3]. Orjini güneydoğu Asya'ya dayanması ile beraber; Türkiye, İran, Orta Doğu, Akdeniz, Amerika Birleşik Devletleri ve Arap ülkelerinde de yetişen bir meyvedir [4,5]. Türkiye'de nar üretimi başta Antalya olmak üzere, Mersin, Muğla ve Adana'da yapılmaktadır. Bununla beraber narın gelişme şartları çok seçici olmadığından, son yıllarda daha geniş bir alanda yetiştirilmeye başlanmıştır [6].

Narın kültürel tarihi oldukça eskilere dayanmaktadır ve yetiştiriciliğinin 5000 yıl öncesine kadar uzandığı bilinmektedir [7,9]. Nar, boyları 2-5 metre arasında değişen uzunluklarda, çalı formunda bir bitkidir. Meyveleri çok sayıda etli tane içermekle beraber, koyu kırmızıdan beyaza kadar değişen tonlarda farklı renklere sahip olabilirler.

Nar meyvesi; kabuk, zar, tane ve çekirdek gibi farklı bölümleri, çok çeşitli antosiyaninler, hidrokisisinamik asitler, hidroksibenzoik asitler, esansiyel yağlar, mineraller ve kompleks polisakkaritler ile yüksek molekül ağırlığa sahip hidrolize edilebilen tanenlerin (ellagitannin) deposu olarak bilinmektedir [10,11].

Nar meyvesinin yenilebilen kısmı önemli miktarda asitler, şekerler, vitaminler, polifenoller, polisakkaritler ve mineraller içermektedir. Nar meyvesi, taze olarak tüketilebildiği gibi, meyve suyu, meyve suyu konsantresi, nar ekşisi, nar ekşili sos, reçel, şarap, şurup ve likör için de kullanılabilir. Ayrıca çeşitli gıdalar için de renk verici ve tatlandırıcı olarak değerlendirilmektedir. Bununla beraber içerdiği %9 sitrik asitten ötürü, saf sitrik asit üretimi içinde kullanılabilir [12,13].

Nar çekirdeği, sulu tanesinin %15 - %25'ini oluşturur ve önemli miktarda fitosterol, tokoferoller, punisik asitler ile konjuge alfa-linolenik asit izomerleri de dahil olmak üzere omega-5 yağ asitleri içerir [14,15].

Nar kabuğunun metanol ve su ekstraktlarının içerdiği antosiyanin, punikalajin, gallik asit, elajik asit ve diğer polifenollerin antimikrobiyal etkinliği ve bu etkinliğin bir çok hastalığın tedavisinde kullanılabilirliği araştırmalarla ortaya konmuştur [16].

Nar kabuğundan elde edilen bazı ekstraktların gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi, hem in vitro (agar difüzyon) hem de in situ (gıda) metotları kullanılarak değerlendirilmiştir. % 80'lik metanolik ekstraktının (WME) *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Escherichia coli* ve *Yersinia enterocolitica* için güçlü bir inhibitör olduğu görülmüştür. *Salmonella enteritidis*'e karşı WME'nin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) en fazla 4 mg/ml iken 4°C'de depolanan gıdada (balık) *Listeria monocytogenes*'in > 1 log10 düzeyinde azalmasını sağlamıştır. Fitokimyasal analizler fenolikler ve flavonoidler dahil olmak üzere kabuklarda aktif inhibitörlerin varlığını ortaya çıkarmış ve WME'nin etkinliği, yüksek fenolik içeriği (262,5 mg/g) ile ilişkilendirilmiştir [17].

Nar kabuğunun metanol ekstraktının (%80), *Staphylococcus aureus*, hemorajik *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Yersinia enterocolitica*'ya karşı 6-12 mg/ml arasında değişen minimum inhibitör konsantrasyonlu (MİK) etki gösterdiği ispatlanmıştır [17,18].

Antimikrobiyal etki gösteren nar gibi bitkisel kaynaklı gıdaların, bakteri hücrelerine karşı inhibe edici etkisi, enzimlerin ko-faktörleri ve membranın geçirgenliğini değiştiren ve solunum zincirini bozan proteinlerin sülfhidril gurubu ile kompleks oluşumundan kaynaklanmaktadır [19,20].

Nar suyu, nar tanelerinin preslenmesi ile elde edilen koyu kırmızı renkli meyve suyudur. Presleme öncesinde narın bütünlüğünün bozulmaması ve kullanılan presleme basıncı, polifenolik bileşikler ve de tanen bakımından önem arz etmektedir [21].

Tablo 2.1 Doğal nar suyunun bileşimi [22]

Bileşim öğeleri	Birim	Minimum	Maksimum	Ortalama
Bağıl yoğunluk (20/20 ⁰ C)		1,054	1,079	1,068
Briks, ref. düzeltilmiş	–	13,20	18,70	16,30
Titrasyon asitliği	g/L	2,0	55,20	8,58
pH		2,40	4,41	3,53
Kül	g/L	2,370	6,110	3,907
Formol sayısı	MI 0,1N	2	28	9
	NaOH/100ml			
Glukoz	g/L	47,10	82,70	64,80
Fruktoz	g/L	51,70	97,80	71,50
Glukoz/fruktoz	–	0,82	0,99	0,92
İndirgen şeker	g/L	110,40	194,20	153,20
Toplam ekstrakt	g/L	140,80	206,60	177,40
İndirgen olmayan ekstrakt	g/L	1,40	64,10	24,20
Alkali sayısı	–	7	14	11
Sitrik asit	g/L	0,09	32,80	5,39
L – Malik asit	g/L	0,00	2,83	0,87
D – İzositrik asit	mg/L	13,90	186	54,90
Klorür	mg/L	190	776	500
Prolin	mg/L	1,0	23	7,70
Sülfat	mg/L	46,00	306	133,4
Fosfat	mg/L	39,80	529,10	270
Kalsiyum	mg/L	1,50	94	20
Magnezyum	mg/L	18,90	82,50	45
Sodyum	mg/L	4,40	27,10	9
Potasyum	mg/L	809	2251	1209

2.2 Nar Ekşisinin Genel Özellikleri

Türk Standartları TS 12720’de belirtilen tarifi ile nar ekşisi “*nar meyvesinin iki veya dört parçaya bölünüp preslenmesi, elde edilen nar suyunun durultulması ve tekniğine uygun olarak açıkta veya vakum altında koyulaştırılması ile elde edilen ve gıdalara çeşni vermek amacıyla üretilen ekşi bir gıda maddesidir*” [23]. Nar ekşisi; yöresel farklılıklar göstermesiyle beraber temeldeki üretim şekli, nar meyvesinin bölünmesi ve preslenmesi veya nar meyvesinin tanelerinin preslenmesiyle nar suyunun elde edilmesi ve elde edilen bu nar suyunun ısıtılarak içerisindeki şekerin karamelize olması ve de suyunun buharlaştırılarak uzaklaştırılması sonucu elde edilen bir üründür. Yine TS 12720’de nar ekşisi duysal özellikler hakkındaki tanımlama Tablo 1.2’de belirtildiği gibidir.

Tablo 2.2 Nar ekşisinin duysal özellikleri [23]

Özellikler	Sınırlar
Renk	Nar ekşisi kendisine özgü açık kahverengiden koyu kahverengine kadar değişebilen renkte olmalıdır.
Görünüş	Nar ekşisi tortusuz olmalı, meyve parçacıkları içermemeli ve tekniğine uygun olarak durultulmuş olmalıdır.
Tat	Nar ekşisinin tadı, kendine özgü olmalı, yanık ve yabancı tat bulunmamalıdır.
Koku	Nar ekşisine özgü kokuda olmalı, yabancı koku bulunmamalıdır.

2.3. Nardan ve Nar Ürünlerinden Elde Edilen Ekstraktlar Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Nar kabuğu, yenilebilir ürünlerin depolama stabilitesini ve beslenme kalitesini artıran çeşitli fonksiyonel özelliklere sahiptir. Nar kabuğu ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin değerlendirilmesi ve bu ekstraktların karides etinin mikrobiyal gelişimini engellemedeki ve lipit oksidasyonunu kontrol etmedeki etkinliği saptanmıştır. Sonuçlar, nar kabuğu ekstraktların 169 mg GAE/100 g fenolik içeriğe sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmadan elde edilen verilere göre, nar

kabuğu ekstraktlarının kıyılmış karideslere uygulanmasının, karides ve deniz kökenli ürünlerin kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesini korumak için uygun bir strateji olduğu sonucuna varılmıştır [24].

Nar kabuğu polisakkaritlerinin kimyasal karakteristiğın, antioksidan kapasiteleri ve hepatoproteksiyon etkisi, farelerdeki CCl₄ kaynaklı oksidatif hasara karşı incelenmiştir. Nar kabuğu polisakkaritleri, asidik heteropolisakaritler olarak HPLC yöntemleriyle tanımlanmıştır. İn vitro testler, nar kabuğu polisakkaritlerinin serbest radikallere karşı mükemmel indirgeme gücüne ve temizleyici etkilere sahip olduğunu göstermiştir. CCl₄ enjeksiyonundan önce farelere nar kabuğu polisakkaritleri (50, 100 ve 200 mg/kg-bw) uygulanmış ve daha sonra CCl₄ ile indüklenmiş farelerde, artan serum alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalın fosfataz ve hepatik malonaldehit seviyeleri gözlemlenmiştir. Ek olarak, karaciğerin histopatolojik gözlemi bu biyokimyasal özellikleri kanıtlamıştır. Bu nedenle, nar kabuğu polisakkaritlerinin, farelerde CCl₄ ile indüklenen karaciğer hasarına karşı güçlü koruyucu etkiler sergilediğı sonucuna varılabileceğı savunulmuştur [25].

Nar (*Punica granatum* L.) kabuğu tozu, aktif ambalaj filmi geliştirmek için balık jelatin filmi oluşturma çözeltisine dahil edilmiştir. Filmlerin fiziksel, mekanik, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Nar kabuğu tozu içermeyen balık jelatin filmi kontrol filmi olarak kullanılmıştır. Balık jelatin filmlerinin su buharı geçirgenliğı, nar kabuğu tozu içeriğı arttıkça artmıştır. Bununla birlikte, nar kabuğu tozu içeriğı daha yüksek olan filmler, daha yüksek gerilme mukavemeti sergilemiştir. Nar kabuğu tozu önemli ölçüde ($p < 0.05$), DPPH ve ABTS testlerinde filmlerin antioksidan özelliklerini geliştirmiştir. Filmin antimikrobiyal aktiviteleri, nar kabuğu tozu eklenmesinden sonra da önemli ölçüde artmıştır. *Staphylococcus aureus*, aktif filme en duyarlı bakteri olarak görülürken, onu *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* takip etmiştir. Elde edilen sonuçlar, nar kabuğu tozu içeren balık jelatininin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip aktif bir film olarak iyi bir potansiyele sahip olduğunu ve bu nedenle kalitenin korunmasına ve gıda ürünlerinin raf ömrünün uzamasına yardımcı olabileceğini göstermiştir [26].

Nar kabuğu ekstraktı ile kombine halde kitosan ve aljinat kaplamalarının guava kalitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Kaplanan örneklerde, 10 °C'de 20 gün

boyunca kontrole kıyasla, solunum hızı, olgunlaşma indeksi ve renk değerlerinde kısıtlı değişiklikler kaydedilmiştir. Nar kabuğu ekstraktı ile zenginleştirilmiş kitosan ile kaplanmış numunelerin, toplam meyve kalitesini korumada en etkili muamele olduğu kanıtlanmıştır. Nar kabuğu ekstraktı ile zenginleştirilmiş kaplamaların, 20 günlük düşük sıcaklıkta depolama sırasında guavaların kalitesini korumada etkili olduğu ifade edilmiştir [27].

Kilis pazarlarında satılan nar, sumak ve olgunlaşmamış üzüm konsantresi ürünlerinin bazı kalite parametrelerinin belirlenmesi üzerine yapılmış bir diğer çalışmada, en yüksek pH (3,29-3,51) ve titrasyon asitliği (13,19-29,59 g/100 ml) değerleri genellikle ev yapımı nar konsantresi ve ev yapımı sumak konsantresi örneklerinde belirlenmiştir. 5-hidroksimetilfurfural (HMF) ve esmerleşme indeksi için en yüksek değerler nar konsantresi numunesinde tespit edilmiştir. *Candida albicans'* a karşı denenen numunelerin hiçbirinin etkili olmadığı ancak analize alınan bazı numunelerin vankomisininden daha etkili olduğu bildirilmiştir [28].

Narın posasında ve kabuğunda bulunan fenolik biyoaktif maddeler yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak tanımlanmış ve ölçülmüştür. β Punikalajin, on-line HPLC-ABTS yöntemiyle değerlendirilen en büyük antiradikal aktiviteyi göstermiş; bunu α punikalajin, gallik asit ve epikateşin izlemiştir. Ayrıca, peroksil ve DPPH radikallerine karşı süpürme aktivitesinin yanı sıra indirgeme gücü araştırılmıştır. Nar kabuğundan elde edilen ekstraktlar, nar posasındakinden daha yüksek fenolik içeriğe sahip olarak görülmüş ve daha fazla antioksidan özellik göstermişlerdir, bu nedenle Alzheimer hastalığının ilerlemesinde rol oynayan önemli bir enzim olan asetilkolinesteraz potansiyel inhibitörü olarak seçilmiştir. Nar kabuğundaki fenolikler, fenolik konsantrasyona bağlı olan asetilkolinesterazın inhibisyonunu sağlamıştır. Bu nedenle, nar kabuğunun, endüstri tarafından fonksiyonel bir gıda maddesi olarak önemli bir potansiyele sahip olduğu düşünülmüştür [29].

Bir başka çalışmada nar kabuğu ekstraksiyonunun optimizasyonu ve elde edilen ekstraktların toplam fenol içeriği ve profili, antioksidan aktivite ve antimikrobiyal etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Solventler olarak su ve metanol kullanılmış ve farklı kabuk:çözücü oranları karşılaştırılmıştır. Metanol nar kabuğu

ekstraktı ve su ekstraktları DPPH antioksidan aktiviteleri, polifenol profilleri ve içeriği HPLC/DAD ve HPLC/MS ile analiz edilmiştir. Nar kabuğunun metanol ve su ekstraktlarının farklı konsantrasyonları (sırasıyla 0,061 ile 0,304 ve 0,072 ile 0,361 g kuru ekstrakt/ml), minimum inhibitör konsantrasyonunu (MİK) belirlemek için *Penicillium digitatum*, *Pseudomonas putida* ve *Saccharomyces cerevisiae*'ye karşı in vitro olarak test edilmiştir. Nar kabuğundaki hidrolize olabilir tanenlerin ana polifenollerini temsil ettiği ve temel bileşenin punikalajin olduğu tespit edilmiştir. Metanol ile ekstrakte edilen dilüsyonların, su ile ekstrakte edilenlerle karşılaştırıldığında, metanol ekstraktlarının hedeflenen mikroorganizmalara karşı daha etkili olduğu ve *P. putida* ve *S. cerevisiae* popülasyonlarını sırasıyla 3,15 ve 2,52 log kob/ml'ye kadar azaltabildiği ifade edilmiştir [30].

Nar kabuğu ve çekirdeği ile yapılan bir çalışmada nar kabuğu ekstresi yüksek antioksidan aktivite gösterirken, nar çekirdeği ekstresinin önemli bir aktiviteye sahip olmadığı tespit edilmiştir. Nar kabuğu ekstresinin IC50 değeri (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radikal süpürme değeri) 4.9 µg/ml iken, butillenmiş hidroksi toluen değeri 21.2 µg/ml olarak bulunmuş ve bu da daha güçlü bir antioksidan olduğunu göstermiştir. Nar kabuğu ekstresinin aynı zamanda indirgen gücü ve demir şelasyon kapasitesi yüksek olarak bulunmuştur. Nar kabuğu ekstresinin, % 0.01 konsantrasyonda *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus*'a karşı iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *Pseudomonas*, daha yüksek bir konsantrasyonda (% 0.1) inhibe edilebilirken, *Escherichia coli* ve *Salmonella enterica* subs. Typhimurium'a karşı etkisiz kalmıştır. Ayrıca nar kabuğu ekstresinin popüler tavuk eti ürünlerine eklenmesi, soğukta depolama sırasında raf ömrünü 2-3 hafta artırmış ve bu tavuk ürünlerinde oksidatif yetmezliğin kontrolünde de etkili olmuştur [31].

Türkiye'nin Akdeniz bölgesinde yetişen 6 farklı nar (*Punica granatum L.*) çeşidinden elde edilen tane zarları, antimikrobiyal özellikleri bakımından, yedi bakteriye (*Bacillus megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium xerosis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*) ve üç fungusa (*Kluyveromyces marxianus*, *Rhodotorula rubra*, *Candida albicans*) karşı agar difüzyon ve MİK metotları ile test edilmiştir: zar ekstraktlarının, tüm mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ve 13 ile 26 mm arasında değişen inhibisyon zonları sağladığı görülmüştür. Aktif ekstraktlar için MİK

değerleri 30 ile >90 µg /ml arasında değişmiştir. Elde edilen sonuçların Punica granatum çeşitlerinin antimikrobiyal potansiyelini doğruladığı görülmüştür [32].

Bir başka çalışmada Hicaz narı çekirdeğinin kuru madde, yağ, kül ve mineral madde (fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum, sodyum, demir, bakır, çinko, mangan) tayini yapılmış, nar çekirdeği yağının ise kırılma indisi ve yağ asidi profili incelenmiştir. Yapılan inceleme sonucunda kuru madde %50,93±0,56, yağ 21,25±0,93 g/100 g, protein 37,10±0,82 g/100 g, kül 2,44±0,08 g/100 g, fenolik madde 7,20±0,08 mg/g olarak bulunmuştur. Nar çekirdeğindeki mineral dağılımı ise; fosfor 3306±66,85 mg/kg, kalsiyum 2207±75,05 mg/kg, magnezyum 949±36,64 mg/kg, potasyum 949±37,25 mg/kg, sodyum 240±13,79 mg/kg, demir 67,12±3,25 mg/kg, çinko 48,01±2,11 mg/kg, bakır 35,04±2,60 mg/kg, mangan 22,94±0,64 mg/kg şeklindedir. Nar çekirdeği yağının yağ asidi bileşiminin ise palmitik (%4,62), stearik (%2,77), oleik (%6,83), linoleik (%5,81), araşidik (%1,14) ve punikik asit (%78,83) olmak üzere toplam altı yağ asidinden meydana geldiği tespit edilmiştir [33].

2.4. Biyoaktif Bileşenler ve Etkileri ile DNA’da Oluşabilecek Hasarlar

2.4.1. Antibiyotikler

Antibiyotik, bir mikroorganizma tarafından diğer bir mikroorganizmayı öldürmek ya da üremesini durdurmak için üretilen veya yapay yolla sentezlenen maddelere denilmektedir [34]. Antibiyotik, Yunanca “anti (karşı)” ve “bios (yaşam)” sözcüklerinden türetilmiştir. Diğer bir sözlük tanımı da “*bitkilerde, özellikle küf mantarlarında bulunan ya da yapay olarak üretilen, bakteri ve diğer mikroorganizmaların gelişimini durduran ya da onları yok eden maddelerin ortak adıdır*” şeklindedir [35-37]. Antibiyotik üretimi, onu üreten mikroorganizma için, rekabet ettiği flora üzerine seçici bir avantaj sağlar.

2.4.1.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Antibiyotikler, etki güçlerine, etki mekanizmalarına ve farmakokinetik ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmaktadır.

2.4.1.2. Etki Güçlerine Göre Antibiyotikler

Antibiyotikler etki güçlerine göre, bakteriyostatikler (hücre gelişimini ve üremesini engelleyen) ve bakterisidler (bakteri hücrelerini direkt yok edenler) olarak 2 gruba ayrılmaktadırlar. [38].

- ❖ Bakteriyostatikler; Tetrasiklinler, Makrolitler, Sülfonamidler, Amfenikoller, Linkozamidler, Metronidazol, Mikonazol
- ❖ Bakterisidler;
 - Beta-Laktamlar
 - Penisilinler
 - Sefalosporinler
 - Monobaktamlar
 - Karbapenemler
 - Beta-laktamaz inhibitörleri
 - Sulbaktam
 - Tazobaktam
 - Klavulanik Asid
 - Polipeptidler
 - Florokinolonlar
 - Vankomisin
 - Rifamisin
 - Teikoplanin

2.3.1.3. Etki Mekanizmalarına Göre Antibiyotikler

Antibiyotikler etki mekanizmalarına göre; hücre duvarı sentezini bozanlar, litik enzimleri aktive edenler, sitoplazma geçirgenliğini bozanlar, ribozomdaki protein sentezini bozanlar ve bakteriyel antimetabolitler olmak üzere 5 gruba ayrılmaktadır [38].

2.3.1.4. Farmakokinetik ve Kimyasal Yapılarına Göre Antibiyotikler

Farmakokinetik ve kimyasal yapılarına göre antibiyotikler; beta laktamlar, fenikoller, sülfonamidler, tetrasiklinler, aminoglikozidler, makrolidler, linkozamidler, polipeptidler, kinolonlar, nitrofuranlar, imidazoller ve rifamisinler olarak ayrılmaktadır [38].

2.4.1.5. Antibiyotiklere Direnç Gelişimi

Gram Negatif ve Gram Pozitif bakteriler hastane enfeksiyonlarında da önemli mikroorganizmalar olarak karşımıza çıkmaktadır. Antibiyotiklerin keşfinden sonra, kullanımının yaygınlaşması ile beraber mikroorganizmalarda direnç geliştirmeye başlamıştır. Geçmişte antibiyotiklerle enfeksiyonların tedavisi kolaylıkla yapılabilirdi, günümüzde bakteri direnci o kadar hızlı gelişme göstermektedir ki, ilaç endüstrisi bu hıza yetişemez olmuştur [39,40]. Bu durum, yeni antibiyotik molekülü arayışına hız kazandırmasıyla beraber, bu arayışta doğal kaynak kullanımı da önem kazanmıştır. Doğal kaynaklar kullanılarak keşfedilen yeni antimikrobiyal ajanlar, bitki özütlerinin değerlendirilmesine dayanmaktadır [2].

2.4.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran, varlığını kısa süre gösteren, kararsız yapılı, düşük molekül ağırlığına sahip, çok etkili molekül şeklinde açıklanmaktadır. Birçok durumda serbest radikal oluşumu patomekanizmanın bir bölümüdür ve birçok ksenobiyotiğin toksisitesi serbest radikallerin ortaya çıkması ile ilgilidir. Kadmiyum ve kurşun gibi çevreye zarar veren moleküllere maruz kalınması oksidatif strese neden olabilmektedir. Bu durum maalesef biyolojik sistemlerde bulunması istenmeyen mekanizmaların altında yatan diğer bir mekanizmadır [41,42].

Oksidatif etki ise, kısaca vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna sebep olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Serbest radikaller; nitrik oksit, lipid peroksid, süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi farklı kimyasal yapılara sahiptirler [43]. Biyolojik sistemlerdeki önemli serbest radikaller arasında ilk sıralarda oksijenden oluşan serbest radikaller yer almaktadır. Oksijen, süperoksit grubuna (O_2^-) bazı demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle indirgenir. Oldukça etkin olan ve hücre hasarına yol açabilen süperoksit grubu, bakır içeren süperoksit dismutaz (SOD) ile hidrojen peroksid (H_2O_2) ve oksijene dönüştürülür. Süperoksit grubundan daha zayıf etkisi olan H_2O_2 , dokulardaki peroksidaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimler sayesinde su ve oksijene ayrıştırılır. Dietilditiyokarbamat gibi SOD'nin etkinliğini

engelleyerek süperoksit gruplarının zararsız hale getirilmesini sınırlandırırken, lipid peroksidasyonuna hız kazandırır. Bununla beraber katalazın etkinliğini engelleyen maddelerde (aminotriazol gibi herbisidler) etkin oksijen gruplarına veya bu grupları meydana getiren maddelere duyarlılığı artırır [44,45].

2.4.2.1 Serbest Radikal Oluşumuna Neden Olan Başlıca Mekanizmalar

Serbest radikallerin oluşumuna neden olan başlıca mekanizmalar şu şekildedir [46] .

- **Otooksidasyon:** Atmosferdeki oksijenin katalizlendiği bir etkileşim olarak açıklanabilir. Hidroperoksitin zincir reaksiyonu sayesinde, peroksit radikali oluşturması, hidroperoksitin bir metal iyonu varlığında indirgenmesi, alkoksi ya da hidroksi radikali meydana getirmesi ve otooksidasyon ile serbest radikal oluşum mekanizmalarından birisidir.
- **Geçiş metal iyon etkisi:** Demir (Fe) ve bakır (Cu) benzeri geçiş metali iyonları biyolojik sistemde serbest radikalleri meydana getiren önemli oksidatif katalist maddelerdir.
- **Fotooksidasyon:** Fotooksidasyon da oksidasyonlarda başlangıç rolü üstlenen peroksitlerin oluşumu için gereklidir ve bu yolla serbest radikaller oluşturmaktadırlar.
- **Enzimatik Oksidasyonlar:** Biyolojik sistemlerde reaktif oksijen türlerini oluşturan başlıca mekanizmalardan biri olan enzimatik oksidasyonlarda, ksantin oksidaz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz, nötrofil miyeloperoksidaz, halojenlenmiş hidrokarbonlar benzeri enzimatik reaksiyonlar serbest radikal oluşturabilmektedirler.

2.4.2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri

Canlı ortamlarda oluşan radikallerin difüzyon yarıçapları, aktif olma konusunda etkilidir. Difüzyon yarıçapı düştükçe, aktiflik artmaktadır. Düşük aktiviteye sahip radikallerin, difüzyon hızları yüksek olmasına rağmen, oldukça fazla hücresel tahribatlara sebep olabilmektedirler. Hücresel serbest radikallerin etkilediği moleküller Tablo 2.3'te verilmiştir.

Tablo 2.3 Serbest radikaller ve etkilediği moleküller [47].

Etkilenen Bileşiğin Adı	Etkinin Sonuçları
Doymamış amino asitler ve kükürt içeriği olan amino asitler	Protein denatürasyonu Çapraz bağlanma Enzim inhibisyonu Organ ve hücre geçirgenliğinde değişimler
Nükleik Asit Bazları	Mutasyon Hücre gelişiminde değişimler
Karbohidratlar	Hücre yüzey alıcılarında değişimler
Doymamış Yağlar	Kolesterol ve yağ asitleri oksidasyonu
Kofaktörler	Nikotinamid ve flavin içeren kofaktörlerin aktifliğinde azalma Askorbik asit ve porfirin oksidasyon
Antioksidanlar	Alfa-tokoferol ve beta-karoten gibi antioksidanların aktifliğinin azalması
Proteinler	Denatürasyon Peptid zincirinde kırılmalar
DNA	Baz modifikasyonu Zincirde kırılmalar
Hyaluronik asit	Synovial sıvının vizkozitesinde değişim

2.4.3. Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikaller nedeniyle oluşan oksidatif stresin ortadan kaldırılması için oldukça etkili bir faktördür. Antioksidanlar, serbest radikalleri süpürerek hücresel bozulmaları engelleyebilen maddeler olarak isimlendirilmektedir. Antioksidanlar insan vücudunda doğal olarak sentezlenebildiği gibi, dışarıdan ek olarak alınabilmektedir. Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olarak bahsi geçen bu antioksidanlar, serbest radikalleri engelleyici olarak görev yapmaktadır. Bu nedenle, immün sistemin etkisini arttırmak suretiyle hastalık riskinde azaltmış olmaktadır [48]. Ayrıca antioksidanlar, serbest radikallerle hızla etkileşime girerek

otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini durduran maddeler olarak isimlendirilirler [49]. Endojen ve eksojen antioksidanların sınıflandırması Tablo 2.4'te verildiği gibidir.

Tablo 2.4 Endojen ve eksojen antioksidanlar [50,51]

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
Enzimatik Antioksidanlar	Nonenzimatik Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	α -lipoik aist
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin

EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	
Vitamin Eksojen Antioksidanlar	İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar
α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri
β -karoten (Vitamin A)	NADPH Oksidaz inhibitörleri
Askorbik Asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz
Folik Asit (Vitamin B9)	Trolox-C (Vitamin E analogu)

2.4.3.1. Endojen Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz: Reaktif oksijen türevlerine karşı ilk savunma süperoksit dismutaz ile olmaktadır. Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini (O_2^-), H_2O_2 ve O_2 'e dönüştürebilmektedir. H_2O_2 'te sonra CAT veya GPx yardımı ile ortamdan uzaklaştırılmaktadır [52].

İnsanlarda SOD'un üç farklı çeşidi bulunmaktadır. Bakır (Cu) ve çinko (Zn) bulunduran süperoksit dismutazlar (Cu/Zn SOD) sitozolde ve manganez (Mn) bulunduran süperoksit dismutazlar (Mn SOD) mitokondride bulunurken ekstrasellüler süperoksit dismutazlar (EC SOD) hücre dışında bulunan sıvılarda varlık göstermektedir [51,52].

Katalaz (CAT): 4 alt üniteden meydana gelen katalazın, her bir alt birimi, bir hem grubu ve bir NADPH molekülü bulundurmaktadır [52,53]. Katalaz, genellikle peroksizom benzeri hücre içi organellerde, daha az olarak mitokondri ve

endoplazmik retikulumda bulunmaktadır. CAT, hidrojen peroksidin su ve oksijene katalizlenmesini sağlar [54].

Glutasyon Peroksidaz (GPx): Glutasyon peroksidaz, hücre sitoplazmasındaki hidrojen peroksidin neden olduğu oksidatif bozulmaya karşı hücreleri korumakla görevlidir. Hidrojen peroksitten OH oluşumunu engeller. Glutasyon peroksidaz 4 alt birimden oluşur ve her bir alt birim selenyum içermektedir [51].

Glutasyon Redüktaz (GR): Bir flavoprotein enzimi olan glutasyon redüktaz, flavin adenin dinükleotid (FAD) içermektedir. Glutasyon redüktaz, NADPH'nin bir elektronunu okside glutasyonun disülfid bağlarına aktararak yeniden glutasyon (GSH)'a dönüştürülür. Bu nedenle NADPH serbest radikal hasarının durdurulması için gerekli olmakla birlikte en önemli kaynağı heksoz monofosfat (veya pentoz fosfat) yoludur [51,55].

Glutasyon: Bütün ökaryotik hücrelerde üretilbildiği için yüksek miktarda bulunmaktadırlar. Glutasyon, antioksidan gibi faaliyet gösterir ve bununla beraber hücrenin redoks durumunun devam ettirilmesinde, detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, eikosanoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak görev almaktadır [56].

Melatonin: Melatonin (N-asetil-5-metoksi-triptamin), epifiz bezinden endojen olarak sentezlenmekte ve dolaşıma katılmaktadır. Bunun yanı sıra, farklı yerlerde de üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Işık olmayan bir zaman diliminde ya da bir ortamda triptofandan üretilmektedir [57]. Melatonin serbest radikallerin zarar veren etkilerini azaltmakta, tüm hücre içindeki makromolekülleri oksidatif zarara karşı korumaktadır. Melatonin, lipid ve proteinlerle beraber, çekirdek ve mitokondri deoksiribonükleik asit (DNA)'ini korumaktadır. Melatonin direkt serbest radikal süpürücüsü ve dolaylı bir antioksidan olarak, her yerde faaliyet göstermesi ile geniş çapta bir koruyucu özellik göstermektedir. Ayrıca melatonin, elektron taşıma sistemi (ETS) aktivitesini arttırarak, serbest radikallerin üretilmesini ve elektron kaçaklarını azaltır [58].

Ürik Asit: Atık bir ürün olarak da kabul edilen ürik asit, yüksek miktarlarda bulunduğunda, kristalize olacağından böbrek taşlarına ve provoke gut artritisine sebep olabilmektedir. Kanın toplam antioksidan kapasitesinin yaklaşık yarısından sorumlu olduğu düşünülen ürik asit, hidroksil, süperoksit, singlet oksijen, peroksinitrit anyonu ve peroksinitrit asidin etkinliğini ortadan kaldırırken, geçiş metallerini şelatlamaktadır. Ürik asit, lipid peroksidasyonunu durdurur ve böylece de koruyucu olarak görev yapmaktadır. Bunların yanısıra güçlü bir serbest radikal süpürücü olan ürik asit ayrıca demir ve bakır gibi metal iyonlarının şelatorları olarak da faaliyet göstermektedir [59,60].

Bilirubin: Temelde ömrü sona ermiş eritrositlerin parçalanması sonucunda, içlerinde bulunan hem proteinlerinin yıkılması ile meydana gelen bilirubin, dolaşım esnasında karaciğere aktarılmakta; biyotransformasyona uğratıldıktan sonra safrayla veya idrarla dışarı atılmaktadır. Bununla beraber bilirubin etkili bir antioksidandır ve peroksit radikallerini etkileyerek zincir kırıcı bir etki göstermektedir [61,62].

Albumin: 585 aminoasit içeren albümin 66 kilodalton (kDa) molekül ağırlığına sahiptir. Bu protein insan plazmasında 30-50 mg/ml düzeyinde bulunur ve yüksek derecede çözünabilmektedir. Vücut içerisindeki farklı bölümler arasında sıvı dağılımında ve ozmotik basıncın düzenlenmesinde önemli bir görev alan albümin, bir çok farmakolojik ve fizyolojik öneme sahip bir proteindir. Güçlü bir oksidan bileşik olan hipokloröz asit (HOCl), nötrofil ve monosit gibi fagositlerin myeloperoksidaz enzimini ortama salmasıyla katalizlenmiş olur. Albumin ise oluşan bu HOCl oksidanlarını süpürebilmekte ve bu sayede HOCl'nin öncelikli biyolojik hedefi olan α -antiproteazın değiştirilmesini engellemiş olmaktadır [63].

Koenzim Q10: Koenzim Q10 diğer isimleriyle CoQ10, ubikinon, vitamin Q10, ubidekakinon, ubidekarenon; vücutta doğal yoldan senteslenen vitamene benzer benzokinon bileşiğidir. Aerobik solunum, aerobik metabolizma veya hücre solunumu süreçlerinde enerji üretiminde oldukça önemlidir. Bütün hayvan ve insan bedenlerinde sentezlenebildikleri için, ubikinon bileşiklerinin bir parçası olan koenzim Q10 vitamin olarak kabul edilmemektedir. İnsan hücrelerinde triozinden üretilen koenzim Q10, lipitlerdeki çözünürlüğü yüksek olan neredeyse tüm hücre membranlarında bulunmasının yanında, lipoproteinlerde de bulunmaktadır. Ayrıca,

mitokondrinin iç zarında yer alan, en az üç mitokondri enzimi (Kompleks I, II, III) için bir kofaktör olmakla beraber oksidatif fosforilasyonda önemli bir rol oynamaktadır [64].

α -Lipoik Asit: α -Lipoik asit (1,2-ditiolan-3-pentanoik asit) ve bu asitin indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asit oldukça güçlü antioksidanlardan biridir. α -Lipoik asit, hidroksil, hipokloröz asit, peroksinitrit anyonu ve singlet oksijeni süpürürken, dihidrolipoik asit ayrıca süperoksit ve peroksit radikallerini de süpürmektedir [65].

Selenyum: Selenyum, antioksidan ve immun sistemi düzenleyici fonksiyona sahip temel bir element olmakla beraber, aminoasit sentezlenmesinde kullanılmakta, selenosistein olarak isimlendirilmektedir ve selenoprotein fonksiyonu için oldukça önemlidir. İnsan bedeninde en az 25 selenoprotein bulunmaktadır. Bu selenoproteinler, antioksidan enzimler (glutasyon peroksidaz vb), antioksidan proteinler (selenoprotein P ve W) ve diğer metabolik enzimlerin fonksiyonuna göre sınıflandırılmaktadır. Selenyum, GPx aktivitesini artırarak reaktif oksijen türlerinin oluşumunu baskılamaktadır [66].

Seruloplazmin ve Transferrin: Beyin dahil olmak üzere birçok dokuda üretilen önemli antioksidan bir proteindir. Seruloplazmin kandaki bakırın %95'ini taşıyan bir α_2 serum glikoproteinidir. Transferrin ise hücrelere Fe^{+3} taşınmasından sorumlu olan taşıyıcı bir proteindir. Seruloplazmin, ferroksidaz ve SOD gibi faaliyet gösterir ve eritrosit zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitlerini, aktif oksijen türlerinin yaratacağı hasarlardan korur. Transferrin ise, H_2O_2 'nin $OH^\bullet$ 'e dönüşümünü katalizleyerek oksidatif strese sebep olan ferröz iyon konsantrasyonunu azaltarak bir antioksidan gibi hareket eder [67].

2.4.3.2. Eksojen Antioksidanlar

Vitamin E: Yağda çözünen bir vitamin olup oldukça yüksek bir antioksidan potansiyeline sahiptir. Bu vitaminin 8 stereoizomeri bulunmakta olup asimetrik bir bileşiktir. Bunlar, α , β , γ , δ tokoferol ve α , β , γ , δ tokotrienol olarak sınıflandırılmaktadır. İnsanlarda en biyoaktif formu α -tokoferoldür. Vitamin E'nin hücre membranında gösterdiği antioksidan etkiyi, hücrenin içerisinde genel olarak GPx üzerine alır [68]. GPx ile α -tokoferol birbirini tamamlayıcı bir antioksidan etki

gösterirler. α -Tokoferol peroksitlerin meydana gelmesine engel olurken, GPx ise hali hazırda oluşmuş olan peroksitleri ortadan kaldırmaktadır [69]. Bunların yanısıra Vitamin E, göğüs, kolon ve prostat kanserleri, bazı kardiyovasküler hastalıklar, katarakt, iskemi, artrit ve nörolojik bozukluklara karşı da koruma özelliğine sahiptir [70].

Vitamin C: Askorbik asit olarak da isimlendirilen vitamin C, suda çözünmektedir. Karnitin, kollajen ve nörotransmitter biyosentezi için gereklidir [71]. Vitamin C, ozon, hidroperoksil, süperoksit, singlet oksijen, nitrojendioksit, peroksinitrit ve hipokloröz asit benzeri reaktif oksijen türlerini ve reaktif nitrojen türevlerini kolayca süpürür ve bu nedenle oksidatif strese karşı etkin bir koruma sağlamaktadır. Vitamin C, lipitlerde çözünmüş olan radikallerin temizlenmesi ile üretilen α -tokoferoksil radikallerinden, α -tokoferolü yeniden sentezleyerek bir ko-antioksidan olarak fonksiyon gösterebilmektedir [72]. Vitamin C, antioksidan özellikleri ile beraber, Fe^{+3} 'ü, lipid peroksidasyonunu arttıran Fe^{+2} 'e çevirerek oksidan bir davranış da gösterebilmektedir [68].

β -Karoten: Karatinoidlerin yağda çözünen üyesi olan β -karoten, aktif A vitaminine dönüşebilmeleri nedeniyle provitamin olarak da bilinmektedir. β -karoten, retinada, karanlık ortamda görüş için elzem olan retinole dönüşür. β -karoten oldukça güçlü bir antioksidandır ve en iyi singlet oksijen temizleyicisidir [70].

Folik Asit: Folik asit, vitamin B üyesi olup suda çözünmektedir. DNA ve eritrosit üretimi için gerekli olan folik asit, hem kadın hem de erkek bireylerde fertilité için oldukça büyük bir öneme sahiptirler. Folik asit erkeklerde sperm üretimi için gereklidir [73]. Ayrıca folik asit reaktif oksijen türlerini temizleyen oldukça güçlü bir antioksidandır [74]. Folik asit tek başına veya diğer vitamin B türleri ile birlikte plazma homosistein düzeyinin düşürülmesinde görev almaktadır. Bununla beraber vitamin C ve vitamin E gibi antioksidan vitaminler, homosistein aracılı oksidatif vasiküler hasarların engellenmesinde rol alabilmektedir [75].

2.4.4 DNA Mekanizması

2.4.4.1. DNA Hasarları

Genel olarak DNA, tüm canlı organizmaların ve bazı virüslerin canlılık faaliyetlerini ve biyolojik gelişimlerini yöneten, çift sarmal zincir yapısında, organik azotlu baz dizisidir. Ancak DNA, endojen ve eksojen faktörlerin etkisi ile genetik materyalin moleküler bütünlüğünde değişiklikler meydana getirebilmektedir. Bu duruma “DNA hasarı” denilmektedir [76]. Reaktif oksijen türleri ile oluşan hasara da “oksidatif DNA hasarı” denilmektedir. Hem hücre çekirdeğinde hemde mitokondride bulunan DNA, reaktif oksijen türlerinin saldırılarına hedef olabilmekte ve bunun sonucu olarak farklı DNA dönüşümleri olabilmektedir [77]. Mitokondriyel DNA, nükleus DNA’sına oranla, reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu hasarlara karşı 3 kat daha hassas bir yapı göstermektedir [78,79]. DNA’nın üç ana bileşeninde (bazlar, şeker ve fosfat grubu) de hasarlar meydana gelebilmektedir. Bununla beraber bazlar, şeker ve fosfat grubuna göre bazı kimyasallar için daha iyi bir hedef olabilmektedir. Oksidatif stres sonucunda ortaya çıkan birçok baz bozunması tespit edilmiştir [80]. DNA’da meydana gelen modifikasyonların önemli bir kısmı, serbest radikallerin eş reaktif olarak bilineni OH tarafından meydana gelmektedir [81].

2.4.4.2. Oksidatif DNA Hasarı Nedeniyle Oluşan Biyolojik Sonuçlar

Maruz kalınan bazı koşullar nedeniyle veya yaşlanma süreci ile beraber hücreleri oksidatif hasardan korumak için çalışan hücresel antioksidan defans sistemleri yetersiz kalabilmekte, reaktif oksijen türlerinin biyomoleküller üzerinde yarattığı hasarlar giderek artmaktadır. Oluşan bu hasarların engellenmemesi veya onarılması imkânsız hale gelmesi durumunda, metabolik aksamalar, mutasyon ve kanser oluşumları meydana gelebilmektedir [80,82,83]. Oksidatif DNA hasarının azaltılması ya da engellenmesinin anti-kanser etki yaptığı ama buna karşın oksidatif DNA hasarının artmasının kanser gelişimini tetiklediği bilinmektedir [84]. Dolayısı ile DNA hasarının, kanser gelişimi ve reaktif oksijen türleri ile ilişkili rahatsızlıklar için iyi bir ölçü olabileceği düşüncesi ortaya çıkmaktadır [84,85]. Yapılan birçok deneysel çalışmada da, oksidatif DNA hasarının genel olarak onkogenler ile tümör baskılayıcı genlerde meydana gelmesinin, mutasyona yatkınlığı arttırdığı, yani mutajenik ve karsinojenik özellikleri olduğu ortaya çıkmıştır [82,86-89]. Bununla

beraber, yaşlanmayla ve dejeneratif hastalıklarla da ilişkili olduğu bulunmuştur [80,83,90,91].

2.4.4.3. DNA Koruyucu Aktivite

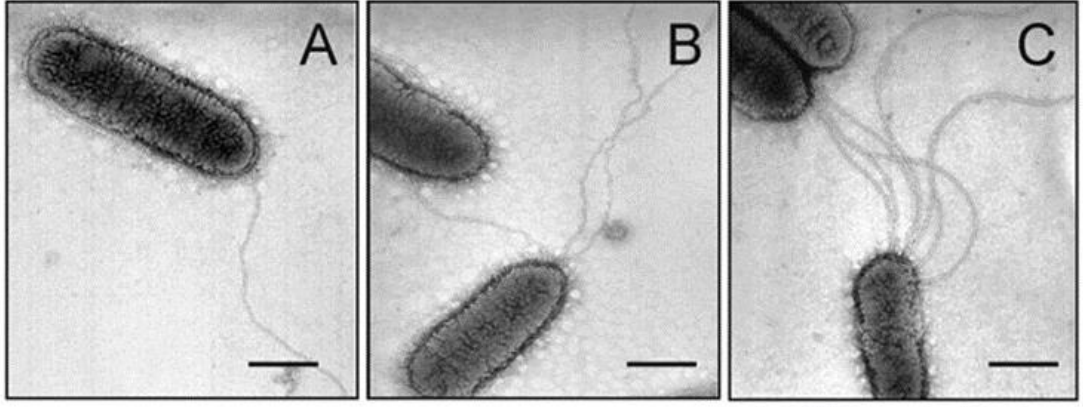
Stratosfer tabakasında meydana gelen hasar nedeniyle dünyaya ulaşan ultraviyole (UV) ışınlarının, ciltte yaşlanma ve özellikle cilt kanseri gibi hastalıklara neden olduğu bilinmektedir [92]. İnsan cildinde reaktif oksijen türlerini baskılayan enzimatik ya da enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmaları bulunmaktadır ve bu mekanizmalar, görünür ışınlar ile UV ışınlarının zarar verici etkilerinin azaltılması konusunda katkı sağlamaktadırlar [93]. Bununla beraber, UV ışınlarına maruz kalınması durumunda, hücresel antioksidanlar azalmakta ve reaktif oksijen türlerinin neden olduğu UV kaynaklı oksidatif DNA hasarları oluşabilmektedir [94].

Yapılan bazı çalışmalar sayesinde, antioksidanların kanser büyümesine negatif yönde etki gösterdiği ve reaktif oksijen türleri nedeniyle oluşabilecek DNA hasarına yatkınlığın, bazı fitokimyasallar ile kontrol edilebileceği ortaya çıkarılmıştır [95].

2.5. *Stenotrophomonas maltophilia*'nın Genel Özellikleri

Stenotrophomonas maltophilia; aerobik, gram negatif basil ve non-fermenter bir bakteridir. Hastane enfeksiyonlarında, özellikle de yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan hastalarda enfeksiyonlara sebep olan fırsatçı bir patojendir [96].

İlk olarak 1943'te J. L. Edwards tarafından plevral sıvıdan izole edilen *S.maltophilia*, o dönem "*Bacterium bookeri*" olarak isimlendirilmiştir. Sırayla *Pseudomonas maltophilia* ve son olarak *S. maltophilia* ismini almıştır [97]. *S. maltophilia* hücresi, düz veya hafif kıvrık şekilde olup 0,5 – 1,5 µm uzunluğunda, tek veya çiftler halinde görülebilen, polar flagelları sayesinde hareketli bir bakteridir [97-98]. 5° C - 40° C arasında üreyebilmesine karşın optimum üreme sıcaklığı 35° C'dir. Bu mikroorganizma maltozu metabolize edebilirken, glukozu fermente edemez.



Şekil 2.1. *S. maltophilia*, SMDP92 suşu ve flagellalarının elektron mikrografi [99].

S. maltophilia, bir (Şekil 2.1.A) ya bir kaç (Şekil 2.1.B,C) flagellaya sahip olabilir. Ayrıca, O somatik antijenleri ve H flagella antijenleri tespit edilmiştir. Çoğunlukla O3 antijeni ve O31 antijeni görülmüştür [97]. Bu bakterinin genetiği çok iyi bilinmemekle beraber, çevresel ve klinik numunelerden elde edilen *S. maltophilia* suşları DNA hibridizasyon, DNA fingerprinting ve 16s rDNA sekanslama metodlarıyla A, B ve C olarak belirlenmiş genetik bazda üç gruba ayrılmıştır. İzole edilen suşların büyük çoğunluğu, grup A'da (%44) ve grup B'de (%34) yer almaktadır. Grup A'da yer alan suşların enfeksiyona sebep olan ortak karakteristik özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir. Özellikle gyrB gibi spesifik genomik gruplara sahip olan suşların, kistik fibrozis hastalarında, solunum yolunda kolonizasyona sebep olduğu belirlenmiştir [98,100].

2.5.1. *S. maltophilia*'nın Antibiyotiklere Direnci

S. maltophilia'nın direnç mekanizması üzerine yapılmış olan çalışmalar dikkate alındığında bu mikroorganizmanın trimetoprim ve sülfametoksazol (ko-trimoksazol) [98], beta laktam [101], aminoglikozid [97] ve kinolon grubundaki [97,98] antibiyotiklere karşı direnci olduğu tespit edilmiştir. Bunlar arasında özellikle geniş spektrumlu olması sebebi ile kullanım sıklığının fazla olmasından dolayı beta laktam grubu antibiyotiklere olan direnç oldukça önemlidir.

2.5.1.1. Beta Laktam Grubu Antibiyotiklere Olan Direnç

Bu mikroorganizma beta laktam grubu antibiyotiklerin bir çoğuna dirençlidir. Bu direnç gelişiminden L1 ve L2 beta-laktamaz enzimleri sorumlu tutulmaktadır [97].

Neredeyse tüm beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı dirence neden olan L1-metallo-beta-laktamaz enzimi; homotetramer yapısında olup, 18 kDa ağırlığında, aktifleşebilmesi için çinkoya ihtiyaç duymaktadır. Penisilinler, sefalosporinler ve de karbapenemleri hidrolize edebilirken, monobaktamlara karşı etkili değildir. L2 serin-beta-laktamaz ise sefalosporinaz grubuna ait olup aztreonamı (bir monobaktam) hidrolize edebilmektedir. Bununla beraber beta-laktamaz inhibitörlerinden klavulanik asit; L1 beta-laktamazı inhibe edemezken, L2 beta- laktamaz kısmi olarak inhibe edebilmektedir [101].

2.5.1.2. Benzer Direnç Mekanizmaları

S. maltophilia'nın hücre membranında yer alan lipopolisakkaritlerin dizilimi, fosfat içeriği ve polisakkaritlerin sayısı, maruz kaldığı sıcaklığa bağlı olarak değişim gösterebilmektedir. Buna bağlı olarak da farklı sıcaklıklarda gösterilen direncin de farklı yanıtlar oluşturduğu tespit edilmiştir. 37°C'de karakterize edilen aminoglikozid ve polimiksin B direncinin sıcaklığın 30°C'ye düşürülmesi ile artış gösterdiği [102], hatta çeşitli suşların metal direnç fonksiyonu geliştirerek gümüş kaplı katateri dahi tolere edebildiği bildirilmiştir [103,104].

2.5.2. *Stenotrophomonas maltophilia*'nın Neden Olduğu Hastalıklar

S. maltophilia doğada yaygın olarak bulunan ve bu sebeple de toprak, su ve kanalizasyon başta olmak üzere bunlarla temas halinde olan bitkisel ve/veya hayvansal kaynaklardan izole edilmiş bir mikroorganizmadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda farklı gıda kaynaklarında (çiğ süt, donmuş balık, içme suları vb.), insan ve hayvanların fekal materyallerinde ve kanalizasyon atıklarında, şehir şebeke suyunda, plastik şişelerde, dezenfektanlarda hatta sağlık personelinin üst solunum yollarında, gastrointestinal sisteminde, vajende ve ellerinde tespit edildiği bildirilmiştir [105-111].

Bu bakterinin hastalık ilişkisinin incelendiği çok sayıda çalışmada, enfeksiyona dair gerçek kanıtlar incelenmiştir. Ancak bu mikroorganizmanın izole edildiği flora dikkate alındığında oldukça karışık bir floraya dahil olması sebebiyle ilgili enfeksiyonlar için etken mi yoksa kontaminant mı olduğuna dair ikilemleri ortaya çıkarmıştır. Önceki kayıtlar ve literatür verileri incelendiğinde bu

mikroorganizmanın kısıtlı patojeniteye sahip olduğu ve immün sistemi zayıflamış risk grubu hastalar dışında enfeksiyon etmeni olarak çok rastlanmadığı rapor edilmiştir. Nozokimyasal enfeksiyon etmeni olarak tanımlanmış olan *S. maltophilia* pnömani ile ilişkilendirilen bir klinik tablo sergilemektedir. Devamında septisemi ile birlikte dolaşım sistemi, idrar yolu ve yara enfeksiyonları görülebilmektedir. Yine aynı mikroorganizma ile ilişkili olarak endokardit, menenjit, sinüzit, kolanjit, mastoidit, bursit, peritonit, epididimit, artrit, osteokondrit gibi vakalar nadir de olsa bildirilmiştir [97].

2.5.3. *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi'nde yapılan bir çalışmada, *Stenotrophomonas maltophilia*'nın, giderek önemi artan bir nozokomiyal patojen olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmaya göre, Ocak 2000-Nisan 2004 tarihleri arasında, hastaneye yatan 153 hastadan izole edilen 190 tane *S. maltophilia* suşu prospektif olarak değerlendirilmiştir. Buradaki hastaların % 67,9'unun hastane enfeksiyonu ile klinik olarak uyumlu olduğu ve % 32'si kolonizasyon olarak kabul edildiği belirtilmiştir. Enfeksiyon oranının bir yaşında ve 50 yaşın üzerinde artış eğiliminde olduğu görülmüştür. Nozokomiyal enfeksiyon ve / veya *S. maltophilia* ile kolonize olarak enfekte olan hastaların, hastaneye yatıştan 19,7±15,2 (1-89) gün sonra bu mikroorganizma hastalarda tespit edildiği bildirilmiştir. Klinik bulgular bakteriyemi (%36,5), pnömoni (%28,8), üriner sistem enfeksiyonu (%12,5), cerrahi alan enfeksiyonu (%11,5) ve peritonit (% 6,7) olduğu belirtilmiştir. Bakteriyemi atakların, santral venöz kateter ile % 37,3 (19/51), ventilatörle ilişkili pnömoni ile %11,7 (6/51), üriner sistem enfeksiyonu ile %7,8 (4/51) peritonit ile %3,9 (2/51) ve cerrahi alan enfeksiyonu olgularının % 1,9'unda (1/51) ilişkili olduğu belirtilmiştir. On dokuz hastada (%37,3) belirgin bir birincil enfeksiyon kaynağının bulunamadığı belirtilmiştir [112]. Aynı çalışmada, yüksek APACHE II skoru, hastanede kalış süresi ve daha önce genişletilmiş spektrumlu antibiyotik tedavisi hastaların çoğunda gözlemlenmiştir. Antibiyotik duyarlılık testi ile izolatlarla karşı en etkili antibiyotiklerin; trimetoprim-sülfametoksazol (%94), tikarsilin / klavulanat (%79) ve siprofloksasin (%53,5) olduğunu gösterdiği belirtilmiştir. *S. maltophilia* enfeksiyonlu hastalarda kaba ölüm oranının %25 olarak bulunduğu söylenmiştir. Ek olarak, uygun antibiyotik tedavisinin mortaliteye karşı koruyucu rolü olduğu gözlemlenmiştir. *S.*

maltophilia kaynaklı enfeksiyonları önlemek için derhal etkili enfeksiyon kontrol programlarının ve rasyonel antibiyotik kullanım politikalarının oluşturulması gerektiği sonucuna varılmıştır [112].

Bir başka çalışmada, nozokomiyal *S. maltophilia* enfeksiyonu olan 84 olgu dahil edilmiştir. *S. maltophilia*, nozokomiyal izolatların %1,6'sında tanımlanmıştır. *S. maltophilia* enfeksiyonlarının çoğunlukla yoğun bakım ünitelerinde ve hematoloji bölümünde görüldüğü belirtilmiş ve insidansı 1000 başvuru başına 0.6 olduğu söylenmiştir. Bu çalışmada, *S. maltophilia*'ya karşı en aktif antimikrobiyal ajanların trimetoprim-sülfametoksazol, siprofloksasin ve sefoperazon sülbaktam olduğu söylenmiştir [113].

Ciddi *Stenotrophomonas maltophilia* enfeksiyonlarının tedavisinde önerilen kombinasyon, tikarsiloslavulanat ve ko-trimoksazoldür (SXT). Bununla birlikte, ilk ajan ülkemizde mevcut değildir ve ikinci bileşen bir antimikrobiyal direnç veya intoleransa neden olabilir. Bu nedenle, bir çalışmada *S. maltophilia*'nın antimikrobiyal duyarlılık test sonuçlarını ve potansiyel bir terapötik alternatif olarak seftazidime ve moksifloksasinin in vitro aktivitesini değerlendirilmiştir. 1 Ekim 2007 - 23 Kasım 2017 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı klinik örneklerinden izole edilen *S. maltophilia* suşları çalışmaya dahil edilmiş, suşların disk difüzyon antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Çalışma süresince, 649 *S. maltophilia* suşunun, 649 farklı hastadan izole edildiği ve suşların %94, %93, %92, %81, %60, %55, %45, %41, %38'inin sırasıyla tigesiklin, moksifloksasin, SXT, siprofloksasin, sefoperazon-sülbaktam, seftazidime, netilmisin, gentamisin ve amikasin'e duyarlı olduğunun tespit edildiği belirtilmiştir [114].

BÖLÜM III

MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Nar Ekşisi

Hicaz narları Gaziantep / Oğuzeli’nde bulunan nar bahçelerinden temin edilmiştir. Narların dış kabukları ayıklanarak taneleri elde edilmiş ve sıkılıp nar suyu elde edilmiştir. Elde edilen nar suyu, kaynama sıcaklığında 4 saat kaynatılarak (akışkan kıvam elde edilinceye kadar) hazırlanmış ve soğumaya bırakılarak nar ekşisi elde edilmiştir. Elde edilen nar ekşisi analize alınıncaya kadar +4 °C’de dolapta saklanmıştır.

3.1.2 Limon Suyu

Taze sıkılmış limon suyu örnekleri nar ekşisi örnekleri ile kıyaslanmak üzere ve geleneksel nar ekşisi üretiminde kullanılmak üzere laboratuvar koşullarında temin edilmiş ve analize alınana kadar +4 °C’de dolapta saklanmıştır.

3.1.3 *Stenotrophomonas maltophilia*

Nar ekşisi örneklerinin, antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesi için *Stenotrophomonas maltophilia* bakterisi kullanılmıştır. *Stenotrophomonas maltophilia* suşları Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı öğretim üyesi Prof. Dr. Yasemin ZER’den temin edilmiştir.

3.2. Metot

Nar ekşisinin antimikrobiyal etkisinin tespit edilebilmesi için Disk Difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite tayininin değerlendirilmesinde kullanılan disk difüzyon testi için European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterleri göz önüne alınmıştır.

Limon suyu ilave edilerek ve limon suyu ilave edilmeden hazırlanan 2 farklı nar ekşisinin *Stenotrophomonas maltophilia* bakteri suşu üzerine antimikrobiyal etkisinin değerlendirilmesi için Bölüm 3.2.1.'de anlatılan yöntemler uygulanmıştır.

Nar ekşisi örneklerinin üretimi sırasında elde edilen nar kabuğu, zarı ve çekirdekleri de tez kapsamında deneme planına dahil edilmiştir. Bu materyallerden elde edilen ekstraktların da antioksidan kapasite tayinleri ve DNA koruyucu etkileri araştırılmıştır.

3.2.1. Antimikrobiyal Özelliklerin Test Edilmesi

3.2.1.1 Kullanılan Ekipman, Cihaz, Besiyeri ve Solüsyonlar

Yapılan analizler kapsamında Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında yer alan plastik petri kapları, steril plastik öze, platin uçlu öze, eküvyon, mikropipet, blank disk, Mueller-Hinton Agar (MHA), serum fizyolojik (SF), steril tüp, vorteks, McFarland cihazı, ısısı ayarlanabilir etüv ve kullanılan malzemelerin sterilliğini sağlayan otoklav kullanılmıştır.

3.2.1.2. Nar ekşisi disklerinin hazırlanması

Nar suyunun kaynatılması ile oluşan yoğun kıvamdan sade nar ekşisi üretilmiştir. Daha sonra geleneksel nar ekşisi oluşturma yöntemine göre içerisine limon eklenerek ikinci bir nar ekşisi hazırlanmıştır. Elde edilen her iki farklı nar ekşisinden, 3 farklı konsantrasyon ve bir de stok olarak seyreltilmemiş nar ekşisi kullanılmıştır. Bu süspansiyonlar 6 mm çapındaki steril blank (boş) disklerle farklı inokulum dozlarındaki etkileride görebilmek adına 20µl ve 40 µl olmak üzere iki farklı hacimde emdirilmiştir.

3.2.1.3. Kültürün hazırlanması

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı öğretim üyesi Prof. Dr. Yasemin ZER'den tedarik edilen *Stenotrophomonas maltophilia* bakteri suşu MHA besiyerine ekilerek, 37 °C'deki etüvde inkübe edilmiştir. 24-48 saat inkübe edilerek hazırlanan petriler (Şekil 3.1) üzerinde oluşan suşlardan eküvyon yardımı ile alınarak, içinde SF bulunan tüplerde süspansiyon haline getirilmiştir.



Şekil 3.1. MHA besiyerinde *S. maltophilia* suşu

3.2.1.4. Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon testi, A.W. Bauer, W.M. Kirby ve ark. tarafından 1966'dan bu yana, mikrobiyoloji laboratuvarlarının en çok tercih edilen antibiyotik duyarlılık testi olarak kullanılmaktadır. *S. maltophilia*'nın antibiyotik duyarlılık testi, Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır [115]. MHA besiyerlerinde *Stenotrophomonas maltophilia* bakteri suşu 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak üremesi sağlanmış ve taze kültür elde edilmiştir. Daha sonra üretilen bu taze kültürden öze yardımı ile alınarak içlerinde SF bulunan tüplere aktarılmış, vortekslenerek homojen bir süspansiyon elde edilmiştir. Elde edilen bu süspansiyondan Baryum Sülfat Bulanıklık Standartı'nda 0,5'e karşılık gelen yoğunlukta McFarland (McF) cihazı yardımı ile başka bir süspansiyon hazırlanmıştır. 0,5 McFarland yoğunluğundaki bu süspansiyondan 100 µl alınarak, disk difüzyon için kullanılacak MHA petrilere aktarılmış, eküvyon çubuğu yardımı ile tüm petri yüzeyini kapsayacak şekilde yayılarak petriler hazırlanmıştır [115].

İki farklı formül ile hazırlanan nar ekşilerinin, hiç dilüe edilmeyen stok süspansiyonundan ve 3 farklı konsantrasyonundan, 20µl ve 40 µl olacak şekilde 6 mm çapındaki steril blank disklerle emdirilmiştir. *Stenotrophomonas maltophilia* ekimi yapılmış petrilerin üzerine, steril bir pens yardımı ile toplam 4 disk yerleştirilmiş ve nar ekşilerinin, stok, 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} oranında seyreltilmesi ile elde edilen dilüsyonları, belirlenen hacimlerde (20 µl yada 40 µl olarak) bu disklerle

inoküle edilmiştir. İnkübasyonda meydana gelebilecek zonların net bir şekilde ölçülebilmesi için disklerin arasında 22 mm ve petri kabının kenarından da 14 mm uzakta olacak şekilde özen gösterilerek, diskler petriye yerleştirilmiştir. Yapılan çalışmada disklerin yerleştirildiği petriler 35 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra petrilerde oluşan zonların çapları cetvel yardımı ile ölçülerek, değerlendirmek üzere kaydedilmiştir.

3.2.2. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

3.2.2.1. Nar ekstraktlarının hazırlanması

Nar ekşisinin üretimi sırasında ortaya çıkan nar çekirdeği posası, kabuk ve zar da analiz kapsamında değerlendirmeye alınmış ve her bir materyal hem su hem de metanol ile ekstrakte edilmiştir.

Nar meyvesinin dış kabuğu, iç zarı ve sıkma sonrasında atık olarak ortaya çıkan çekirdeği gölgede kurulmuştur. Soxhlet ile toz haline getirilen kabuk, zar ve çekirdekten yine Soxhlet cihazında ve metanol ile su çözümleri yardımıyla ekstraktlar hazırlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar rotary evaporatörde çözümlerinden uzaklaştırılmış ve analize alınana kadar 4°C depolanmıştır [116].

3.2.2.2. Toplam Antioksidan Seviyesinin (TAS) Belirlenmesi (ABTS Yöntemi)

Bu amaçla toplam antioksidan (Total Antioxidant Status Assay – TAS) seviye belirleme test kitleri (Rel Assay Diagnostics, TAS Assay Kit) kullanılmıştır. Bu kitle yer alan Reagent 1 (Buffer Solution – Acetate Buffer), Reagent 2 (Prochromogen Solution - ABTS), Standart (Trolox – 1 mmol/L), QC Level 1 (Trolox- 0,5mmol/L), QC Level 2 (Trolox – 2mmol/L), distile su, nar ekstraktları (su ve metanolde ekstrakte edilmiş kabuk, zar ve çekirdek), Thermo Scientific Multiskan Go Spektrofotometre ve Elisa Plate kullanılmıştır.

Uygulanan protokol doğrultusunda, Rel Assay Diagnostic tarafından belirtilen kullanım talimatlarına göre çalışılmış ve 660 nm’de spektrofotometrede ölçüm sonuçları alınmıştır.

$$\text{Sonuç} = \frac{(\Delta\text{Abs H}_2\text{O}) - (\Delta\text{Abs Örnek})}{(\Delta\text{Abs H}_2\text{O}) - (\Delta\text{Abs Std})}$$

$\Delta \text{ Abs H}_2\text{O}$ = (H₂O'nun 2. absorbans değeri) – (H₂O'nun 1. absorbans değeri)

$\Delta \text{ Abs Std}$ = (Std'nin 2. absorbans değeri) – (Std'nin 1. absorbans değeri)

$\Delta \text{ Abs Örnek}$ = (Örneğin 2. absorbans değeri) – (örneğin 1. absorbans değeri)

3.2.2.3. Toplam Oksidan Seviyesinin (TOS) Belirlenmesi

Bu amaçla toplam oksidan (Total Oxidant Status Assay – TOS) seviye belirleme test kitleri (Rel Assay Diagnostics, TOS Assay Kit) kullanılmıştır. Bu kitte yer alan Reagent 1 (Buffer Solution – H₂SO₄), Reagent 2 (Substrat Solution - H₂SO₄, Ferrous Ion, O-dianisidine), Standart (H₂O₂ - 10µmol/L), QC Level 1 (H₂O₂ - 5µmol/L), QC Level 2 (H₂O₂ - 20µmol/L), distile su, nar ekstraktları (su ve metanolde ekstrakte edilmiş kabuk, zar ve çekirdek), Thermo Scientific Multiskan Go Spektrofotometre, ve Elisa Plate kullanılmıştır.

Uygulanan protokol doğrultusunda, Rel Assay Diagnostic tarafından belirtilen kullanım talimatlarına göre çalışılmış ve 530 nm'de spektrofotometrede ölçüm sonuçları alınmıştır.

$$\text{Sonuç} = \frac{(\Delta\text{Abs Örnek})}{(\Delta\text{Abs Std})} \times 10^*$$

$\Delta \text{ Abs Std}$ = (Std'nin 2. absorbans değeri) – (Std'nin 1. absorbans değeri)

$\Delta \text{ Abs Örnek}$ = (Örneğin 2. absorbans değeri) – (örneğin 1. absorbans değeri)

* Standartın konsantrasyon değeri

3.2.3. DNA Koruyucu Aktivitenin Belirlenmesi

Bölüm 3.2.2.1'de anlatılan şekilde hazırlanan nar kabuğu, nar zarı ve nar çekirdeği ekstraktlarının UV hasarına karşı DNA koruyucu aktivitesinin belirlenebilmesi için *E.coli*'den izole edilmiş olan pBR322 plazmid DNA materyali (Vivantis Technologies) kullanılmıştır. Plazmide ait DNA materyali her bir ekstrakt ile ayrı ayrı muamele edilmiş ve ortama H₂O₂ eklenmiştir. Bu ortam UV altında 5 dakika tutularak, ortamda bulunan DNA partikülünün hasara uğratılması sağlanmıştır. Bu aşama sonrasında hem metanol hem su ekstraktları için ayrı ayrı olmak üzere her ekstraktan 50 mg alınarak 1000 µl distile su ile çözülmüş ve %1.5'lik agaroz jelde

DNA örneklerine yürütme yapılarak (60dk/100 volt) görüntüleme cihazına aktarılmıştır [117].

3.2.3.1. Kontrol ve Ekstraktlar

K1: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl)

K2: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl)+ UV (5dk) + H₂O₂ (1µl)

Blank: Boş bırakılmış yükleme kuyusu

NKS: Plazmit DNA(3µl)+*Nar Kabuk* Su ekstraktı 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl)

NÇS: Plazmit DNA(3µl)+*Nar Çekirdek* Su ekstraktı 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl)

NZS: Plazmit DNA(3 µl)+*Nar Zar* Su ekstraktı 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl)

NKM: Plazmit DNA(3µl)+*Nar Kabuk* Metanol ekstraktı 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl)

NÇM: Plazmit DNA(3µl)+*Nar Çekirdek* Metanol ekstraktı 5µl+UV(5dk)+H₂O₂ (1µl)

NZM: Plazmit DNA(3 µl) + *Nar Zar* Metanol ekstraktı 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl)

BÖLÜM IV

BULGULAR

4.1. Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçları

4.1.1. Limon suyu ilavesiz nar ekşisinin *S. maltophilia*'a üzerine antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde elde edilen sonuçlar

İki farklı formül ile hazırlanan nar ekşilerinin, 3 farklı dilüsyon ve formüllerden biri olan geleneksel nar ekşisine katılan limon suyunun disk difüzyon metoduna göre *Stenotrophomonas maltophilia* üzerine antimikrobiyal etkileri EUCAST kriterleri göz önüne alınarak değerlendirilmiştir. Oluşan zonlar, çıplak gözle, gözden yaklaşık 30 cm uzak tutularak, üremenin tam olarak başladığı nokta, zon sınırı olarak belirlenmiştir. Petriler yansıyan ışık ile aydınlatılan koyu renkli bir zemin üzerine bırakılıp, zon çapları cetvel yardımı ile ölçülmüştür. Nar ekşisinin 3 farklı dilüsyon ile **20 µl** inokulum dozu sonucu Tablo 4.1'de, **40 µl** inokulum dozu ile 3 farklı dilüsyon sonucu Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1 Limon suyu içermeyen nar ekşisinin (20 µl inokulum) antimikrobiyal etkisi

Konsantrasyon	1. Çalışma	2. Çalışma	3. Çalışma	Ortalama ¹ Zon Çapı (mm)	Zon Çapı Sınır Değeri ²
	Zon Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)		
Nar Ekşisi / Stok 10 ⁰	18,00	18,50	18,00	18,17±0,29	S
Nar Ekşisi / 10 ⁻¹	12,50	13,00	13,50	13,00±0,50	R
Nar Ekşisi / 10 ⁻²	9,00	9,50	9,50	9,33±0,29	R
Nar Ekşisi / 10 ⁻³	8,00	8,00	8,00	8,00±0,00	R

¹ : n=3±standart sapma

² : R < 16 mm, S ≥ 16 mm

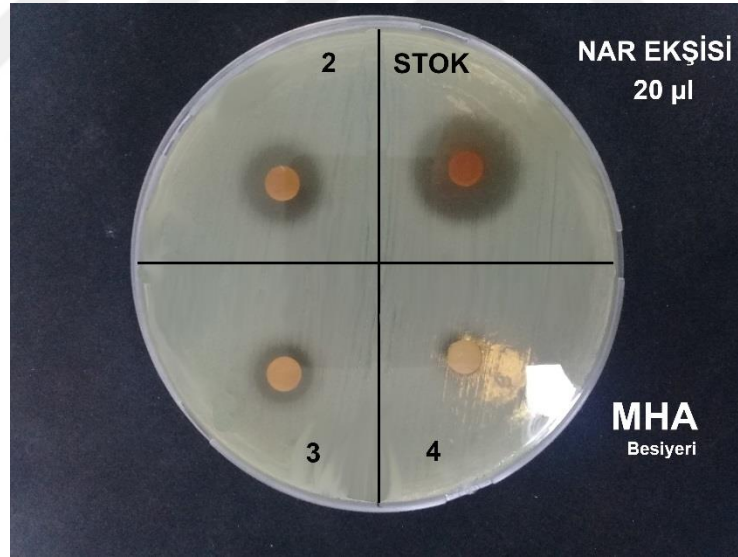
Tablo 4.2 Limon suyu içermeyen nar ekşisinin (40 µl inokulum) antimikrobiyal etkisi

Konsantrasyon	1. Çalışma Zon Çapı (mm)	2. Çalışma Zon Çapı (mm)	3. Çalışma Zon Çapı (mm)	Ortalama ¹ Zon Çapı (mm)	Zon Çapı Sınır Değeri ²
Nar Ekşisi / Stok10 ⁰	18,50	18,50	18,00	18,33±0,29	S
Nar Ekşisi / 10 ⁻¹	13,00	13,50	14,00	13,50±0,50	R
Nar Ekşisi / 10 ⁻²	9,50	10,00	9,00	9,50±0,50	R
Nar Ekşisi / 10 ⁻³	8,50	8,00	8,50	8,33±0,29	R

¹ : n=3±standart sapma

² : R < 16 mm, S ≥ 16 mm

20 µl inokulum yapılarak disklerle emdirilmiş 3 ayrı dilüsyondaki nar ekşisi ile yapılan çalışmanın örneği Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. *S. maltophilia* suşu ekilmiş MHA besiyerinde, 20 µl inoküle edilmiş nar ekşisinin etkisi

4.1.2. Limon suyu ilaveli nar ekşisinin *S. maltophilia*'a üzerine antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde elde edilen sonuçlar

Geleneksel nar ekşisinin (limon suyu ilaveli) 3 farklı dilüsyon ile **20 µl** inokulum dozu sonucu Tablo 4.3'te, **40 µl** inokulum dozu ile 3 farklı dilüsyon sonucu Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3 Limon suyu içeren nar ekşisinin (20 µl inokulum) antimikrobiyal etkisi

Konsantrasyon	1. Çalışma	2. Çalışma	3. Çalışma	Ortalama ¹ Zon Çapı (mm)	Zon Çapı Sınır Değeri ²
	Zon Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)		
Geleneksel Nar Ekşisi / Stok ¹⁰ ⁰	19,50	19,00	19,00	19,17±0,29	S
Geleneksel Nar Ekşisi / 10 ⁻¹	14,50	13,00	14,00	13,83±0,76	R
Geleneksel Nar Ekşisi / 10 ⁻²	10,00	11,00	11,00	10,67±0,58	R
Geleneksel Nar Ekşisi / 10 ⁻³	9,00	8,50	9,00	8,83±0,29	R

¹ : n=3±standart sapma

² : R < 16 mm, S ≥ 16 mm

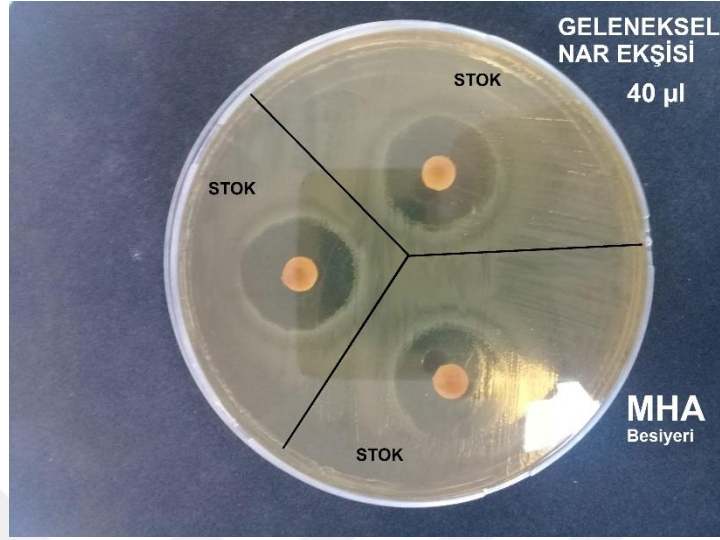
Tablo 4.4 Limon suyu içeren nar ekşisinin (40 µl inokulum) antimikrobiyal etkisi

Konsantrasyon	1. Çalışma	2. Çalışma	3. Çalışma	Ortalama ¹ Zon Çapı (mm)	Zon Çapı Sınır Değeri ²
	Zon Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)	Zon Çapı (mm)		
Geleneksel Nar Ekşisi / Stok 10 ⁰	22,00	23,50	23,00	22,83±0,76	S
Geleneksel Nar Ekşisi / 10 ⁻¹	15,00	14,50	14,50	14,67±0,29	R
Geleneksel Nar Ekşisi / 10 ⁻²	12,00	11,50	11,00	11,50±0,50	R
Geleneksel Nar Ekşisi / 10 ⁻³	9,50	9,50	9,00	9,33±0,29	R

¹ : n=3±standart sapma

² : R < 16 mm, S ≥ 16 mm

40 µl inokulum yapılarak disklerle emdirilmiş geleneksel nar ekşisi ile yapılan stok çalışmasının örneği Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. *S. maltophilia* suşu ekilmiş MHA besiyerinde, 40 µl inoküle edilmiş saf geleneksel nar ekşisinin etkisi

4.1.3. Limon suyunun *S. maltophilia*’a üzerine antimikrobiyal etkisi

Geleneksel nar ekşisinin reçetesinde limon suyu bulunması nedeniyle, limon suyunun MHA besiyerine ekilmiş *S. maltophilia* üzerine etkisi de araştırılmıştır. Limon suyu, saf hali ve 3 farklı dilüsyonu ile **20 µl** inokulum dozu sonucu Tablo 4.5’te, **40 µl** inokulum dozu ile 3 farklı dilüsyon sonucu Tablo 4.6’da gösterilmiştir.

Tablo 4.5 Limon suyunun (20 µl inokulum) antimikrobiyal etkisi

Konsantrasyon	1. Çalışma Zon Çapı (mm)	2. Çalışma Zon Çapı (mm)	3. Çalışma Zon Çapı (mm)	Ortalama ¹ Zon Çapı (mm)	Zon Çapı Sınır Değeri ²
Limon suyu / Stok 10^0	18,00	19,00	18,00	18,33±0,58	S
Limon suyu / 10^{-1}	13,00	13,00	13,50	13,17±0,29	R
Limon suyu / 10^{-2}	9,00	8,50	9,00	8,83±0,29	R
Limon suyu / 10^{-3}	7,00	8,00	7,00	7,33±0,58	R

¹ : n=3±standart sapma

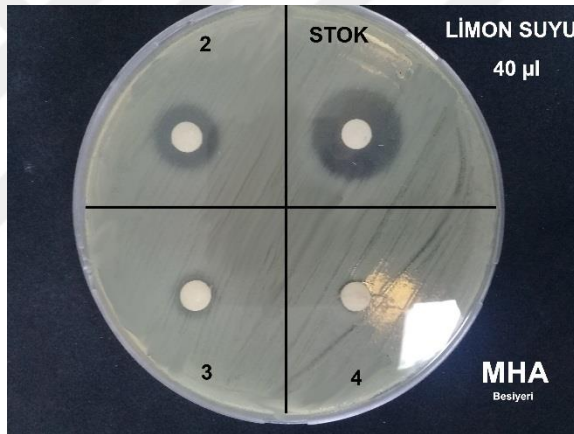
² : R < 16 mm, S ≥ 16 mm

Tablo 4.6 Limon suyunun (40 µl inokulum) antimikrobiyal etkisi

Konsantrasyon	1. Çalışma Zon Çapı (mm)	2. Çalışma Zon Çapı (mm)	3. Çalışma Zon Çapı (mm)	Ortalama ¹ Zon Çapı (mm)	Zon Çapı Sınır Değeri ²
Limon suyu / Stok10 ⁰	18,00	19,50	18,00	18,50±0,87	S
Limon suyu / 10 ⁻¹	13,50	13,00	13,50	13,33±0,29	R
Limon suyu / 10 ⁻²	9,50	9,00	9,50	9,33±0,29	R
Limon suyu / 10 ⁻³	8,00	7,00	8,00	7,67±0,58	R

¹ : n=3±standart sapma² : R < 16 mm, S ≥ 16 mm

40 µl inokulum yapılarak disklerle emdirilmiş limon suyu ile yapılan çalışmanın örneği Şekil 4.3’de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. *S. maltophilia* suşu ekilmiş MHA besiyerinde, 40 µl inoküle edilmiş limon suyunun etkisi

Yapılan çalışmalar sonucunda en yüksek antimikrobiyal etki 22,83±0,76 mm zon çapı ile seyreltilmeden kullanılan ve 40 µl inoküle edilen geleneksel nar ekşisinde gözlemlenmiştir. Ortalama (ORT.) alınarak ve Standart Sapmaları (STDS.) belirtilerek oluşturulan kıyaslama tablosu Tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7 Çalışmada en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösteren örnekler

Örnekler	Ortalama ¹ Zon Çapı (mm)	Zon Çapı Sınır Değeri ²	Ortalama ¹ Zon Çapı (mm)	Zon Çapı Sınır Değeri ²
	20 µl inokulum		40 µl inokulum	
Limon Suyu İçeren Nar Ekşisi / Stok10 ⁰	19,17±0,29	S	22,83±0,76	S
Limon Suyu İçermeyen Nar Ekşisi / Stok10 ⁰	18,17±0,29	S	18,33±0,29	S
Limon suyu / Stok10 ⁰	18,33±0,58	S	18,50±0,87	S

¹ : n=3±standart sapma² : R < 16 mm, S ≥ 16 mm

Bu tabloya bakıldığında *S. maltophilia* için limon suyu ilaveli nar ekşisinin, limon suyu içermeyen nar ekşisine göre daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu, limon suyu içermeyen nar ekşisi örneklerinin de, limon suyuna göre daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. 20 µl ve 40 µl olarak iki farklı dozda uygulana inokulum miktarlarının da uygulama dozu ile doğru orantılı olacak şekilde, oluşan zon çaplarını etkilediği görülmüştür.

4.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.2.1. Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS)

Nar kabuğu, zarı ve çekirdeğinin, su ve metanol kullanılarak elde edilen ekstraktlarının, toplam antioksidan seviyeleri ABTS yöntemi doğrultusunda, Bölüm 3.2.2.2’de anlatılan şekilde belirlenmiştir. Örneklerle ilişkin sonuçlar Tablo 4.8 ve Tablo 4.9’da verilmiştir.

Tablo 4.8 Metanol ile ekstrakte edilen nar örneklerinin TAS değerleri (mmol Trolox Equiv/L)

Örnekler	Nar Kabuk	Nar Zar	Nar Çekirdek
TAS Abs. 2	0,079	0,078	0,258
TAS Abs. 1	0,045	0,051	0,183
Toplam Örnek Abs.	0,034	0,027	0,075
TAS Değeri	4,191	4,217	4,037

Tablo 4.9 Su ile ekstrakte edilen nar örneklerinin TAS değerleri (mmol Trolox Equiv/L)

Örnekler	Nar Kabuk	Nar Zar	Nar Çekirdek
TAS Abs. 2	0,119	0,082	0,187
TAS Abs. 1	0,095	0,065	0,169
Toplam Örnek Abs.	0,024	0,017	0,018
TAS Değeri	4,228	4,255	4,251

Örneklere ilişkin TAS değerleri Tablo 4.10’da verilen referans değerler doğrultusunda değerlendirilmiştir. Buna göre en yüksek TAS değeri su ile ekstrakte edilmiş nar zarı örneklerinde (4,255 mmol Trolox Equiv/L) görülürken, en düşük TAS değeri metanol ile ekstrakte edilen nar çekirdeği örneklerinde (4,037 mmol Trolox Equiv/L) görülmüştür.

Tablo 4.10 TAS Referans Değerleri (mmol Trolox Equiv/L)

TAS REFERANS DEĞERLERİ (mmol Trolox Equiv/L)			
	> 2,00		Çok İyi
1,45		2,00	Normal
1,20		1,45	Normal Kabul Edilebilir
1,00		1,20	Düşük Antioksidan Seviyesi
	< 1,20		Çok Düşük Antioksidan Seviyesi

4.2.2. Toplam Oksidan Seviyesi (TOS)

Nar kabuğu, zarı ve çekirdeğinin, su ve metanol kullanılarak elde edilen ekstraktlarının, toplam oksidan seviyeleri ferröz iyon şelatör kompleksinin oksidasyonu yöntemi doğrultusunda, Bölüm 3.2.2.3’te anlatılan şekilde belirlenmiştir. Örneklere ilişkin sonuçlar Tablo 4.11 ve Tablo 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.11 Metanol ile ekstrakte edilen nar örneklerinin TOS değerleri (mmol Trolox Equiv/L)

Örnekler	Nar Kabuk	Nar Zar	Nar Çekirdek
TOS Abs. 2	0,313	0,283	0,789
TOS Abs. 1	0,205	0,192	0,738
Toplam Örnek Abs.	0,108	0,091	0,051
TOS Değeri	10,709	9,023	5,057

Tablo 4.12 Su ile ekstrakte edilen nar örneklerinin TOS değerleri (mmol Trolox Equiv/L)

Örnekler	Nar Kabuk	Nar Zar	Nar Çekirdek
TOS Abs. 2	0,500	0,394	1,072
TOS Abs. 1	0,428	0,341	1,021
Toplam Örnek Abs.	0,072	0,053	0,051
TOS Değeri	4,049	4,120	4,127

Örneklere ilişkin TAS değerleri Tablo 4.13'te verilen referans değerler doğrultusunda değerlendirilmiştir. Buna göre en yüksek TOS değeri metanol ile ekstrakte edilmiş nar kabuğu örneklerinde (10,709 mmol Trolox Equiv/L) görülürken, en düşük TOS değeri su ile ekstrakte edilen yine nar kabuğu örneklerinde (4,049 mmol Trolox Equiv/L) görülmüştür.

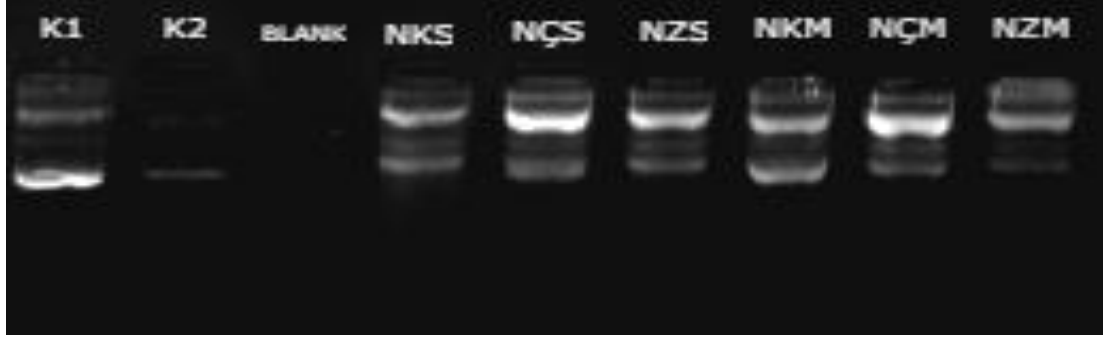
Tablo 4.13 TOS Referans Değerleri (mmol Trolox Equiv/L)

TOS REFERANS DEĞERLERİ (μmol H ₂ O ₂ Equiv/L)			
< 5,00		Çok İyi	
8,00	5,00	Normal	
12,00	8,00	Yüksek Oksidan Seviyesi	
> 12,00		Çok Yüksek Oksidan Seviyesi	

4.3. DNA Koruyucu Aktivite Sonuçları

Su ve metanol ile oluşturulan nar kabuğu, zarı ve çekirdeği ekstraktları ile DNA koruyucu aktivitesinin belirlenmesi için yapılan çalışmada *Escherichia coli*' den izole edilen pBR322 plazmit DNA'sı kullanılmıştır. Yapılan çalışmada kullanılan jelin yoğunluğu, ilgili DNA'daki baz çifti sayısına göre hazırlanmıştır. Bu metod ile DNA'da hasara neden olan UV ışınları ve H₂O₂ varlığında oluşturduğumuz ekstraktların DNA hasarını engelleyebilme potansiyelinin olup olmadığının

belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan bu çalışma ile elde edilen jel görüntü kaydı Şekil 4.5'te verilmiştir.



K1: Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl), **K2:** Kontrol: Plazmit DNA (3µl) + dH₂O (6µl) + UV (5dk) + H₂O₂ (1µl), **Blank:** Boş bırakılmış yükleme kuyusu, **NKS:** Plazmit DNA(3µl)+*Nar Kabuk* Su ekstraktı 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl), **NCS:** Plazmit DNA(3µl)+*Nar Çekirdek* Su ekstraktı 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl), **NZS:** Plazmit DNA(3 µl)+*Nar Zar* Su ekstraktı 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl), **NKM:** Plazmit DNA(3µl)+*Nar Kabuk* Metanol ekstraktı 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl), **NCM:** Plazmit DNA(3µl)+*Nar Çekirdek* Metanol ekstraktı 5µl+UV(5dk)+H₂O₂ (1µl), **NZM:** Plazmit DNA(3 µl) + *Nar Zar* Metanol ekstraktı 5µl + UV(5dk)+ H₂O₂ (1µl)

Şekil 4.5. *Nar kabuğu, çekirdeği ve zarının ekstraktlarının jel görüntüsü*

BÖLÜM V

TARTIŞMA VE SONUÇ

Tez kapsamında analize alınan ve Gaziantep / Oğuzeli’nde bulunan nar bahçelerinden temin edilen narlardan elde edilen nar ekşilerinin, hastane enfeksiyonlarında rol oynayan mikroorganizmalardan biri olan ve Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı öğretim üyesi Prof. Dr. Yasemin ZER’den temin edilen *S. maltophilia*’nın üzerine antimikrobiyal etkisi EUCAST kriterlerine göre disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Ayrıca nar kabuğu, zarı ve çekirdeğinin su ve metanol ekstraktları antioksidan ve oksidan yönünden değerlendirilmiştir. Bununla beraber, narın kabuk, zar ve çekirdeğinin su ve metanol ekstraktları, plazmid DNA’sı ile UV ışınına ve H₂O₂’te maruz bırakılarak, gösterebileceği DNA koruyucu aktivite incelenmiştir.

Nar meyvesi; kabuk, zar, tane ve çekirdek gibi farklı bölümleri çok çeşitli moleküller (antosiyantinler, hidroksisinamik asitler, hidroksibenzoik asitler, esansiyel yağlar, mineraller ve kompleks polisakkaritler ile yüksek molekül ağırlığa sahip hidrolize edilebilen tanenler) içermektedir [10-11]. Nar bitkisinin meyve kabuklarından elde edilen ekstraktların disk difüzyon metoduna göre en yüksek inhibisyon zon çapının (18-30 mm) *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* bakterilerinde olduğu ve viridans streptokoklardan olan *Streptococcus mitis* bakterisine karşı nar bitkisinin antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür [118]. Nar ekşisinin nötürlenerek asitliğinin giderilmesi, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus* mikroorganizmalarının MİK değerlerinin belli ölçüde gerilemesine neden olmaktadır. Buna karşın, her iki mikroorganizma için inhibisyonun olmadığı bir durum ile karşılaşılması, antimikrobiyal etkinin, sadece nar ürünlerindeki yüksek asitlikten ve düşük pH’dan kaynaklanmadığını, bununla beraber, nar meyvesinden ve/veya zarından gelen antimikrobiyal özellikteki moleküllerinde, antimikrobiyal etkide rol oynadığını göstermektedir [119]. Bir çalışmada, nardan izole edilen pelargonidin – 3 – galaktoz, siyanidin – 3 – glukoz, gallik asit, kuersetin ve mirisetinin, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* suşlarının da aralarında

olduğu 24 farklı suş üzerinde antimikrobiyal etki araştırılmış ve bu bağlamda yapılmış in-vitro çalışmada yaklaşık olarak 10^8 kob/ml seviyesinde inokulum kullanılmıştır. 37 °C’de 24 saat inkübasyon sonucu elde edilen değerlerin, asetik asit kullanımına oranla 3 kat daha düşük olduğu bildirilmiştir [120]. Yaklaşık 10^5 kob/g düzeyinde başlangıç mikrobiyal yüke sahip olan marul, taze soğan ve maydanoz numunelerinin, nar ürünleri ile 10 dakika (dk) bekletildikten sonra, alınan sayım sonuçları, marulun toplam yükünün 10^1 kob/g düzeyinin altına indiğini, diğer ürünlerde ise 10^3 kob/g düzeyinin altına indiğini göstermiştir [119].

Özellikle gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere, dünyanın birçok ülkesinde, bazı hastalıkların tedavisinde geleneksel yöntemler kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre bazı hastalıkların tedavisinde geleneksel yöntemlerin tercihi %80 oranında olmakla beraber, bu tedavilerde yaklaşık 20.000 bitkinin özütleri ve içerikleri kullanılmaktadır [121]. Bununla beraber, gelişmiş ülkelerdeki reçeteli ilaçların yaklaşık %25 kadarı, bitkisel kaynaklı etken maddelerden (rezerpin, kinin, aspirin, vimblastin vb.) oluşturmaktadır [122]. Zengin bir floraya sahip olan Türkiye’de bazı bitkiler halk arasında tedavi amacıyla kullanılmaktadır [123]. Bazı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan sentetik ilaçların yan etkilerinin dikkat çekici boyutta olması ve son yıllarda antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkmasıyla, hem toplum hemde bilim insanları bitkisel kökenli doğal ilaçları araştırmaya yöneltmiştir [124]. Yapılan bir başka çalışmada ise *S. maltophilia* bakterisinin birçok antibiyotiğe farklı mekanizmalarla dirençli olmakla beraber, sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinin zor ve ölüm oranının yüksek olduğu belirtilmiştir [125].

Organizmaların tamamı, hücrelerini, dış faktörlerin etkisi ile oluşabilecek DNA hasarlarına karşı korumak amacıyla DNA onarım mekanizmalarına sahiptirler. DNA onarımını, replikasyon hataları, mutasyonlar gibi hücreyi tehdit edecek tüm işlemlerde kullanılmaktadırlar. Bu süreç esnasında meydana gelebilecek bir anomali, yaşlanmaya ve hatta kansere sebep olabilmektedir [126]. Güneşten gelen ve DNA’da hasara sebep olan UV ışınlarının, yaşlanma ve kanser bakımından dikkate değer etkilerinin söz konusu olduğu bilinmektedir [127].

Bunlarla beraber, onkolojik açıdan önemli olan oksidatif DNA hasarının kontrolü için, tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen ekstraktlar üzerine ayrıntılı çalışmalar yapılarak yeni bileşikler elde edilmeye çalışılmaktadır [128].

Yapılan bir çalışmada, ultraviyole (UV) ışınına maruz kalma; güneş yanığı, ödem, hiperplazi, immünsüpresyon, fotoyaşlanma ve cilt kanseri de dahil olmak üzere çeşitli akut ve kronik durumlar ile ilişkilendirilmiştir. Doğal olarak ortaya çıkan fitokimyasalların, UV ile ilgili bu tür durumların önlenmesindeki rolü, artan ilgi gördüğü belirtilmiştir. Nar (*Punica granatum L.*)'ın, birçok in vivo ve in vitro çalışmada, anti-enflamatuar, antioksidan ve antikanserojen aktivite sergileyen zengin bir polifenolik kaynağı olduğu söylenmiştir. SKU-1064 insan derisi fibroblast hücrelerinde, Punicalagins'e UVA ve UVB kaynaklı hasarlara karşı standardize edilmiş bir nar meyve ekstraktının potansiyel koruyucu etkilerini araştırılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, nar ekstresinin UVA ve UVB kaynaklı hücre hasarına karşı koruyucu etkilerini ve nar polifenoliklerinin topikal uygulamalardaki potansiyel olarak kullanılabileceğini göstermiştir [129].

Başka bir çalışmada, nar kabukları toz haline getirilmiş, etil asetat, aseton, metanol (MeOH) ve su ile oda sıcaklığında 1 saat süreyle ekstre edilmiştir. Kurutulmuş nar kabuklarının, etil asetat, aseton, MeOH ve su ekstraktlarının antioksidan aktivitesi, 5, 10, 25 ve 50 ppm'de butillenmiş hidroksianisol ile 1, 1 - difenil - 2- picrylhydrazyl kullanılarak yüksek performanslı sıvı kromatografi metodu ile karşılaştırılmıştır. MeOH de elde edilen ekstraktın, diğerlerinden daha güçlü antioksidan etkisi gösterdiği belirtilmiştir [130].

Elde edilen sonuçlar dikkate alındığında, nar ekşisinin ve limon suyu ilavesi ile hazırlanan geleneksel nar ekşisinin, dilüe edilmeden kullanılmalarının, hastane enfeksiyonlarında rol oynayan mikroorganizmalardan biri olan *S. maltophilia* üzerine antimikrobiyal etkisinin daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, doğal bir antimikrobiyal ajan olarak, bu mikroorganizmaya karşı potansiyel kullanılabilecek bir ürün olduğunu düşünmekteyiz. Bunlarla beraber, yapılan bu tez çalışması sonucunda, narın çekirdek, kabuk ve zarından elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu ve serbest radikallerin süpürülmesinde sadece narın suyunun değil, atık olarak değerlendirilebilecek olan çekirdek, zar ve kabuktan da faydalanabileceği görülmüştür. Nar kabuğu başta olmak üzere zar ve çekirdeğin, UV

ve H_2O_2 'nin yaratacağı oksidatif hasarlara karşı koruyucu etki potansiyeli olduğu tespit edilmiştir. Dolayısı ile oldukça zengin bir biyoaktif bileşime sahip olan nardaki bu bileşiklerin belirlenmesi ve denenen mikroorganizma üzerine etki mekanizmalarının tespit edilmesi ile alternatif yeni ürünlerin üretilebileceği düşünülmektedir. Son olarak da bu tez çalışmasından elde edilen verilerin, bu alanda çalışan araştırmacılara veri oluşturarak yeni çalışmalara da hem fikir hem de veri sağlayabilecek potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- [1] Zer, Y., Karaoğlu, İ., Çevik, S., & Erdem, M. (2009). *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının irdelenmesi. *Klinik Derg*, **22(1)**, 21-4.
- [2] Alves, J. A., Mantovani, A. L. L., Martins, M. H. G., Abrao, F., Lucarini, R., Crotti, A. E. M., & Martins, C. H. G. (2015). Antimycobacterial activity of some commercially available plant-derived essential oils. *Chemistry of Natural Compounds*, **51(2)**, 353-355.
- [3] Schubert, S. Y., Lansky, E. P., & Neeman, I. (1999). Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of ethnopharmacology*, **66(1)**, 11-17.
- [4] Al-Maiman, S. A., & Ahmad, D. (2002). Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. *Food Chemistry*, **76(4)**, 437-441.
- [5] Vardin, H., & Fenercioğlu, H. (2003). Study on the development of pomegranate juice processing technology, clarification of pomegranate juice. *Food/nahrung*, **47(5)**, 300-303.
- [6] Kurt, H., & Şahin, G. (2013). Bir Ziraat Coğrafyası Çalışması, Türkiye’de Nar (*Punica granatum* L.) Tarimi. *Marmara Coğrafya Dergisi*, **(27)**, 551-574.
- [7] Glozer, K., Ferguson, L. (2008). Pomegranate Production in Afghanistan, *UCDAVIS College of Agricultural & Environmental Sciences*, s. 32.
- [8] Ünal, A. (2011). Bahçe Tarımı – II., Yumuşak Çekirdekli Meyve Türleri ve Nar Yetiştiriciliği, (Editörler, Vedat Şeniz, Veli Erdoğan), *T.C. Anadolu Üniversitesi Yayını No, 2358, s. 16 – 19, Eskişehir*.

- [9] Oğuz, H. İ., Ukav, İ., Eroğlu, D. (2011). “Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde Nar (*Punica granatum* L.) Üretimi ve Pazarlanması”, *GAP VI. Tarım Kongresi, 09 – 12 Mayıs 2011, s. 108 – 112, Şanlıurfa*.
- [10] Orgil, O., Schwartz, E., Baruch, L., Matityahu, I., Mahajna, J., & Amir, R. (2014). The antioxidative and anti-proliferative potential of non-edible organs of the pomegranate fruit and tree. *LWT-Food Science and Technology*, **58(2)**, 571-577.
- [11] Heber, D. (2011). Pomegranate ellagitannins. In *Herbal Medicine, Biomolecular and Clinical Aspects. 2nd edition*. CRC Press/Taylor & Francis.
- [12] Saxena, A. K., Mana, J. K. and Berry, S.K., 1987. Pomegranates, Post Harvest Tecnology Chemistry and Processing. *Indian Food Packer*, **41(4)**, 43 – 60.
- [13] İncedayı, B., Tamer, C.E. ve Çopur, Ö.U., 2008. Nar ekşisinin bileşimi üzerine bir araştırma, *Türkiye 10.Gıda Kongresi*; 21 – 23 Mayıs 2008, Erzurum.
- [14] Melo, I. L. M. (2012). Evaluation of the effects of pomegranate seed oil (*Punicagranatum* L.) on tissue lipid profile and its influence on biochemical parameters in oxidative processes of rats [thesis]. *Sao Paulo (SP), Pharmaceutical Science Faculty of Sao Paulo University*.
- [15] Kiralan, M., Gölükcü, M., & Tokgöz, H. (2009). Oil and conjugated linolenic acid contents of seeds from important pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in Turkey. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **86(10)**, 985-990.
- [16] Tanveer, A., Farooq, U., Akram, K., Hayat, Z., Shafi, A., Nazar, H., & Ahmad, Z. (2015). Pomegranate extracts, A natural preventive measure against spoilage and pathogenic microorganisms. *Food Reviews International*, **31(1)**, 29-51.

- [17] Al-Zoreky, N. S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International journal of food microbiology*, **134**(3), 244-248.
- [18] Prashanth, D., Asha, M. K., & Amit, A. (2001). Antibacterial activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia*, **72**(2), 171-173.
- [19] Goel, G., Puniya, A. K., Aguilar, C. N., & Singh, K. (2005). Interaction of gut microflora with tannins in feeds. *Naturwissenschaften*, **92**(11), 497-503.
- [20] Cristani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Micieli, D., ... & Trombetta, D. (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes, implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**(15), 6300-6308.
- [21] Cemeroğlu, B. ve Karadeniz F., 2001. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi Cilt2 – Meyvelerin Meyve Suyuna İşlenmeleri*, GTD Yayınları No,25, Ankara.
- [22] Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M., 2003. *Meyve ve Sebzelerin Bileşimi Soğukta Depolanmaları*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No.24, Ankara.
- [23] Anonim, 2001a. *TS 12720 / Nisan 2001. Nar Ekşisi*.
- [24] Ismail, T., Suleman, R., Akram, K., Hameed, A., Llah, I. U., Amir, M., & Akhtar, S. (2019). Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel Extracts Inhibit Microbial Growth and Lipid Oxidation in Minced Shrimps Stored at 4° C. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **28**(1), 84-92.
- [25] Zhai, X., Zhu, C., Zhang, Y., Sun, J., Alim, A., & Yang, X. (2018). Chemical characteristics, antioxidant capacities and hepatoprotection of polysaccharides from pomegranate peel. *Carbohydrate polymers*, **202**, 461-469.

- [26] Hanani, Z. N., Yee, F. C., & Nor-Khaizura, M. A. R. (2019). Effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel powder on the antioxidant and antimicrobial properties of fish gelatin films as active packaging. *Food Hydrocolloids*, **89**, 253-259.
- [27] Nair, M. S., Saxena, A., & Kaur, C. (2018). Effect of chitosan and alginate based coatings enriched with pomegranate peel extract to extend the postharvest quality of guava (*Psidium guajava* L.). *Food Chemistry*, **240**, 245-252.
- [28] Turkmen, F. U., Takci, H. M., Saglam, H., & Sekeroglu, N. (2019). Investigation of some quality parameters of pomegranate, sumac and unripe grape sour products from Kilis markets. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, **11**(1), 61-71.
- [29] Morzelle, M. C., Salgado, J. M., Massarioli, A. P., Bachiega, P., de Oliveira Rios, A., Alencar, S. M., ... & de Camargo, A. C. (2019). Potential benefits of phenolics from pomegranate pulp and peel in Alzheimer's disease, antioxidant activity and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Food Bioactives*, **5**, 136-141.
- [30] Kharchoufi, S., Licciardello, F., Siracusa, L., Muratore, G., Hamdi, M., & Restuccia, C. (2018). Antimicrobial and antioxidant features of 'Gabsi' pomegranate peel extracts. *Industrial Crops and Products*, **111**, 345-352.
- [31] Kanatt, S. R., Chander, R., & Sharma, A. (2010). Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *International Journal of Food Science & Technology*, **45**(2), 216-222.
- [32] Duman, A., Ozgen, M., Dayisoğlu, K., Erbil, N., & Durgac, C. (2009). Antimicrobial activity of six pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics. *Molecules*, **14**(5), 1808-1817.

- [33] Gölükçü, M., Tokgöz, H., & Çelikyurt, M. A. (2005). Nar Çekirdeğinin Bazı Özellikleri Ve Nar Çekirdeği Yağının Yağ Asiti Bileşimi. *Derim*, **22(2)**, 33-40.
- [34] Saygı, Ş., Battal, D., & Şahin, N. (2012). Çevre ve insan sağlığı yönünden ilaç atıklarının önemi. *Marmara Pharmaceutical Journal*, **16(2)**, 82-90.
- [35] Aktuğlu, Y. (1997). Giriş ve Genel Bilgiler Ed, Aktuğlu Y. *Pratikte Antibiyotik Kullanımı*. s, 11-53.
- [36] Tunçtan, B., & Buharalıoğlu, K. (2005). Farmakoloji Terimleri Sözlüğü. *Sendrom III Tıp Terimleri Sözlüğü*, **3(2)**, 3-44.
- [37] Türkoğlu, F. K. (2008) Pediatri Kliniğine Başvuran Annelerin Çocuklarda Antibiyotik Kullanımı Konusundaki Bilgi ve Tutumların Araştırılması. *Sağlık Bakanlığı Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği, Uzmanlık tezi*, (s 120).
- [38] Akkan, A. G., Sınıflandırılmaları, A., Tıp, İ. C. T. F. S., & Etkinlikleri, E. (1997). Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri*, 53-62.
- [39] Çağatay, A. A., & Özsüt, H. (2001). Yoğun Bakım Ünitesi Enfeksiyonları ve Antimikrobik Tedavi. *Yoğun Bakım Dergisi*, **1 (1)**, 21-32.
- [40] Levy, S.B. (1998). Antimicrobial resistance, bacteria on the defence. Resistance stems from misguided efforts to try to sterilise our environment. *British Medicinal Journal*. **317 (7159)**, 612-613.
- [41] Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emmami, B., Fooladian, F., Zafariet, K. (2003). Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp. Biochem. Physiol. C*, **135**, 331-336.
- [42] Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaie, A., (2004). Pesticides and oxidative stress, a review. *Med. Sci. Monit.*, **10**, 141-147.

- [43] Cochran, C. G. (1991). Cellular injury by oxidants. *Am. J. Med.*, **92**, 235-305.
- [44] Kaya, S., Pirinççi-Bilgili, A. (1998). Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. *Medisan Yayın Serisi* **35**, Ankara, s. 222, 232, 273, 276, 355.
- [45] Matés, J. M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, **153**, 83-104.
- [46] Koca, N., & Karadeniz, F. (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, **16**, 32-37.
- [47] Akpoyraz, M., Durak, İ. (1995). Serbest radikallerin biyolojik etkileri, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, **48(2)**, 17-22.
- [48] Shinde, A., Ganu, J., Naik, P. (2012). Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress, A Review. *J Dent Allied Sci.* **1(2)**, 63-66.
- [49] Dündar, Y., Aslan, R. (1999). Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi.* **2(2)**, 134-142.
- [50] Aydemir, B., & Sarı, E. K. (2009). Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, **2(2)**, 56-60.
- [51] Sen, S., Chakraborty, R. (2011). The Role of Antioxidants in Human Health. *American Chemical Society, Oxidative Stress, Diagnostics, Prevention and Therapy*. Chapter **1**, 1-37.
- [52] Young, I. S., Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol.* **54(3)**, 176-186.
- [53] Kirkman, H.N., Galiano, S., Gaetani, G. F. (1987). The function of catalase-bound NADPH. *J Biol Chem.* **262(2)**, 660-666.

- [54] Limon-Pacheco, J., Gonssebatt, M.E. (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res.* **674(1-2)**, 137-147.
- [55] Özkan, A., Fışkın, K. (2004). Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi.* **14**, 52-60.
- [56] Townsend, D.M., Tew, K.D., Tapiero, H. (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother.* **57(3-4)**, 145-155.
- [57] Hevia, D., Mayo, J. C., Tan, D. X., Rodriguez-Garcia, A., & Sainz, R. M. (2014). Melatonin enhances photo-oxidation of 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein by an antioxidant reaction that renders N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK). *PloS one*, **9(10)**, e109257.
- [58] Reiter, R. J., Acuña-Castroviejo, D., Tan, D. X., & Burkhardt, S. (2001). Free radical-mediated molecular damage, mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **939(1)**, 200-215.
- [59] Kumar, A.N., Aruna, P., Naidu, J.N., Kumar, R., Srivastava, A.K. (2015) Review of Concepts and Controversies of Uric Acid as Antioxidant and Pro-Oxidant. *Archives Medical Review Journal.* **24(1)**, 19-40.
- [60] Waring, W. S. (2002). Uric acid, an important antioxidant in acute ischaemic stroke. *QJM.* **5(10)**, 691-693.
- [61] Gutteridge, J.M.C. (1995). Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clin Chem.* **41(12)**, 1819- 1828.
- [62] Burtis, C.A., & Ashwood, E.R. (2005). Vitaminler. Aslan D. Eds. Klinik Kimyada Temel İlkeler. *Palme Yayınları*, Ankara.
- [63] Roche, M., Rondeau, P., Singh, N.R., Tarnus, E., Bourdon, E. (2008). The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett.* **582(13)**, 1783-1787.
- [64] Gürkan, A.S., Bozdağ-Dündar, O. (2005). Coenzyme Q10. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara.* **34(2)**, 129-154.

- [65] Packer, L., Kraemer, K., Rimbach, G. (2001). Molecular Aspects of Lipoic Acid in the Prevention of Diabetes Complications. *Nutrition*. **17**, 888-895.
- [66] Kim, Y., Kim, D.C., Cho, E. S., Ko, S. O., Kwon, W. Y., Suh, G. J., & Shin, H. K. (2014). Antioxidant and antiinflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Inflamm*. **11(36)** doi,10.1186/s12950-014-0036-1.
- [67] Chauhan, A., Chauhan, V., Brown, W. T., & Cohen, I. (2004). Oxidative stress in autism, Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin-the antioxidant proteins. *Life sciences*, **75(21)**, 2539-2549.
- [68] Dünder, Y., & Aslan, R. (1999). Oksidan-antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, **9(1-2)**, 32-39.
- [69] Aydın, A., Sayal, A., & Işimer, A. (2001). Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi. *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayın Kitabı, Ankara*.
- [70] Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*. **4(2)**, 89-96.
- [71] Li, Y., Schellhorn, H. E. (2007). New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *J Nutr*. **137(10)**, 2171-2184.
- [72] Carr, A. C., Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr*. **69(6)**, 1086-1107.
- [73] Hussein, H. K., Elnaggar, M. H., Al-Zahrani, N. K. (2012). Antioxidant role of folic acid against reproductive toxicity of cyhalothrin in male mice. *Glo Adv Res J Environ Sci Toxicol*. **1(4)**, 66-71.
- [74] Ebaid, H., Bashandy, S. A., Alhazza, I. M., Rady, A., & El-Shehry, S. (2013). Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. *Nutrition & metabolism*, **10(1)**, 20.

- [75] Title, L. M., Cummings, P. M., Giddens, K., Genest, J. J., Nassar, B. A. (2000). Effect of Folic Acid and Antioxidant Vitamins on Endothelial Dysfunction in Patients With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol.* **36(3)**, 758-765.
- [76] Atmaca, E., & Aksoy, A. (2009). Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **20(2)**, 79-83.
- [77] Henle, E.S., Linn, S., (1997). Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/ hydrogen peroxide, *J. Biol. Chem.*, **272 (31)**, 19095–19098.
- [78] Wei, Y., Lee, H., (1997). Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging, *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.*, **217**, 53-63.
- [79] Sawyer, D.E., Van Houten, B., (1999). Repair of DNA damage in mitochondria, *Mutat. Res.*, **434**, 161-176.
- [80] Bohr, V.A. (2002). Repair of oxidative DNA damage in nuclear and mitochondrial DNA, and some changes with aging in mammalian cells, *Free Radical Bio. Med.*, **32 (9)**, 804- 812.
- [81] Takeuchi, T., Nakajima, M., Morimoto, K., (1996). Relationship between the intracellular reactive oxygen species and the induction of oxidative DNA damage in human neutrophil-like cells, *Carcinogenesis*, **17(8)**, 1543- 1548.
- [82] Loeb, K.R., Loeb, L.A., (2000). Significance of multiple mutations in cancer, *Carcinogenesis*, **21(3)**, 379- 385.
- [83] Mandavilli, B. S., Santos, J. H., & Van Houten, B. (2002). Mitochondrial DNA repair and aging. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **509(1-2)**, 127-151.
- [84] Halliwell, B., (2002). Effect of diet on cancer development, is oxidative DNA damage a biomarker?, *Free Radical Bio. Med.*, **32(10)**, 968- 974.

- [85] Yakes, F.M., Van Houten, B., (1997). Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Cell Biol.*, **94**, 514-519.
- [86] Salles, B., Sattler, U., Bozzato, C., Calsou, P., (1999). Repair of oxidative DNA damage in vitro, a tool for screening antioxidative compounds, *Food Chem. Toxicol.*, **37**, 1009- 1014.
- [87] Marnett, L.J., (2000). Oxyradicals and DNA damage, *Carcinogenesis*, **21(3)**, 361-370.
- [88] Dizdaroğlu, M., Jaruga, P., Birincioğlu, M., Rodriguez, H., (2002). Free radical-induced damage to DNA, mechanisms and measurement, *Free Radical Bio. Med.*, **32(11)**, 1102- 1115.
- [89] De Souza-Pinto, N.C., Wilson III, D.M., Stevnsner, T.V., Bohr, V.A., (2008). Mitochondrial DNA, base excision repair and neurodegeneration, DNA repair, **7**, 1098- 1109.
- [90] Croteau, D. L., & Bohr, V. A. (1997). Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells. *Journal of Biological Chemistry*, **272(41)**, 25409-25412.
- [91] Elliot, R.M., Astley, S.B., Southon, S., Archer, D.B. (2000). Measurement of cellular repair activities for oxidative DNA damage, *Free Radical Bio. Med.*, **28(9)**, 1438- 1446.
- [92] Tepe, B., Degerli, S., Arslan, S., Malatyali, E., & Sarikurkcu, C. (2011). Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamoebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia*, **82(2)**, 237-246.
- [93] De la Roche, H. M., Seagrove, S., Mehta, A., Divekar, P., Campbell, S., & Curnow, A. (2010). Using natural dietary sources of antioxidants to protect against ultraviolet and visible radiation-induced DNA damage, an investigation of human green tea ingestion. *Journal of Photochemistry and Photobiology B, Biology*, **101(2)**, 169-173.

- [94] Gutteridge, J. M. (1984). Lipid peroxidation initiated by superoxide-dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide. *FEBS letters*, **172**(2), 245-249.
- [95] Karaca, Ş. & Güder, H. (2009). Dermatolojide antioksidan sistem. *Türk Dermatoloji Dergisi*. **3**, 32-39.
- [96] Dülger, D. & Berktaş, M. (2007). *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının klinik önemi. *Van Tıp Dergisi*. **14**(3), 90-5.
- [97] Denton, M., & Kerr, K. G. (1998). Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical Microbiology Reviews*, **11**(1), 57-80.
- [98] Looney, W. J., Narita, M., & Mühlemann, K. (2009). *Stenotrophomonas maltophilia*, an emerging opportunist human pathogen. *The Lancet Infectious Diseases*, **9**(5), 312-323.
- [99] de Oliveira-Garcia, D., Dall'Agnol, M., Rosales, M., Azzuz, A. C., Martinez, M. B., & Girón, J. A. (2002). Characterization of flagella produced by clinical strains of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Emerging Infectious Diseases*, **8**(9), 918.
- [100] Coenye, T., Vanlaere, E., LiPuma, J.J., Vandamme, P. (2004). Identification of genomic groups in the genus *Stenotrophomonas* using *gyrB* RFLP analysis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. **40**, 181–85.
- [101] Nicodemo, A. C., & Paez, J. G. (2007). Antimicrobial therapy for *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, **26**(4), 229-237.
- [102] McKay, G. A., Woods, D. E., MacDonald, K. L., & Poole, K. (2003). Role of phosphoglucosyltransferase of *Stenotrophomonas maltophilia* in lipopolysaccharide biosynthesis, virulence, and antibiotic resistance. *Infection and immunity* . **71**(6), 3068-75.

- [103] Crossman, L.C., Gould, V.C., Dow, J.M., Vernikos, G.S., Okazaki, A., Sebahia, M. (2008). The complete genome, comparative and functional analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* reveals an organism heavily shielded by drug resistance determinants. *Genome Biology*. **9** (4), R74.
- [104] Pages, D., Rose, J., Conrod, S., Cuine, S., Carrier P., Heulin, T., Achouak, W. (2008). Heavy metal tolerance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *PLoS ONE*. **3**(2), e1539.
- [105] Pages, D., Rose, J., Conrod, S., Cuine, S., Carrier P., Heulin, T., Achouak, W. (2008). Heavy metal tolerance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *PLoS ONE*. **3**(2), e1539.
- [106] Senol, E. (2004). *Stenotrophomonas maltophilia*, the significance and role as a nosocomial pathogen. *Journal of Hospital Infections*. **57**(1), 1-7.
- [107] Hayward, A. C., Fegan, N., Fegan, M., & Stirling, G. R. (2010). *Stenotrophomonas* and *Lysobacter*, ubiquitous plant-associated gamma-proteobacteria of developing significance in applied microbiology. *Journal of Applied Microbiology*. **108** (3), 756-770.
- [108] Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2010). *Tıbbi Mikrobiyoloji*. 6. Baskı. Ankara, *Atlas Kitapçılık*.
- [109] Looney, W. J. (2005). Role of *Stenotrophomonas maltophilia* in hospital-acquired infection. *British Journal of Biomedical Science*. **62**(3), 145-54.
- [110] Gales, A. C., Jones, R. N., Forward, K. R., Linares, J., Sader, H. S., & Verhoef, J. (2001). Emerging importance of *Acinetobacter* species and *Stenotrophomonas maltophilia* as pathogens in severely ill patients, geographic patterns, epidemiological features, and trends in the SENTRY Antimicrobial Surveillance program (1997–1999). *Clinical Infectious Diseases*. **32**, 104-113.
- [111] Nyč, O., Matějková, J. (2010). *Stenotrophomonas maltophilia*, Significant Contemporary Hospital Pathogen. *Folia Microbiologica*. **55**(3), 286–294.

- [112] Caylan, R., Yilmaz, G., Sucu, N., Bayraktar, O., Aydın, K., Kaklıkkaya, N., & Köksal, I. (2005). Nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* infections in a university hospital. *Mikrobiyoloji Bülteni*, **39(1)**, 25-33.
- [113] Dizbay, M., Tunçcan, Ö. G., Maral, I. I., Aktaş, F., & Şenol, E. (2009). Five years surveillance of nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* infections in Gazi University Hospital. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, **29(6)**, 1406-1411.
- [114] Sadıç, B., Başaran, S., Şimşek-Yavuz, S., Çağatay, A., Özsüt, H., & Eraksoy, H. (2019). *Stenotrophomonas maltophilia*, Antimikrobik Duyarlılık Testi Sonuçları ve Seftazidimin Moksifloksasinle Kombinasyonunun In Vitro Etkinliği. *Klinik Journal/Klinik Dergisi*, **32(1)**, 35-37
- [115] Acar, J.F., Goldstein, F.W. (1996). Disk susceptibility test, “V Lorian (ed), Antibiotics in Laboratory Medicine. 4th edition. *Baltimore, Williams and Wilkins*.
- [116] Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M. (2007). Ulubelen, A., A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*, *Food Chemistry*, 816-822.
- [117] Russo, A., Acquaviva, R., Campisi, A., Sorrenti, V., Di Giacomo, C., Virgata, G., & Vanella, A. (2000). Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell biology and toxicology*, **16(2)**, 91.
- [118] Tunç, K., Konca, T., & Hoş, A. (2013). *Punica granatum* Linn.(Nar) bitkisinin antibakteriyel etkisinin araştırılması. *Sakarya University Journal of Science*, **17(2)**, 173-179.
- [119] Kışla, D., & Karabıyıklı, Ş. (2013). Antimicrobial effect of sour pomegranate sauce on *Escherichia coli* O157, H7 and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Science*, **78(5)**, M715-M718.
- [120] Naz, S., Siddiqi, R., Ahmad, S., Rasool, S. A., & Sayeed, S. A. (2007). Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punica granatum*. *Journal of Food Science*, **72(9)**, M341-M345.

- [121] Eloff, J. N. (1998). Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants?. *Journal of ethnopharmacology*, **60(1)**, 1-8.
- [122] Farnsworth, N. R., & Akerev, O. B. AS (1985). *The Bullettion of WHO*, **63**, 9865-9871.
- [123] Baytop, T. (1999). *Therapy with medicinal plants in Turkey past and present*, 2nd ed. Nobel Tıp Kitabevi, Istanbul.
- [124] Dülger, B., Gücin, F., Malyer, H., & Bıçakçı, A. (1997). Antimicrobial activity of Marigold (Tagetes Minuta L.). *ACTA Pharmaceutica Scientia*, **39(3)**, 18-22
- [125] Dülger, D., Berktaş, M. (2007). Stenotrophomonas maltophilia suşlarının klinik önemi. *Van Tıp Dergisi*. **14(3)**, 90-95.
- [126] Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). Molecular cell biology 4th edition. *National Center for Biotechnology Information, Bookshelf*.
- [127] Tepe, B., Degerli, S., Arslan, S., Malatyali, E., & Sarikurkcü, C. (2011). Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of Teucrium polium and Stachys iberica. *Fitoterapia*, **82(2)**, 237-246.
- [128] Bayıl Oguzkan, S., Uğraş, S., Aksoy, E. S., Ülger, S., Üzmez, Ş., Karagül, B., & Uğraş, H. İ. (2016). Biological activity analysis of hazelnut nutshell extracts. *International Journal of Chemical and Natural Science*, **4(5)**, 481-485.
- [129] Pacheco-Palencia, L. A., Noratto, G., Hingorani, L., Talcott, S. T., & Mertens-Talcott, S. U. (2008). Protective effects of standardized pomegranate (Punica granatum L.) polyphenolic extract in ultraviolet-irradiated human skin fibroblasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56(18)**, 8434-8441.

- [130] Negi, P. S., & Jayaprakasha, G. K. (2003). Antioxidant and antibacterial activities of Punica granatum peel extracts. *Journal of Food Science*, **68**(4), 1473-1477.



ÖZGEÇMİŞ

Aydın ÇİÇEK, Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı olup, İstanbul 1978 doğumludur. 2000’de İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden mezun olmuştur. Lisans eğitimini ağırlıklı olarak Mikrobiyoloji üzerine tamamladıktan sonra 2000-2005 yılları arasında Mustafa Nevzat İlaç San. Ve Tic. A.Ş. mikrobiyoloji laboratuvarında çalışmıştır. 2005-2017 yılları arasında bioMérieux Diagnostik A.Ş. de, Endüstri Departmanı’nda görev almıştır. 2018 yılı itibari ile kurucusu olduğu BIOLyses Analiz ve Danışmanlık Hizmetleri Tic. Ltd. Şti.’nde yönetici olarak halen görev yapmaktadır. 2015’te Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde yüksek lisan eğitimine başlamıştır.