

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI LOKALİTELERDEN TOPLANAN *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*'nın ANTIOKSİDAN ve ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Suna KAYIHAN**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Yard. Doç. Mehmet ÇİÇEK**

**HAZİRAN 2012**

## YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 091461023 nolu öğrencisi Suna KAYIHAN tarafından hazırlanan “**FARKLI LOKALİTELERDEN TOPLANAN *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*’nın ANTİOKSİDAN ve ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÇİÇEK

II. Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali ÇELİK

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Kutret GEZER

Jüri Üyesi: Yrd. Doç. Dr. Fatih COŞKUN

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun 04/07/2012 tarih ve .../.../... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü  
Prof. Dr. NURİ KOLSUZ

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza

: 

Öğrenci Adı Soyadı: Suna KAYIHAN

## ÖNSÖZ

Bu çalışma, daha önce araştırılmamış olan *Gypsophila perfoliata* L. var *perfoliata* türünün antioksidan aktivitesinin, fenolik içeriğinin ve antibakteriyel aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmadır.

Bu zorlu süreç boyunca hoşgörü ve yardımseverliğiyle desteğini esirgemeyen danışman hocalarım, Prof. Dr. Ali ÇELİK ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÇİÇEK'e, bu araştırmanın gerçekleşmesinde değerli öneri ve yönlendirici katkılarıyla bana destek veren Yrd. Doç. Dr. Bekir Sıtkı ÇEVREMLİ'ye, laboratuvar desteği ve manevi desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV'a, Yrd. Doç. Dr. Ramazan DONAT'a ve Yrd. Doç. Dr. Emine Nur HERKEN'e, mikroorganizmaları temin eden Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN'e, hayatım boyunca attığım her adımda bana gösterdikleri maddi ve manevi destek, anlayış ve özverileri için aileme, arazi çalışmalarımda benden desteklerini esirgemeyen Oğuzhan KAYGUSUZ'a, Ahmet ERMİŞ'e ve ismini saymadığım sevgili arkadaşlarım ve sayın hocalarıma sonsuz saygı, sevgi ve minnetlerimi sunarım.

Haziran 2012

Suna KAYIHAN

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

<b>ÖZET.....</b>	<b>viii</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Caryophyllaceae Familyasının Genel Özellikleri.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2 Gypsophila Cinsinin Genel Morfolojik, Sistematik Özellikleri ve Kullanım Alanları .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2.1 Saponinler .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3 Gypsophila perfoliata L. var. perfoliata Taksonunun Sistemattteki Yeri.....</b>	<b>7</b>
<b>1.4 Serbest Radikaller .....</b>	<b>10</b>
<b>1.5 Antioksidanlar ve Fenolik Bileşikler.....</b>	<b>13</b>
<b>1.6 Antioksidan Aktivite Belirleme Yöntemleri .....</b>	<b>20</b>
<b>1.7 Tıbbi Bitkilerin Antibakteriyel Aktivitesi .....</b>	<b>22</b>
<b>1.8 Tezin Amacı .....</b>	<b>23</b>
<b>1.9 Literatür Özeti .....</b>	<b>23</b>
<b>2. MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>30</b>
<b>2.1 Bitki Materyalinin Toplanması ve Deney İçin Hazırlanması.....</b>	<b>30</b>
<b>2.2 Ekstraksiyon Yöntemi ve Gypsophila perfoliata L. var. perfoliata'nın Ekstraksiyonu .....</b>	<b>31</b>
<b>2.3 ABTS ile Antioksidan Tayini.....</b>	<b>32</b>
<b>2.4 Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini.....</b>	<b>33</b>
<b>2.5 Antibakteriyel Aktivitenin İncelenmesi .....</b>	<b>34</b>
<b>2.5.1 Bakterilerin besiyerinde çoğaltılması.....</b>	<b>35</b>
<b>2.5.2 Petri kaplarının hazırlanması .....</b>	<b>35</b>
<b>2.5.3 İnhibisyon zonlarının ölçülmesi.....</b>	<b>35</b>
<b>2.6 İstatistiksel Analiz .....</b>	<b>36</b>
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>37</b>
<b>3.1 Toplam Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayin Sonuçları .....</b>	<b>37</b>
<b>3.2 Ekstraktların Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....</b>	<b>37</b>
<b>4. SONUÇ VE TARTIŞMA.....</b>	<b>40</b>
<b>5. KAYNAKLAR .....</b>	<b>42</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>51</b>

## KISALTMALAR

<b>ABTS</b>	: 2,2' - Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline- sulfonic acid
<b>BHT</b>	: Bütillenmiş Hidroksi Toluen
<b>BHA</b>	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
<b>CUPRAC</b>	: Bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
<b>DPPH</b>	: 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
<b>DNA</b>	: Deoksiribo nükleik asit
<b>FC</b>	: Folin-Ciocalteu
<b>FRAP</b>	: Demir İyonlarını İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
<b>HAT</b>	: Hidrojen Atom Transferi
<b>RNS</b>	: Reaktif Nitrojen Türleri
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>TAC</b>	: Toplam Antioksidan Kapasitesi
<b>TAS</b>	: Toplam Antioksidan Seviyesi
<b>TEAC</b>	: Troloks Eşitliği Antioksidan Kapasitesi
<b>TRAP</b>	: Radikal-Tutuklama Antioksidan Parametresi
<b>Troloks</b>	: 6-Hidroksil-2,5,7,8-Tetrametil Kroman-2-Karboksilik asit
<b>SET</b>	: Tek Elektron Transferi
<b>SOD</b>	: Süperoksid dismutaz
<b>ORAC</b>	: Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi

## TABLO LİSTESİ

### Tablolar

1.1 : Saponin içeriği belirlenmiş bitkiler .....	5
1.2 : <i>Gypsophila perfoliata</i> L. var. <i>perfoliata</i> 'nın sistematikteki yeri.....	10
1.3 : Reaktif oksijen ve azot t¼rleri.....	12
2.1 : Toplanan ¼rneklerin lokalite bilgileri .....	29
2.2 : Kullanılan mikroorganizmalar.....	34
3.1 : Ekstraksiyonların toplam fenolik ve antioksidan miktarları.....	36
3.2 : Bitkilerin sulu ekstratlarının test mikroorganizmaları ¼zerindeki antibakteriyel aktiviteleri .....	37

## ŞEKİL LİSTESİ

### Şekiller

1.1: Steroidal saponinlerin yapısı .....	6
1.2: Triterpenoid saponinlerin yapısı .....	6
1.3: <i>Gypsophila perfoliata</i> L. var. <i>perfoliata</i> 'nın doğadaki görünüşü.....	7
1.4: <i>Gypsophila perfoliata</i> L. var. <i>perfoliata</i> 'nın kökü. ....	8
1.5: <i>Gypsophila perfoliata</i> L. var. <i>perfoliata</i> çiçeği .....	9
1.6: <i>Gypsophila perfoliata</i> L. var. <i>perfoliata</i> 'nın Türkiye'deki lokaliteleri .....	9
1.7: Reaktif oksijen türlerinin çeşitli doku, organlarda neden oldukları hastalık ve hasarlar .....	13
1.8: Antioksidanların sınıflandırılması ..	14
2.1: Parçalanmış çöven kökü. ....	29
2.2: Öğütülmüş bitki materyali .....	29
2.3: Çözücünün rotary evaporatörde vakum eşliğinde uzaklaştırılması. ....	31
3.1: Denizli'de toplanan bitki ekstraktının <i>Bacillus pumilis</i> NRRL-BD-142 ve <i>Bacillus cereus</i> NRRL-B-3711 üzerine etkisi.....	38
3.2: Penisilin ve Azitromisin'in <i>Bacillus pumilis</i> NRRL-BD-142 ve <i>Bacillus cereus</i> NRRL-B-3711 bakterileri üzerine etkisi .....	38



## ÖZET

### **FARKLI LOKALİTELERDEN TOPLANAN *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*'nın ANTIÖKSİDAN ve ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Bu çalışmada, *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata* özütlerinin antioksidan, fenolik içerik ve antibakteriyel etkilerinin gözlenmesi amaçlanmaktadır. Çalışmada kullanılan takson üç farklı lokaliteden toplanmıştır. Çalışmada kloroform kullanılarak ekstrakt elde edilmiş ve bunların *in vitro* antibakteriyel etkileri disk difüzyon testi kullanılarak incelenmiştir. Bitki özütlerinin *Escherichia coli* MC 4100, *Pseudomonas aeruginosa* NRRL-B-2679, *Proteus vulgaris* NRRL-B-123, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Citrobacter freundii* NRRL-B 2643, *Providencia stuartii*, *Enterobacter aerogenes* NRRL-B- 3567, *Bacillus licheniformis* NRRL-B-1001, *Bacillus cereus* NRRL-B-3711, *Bacillus pumilis* NRRL-BD-142 bakterilerine karşı antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Her üç bitki örneğinde benzer oranda antibakteriyel aktivite olduğu tespit edilmiştir. Farklı lokalitelerden toplanmış bitkilerin sekonder metabolitlerinin incelenmesi amacıyla fitokimyasal taramalar yapılmıştır. Bitkilerin toplam antioksidan aktivitesine ABTS metodu ile toplam fenolik içeriğine ise Folin-ciocalteu metodu ile bakılmıştır. Sonuç olarak, Manisa'dan toplanan örneğin toplam antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde içeriği daha yüksek çıkmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*, antioksidan aktivitesi, fenolik içerik, antibakteriyel aktivite, ABTS.

## SUMMARY

### DETERMINATION OF ANTIOXIDANT and ANTIBACTERIAL ACTIVITY of *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*'s COLLECTED from DIFFERENT LOCALITIES

This study aims to observe the antibacterial, antioxidant activity and fenolic content of *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata* extracts. The species of the genus *Gypsophila* L. which is used in this study is collected from three different localities. Chloroform was used as a solvent in order to extract components and all the extracts were investigated for *in vitro* antibacterial activity by using the disc diffusion method. The antibacterial effects of the plant extracts are studied against bacteria *Escherichia coli* MC.4100, *Pseudomonas aeruginosa* NRRL-B-2679, *Proteus vulgaris* NRRL-B-123, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Citrobacter freundii* NRRL-B 2643, *Providencia stuartii*, *Enterobacter aerogenes* NRRL-B- 3567, *Bacillus licheniformis* NRRL-B- 1001, *Bacillus cereus* NRRL-B-3711 and *Bacillus pumilis* NRRL-BD-142. The antibacterial activity of a similar extent in the case of three plants each were determined. Phytochemical scans are made to examine the types of plant secondary metabolites. Total antioxidant activity effect of plant species is studied with ABTS and total fenolic content is worked with Folin-ciocalteu method. As a conclusion, total antioxidant capacity and total phenolic contents collected from Manisa was higher than the others.

**Key Words:** *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*, antioxidant activity, fenolic content, antibacterial activity, ABTS.

## 1. GİRİŞ

İnsanların çevrelerindeki bitkilerden yararlanmaları eski devirlere dayanmaktadır. Yaşamın başlangıcından beri insanlar bitkileri; gıda, ilaç, yakacak, silah ve mesken yapımında kullanmıştır (Baytop, 1984). Kuzey Irak'ta Sanidar mağarası'nda 1957'de yapılan kazılarda ortaya çıkarılan 60 bin yıl öncesinden kalan Neanderthal mezarının içinde civanperçemi, kanarya otu, mor sümbül, gül hatmi, peygamber çiçeği, ebegümece ve efedra gibi bitki türleri bulunduğu tespit edilmiştir (Heinrich ve diğ., 2004). Bunun yanı sıra bulunan tabletler üzerindeki reçetelerde de nane, rezene, safran, kekik, kitre, haşhaş gibi bitkilere rastlanmıştır (Baytop, 1999).

Bitkilerin tedavi amacıyla kullanıldığından bahseden en eski eser M.Ö 3200'lü yıllarda Shen-Nung'un yazdığı "Materia Medica" adlı eseridir. Kitapta 200'ün üzerinde tıbbi bitkiden söz edilmektedir (Ünal 2006).

Tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin miktarı, antik çağlardan beri artış göstermektedir. Eski Çin, Hindistan, Mısır, İran, Yunanistan ve bazı Avrupa ülkelerinde eskilerden beri bitkilerin hastalıklara karşı iyileştirici etkileri olduğu inancı mevcuttur (Baytop, 1999).

Dünya üzerinde 250.000 ile 500.000 arasında bitki türünün olduğu tahmin edilmektedir. Bunların oldukça küçük bir yüzdesi hem insanlar hem de hayvanlar tarafından yiyecek olarak kullanılmaktadır. Tıbbi amaçlar için kullanılanlar ise çok daha fazladır (Moerman, 1996).

19. yüzyılda tıbbi bitkiler üzerinde incelemeler yoğunlaşmış ve birçok ilaç sanayi kurulmuştur. Bu yüzyılda farmakognazi ilminin de temelleri atılmıştır. Fitokimyada hızlı ilerlemeler kaydedilirken, glikozid, saponin, reçine gibi maddelerin keşifleri yapılmıştır (Ivanov ve diğ., 1999).

Bitkisel ilaçların yan etkilerinin olmaması ya da çok az olması, bitkisel etken maddelere karşı patojenlerin dayanıklı ırklar oluşturamaması, bitkisel maddelerin sentetik ilaçların başlangıç maddesi olması ve sentetik ilaçlara model oluşturması, kullanıldıktan sonra vücutta birikmemesi ve zararlı etki oluşturmaması, özellikle

yaşlı vücutların sentetik ilaçlara nazaran daha yüksek oranda olumlu tepki vermeleri, ucuz ve kolay elde edilebilirlikleri gibi üstünlükleri dolayısıyla günümüzde tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve tüketilmesinde hızlı bir artış görülmektedir (Tanker ve Tanker, 2003).

Ülkemiz dünya üzerindeki konumu itibariyle floristik açıdan büyük önem arz etmekte olup, biyolojik çeşitlilik ve özellikle bitki çeşitliliği açısından dünyanın sayılı ülkeleri arasında yer almaktadır. Türkiye florasının ilginç ve zengin bir yapıya sahip oluşunu; Türkiye'nin Avrupa- Sibiryaya, Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerinin karşılaştığı bir yerde bulunmasına, Güneybatı Asya ile Güney Avrupa arasında bir köprü oluşturmasına, çok sayıda cins ve türün gen merkezlerinin Anadolu olmasına, birçok kültür bitkisinin anavatanının Türkiye olmasına, topoğrafyanın farklılıklar göstermesine, çok farklı iklim tiplerinin bulunmasına, jeolojik ve jeomorfolojik yapının çok değişkenlik göstermesine, tür endemizminin yüksek olmasına, ve *Astragalus* L., *Verbascum* L., *Bolanthus* (Ser.) Rchb gibi cinslerin gen merkezi olmasına bağlamak mümkündür (Erik ve Tarıkahya, 2004). Bunun yanı sıra Anadolu diagonalinin varlığı da küçük yüzölçümüne sahip olmasına rağmen biyoçeşitliliğin zengin olmasına sebeptir (Ataşlar ve Ocak, 2005).

Türkiye Florası'na göre, Türkiye 174 familyaya ait 1251 cins ve 12.000'den fazla tür ve tür altı taksonu ile oldukça zengin bir floraya sahiptir (Davis, 1965-1985; Davis ve diğ., 1988; Güner ve diğ., 2000). Bu taksonların 234'ü yabancı kaynaklı ve kültür bitkisidir. Geri kalan türler ise yurdumuzda doğal yayılış gösteren bitkilerdir (Erik ve Tarıkahya, 2004). Tüm Avrupa kıtasının yaklaşık 12.000 kadar bitki taksonuna sahip olduğu düşünüldüğünde yurdumuzun bitki örtüsü bakımından zenginliği görülecektir (Ekim ve diğ., 2000).

Türkiye florasının diğer önemli bir özelliği de çok sayıda endemik tür içermesidir. Türkiye'deki endemik bitki tür sayısı 3800 civarında olup endemizm oranı %34.5'dir (Malyer, 1996). Komşu ülkelerin ve Avrupa kıtasının endemik bitki tür sayılarına bakıldığında; İran'ın 1500 tür, Irak'ın 200 tür, Suriye-Lübnan'ın 330 tür, Bulgaristan'ın 53 tür, Yunanistan'ın 1100 tür ve Avrupa kıtasının 2750 tür içerdiği görülmektedir (Başer, 2002).

Bütün bu bilgiler göz önüne alındığında, ülkemizde bitkilerle ilgili büyük bir çalışma potansiyeli olduğu görülmektedir.

## 1.1 Caryophyllaceae Familyasının Genel Özellikleri

Familya üyelerinin büyük çoğunluğu kuzey yarım kürenin ılıman bölgelerinde ve Akdeniz çevresinde yetişir. Tek yada çok yıllık otsu, nadiren çalimsı, 50-60 cm yüksekliğinde çok dallı, kazık köklü bitkilerdir. Familyanın en belirgin karakteri gövde nodlarının şişkin oluşudur. Yapraklar bütün, basit, genellikle karşılıklı dizilmiş veya bir halkada alternat, zarımsı stipullu veya çoğunlukla stipulsuzdur. Çiçekler iki eşeyli, nadiren tek eşeyli, ışımsal simetrlili, çiçek durumu kimöz veya çiçekler tektir. Çiçekler aktinomorf simetrlili olup, sepaller tüp oluşturmaktadır. Petalleri serbest olup 4–5 adettir. Stamenlerin sayıları 3–10 arasında değişir. Ovaryumları üst durumlu olup, 1 lokuluslu, 2-5 karpelli, çok ovüllü, plasentasyonu serbest-sentraldir. Stilus 2-5 tanedir. Meyve bir kapsül olup valflerle açılmaktadır. Çok sayıda tohum oluşturabilen türlere sahip bir familyadır (Davis, 1967).

Dünya genelinde yaklaşık 80 cins ve 2100 tür içerir. Ülkemizde Türkiye Florası kayıtlarına 32 cins ve 488 taksonu bulunmaktadır. Caryophyllaceae familyasının tür zenginliği yönünden ilk 5 cinsi; *Silene* L.(131 tür), *Minuartia* L. (75 tür), *Dianthus* L. (69 tür), *Gypsophila* L. (53 tür), *Arenaria* L. (51 tür) cinsleridir (Yalçınkaya, 2006).

## 1.2 *Gypsophila* Cinsinin Genel Morfolojik, Sistematik Özellikleri ve Kullanım Alanları

*Gypsophila* L. Caryophyllaceae familyasının üçüncü büyük cinsidir. Ülkemizde doğal yayılış gösteren ve yarısından fazlası endemik olan cinsin üyeleri yurdumuz için önemli bir gen kaynağıdır. “*Gypsophila*” adı jipsli ortamlara adapte olan bir bitki grubuna verilmiştir. Ülkemizde Caryophyllaceae familyasının *Silene* L. (131 tür) ve *Dianthus* L. ’tan (69 tür) sonra 3. büyük cinsi olan *Gypsophila*’ nın 53 tür, 1 alt tür, 3 varyetesi bulunmakta ve 10 seksiyon içerisinde gruplandırılmaktadır (Yıldırım, 2002). Bu taksonların 30 ’u endemiktir ve bir kısmı da reliktir (Güner ve diğ., 2000).

*Gypsophila* türleri; bir, iki veya çok yıllık otsu bitkilerdir. *Gypsophila* taksonları genellikle Türkiye’de 100-2800 m rakımlar arasında yayılış göstermektedir. Yayılış alanlarının tamamında step vejetasyonu baskındır. Bitki 20 ile 30 cm uzunluğunda kalın kazık köke, küçük yan köklere, kısa bir gövdeye ve çiçeklere sahiptir. Bitki topraktan çıkartıldığında esnek yapıda bir köke sahipken, kök kurutulduğunda oldukça zor parçalanabilen bir yapıya sahip olmaktadır. Gövdesi yaklaşık 1 m olan

bitkinin çiçeklenme zamanı Haziran ve Temmuz aylarıdır. Yarı çalimsı, tüysüz, salgısız veya salgı tüylüdür. Yapraklar linear-subulattan lanseolata kadar, nadiren geniş ayalı, çoğunlukla yarı etlidir. Çiçekler küçük, hermafrodit, bazen tek eşeyli ve çok sayıda, dikazyal şekilde dizilmiş panikul veya başçık şeklindedir. Brakteler yeşil veya zarımsı, brakteoller yoktur. Kaliks çan, turbünat, nadiren tüpsü, ara damarlar taşımaz, 5 dişli, çoğunlukla kalsiyum oksalat kristalleri bulundurur. Petaller 5 adet, beyaz veya pembe, sıklıkla pembemsi damarlı, lineardir. Lamina ve yakalar belirgin değildir. Koronal pullar taşımazlar. 10 adet stamen, 2 adet stilus mevcuttur. Meyve yuvarlaksı oblong, kapsül 4 kapakla açılır. Tohumlar kulakçıklı, basık, dikensi çıkıntılar taşır veya düzdür (Yalçınkaya, 2006).

*Gypsophila* cinsi, saponin bakımından zengin ve ekonomik önemi olan bir bitkidir. Halk arasında “çöven, çögen, çuvan, çövenotu, çövenkökü, helvakökü, sabunotu” isimlerinin verildiği bu cinsten çok değişik şekillerde yararlanılmaktadır. Kökleri toplanan narin gövdeli bitkilerden elde edilen öz, gıda sanayinde, emülgatör görevi yaparak susam yağının helvadan ayrılmasını önlemek, tekstürü istenen düzeye getirmek, hacmi arttırmak ve böylece ürüne karakteristik özelliklerini kazandırmak amacıyla kullanılmaktadır. Birçok *Gypsophila* türünün kültürü yapılmakta ve çiçekçilerde süs bitkileri arasında görülmektedir (Velioglu, 2001, Battal, 2002).

*Gypsophila* rizomları ile kaynatılmış su, ipekli ve değerli kumaşların içerisinde bekletildiğinde, kumaşların rengi ve parlaklığının bozulmadan temizlendiği görülmüştür (İnan, 2006). Bunların yanı sıra piyasa da altın ağartmada, temizlik sanayisinde ve sabun yapımında da kullanılmaktadır (Özçelik ve Yıldırım, 2011). Bazı ülkelerde köpük temin edilmek maksatıyla bira, köpüklü şarap, gazoz gibi içeceklerde kullanılmaktadır (Akşehirli ve diğ., 1971).

Bütün bu özelliklerinin yanı sıra içerdiği kimyasal maddeler bakımından, hastalıkların tedavi edilmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu yüzden günümüzde birçok bilim adamı *Gypsophila* türlerinin yapısında bulunan kimyasal maddeleri ve bu maddelerin özelliklerini aydınlatmaya çalışmaktadırlar (Baylan 1990).

Çöven bitkisinin kök ve rizomların kaynatılması sonucu ana bileşeni olan saponin elde edilir (Yurdagel ve diğ., 1996). Yaklaşık 100 bitki familyasının saponin içerdiği belirtilmiştir (Price ve diğ. 1987). Ancak bunlardan bir kısmının insan ve hayvanlar

tarafından besin maddesi olarak kullanıldığı da (Tablo 1.1) söylenmektedir (Fendwick ve Oakenfull, 1983).

Tablo 1.1: Saponin içeriği belirlenmiş bitkiler (Fendwick ve Oakenfull, 1983).

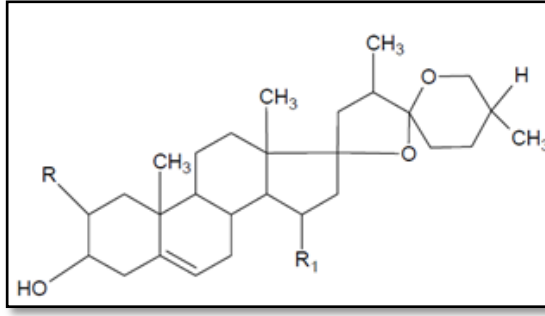
Bitki Adı	Saponin Miktarı(g/kg KM)
Nohut ( <i>Cicer arietinum</i> L.)	56
Soya Fasulyesi ( <i>Glycine Max</i> L. Merrill)	43
Yonca ( <i>Medicago sativa</i> L.)	56
Yeşil Fasulye ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	13
Fıstık ( <i>Arachis hypogea</i> L.)	6.3
Ispanak ( <i>Spinacea oleracea</i> L.)	47
Mercimek ( <i>Lens culinaris</i> Medik.)	3.7-4.6
Susam Tohumu ( <i>Sesamum indicum</i> L.)	3
Yeşil Bezelye ( <i>Pisum sativum</i> L.)	11
Kuşkonmaz ( <i>Asparagus officinalis</i> L.)	15
Sarımsak ( <i>Allium sativum</i> L.)	2.9
Yulaf ( <i>Avena sativa</i> L.)	1

### 1.2.1 Saponinler

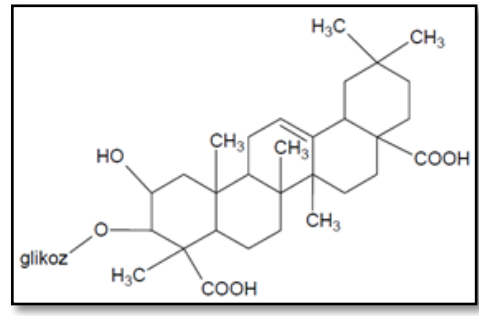
Saponinler, latince “soap” kelimesinden gelen “sapo”dan türetilmiştir. Bu moleküller surfaktan özelliği göstermektedirler ve sulu solüsyonlarda stabil, sabun benzeri köpükler oluşturmaktadırlar (Haralampidis, 2002; Osbourn, 2002).

Saponinler yüksek molekül ağırlıklı glikozitler olup, yapılarında büyük bir aglignon molekülü, şeker ve üronik asit molekülü bulunduran ikincil bitki metabolitleridir (Battal, 2002). Amorf, renksiz, kokusuz ve tahriş edici maddelerdir (Fidan ve Dündar, 2007).

Saponozitlerin agikonuna “sapogenin” denilmektedir. Sapogenin yapısına bağlı olarak steroidal (Şekil 1.1) ve triterpenik saponinler (Şekil 1.2) adı altında iki ana grupta toplanır (Oleszek, 2002).



Şekil 1.1: Steroidal saponinlerin yapısı



Şekil 1.2: Triterpenoid saponinlerin yapısı

Steroidal saponinler; 27 karbon atomu içerir, monokotil angiospermlerde görülürler. Triterpenik saponinler ise; 30 karbon atomu içerir, deniz canlıları ve dikotil angiospermlerde bulunurlar. Çöven kökü ve rizomunda bulunan saponinler bu tip saponinlerdir (Henry ve diğ., 1991).

Saponin adı verilen bu moleküllerin bulunduğu bitkiler uzun zamandır halk arasında hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Saponinler insana zehir etkisi gösterebilecek kadar güçlü biyolojik aktiviteye sahip iken, uygun şartlarda kullanıldığında kanser oluşumunu engellemeden koroner kalp hastalıklarının tedavi edilmesine kadar birçok önemli hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Ono ve Yamaguchi, 1999).

Saponin, insan ve hayvan beslenmesinde önemli yeri olan birçok biyolojik özelliğe sahip bir maddedir. Ağızda acımsı bir tat bırakan saponinler, toz halinde iken aksırtıcı özelliğe sahip olup, nötral veya hafif asidik karakterdedir. Kanı hemoliz etme etkisine sahip olup, göz ve burun mukozası üzerinde tahrişe neden olurlar (Feigenbaum, 1965).

Bilim adamları tarafından genelde antinutrisyonel faktör olarak ele alınan saponinlerin düşük dozlarda diyetlere ilave edilmesinin sağlığa etkisi ve çeşitli hastalıklardaki tedavi imkanlarının araştırılmaları yapılmış ve önemli veriler elde edilmiştir (Chen ve diğ., 1998). Bu çalışmalar sonucunda; saponinlerin hipokolesterolemik (Plock ve diğ., 2001), antikarsinojenik (Cheeke, 1999), antioksidan, antienflamatör (Southon ve diğ., 1988), antimikrobiyal, antiprotozoal (Ono ve Yamaguchi, 1999), antifungal ve antihipertansif etkileri olduğu bildirilmiştir (Dündar ve Aslan, 2000).



### 1.3 *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata* Taksonunun Sistematikteki Yeri

Dünyada 100'e yakın türü bulunan *Gypsophila* L. cinsi esas itibariyle Akdeniz ve İran-Turan bölgelerinde yayılış gösterir, fakat aynı zamanda Eski Dünya'nın kuzey ve sıcak bölgelerinde de yayılış gösterir (Williams,1989). *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*, çok yıllık otsu bir bitkidir (Şekil 1.3 ).



Şekil 1.3: *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*'nın doğadaki görünüşü

Bitki 30 ile 120 cm uzunluğunda kalın kazık köke, küçük yan köklere sahip çok dallı bir bitkidir (Şekil 1.4 ). Çiçeklenme zamanı Haziran ve Ağustos aylarıdır.





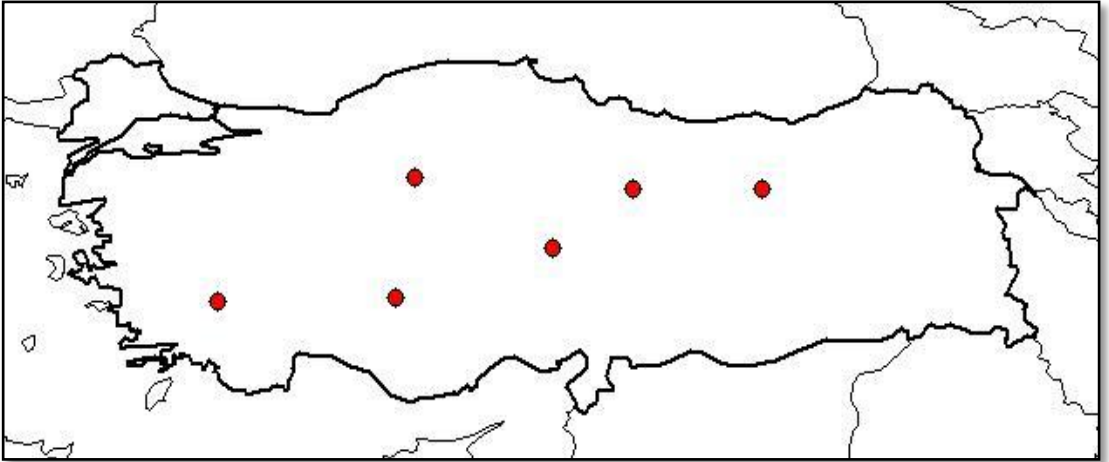
Şekil 1.4: *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*'nın kökü

Yarı çalimsı, tüysüz, 3 ile 5 damara sahip, salgısız veya salgı tüylüdür. Yapraklar linear-lanseolattan ovate kadar değişkenlik gösterir. Geniş ayalı ve etlidir. Çiçek dizilimi gevşektir. Petaller küçük, 3 ile 5 mm arasında pembe yada beyazdır (Şekil 1.5). Brakteler triangular-akuminattır. Pediseller 2 ile 15 mm arasında değişkenlik gösterir. Kaliks çan şeklinde 2 ile 2.5 mm, dişli ovat ve kalındır. Tohumlar basık ve düzdür.



Şekil 1.5: *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata* çiçeği

Tuzlu ve step toprakta, nadiren 350 m alt sınır olmak üzere, 1000-1500 m arasındaki yamaçlarda yetişirler (Davis, 1967).



Şekil 1.6: *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*'nın Türkiye'deki lokaliteleri

*Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*, Dünya’da Kafkasya, Batı Sibirya, Orta Asya, Romanya, Bulgaristan, Kuzey İran, Çin ve Avrupa’da yayılış gösterir. Türkiye’de ise 6 ilde bulunmuştur (Şekil 1.6). Gölbaşının 3 km güneyinde 1000 m de, Konya Cihanbeyli 1010 m de ve Kara Dağ mevkiinde, Kayseri 545 m de, Sivas ile Tecer arasında Sivas’ın 26 km güneyinde 1450-1480 m’de, Erzincan 1250 m’de, Denizli Pamukkale 350 m’de bulunmuştur (Davis, 1967).

Tablo 1.2: *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*’nın sistematikteki yeri

ALEM	Plantae
ALT ALEM	Tracheobionta
ÜST ŞUBE	Spermatophyta
ŞUBE	Magnoliophyta
SINIF	Magnoliopsida
ALT SINIF	Caryophyllidae
TAKIM	Caryophyllales
FAMİLYA	Caryophyllaceae
CİNS	<i>Gypsophila</i> L
TÜR	<i>Gypsophila perfoliata</i> L. var. <i>perfoliata</i>

#### 1.4 Serbest Radikaller

Canlı sistemlerde bulunan fizyolojik prosesler, enzim, hormon ve iz elementler gibi farklı ajanlar tarafından yönetilen oksidasyon ve indirgenme reaksiyonlarının tamamıdır. Canlılarda redoks dengesinde meydana gelebilecek herhangi bir değişiklik, hücrelerin ve dokunun fraksiyonlarının bozulmasına sebep olabilir (Cutler, 1984).

Bu dengesizlik serbest radikal oluşumuna sebebiyet verir. Bir veya birden fazla eşleşmemiş elektronu bulunan atom ya da moleküllere serbest radikal denir. Yarı ömürleri çok kısa olmasına karşın oldukça fazla reaktiftirler. Bu serbest radikallerin aşırı miktarda üretilmesi ve üretimin tüketimden fazla olması oksidatif stres olarak adlandırılır (Aruoma, 1994).

Bu radikaller normal metabolik olaylar sırasında oluşabilecekleri gibi birçok dış etkene bağlı olarak meydana gelebilir (Barber ve Harris, 1994).

Serbest radikallerin oluşmasında rol alan kaynaklar radyasyon, viruslar, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliği yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stres, yağ

metabolizması sonunda açığa çıkan ürünler gibi hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları ve birçok başka etkenlerdir. Bu moleküller genellikle kararlı değildir ve diğer maddelerle kolayca reaksiyona girerek toksik etkisi yüksek yeni bileşikler meydana getirirler. Radikallerin biyolojik sistemlerde birikmesi oksidatif zararlara neden olur. Kararsız doğal bu radikallerin insan vücudunda kalp hastalıkları, inflamasyon, kanser, yaşlanma gibi sağlık problemlerine neden olduğu ve çeşitli hastalıkların patojenleri ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (Abe ve Berg, 1998).

Serbest radikaller; reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türlerinden (RNS) oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Oksijenin normal hücre metabolizmasında reaktif oksijen türlerine dönüşmesi; UV'ye veya radyasyona maruz kalınması, sigara içilmesi ve hava kirliliği gibi bazı çevresel etkilerle olmaktadır. Reaktif oksijen türleri genellikle hidroksil radikalleridir (Tablo 1.3). Yüksek kimyasal reaktiviteye sahiptirler ve hızlı etki gösterirler. Okside olup, DNA, protein ve lipitler gibi biyolojik olarak önemli olan moleküllerin normal fonksiyonunu bozup organizmaları dejenere ederler. Antioksidanlar organizmaları O<sub>2</sub> toksisitesinden oksitleyici zincir reaksiyonlarını kırarak korur (Reische ve diğ., 1998).

ROS ve RNS biyolojik sistemlerin hem yararına hem de zararına çalışan bileşiklerdir (Valko ve diğ., 2007). ROS'un fizyolojik yararlı etkileri arasında enfekte ajanlara karşı savunma ve hücrel sinyal sisteminde değişik fonksiyonlar sayılabilir. ROS düşük konsantrasyonlarda mitojenik etkiye sahip iken yüksek konsantrasyonlarda hücrenin protein, nükleik asit, lipit ve membran gibi yapılarına zarar verir (Poli ve diğ., 2004).

Tablo 1.3: Reaktif oksijen ve azot türleri (Halliwell ve Auroma, 1998).

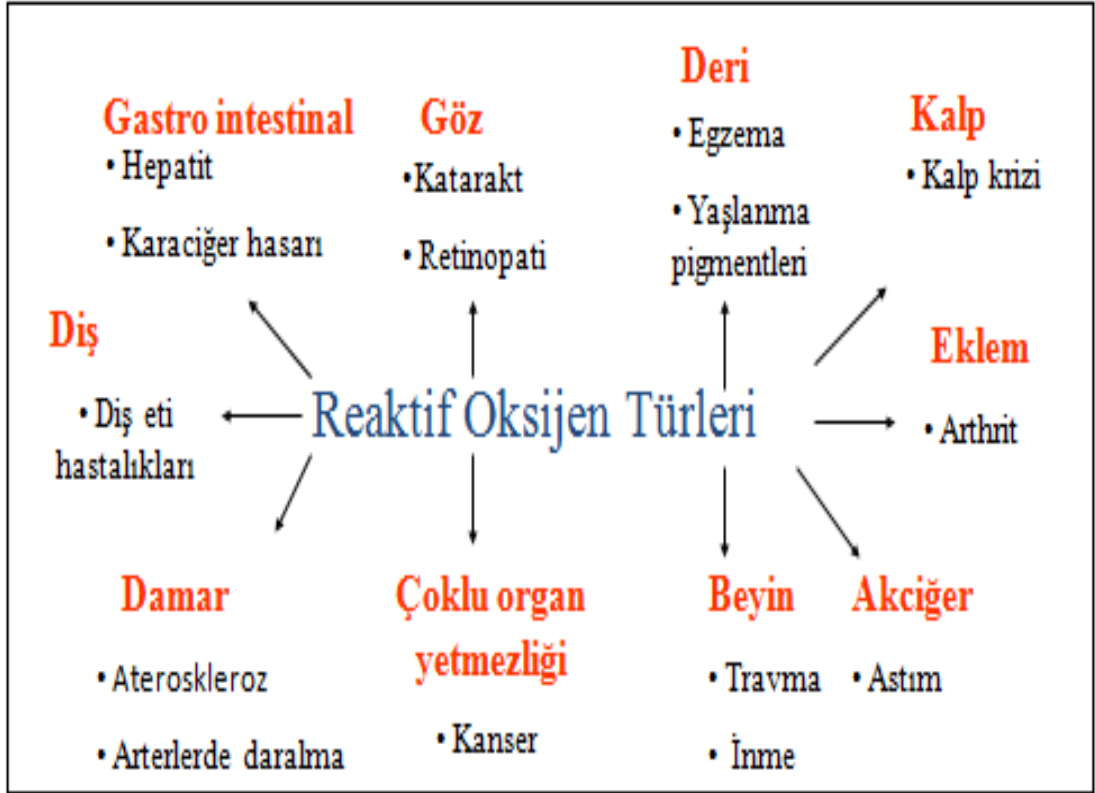
<b>Reaktif Oksijen Türleri (ROS)</b>	
<b>Radikaller</b>	<b>Nonradikaller</b>
Süperoksit O <sub>2</sub> •	Hidrojen peroksit H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Hidroksil OH•	Hipokloröz asit HOCl
Peroksil RO <sub>2</sub> •	Hipobromöz asit HOBr
Alkoksil RO•	Ozon O <sub>3</sub>
Hidroperoksil HO <sub>2</sub> •	Singlet oksijen O <sub>2</sub>
<b>Reaktif Azot Türleri (RNS)</b>	
Nitrik oksit NO•	Nitröz asit HNO <sub>2</sub>
Azot dioksit NO <sub>2</sub> •	Nitrozil katyonu NO <sup>+</sup>
	Nitroksil anyonu NO <sup>-</sup>
	Diazot tetroksit N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
	Diazot trioksit N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
	Peroksi nitrit ONOO <sup>-</sup>
	Peroksi nitröz asit ONOOH
	Nitronyum katyonu NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>
	Alkil peroksinitritler ROONO

ROS ve RNS hücre içerisindeki pek çok yapıya zarar verir fakat ana hedefi DNA'dır. Bu sebeple de yaşlanma ve kanser sürecinde önemli rol oynar (Ames ve Gold, 1991). ROS; tek veya çift DNA kırığına, pürin ve pirimideinlerde modifikasyonlara, deoksiriboz-fosfat iskeletinde hasara, DNA-protein ve DNA-DNA çapraz bağlantılarına neden olabilir. DNA hasarı transkripsiyonun indüklenmesi veya durması, sinyal yollarının indüklenmesi, replikasyon hataları ve genomik stabilite ile sonuçlanır. Bütün bunlar da karsinogenez ile ilintilidir (Halliwell, 1994). Hidroksil radikali DNA'da bulunan dört baz ile de reaksiyona girebilir (Dizdaroglu ve diğ., 1991). Ancak guanin en kolay oksitlenebilen bazdır (Ravanat ve diğ., 2000).

Reaktif oksidanların, yaşam süresince organizmada birikim gösteren ve serbest radikallerin neden olduğu DNA, lipid ve protein hasarları, yaşlanmadan kaynaklanan nörodejeneratif bozukluklar, artrit, aterosklerozis ve kanser gibi hastalıkların gelişiminde önemli rol oynadığı öne sürülmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Reaktif oksijen türlerinin çeşitli doku, organlarda neden olduğu hastalıklar ve hasarlar şekil 1.7'de görülmektedir (Miller ve diğ., 1993).





Şekil 1.7: Reaktif oksijen türlerinin çeşitli doku, organlarda neden oldukları hastalıklar ve hasarlar (Miller ve diğ. 1993)

### 1.5 Antioksidanlar ve Fenolik Bileşikler

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir. Vücutta kalkan görevi yapan bu kimyasal bileşiklerin özelliği, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize etmeleri ve bu sırada serbest radikal haline gelmemeleridir (Moerman, 1996).

Serbest radikaller nötralize edilmediğinde vücutta, hücre membran proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek, membran lipit ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonlarını engellemek, çekirdek membranını yararak çekirdekdeki genetik materyale etki edip, DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek ve bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sisteminin etkisini azaltmak gibi hasarlara neden olabilirler (Sertsever ve Gök, 2003).

Bu bağlamda serbest oksijen radikallerinin öncelikle kanser, miyokard enfarktüsü ve enflamatuvar hastalıklar gibi pek çok hastalığa sebep olmasını engellemek amacıyla doğal antioksidanların diyet ile kullanımı, proflaktik etki göstererek bu hastalıkların oluşum riskini azalttığı öngörülmüştür. Vücutta oluşan serbest radikallerin

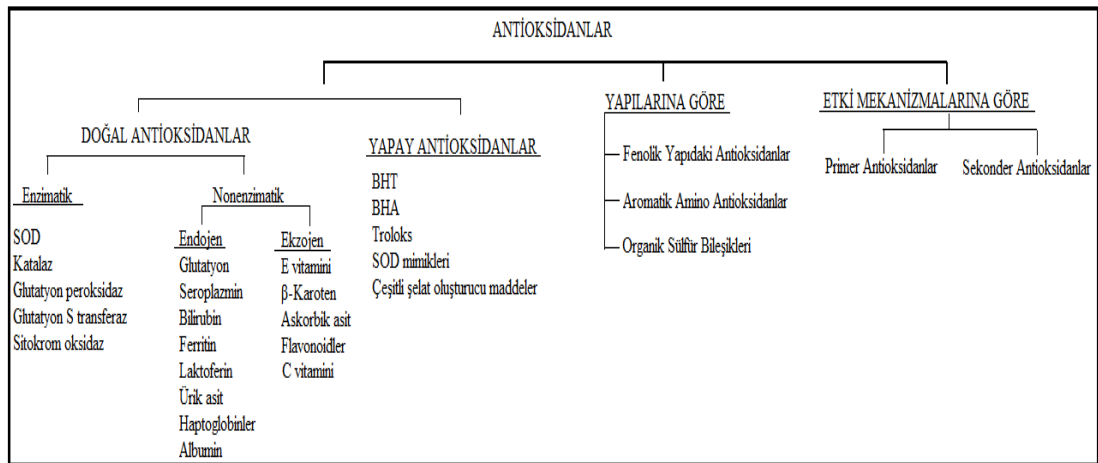
inaktivasyonu antioksidan adı verilen savunma mekanizmalarıyla gerçekleştirilmektedir (Mathew ve Abraham, 2006a).

Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda dahi buldukları ortamdaki oksidasyonla bozunmaya uğrayacak substratları oksidasyona karşı koruyan veya oksidasyonu tam olarak ortadan kaldıran bileşiklerdir (Becker ve diğ., 2004).

Doğal antioksidanların en önemli kaynağı bitkiler olup özellikle diyetlerde bitkisel kaynaklı besinlerin kullanılması özendirilmekte ve giderek artmaktadır. Moleküler düzeyde çok büyük çeşitlilik gösteren antioksidan maddelerin bitkilerdeki miktarları ve dağılımları araştırma konusudur. Bu araştırmalar yüksek antioksidan aktiviteye sahip molekülleri içeren bitkisel kaynaklı besinlerin belirlenmesi açısından önemlidir (Serteser ve Gök, 2003).

Gıdalarda doğal olarak buldukları gibi, gıda sanayisinde ürünlerin kalitesini korumak ve besinsel değerlerini muhafaza etmek amacıyla sonradan eklenirler. Besinlerin acılaşmasını, çürümesini geciktirici özelliğe sahip bir grup kimyasal maddelerdir. Özellikle yağlarda, havadaki oksijenin sebep olduğu otooksidasyonu yavaşlatmak için kullanılmaktadırlar. Böylelikle yağların, tadını, kokusunu, rengini yani kalitesini ve raf ömrünü uzatırlar. Ortamda pek az miktarda bulunsalar bile etkin olan maddelerdir (Keskin ve Erkmen, 1987).

Antioksidanlar serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirerek canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin etkilenmemesini veya kendini yenilemesini sağlayan maddelerdir. Antioksidanları şekil 1.8 deki gibi sınıflandırmamız mümkündür (Shahidi ve Wanasundara, 1992).



Şekil 1.8: Antioksidanların sınıflandırılması (Shahidi ve Wanasundara, 1992)



Bitki metabolizmasında, sekonder metabolit olarak bulunan ve bitkilerin kendilerini bazı zararlılara karşı korumada rolleri olduğu sanılan çok sayıda farklı nitelik ve miktarlarda çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010).

Kimyasal olarak fenolik bileşikler, bir aromatik halka ve buna bağlı olarak fonksiyonel türevleri de dahil, bir ya da birden fazla hidroksi grup içeren maddeler olarak tanımlanabilmektedir. (Hertog ve diğ., 1993)

Yapılarına göre antioksidanlar incelendiğinde; fenolik, aromatik ve organik sülfür bileşikler olarak 3'e ayrılır. Antioksidanların en önemlileri fenol grubu içerenler ve bunlardan dihidroksi türevleridir. Yalnız orto ve para polifenoller antioksidan özelliğe sahiptir. Fenolün kendisi antioksidan değilken yer değişimli benzenler, birden fazla benzen halkasını içeren aromatik bileşikler veya heterosiklik bileşikler, yapıları orto ve para hidroksi bileşiklerine benziyorsa antioksidan olabilirler (Rice ve diğ., 1997).

Bu bileşikler bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanmakta ve günümüzde 8000'den fazla fenol bileşiği yapısı bilinmektedir. Bitkisel polifenollerin sağlık üzerine etkisi ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve bu bileşiklerin güçlü bir antioksidan oldukları, vücutta oluşan serbest radikalleri nötralize ederek kalp-damar hastalıklarını engelledikleri belirlenmiş ve hatta yaşlanmayı geciktirdiği ileri sürülmüştür (Kafkas ve diğ., 2006).

Polifenoller, yüksek kimyasal aktiviteye sahip olmaları, DNA, enzimler ve proteinlere bağlanabilme özellikleri nedeniyle serbest radikallere karşı savunma gösterdikleri de bilinmektedir (Mathew ve Abraham, 2006a).

Bitki fenoliklerinin birçok araştırmacı tarafından hastalıklara direnç sağladığı belirtilmektedir (Viswanath ve diğ., 2009). Fenolik maddeler; biyolojik olarak antibakteriyel, antikanserojenik, antialerjik aktivite gösteren bileşiklerdir (Atoui ve diğ., 2005). Fenolik bileşikler meyve, yaprak, kök ve kabuk kısımları gibi bitkilerin tüm kısımlarında yer alabilirler (Roginsky ve Lissi, 2005).

Polifenoller; fenolik asitler ve flavonoidler şeklinde ikiye ayrılmaktadır (Cemeli ve diğ., 2009). Polifenoller güçlü antioksidanlardır ve aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır (Rice ve diğ., 1996). Bitkilerde çok miktarda bulunan fenolik asitler, hidroksi sinamik ve hidroksi benzoik asitleri içeren iki gruptan oluşur (Naczka ve Shahidi, 2004). Fenolik asitlerin çoğunu hidroksi sinamik asitler oluşturur (Tee,

1992). L- fenil alanin veya L- tirosinden p-kumarik, ferulik, kafeik, sinapik ve klorojenik asit meydana gelir. Yapılarındaki -CH=CH-COOH gruplarının varlığı, hidrojen verebilme yeteneklerini arttırmakla birlikte benzoik asitlere göre radikalleri daha kararlı hale getirebilirler. Hidroksi benzoik asitler yapılarındaki hidroksi ve metoksi gruplarının yerleşimi ve sayılarına göre çeşitlenirler (Shahidi, 1996). Bunlardan birkaçı; gallik asit, vanilik asit, şiringik asit, resorsilik, protokateşuik asit'dir. Mono hidroksi benzoatlar etkili hidroksil radikal süpürücülerdir çünkü hidroksillenmeye ve hidroksil radikallere yüksek reaktivite göstermeye eğilimlidirler (Pellegrini ve diğ., 2009). Fenolik halka ile karboksilat grubu arasına metilen grubu girmesiyle oluşan fenil asetik asitlerde orto ve meta hidroksi türevleri 1 mM'a yakın antioksidan aktivite gösterirler. Dihidroksi benzoik asit türevlerinin antioksidan aktiviteleri hidroksil gruplarının pozisyonlarına bağlı olup, o-p pozisyonlarında aktivite yüksek olurken, m-p pozisyonlarına sahip olanlarda aktivite düşer (Rice ve diğ., 1996).

Bir diğer polifenol olan flavonoidler; önemli antioksidan ve kelatlama özelliğine sahip, düşük molekül ağırlıklı ve en geniş bitki fenolikleri sınıfıdır. 6 karbonlu A, B ve C halkalarından oluşan heterosiklik bileşikler, hetero halkanın yükseltgenme derecesine göre farklılaşırlar (Stahl ve diğ., 2002). Doğada, bir çoğu yaprak, çiçek ve kökte bulunan 4000'den fazla flavonoid çeşidi mevcuttur. Meyve, sebze, şarap, kakao ve çayda bol miktarda bulunurlar. Antioksidan aktivitelerini belirleyen ve aromatik halkalara bağlı olan birçok fenolik hidroksil grupları içerirler. Metal kelatlama, lipid peroksidasyonunu engelleme, reaktif oksijen türlerini içeren diğer prosesleri azaltma özellikleri vardır (Tunalier ve diğ., 2002). Yiyeceklerde genellikle 3-orto glikozidleri ve polimerleri şeklinde bulunurlar. Glikozit birimi genellikle glukozdur ancak glukoramnoz, galaktoz, arabinoz ve ramnoz da bulunabilmektedir. Bu bileşikler yapılarına bağlanan grupların çeşidi, pozisyonu ve sayısına göre farklı radikal yutma ve kelatlama aktivitesine sahiptirler (Heim ve diğ., 2002).

Flavonoidler, fenolik ve furan halkalarından oluşan benzo- $\gamma$ -furan türevleridir (Heim ve diğ., 2002). Bu bileşikler; A, B ve C halkalarından oluşan halka yapısında çeşitli hidroksil, metoksi ve glikozid yan grupları içerirler. Halkalar arasındaki yapısal değişiklikler flavonoidleri çeşitli sınıflara ayırmaktadır (Rice ve diğ., 1997). Bu sınıflardan biri antoksaninler diğeri antosiyaninlerdir. Antoksaninler kendi arasında

Flavanoller, flavonlar, flavonoller, flavanonlar, izoflavonlar olmak üzere 5 farklı sınıfa ayrılmaktadır (Shahidi, 1996).

Flavonoidler sınıfının temel maddesi 2-fenil kromon olan flavon'dur. En önemli flavonlar; rutin, apigenin, krisin ve luteolin'dir. Rutin kuersetinin glikozidi olup kırmızı şarap ve domatestede mevcuttur. Apigenin; maydonoz ve kereviz sapında, krisin; meyve kabuğunda, luteolin ise acı biberde bulunmaktadır. Flavonoller (3-hidroksiflavon), flavonun 3. karbon atomuna bağlı bir hidroksil grubu taşırlar. Flavonoidlerin bitkilerde en yaygın olarak bulunan sınıfıdır. En önemli flavonoller kuersetin, mirisetin, fisetin ve kaempferol'dur. Kuersetin flavonoidlerin en önemli bileşiği ve bitkilerin temel fenolik bileşenidir. Soğanda, elmada ve lahanada bol miktarda bulunur (Viswanath ve diğ., 2009).

Aromatik amino antioksidanlar da genellikle fenollü antioksidanlara benzerler, yalnız hidroksi grupları kısmen veya tamamen amino grupları ile yer değiştirmişlerdir. Bunlardan biri para izo butil amino fenol'dur (Kusano ve Ferrari, 2008).

Kuvvetli antioksidanlardan bir grubu da kükürtlü organik bileşikler oluşturur.  $\beta$ ,  $\beta'$ -ditiyo propiyonik asid ve esterleri, özellikle dilauril ve distearil ditiyopropiyonatlar çok etkili antioksidanlardır. Özellikle yağlarda % 0,01 oranında kullanılırlar (Shahidi ve Wanasundara, 1992).

Doğal antioksidanlardan organizmanın en çok gereksinim duyduğu C-vitamini, diğer adıyla askorbik asit, meyve ve sebzelerde bulunup, suda çözünebilen ve serbest radikalleri doğrudan söndürebilen güçlü bir antioksidan kaynağıdır. Ayrıca çeşitli besin maddelerinde acılaşıma ve ekşimeyi, meyvelerde renk değişimini önler. Doğal kaynaklardan elde edilebildiği gibi kimyasal olarak da sentezlenebilirler. C-vitamini lipid peroksidasyonunu başlatmadan peroksil radikallerini su fazında inhibe ederek, biyolojik membranları peroksidatif hasardan korur (Hudson, 1990).

Enzimatik olmayan doğal antioksidanlardan olan E vitamini (tokoferoller); doğada 7 farklı izomer yapısında bulunur ve başlıca bitkisel ürünlerde mevcuttur. Hayvan organizması pek az miktarda içerir (Shahidi, 1996). Özellikle bitkisel yağlarda, yeşil yapraklı sebzelerde, baklagillerde, ceviz, fındık, süt, yumurtada bulunurlar. Tokoferollerin kimyasal yapıları birbirine benzese de, bunların biyolojik etkileri oldukça farklıdır. 3 metil grubu taşıyan  $\alpha$ -tokoferol vitamin olarak en etkili olanıdır ve sadece 'E-vitamini' dendiğinde  $\alpha$ -tokoferol anlaşılır.  $\beta$  ve  $\gamma$  tokoferoller,  $\alpha$

izomerinin yarısı kadar,  $\delta$  izomeri ise ancak yüzde biri kadar etkilidir. Tokoferoller, monofenolik yapıdaki doğal antioksidanlardır. Antioksidan etkileri vitamin etkilerinin tersine olarak  $\alpha$ 'dan  $\gamma$ 'ya doğru artar (Keskin ve Erkmen, 1987).

Vücuda alınan tokoferol incebağırsakta emilir ve lenf yolu ile dolaşıma katılır. E vitamininin antioksidan özelliği, serbest radikallerin başlattığı lipid peroksidasyonunu inhibe etmesinden ileri gelir (Chan ve Decker, 1994).

Doğal antioksidanların önemli bir elemanı da bitkilerde sentezlenip hayvanlar için önemli olan karotenoidlerdir. Doymamış izoprenoidlerdendir. Çifte bağların konjuge oluşundan kuvvetli renklidirler. Azot içermeyen, suda çözünmeyip yağ ve organik çözümlerde çözünen açık sarıdan kırmızıya kadar renkli pigmentlerdir. Birçok sebze, meyve ve çiçeklerin karakteristik renkleri bunlardan ileri gelir. Havuç, mısır, domates, tereyağı, süt, yumurta sarısı ve birçok meyvede bolca bulunur. En yaygın kullanılan A-provitamini olarak da bilinen  $\beta$ -karoten'dir. A vitamininin kendiliğinden antioksidan özelliği bulunmazken,  $\beta$ -karoten antioksidan aktiviteye sahiptir (Keskin ve Erkmen, 1987).

Karotenoidler sadece fitoplankton, algler, bitkiler ve sınırlı sayıdaki mantar ve bakteriler tarafından üretilen, 700'ün üzerinde yağda çözünebilir tabiatta pigmente sahip olan bir ailedir. Karotenoidler genel olarak havuç, domates, greyfurt, portakal, ıspanak gibi sebze ve meyvelerin kırmızı, turuncu, sarı ve yeşil renklerinden sorumludur. Alglerin fotosentetik pigmentleri arasında yer alan karotenoidlerin çoğu fotosentez işlemi için aktif olarak rol oynamaz. Işıktan kapılan enerjinin klorofil moleküllerine aktarılmasını sağlar. Bu nedenle karotenoidler alglerde aksesuar pigmentler arasında kabul edilir ve pek çok alg grubunda yaygın olarak bulunur (Hudson, 1990).

Karotenoidler insanda ince barsakta %5-50 oranında pasif difüzyon ile emilir. Bu emilim oranı diyetdeki yağ miktarıyla ilişkilidir (Frel, 1994). Karotenoidler hücreyi oksidatif strese; triplet molekülleri ve singlet oksijeni süpürerek, serbest radikalleri inhibe ederek korur (Tee, 1992).

Başlıca yapay antioksidanlar; BHA, BHT, TBHQ, NDGA ve Gallatlardır. Butillenmiş hidroksi anizol (BHA), bitkisel ve hayvansal yağlarda kolay çözünebilir etkili bir sentetik antioksidandır. Piyasada bulunan BHA başlıca iki izomer olan 3-tertiyer butil-4-hidroksi anizol ve 2-tertiyer butil 4-hidroksi anizol karışımıdır.

Katıldıkları hiçbir maddeye koku vermedikleri gibi zehirli de değildirler. BHA, gıdalarda % 0,02 oranında kullanılır. Özellikle hayvansal yağlar, bu yağlarla yapılan bisküvi, pasta ve patates cipsinde etkili antioksidan olarak kullanılırlar (Keskin ve Erkmen, 1987).

Butillenmiş hidroksi toluen (BHT) hayvansal yağlarda ve etlerde çok, bitkisel yağlarda az etkilidir. BHA ile benzer özelliklere sahiptir. Gıdalara ilave edilme işlemleri sırasında uygulanan çok yüksek sıcaklıklara dayanıklı değildir. % 0,01 oranında kullanılır (Ito ve diğ., 1985).

Diğer sentetik antioksidanların aksine bitkisel yağlar için en etkili sentetik antioksidan tersiyer butil hidrokinon (TBHQ) dur. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır. Avrupa'da kullanımı yasaklanmıştır. Gıdalara % 0,02 oranında katılır (Shahidi ve Wanasundara, 1992).

Nordihidroguayaretik asid (NDGA) toksik etkisi yüksek, yağdaki çözünürlüğü az olan bir sentetik antioksidandır. Özellikle domuz yağı için etkili bir antioksidandır. Gıdalara % 0,01 oranında katılır, pişirilmiş besinlerde bile etkisini korur (Madhavi ve diğ., 1996).

Ve son olarak galatlar; özellikle kullanım alanına sahip olanlar; propil, oktil, dodesil gallatlardır. Yağlar için etkili antioksidanlar olup gallik asidden esterleşme suretiyle elde edilirler. Et yağları için yalnız propil gallat kullanılmaktadır. Gallik asit esterleri % 0,01 oranında çok etkilidirler. Yalnız demirle yağa hafif bir menekşe renk verir (Keskin ve Erkmen, 1987).

Günümüzde antioksidan maddelerin gıda ve ilaç sanayisinde kullanımı oldukça yaygın olup hemen hemen tükettiğimiz ürünlerin çoğuna sentetik antioksidan maddeler katılmaktadır. Bunlar gıdaları bozulmaya karşı korumakta ve daha uzun süreli saklanmasını sağlamaktadır ancak bu sentetik antioksidanların toksik etkilerinden şüphelenilmektedir. Bu nedenle; son yıllarda yeni, daha güvenli ve ucuz antioksidan maddelerin bulunması için doğal ürünler üzerinde yaygın çalışmalar yapılmaktadır (Vichi ve diğ., 2001).

Etki mekanizmalarına göre antioksidanlar; primer ve sekonder antioksidanlar olarak 2'ye ayrılır. Birincil ya da zincir parçalayan antioksidanlar; elektron vererek serbest radikal zincir reaksiyonunu kıran ve çoğunlukla fenolik yapıdaki bileşiklerdir. Serbest radikallerle reaksiyona girerek, daha kararlı ürünler oluşturup, hidroperoksit

oluşumunu engellerler. Sentetik veya doğal yapıda olabilirler. Tokoferoller, flavonoidler, alkali gallerlar, BHA, BHT ve TBHQ en önemlileridir (Halliwell, 1990).

Sekonder antioksidanlar ise; oksidasyon hızını azaltabilen bileşiklerdir. Etki mekanizmaları; metal iyonlarını yakalamak, oksijen molekülünü tutmak, hidroperoksitleri radikal olmayan bileşiklere parçalamak, ultraviyole ışınlarını absorblamak veya oksijen atomunu etkisiz hale getirmek şeklinde olabilir. Bu antioksidanlar 'antioksidan sinerjistler'dir. Tek başlarına buldukları ortamlarda antioksidan etkileri çok düşüktür veya hiç göstermezler. Ancak ortamda iki antioksidan madde bulunursa yalnız olarak gösterdikleri etkiden daha çok etkili olurlar. Örneğin askorbik asit, ortamda fenolik maddelerin bulunması ile sinerjistik etki gösterir (Hudson, 1990). Bu şekilde antioksidan etkisini arttıran maddelere sinerjist denir. Askorbik asid, limon asidi, birçok aminoasid, polifosfatlar ve tartarik asid gibi maddeler fenollü antioksidanların etkilerini arttırlar (Shahidi ve Nacz, 1995).

Antioksidanlar etkilerini; reaktif oksijen türlerinin enzimatik reaksiyonları aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesiyle, reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılaması ile engellenmesi, metal iyonlarının bağlanması ve böylece serbest radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi, peroksitlerin ayrışmasını sağlayarak başlangıç radikallerinin yeniden dönüşmesinin engellenmesi, aktif radikaller tarafından süregelen hidrojen uzaklaştırmayı engellemek için zincir kırıcı ve serbest radikallerin bağladığı organik moleküllerin hasar sonrası tamiri ve temizlenmesi şeklinde gösterirler (Sertsever ve Gök, 2003).

## **1.6 Antioksidan Aktivite Belirleme Yöntemleri**

Günümüzde antioksidan aktivitesi ölçümleri için birçok farklı yöntem mevcuttur. Bu yöntemler genellikle serbest radikalleri içermektedir. Reaktan olarak kullanılan serbest radikalın özelliğine bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilebilmektedir (Prior ve diğ., 2005).

Gıda bileşimlerinin karmaşık yapısından dolayı her bir antioksidan bileşeni ayırmak ve özel olarak bu bileşenle çalışmak hem yeterince etkili değildir hem de oldukça

masraflı bir yöntemdir. Tüm bu nedenlerden ötürü, hızlı ve uygun bir antioksidan tayin yöntemi bulma çalışmaları oldukça önem kazanmıştır (Huang ve diğ., 2005).

Antioksidan aktivitesi analizleri için literatürde mevcut çalışmalara bakıldığında kullanılan radikal kaynağına, reaksiyon mekanizmasına vb özelliklere göre çeşitli gruplandırmalar görülmektedir (Roginsky ve Lissi, 2005).

Başlıca antioksidan aktivitesi analizleri, kimyasal reaksiyon mekanizmasına göre hidrojen atom transferine dayanan metot (HAT) ve tek elektron transferine dayanan metot (ET) olarak iki kategoriye ayrılabilir.

HAT esaslı analiz yöntemlerinin çoğunda yarışmalı reaksiyon kinetiği izlenir ve kantasyon kinetik eğrilerden türetilir. HAT esaslı yöntemler genellikle bir sentetik serbest radikal oluşturucu, bir oksitlenebilen prob ve bir antioksidandan oluşur. ET esaslı yöntemler reaksiyon sonunun indikatörü olarak bir oksidan ile redoks reaksiyonunu içerir (Abe ve Berk, 1998).

HAT reaksiyonuna dayanan analiz yöntemlerinin çoğu azo bileşiklerinin bozunması sonucu oluşan peroksil radikallerinin antioksidan ve substrat tarafından yarışmalı bir şekilde giderilmesi prensibine dayanır.

HAT analiz yöntemleri;

- İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,
- Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC),
- Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP),
- Crocin bleaching deneyleri olarak sıralanabilir.

ET esaslı analiz yöntemleri, antioksidan maddenin indirgenmesinde renk değiştiren bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölçümüne dayanır. Renk değişiminin derecesi örnekteki antioksidan derişimi ile bağlantılandırılır. Potansiyel antioksidanların elektron transfer etmesi ile metal, karbonil ve radikal içeren bileşiklerin indirgenmesine dayanan metottur (Prior ve diğ., 2005).

ET esaslı analiz yöntemleri;

- Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi,
- Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü,
- Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP)ölçümü,

- Cu (II) kompleksini oksidan olarak kullanılan “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi,
- DPPH kullanarak “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi,
- CUPRAC (Bakır(II) indirgeyici antioksidan kapasite) yöntemi olarak sıralanabilir.

Bu yöntemlerden FCR’ın antioksidanın indirgeme kapasitesinin belirlenmesinde ve ORAC’ın ise antioksidan radikal süpürücü kapasitesinin belirlenmesinde kullanılması önerilmektedir (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2005).

### **1.7 Tıbbi Bitkilerin Antibakteriyel Aktivitesi**

Bitkiler uzun yıllar gelişmekte olan ülkelerde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Bu ülkelerdeki gerek ekonomik şartların zorluğu, gerekse tıbbi tedavilerin yetersizliği, geleneksel tıbbın öne çıkmasına neden olmuştur (Alkofahi ve diğ., 1990).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’nün bir araştırmasına göre, gelişmekte olan ülkelere yaşayan insanların % 80’i tedavi amacıyla yalnızca geleneksel ilaçları kullanmaktadır. Günümüzde bitkiler ve bitkisel ilaç hammaddeleri, reçete ile satılan ilaçların % 25’ini oluşturmaktadır (Farnsworth ve diğ., 1985).

Günümüzde enfeksiyonlara karşı antibiyotikler kullanılmaktadır. Bunların esas etkileri patojen mikroorganizmaların faaliyetlerinin engellenmesi üzerine olsa da, uygulamadan yararlı mikroorganizmaların da etkilenebildiği gibi, antibiyotiklerin sıkça kullanımı patojen mikroorganizmaların direnç kazanmasına ve antibiyotiklerin etkilerinin giderek azalmasına neden olmaktadır (Alsheik ve Trappe, 1983).

Son yıllarda bütün dünyada, antibiyotiklerin gelişi güzel kullanımı nedeniyle, insan patojeni bakterilerin ilaçlara karşı direnç kazandığı tespit edilmiştir. Yine ilaçlara dirençli patojen fungus ve bakteriler nedeniyle özellikle immun sistemi zayıflamıştır ve AIDS, kanser gibi enfeksiyon hastalıklarının tedavisinin zorlaştığı görülmüştür (Facey ve diğ., 1999; Ahmad ve Beg, 2001).

Bu durum bilim adamlarını değişik kaynaklardan yeni antimikrobiyal bileşiklerin araştırılması için teşvik etmiştir. Bitkilerde yeni antimikrobiyal kemoterapotik maddelerin elde edilebileceği, zengin bir kaynak olduğu için araştırmalar özellikle tıbbi bitkiler üzerinde yoğunlaşmıştır (Karaman ve diğ., 2003).



Bütün bu nedenlerin yanında hastalıkların tedavisi için kullanılan sentetik ilaçların yan etkilerinin fazla oluşu, bitkisel droglardan elde edilen bazı ilaç ilksel maddelerinin sentetik olanlardan daha ucuza ve daha kolaylıkla elde edilebilir olması ve drogların birkaç etkiye birden sahip olması nedeniyle son yıllarda Dünya ülkelerinde tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen aktif maddeler üzerindeki çalışmalar artmıştır (Baytop, 1999; Keleş ve diğ., 2001).

### **1.8 Tezin Amacı**

Bu çalışmanın amacı; farklı lokalitelerden toplanmış *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata* türünün antioksidan aktivitesinin, fenolik içeriğinin ve antimikrobiyal aktivitesini analiz etmektir. Yapılan literatür taramaları göstermiştir ki, *Gypsophila* cinsi ekonomik önemi ve endemizm oranının yüksek olmasından dolayı dikkat çeken ve oldukça geniş alanlarda kullanılan önemli flora elemanlarımızdandır. En önemli üstünlükleri; ucuz olmaları, kolaylıkla elde edilebilmeleri ve ham olarak kullanılabilirlerdir. Şifalı bitkilerin kök, yaprak, dal, gövde, kabuk, çiçek ve meyve gibi kısımları antioksidan aktivite ve fenolik bileşikler bakımından zengindirler. Çalışma için belirlenen *Gypsophila perfoliata* L var. *perfoliata* türünün antioksidan aktivite, fenolik bileşik ve antibakteriyel aktivitesi ile ilgili çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

### **1.9 Literatür Özeti**

Baytop 1983'te, çöven kökünün Anadolu'da muhtelif *Gypsophila* L.türlerinden elde edildiği için, ticarete kullanılan köklerdeki saponin miktarının % 5-20 arasında değişim gösterdiğini, drog kalitesi hakkında bir fikir elde etmek için köklerde köpürme indisinin 12.000 ile 14.000 arasında olması gerektiğini bildirmiştir. Köklerdeki saponini elde etmek için petrol eteri ile yağ ve reçinelerinden kurtarılmış olan köklerin kaynar metanol ile tüketilip, ayrılan içeriğin yoğunlaştırılıp soğutulması gerektiğini ve daha sonra çöken saponinin süzülerek, kurutulması gerektiğini vurgulamıştır (Baytop, 1983).

Sezik ve arkadaşlarının 1986'da yapmış oldukları çalışmada; Türk Çöveni olarak kullanılan 4 ayrı *Gypsophila* türü bulunduğunu, bunlardan *G. bicolor* (Van Çöveni)'da % 20-25, *G. arrostii* var. *nebulosa* (Konya, Beyşehir, Isparta Çöveni)'da % 19-22, *G. eriocalyx* (Çorum-Yozgat Çöveni)'de % 10-14 ve *G. perfoliata* var.

*anatolica* (Nigde Çöveni)'da % 15-19 arasında saponin bulunduğunu bildirmişlerdir (Sezik ve diğ., 1986).

Çevrimli 1990'da, piyasada kullanılan alkil ve aril sülfanat tipi deterjanların çevre kirliliğine ve insan sağlığına olan olumsuz etkileri nedeniyle, çövende (*Gypsophila arrostii*) bulunan saponinin, deterjan yüzey aktif maddesi olarak kullanılmasının daha yararlı olacağını, bitkinin içerdiği saponinin çok rahat bir şekilde yüzey aktif maddesi olarak hem yangın söndürücülerde hem de sabun sanayisinde kullanılabilceği, bu sayede bitkinin üretiminin artması gerektiği, bitki köklerinde % 18 oranında saponin saptadığını bildirmiştir (Çevrimli, 1990).

Rojas ve arkadaşları 1992'de, Meksika'da geleneksel olarak kullanılan bitki türlerinin metanol ekstralarının büyük bir kısmının *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* *Pseudomona aeruginosa* ve *Candida albicans* mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini tespit etmişlerdir (Rojas ve diğ., 1992).

Henry ve arkadaşları 1991'de, *G. paniculata*'da saponinlerin sadece köklerde sentezlendiğini, bitkide biosentetik steroller gibi davrandıklarını fakat sterollerden farklı olarak sadece köklerde sentezlenip bitkinin diğer kısımlarına taşındığını, köklerin ikincil kalburlu borularında depolandığını ve kuru materyalde % 4 civarında saponin bulunduğunu saptamışlardır. Çalışmalarında saponinin; prosaponin, gypsogenin ve 3, *O*-glucuronide'den oluştuğunu bildirmişlerdir (Henry ve diğ., 1991).

Hani ve arkadaşlarının 1996'da yapmış oldukları çalışmada; Mısır'ın doğusundan topladıkları *G. capillaris* türünde, bitkinin bütün aksamını etanolla ekstrakte etmiş ve % 8.36 oranında saponin bulunduğunu bildirmişlerdir (Hani ve diğ., 1996).

Rabe ve Staden 1997'de, Güney Afrika'da halk arasında, geleneksel tıpta kullanılan 21 bitki türünün metanol ve su ekstralarının antimikrobiyal aktivitelerini incelemiş, bitki ekstralarının büyük çoğunluğunun Gram (+) bakterilere karşı daha etkili olduğu, Gram (-) bakterilerde ise *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı ekstralardan hiçbirinin aktivite göstermediği, yalnızca bitkilerin metanol ekstralarının *Escherichia coli*'nin büyümesini inhibe ettiğini kaydetmişlerdir (Rabe ve Staden, 1997).

Valsaraj ve arkadaşları 1997'de, Hindistan'da geleneksel olarak kullanılan 78 bitki türünün etanol ekstralarının antimikrobiyal aktivitelerini agar dilüsyon metodunu kullanarak incelemişler ve ekstraların *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*,

*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini belirlemişlerdir (Valsaraj ve diğ., 1997).

Ali Shtayeh ve arkadaşları 1998’de, Filistin’de yetişen 20 bitkinin etanol ve su ekstraktlarının 5 bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*) ve 1 fungus (*Candida albicans*) üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, bitkilerin test mikroorganizmalara karşı bitkilerin %90’ının antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini tespit etmişlerdir (Ali Shtayeh ve diğ., 1998).

Gaygısız ve Akınerdem 1998’de, çöven türlerinin köklerinde saponin oranının % 15 ile % 25 arasında değişim gösterdiğini, doğadan topladıkları *G. venusta* Fenzl. türü ile yaptıkları çalışmada, bitki boyunun 55.0-102.0 cm, bin tohum ağırlığının 0.60-0.80 g, kök çapının da 1.5-5.1 cm arasında değişim gösterdiğini, inceledikleri diğer özelliklerde de benzer şekilde, çok farklı varyasyonlar tespit ettiklerini, bunun da bitkilerin farklı yaşlarda olmasından kaynaklanabileceğini tespit etmişlerdir. Çalışmalarında *G. arrosti* Guss var. *nebulosa* türünün daha çok, İç- Batı Anadolu (Afyon, Antalya, Burdur ve Konya), *G. bicolor* (Freynet sint) Grossh. türünün ise Doğu Anadolu (Artvin, Van ve civarı) Bölgesinde doğal olarak yayılış gösterdiğini bildirmişlerdir (Gaygısız ve Akınerdem, 1998).

Rajbhandari ve Schöpke’nin 1999’da yaptıkları çalışmada, 13 Nepal tıbbi bitkisinin antimikrobiyal aktivitesini incelemişler, büyük çoğunluğunun Gram pozitif bakteriler (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus flavus*) üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini, çok az bir kısmının Gram negatif (*Pseudomonas mirabilis*, *Serratia marcescens* ve *Escherichia coli*) bakteriler ve bir maya türü (*Candida maltosa*) üzerinde zayıf bir aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir (Rajbhandari ve Schöpke, 1999).

Tunç 2000’de yapmış olduğu çalışmada; *Gypsophila arrostii* var. *nebulosa*’dan elde ettiği ekstraktın *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteridis* ve *Proteus vulgaris* mikroorganizmaları üzerindeki etkisini araştırmıştır. Ekstraktın 1.106 CFU/ml konsantrasyondaki bakteri süspansiyonlarında herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür. *Salmonella enteridis*’in yüksek konsantrasyondaki ekstrakta karşı duyarlı olabileceğini belirtmiştir (Tunç, 2000).

Mukherjee ve arkadaşları 2001'de, *Hypericum hookerianum* bitkisinin kloroform, aseton ve metanol ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirdikleri bir çalışmada, bütün ekstrelerin Gram pozitif (*Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus coagulans*, *Staphylococcus aureus*) ve Gram negatif bakterilere (*Escherichia coli*, *Pseudomonas cepacia*) karşı antibakteriyal aktivite gösterdiğini bulmuşlardır (Mukherjee ve diğ., 2001).

Karakaya ve arkadaşları 2001'de, Türkiye'de tüketilen katı ve sıvı gıdaların toplam fenolik içeriklerini Folin yöntemi ile, toplam antioksidan kapasitelerini ise ABTS radikalini süpürme kapasitelerini ölçerek belirlemiştir. Buna göre sıvı gıdalar için toplam fenolik içerik 68-4162 mg/l arasında , katı gıdalar için ise 735-3994 mg/kg arasında olduğu bulunmuştur. Katı ve sıvı gıdaların toplam antioksidan kapasitesi ise sırasıyla 0,61-6,78nM ve 0,63-8,62 mM arasında bulunmuştur (Karakaya ve diğ., 2001).

Erdoğan 2002'de yaptığı çalışmada, *Artemisia absinthium*, *Fumaria officinalis*, *Urtica dioica*, *Rosmarinus officinalis* bitkilerinin etil asetat, metanol, kloroform ve aseton ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitelerini incelemiş, *Rosmarinus officinalis* bitkisinin aseton ekstresinin özellikle *Yersinia enterocolitica* bakterisi üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini, *Fumaria officinalis*, *Urtica dioica* bitkilerinin ise test mikroorganizmalarını etkilemediğini tespit etmiştir (Erdoğan, 2002).

Masika ve Afolayan 2002'de, Güney Afrika'daki bazı bitkilerin su, metanol ve aseton ekstrelerinin 10 bakteri (*Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Muelleria kristinae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*) ve 5 fungus (*Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium notatum*, *Schizophyllum commune*) üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini araştırdıkları bir çalışmada, ekstrelerinin büyük çoğunluğunun Gram negatif bakterileri etkilemezken, Gram pozitif bakterilere karşı etkili olduğunu ve bütün ekstraktların 5 fungusa karşı antifungal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir (Masika ve Afolayan, 2002).

Ceyhan 2003'de, farklı bölgelerde yetişen çöven türlerinin farklı oranlarda saponin içerdiğini, bu durumun tahin helvalarında farklı oranlarda saponin bulunmasına neden olduğunu, bitkilerden elde edilen köklerin kaynatılmasıyla, çöven ekstraktının türe göre değişmekle birlikte % 11-20 oranında saponin içerdiğini bildirmiştir (Ceyhan, 2003).

Fons ve arkadaşlarının 2003'te yapmış oldukları çalışmada, bitkilerde ikincil ürün olarak bulunan saponinlerin 100 familyada, 500 cinsten tespit edildiğini, bitkilerin tohum, dal, yaprak, çiçek veya köklerinde bulunduğunu, saponin içeren bitkilerin hayvanlar tarafından yenilmesi durumunda, acı bir tada sahip olan saponinlerin boğazdaki mukoza hücrelerini tahriş ettiğini, saponin içeren bitkinin yetiştiği toprak kök bölgesinde de belli miktarda saponin bulunduğunu ve topraktaki bu saponinin bazı bakteriler üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Toprak tarafından tutulan saponinin, toprak yapısına ve organik madde içeriğine bağlı olduğunu, killi topraklarda saponinin 5 gün içerisinde %50'sinin değişime uğradığını, ancak invitro koşullarda yaptıkları çalışmada bu sürenin 10 güne kadar çıktığını, *Aquaspirillum dispar* ve *A. spp.* toprak bakterilerinin *G. paniculata* kök bölgesinde yoğun olarak bulunduğunu tespit etmişlerdir ve saponinlerin acı tadının ve toksisitesinin otçul hayvanları caydırıcı etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir (Fons ve diğ., 2003).

Babaoğlu ve arkadaşları 2004'te; toksik seviyede bor içeren toprakların bitkisel yolla temizlenmesinde kullanılabilecek bitki türlerini araştırdıkları çalışmalarında, *Gypsophila sphaerocephala* ve *G. perfoliata* gibi bazı *Gypsophila* türlerinin topraktan yüksek konsantrasyonlarda bor elementini bünyelerine aldığını, bu konsantrasyonun bitkinin toprak üstü aksamında, köklerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Babaoğlu ve diğ., 2004).

Tunalier ve arkadaşları 2004'te, bazı *Sideritis* türlerini antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelemişler. Sonuçta yüksek toplam fenol içeriğine sahip üç *Sideritis* türünün serbest radikal süpürücü etki gösterdiğini belirlemişlerdir (Tunalier ve diğ., 2004).

Öztürk ve arkadaşları 2004'te, *Petroselinum crispum*, *Anethum graveolens* ve *Eruca sativa*'yı antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelemişler. Sonuç olarak, *Petroselinum crispum* asit özütünün, *Anethum graveolens* etil asetat, sulu ve asitli özütlerinin standart olarak kullanılan BHT'den düşük, *Anethum graveolens* metanol özütünün BHT'ninkine yakın serbest radikal süpürücü etki gösterdiğini kaydetmişlerdir (Öztürk ve diğ., 2004).

Çete ve arkadaşları 2005'te, *Aloe vera* ve *Nerium oleander*'in bazı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmıştır. Bu çalışmada, *Aloe vera*'nın su fazı ürünlerinde sadece *Micrococcus luteus*, *Aeromonas hydrophila* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite görülmüştür. Buna karşın,

alkol fazı ürünlerinin çalışılan hastalık yapıcı bakteriye (*Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* gibi) karşı antimikrobiyal etki gösterdiği gözlenmiştir. Kloroform fazı ürünlerinin, bu bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitesinin olmadığı görülmüştür. Su, alkol ve kloroform fazlarından elde edilen ürünlerin, kullanılan maya hücrelerine karşı hiçbir antimikrobiyal etki göstermediği gözlenmiştir. *Nerium oleander* alkol fazı ürünleri, sadece *Bacillus cereus* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken, su ve kloroform fazı ürünlerinde çalışılan bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteye rastlanmamıştır (Çete ve diğ., 2005).

Çölkesen ve arkadaşlarının 2006'da yaptığı çalışmada, Türkiye'de şarap yapımında kullanılan beyaz ve kırmızı üzümlerden elde edilen tohum özütlerinin karşılaştırmalı serbest radikal süpürücü kapasitesini araştırmışlar. Özütlerin çoğunun dikkate değer DPPH süpürücü etki gösterdiğini bulmuşlardır (Çölkesen ve diğ.,2006).

Tekeli ve Sezgin 2007'de, *Centaurea carduiiformis*'in antioksidan aktivitesini araştırmışlar. Sonuçta sentetik antioksidan olarak kullanılan BHT ve BHA'nın *C. carduiiformis*'ten daha yüksek değerde olduğunu bulmuşlardır (Tekeli ve Sezgin, 2007).

Shafagha ve Shafaghatlonbar'ın 2011'de yapmış oldukları çalışmaya göre *Gypsophila bicolor* türünün esansiyal yağının bazı gram negatif, pozitif bakterilerin ve mantarların antimikrobiyal etkisi gözlenmiştir. Bakterilere karşı etkili ama mantarlara karşı daha etkili olduğu belirtilmiştir (Shafagha ve Shafaghatlonbar, 2011).

Gülören 2011'de, *G. perfoliata* L. var. *perfoliata*, *G. perfoliata* L. var. *araratica* Kit Tan, *G. pilosa* Hudson ve *G. osmangaziensis* Ataşlar & Ocak bitki özütlerinin antimikrobiyal ve genotoksik etkilerini araştırılmıştır. Çalışmada *Gypsophila* cinsine ait türler iki farklı lokaliteden toplanmıştır. Bitki ekstraktları *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* bakterilerine ve *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium solani* funguslarına karşı antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Bitkilerin petrol eteri, metanol, etil asetat ve sulu özütlerinin antimikrobiyal etkileri agar difüzyon tekniği kullanılarak taranmış, bakterilere karşı minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) mikrodilüsyon tekniği ile belirlenmiştir. Bitki türlerindeki sekonder metabolitlerin incelenmesi amacıyla

serbest radikal süpürücü etkisi DPPH ile yapılmıştır. *G. pilosa* 'nın petrol eteri ve etil asetat ile, *G. perfoliata* L. var. *perfoliata*'nın metanol ztleri *Proteus vulgaris* bakterisine karşı yüksek inhibisyon zonu oluşturmuştur. Aynı bitkilerin 0,625 ve 1,25 mg/ml dozları düşük % anomali değerleri çıkarmışlardır (Glren, 2011).

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1 Bitki Materyalinin Toplanması ve Deney İçin Hazırlanması

Araştırmada Denizli, Manisa, Eskişehir ili çevresinde doğal yayılış gösteren *Gypsophila perfoliata* L. *perfoliata* türü kullanılmıştır. Tablo 2.1' de bitkilerin toplandığı lokaliteler belirtilmiştir. Bitki jipsli toprak üzerinde ve daha çok dik ve eğimli arazide gelişim göstermektedir. Kuvvetli kök sistemi nedeniyle de iyi bir erozyon nleme bitkisi niteliğindedir.

Tablo 2.1: Toplanan örneklerin lokalite bilgileri

İL	Denizli	Manisa	Eskişehir
RAKIM	400 m	158 m	848 m
GPS	35 70 06 21 D 41 88 111 K	35 63 39 52 D 42 47 031 K	36 40 65 80 D 43 81 450 K
TOPLANIş TARIHI	20.8.2011	3.9.2011	18.9.2011

Toplanan bitkilerin kök kısımları gövdeden ayrıldıktan sonra temizlendi, bağ makası yardımıyla kk parçalara ayrıldı ve gölgede kurumaya bırakıldı. Kuruyan kökler değirmende ğtlerek toz haline getirildi ve deneyde kullanılmak üzere ışıktan ve nemden korunarak saklandı (şekil 2.1-2.2).





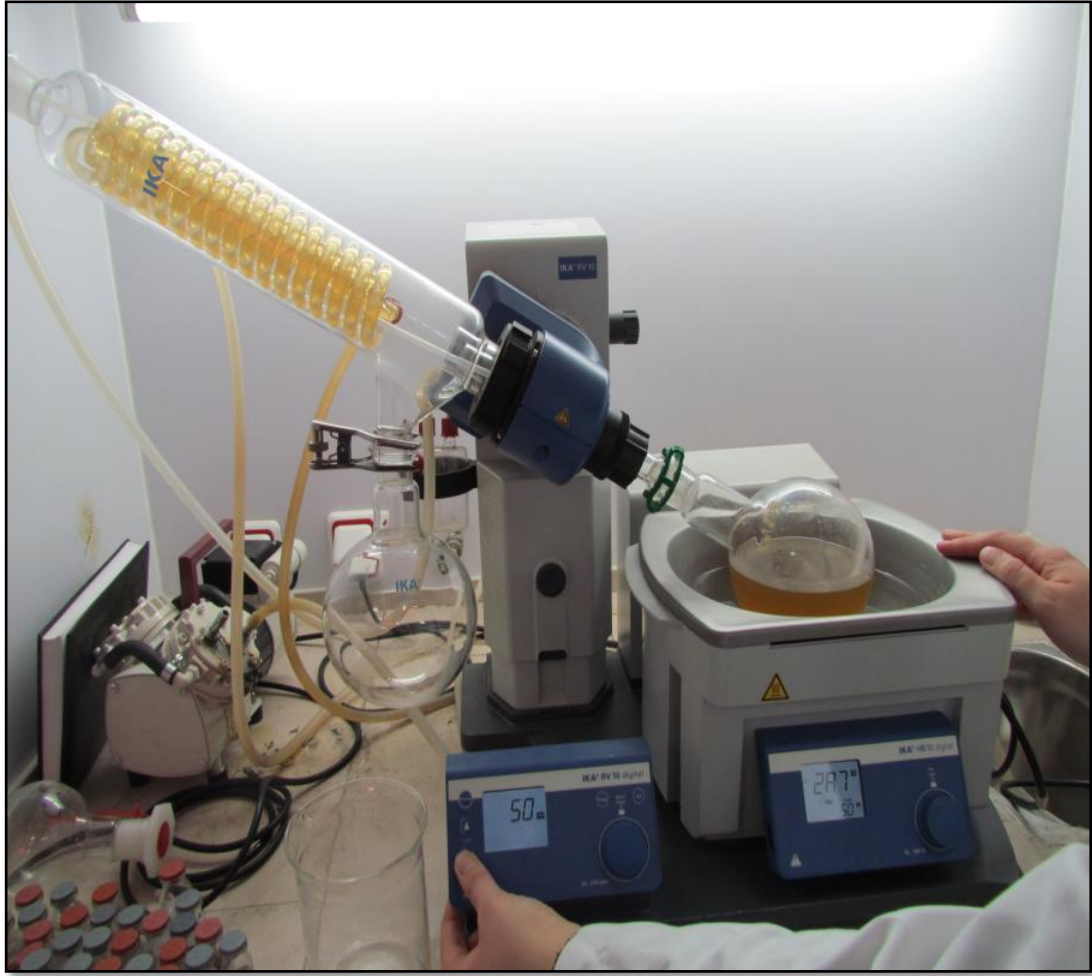
Şekil 2.1: Parçalanmış çöven kökü



Şekil 2.2: Öğütülmüş bitki materyali

## 2.2 Ekstraksiyon Yöntemi ve *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata*'nın Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon için sokslet cihazı kullanılmıştır. Sokslet metodu bir katının sıcak çözücü ile ekstraksiyonunda kullanılır. Ekstraksiyon boyunca balonda kaynayan çözücünden gelen buhar cam tüp içerisinde yükselmeye başlar. Yükselen buhar ekstraksiyon çemberine girer ve su ile soğutulmuş kondensatör tarafından yoğunlaştırılır. Yoğunlaştırılan çözücü ekstraksiyon çemberini doldurur ve çemberdeki kağıt ekstraksiyon yüksüğü içindeki maddenin yağını çözer. Çemberin altına bağlı olan sifon tüp de çözücüyle dolar. Çözücü seviyesi çember içerisinde yükseldikçe, sifon otomatik olarak çözücüü ve ekstrakte edilmiş olan yağı aşağıda bulunan balona geri akıtmaya başlar. Bu ekstraksiyon döngüsü tüm yağ ekstrakte edilene kadar 10-15 dakikada bir kendiliğinden tekrarlanır. Bu bağlamda ekstraksiyon; kurutulup toz haline getirilen bitki materyalinin (1000 g) kartuşlar içinde hazırlanarak sokslet cihazında 8 saat süreyle 60 C°'de kloroform ile ekstrakte edilmesiyle yapıldı. Ekstrakt sarı renkte oluştu. Ekstraktın çözücüsü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve yapışkan kalıntı alındı (Şekil 2.3). Ardından liyofilizatörde ekstrakt tamamen susuzlaştırıldı (Poslu, 2006).



Şekil 2.3: Çözücünün rotary evaporatörde vakum eşliğinde uzaklaştırılması

### 2.3 ABTS ile Antioksidan Tayini

ABTS yöntemi; ilk olarak Miller ve Rice-Evans tarafından 1993'te rapor edilmiştir. Bu metotta ABTS [2,2'-azonobis(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonat)] peroksil veya diğer oksidantlara okside olur ve ABTS'+ radikal katyonu oluşur. Oluşan ABTS radikal katyonu oldukça şiddetli bir renge sahiptir. Re ve arkadaşları (1999) tarafından modifiye edilen yöntemde, ABTS'nin potasyum persülfat ile oksidasyonu sonucu ABTS radikal katyonu oluşmaktadır. Yani sisteme antioksidan ilave edilmeden önce radikal katyonu oluşturulmaktadır. Orijinal metotta ise antioksidan varlığında radikal meydana gelmektedir. Oluşan radikal katyonu oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 2 gün stabildir. Geliştirilen metodun orijinal metottan farkı hem lipofilik hem hidrofilik antioksidanlara uygulanabilmesi ve bir dekolorizasyon yöntemi olmasıdır. Bu yöntemde antioksidan varlığında çözeltildeki ABTS

radikalinin absorbansındaki azalmanın ölçülmesine dayanmaktadır (Rice-Evans ve Miller, 1984; Re ve diğ., 1999).

ABTS  $\cdot^+$  radikal katyonu 415, 645, 734, 815 nm de maksimum absorpsiyona sahiptir. Bu yöntemin kullanılması basit, kolay ve hızlıdır (Prior ve diğ., 2005).

Toplam antioksidan tayini için; örneklerden 0.5 gr alındı. Üzerine 4.5 ml %50-%50 metanol- su karışımı eklendi. 24 saat ara ara çalkalama yapılarak +4 C°'de buzdolabında bekletildi. 24 saat sonra 5 dk 5000 rpm'de santrifüjlendi. TAS seviyesi ticari kitle ölçülmüştür (relassay, Turkey).

Bu yeni otomatik metod, asetat buffer içinde uzun süre stabil kalabilen ABTS radikal katyonunun karakteristik renginin ağartılmasına dayanır. ABTS, yüksek pH değerinde konsantre asetat buffer ile dilue edilirken renk kendiliğinden ve yavaşça ağarmaktadır. Bu ağartma işleminde antioksidan varlığı işlemin hızlanmasını sağlamaktadır. Antioksidanlar asetat örneğinde konsantrasyonlarına uygun ve orantılı bir şekilde ağarma gösterirler. Bu olay spektrofotometre ile ölçülebilmektedir. Ve örneğin ağarması içinde bulunan TAC (total antioksidan kapasitesi) miktarıyla ters orantılıdır. Reaksiyon troloxla kalibre edildi. Her örnek için işlemler 3 replikasyon halinde yapılmıştır. Sonuçlar, mM trolox/g 'a göre yorumlanmıştır (Erel, 2004).

#### **2.4 Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini**

Gıdaların içeriğinde bulunan toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi, antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında fikir vermesi açısından önemlidir. Folin-Ciocalteu metodu doğal ürünlerde toplam fenolik madde ölçümü için kullanılmaktadır. Ancak aynı zamanda temel mekanizma oksidasyon redüksiyon reaksiyonlarına dayandığı için diğer bir antioksidan kapasitesi metotlarından biri olarak kullanılabilir. Genellikle toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitesi arasında oldukça iyi bir lineer korelasyon görülür (Huang ve diğ., 2005). Bu yöntem 1965'te Singleton ve Rossi tarafından önerilmiş ve daha sonra farklı uygulayıcılar tarafından geliştirilmiştir. Folin-ciocalteu reaktifi fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımı bir reaktif olup fenolik ve polifenolik antioksidanların kolorimetrik tayininde kullanılır (Singleton ve diğ., 1965). Folin-ciocalteu reaktantı ile fenolik maddelerin okside olması sonucu 745-765 nm de gözlenebilen renkli bir ürün oluşur (Prior ve diğ., 2005). Bu metot basit, duyarlı ve kesinliği yüksek bir metotdur. Ancak

reaksiyon asidik pH ta yavaştır ve spesifikliğini kaybeder. Metodun en önemli dezavantajı, ortamda bulunan ekstrakte edilebilir proteinleri de ekstrakte etmesidir. Bu nedenle spesifik bir metot olarak kabul edilmemektedir (Huang ve diğ., 2005). Total fenolik içerik tayini, Skerget ve arkadaşlarının 2005’de yaptıkları çalışmaya göre yapılmıştır. Örneklerden 0.5 gr alındı. Ve üzerine çalışma solüsyonu eklendi. 0.5 gr örneğe 4.5 ml % 50-% 50 metanol- su karışımı eklendi. 24 saat ara ara çalkalama yapılarak +4 C°’de buzdolabında bekletildi. 24 saat sonra 5 dk 5000 rpm’de santrifüjlendi. Süpernatanttan 2 ml örnek alındı ve 10 kat dilüe edilmiş folin-ciocalteu ajanından 10 ml alınarak karıştırıldı. Üzerine 8 ml sodyum bikarbonat solüsyonu eklendi (%20 w/w) ve oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi. Daha sonra absorbans, spektrofotometre 760 nm ye ayarlanarak okundu. Her örnek için işlemler 3 replikasyon halinde yapılmıştır. % 50 metanol, % 50 sudan oluşan solüsyon kör örnek olarak kullanıldı. Gallik asit standart hazırlamada kullanılmıştır. Kalibrasyon için % 50 metanol, % 50 su karışımı ile beraber farklı konsantrasyonlarda gallik asit hazırlandı. Sonuçlar, mM gallik asit/g’a göre yorumlanmıştır (Skerget ve diğ., 2005).

## **2.5 Antibakteriyel Aktivitenin İncelenmesi**

Bitki ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerini belirlemek için Kirby ve Bauer’in disk difüzyon duyarlılık testi kullanılmıştır (Bradshaw 1992, Collins ve diğ., 1989, Dağcı ve Dığrak, 2005, Özçelik 1992). Bu test kağıt disklere emdirilen antibiyotigin, duyarlılığı araştırılan organizmanın inoküle edildiği besiyerine difüze olması temeline dayanmaktadır. Bu amaçla; belli miktarlarda antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler, test edilecek olan mikroorganizmanın yoğun bir şekilde inoküle edildiği katı besiyerlerine yerleştirilir. Diskler bir süre sonra çözünüp agara doğru difüze olurken, inoküle edilen mikroorganizma da çoğalmaya başlar. Belirli bir inkübasyon süresinden sonra ilacın inhibitör konsantrasyonlarının sağlandığı diskin çevresinde üreme görülmez. Mikroorganizma ilaca ne kadar duyarlı ise, diskin etrafında oluşan inhibisyon zonu o kadar geniş olacaktır. Sokslet cihazında; kloroform ile ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktın antibakteriyel aktivitesi araştırıldı.

### 2.5.1 Bakterilerin besiyerinde çoğaltılması

Bu araştırmada 10 bakteri kullanılmıştır. Bakteriler; 19 Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Nevzat Şahin tarafından temin edilmiştir. Kullanılan mikroorganizmalar ve kodları tablo 2.2’ de verilmiştir.

Bakteri kültüründen öze yardımı ile bakteriler alınıp nutrient broth sıvı besiyerine aşıldı ve bir gün süre ile bekletilip bakterilerin çoğalması sağlandıktan sonra nutrient agar katı besiyeri ile hazırlanmış petri kaplarına ekilerek besiyeri ortamında çoğalması sağlandı.

Tablo 2.2: Kullanılan mikroorganizmalar

Kullanılan Mikroorganizmalar	Kodları	Özellik
<i>Escherichia coli</i>	MC.4100	Gr (-)
<i>Citrobacter freundii</i>	NRRL-B 2643	Gr (-)
<i>Providencia stuartii</i>	-	Gr (-)
<i>Proteus vulgaris</i>	NRRL-B-123	Gr (-)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NRRL-B-2679	Gr (-)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	NRRL-B- 3567	Gr (-)
<i>Bacillus licheniformis</i>	NRRL-B- 1001	Gr (+)
<i>Bacillus cereus</i>	NRRL-B-3711	Gr (+)
<i>Bacillus pumilis</i>	NRRL-BD-142	Gr (+)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 33862	Gr (+)

### 2.5.2 Petri kaplarının hazırlanması

Mikroorganizmaların büyüebilmesi için nutrient broth besiyeri hazırlanmıştır. Steril besiyeri steril şartlarda petri kaplarına döküldü. Besiyerinin sertleşmesi için oda sıcaklığında bir süre beklendi. Besiyeri, 120 mm steril petri kutularına ortalama 4.0 mm derinliğinde dökülmüştür.

### 2.5.3 İnhibisyon zonlarının ölçülmesi

Aktivitesi belirlenecek madde, mikroorganizmaya karşı bir aktivite gösteriyorsa maddenin difüzyonu ile ilgili yerlerde ilk besiyeri renginden farklı olarak şeffaf bölgeler oluşmaktadır.

Daha önce hazırlanan bitki ekstraktları su ile çözülerek 10 mg/ml ve 20 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanmıştır ve bu çözeltiler membran filtreden (0,2 µm) geçirilerek steril edilmiştir. Her özütten 50 µl alınarak, 6mm’lik steril boş antibiyotik

disklerine emdirilmiştir. Besi yerlerinin yüzeyine kültürler dirigalski özesiyle yayıldıktan sonra besiyerleri oda sıcaklığında 5 dk bekletilmiş, daha sonra diskler besi yerlerinin yüzeyine uygulanmıştır. Pozitif kontrol olarak AZT= Azitromisin ve P10=Penisilin standart antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak da sadece çözücü maddenin emdirildiği diskler ve boş diskler kullanılmıştır. Çalışma 3 tekrarlar yapılmıştır. Petri kapları 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiş, inhibisyon zonlarının ortalamaları mm cinsinden ifade edilmiştir.

## **2.6 İstatistiksel Analiz**

Elde edilen sonuçlar varyans analiziyle (ANOVA) ve önemli bulunan ana varyasyon kaynak ortalamaları Duncan çoklu karşılaştırma testiyle hesaplanmıştır.  $p \leq 0.05$  düzeyindeki farklılıklar anlamlı kabul edilmiştir. Analizler SPSS istatistik yazılımı versiyon 15 vasıtasıyla yapılmıştır.

### 3. BULGULAR

#### 3.1 Toplam Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayin Sonuçları

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, oksidasyon proseslerinde başlatıcı rol oynayan serbest radikalleri nötralize edebilmeleri nedeniyle önemlidir. Bu nedenle toplam fenolik madde içeriği belirlenen örneklerde ABTS ile antioksidan tayinide yapılmıştır.

Tablo 3.1: Ekstraktların toplam fenolik ve antioksidan miktarları ( $\pm$ std sapma)

Lokaliteler	Toplam Antioksidan Madde (mM Troloks eqv. g <sup>-1</sup> )	Toplam Fenolik Madde (mg GAE g <sup>-1</sup> )
Denizli	0,85 $\pm$ 0,02 (c)	9,47 $\pm$ 0,14 (b)
Manisa	1,89 $\pm$ 0,03 (a)	13,34 $\pm$ 0,50 (a)
Eskişehir	1,57 $\pm$ 0,02 (b)	8,83 $\pm$ 0,20 (b)

[En yüksek fenolik içerik ve antioksidan madde](#) miktarı Tablo 3.1’de görüldüğü gibi Manisa’dan toplanan örnektir. En düşük fenolik içerik Eskişehir’den toplanan örnekte belirlenmişken, antioksidan aktivite Denizli’den toplanan örnekte belirlenmiştir. Her bir lokalitenin toplam antioksidan madde miktarı birbirinden farklı ve anlamlıdır. Toplam fenolik madde miktarı ise Manisa’dan toplanan örnekte belirgin olarak farklı iken Denizli ve Eskişehir’den toplanan örneklerin madde miktarları birbirlerine çok yakındır.

#### 3.2 Ekstraktların Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Üç farklı lokaliteden toplanmış *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata* türünün su ile hazırlanan ekstralarının test mikroorganizmaları üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri tablo 3.2’de verilmiştir.

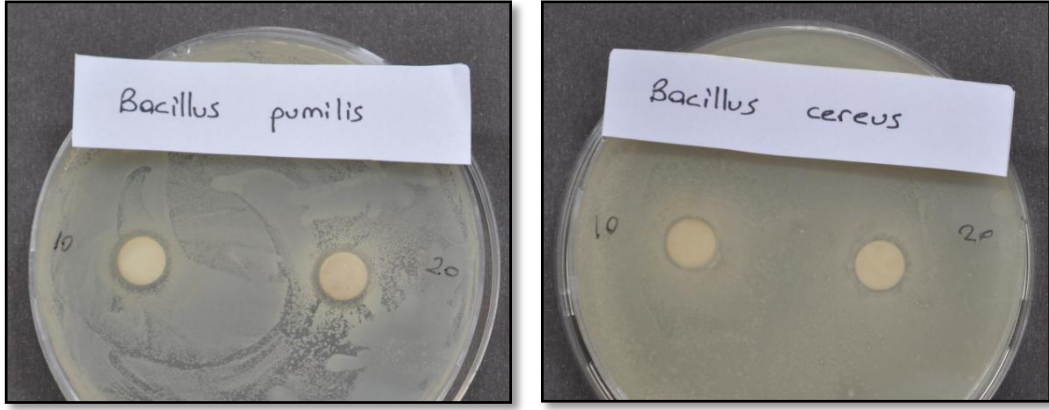
Tablo 3.2 : Bitkilerin sulu ekstralarının test mikroorganizmaları üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri

Mikroorganizmalar	İnhibisyon zon çapı (mm)					
	Denizli % 10	Denizli %20	Manisa % 10	Manisa % 20	Eskişehir % 10	Eskişehir % 20
<i>Escherichia coli</i> MC.4100	1	2	1	2	2	2
<i>Citrobacter freundii</i> NRRL-B 2643	1	2	1	1	2	3
<i>Providencia stuartii</i>	1	1	2	3	2	2
<i>Proteus vulgaris</i> NRRL-B-123	-	2	2	3	3	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NRRL-B-2679	-	1	-	2	-	3
<i>Enterobacter aerogenes</i> NRRL-B- 3567	-	1	-	-	-	1
<i>Bacillus licheniformis</i> NRRL-B- 1001	1	1	2	2	2	2
<i>Bacillus cereus</i> NRRL-B-3711	1	1	1	1	1	1
<i>Bacillus pumilis</i> NRRL-BD-142	1	2	1	2	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862	-	2	1	2	1	1

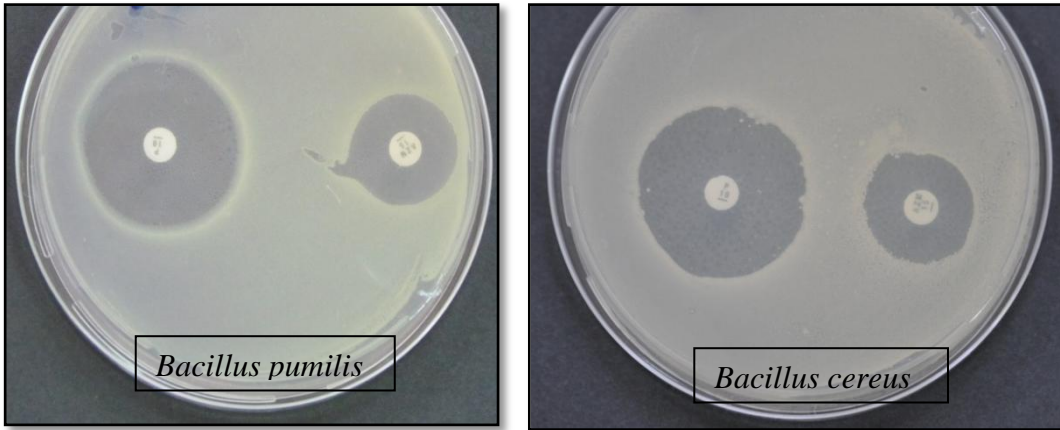
-:Antibakteriyel aktivite yok.

Tablo 3.2’de görüldüğü gibi kloroform ile ekstrakte edilip su ile çözülmüş örneklerin kayda değer oranda antibakteriyel etkisi yoktur (Şekil 3.1). Ekstraksiyonlar % 10’luk ve % 20’lik dilüsyonlar halinde hazırlanmıştır. Tablo 3.2’de görüldüğü gibi % 20 ‘lik ekstrakt % 10’luk ekstrakta göre daha etkili olduğu düşünülmektedir. Pozitif kontrol olarak AZT= Azitromisin ve P10=Penisilin standart antibiyotik diskleri kullanılmıştır (Şekil 3.2). Sadece suyun emdirilmesiyle hazırlanan negatif kontrol diskler, test mikroorganizmaların hiçbiri üzerinde antibakteriyel etki göstermemiştir.





Şekil 3.1: Denizli'den toplanan bitki ekstraktının *Bacillus pumilis* NRRL-BD-142 ve *Bacillus cereus* NRRL-B-3711 üzerine etkisi



Şekil 3.2: Penisilin ve Azitromisin'in *Bacillus pumilis* NRRL-BD-142 ve *Bacillus cereus* NRRL-B-3711 bakterileri üzerine etkisi

#### 4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bitkiler, yüksek oranda içerdikleri kimyasal maddeler nedeniyle günümüzde hala ilaç, parfümeri, kozmetik ve gıda endüstrileri için primer bir kaynak durumundadır. Çok boyutluluğu nedeniyle antioksidan aktivite, bitkiler açısından bu üç büyük endüstri kolu çok merkezi bir konum oluşturmaktadır (Halliwell, 2002). Canlı organizmalarda çeşitli oksidatif süreçlerin kanser, şeker hastalığı, karaciğer yetmezliği, kalp-damar hastalıkları, otoimmün hastalıklar, hematolojik bozukluklar, multiple skleroz, artrit, katarakt, nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma gibi çeşitli fizyopatolojik olaylarda rol oynadığının anlaşılmasından sonra ve bitkisel ilaçların yan etkilerinin olmaması ya da çok az olması, bitkisel etken maddelere karşı patojenlerin dayanıklı ırklar oluşturamaması, bitkisel maddelerin sentetik ilaçların başlangıç maddesi olması ve sentetik ilaçlara model oluşturması, kullanıldıktan sonra vücutta birikmemesi ve zararlı etki oluşturmaması, özellikle yaşlı vücutların sentetik ilaçlara nazaran daha yüksek oranda olumlu tepki vermeleri, ucuz ve kolay elde edilebilirlikleri gibi üstünlüklerinden dolayı antioksidan bileşiklere karşı ilgi artmıştır (Tanker ve Tanker, 2003).

Yukarıda belirtilen nedenlerden ötürü, antioksidan ve antiradikal etkili bitkiler son yıllarda yoğun biçimde araştırılmaktadır. Araştırılan çok sayıda bitki arasında özellikle *Gypsophila* L. cinsi de dikkat çekmektedir. Bu çalışmada *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata* türünün 3 farklı lokaliteden toplanmış kökleri araştırılmıştır. Toplanan kökler temizlenip küçük parçalara ayrıldıktan sonra gölgede kurutulmuş, ardından değirmende öğütülüp toz haline getirilmiştir. Ve sokslet cihazında kloroform ile ekstrakte edilip, çözücü evaporatör ile uçurulmuştur. Ekstrelerin antioksidan, fenolik içerik ve antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. Bu testler için ABTS yöntemi, Folin metodu ve disk difüzyon metodu kullanılmıştır. Gözlemler sırasında en çok toplam fenolik madde miktarı ve toplam antioksidan aktivitesi Manisa'dan toplanan örnekte tespit edilmiştir. Ekstraktların antibakteriyel etkileri ise kayda değer ölçüde değildir.

Araştırmamızda bitki ekstraksiyon işlemleri için çözücü olarak kloroform kullanılmıştır. Konuyla ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde çözücü olarak; dietileter, metanol, petrol eteri, hekzan kullanıldığı görülmektedir (Rojas ve diğ., 1992; Hani ve diğ., 1996; Rabe ve Staden, 1997; Valsaraj ve diğ., 1997; Ali Shtayeh ve diğ., 1998; Mukherjee ve diğ., 2001; Erdoğan, 2002; Masika ve Afolyan, 2002; Öztürk ve diğ., 2004; Gülören, 2011). Kloroform ile ekstrakte edilmiş *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata* türünün antibakteriyel etkisinin olduğuna ilişkin literatür bilgisi yoktur. Poslu (1999), yapmış olduğu çalışmada çözücü olarak kloroform petrol eteri, ve etil alkol kullanılmıştır. Araştırmada *Gypsophila eriocalyx* Boiss. türünün kloroform ve petrol eterindeki ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesinin kayda değer olmadığını tespit etmişlerdir. Kloroform ve petrol eteri ekstraktlarında saponin bulunmadığı için bu ekstraktların antibakteriyel aktivite göstermediği düşünülmüştür. Etil alkol ekstraktının içinde saponin bulunmasına rağmen saponin derişiminin bu ekstrakt içinde antibakteriyel aktivite gösterecek miktarda bulunmadığı düşünülmüştür. Bu yönüyle çalışma, ilgili literatür ile uygunluk göstermektedir.

Literatürde, fenolik maddelerin büyük bir çoğunluğunun antioksidan özellikte olduğu tespit edilmiştir. Bitki ekstrelerinin antioksidan özelliği ile fenolik madde içerikleri arasında bir korelasyon vardır. Bu amaçla ekstrelerden ayrıca fenolik bileşik miktarı tayinleri yapılmıştır. Sonuçlardan da anlaşıldığı gibi antioksidan aktivite ile fenolik içerik miktarı örtüşmektedir.

Bitkilerin antioksidan, antibakteriyel aktivitelerini ve fenolik içeriklerini etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bitkilerin yetiştikleri coğrafi bölgedeki iklim durumu, yağış miktarı, toprak yapısı ve bitkilerin toplanma zamanı gibi unsurlar kimyasal içerikleri arasında farklılıklar doğurur. Bunun yanında kullanılan mikroorganizma ve seçilen metot bitkinin aktivitesini etkiler.

Tüm bu parametreler göz önünde bulundurulduğunda *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata* türünün farklı lokalitelerden toplanan örneklerinin antioksidan ve fenolik içerikleri arasında farklılığını; bitkinin toplandığı lokalitenin iklimine, yetişme koşullarına, yağış miktarı ve toprak yapısına bağlamak mümkündür. Bu bağlamda mevcut sonuçlar; *Gypsophila perfoliata* L. var. *perfoliata* türünün antioksidan olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Ancak bu konuda daha kesin bir yargıya varmak için farklı çözücüler ve farklı metodlarla işlemler tekrarlanmalıdır.

## 5. KAYNAKLAR

- Abe, J., Berg, B. C.**, 1998, Reactive Oxygen Species as Mediators of Signal Transduction in Cardiovascular Diseases. *Trend in Cardiovascular Medicine*, 8: 59-64.
- Ahmad, I., Beg, A.Z.**, 2001, Antimicrobial And Phytochemical Studies On 45 Indian Medicinal Plants Against Multi-Drug Resistant Human Pathogens. *Journal of Ethnopharmacology* 74 (2), pp. 113-123.
- Aksehirli, M., Bozkurt, M. ve Karaali A.**, 1971, Tahin Helvalarında ve Çövende Saponin Miktarları ve Toksikitesi. *Türk Hijyen ve Tecrubi Biyoloji Dergisi*, 31(1): 42-48.
- Alkofahi, A.S., Abdelaziz, A., Mahmoud, I., Abuirjie, M., Hunaiti, A., El-Oqla, A.**, 1990, Cytotoxicity, Mutagenicity and Antimicrobial Activity of Forty Jordanian Medicinal Plants. *International Journal of Crude Drug Research* Volume 28, Issue 2, Pages 139-144.
- Ali-Shtayeh, M.S., Yaghmour, R.M.R., Faidi, Y.R., Salem, K., Al-Nuri, M.A.**, 1998, Antimicrobial Activity of 20 Plants Used in Folkloric Medicine in The Palestinian Area. *Journal of Ethnopharmacology* 60 (3), pp. 265-271.
- Alsheik, A. M., Trappe, J. M.**, 1983, Desert Truffles: The Genus *Tirmania*, *Trans. Br.Mycol.Soc.*, 81, 83-90.
- Ames, B.N., and L.S. Gold**, 1991, Endogenous Mutagens and The Causes of Aging and Cancer, *Mutation Res.*, 250, 3-16.
- Aruoma, O. I.**, 1994, Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants, *Food Chemistry Toxicology*, 32, 671-683.
- Ataşlar, E., Ocak, A.**, 2005, *Gypsophila osmangaziensis* (Caryophyllaceae), a new Species from Central Anatolia, Turkey. *Ann. Bot. Fennici* 42: 57–60.
- Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G. and Kefalas, P.**, 2005, Tea and Herbal Infusions: Their Antioksidant Activity and Phenolic Profile, *Food Chemistry*, 89, 27-36.
- Babaoğlu, M., Gezgin, S., Topal, A., Sade, B., Dural, H.**, 2004, *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl. ex Tchihat.: A Boron Hyperaccumulator Plant Species That May Phytoremediate Soils with Toxic B Levels, *Turk J. Bot.* 28, 273 – 278.
- Barber, D.A., Haris, S.R.**, 1994, Oxygen Free Radicals and Antioxidants: A rewiev. *Am. Pharmavy.* 34(9), 26-35.
- Başer, K. H. C.**, 2002. Aromatic Biodiversity Among The Flowering Plant Taxa of Turkey, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 74, No. 4, pp. 527- 545 2002 IUPAC.

- Battal, H.**, 2002, Çöven Ekstraktı Üretimi Üzerine Bir Arastırma. *Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 44 s.
- Baylan, N.**, 1990, Tahin Helvalarında Saponin Miktarı Üzerinde Arastırma, *Yüksek Lisans Tezi, Türkiye Bilimsel ve Teknik Arastırma Kurumu Tarım ve Ormancılık Arastırma Grubu*, Proje No:TOAG-706.
- Baytop, T.**, 1984, Türkiye’de Bitkilerle Tedavi, *İ.U. Eczacılık Fak.*, İstanbul.
- Baytop, A.**, 1983, Farmakognozi Ders Kitabı, *İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları* No:19, s.92- 93.
- Baytop, T.**, 1999, Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. *Nobel Tıp Kitabevleri Yayınları*, İstanbul, Türkiye, 480 s.
- Becker, E.M., Nissen, L.R. ve Skibsted, L.H.**, 2004, Antioxidant Evaluation Protocols: Food Quality or Health Effects, Review, *European Food Research Technology*, 219, 561-571.
- Bradshaw, L. J.** 1992, Laboratory Microbiology. Fourth Edition. Printed in U.S.A. 435.
- Cemeli E, Baumgartner A and Anderson D.**, 2009, Antioxidants and the Comet assay. *Mutat Res*; 681: 51–67.
- Ceyhun, A., E.**, 2003. Türk Tahin Helvalarında Saponin Miktarının HPLC ile Belirlenmesi, *Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enst. Gıda Mühendisliği Anabilimdalı Yüksek Lisans Tezi*, Sayfa Sayısı: 52 T. C. Yükseköğretim Kurulu Dökümantasyon Merkezi Tez No: 131369, 2003.
- Chan K. M., Decker E. A.** , 1994. Endogenous skeletal muscle Antioxidants, *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 34: 403.
- Chen, J.C., Xu, M.X., Chen, L.D., Chen, Y.N., Chiu, T.H.** 1998, Effect of *Panax notoginseng* Saponins on Sperm Motility and Progression *in vitro*. *Phytomedicine*.5, 289–292.
- Cheeke P.R.**, 1999, Actual and Potential Applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* Saponins in Human and Animal Nutrition. *Proceeding of the American Society of Animal Science*, Page 1–10.
- Collins, C. H., Lyne, P. M. And Grange J.M.**, 1989, Microbiological Methods. Butterworths & Co. (Publishers) Ltd, London, 410.
- Cuttler, R. G.**, 1984. \_n free radical in biology; Pryor, W. A., Ed; Academic Orlands, FL, Vol VI, pp 371-423.
- Çete, S., Arslan, F., Yaşar, A.**, 2005, *Aloe Vera* ve *Nerium oleander*’in Bazı Mikroorganizmalara Karşı Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması ve Bu Bitkilerin Siklosporinli Karaciğer Dokusundaki Ksantin Oksidaz Enzim Aktivitesine Etkilerinin İncelenmesi. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 18: 3, 375-380.
- Çevrimli, B., S.**, 1990, Çöven (*Gypsophila arrosti*) Otundan Yüzey Aktif Maddesi Eldesi ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilimdalı Yüksek Lisans Tezi*, Sayfa Sayısı: 62, T. C. Yükseköğretim Kurulu Dökümantasyon Merkezi, Tez No: 11638.

- Çölkesen, A., Aydın, A., Işimer, A., Orhan, İ. Ve Şener, B.,** 2006, Türkiye’de Şarap Yapımında Kullanılan Beyaz ve Kırmızı Üzümlerden Elde Edilen Tohum Ekstrelerinin Karşılaştırmalı Serbest Radikal Süpürücü Kapasitesi, *Turkish J. Pharm. Sci.*, 3(3), 177-185.
- Dağcı, E.K ve Dığrak M.,** 2005, Bazı Meyve Ekstraktlarının Antibakteriyel ve Antifungal Aktiviteleri. *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8,2.
- Davis, P. H.,** 1967, Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol. 2, *Edinburgh, Univ. Press.*
- Davis, P. H.,** 1965-1985, Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol. 1-9, *Edinburgh University Press.* Edinburgh.
- Davis, P. H., Mill, R.R., Tan, K.,** 1988, Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol. 10, *Edinburgh University Press.* Edinburgh.
- Dizdaroğlu M, Rao G, Halliwell B, Gajewski E.,** 1991, Damage to the DNA Bases in Mammalian Chromatin by Hydrogen peroxide in the Presence of Ferric and Cupric İons. *Arch Biochem Biophys.*, 285(2):317-24.
- Dündar, Y., Aslan, R.,** 2000, Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. T.C. A.K.Ü. Yayın no: 29. 1. Basım. 4-6s. *Uyum Ajans*, Ankara.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N.,** 2000, Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler, *Türkiye Tabiatını Koruma Derneği*, Ankara.
- Erel O.** 2004, A Novel Automated Direct Measurement Method for Total Antioxidant Capacity Using a New Generation, More Stable ABTS Radical Cation. *Clin Biochemistry*; 37:277-85.
- Erik, S., Tarıkahya, B.,** 2004, Türkiye Florası Üzerinde. *Kebikeç İnsan Bilimleri için Kaynak Araştırmaları Dergisi, Alp Matbaası*, Ankara, 17, 139-163.
- Erdoğrul, Ö. T.,** 2002, Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Used in Folk Medicine. *Pharmaceutical Biology*, 40 (4), pp. 269-273.
- Facey, P.C., Pascoe, K.O., Porter, R.B., Jones, A.D.,** 1999, Investigation of Plants Used in Jamaican Folk Medicine for Antibacterial Activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51 (12), pp. 1455-1460.
- Farnsworth, N.R., Akerev, O. Bingel, A.S.,** 1985, The Bulletin of WHO., 63: 9865-9871.
- Feigenbaum, J.I.,** 1965, Improved Halva Made with Licorice extract. *Food Tecnology*. 19: 114-115.
- Fendwick DE, Oakenfull D,** 1983, Saponin Content of Food Plants and Some Prepared Foods. *J Sci Food Agric.*, 34: 186-191.
- Fidan, A.F. ve Dündar, Y.,** 2007, *Yucca schidigera* ve İçerdiği Saponinler ile Fenolik Bileşiklerinin Hipokolesterolemik ve Antioksidan Etkileri, *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.*, 47(2), 31-39.
- Fons, F., Amella, N., Leyval, C., Saint-Martin, N. and Henry, M.,** 2003, Effects of *Gypsophila* Saponins on Bacterial Growth of Kinetics and on Selection of Subterranean Clover *rhizosphere* bacteria, *Canadian Journal of Microbiology*, 49, 367-373.

- Frel B.** 1994, Natural Antioxidants in Human Health and Disease, *Academic Press*.
- Gaygısız, M. Ve Akınerdem, F.,** 1998, Konya Yöresi Çöven Türlerinden (*Gypsophila venusta* Fenzl.)'in Bazı Bitkisel Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Arastırma, *S. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 12 (16): 56- 64, 1998.
- Gülören Ö.T.,** 2011, Bazı *Gypsophila* L. (Caryophyllaceae) Türlerinin Antimikrobiyal ve Genotoksik Aktiviteleri, *Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı*, Eskişehir.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. and Başer, K.H. C.,** 2000, Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Vol. 11, *Edinburgh University Press*. Edinburgh.
- Halliwell, B.,** 1990, How to Characterise a Biological Antioxidant, *Free Radical Research Communication*, 9, 1-32.
- Halliwell, B. and Aruoma. O. I.** 1998, Free Radicals and Antioxidants: The need for *in vivo* Markers of Oxidative stress. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 75(2): 199–212.
- Halliwell B, Gutteridge J.M.C.,** 1999, Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd ed, *Oxford University Press*.
- Halliwell, B.,** 2002, Food-Derived Antioxidants: How to Evaluate Their Importance in Food and In Vivo, Handbook of Antioxidants, 2nd Ed., Ed. by Cadenas, E. And Packer, L., *University of Southern California School of Pharmacy*, USA.
- Halliwell, B.,** 1994, Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet*. 344, 721–24.
- Hani, M., Elgamal, A, Solman S. M. H., Toth, G., Halasz, J., Duddeck, H.,** 1996, Structure of a Novel Triterpene Saponin From *Gypsophila capillaris* (Forssk.), *Magnetic Resonance in Chemistry*, Vol. 34, 697- 702.
- Haralampidis, K., Trojanowska, M. ve Osbourn, A. E.,** 2002, Biosynthesis of Triterpenoid Saponins in Plants. Advances in Biochemical Engineering, *Biotechnology, Editör Scheper Th.,* 75, Berlin.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E. M.,** 2004, Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy, *Churchill Livingstone*, Edinburgh.
- Henry, M., Rochd, M., Ve Bennı, B.,** 1991, Biosynthesis and Accumulation of Saponins in *Gypsophila paniculata*, *Phytochemistry*, 30(6): 1819-1821.
- Heim, K.E., Tagliaferro, R., Bobilya, D. J.,** 2002, Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
- Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. And Van De Putte, B.,** 1993, Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of Tea Infusions, Wines and Fruit Juices, *J. Agr. Food Chem.*, 41: 1242-1246.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L.,** 2005, The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.

- Hudson, B.**, 1990, Food Antioxidants, *Elsevier Science*, USA, pp 173-188.
- Ito, N., Fukushima, S. And Tsuda, H.**, 1985, Carcinogenicity and Modification of Carcinogenic Response by BHA, BHT and other Antioxidants, *Crit. Rev. Toxicol.*, 15, 109-150.
- Ivanov, I. I., Lancev, I.I. and Nesev, G.K.**, 1999, Şifalı Bitkilerle Tedavi Atlası (Çeviren: Makaklı, B.). *Pamuk Yayıncılık*, 368 s, İstanbul.
- İnan, M.**, 2006, Çukurova Koşullarında Farklı Kökenli Çöven (*Gypsophila* sp.) Türlerinde Kök Verimleri ve Saponin İçeriklerinin Araştırılması, *Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana, Danışman: Prof. Dr. Saliha Kırıcı, 90 s.
- Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgu, t A., Türemiş, N., Kargı, S.P., Cabaroğlu, T.**, 2006, Bazı Üzümsü Meyvelerde Toplam Fenol ve Antosiyanin İçerikleri, *II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, Konya.
- Karakaya, S., El, S.N. ve Taş, A. A.** 2001, Antioxidant Activity of Some Foods Containing Phenolic Compounds. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 52(6): 501-508.
- Karaman, I., Sahin, F., Gulluce, M., Öğutcu, H., Sengul, M., Adiguzel, A.**, 2003, Antimicrobial Activity of Aqueous and Methanol Extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of Ethnopharmacology* 85 (2-3), pp. 231-235.
- Keleş O., Ak S., Bakırel T., Alpınar K.** 2001, Türkiye’de Yetişen Bazı Bitkilerin Antibakteriyel Etkisinin İncelenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25:559-565.
- Keskin, H., Erkmn G.**, 1987, Besin Kimyası, *Güryay Matbaacılık*, Beşinci basım, İstanbul.
- Kusano C, Ferrari B.**, 2008, Total Antioxidant Capacity: a Biomarker in Biomedical and Nutritional Studies. *Haliç University J Cell Mol Biol*; 7: (1) 1-15.
- Lopez-Alarcon, C. and Lissi, E.** 2006, A novel and Simple ORAC Methodology Based on the İnteraction of Pyrogallol Red with Peroxyl Radicals. *Free Radical Research*, 40 (9): 979-985.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K.**, 1996, Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives. *Markel Dekker, Newyork*, pp 41-50.
- Malyer, H.**, 1996, A New Record for the Flora of Turkey, *Turkish Journal of Botany* Vol.,20, 473-475.
- Masika, P.J., Afolayan, A.J.**, 2002, Antimicrobial Activity of Some Plants Used for the Treatment of Livestock Disease in the Eastern Cape, *South Africa . Journal of Ethnopharmacology*, 83 (1-2), pp. 129-134 .
- Mathew, S. and Abraham, T.E.**, 2006a, Studies on the Antioxidant Activities of Cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark Extracts, Through Various *in vitro* Models, *Food Chemistry*, 94, 520-528.
- Miller, N. J., Rice Evans, C. A., Davies, M. J., Gopinathan, V., Milner, A.**, 1993, A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and İts



Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates, *Clinical Science*, 84, 407-412.

- Moerman, D. E.**, 1996, An Analysis of the Food Plants and Drug Plants of Native North America. *J. Ethnopharmacol.* 52: 1-22.
- Mukherjee, P.K., Saritha, G.S., Suresh, B.**, 2001, Antibacterial Spectrum of *Hypericum hookerianum*. *Fitoterapia* 72 (5), pp. 558-560.
- Nacz, M. and Shahidi, F. C.**, 2004, Extraction and Analysis of Phenolics in Food, Review, *Journal of Chromatography A*, 1054, 95-111.
- Nizamhoğlu M.N., Nas S.**, 2010, Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Cilt:5, No: 1, (20-35)
- Oleszek, W.**, 2002, Chromatographic Determination of Plant Saponins. *J. Chromatography A.*, 967, 147–162.
- Ono R., Yamaguchi H.**, 1999, Anabolic Effect of Soybean Saponin on Bone Component in the Femoral Tissues of Rats. *J. Healt. Sci.* 45 (5), 251–255.
- Osborn A. E.** 2002, Saponins in Cereals. *Phytochemistry*, 62: (1-4).
- Özçelik, S.**, 1992, Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvar Kılavuzu. *F.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Yayınları*, Yayın No: 1, Elazığ, 135.
- Özçelik H., Yıldırım B.**, 2011, Türkiye Çövenlerinin (*Gypsophila* L. ve *Ankyropetalum* Fenzl spp.) Ekonomik Önemi, Kullanım Olanakları ve Korunması Üzerine Düşünceler., *SDU Faculty of Forestry Journal*, 12: 57-61
- Öztürk, N., Tunalıer, Z., Koşar, M. ve Başer, K. H. C.**, 2004, *Petroselinum crispum*, *Anethum graveolens* ve *Eruca sativa*'nın Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler*, ISBN 975-94077-2-8.
- Pellegrini N, Miglio C, Del Rio D, et al.**, 2009, Effect of Domestic Cooking Methods on the Total Antioxidant Capacity of Vegetables. *Int J Food Sci Nutr*; 60 (Suppl 2): 12–22.
- Plock, A., Sokolowska-Kohler, W., Presber, W.** 2001, Application of Flow Cytometry and Microscopical Methods to Characterize the Effect of Herbal Drugs on *Leishmania* spp. *Experimental Parasitology*, 97, 141–153.
- Poli, G., Leonarduzzi, G., Biasi, F., Chiarpotto, E.**, 2004, Oxidative Stress and Cell Signalling. *Curr Med Chem.*, 11, 1163–1182.
- Poslu, H.**, 2006, *Gypsophila eriocalyx* Boiiss'den Saponin Ekstraksiyonu ve Kimyasal Yapısının Tayini, *Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara
- Prior, R.L., Wu, X., Scaich, K.**, 2005, Standardized Methods for the Determination Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietry Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3110-3113.

- Price, K.R., Johnson, I.T. and Fenwick, G.R.**, 1987, The Chemistry and Biological Significance of Saponins in Foods and Feedingstuffs. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 26 (1), 27-135.
- Rabe, T., Van Staden, J.**, 1997, Antibacterial Activity of South African Plants Used for Medicinal Purposes. *Journal of Ethnopharmacology.* 56 (1), pp. 81-87.
- Rajbhandari, M., Schöpke, T.**, 1999, Antimicrobial Activity of Some Nepalese Medicinal Plants. *Pharmazie* 54 (3), pp. 232-234.
- Ravanat JL, Di Mascio P, Martinez GR, Medeiros MHG, Cadet J.** 2000, Singlet Oxygen Induces Oxidation of Cellular DNA. *J Biol Chem*, 275: 40601–40604.
- Reische, D. W., Lillard, D. A., Eintenmiller, R. R.** 1998. Antioxidants in Food Lipids. In C. C. Ahoh & D. B. Min (Eds.), *Chemistry, Nutrition and Biotechnology* (pp. 423–448). New York: Marcel Dekker.
- Re, R., Pellegrini, N., Protrggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C.** 1999, Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- Rice-Evans, C. A. ve Miller, N. J.**, 1984, Total Antioxidant Status in Plasma and Body Fluids. *Methods in Enzymology*, 234: 279-293.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G.**, 1996, Structure Antioxidant Activity Relationships Of Flavonoids And Phenolic Acids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 933-956.
- Rice-Evans, C.,A., Miller, N. J., Paganga, G.**, 1997, Antioxidant Properties of Phenolic Compounds, *Trends in Plant Science*, 2, 152-159.
- Roginsky, V. and Lissi, E.A.**, 2005, Review of methods to determine chainbreaking antioxidant activity in food, *Food Chemistry*, 92, 235-254.
- Rojas, A., Hernandez, L., Pereda-Miranda, R., Mata, R.** 1992, Screening for Antimicrobial Activity of Crude Drug Extracts and Pure Natural Products from Mexican Medicinal Plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 35 (3), pp. 275-283
- Sertsever, A. ve Gök, V.**, 2003, Doğal Antioksidanların Biyoyararlılığı, 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, Ankara, 2-4 Ekim, s. 83-98.
- Sezik, E., Yesilada, E., Akdemir, Z., Berkman, Z., Demirezer, Ö., ve ZOR, M.**, 1986, Türkiye'de Yetişen Triterpenik Saponozit Taşıyan Bitkilerin Değerlendirilmesi, *VI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı*, s.93- 98, 16-19 Mayıs 1986, Ankara.
- Shafagha A, Shafaghatlonbar M.**, 2011, Antimicrobial Activity and Chemical Constituents of the Essential Oils from Flower, Leaf and Stem of *Gypsophila bicolor* from Iran. *Natural product communications*, 275-6.
- Shahidi, F. ve Naczki, M.**, 1995, Food Phenolics, *A Technomic Publication*, USA.
- Shahidi, F., Wanasundara, R. K. J. P. D.**, 1992, Phenolic Antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(1): 67-103.

- Shahidi, F.**, 1996, Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects and Applications, *AOCS Press*, Champaign, Illinois, 0-935315-77-2.
- Singleton, V.L.; Rossi, Jr. J. A.**, 1965, Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144–158.
- Skerget M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hra, A., Simonic, M., & Knez, Z.**, 2005, Phenols, Proanthocyanidins, Flavones and Flavonols in Same Plant Materials and Their Antioxidant Activities. *Food Chemistry*, 89, 191-198
- Southon, S., Johnson I.T., Gee, J.M., Price, K.R.**, 1988, The effect of *Gypsophila* Saponins in the Diet on Mineral Status and Plasma Cholesterol Concentration in the Rat. *Br. J. Nutr*, 59, 49–55.
- Stahl W, Berg H, Arthur J.**, 2002, Bioavailability and Metabolism. *Mol Aspects Med*; 23: 39–100.
- Tanker, M. ve Tanker, N.** 2003, Farmakognozi. *Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları* No: 66, Cilt 1, Ankara, 230-252
- Tee E.S.**, 1992, Carotenoids and Retinoids in Human Nutrition, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 31: 103.
- Tekeli, Y. Ve Sezgin, M.**, 2007, *Centaurea carduiformis*'in (peygamber çiçeğinin) Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi, *SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi, Fen Dergisi (E- Dergi)*, 2 (2), 204-209.
- Tunaher, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K.H.C, Duman, H., Kırimer, N.**, 2002, Bazı Sideritis Türlerinin Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler*, ISBN 975–94077–2–8.
- Tunaher, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K.H.C., Duman, H. Ve Kırimer, N.**, 2004, Bazı Sideritis Türlerinin Antioksidan ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler*, ISBN 975-94077-2-8.
- Tunç, M.**, 2000, Çöven (*Gypsophila arrostii* var. *nebulosa*) Bitkisinden Elde Edilen Ekstraktın Antibakteriyel Özelliğinin Araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü*, Kocaeli.
- Ünal, E.**, 2006, Türkiye Florasında Doğal Olarak Yetişen Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniveristesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Valsaraj, R., Pushpangadan, P., Smitt, U.W., Adersen, A., Nyman, U.**, 1997, Antimicrobial Screening of Selected Medicinal Plants from India. *Journal of Ethnopharmacology* 58 (2), pp. 75-83.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J.**, 2007, Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39 44–84.
- Velioglu, S.**, 2001, Çöven Ekstraktı Üretim Kosullarının Belirlenmesi ve standardize Edilmesi Üzerine Araştırma, *Tübitak TOGTAG Proje* No: 2467.

- Vichi, S., Zitterl-Eglseer, K., Jugl, M., Franz, Ch.**, 2001, Determination of the Presence of Antioxidants Deriving from Sage and Oregano Extracts Added to Animal Fat by Means of Assesment of the Radical Scavenging Capacity by Phptochemiluminescence Analysis. *Nahrungl Food*, 45, 101-104.
- Viswanath, V., Urooj, A., Malleshi, N.G.**, 2009, Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Properties of Finger Millet Polyphenols (Eleusine coracana), *Food Chemistry*.
- Yalçınkaya, Z.Ç.**,2006, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryum'undaki (ANK) Caryophyllaceae Familyasının Revizyonu. *Yüksek Lisans Tezi, Ankara Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Ankara*.
- Yıldırım, S.**, 2002, The Chrology of the Turkish Species of Caryophyllaceae, Casuarinaceae, Celastraceae, Ceratophyllaceae and Ceratophyllaceae and Cercidiphyllaceae Families, *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 9(2): 175-199.
- Yurdagel, Ü. ve Baysal, T.**, 1996, Helva Yapımında Çöven Kökü ve Meyan Kökünün Kullanımı. *Gıda Teknolojisi*. 1(2):35-37.
- Williams, F. N.**, 1989, Revision of the forms of the Genus *Gypsophila* L., *Jown Bot. Lond.* 27, 321- 329.

## 6. ÖZGEÇMİŞ



**Ad Soyad** : Suna KAYIHAN  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : ANTAKYA- 05.09.1985  
**Adres** : Çamlaraltı Mahallesi 6083 Sokak No:14 Kat:1  
**Lisans Üniversite** : Pamukkale Üniversitesi