

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

***Viburnum opulus* ve *V. orientale* BİTKİ EKSTRAKTLARININ KİMYASAL
BİLEŞİMİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Öğretmeni Nesibe ARSLAN BURNAZ

**AĞUSTOS 2007
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

***Viburnum opulus* ve *V. orientale* BİTKİ EKSTRAKTLARININ KİMYASAL BİLEŞİMİ
VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**

Kimya Öğretmeni Nesibe ARSLAN BURNAZ

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“Yüksek Lisans (Kimya)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 09.08.2007
Tezin Savunma Tarihi : 27.08.2007**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Murat KÜÇÜK
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Sevgi KOLAYLI
Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Ahmet ALVER**

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Emin Zeki BAŞKENT

Trabzon 2007

ÖNSÖZ

‘*Viburnum opulus ve V.orientale* Bitki Ekstraktlarının Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktiviteleri’ adlı bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Her şeyden önce bana bu konuda çalışma olanağı sağlayan ve çalışmamı başından sonuna kadar sürekli takip edip, çalışmam boyunca bana araştırma zevki ve bilimsel düşünce disiplini aşılama için uğraş veren, tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam Sayın Doç. Dr. Murat KÜÇÜK’e teşekkür etmek isterim.

Araştırmam sırasında yardımlarını esirgemeyen hocam, Sayın Doç. Dr. Sevgi KOLAYLI’ya ve bana emeği geçen diğer hocalarıma minnettar olduğumu belirtmek isterim.

Tez çalışmam süresince laboratuvarının imkanlarını kullanma fırsatını sağladığı ve gerekli madde ve malzeme konusunda yardımlarını esirgemediği için, KTÜ Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Nurettin YAYLI’ya ayrıca teşekkür ederim.

Ayrıca, numunelerimin GC-MS analizlerini yapan Sayın Arş. Gör. Ahmet YAŞAR’a; antimikrobiyal aktivite analizlerini yapan Sayın Yrd. Doç. Ömer ERTÜRK’e; bitkilerin toplanmasında ve mineral analizlerinin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Öğr. Gör. Dr. Celal Duran’a ve Sayın Arş. Gör. Ali GÜNDOĞDU’ya teşekkür etmek isterim.

Diğer yandan, Arş. Gör. Esra ULUSOY’a, Arş. Gör. Emine Akyüz’e, Arş. Gör. Arife Pınar EKİNCİ’ye ve tüm laboratuvar arkadaşlarıma desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tüm çalışmam boyunca bana anlayış gösteren ve destek veren sevgili eşim Arş. Gör. Oğuz BURNAZ’a, araştırmam süresince manevi desteklerini esirgemeyen annelerimize ve son olarak çalışmama destek olmasa da sevgisini eksik etmeyen kızıma müteşekkire olduğumu belirtir, çalışmamın vatana ve millete yararlı olmasını gönülden dilerim.

Nesibe ARSLAN BURNAZ

Trabzon, 2007

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	VI
SUMMARY.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	XII
SEMBOLLER DİZİNİ.....	XIII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar.....	2
1.2.1. Serbest Radikaller ve Etkileri.....	5
1.2.2. Serbest Radikallerin Temizlenmesinde Etkili Moleküller.....	7
1.3. Biyoaktif Fenolik Bileşikler.....	11
1.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	19
1.4.1. MDA Oluşumunun İnhibisyonu Yöntemi.....	19
1.4.2. Demir (III) İndirgeme / Antioksidan Kuvvet (FRAP) Yöntemi.....	20
1.4.3. Tiyosiyanat Yöntemi.....	20
1.4.4. Floresans Sönme Zamanı Yöntemi.....	21
1.4.5. Toplam Fenolik Madde Tayini Yöntemi.....	21
1.4.6. Toplam Antioksidan Cevap (TAR) Tayin Yöntemi.....	21
1.4.7. Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) Yöntemi.....	22
1.4.8. DPPH• Radikali Temizleme Aktivitesi Yöntemi.....	22
1.4.9. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) Yöntemi.....	23
1.4.10. Bakır (II) İndirgenme Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi.....	23
1.5. Antimikrobiyal Maddeler.....	24
1.5.1. Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri.....	25
1.5.2. Antimikrobiyal Tayin Yöntemleri.....	25
1.6. Doğal Bileşik Çalışmalarında Kullanılan Kromatografik Yöntemler.....	26
1.7. Çalışılan Bitkilerin Özellikleri.....	32

1.7.1.	<i>Viburnum opulus</i> L. Bitkisinin Özellikleri.....	32
1.7.2.	<i>Viburnum orientale</i> P. Bitkisinin Özellikleri.....	35
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	37
2.1.	Kullanılan Cihazlar.....	37
2.2.	Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasallar.....	37
2.3.	Bitkilerin Toplanması ve Ekstraktların Hazırlanması.....	39
2.3.1.	Soxhlet Ekstraksiyonu.....	39
2.3.1.1.	Kloroformla Soxhlet Ekstraksiyonu.....	40
2.3.1.2.	Metanolla Soxhlet Ekstraksiyonu.....	41
2.3.2.	Sulu Ekstraktların Hazırlanması ve Uçucu Yağ Eldesi.....	41
2.3.3.	Ekstraksiyon Çözücülerinin Uçurulması.....	42
2.3.4.	Numune Konsantrasyonlarının Belirlenmesi ve Stok Çözeltilerin Hazırlanması.....	43
2.4.	Antioksidan Aktiviteler.....	46
2.4.1.	Toplam Fenolik Madde Miktarları.....	46
2.4.2.	DPPH• Radikal Temizleme Aktivitesi.....	47
2.4.2.1.	IC ₅₀ Değerlerinin Bulunması.....	47
2.4.3.	Demir (III) İndirgeme /Antioksidan Kuvvet (FRAP) Değerleri.....	48
2.5.	Antimikrobiyal Aktivite.....	49
2.6.	Uçucuların GC-MS Analizleri.....	50
3.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	51
3.1.	Antioksidan Aktiviteler.....	51
3.1.1.	Toplam Fenolik Madde Miktarları.....	51
3.1.1.1.	Sulu Ekstraktlarda Toplam Polifenol Madde Miktarları.....	51
3.1.1.2.	Metanol Ekstraktlarında Toplam Polifenol Madde Miktarları.....	52
3.1.2.	DPPH• Radikal Temizleme Aktiviteleri.....	53
3.1.2.1.	Sulu Ekstraktlarda DPPH• Radikal Temizleme Aktiviteleri.....	54
3.1.2.2.	Kloroform Ekstraktlarında DPPH• Radikal Temizleme Aktiviteleri.....	59
3.1.2.3.	Metanol Ekstraktlarında DPPH• Radikal Temizleme Aktiviteleri.....	65
3.1.3.	Demir (III) İndirgeme Kuvveti.....	69
3.1.3.1.	Sulu Ekstraktlarda Demir (III) İndirgeme Kuvveti.....	70
3.1.3.2.	Metanol Ekstraktlarında Demir (III) İndirgeme Kuvveti.....	71
3.2.	Antimikrobiyal Aktivite.....	72

3.3.	Kromatografik Analiz Bulguları.....	74
4.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	84
5.	KAYNAKLAR.....	86
	ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

Organizmada, kimyasal süreçler, özellikle oksitlenme, serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Serbest radikaller yaşam için gereklidir; fakat yüksek derecede reaktif olan serbest radikaller biyomoleküllerle kolayca reaksiyona girerek hücrelere zarar verebilecek toksik özellikte bileşikler oluşturabilir. Antioksidanlar serbest radikallerle etkileşerek serbest radikallerin hücrelere zarar vermelerini önlerler. Günümüzde antioksidan özelliği keşfedilen birçok farklı madde vardır. Bu maddelerin bir kısmını vücut kendisi, serbest radikallere karşı bir savunma sistemi olarak üretirken, bir kısmını diyetimizle özellikle bitlilerden alırız. Bu çalışmada amacımız öncelikle *Viburnum opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin sulu, kloroformlu ve metanollü ekstraktlarının antioksidan aktivitesini incelemek ve bitkilerin kimyasal bileşimlerini belirlemektir. *V. opulus* bitkisi Yozgat'tan, *V. orientale* bitkisi Ardahan'dan toplanmıştır. Bitkilerin sulu ve metanollü ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri gallik asit ve kateşin standartlarıyla; sulu, kloroformlu ve metanollü ekstraktlarının DPPH radikal temizleme aktiviteleri Trolox® ve askorbik asit standart antioksidanlarıyla; sulu ve metanollü ekstraktların demir (III) indirgeme/antioksidan kuvveti (FRAP) Trolox® standardı ile karşılaştırmalı olarak incelendi. Tüm ekstraktlar aynı zamanda antimikrobiyal aktivite açısından da incelendi.

Bitkilerin sulu ekstraktlarından Clevenger aparatıyla elde edilen uçucu yağlar GC-MS ile analiz edildi.

Metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği sulu ekstraktlardan daha yüksek bulundu. Metanol ve sulu ekstraktların antioksidan aktiviteleri kloroform ekstraktlarından daha yüksek bulundu. Bazı sulu ekstraktların FRAP değerleri Trolox®'dan yüksek bulundu. Uçucu yağlarda ve sulu ekstraktlarda antimikrobiyal aktivite gözlenmezken metanollü ve kloroformlu ekstraktlarda belli mikroorganizmalara karşı önemli derecede antimikrobiyal aktivite gözlemlendi. Özellikle kloroform ekstraktları standart antibakteriyel ajanlar olan Ampicillin ve Cephazolin'den daha iyi antimikrobiyal aktivite göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Viburnum opulus*, *V. orientale*, antioksidan, antimikrobiyal, fenolik, GC-MS.

SUMMARY

Chemical Composition of *Viburnum opulus* and *V. orientale* Extracts and Their Biological Activities

Chemical processes, especially oxidation, cause formation of free radicals in organisms. Free radicals are necessary for life, but highly reactive free radicals can form toxic compounds that can damage cells by reacting easily with biomolecules.

Antioxidants prevent cell damages from free radicals by interacting with them. Antioxidant properties of lots of different substances are discovered recently. While the body produces a number of these substances against free radicals as a defense system, we take many others especially from plants. The aim of this study was to investigate the antioxidant activity of methanolic, chloroform and aqueous extracts of *Viburnum opulus* and *V. orientale* and to determine chemical composition. *V. opulus* plant was collected from Yozgat and *V. orientale* was collected from Ardahan. DPPH radical scavenging antioxidant activities of the aqueous, chloroform and methanolic extracts were evaluated by comparing with Trolox® and ascorbic acid.

Total phenolic substance contents of aqueous and methanolic extracts of the plants were evaluated by comparing with standard antioxidants, gallic acid and catechin. DPPH radical scavenging antioxidant activities of the extracts were evaluated by comparing with Trolox® and ascorbic acid. The Ferric III reducing/antioxidant power (FRAP) of aqueous and methanolic extracts were evaluated by comparing with Trolox®. All of the extracts were also tested for antimicrobial properties.

The essential oils obtained by Clevenger apparatus from aqueous mixtures of plants were analysed with GC-MS.

Total phenolic substance contents of methanolic extracts were found higher than that of aqueous extracts. The antioxidant activities of the methanolic and aqueous extracts were found higher than chloroform extracts. FRAP values of some aqueous extracts were higher than Trolox®. While the antimicrobial activity was not observed in aqueous extracts and essential oils, methanolic and chloroform extracts showed good antimicrobial activity against the test microorganisms. Chloroform extracts showed better antimicrobial activity than Ampicillin and Cephazolin.

Key words: *Viburnum opulus*, *V. orientale*, antioxidant, antimicrobial, phenolic, GC-MS.

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Serbest radikallerin hücresel hedefleri.....	6
Şekil 2. Antioksidanların sınıflandırılması.....	8
Şekil 3. E vitamini (5,7,8-Trimetiltokol [α -Tokoferol])' nin formülü.....	10
Şekil 4. BHT (2,6 di-tert-butil-4 metil fenol [Bütillenmiş hidroksitoluen])'nin oluşumu.....	10
Şekil 5. Flavonoidlerin temel yapısı (a) ve bazı substituentleri (b).....	12
Şekil 6. Flavonoidlerin kimyasal yapısı.....	13
Şekil 7. Diyetlerde yaygın olarak bulunan fenolik bileşiklerin yapıları.....	14
Şekil 8. Demir (III)'ün indirgenme reaksiyonu.....	20
Şekil 9. 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS ⁺) radikalinin formülü.....	22
Şekil 10. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalinin formülü.....	23
Şekil 11. Genel bir gaz kromatografi sistemi (GC).....	27
Şekil 12. Alev iyonizasyon dedektörü (FID).....	29
Şekil 13. <i>Viburnum opulus L.</i> bitkisinin görünümü.....	33
Şekil 14. <i>Viburnum orientale P.</i> Bitkisinin görünümü.....	36
Şekil 15. Soxhlet düzeneği.....	40
Şekil 16. Clevenger düzeneği.....	42
Şekil 17. Döner vakum evaporatörü.....	43
Şekil 18. Toplam fenolik madde tayini yönteminde gallik asitin konsantrasyon-absorbans grafiği.....	51
Şekil 19. <i>V. opulus</i> ve <i>V. orientale</i> bitkilerinin yaprak, çekirdek, zar ve odunsu dal kısımlarının sulu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları	52

Şekil 20. <i>V. opulus</i> ve <i>V. orientale</i> bitkilerinin yaprak, çekirdek, zar ve odunsu dal kısımlarının metanolik ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları.....	52
Şekil 21. <i>V. opulus</i> ve <i>V. orientale</i> bitkilerinin yaprak, çekirdek, zar ve odunsu dal kısımlarının metanolik ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları.....	53
Şekil 22. <i>V. opulus</i> 'un yaprak kısmının sulu ekstraktının (VOKYS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi	54
Şekil 23. <i>V. orientales</i> 'nin yaprak kısmının sulu ekstraktının (VOAYS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	54
Şekil 24. <i>V. opulus</i> 'un çekirdek kısmının sulu ekstraktının (VOKCS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	55
Şekil 25. <i>V. orientales</i> 'nin çekirdek kısmının sulu ekstraktının (VOACS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	55
Şekil 26. <i>V. opulus</i> 'un odunsu dal kısmının sulu ekstraktının (VOKOS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	56
Şekil 27. <i>V. orientale</i> 'nin odunsu dal kısmının sulu ekstraktının (VOAOS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	56
Şekil 28. <i>V. opulus</i> 'un meyve suyunun (VOKMS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	57
Şekil 29. <i>V. orientale</i> 'nin meyve suyunun (VOAMS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	57
Şekil 30. Troloks ve C vitamini standartları ile <i>V. opulus</i> ve <i>V.orientale</i> bitkilerinin yaprak, zar, çekirdek ve odunsu dal kısımlarının sulu ekstraktlarının IC ₅₀ değerleri	58
Şekil 31. DPPH• radikali temizleme aktivitesi yönteminde standart olarak kullanılan Troloks'un konsantrasyon-absorbans grafiği.....	59
Şekil 32. DPPH• radikali temizleme aktivitesi yönteminde standart olarak kullanılan C vitamininin konsantrasyon-absorbans grafiği.....	59
Şekil 33. <i>V. opulus</i> 'un yaprak kısmının kloroform ekstraktının (VOKYK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	60
Şekil 34. <i>V. orientale</i> 'nin yaprak kısmının kloroform ekstraktının (VOAYK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	60
Şekil 35. <i>V. opulus</i> 'un zar kısmının kloroform ekstraktının (VOKZK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	61
Şekil 36. <i>V. orientale</i> 'nin zar kısmının kloroform ekstraktının (VOAZK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	61
Şekil37. <i>V. opulus</i> 'un çekirdek kısmının kloroform ekstraktının (VOKCK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	62
Şekil 38. <i>V. orientale</i> 'nin çekirdek kısmının kloroform ekstraktının (VOACK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	62

Şekil 39. <i>V. opulus</i> 'un odunsu dal kısmının kloroform ekstraktının (VOKOK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	63
Şekil 40. <i>V. orientale</i> 'nin odunsu dal kısmının kloroform ekstraktının (VOAOK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	63
Şekil 41. Troloks ve C vitamini standartları ile <i>V. opulus</i> ve <i>V. orientale</i> bitkilerinin yaprak, zar, çekirdek ve odunsu dal kısımlarının kloroform ekstraktlarının IC ₅₀ değerleri.....	64
Şekil 42. <i>V. opulus</i> 'un yaprak kısmının metanolik ekstraktının (VOKYM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	65
Şekil 43. <i>V. orientale</i> 'nin yaprak kısmının metanolik ekstraktının (VOAYM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	65
Şekil 44. <i>V. opulus</i> 'un zar kısmının metanolik ekstraktının (VOKZM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	66
Şekil 45. <i>V. orientale</i> 'nin zar kısmının metanolik ekstraktının (VOAZM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	66
Şekil 46. <i>V. opulus</i> 'un çekirdek kısmının metanolik ekstraktının (VOKCM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	67
Şekil 47. <i>V. orientale</i> 'nin çekirdek kısmının metanolik ekstraktının (VOACM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	67
Şekil 48. <i>V. opulus</i> 'un odunsu dal kısmının metanolik ekstraktının (VOKOM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	68
Şekil 49. <i>V. orientale</i> 'nin odunsu dal kısmının metanolik ekstraktının (VOAOM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi.....	68
Şekil 50. Troloks ve C vitamini standartları ile <i>V. opulus</i> ve <i>V. orientale</i> bitkilerinin yaprak, zar, çekirdek ve odunsu dal kısımlarının metanol ekstraktlarının IC ₅₀ değerleri.....	69
Şekil 51. Fe(III) indirgeme kuvveti (FRAP) yönteminde standart olarak kullanılan Askorbik asitin konsantrasyon-absorbans grafiği.....	70
Şekil 52. Troloks standardının ve sulu ekstraktların ve meyve sularının Fe(III) indirgeme kuvvetleri (FRAP).....	70
Şekil 53. Fe(III) indirgeme kuvveti (FRAP) yönteminde standart olarak kullanılan Askorbik asitin konsantrasyon-absorbans grafiği.....	71
Şekil 54. Troloks standardının ve metanollü ekstraktların Fe(III) indirgeme kuvvetleri (FRAP).....	71
Şekil 55. <i>V. opulus</i> bitkisinin yaprak kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOKYY) GC-MS kromatogramları.....	74
Şekil 56. <i>V. orientale</i> bitkisinin yaprak kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOAYY) GC-MS kromatogramları.....	74
Şekil 57. <i>V. opulus</i> bitkisinin çekirdek kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOKCY) GC-MS kromatogramları.....	75

Şekil 58. <i>V. orientale</i> bitkisinin çekirdek kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOACY) GC-MS kromatogramları.....	75
Şekil 59. <i>V. opulus</i> bitkisinin odunsu dal kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOKOY) GC-MS kromatogramları.....	76
Şekil 60. <i>V. orientale</i> bitkisinin odunsu dal kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOAOY) GC-MS kromatogramları.....	76

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Denemelerde kullanılan cihazlar.....	37
Tablo 2. Çözeltiler ve hazırlanışları.....	37
Tablo 3. Kimyasallar ve satın alındıkları firmalar.....	38
Tablo 4. Numune kodları.....	39
Tablo 5. Kloroform ve metanol ekstraktlarının belirlenen konsantrasyonları.....	43
Tablo 6. Kloroform ve metanol ekstraktlarının stok çözelti konsantrasyonları.....	44
Tablo 7. Sulu ekstraktların, meyve sularının ve uçucu yağların bilinen konsantrasyonları.....	45
Tablo 8. Sulu ekstraktların, meyve sularının ve uçucu yağların stok çözelti konsantrasyonları.....	45
Tablo 9. Sulu, kloroformlu ve metanollü ekstraktların, esansiyel yağların ve meyve sularının antimikrobiyal aktivite tayini sonuçları (500 µg/mL).....	73
Tablo 10. VOKYY ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri.....	77
Tablo 11. VOAYY ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri.....	78
Tablo 12. VOKCY ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri.....	79
Tablo 13. VOACY ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri.....	80
Tablo 14. VOKOY ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri.....	81
Tablo 15. VOAoy ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri.....	83

SEMBOLLER DİZİNİ

AAS	: Atomik Absorbsiyon Spektrometresi
ABTS	: 2,2'-azino-bis-(3-etilbenziazolin-6-sülfonik asit)
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
β -PE	: β -fikoeritrin
CAT	: Katalaz
CE	: Kateşin eşdeğeri
GC	: Gaz Kromatografisi
CGC	: Kapiler Gaz Kromatografisi
CGC-MS	: Kapiler Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometrisi
CI	: Kimyasal iyonlaştırma
CoA	: Koenzim A
Cu	: Bakır
CUPRAC	: Bakır (II) İndirgenme Antioksidan Kapasitesi
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DPPH	: 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
e^-	: Elektron
ECD	: Elektron Yakalama Dedektör
EI	: Elektron İmpakt İyonlaştırma
Fe	: Demir
Fe^{+2}	: Ferro demir
Fe^{+3}	: Ferri demir
FID	: Alev İyonlaşma Dedektörü
FRAP	: Demir (III) İndirgeme Kuvveti
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GC	: Gaz Kromatografisi
GC-MS	: Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometrisi
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSH-R	: Glutasyon redüktaz
GST	:Glutasyon-S-transferazlar
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
HPLC	: Yüksek-Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC ₅₀	: %50 İnhibisyon konsantrasyonu
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
MDA	: Malondialdehit
MeOH	: Metanol
MIC	:Minimum inhibisyon konsantrasyonu
MS	: Kütle Spektrometrik Dedektör
MLT	: Melatonin
Na ₂ CO ₃	: Sodyum bi karbonat
NaOH	: Sodyum hidroksit

NO ₂ ⁺	:Nitronyum iyonu
NO ₂ •	:Azot dioksit
nm	: Nanometre
O ₂ ^{-•}	: Süperoksit
O ₂ •	: Süperoksit radikali
OH	: Hidroksil
OH•	: Hidroksil radikali
ppm	: Milyonda bir kısım
RNA	: Ribo nükleik asit
RO•	: Alkoksil radikali
ROO•	: Peroksil radikali
RS•	: Tiyol radikalleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TPTZ	: 2,4,6-tripiridil- <i>s</i> -triazin
Troloks®	: 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
UV	: Ultraviyole
UV-VIS	: Ultraviyole- Görünür Bölge
V	: Volt
VIS	: Görünür
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Vücudumuz normal fonksiyonları için enerji üretirken, her saniye milyonlarca serbest radikal oluşmasına neden olur. Çevre kirliliği, kimyasal maddeler, petrokimya ürünleri, sanayi atıkları, ilaçlar, güneşin UV ışınları, ozon kozmik ışınlar, X-ışınları, virüsler, enfeksiyon, stres, sigara dumanı ve otomobil egzoz gazları gibi pek çok etken vücudumuzdaki serbest radikallerin sayısını sürekli olarak ve tahmin edemeyeceğimiz kadar artırır (Sies, 1991). Modern gıdalar, yüksek şeker, yağ miktarı yüksek gıdalar, alkol ve hatta yoğun egzersizler de oksijen kullanımındaki artışla beraber vücudumuzdaki serbest radikallerin miktarının artmasına neden olmaktadır. Serbest radikaller, vücuttaki somatik hücrelere ve bağışıklık sistemine saldırarak onları oksidasyonla hasara uğratan moleküllerdir. Antioksidanlar da; hücrelere zarar veren bu serbest radikallerle reaksiyona girip onları etkisiz hale getirerek, kanser ve kalp hastalıkları dahil pek çok hastalığa ve erken yaşlanmaya neden olabilecek zincir reaksiyonları engelleyen veya etkilerini azaltan moleküllerdir. Son yıllarda sentetik antioksidanların yan etkilerinin görülmeye başlamasıyla; besin kimyası ve koruyucu tıbbın, bitkisel kaynaklı -ve insan organizması için genellikle zararsız olup, yan etkileri bulunmayan- doğal antioksidanlara ilgisi artmıştır. Artan bu ilgi, tüm dünyada bitkisel tedavinin desteklenmesine de zemin oluşturmuştur (Rice-Evans vd., 1997). Doğal antioksidanlar; flavonoidler başta olmak üzere sinamik asit türevleri, kumarinler, tokoferoller, organik asitler gibi bitkilerde ikincil metabolit olarak oluşan fenolik maddelerdir (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999; Harborne, 1994).

Fenolik bileşikler antioksidan olarak, insan vücudundaki çeşitli nedenlerle oluşmuş serbest radikalleri temizleme yeteneğine sahiptirler. Ayrıca, ağır ve radyoaktif metalleri şelatlama ve otooksidasyonu önleme konusunda da fenolik bileşikler oldukça etkilidirler. Başka bir deyişle bunlar, çeşitli reaktif oksijen türlerini hücrelerden uzaklaştırarak metabolizmayı zinde tutarlar (URL-1, 2006).

Fenolik bileşikler veya polifenoller bitkilerde çeşitli meyve, sebze, kuruyemiş, tohum, çiçek, kök ve gövde kısımlarında doğal olarak sentezlenen maddelerdir (Wollgast ve Anklam, 2000).

Bu çalışmada, Kayseri'den toplanan *Viburnum opulus* ve Ardahan'dan toplanan *V. orientale* bitkilerinin çeşitli kısımlarının farklı çözücülerdeki ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra elde edilen esansiyel yağlarının kimyasal bileşik içeriği de araştırıldı. Bu çalışmada ayrıca, bitkilerin çeşitli kısımlarında mineral analiz çalışmaları gerçekleştirildi.

1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Vücudumuzda kanser ve kalp gibi hastalıklar için bir savaş veriyoruz. Kontrol edilmesi gereken düşmanlardan biri de serbest radikallerdir. Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom, molekül veya iyonlardır.

Kuantum kimyasına göre bir bağın yapısına ancak iki elektron girebilir. Ayrıca bu iki elektronun ters spinli olması gerekir. Yani elektronlardan biri saat yönünde dönerken diğeri tersi yönde döner. Bu şekilde bir araya gelmiş elektron çiftleri oldukça kararludur ve insan vücudunda neredeyse tüm elektronlar elektron çifti halinde bulunur.

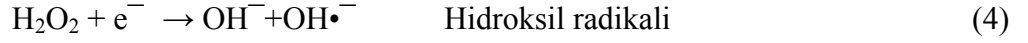
Bir bağ koptuğunda elektronlar ya birlikte aynı atoma katılır ya da ayrılarak biri bir atoma, diğeri öbür atoma katılır. Eğer birlikte kalırlarsa oluşan atom bir iyon olur, eğer ayrılırlarsa serbest radikaller oluşur. Serbest radikalleri oluşturan bu eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjilidir ve eşleşmiş elektronları ayırıp işlerine engel olurlar. Bu işlem serbest radikalleri hem tehlikeli hem de kullanışlı yapar (URL-2, 2007).

Bir serbest radikal, çift halde bulunan elektronların çoğunu birbirinden ayırarak reaksiyonu durdurur. Ama sonuçta serbest radikal kendine bir elektron alarak elektron çifti haline geçer, diğerelektronsa yeni bir serbest radikal oluşturur (URL-2, 2007).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijen kaynaklı olanlarıdır. Bu radikaller, oksijenin suya indirgenmesi sırasında tek e^- aktarması sonucunda oluşan; oksijenin kendisi (singlet oksijen), süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir (Akkuş, 1995).

Moleküler oksijenin bir e^- almasıyla süperoksit ($O_2\bullet$), iki e^- almasıyla hidrojen peroksit (H_2O_2), üç e^- almasıyla hidroksil ($OH\bullet$) radikali, dört e^- almasıyla ise su (H_2O) oluşmaktadır.





Singlet oksijen (O_2), ortaklanmamış e^- u olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi, bu reaksiyonların başlamasına da sebep olur. Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller ($\text{R}\cdot$), peroksil radikalleri ($\text{ROO}\cdot$), alkoksil radikalleri ($\text{RO}\cdot$), tiyol radikalleri ($\text{RS}\cdot$) gibi önemli serbest radikaller meydana gelir.

Süperoksit radikali, oksijenin bir e^- olarak indirgenmesi sonucu meydana gelir.



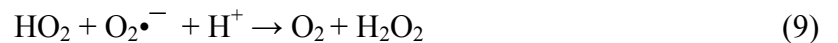
Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte, kendisi tek başına zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksitin nitrik oksit ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir.



Peroksinitritin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit ($\text{NO}_2\cdot$), hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$) ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi farklı toksik ürünlere dönüşürler. Süperoksit radikali kuvvetli bir indirgeyici ajandır. Özellikle hem grupları, Fe-S grupları ile ve prostetik grup olarak geçiş metalleri (Fe, Cu gibi) içeren gruplarla etkileşim gösterir.



Süperoksit radikali süperoksit dismutaz (SOD) ile mutasyona uğrayarak hidrojen peroksiti oluşturur.



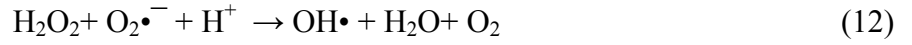
Hidrojen peroksit, moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki e^- alması veya süperoksidin bir e^- alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü, iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) meydana getirir.



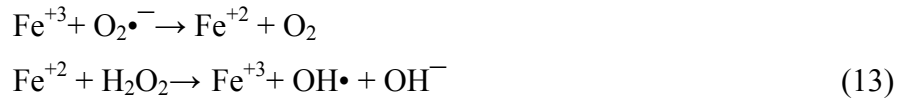
Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur.



Hidrojen peroksit, süperoksit ile reaksiyona girerek en aktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturur. Bu reaksiyona “Haber-Weiss” reaksiyonu adı verilir.



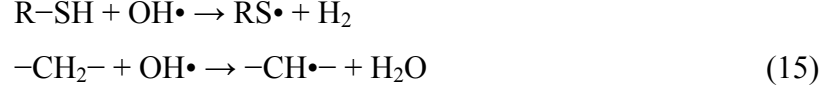
Metallerin varlığında ise aynı reaksiyon geçiş metalleriyle “Fenton reaksiyonu” sonucu oluşur.



Hidroksil radikali ($OH\bullet$), bütün oksijen radikalleri içinde en aktif ve toksik etkili olanıdır. Proteinler, karbonhidrat, lipid ve nükleik asitleri okside etme yeteneği fazladır, olduğu yerde büyük hasara sebep olur. Hidroksil radikali ($OH\bullet$) hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu) ya da suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur.



Hidroksil radikali, tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşumuna sebep olur.



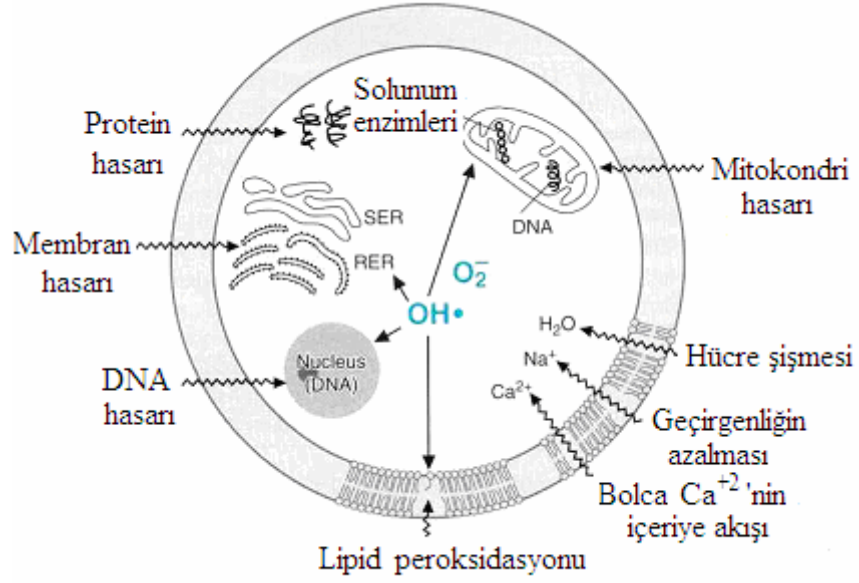
1.2.1. Serbest Radikaller ve Etkileri

Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron taransferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Ama, eğer zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olur. Nitekim, serbest radikallerin biyomoleküllerle reaksiyona girerek oluşturdukları bileşikler çoğu kez toksik özellik taşımaktadır. Serbest radikallerin yaşlanma ve dejeneratif hastalıklara neden olduğu 1954'lerden beri bilim adamları tarafından bilinmektedir (URL-2, 2007).

Serbest radikaller oldukça reaktif moleküllerdir. Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler. En temel etkileri, lipid peroksidasyonu, proteinler arasında disülfit bağı oluşumu ve DNA hasarıdır.

Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve membranda bulunan poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Lipid peroksil radikalleri (süperoksit radikali, hidroksil radikali, peroksil radikali ve alkoksil radikali) lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarının başlatıcılarıdır (URL-3, 2007)

Serbest radikaller, hücre zarındaki lipidlerden birine saldırdığında lipid molekülü değişime uğrar. Bu değişim bitkisel yağların acılaşmasına sebep olan küçük bir değişikliktir. Lipitler vücutta değişime uğradığında; hücre zarının yapısı ve fonksiyonları da zarara uğrar. Bunun sonucunda hücre zarı gıdaların, oksijenin ve suyun uzun süreli olarak transferini yapamaz, harcanan ürünlerin atılmasını düzenleyemez (URL-4, 2007).



Şekil 1. Serbest radikallerin hüresel hedefleri

Serbest radikal saldırısının devamı, hücre zarının yapısında bulunan lipidlerin parçalanmasına, bitki zarının yırtılmasına ve hücre bileşenlerinin dağılmasına sebep olur. Hücre içi bileşenlerin hücre dışına akması etraftaki dokulara da zarar verir. Serbest radikal saldırısı ve hücre zarının tahribatı "Oksidatif Zarar" olarak adlandırılır.

Serbest radikallerin dokularda meydana getirdiği zararın, damar sertliği (arteroskleroz) ve kalp hastalıklarının başlıca nedeni olduğu düşünülmektedir.

Serbest radikallerin proteinler üzerine olan etkileri, proteinlerin serbest radikal hasarına karşı duyarlılığına, aminoasit bileşimine, protein aktivasyonundan veya yapısal düzenlenmesinden sorumlu aminoasitlerin yerleşimine ve hasarlı proteinin onarılabiliğine bağlıdır. Hücredeki enerji üretim merkezi (mitokondri), serbest radikallerin saldırısı ile zedelenir. Bu merkezdeki oksidatif hasar, enerji üretimi ve protein sentezinin urmasına sebep olur. Protein yapısında bulunan özellikle prolin, histidin, arginin, sistein ve metiyonin aminoasitleri radikal hasarına açıktır. Bu aminoasitlerin oksidasyonu, proteinlerin parçalanmasına, çapraz bağ oluşumuna, agregasyona ve proteinlerin proteolitik parçalanmaya yatkın hale gelmesine neden olmaktadır.

Serbest radikaller aynı zamanda hücrelerin genetik kodunu içinde taşıyan, hücrenin üretimini ve büyümesini sağlayan nükleik asitlere (DNA) de etki eder. Hücreler genetik kodları değiştiğinde ölebilirler. İyonize radyasyondan kaynaklanan hücre mutasyonları ve ölüm, serbest radikallerin DNA ile olan reaksiyonuyla oluşabilir. Serbest radikal

reaksiyonları sonrasında nükleik asitlerde baz değişimleri, DNA'da zincir kırılmaları meydana gelir. Tamir sistemlerindeki yetersizlik sonucu mutasyonlar meydana gelir.

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle çeşitli ürünler meydana gelir ve bunlar, çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksidler ve okzoaldehidler meydana gelir. Bunlar diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik olaylarda önemli rol oynarlar (Kayalı ve Çakatay, 2004). Okzoaldehidler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturabilme özelliklerinden dolayı antimikotik etki gösterirler. Böylece, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (Yılmaz ve Ozan, 2003).

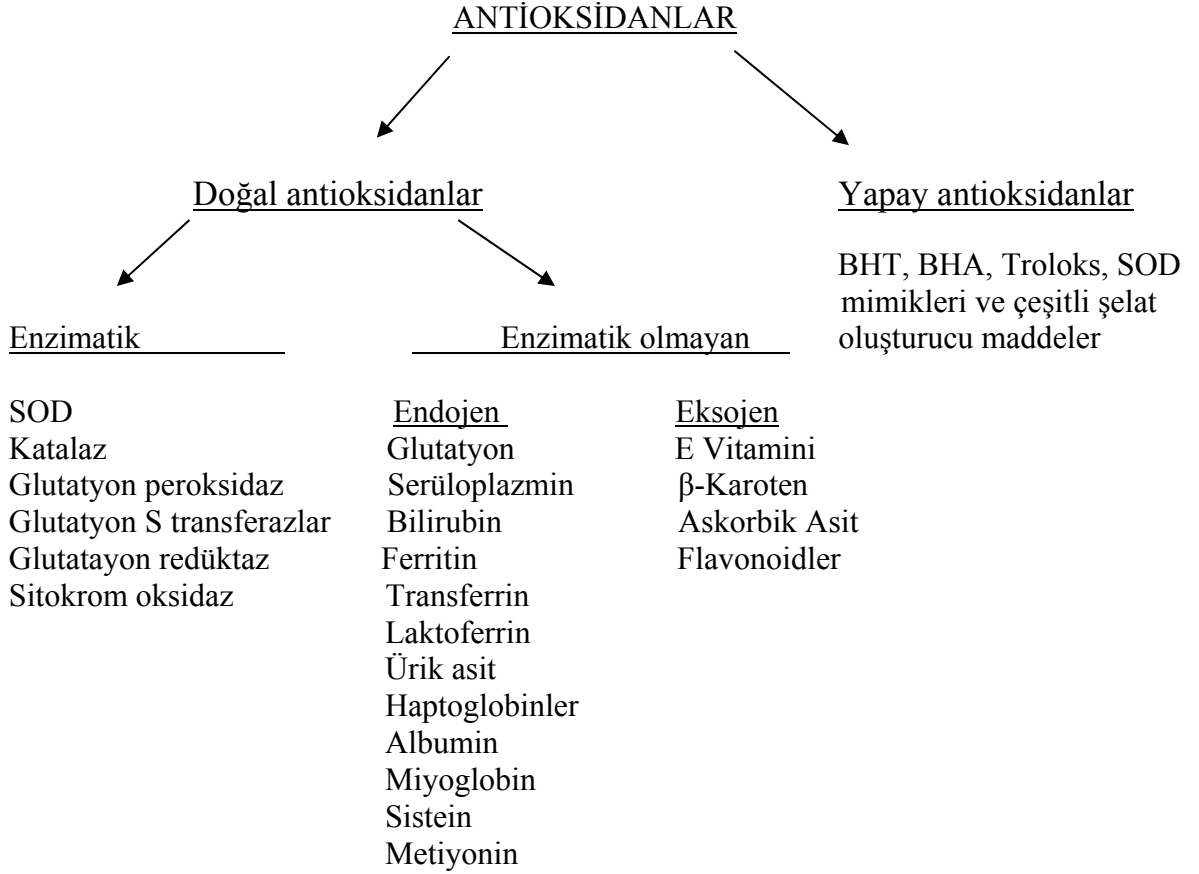
Serbest radikallerin hücredeki bu etkileri sonucu pek çok hastalığın oluşabildiği düşünülmektedir. Vücudumuz serbest radikalleri tanıyan ve etkisiz hale getiren bir sisteme sahiptir. Bu sistem, 'antioksidan savunma sistemi' olarak bilinir.

1.2.2. Serbest Radikallerin Temizlenmesinde Etkili Moleküller

Antioksidanlar, hücrelere zarar veren serbest radikallerle reaksiyona girip onları etkisiz hale getirerek, kanser dahil pek çok hastalığa ve erken yaşlanmaya neden olabilecek zincir reaksiyonları önleyen, yok eden veya etkilerini azaltan moleküllerdir.

Antioksidanları öncelikle doğal antioksidanlar ve yapay antioksidanlar (ilaçlar) şeklinde sınıflandırmak daha doğru olacaktır. Doğal antioksidanlar, endojen ve eksojen antioksidanlar olarak iki gruba ayrılabilir. Endojen antioksidanlar, enzimler ve enzim olmayanlardır. Katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve hidroperoksidaz enzimlere; melatonin, seruloplazmin, transferin ve miyogloblin ise enzim olmayanlara örnek olarak verilebilir. Endojen antioksidanlar buldukları ve etkinliklerini yerine getirdikleri yerlere göre de hücre içi (intraselüler), membranal ve hücre dışı (ekstraselüler) antioksidanlar olarak üç sınıf altında toplanabilir.

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanlarıdır. Vitamin olan eksojen antioksidanlar; *α-tokoferol* (vitamin E), *β-karoten*, Askorbik asit (vitamin C) ve Folik asit (folat) tir. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar; ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri ve Troloks örnek olarak verilebilir. Gıdalardaki yapay antioksidanlar ise; butillenmiş hidroksitoluen (BHT), butillenmiş hidroksianisol (BHA), sodyum benzoat, etoksikuin ve propilgalattır.

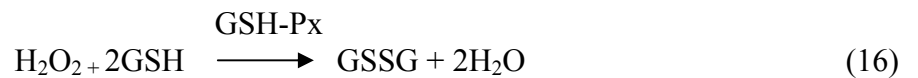


Şekil 2. Antioksidanların sınıflandırılması

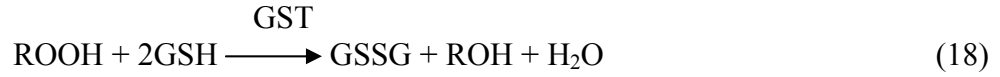
Enzimatik antioksidanlardan süperoksit dismutaz (SOD), organizmada substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzim olup oksijenin hidrojen peroksit dismutasyonunu katalizler.



Katalaz (CAT), yüksek konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksitin dismutasyonunu katalizler. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), hücre içinde düşük konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerini indirger.



Glutasyon redüktaz (GSH-R), yükseltgenmiş glutasyonun (GSSG), indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüşümünü sağlar. Glutasyon-S-transferazlar (GST), başta araşidonik asit ve lineloat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı, selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.

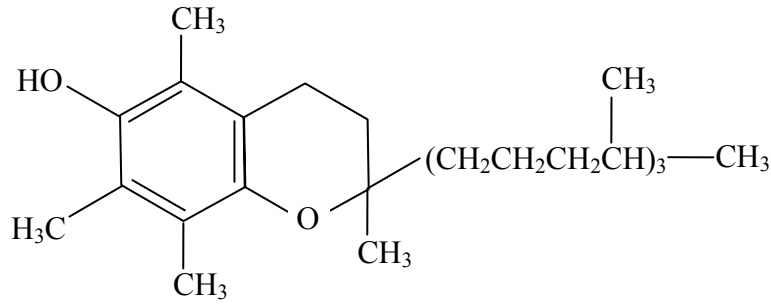


Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi ise solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi ($\text{O}_2^{\bullet-}$) detoksifiye eder (Akkuş, 1995).

Enzimatik olmayan endojen antioksidanlardan glutasyon (GSH) bir peptit olup hücre içinde en önemli antioksidan moleküldür ve hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur. Melatonin (MLT) en zararlı serbest radikal olan hidroksil serbest radikalini ($\text{OH}\bullet$) ortadan kaldıran güçlü bir antioksidandır ve günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Ürat; hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijeni temizler ve C vitamininin oksidasyonunu engelleyici etkisi vardır. Bilirubin, süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır. Albümin LOOH ve HOCl toplayıcısıdır ve plazma osmotik basıncını düzenler. Aynı zamanda kan, bilirubin, hormon, aminoasit, steroid, yağ asitleri ve ilaçların taşınmasında rol oynar.

Seruloplazmin ferroz demiri (Fe^{+2}) ferrik demire (Fe^{+3}) yükseltgeyerek Fenton reaksiyonunu ve böylece hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder.

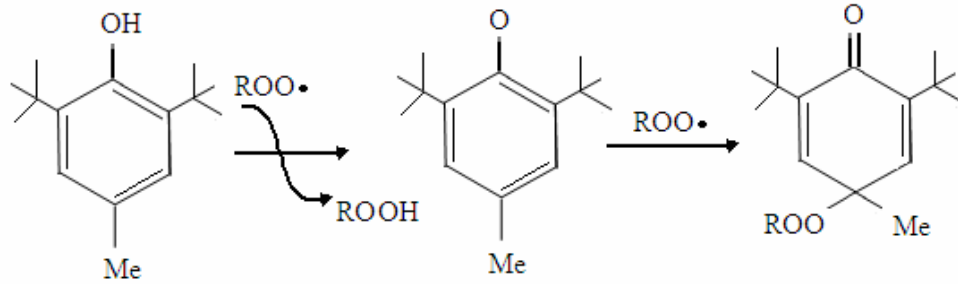
Glutasyon (GSH), bilirubin, radikal tutucu özelliği ile ürik asit, albumin, bakır iyonlarını bağlayarak metal katalizli reaksiyonları sınırlayan seruloplazmin, hemoglobin, ferritin aynı zamanda hücre içi antioksidanlardır (Meister ve Anderson, 1983; Dündar ve Aslan, 2000). Süperoksit radikali dışında diğer bir indirgeyici hücre sel ajan olan askorbik asit (C vitamini), zincir kırıcı antioksidan etki gösteren ve okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve glutasyon tarafından yeniden indirgenebilen α - *tokoferol* (E vitamini), radikal toplayıcı etkisi bulunan β -*karoten* (A vitamini) ve polifenoller gibi moleküller insan ve hayvan organizmasında sentezlenemeyen bitkiler tarafından sekonder metabolit olarak üretilen maddeler olup radikallerin temizlenmesinde ve zincir reaksiyonlarının durdurulmasında son derece etkili birer antioksidandırlar ve etkinliklerini enzimatik olmayan yolla sürdürürler (Chen vd., 1988; Edge vd., 1997). Bunlardan E ve A vitaminleri membranda bulunan antioksidanlardır.



Şekil 3. E vitamini (5,7,8-trimetiltokol [α -tokoferol])' nin formülü

Süperoksit anyonunun temizlenmesinde en etkili antioksidan süperoksit dismutaz (SOD) enzimi olup glutasyon, flavonoidler ve çeşitli polifenoller de etkin rol oynamaktadır.

Sentetik olarak üretilen ve çoğunlukla antioksidan aktivite tayinlerinde standart olarak kullanılan Trolox, rutin, butillenmiş hidroksi toluen (BHT), butillenmiş hidroksi anisol (BHA) gibi antioksidanlar da vardır. Peroksi radikaliyle iki aşamada etkileşerek onu çok daha az reaktif ürünlere dönüştüren 2,6 di-tert-butil-4 metil fenol (butillenmiş hidroksi toluen [BHT]) önemli sentetik antioksidandır.



Şekil 4. BHT (2,6 di-tert-butil-4 metil fenol [butillenmiş hidroksitoluen])'nin peroksil radikali ile reaksiyonu

Süper antioksidan haplar, Japon eriği, kokusuz sarımsak, mavi-yeşil alg (yosun), havuç, portakal ve badem konsantreleri ilave edilmiş 'Activin' üzüm çekirdeği ekstresinden oluşan bir bitkisel karışım olup A, C, E vitaminleri, selenyum, çinko ve kalsiyum mineralleri de içermektedir. Ayrıca ürünü oluşturan doğal bitki özleri, vitaminler ve mineraller antioksidan etkileri bilinen ve bu amaç için kullanılan özel maddelerdir (Dündar ve Aslan, 2000). Bir başka karışım ise ABD'den ithal edilmekte olan ve nar kapsülü olarak adlandırılan, ticari adı 'PomGT' olan ürün şeker, gluten, yapay aromalar, renklendirici ve koruyucu katkı maddeleri içermeyip 1 kapsülünde 8 fincan yeşil çay ve 2 bardak nar suyu

bulunduran antioksidan haptır. Son yıllarda üretilen bu tür haplar yapay antioksidanlara birer örnektir.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler. 1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler. 2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler. 3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobun, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler. 4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir (URL-3, 2007).

1.3. Biyoaktif Fenolik Bileşikler

Bitkiler, yüzyıllardan beri tüm dünyada gıdaların tad ve aromasının artırılmasında (Shelef, 1983), gıdalardaki istenmeyen kokuların giderilmesinde (Giese, 1994) ve hepsinden önemlisi de tedavi amaçlı olarak kullanılmıştır. Uzun yıllar geleneksel olarak devam eden bu kullanım şekilleri, 20. yüzyılın başından itibaren değişime uğramış, tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin çeşitli özellikleri laboratuvarlarda araştırılmaya başlanmıştır (Dığrak vd., 1998). Tıbbi bitkiler konusunda bilimsel araştırmalar arttıkça, bitki türlerine ve bileşenlerine ilgi de bir hayli artmıştır.

Bitkiler tarafından sentezlenen bazı moleküller;5 karbohidratlar, proteinler ve yağların sentezinden sonra ikincil metabolizma ürünleri olup, mikroorganizmalara karşı insektisit ve herbisit olarak serbest radikallere karşı koruyucu rol oynarlar. Bunlar "fitokimyasallar" diye de adlandırılırlar. Fitokimyasallar, özellikle sebze ve meyvelerdeki fenolikleri, flavonoidleri ve karotenoidleri kapsarlar.

Fenolik bileşikler altı üyeli aromatik halkaya direkt bağlı bir hidroksil grubu (-OH) içeren ve bu hidroksil grubundan bir hidrojen kaybetmeye meyilli, zayıf asidik, aromatik bileşiklerdir. Fenolik bileşikler antioksidan olarak, insan vücudundaki çeşitli nedenlerle oluşmuş serbest radikalleri temizleme kabiliyetine sahiptirler. Ayrıca, ağır ve radyoaktif metalleri şelatlama ve otooksidasyonu önleme konusunda fenolik bileşikler oldukça etkilidirler. Diğer bir deyişle bunlar, çeşitli reaktif oksijen türlerini (serbest oksijen,

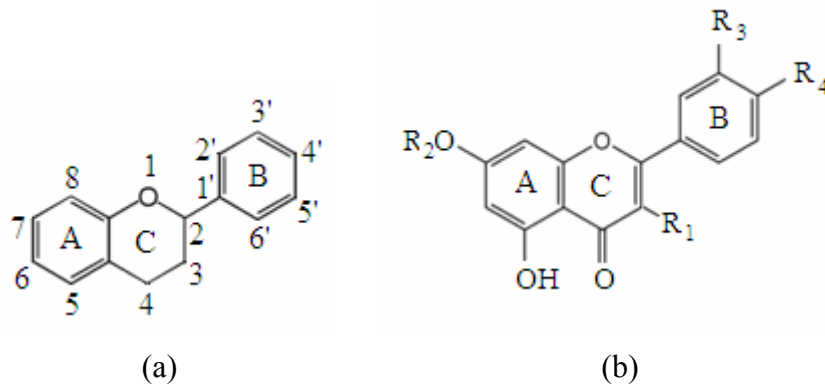
peroksinitrit ve hidrojen peroksiti) hücrelerden uzaklaştırarak metabolizmayı zinde tutarlar (URL-1, 2006).

Fenolik bileşikler veya polifenoller, en fazla bitkilerde bulunan yapılardan biri olup bitki aleminde 6000'den daha fazla fenolik yapının bilindiği belirtilmektedir (Bravo, 1998). Fenolik maddeler, meyve, sebze, baharat, tahıl ve içecekler gibi bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır (Tosun İ. ve Karadeniz B., 2005). Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılabilir. Bunlar çok önemli antioksidanlar olup, bitkisel gıdaların tüketilmesiyle sağlığa olan pozitif etkileri artırılabilir.

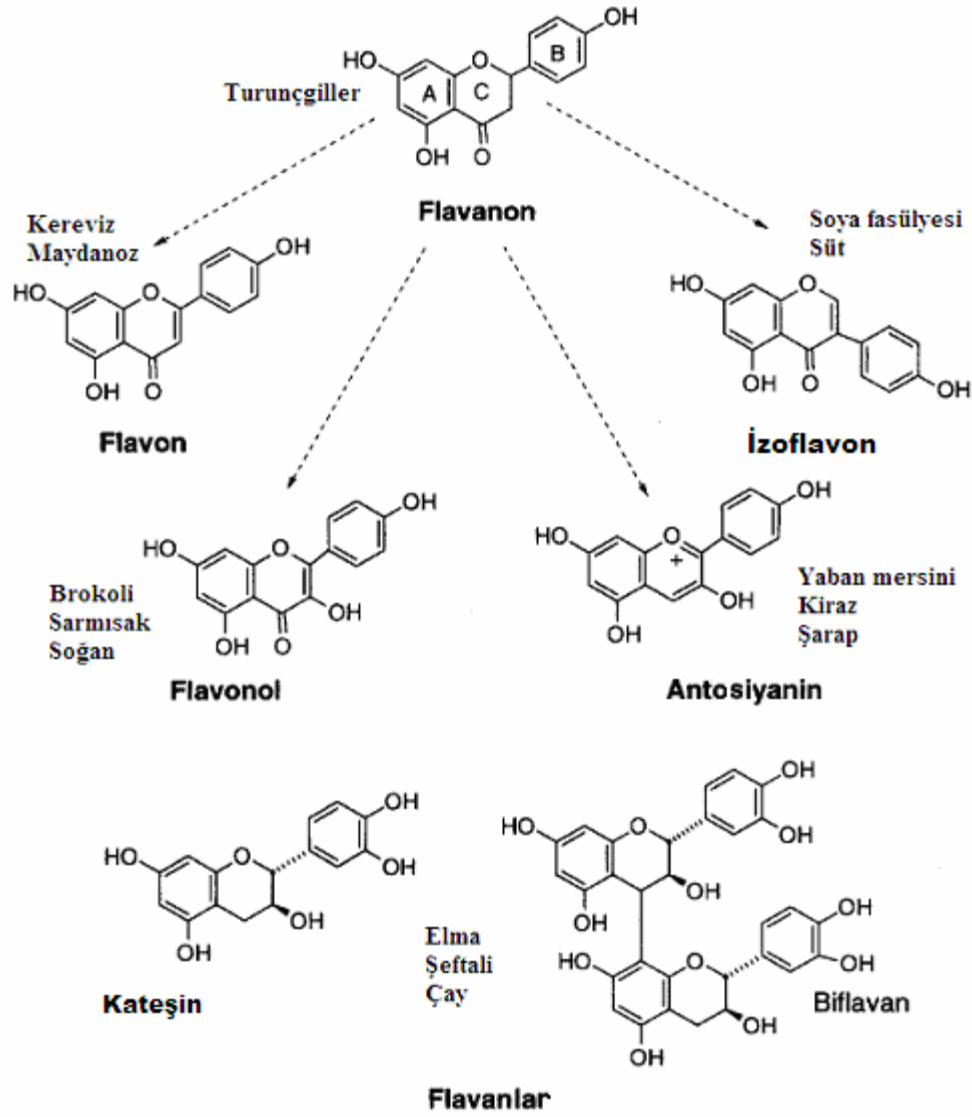
Fenolik asitler yaygın olarak bitki taç kısmında bulunur ve antioksidan karaktere sahiptir. Başlıca fenolik asitler gallik asit, protokatekuik asit, *p*-hidroksibenzoik asit ve vanilik asit gibi hidroksibenzoik asitler ve ferulik asit, kafeik asit ve kumarik asit gibi hidroksi sinamik asitleri içerir.

Flavonoidler insanlar tarafından sentezlenemeyen bitki fitokimyasallarıdır. Flavanoidler, özellikle meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan fenolik maddelerin (renk maddelerinin) C₆-C₃-C₆ çatısına sahip olanlarına verilen addır.

Flavonoidlerin tümü C₆-C₃-C₆ yapısındadır, ancak moleküldeki hidroksil (OH) grubu sayısı ve dağılımı açısından farklıdırlar. A halkası üç karbonlu bir bileşik olan malonil-CoA (sinamik asit) dan sentezlenirken, C ve B halkaları şikimat ve fenilpranoid metabolik yolu üzerinden yine glukozdan sentezlenir. Fenil halkalarının propan zincirine farklı pozisyonlarda bağlanmasıyla, bir başka deyişle, içerdikleri C halkasındaki değişimlere göre altı ana alt gruba ayrılabilir: flavanonlar, flavonlar, flavonoller, antosiyanidinler, flavanlar, izoflavonoidler.

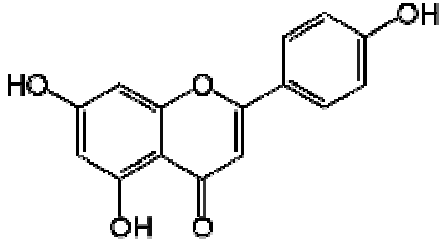


Şekil 5. Flavonoidlerin temel yapısı (a) ve bazı substituentleri (b)

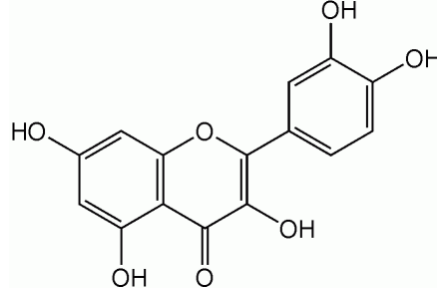


Şekil 6. Flavonoidlerin kimyasal yapısı

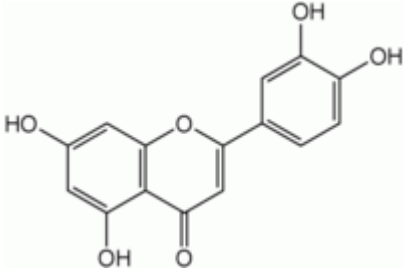
Genel olarak, flavanonlar turunçgil meyvelerde, flavonlar baharatlarda, izoflavonoidler baklagillerde, antosiyanin ve kateşinler meyvelerde, flavonoller tüm meyve ve sebzelerde bulunur.



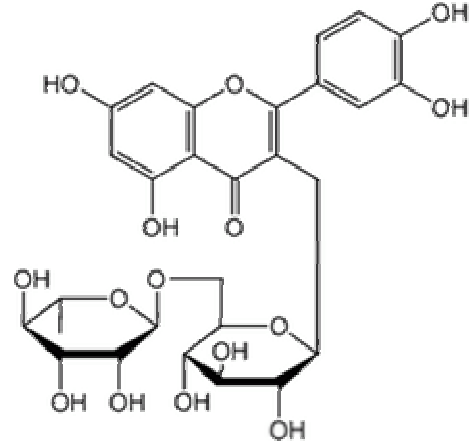
Apigenin
(Flavon)



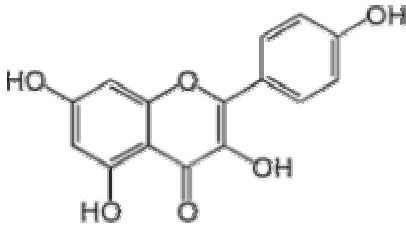
Kuersetin
(Flavonol)



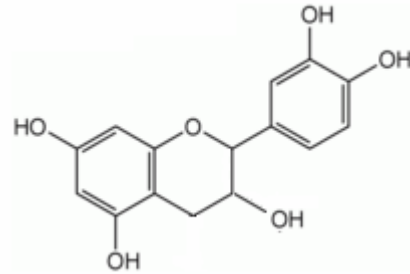
Luteolin
(Flavon)



Rutin



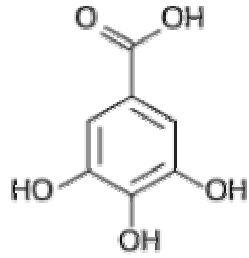
Kaempferol
(Flavonol)



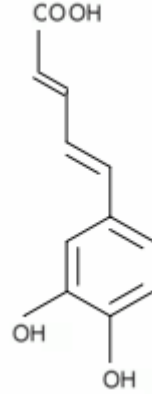
Kateşin
(Flavanol)

Şekil 7. Diyetlerde yaygın olarak bulunan fenolik bileşiklerin yapıları

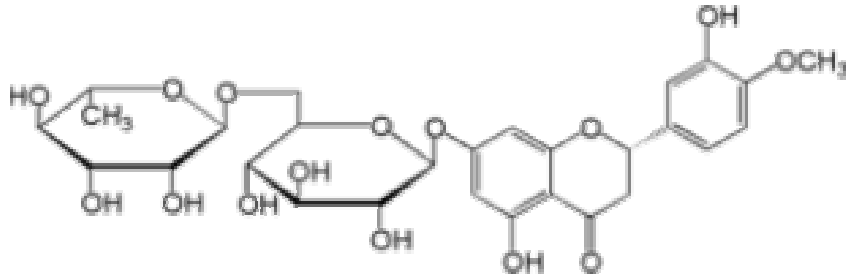
Şekil 7'nin devamı



Gallik Asit
(Hidroksibenzoik asit türevi)



Kafeik Asit
(Sinnamik asit türevi)



Hesperidin
(Flavanon)

Flavononlar renksizdirler ve özellikle; taksifolin, naringin, naringenin, eriodiktol ve hesperitinle temsil edilirler. Birçok gıda flavon ve flavonol içermesine rağmen; kimyon, yaban çileği, meyan kökü, nane ve turunçgil meyveler flavanon içerirler. Flavanonların asıl kaynağı turunçgil meyveler ve sularıdır. Yaban çileği ve kızılıcıkta narirutin ve naringenin glikozitleri; kimyon ve nanede hesperidin bulunur.

Flavonlar, meyvelerde pek bulunmayan fakat tahıl (arpa, buğday, mısır vb.) ve baharatlarda (nane vb.) bulunan flavonoid sınıfıdır. Flavonlar, soluk-sarı renklidir. Esas flavonlar; apigenin ve luteolinlerdir. Maydonoz apigenin ve chryseriol içerir. Biberiye ve kekik gibi baharatlar flavon içerir. Luteolin, en fazla tahıl ve baharatlarda bulunur. Sebzelerde ve sebze yapraklarında, luteolin glikozitleri ve apigenin mevcuttur.

Glikozillenmiş flavonlar, acı maddelerin acılığını azaltır. Flavonlardan neodiosmin; limonin, naringin, kafein, kuinin ve sakkarinin acılığını azaltır.

Flavonoller ve glikozitleri çoğunlukla meyvelerin dış kısmında bulunur. En çok bilinen flavonoller kuersetin ve kaempferoldür. Kuersetin, birçok meyve, sebze ve içecekte bulunur. Diyetimizdeki en önemli flavonoiddir ve özellikle soğan ve çayda bolca bulunur. Kuersetin, luteolin ve galangin yapılarındaki farklılığa rağmen kuvvetli antioksidan olarak bilinirler. Kuersetin ve rutin lipoprotein oksidasyonunu inhibe ederek, hücreyi okside LDL'den gelen zarara karşı korur. Rutin, ufak kan damarlarının hücre aralarını yapıştırır ve kanın damarın dışına sızmasını önler. Rutinde, bir aktif madde olan P vitamini vardır ki, kan damarları iltihaplanınca ve kan akmasının durdurulmasında yardımcı olur; kan pıhtılaşmasını artırır; radyoaktif maddelerin etkisiyle damarların esnekliği zayıflamışsa, onun düzelmesini sağlar. Bunun yanı sıra rutin, gistamine karşı da etkilidir. Rutin damarların daralmasına giderir ve kalp kaslarının artırır. O yüzden flavonlar, zehirlenen kalbin atması zayıflayınca sık uygulanır.

Kaempferol, genellikle meyve ve lifli sebzelerde bulunur. Ayrıca bazı taneli-kabuksuz-yumuşak meyvelerde (çilek, kiraz vb.), baharatlarda, baklagillerde ve köklü sebzelerde bulunur.

İzohamnetin ve miresitin de flavonoller arasında yer alır. İzohamnetin, soğan ve şeftalide bulunur. Miresitin ise özellikle taneli-kabuksuz-yumuşak meyvelerde, mısır ve çayda bulunur.

İzoflavonoidler, östrojenik aktivitesi iyi bilinen farklı bir flavonoid sınıfıdır ve çoğunlukla baklagillerde bulunur. 'B' halkası oryantasyonuyla yapısal olarak genel flavonoidlerden ayrılır. Bunlar: İzoflavanonlar, İzoflavonlar ve İzoflavonollerdir. En iyi bilinen izoflavonoidler Daidzein ve Genisteindir. Soya fasülyesi; fasülye, yeşil bezelye ve yonca filizlerinde bulunan daidzein ve genisteinin ana kaynağıdır. Soya ürünleri insanlarda LDL oksidasyonunu azaltmada etkin bulunmuştur.

Bilinen diğer izoflavonoidler biokanin A ve formononetindir. Fasülyelerde, bezelyelerde, ayçiçeği tohumlarında, alfalfa filizlerinde ve yonca filizlerinde bulunur.

Antosiyaninler, taneli-kabuksuz-yumuşak meyvelerde, kiraz ve erikte, patlıcan, kırmızı lahana ve turpta kırmızı ve mavi rengi üretir. Antosiyanin rengi pH'a bağlıdır. Antosiyanin genellikle, pH 3.5'te kırmızıdır, pH artışıyla önce renksizleşir ve sonra maviye döner.

Antosiyaninler, yenilebilir tahıllarda, köklerde ve yeşil sebzelerde bulunmasına rağmen özellikle meyvelerle ilişkilidir. Elma, armut, ayva, kayısı, erik ve şeftali gibi çekirdekli

meyvelerin kabuğunda; taneli-kabuksuz- yumuşak meyvelerin hem kabuğunda, hem de etli kısmında bulunur. İçecekler ve diğer besin maddeleri için renklendirici ajan olarak kullanılırlar. Bir de farmasötik ürünlerin boyanmasında kullanılırlar. Test edilen antosiyaninlerin çok yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Örneğin, antosiyaninlerin üzüm kabuğundan izole edilen ekstaktı çok iyi antioksidatif aktivite göstermiştir.

Flavanlar, yapısal ve adlandırma olarak karmaşık flavonoidlerdir. Bunlar: kateşinler, leukoantosiyaninler, proantosiyaninler ve tanninlerdir. Flavanlar renksizdirler. Kateşinler (flavan-3-ol), çayda bolca bulunur. Diğer kateşin kaynakları kırmızı şarap ve çikolatadır. Monoflavanlar, olgun meyvelerde ve taze yapraklarda bulunur. Flavanlar çayda bol miktarda bulunur. Turunçgil kabuklarında bulunan flavonoidlere, 'bioflavonoidler' denir. Biflavanlar ve triflavanlar meyve ve tahıllarda bulunur. Elma, böğürtlen, kuşüzümü, yabanmersini, üzüm, şeftali ve çilekte bulunur.

Geleneksel tıpta, son yirmi beş yılda flavonoidlere karşı ilgi artmış ve gerçekleştirilen çalışmalar sonucu flavonoidlerin yapıları ile antioksidan aktiviteleri arasında yakın bir ilişki olduğu bulunmuştur. Örneğin; flavonoid yapısında C-4' pozisyonunda hidroksil grubunun bulunması antioksidan aktiviteyi artırırken, serbest 4'-OH grubunun metoksil grubu ile substitue olması aktiviteyi önemli derecede azaltır. Bu durum göz önüne alındığında kuersetin, luteolin, kateşin ve rutin antioksidan olarak etkili flavonoidlerdendir. Yapılan araştırmalarda, flavonoidlerin sadece antioksidan aktiviteye değil, aynı zamanda birçok biyokimyasal ve farmakolojik aktivitelere sahip oldukları belirlenmiştir (Guliyev ve Harmandar, 2000; Hausteen, 2002).

Flavonoidlerden kumarinler, molekülünde kokulu laktonlar mevcut olan maddelerdir. Kumarinler, kan pıhtılaşmasını önler, düz kasların kasılmasını azaltır ve ağrı kesici, yatıştırıcı ve idrar söktürücü özelliklere sahiptir. Kumarinli maddelerin en önemlisi, dihidroksikumarindir (dikumarol). Geperin gibi o da karaciğerdeki protrombin biyosentezini azaltır.

Rutin, kuersetin, kaempferol, miresitin ve hiperin de idrar sökücü özelliğine de sahiptir. Flavonoidli maddeler, çeşitli nedenlerden kaynaklanan kan akmasını durdurur. Bu nedenle onlar, hipertoni, miyokart enfarktüsü, bronş astımı, şeker diyabeti ve alerji tedavisinde önemli bir yer tutar.

Flavonoidlerin antibakteriyal özelliğe sahip olduğu bulunmuştur. Örneğin, kuersetinin gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalara karşı güçlü bir etkisi vardır.

Flavonoidler üzerine birçok mutajenik çalışma da yapılmıştır. Flavonoid aglikonların önemli mutajenik aktivite gösterdikleri, özellikle kuersetin, miresitin, kaempferol ve tamariksetinin aktif mutajenler olduğu bulunmuştur. Kuersetin, insan metabolizmasında anti-karsinojenik ve anti-arterit özellik de gösterdiğinden üzerinde en çok çalışılan bileşiktir.

Bazı araştırmalar, kateşinlerin de antimutajenik ve antikarsinojenik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bu nedenle çay ekstraktları ve çay bileşenlerinin biyolojik aktivitelerinin incelenmesi için araştırmalar yürütülmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar flavonoidlerin oksidatif DNA zedelenmesini serbest radikal tutulması dışında mekanizmalarla önlediğini göstermektedir. Flavonoidlerin çoğu glutatyon-S transferazı (GST) aktive etme yeteneğine sahiptir.

Yapılan bazı araştırmalar ise quercetin ve türevlerinin doğal antioksidan olan α -tokoferole göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Flavonollerin yapısında bulunan hidroksil ve metoksil gruplarının antioksidatif aktiviteye katkıda bulunduğu da deneysel çalışmalarla kanıtlanmıştır.

Araştırmacılar çeşitli yöntemler ve test mikroorganizmaları kullanarak, bitkilerden elde edilen bileşiklerin mantarlara karşı özelliklerini ortaya çıkarmışlardır. bazı mantarlara karşı kuersetin, miresitin ve kaempferolün antifungal aktivitelerini karşılaştırmışlardır.

Genel olarak 'Flavonoidler' ve diğer bitki fenoliklerinin süperoksit, alkoksil, peroksil ve nitrik oksit gibi radikalleri temizleme, enzim aktivitelerini düzenleme, hücre çoğalmasını inhibe etme, demir ve bakır şelasyonu, μ -tokoferol rejenerasyonu foksiyonlarına ek olarak; vazodilatör, antibiyotik, immünstimulan, antiallerjik, antidiyareik, antiülser, östrojenik, antiviral ve daha birçok etkilerinin olduğu söylenebilir (Dillard CJ ve German JB., 2000; Rice-Evans C.A., vd., 1996).

Flavonoidler serbest radikalleri temizleme, güçlü antioksidan olma özelliklerinin yanı sıra hidrolitik ve oksidatif enzimler olan fosfolipaz-A2, siklooksijenaz, lipooksijenazın inhibisyonu ile antienflamatuvar özellik gösterirler. Ayrıca, ksantin oksidaz, glutatyon redüktaz, NADH-oksidad ve protein kinaz enzimlerini inhibe ettiklerine dair veriler mevcuttur (Çimen Y. ve Burak M., 1999).

Dünyada tedavi amaçlı olarak kullanılan bitki sayısının 20.000 civarında olduğu Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından rapor edilmiştir (Kalaycıoğlu ve Öner, 1994). Son zamanlarda bitkilerin maya, mantar ve bakterileri inhibe ettiği doğrulanmıştır (Shelef, 1983).

Bu çalışmada; *Viburnum opulus* ve *V. orientale* bitki ekstraktlarından, Clevenger düzeneği kullanılarak elde edilen uçucu (esansiyel) yağlardaki fenolik bileşiklerin karakterizasyonu GC-MS ile gerçekleştirilmiştir.

1.4. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

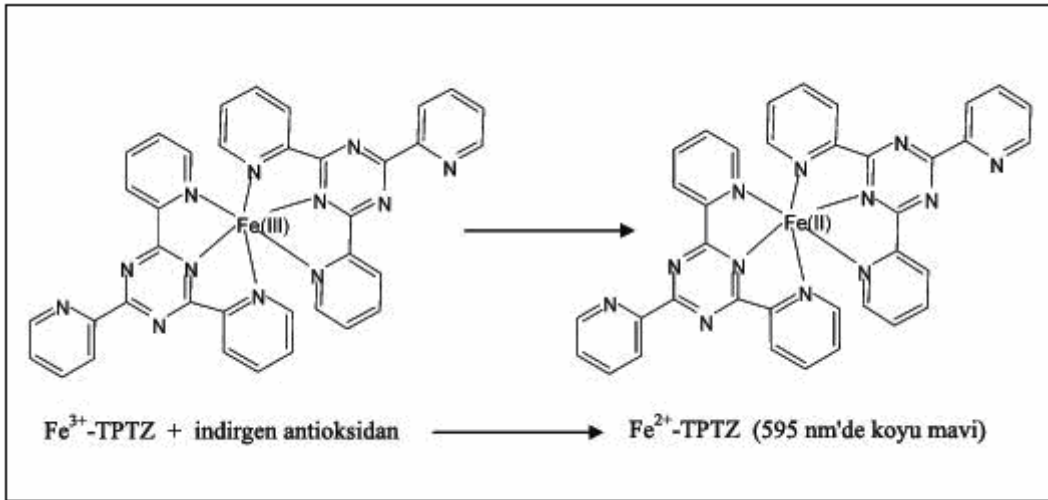
‘Oksidatif stres’ koşullarında serbest radikaller biyolojik makromoleküllerle etkileşerek çeşitli hastalıklara yol açtığından özellikle risk grubundaki bireylerin aldığı gıdalarda, bu serbest radikalleri gideren ,organizma tarafından sentezlenen ya da dışarıdan besinlerle alınan, antioksidanların toplamsal tayini önemlidir. Maddelerin bu amaçla kullanılabilirliğini belirlemek için birçok antioksidan tayin yöntemi geliştirilmiştir. Bunlar arasında en yaygın kullanılanları burada özetlenecektir.

1.4.1. MDA Oluşumunun İnhibisyonu Yöntemi

MDA, lipit peroksidasyonunun ikincil ürünlerinden en iyi bilinenidir ve hücre duvarı hasarının belirlenmesinde indikatör olarak kullanılabilir. Lipit peroksidasyonunun derecesinin belirlenmesi için kullanılan pek çok yöntem mevcuttur. Son yıllarda, Ohkawa vd., (1979)’nin ortaya koyduğu yöntemlerden biri bir miktar değiştirilerek uygulanmaktadır. Yöntem, karaciğer doku homojenatı, Fe^{+2} ve C vitamini muamele edilerek oluşturulan Fenton reaksiyon karışımında ortaya çıkan ve bir lipid peroksit ürünü olan MDA'nın sıcak ve asidik ortamda tiyobarbiturik asit ile renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan bu renkli kompleks 532 nm'de maksimum absorpsiyon gösterir. Tayinde antioksidan aktivite köre göre MDA oluşumunu %50 inhibe eden madde miktarları (IC_{50}) cinsinden verilir. %50 İnhibisyonu en az konsantrasyonda sağlayabilen madde miktarını veren madde antioksidan aktivite yönünden en etkili olanıdır. MDA oluşumunun engellenmesi antioksidan aktivitenin varlığını gösterir.

1.4.2. Demir (III) İndirgeme / Antioksidan Kuvvet (FRAP) Yöntemi

Oyaizu (1986) tarafından ortaya konan yöntemle göre indirgeme kuvveti özütün dolaylı olarak toplam indirgeme potansiyelini göstermekte olup $Fe^{+3} \rightarrow Fe^{+2}$ indirgenmesi ile meydana gelen renk değişimi 595 nm'de takip edilerek belirlenir. Sonuçlar, indirgeme potansiyeli yüksek ve aynı zamanda standart bir antioksidan madde olan askorbik asit ile karşılaştırılmak suretiyle yorumlanır. Güncel olarak kullanılan FRAP yönteminde 2,4,6-tripiridil-*s*-triazin (TPTZ)'in Fe(III) tuzu kullanılmaktadır. Bu yöntemle redoks potansiyeli 0.7 V'tan daha düşük olan bileşikler antioksidan olarak test edilebilmektedir. Polifenolik antioksidanlarda hidroksilasyon ve konjugasyonun miktarı bu yöntemde aktiviteyi etkilemektedir. FRAP yöntemi H transferi ile radikal temizleyen özellikle tiyol ve proteinlerin antioksidan kapasitesini ölçmemektedir.



Şekil 8. Demir (III)'ün indirgenme reaksiyonu

1.4.3. Tiyosiyanat Yöntemi

Bu yöntem linolenik asit, Tween-20 ve fosfat tamponu ile oluşturulan emülsiyon ortamında bulunan doymamış bir yağ asidi olan linolenik asidin 40 °C'de 140 saat oksijen ile inkübasyonunda oluşan lipid peroksidin miktarının ölçümüne dayanmaktadır. Yüksek absorbans düşük antioksidan aktiviteyi, düşük absorbans ise yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir. Ortamda bir antioksidan maddenin varlığında lipid peroksit ürünü oluşamaz ve konsantrasyonu, dolayısıyla absorbansı düşük çıkar.

1.4.4. Floresans Sönme Zamanı Yöntemi

Chang vd. (2001) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilmiştir. Silika jelden hazırlanmış ve floresans özelliğe sahip alüminyum-silikajel tabakalara numune (özüt) emdirilip kurutulduktan sonra plaka linolenik asit emülsiyonuna daldırılır, tamamen kurutulur ve UV-lamba (254 nm) altında bekletilir. Bu sırada oksijenin de etkisi ile linolenik asit emülsiyonunda önce kararmalar ve sonra parlak lekeler oluşur. Oluşan bu parlak lekelerin kaybolma zamanı antioksidan varlığına bağlıdır ve antioksidan maddenin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

1.4.5. Toplam Fenolik Madde Tayini Yöntemi

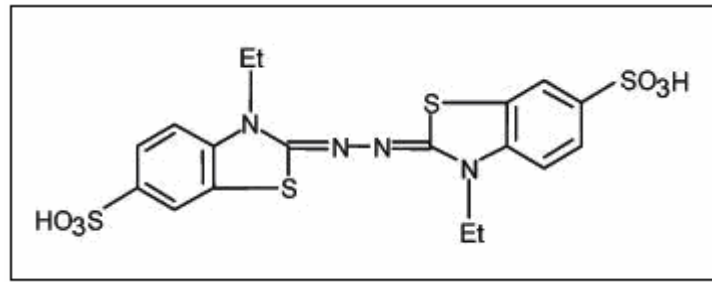
Bu yöntem, suda ve diğer organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin Folin reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan mor-menekşe renkli kompleks 700 nm'de maksimum absorbans oluşturur (Slinkard ve Singleton, 1977). Adı bunu yansıtmamasına rağmen, bu yöntem aslında numunenin indirgeme kapasitesini ölçer. Yani, bir antioksidan tayin yöntemidir.

1.4.6. Toplam Antioksidan Cevap (TAR) Tayin Yöntemi

Erel (2004) tarafından gerçekleştirilen bu yöntem, modifiye edilerek yapılmaktadır. Fe^{+2} -*o*-dianisidin kompleksinin standardize çözeltisi, standardize H_2O_2 çözeltisi ile Fenton tipi bir reaksiyon vererek OH^\bullet radikalini oluşturur. Oluşan bu kuvvetli ROS (reactive oxygen species = reaktif oksijen türleri) ler, radikal düşük pH'larda indirgenmiş renksiz *o*-anisidin moleküllerini, sarı-kahverengi dianisidil radikallerine yükseltir. Dianisidil radikalleri üzerinden başlayan bu oksidasyon sonucu dianisidil radikalleri de kendi aralarında reaksiyona girerek büyük kompleksler oluşturur, diğer oksidasyonlara neden olur ve zincirleme oksidasyon reaksiyonları gerçekleşerek renk giderek koyulaşır. Fakat ortama katılan ve antioksidan özellik gösteren bir madde bu oksidasyon reaksiyonlarını durdurmaya çalışır ve dolayısıyla rengin de koyulaşmasını engeller. Bu reaksiyon spektrofotometri ile 444 nm'de gözlemlenebilir. Renk oluşumunun bastırılması, Troloks ile ayarlanır.

1.4.7. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) Yöntemi

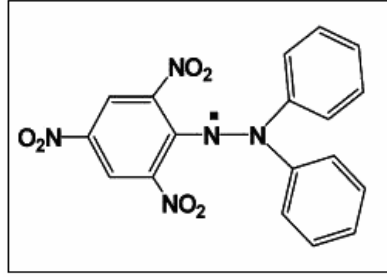
Bu yöntem, en yaygın radikalik reaktif olan $ABTS^{\bullet+}$ 'nin kullanılarak çeşitli maddelerin antioksidan kapasitelerinin trolox eşdeğer kapasite cinsinden belirlenmesi esasına dayanır (Apak vd., 2004). Yöntemde, ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) molekülünün H_2O_2 ve metmyoglobinle mavi-yeşil renkli $ABTS^{\bullet+}$ radikaline dönüşmesi ve bu dönüşümün 734 nm'de fotometrik olarak gözlenmesi esastır. Antioksidan varlığında bu dönüşüm engellenmektedir. Bu yöntem Özcan Erel (2004) tarafından geliştirilmiştir.



Şekil 9. 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) ($ABTS^{\bullet+}$) radikalinin formülü

1.4.8. DPPH• Radikali Temizleme Aktivitesi Yöntemi

DPPH• radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak satın alınabilen bir serbest radikal olup bu radikal 517 nm'de maksimum absorpsiyon göstermektedir (Cuendet vd., 1997). Antioksidanlarla muamele, DPPH•'tan kaynaklanan mor rengin şiddeti azalarak absorpsiyonun düşüşüne sebep olacaktır. Farklı numune konsantrasyonlarıyla muamele edilen DPPH•'ın absorpsiyonundaki değişim ölçülerek, absorpsiyonlara karşılık gelen konsantrasyonlarla grafik çizilmekte; grafikteki $y=ax+b$ denkleminde DPPH• konsantrasyonunu yarıya düşüren numune miktarı $\mu g/mL$ cinsinden belirlenmekte ve IC_{50} değeri olarak ifade edilmektedir. Bu yöntemin önemli bir dezavantajı, büyük antioksidan moleküllerin sterik engellenmeye maruz kalmaları nedeniyle inaktif olarak test edilmeleridir. Bu yöntemde, antioksidan molekülün yapısı ve boyutu test sonucunu etkilemektedir. Bu yöntem, radikal temizleme aktivite tayinlerinde kolaylığı ve kısa sürmesi nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır.



Şekil 10. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalinin formülü

1.4.9. Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC) Yöntemi

Bu yöntem β -fikoeritrin (β -phycoerythrin [β -PE]) adlı bir prob maddesinin floresansının, peroksil ve hidroksil radikalleri varlığında sönüme uğraması ve ortamdaki antioksidanların bu olayı geciktirmesine ilişkindir. β -PE'den kaynaklanan floresanstaki azalışın şiddeti onun peroksil radikalinden gördüğü hasarın miktarını göstermektedir. Numunedeki antioksidan floresanstaki bu düşüşü yavaşlatmakta ya da durdurmaktadır (Apak vd., 2004).

1.4.10. Bakır (II) İndirgenme Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi

CUPRAC yöntemi, diğer antioksidan aktivite tayin yöntemlerine göre daha hızlı, basit ve kullanışlıdır; radikal kromojen reaktiflerin pahalılık, güç temin edilebilirlik ve kararsızlık sorunlarından arınmıştır. Cu(II)-neokuproin reaktifi ılımlı bir yükseltgen olduğundan gıda maddelerinde bolca bulunan sitrat ve glukoz gibi bileşenlerle tepkime vermeksizin sadece antioksidanları yükseltger ve reaksiyon ürünü Cu(I)-neokuprin kelatının 450 nm'deki absorbansı okunarak sonuç verilir. Yöntem, tiyol (-SH) tipi antioksidanlarla çabuk ve net sonuçlara ulaşır. CUPRAC, fizyolojik pH'lara yakın olan pH=7 ortamında yürütülür; dolayısıyla fizyolojik koşulları yansıtma şansı daha fazladır. Uygun çözücü seçimiyle hem hidrofilik, hem de lipofilik antioksidanlar tayin edilebilir (Apak vd., 2005).

1.5. Antimikrobiyal Maddeler

20. yüzyılın başlarına kadar insan organizmasına zarar vermeden mikroorganizmaları etkilemenin imkansız olduğu düşünülüyordu. M.Ö 2500 yıllarında bilincinde olmadan antimikrobik tedavi yöntemleri kullanılmış ve bu devirde enfeksiyon hastalıkları tedavisinde kullanılan bitki kökleri, şarap ve küf gibi maddeler olumlu sonuçlar vermiştir.

1600'lü yıllarda Güney Amerika'da, insanlar cinchora bitkisinin kabuğunu yiyerek sıtmadan korunmuşlar, ipeka bitkisinin kök ekstresini kullanarak amipli dizanteri hastalığını tedavi etmişlerdir. Cinchora bitkisinin kabuğunda kinin, ipeka bitkisinin köklerinde ise emetin bulunduğu belirlenmiştir. 20. yüzyıldan itibaren patojen mikroorganizmalar hakkında bilgiler arttıkça enfeksiyon hastalıkları ile savaş da bilinçli olarak sürdürülmüştür.

1854-1915 yılları arasında Paul Ehrlich, bir arsenik bileşiği olan arsfenamin ile sifilizi, tripan kırmızısı boyası ile Afrika uyku hastalığını tedavi etmeyi başarmıştır. 1927 yıllarında Almanya'da kimya endüstrisi alanında çalışan Gerhard Domagk ve ekibi, çeşitli boyaların patojen bakterilere etkinliğini ve hayvanlardaki toksik etkisini araştırmaları sırasında, deri boyamada kullanılan prontosil kırmızısı adlı boyanın hayvanlara toksik olmadığını, stafilokok ve streptokoklara etkili olduğunu saptamışlardır ve bu bulgunun 1935 yılında yayınlanmasından bir yıl sonra prontosil kırmızısının vücutta sülfanilamide dönüştüğü ve antibakteriyel aktiviteyi bu maddenin sağladığı anlaşılmıştır.

1929 yılında S. Alexander Fleming tarafından bulunan ve bu yıllarda toksik etkileri nedeniyle kullanım alanına giremeyen penisilin 1940 yılında kullanılabilir hale Ernest Chain ve Howard Florey tarafından getirilmiştir. Penisilin 2. Dünya Savaşı'nda yara enfeksiyonlu birçok askerin hayatını kurtarmıştır. Son yıllarda antibakteriyel etki alanı daha genişlemiş ve toksik etkisi az olan, mikroorganizmaları öldürücü ya da mikroorganizmaların üremesini durdurucu etki gösteren birçok antibiyotik ve antibiyotiklerle benzer özelliklere sahip olup tümüyle sentetik olan (kimyasal yolla sentez edilen) kemoterapötik maddeler üretilmiştir.

1.5.1. Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri

Antimikrobiyal bir maddede olması gereken en önemli özellik seçici toksisitedir. Kemoterapide kullanılan antimikrobiyal madde düşük konsantrasyonlarda bile etkili olup çok az toksik olmalıdır. Böyle bir etkinin ortaya çıkabilmesi için antimikrobiyal maddenin hedef olarak memeli hücrelerinden çok mikroorganizmalar seçilmelidir. Bakteriler prokaryot, memeli hücreler ökaryottur. Prokaryot hücrede var olan, ancak ökaryot hücrede bulunmayan bir molekülü hedefleyen antimikrobiyal maddeler (örneğin; sefalosporinler, sülfonamidler...) yüksek derecede seçici toksisiteye sahiptir. Virüsler konak hücreye integre olduklarından, konağa zarar vermeden virüsü etkilemek olanaksızdır. Virüslere etkili ilaçların seçici toksitesinden hiç söz edilemez. Mantarlarda ökaryot hücre yapısında ve memeli hücrelerine benzerler. Bu nedenle antimikrobiyal maddeler için seçici toksiteden söz edilemez.

Antimikrobiyal maddeler etkili olabildikleri mikroorganizma cins sayısının az yada çok oluşuna bağlı olarak, dar yada geniş spektrumlu şeklinde tanımlanır. En dar spektrumlu maddeler enfeksiyona neden olan mikroorganizma üzerine etkili ve tedavide ideal antimikrobiyal maddeler olarak kabul edilir. Geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler konağın doğal bağışıklığında önemli rol oynayan ve ekolojik dengeyi sağlayan normal mikroorganizma florasını bozar. Fakat birçok patojenin birlikte etken olduğu enfeksiyonlarda yada mikrobiyoloji laboratuvarı sonuçlarının beklenemeyeceği acil durumlarda geniş spektrumlu antimikrobiyal maddeler (karbapenemler, kinolonlar...) kullanılır.

Bazı bakteri ve mantar türleri tarafından oluşturulan, mikrobisid veya mikrobiyostatik etki gösteren maddelere antibiyotik denir. Mikrobisid maddeler mikroorganizmaları öldürücü, mikrobiyostatik maddeler ise mikroorganizmaların üremesini durdurucu etki gösterirler.

1.5.2. Antimikrobiyal Tayin Yöntemleri

Günümüzde enfeksiyon hastalıkları, enfeksiyon etkeninin duyarlı bulunduğu en uygun antimikrobiyal madde ile tedavi edilir. Bunun için de, o hastalıkta etken mikroorganizmanın antibiyotiklere karşı gösterdiği duyarlılık deneyi sonuçlarından

faýdalanılır. Mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılığı, temelde iki farklı tayin yöntemi ile belirlenebilir.

1. Dilüsyon Yöntemi
2. Difüzyon Yöntemi

Dilüsyon yöntemi; antibiyotiklerin sıvı veya katı besiyerlerinde (agarlarda) bir seri halinde seyreltilmesi ve her bir seyreltme ortamına, duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli sayıda hücre içeren süspansiyonundan eşit miktarda ilave edilmesidir. Deney serileri uygun sıcaklıkta (35-37 °C'de) ve bakterinin üremesi için uygun süre (16-20 saat) bekletildikten sonra sonuçlar ile bakterinin üremesini durduran en az antibiyotik miktarı (minimum inhibisyon konsantrasyonu, MIC) belirlenir.

Difüzyon yönteminin esası belirli konsantrasyondaki antibiyotiklerin katı besiyerine difüze olması yani yayılmasıdır. Antibiyotikler genellikle kağıt disklere belli konsantrasyonlarda emdirilir ve bunlar antibiyotik kaynağı olarak kullanılır. Bu yöntem disk-difüzyon yöntemi olarak adlandırılır. Dilüsyon yönteminden farkı antimikrobiyal maddelerin bir tek konsantrasyonunun etkinliği denir.

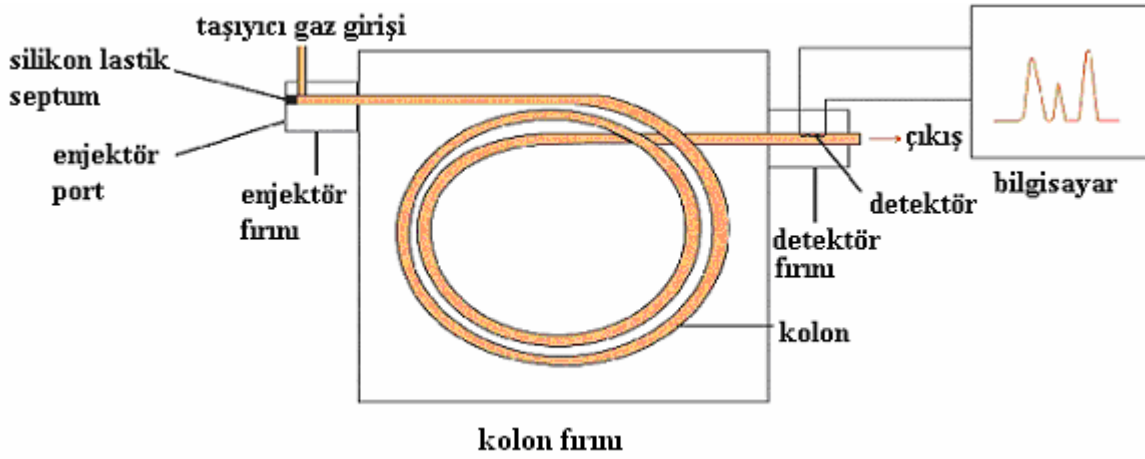
Disk-difüzyon yöntemine benzeyen, minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) belirlenmesini sağlayan E-testi (Dereceli antibiyotik şeridi yöntemi) kantitatif yöntem olarak kullanılır.

1.6. Doğal Bileşik Çalışmalarında Kullanılan Kromatografik Yöntemler

Kromatografi, diğer yöntemlerle ayrılmaları genellikle mümkün olmayan karmaşık karışımlardaki benzer bileşenlerin ayrılmalarını sağlayan çeşitli ve önemli metotlar grubudur. Tüm kromatografik ayırmalarda numune bir gaz, sıvı ya da süperkritik akışkan olabilen hareketli bir fazda çözülür. Ardından bu hareketli faz uygun bir sabit faz boyunca geçirilir. Bu iki faz öyle seçilir ki numunenin bileşenleri hareketli faz ve sabit faz arasında kendiliklerinden farklı derecelerde dağılırlar. Sabit faz tarafından güçlü bir şekilde tutulan bileşikler hareketli fazın akışıyla sadece yavaşça hareket ederler. Öte yandan sabit faz tarafından zayıfça tutulan bileşikler ise hızlıca hareket ederler. Hareketlilikteki bu farklılıkların bir sonucu olarak numunenin bileşenleri kalitatif ve/veya kantitatif olarak analiz edilebilen ayrı bantlar içinde ayrılırlar (Skoog vd., 1998).

Günümüzde, doğal bileşiklerin bileşenlerini aydınlatmada özellikle ‘Gaz Kromatografisi’ (GC) yöntemi kullanılmaktadır.

Gaz kromatografisi ya da GC, bozunmadan uçucu hale geçebilen, ısıya dayanıklı organik ve anorganik bileşiklerin bir kolondan farklı hızlarla ilerleyerek ayrılmasında ve bu bileşiklerin tayininde kullanılan bir tekniktir. Tipik bir modern gaz kromatografi sistemi bir gaz hareketli faz kaynağı, bir enjeksiyon portu, sabit faz içeren bir ayırma kolonu, bir dedektör ve bir veri kayıt sisteminden oluşmaktadır (Şekil 11).



Şekil 11. Genel bir gaz kromatografi sistemi (GC)

Numuneyi kolon boyunca ilerletmek için hareketli faz olarak genellikle hidrojen, helyum ya da azot gibi kimyasal olarak inert gazlar kullanılır.

Günümüzde uygulanan en yaygın gaz kromatografi formu, kapiler gaz kromatografisi (CGC)dir. CGC’de kullanılan küçük iç çaplı kapiler kolonlar genellikle dışı poliimidle kaplı eritilmiş silikadan yapılmıştır. Bu kolonlar esnektirler ve bu sayede çok uzun bir kolon küçük bir bobin halinde sarılabilir.

Organik bileşikler, kolonda hareketli faz ve sabit faz arasında farklı dağılım davranışlarıyla ayrılırlar. GC kolonlarında en yaygın sabit fazlar, fazın polaritesini değiştirmek için çeşitli substüent grupların eklenebildiği polisiloksanlardır. En apolar sabit faz ise fenil ve/veya siyanopropil gruplarının polimerin üzerine ekleyerek daha polar yapabilen polidimetilsiloksandır. Çok polar analitler için sabit faz olarak genellikle polietilen glikol (örneğin Carbowax 20M) kullanılır (URL-3, 2006).

Kolon, sıcaklığı hızlı bir şekilde artıp azalabilen bir fırının içinde tutulur. Sıcaklık arttıkça kaynama noktası düşük olan bileşikler, kaynama noktası yüksek olanlara göre

kolondan daha erken ayrılırlar. Bu nedenle sabit faz etkileşimleri yanında sıcaklık da ayırmada önemli bir faktördür.

Enjeksiyon sisteminde; enjeksiyonun kromatografik bant genişlemesine neden olmaması ve analiz edilecek numunenin kolonun içine kalitatif/kantitatif değişime uğramadan taşınması önemlidir (Akyüz, 2007). GC vasıtasıyla geniş çeşitlilikte bileşikler ve numuneler analiz edilebildiği için çeşitli enjektörler geliştirilmiştir. En yaygın enjeksiyon sistemi split-splitless enjeksiyondur. Kapiler gaz kromatografisinde kapiler kolonun düşük numune hacminden dolayı ve bant genişlemesinden kaçınmak için genellikle split enjeksiyon kullanılır. İki enjeksiyon valfi sayesinde buharlaşma bölümünde hem taşıyıcı gaz hem de bu gaz ile numune buharlarını içeren gaz karışımının akışı düzenlenir. Buharlaşma bölümü 250–300 °C'e kadar ısıtılan bir cam veya kuartz tüp (6–12 cm uzunluğunda, 3–4 mm i.d.)'den oluşmaktadır. Split enjeksiyonun en önemli dezavantajı ise numunenin çoğunun ayrılma ve kaydetmeden önce sistemden çıkması, yani duyarlılığının sınırlı olmasıdır. Bu nedenle gerektiğinde duyarlılığı yüksek olan splitless enjeksiyon kullanılır. Bu durumda split valfi enjeksiyon sırasında kapatılır ve buharlaşma bölümünden kolona gönderilir (Akyüz, 2007).

Dedektörün amacı, kolonda ayrılmalarından sonra hareketli fazdaki analitlerin varlığını kaydetmektir. Dedektör, bir bileşiğin varlığı tespit edildiğinde elektrik sinyali oluşturma kapasitesine sahiptir. Bu sinyal var olan analitin miktarıyla doğru orantılıdır. Dedektörün en önemli özellikleri duyarlılık, dinamik aralık ve seçiciliktir.

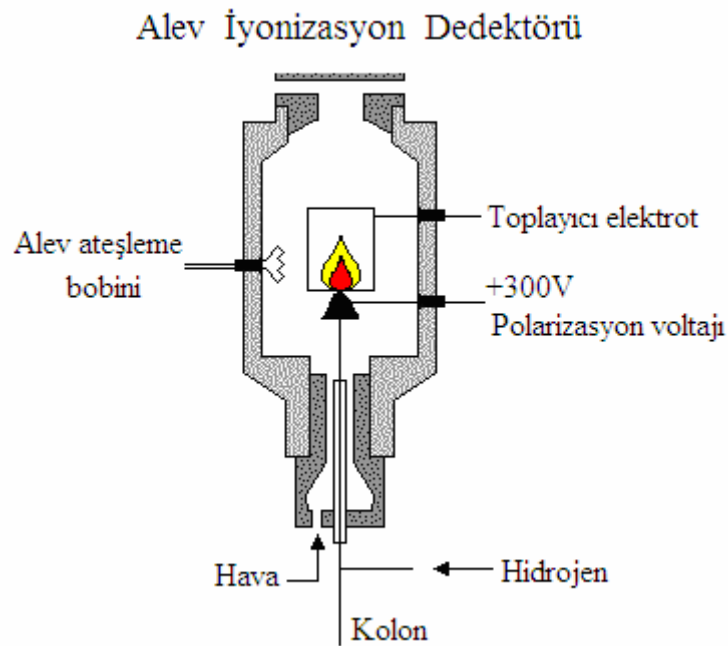
Kromatografide koşturma sırasında, bilgisayar dedektör sinyalinden bir grafik üretir. Bu grafiğe kromatogram denir. Bir bileşik GC kolonundan dedektöre elue edildiğinde kromatogramda oluşan pik, üretilen sinyali temsil eder. Kromatogramda x-ekseni alıkonma zamanını, y-ekseni ise sinyalin şiddetini (bolluk-abundance) gösterir.

GC'de kullanılan pek çok dedektör tipleri içinde en önemlileri alev iyonlaşma dedektörü (FID), elektron yakalama dedektörü (ECD) ve kütle spektrometrik (MS) dedektördür.

Temel olarak üç parçadan (iyonlaşma kaynağı, kütle analizci ve dedektörü) oluşan 'Kütle Spektrometresi' yüklü moleküler iyon veya fragmentler olarak analitlerin kaydedilmelerine dayanan bir sistemdir. Analit molekülleri, iyonlaşma kaynağında iyon haline dönüştürülür. Bu genellikle elektron impakt (EI) veya kimyasal iyonlaştırma (CI) sayesinde gerçekleştirilir. Bileşikler tek tek GC kolonundan elue edildikçe elektron iyonlaşma bölmesine girerler. Burada elektron akışıyla bombardımana uğratılırlar ve bu,

onların fragmentleri halinde bölünmelerine neden olur. Fragmentler, gerçekte belli kütlelere sahip yüklü iyonlardır ve orijinal molekülün büyük ya da küçük parçaları olabilirler (Akyüz, 2007).

Günümüzde pek çok bileşiğin kütle spektrumu bilinir ve bunlar GC-MS enstrümanı kütüphanesinde mevcuttur. Kütüphane, numune bileşenlerinin spektrumu ile mevcut spektrumları karşılaştırarak sonuçları benzerliklerin istatistiksel bir ifadesi olarak bildirir. Alev iyonlaştırma dedektörü (FID), gaz kromatografisinde en yaygın olarak kullanılan, kolondan çıkan hidrokarbonlar ve tüm organik bileşikleri tayin edebilen diğer bir dedektör tipidir



Şekil 12. Alev iyonizasyon dedektörü (FID)

Organik bileşiklerin kimliğinin belirlenmesi, en etkili şekilde alev iyonlaştırmasıyla yapılmaktadır. Proteinler, nükleotidler ve farmasötikler (eczacılığa ait) gibi biyokimyasal bileşikler alev iyonlaştırmasıyla diğer dedektörlerle olduğu gibi iyi ayrıştırılabilir. Fakat biyokimyasal bileşikler genellikle diğer elementlerden daha fazla miktarda karbon içerir. Bu; yüksek karbon konsantrasyonu ve alev iyonlaştırma hassasiyetinden dolayı özel bir bileşiğin kimliğinin FID kullanılarak diğer yöntemlere göre daha kolay belirlenebileceği anlamına gelir.

FID'ler aslında sadece, yakılabilen bileşenleri ortaya çıkarabilir. Bu seçicilik, bir problem veya bir avantaj olabilir. Örneğin, bir FID, azotta metanı bulmak için mükemmeldir, zira metana yanıt verir, ama azota vermez.

FID'ler, hidrokarbonlar ve diğer kolay yanıcı bileşenlerin kimliğinin belirlenmesinde kullanılabilen en iyi dedektörlerdir.

Alev iyonlaştırma dedektörü, isminden de anlaşılacağı gibi, iyonların kimliğinin belirlenmesidir. Bu iyonların kaynağı, küçük bir hidrojen-hava alevidir. Kolondan gelen örnek ve taşıyıcı gaz kolon çıkışında hidrojen ve sonra hava ile karıştırılarak küçük bir bekin ucunda yakılır. Birçok organik bileşik yakıldığında iyonlar, elektronlar ve karbon tanecikleri oluşturularak alevin iletken hale gelmesini sağlar. Bek ucu ile alevin üstüne yerleştirilen kollektör elektrot arasına birkaç yüz volt gerilim uygulanır. Oluşan akım yüksek empedanslı bir işlemci anfi ile ölçülür. Bu akım birim zamanda aleve ulaşan madde miktarı ile orantılıdır (URL-5, 2007). Bazen, iyon belirleme hassasiyetini artırma yeteneğinden dolayı hidrojen-oksijen alevleri kullanılır. Yine de birçok analiz için, sıkıştırılan havanın kullanımı, yeterlidir (URL-6, 2007).

Bir başka dedektör tipi de elektron yakalama dedektörü (ECD)'dür. Elektron yakalama dedektörü çevre analizleri için en çok kullanılan dedektörlerden biridir. Çünkü bu dedektör çevre açısından çok önemli olan klorlu pestisidler ve poliklorobifenillerin seçimli olarak yüksek duyarlılıkta tayinlerine elverişlidir. ECD, FID'den 10-1000 kez, TCD'den ise bir milyon kez daha duyarlıdır; fakat sınırlı dinamik erime sahiptir ve özellikle bileşiklerin halojenatlanması analizlerinde uygulanmaktadır (URL-7, 2007). Bu dedektörde kromatografik kolondan çıkan gazlar β -ışınları yayan nikel-63 önünden geçer (URL-5, 2007).

Bu çalışmada, CGC'de kütle spektrometrik dedektörü (MS) dedektörü kullanılmıştır. Çalışmada, *V. opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin sulu ekstraktlardan Clevenger cihazı ile uçucu (esansiyel) yağlar elde edildikten sonra CGC-MS kullanılarak numune bileşenleri aydınlatılmıştır.

Uçucu yağlar, kimyasal olarak organik heterosiklik, hidroaromatlı ve kokulu bileşimlerdir. Bu bileşimler böcekleri cezp ederek çiçeklerin aşılmasını sağlar, bitkileri güneşin kızgınlığından korumak için havada buharlaşarak güneş ışınlarını dağıtırlar. Ayrıca zararlı kemiricilerden, böceklerden, hastalık yapan bakterilerden koruyucu görevi görürler. Uçucu yağlar karbonhidratlar, azot ve kükürt asitleri, fenoller, aldehitler,

ketonlar, alkoller, karbonlu asitler, esterler ve özellikle terpenler içerdiği gibi, onların hoş kokularına sebep olan oksijen bileşimleridir.

Uçucu yağ içeren tüm şifalı bitkiler deri tahrişlerinde iltihap giderici, öksürmeyi kolaylaştırıcı, idrar arttırıcı, kramp çözücü ve mideyi, bağırsakları, safrakesesini, karaciğeri güçlendirici olarak kullanılır. Ayrıca, bu tür droglar kullanılarak, sindirim sisteminde mayalanma başlatan nedenlerle ve hatta bakterilerle savaşılabilir. Aromatik drogların ve onlardan elde edilen uçucu yağların gıda maddelerinin hazırlanmasında, parfümeri ve kozmetoloji sanayiinde, tıp ve eczacılık alanlarında geniş bir kullanımı vardır. Gelişmiş ülkelerde HIV başta olmak üzere birçok virüs, bakteri ve diğer hastalık yapıcı etkenlere karşı antiviral ve antimikrobiyal etkili yeni kimyasalların saptanması için doğal kaynaklara başvurulmakta ve bu kaynakların başında bitkiler gelmektedir. Örneğin; ABD'de Ulusal Kanser Enstitüsü bünyesinde bitkilerin antibakteriyel ve antiviral özelliklerini araştırmak amacı ile Kuzey ve Güney Amerika'da bitki örtüsü incelenmekte ve bu maksatla yılda 4500 bitki örneğini inceleyecek bir program dahilinde araştırmalar yapılmaktadır (URL-8, 2007).

1.7. Çalışılan Bitkilerin Özellikleri

Viburnum (Kartopu); dünyada 15 cins ve yaklaşık 230 tür içeren Caprifoliaceae familyasında yer alan, çalı ya da küçük ağaçlardan oluşan bir bitki cinsidir (Malecot, 2002). Kendiliğinden yetişen birkaç türü, ılıman Kuzey Yarımküre'den Güney Amerika ve Güneydoğu Asya'ya kadar uzanmakla birlikte; Kuzey Amerika ve Doğu Asya'nın ılıman bölgelerinde daha fazla türü bulunmaktadır. Bu cins Afrika'da, Atlas dağlarında da yetişir (Odabaş, 2005).

Bazı türleri yapraklarını dökerken, bazıları daima yeşil kalır. Beyaz, krem ya da pembe renkteki keskin ve güzel kokulu küçük çiçekleri, 5-15 cm uzunluktaki dalların ucunda açar; birleşik ve şemsiye şeklindedir.

Küresel ya da oval olan meyveleri; tek tohumlu ve sert çekirdekli olup, kırmızı-mor, mavi veya siyah renktedir. Bazı türlerinin meyveleri hafif zehirli olmasına rağmen; kuşlar, vahşi hayvanlar ve insanlar tarafından yenir. Yaprakları bazen, bazı Lepidoptera türü larvaları tarafından yenir (URL-9, 2007).

Yapılan araştırmalar sonucu Türkiye Florası'ndaki kayıtlara göre ülkemizde Viburnum türlerinden, *V. lantana* Doğu Karadeniz Bölgesi, Orta Anadolu ve Doğu Anadolu

Bölgesinde 1000-2000 m.'de; *V. opulus* genellikle Kuzey Anadolu'da, nadiren de Güney ve Orta Anadolu'da 10-1450 m.'de ve *V. orientale* ise Kuzey Anadolu'da 500-1800 m. yükseklikte kendiliğinden yetişmektedir (Odabaş, 2005).

Viburnum türleri üzerinde günümüze kadar; fitokimyasal, kemotaksonomik, farmakolojik, morfolojik ve anatomik araştırmalar yapılmıştır.

1.7.1. *Viburnum opulus* L. Bitkisinin Özellikleri

Latince ismi *Viburnum opulus Linnaeus*, olan bu bitki, Dispacales (Rubiales) takımının Caprifoliaceae (Hanımeli) ailesinde bir türdür (URL-10, 2007). Yöresel adları; dağdığan ağacı, geleboru, gilabada, gildar, giligili, girabol, girebolu, gilaboru, gilaburu dur (URL-11, 2007). Selçuklular ve Osmanlılar zamanında bu bitkiye, çiçeklenme dönemindeki güzelliğinden etkilenip 'Gül Ebru' ismi verilmiş ve bu isim dilden dile değişime uğrayarak Kayseri ve çevresinde 'gileburu, gilebolu, gilaboru, gilabı, giraoğlu', Konya'da 'gilaboru veya giraboğulu', Sivas ve Yozgat'ta 'gilaburu, girabol, geleboru', Tunceli ve Karadeniz'de ise 'giligili, dağdağan, dağdığan, geleboru, gilabada ve gildar' şekline dönüşmüştür (URL-12, 2007). İngilizce'de Guelder-rose, Snowball Bush, European Cranberry, High Bush Cranberry, Stagbush, Cranberry viburnum adlarıyla; Almanca'da Gemeiner Schneeball adıyla bilinmektedir (URL-11, 2007).

Bazı botanikçilere göre vatanı Türkiye, bazılarına göre ise Orta Çin'dir.

Gilaburu daha çok yazları sıcak ve kurak, kışları soğuk ve kar yağışlı karasal iklimde yetişmeye uygun bir bitki olup, *Viburnum*'un Asya ve Avrupa'ya özgü bir türüdür. Türkistan, Sibiry, Amerika, Avrupa, Kuzey Asya ile Kuzey Afrika'da sınır ve süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Türkiye'nin ise Orta Anadolu ve Karadeniz Bölgeleri'ne yayılmıştır. Ülkemizde Kayseri, Bursa, Sakarya, Ankara, Tokat, Sivas, Trabzon, Çoruh, Maraş, Kırşehir, İstanbul, İzmit, Erzurum, Samsun illerinde doğal olarak yetişmektedir (Baytop 1963; 1984).



Şekil 13. *Viburnum opulus* L. bitkisinin görünümü

Organik maddelerce zengin topraklardan hoşlanan *viburnum opulus*, iyi gelişebilmek için bol miktarda suya, iyi renkli ve kaliteli meyve vermek için de güneşe ihtiyaç duymaktadır (URL-10, 2007). Bu yüzden, orman kenarları ve ormanların seyrek olduğu bölgelerde, daha çok su kenarlarında ve nemli yerlerde yetişir.

Bazen bir çalı görünümünde, bazen de boyu 4 metreye ulaşan bodur bir ağaçtır (URL-10, 2007). Parlak kırmızı, salkım şeklinde ve yuvarlak meyvelidir. Meyvesi, sert çekirdekler içerir. Yaprakları; karşılıklı, bir sonraki ile çapraz, kenarları dişli, bazen 3 ve bazen 5 lopluk, 5-10 cm uzunluğunda ve geniştir (URL-9, 2007).

Gilaburu, hızla büyüyen çok yıllık bir bitkidir. Dikiminden 3 yıl sonra ürün vermeye başlamakta ve dip sürgünleri sayesinde 300 yıl kadar yaşayabilmektedir. Mart-Nisan ayında beyaz renkli çiçek açar ve çiçekleri şemsiye gibi topluca bir aradadır ve çiçek demetinin etrafını çevreleyen bir sıra steril (kısır), içerideki diğer çiçekler ise fertildir (döllenebilir) ve böcekler tarafından tozlaştırılır. Nisan sonuna doğru bu beyaz çiçekler yerini küçük meyveciklere bırakır. Önce yeşil renkli olan bu meyvecikler, Haziran ayında olgunlaşır ve kızarmaya başlar. Genç dalların kabukları nisan-mayıs döneminde soyulur, ince kıyılır ve gölgede kurutulur. Her bir meyve tanesinin çapı 0,8-1 cm olup içerisinde sadece bir çekirdek bulunur. Önceleri sert halde olan meyveler Ekim Kasım gibi yumuşamaya başlar (URL-13, 2007).

Meyvesi genelde böbrek ve safra kesesi rahatsızlıklarının giderilmesinde kullanılır. Salkım halindeki kırmızı meyveler sonbaharda, yani olgunlaştıktan sonra toplanır. Bu şekilde yenilebilir ya da suyu sıkılarak içilebilir. Gilaboru suyunun, böbrekte oluşan kum

ve taşları eritici özelliği olduğu bilinmekte ve Anadolu'da safra kesesi hastalıkları ile bazı karaciğer hastalıklarının tedavisinde de bu bitkiden yararlanılmaktadır. İlk toplandığında acı bir tadı olan gilaboru, su içinde salamura yapılır. Yaklaşık bir ay sonra salamura suyunda bu acılığını kaybeder. Bu haliyle içilebilir hale gelmiştir (Soylak vd., 2002). Bu şekilde (5-15 derecede) tazeliğini 1 yıl süreyle koruyabilir. Salamura suyundan günlük içilecek miktar çıkarılır, sıkılır, su ilavesi ile bire bir seyreltilir ve tercihe göre şeker ilave edilerek içilir. Dikkat edilmesi gereken nokta sıkılan meyvenin aynı gün tüketilmesi gerektiğidir. Sonbaharda toplanıp salamura yapıldıktan sonra tüketilen gilaboru, sadece böbrek hastalıklarına değil, birçok hastalığın tedavisinde de yararlı olmaktadır (URL-13, 2007). Ayrıca, meyveleri ve çiçekleri geleneksel tıpta müsil ilacı, damar kasılmaları ve sinirsel düzensizliklerde yatıştırıcı olarak kullanılmaktadır. Öksürük etkisi olan bu meyvenin çekirdeklerinden ve kabuğundan aynı amaçlarla Avrupa'da yararlanılmaktadır (Baytop, 1963, 1984).

Gilaboru ağaç kabuğu ise, kramplara, kas gerginliklerine ve menstrüal sancılara karşı olumlu etki oluşturur. Kasın gevşemesini sağlayan 'viopu-dial' bileşenin bu bitkide olduğu düşünülmektedir. Gilaborunun diğer aktif bileşenleri ise hidrokinonlar, arbutin, metilarbutin, skopoletin ve skopolin gibi kumarinler ile tanenlerdir (Baytop 1963, 1984). Ayrıca kabuklarının çay, tentür ve natürel ilaç olarak kullanıldığı söylenmektedir.

Kabukları kaynatılan gilaboru, astım, romatizma, yüksek tansiyon, şeker hastalığı, sara nöbetleri (epilepsi), kabakulak, doğum sonrası spazmlar, uyku bozukluğu gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilir. (Baytop 1963, 1984).

Bulgaristan'da *Tchervena kalinka*, İtalya'da *Pallone di maggio* olarak bilinen bu bitki; Bulgaristan'da özellikle uterus tonüsünü arttırıcı ve kanamayı durdurucu olarak, İtalya'da ise bunların yanı sıra düşüğü önleyici olarak tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Leporatti ve Ivancheva, 2003) Harward Medicine School'da yapılan ve The New England Journal of Medicine'da yayınlanan çalışmada günde 250 gram gilaboru suyu tüketiminin sağlık üzerine olumlu etkilerinin olduğu belirtilmektedir. Başka bir çalışma ise migren ve baş ağrılarının giderilmesi üzerinedir (Milton, 1998). Üriner enfeksiyonlar ile bazı kanser tümörlerindeki azalmaların gilaboruda bulunan antioksidan maddelerle olan ilgisi üzerindeki çalışmalar ise halen devam etmektedir (URL-14, 2007). Bu bitki; indirgen şeker, sodyum, potasyum ve yüksek miktarda C vitamini (askorbik asit) ve antioksidan maddeler içerir. Bu özellikleri sebebiyle gıda sektöründe gelecekte yoğun ilgi göreceği düşünülmektedir (URL-13, 2007).

1.7.2. *Viburnum orientale* P. Bitkisinin Özellikleri

Latince ismi *Viburnum orientale* Palas, olan bu bitki, Dişpacaes (Rubiales) takımının Caprifoliaceae ailesinde bir türdür (URL-15, 2007).

Kafkasya ve Kuzey Anadolu'da doğal olarak yetişmektedir (Anşın ve Özkan, 1993). Nemli yerlerde, kayın ve ladin ormanlarında, kayalık alanlarda yetişebilmekle birlikte organik maddelerce zengin topraklarda daha iyi gelişebilmektedir.



Şekil 14. *Viburnum orientale* P. Bitkisinin görünümü.

Boyları 3m.ye kadar ulaşabilen, çalı şeklinde ve hızla büyüyen çok yıllık bitkilerdir. Yaprakları palmat ve 3 loplulu, 8-15 cm. uzunluğunda ve geniştir. Yaprakların tepesi sert uçlu dişli, damarların üzeri dağınık ve tüylüdür, diğer kısımları tüysüzdür. *V.opulus*'la çok benzerdir; fakat yaprakların genişliği ve lopluları bu iki türü ayırtedici bir özelliktir. Yapraklar dökülmeden önce kırmızımsı kahverengine dönmektedir. Çiçekli hali 6-10 cm çapında, bütün çiçekleri birbirine benzer ve fertil (döllenebilir), yaklaşık 6 mm ve beyazdır. Drupa meyve yaklaşık 10 mm, oval ve kırmızıdır. Meyvesi sert çekirdekler içerir, tek çekirdeklidir, alt kısmı biraz daha yassı ve iki damarlıdır, üst kısmı ise tek damarlıdır. Mayıs ayı sonu ya da Haziran ayı başlarında beyaz renkli çiçek açar. Haziran ayı sonuna doğru bu beyaz çiçekler yerini küçük meyveciklere bırakır.

V. opulus gibi parlak kırmızı, yuvarlak ve salkım şeklinde meyvelidir. Meyveleri ondan daha iridir. Bu yönüyle de diğer türlerden ayırt edilebilir (Odabaş, 2005).

V. orientale bitkisinin genellikle kurutulmuş yaprakları üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Journal of Essential Oil Research (1995)'de yayınlanan bir çalışmada, bu

bitkinin kuru yapraklarından elde edilen uçucu yağlarda CGC ve GC/MS analizleri sonucu tanımlanan bazı bileşikler ve yüzdeleri yer almaktadır (Yürüker vd., 1995).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Kullanılan Cihazlar

Denemelerde kullanılan madde ve malzemeler KTÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü laboratuvarlarından temin edildi. Kullanılan cihazlar ve satın alındıkları firmaları gösteren bilgiler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Denemelerde kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Markası
Öğütücü (Blender)	Waring Commercial Blendor / New hartford, conn. USA.
UV spektrofotometre	UV-Vis LaboMed ve LKB Ultraopec K4053
Rotary evaporatör (Döner vakum buharlaştırıcısı)	Bibby R100
Su banyosu	Bibby R 100B
Gömleklili ısıtıcı	Barnstead-Electrothermal ve Claude lyons Hoddesdon Hertz
Isıtıcılı magnetik karıştırıcı	Heidolph MR 3001 K
Liyofilizatör	Christ (alpha 1-4 LD plus)
Kurutma makinesi	Fantom
Vakum pompası	Knf Neuberger D-79112
Derin dondurucu	Bosch
Vorteks karıştırıcı	Heidof
Santrifüj	Universal 320 R Hettich/Zentrifugen
Soğutucu	Polyscience (temperature controller)

2.2. Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasallar

Denemelerde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Çözeltiler ve hazırlanışları

Çözelti	Hazırlanışı
0.2 N Folin-Ciocalteu Reaktifli	2N’lik hazır satın alınan çözeltiden saf su ile 1:10 oranında seyreltilerek hazırlanır.
%7,5’lik Na ₂ CO ₃ çözeltisi	7,5g Na ₂ CO ₃ 100 mL saf suda çözülerek hazırlanır.
Stok Kateşin	10 mg kateşin 10 ml saf suda çözülür (1mg/ml).

Tablo 2'nin devamı

Stok Gallik asit	10 mg gallik asit 10 ml metanolde çözülür (1mg/ml).
100 µM DPPH çözeltisi	11,60 mg DPPH 250 ml metanolde çözülür.
Stok Troloks®	5 mg trolox 10 ml etanolde çözülür (0,5 mg/ml).
Stok Askorbik asit (C vitamini)	10mg askorbik asit 10 ml saf suda çözülür (1mg/ml).
45 mmol Asetik asit	2,586 ml der. (%99,5'lik) asetik asit alınır, hacmi 130 ml'ye tamamlanır.
0,1 M NaOH	0,100 g NaOH 25 ml saf suda çözülür (0,1 M).
300 mM Asetat tamponu (A)	45 mmol'lük asetik asite 0,1M NaOH çözeltisi damla damla eklenerek pH= 3,6'ya ayarlanır.
40 mM HCl çözeltisi	82 µL der. (%37) HCl 25 mL saf suda çözülür.
10 mM TPTZ (B)	0,0468 g TPTZ, 40 mM 25 mL HCl'de çözülür.
20 mM Fe ₃ Cl ₃ .6H ₂ O (C)	0,0811 g Fe ₃ Cl ₃ .6H ₂ O 15 mL saf suda çözülür.
FRAP reaktifi	A, B ve C çözeltileri sırasıyla; 10:1:1 oranında karıştırılır. (FRAP reaktifi taze hazırlanmalı ve kullanımdan önce 37 °C'ye ısıtılmalıdır.)

Denemelerde kullanılan kimyasallar ve satın alındıkları firmaların ticari adları Tablo 3' de verilmiştir.

Tablo 3. Kimyasallar ve satın alındıkları firmalar

Madde Adı	Firması
Asetik asit	Merck
Aseton	Merck
Askorbik asit	Sigma
BHT	Merck
DPPH	Calbiochem
Etanol	Merck
Fe ₃ Cl ₃	Sigma
Fe ₃ Cl ₃ .6H ₂ O	Sigma
Folin-Ciocalteu Reaktifi	Fluka
Gallik asit	Sigma
HCl	Merck
Kateşin	Sigma
Metanol	Merck
Na ₂ CO ₃	Merck
NaOH	Merck
TPTZ	Calbiochem
Trolox®	Aldrich

2.3. Bitkilerin Toplanması ve Ekstraktların Hazırlanması

Ekim 2006'da Yozgat'ın Çandır ilçesinden toplanan *Viburnum opulus* ve Ardahan'dan toplanan *V.orientale* bitkilerinin önce; meyve, yaprak ve dalları birbirinden ayrılarak saf su ile defalarca yıkandı, yaprak ve dallar açık havada kurumaya bırakıldı. Daha sonra meyveler ezildi ve süzülerek meyve suları elde edildi. Meyve artıkları saf su ile iyice yıkanarak, çekirdek ve zırlar birbirinden ayrıldı ve açık havada kurumaya bırakıldı.

Kurutulan bitki kısımlarından bir miktar alınıp, öğütülmeden mineral analizine verildi. Bitkilerin kalan kısımlarının her bir öğütücüde ayrı ayrı parçalanarak toz haline getirildi ve uygulanacak tayin yöntemlerine göre kodlandı (Tablo 4).

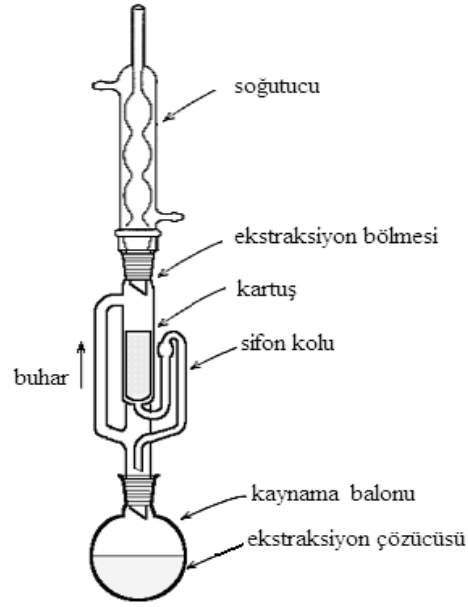
Tablo 4 . Numune kodları

Kod	Bölge	Numune
VOKO	Yozgat/Çandır	Odunsu dal
VOKY	Yozgat/Çandır	Yaprak
VOKZ	Yozgat/Çandır	Meyve zarı
VOKC	Yozgat/Çandır	Meyve çekirdeği
VOKM	Yozgat/Çandır	Meyve suyu
VOAO	Ardahan	Odunsu dal
VOAY	Ardahan	Yaprak
VOAZ	Ardahan	Meyve zarı
VOAC	Ardahan	Meyve çekirdeği
VOAM	Ardahan	Meyve suyu

2.3.1. Soxhlet Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon, çözeltilerden veya katı karışımlardan bir maddeyi ayırmak, çözücüyü ve istenmeyen safsızlıkları karışımlardan uzaklaştırmak için yapılan işlemdir.

Katı maddelerin bir çözücüyle sürekli ekstraksiyonunun sağlanması için en uygun düzenek Soxhlet düzeneğidir. Soxhlet ekstraktör 1879'da Franz von Soxhlet tarafından icat edilmiştir. Orijinalde katı materyallerden sıvıların ekstraksiyonu için tasarlandı fakat katı numunelerden bileşiklerin ekstraksiyonlarının zor olduğu zamanlarda da kullanılabilir (URL-2, 2006).



Şekil 15. Soxhlet düzeneği

Bir soxhlet ekstraksiyon sistemi bir karıştırıcı magnetik çubuk ile kaynama balonu, bir soxhlet aparatı, bir geri soğutucu ve bir ısıtıcıdan ibarettir (Şekil15). Katı numune içeren kartuş soxhlet aparatının bölmesine yerleştirilir. Kaynama balonundaki çözücü karıştırılarak ısıtılır. Çözücü buharları soğutucuya doğru çıkarlar ve orada soğutulularak numunenin üzerine damlarlar. Numune materyali içeren soxhlet aparatının bölmesi, yoğunlaştırılan çözücü ile yavaşça dolar, ardından sifon hareketiyle balona geri boşalır. Bu sirkülasyon, numune bileşiklerinin ayrıntılı ekstraksiyonu için pek çok kez tekrarlanmasına müsaade eder.

Bitki türlerinin her biri için toz halinde alınan yaprak, çekirdek, zar ve odunsu dal numunelerinden yapılan kartuşlar soxhlet düzeneğinde sırasıyla, kloroform ve metanol ile artarda ekstrakte edildi. Her iki durumda da ekstraksiyon, soxhlet düzeneğindeki çözelti renksiz oluncaya kadar, yaklaşık 6 saat sürdürüldü.

2.3.1.1. Kloroformla Soxhlet Ekstraksiyonu

Kloroform düşük dipol momente sahip olduğu için nispeten apolar karakterde bir çözücü olup, bitki bünyesindeki düşük polaritedeki organik bileşikleri ekstrakte edecektir. Bitkilerin VOKY, VOKZ, VOKC, VOKO, VOAY, VOAZ, VOAC ve VOAO kodlu numunelerinden yaklaşık 10'ar g alınıp, her biri ayrı ayrı süzgeç kağıdına sarıldı. Bu

şekilde oluşturulan kartuşlar soxhlet düzeneğine yerleştirildi ve yaklaşık 300 mL kloroform ilave edilip, gömlekli ısıtıcıda 60°C'de yavaşça kaynatılarak ekstraksiyona tabi tutuldu. Ekstraksiyon, soxhlet düzeneğindeki çözelti renksiz oluncaya kadar, yaklaşık 6 saat sürdürüldü.

2.3.1.2. Metanolle Soxhlet Ekstraksiyonu

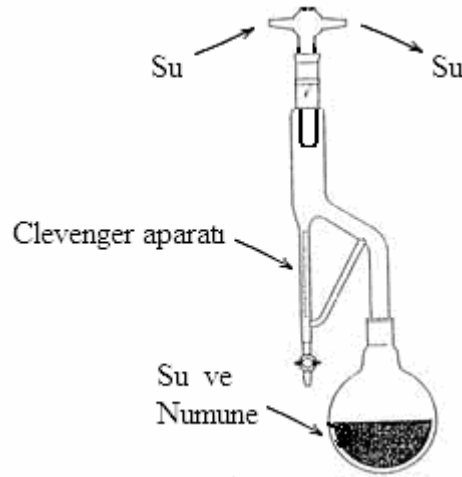
Metanol polar bir molekül olduğu için bitki bünyesindeki polar molekülleri ekstrakte eder. Kloroform ekstraksiyonunda kullanılan kartuşlar, kurutma makinesi yardımıyla kurutulduktan sonra soxhlet cihazına yerleştirildi ve yaklaşık 300 mL metanol ilave edilerek gömlekli ısıtıcıda 60°C'de yavaşça kaynatılarak ekstraksiyona tabi tutuldu. Ekstraksiyon, soxhlet düzeneğindeki çözelti renksiz oluncaya kadar, yaklaşık 6 saat sürdürüldü.

2.3.2. Sulu Ekstraktların Hazırlanması ve Uçucu Yağ Eldesi

Sulu ekstraktlar ve uçucu yağlar Clevenger tipi su buharı destilasyon düzeneği kullanılarak elde edilmiştir.

Su buharı destilasyonu, az uçucu ve suda çözünmeyen ya da çok az çözünen maddelerin uçucu olmayan maddelerden ayrılmasında veya saflaştırılmasında kullanılan bir tekniktir. Bu teknikle kaynama noktası yüksek olan bir bileşik, vakum uygulanmaksızın, normal şartlardaki kaynama noktasının çok altında destillenebilir.

Su buharı destilasyonu, basit destilasyon ve diğer tekniklerin uygulanmasıyla ayrılmayan az miktardaki maddelerin ayrılmasında özellikle faydalı olup doğal ürünlerin izolasyonunda ve büyük miktarda reçinemi yan ürünlerin olduğu kimyasal reaksiyonlarda ara ürünlerin ayrılmasında geniş ölçüde kullanılmaktadır. Clevenger tipi su buharı destilasyonu ise, sulu ekstraktların yanı sıra uçucu yağların (esansiyel yağ) da elde edilmesini sağlamaktadır.



Şekil 16. Clevenger düzeneği

Bitkilerin toz halindeki yaprak, çekirdek ve odunsu dal kısımlarına su ilave edilip, oluşan karışım destilasyon balonlarına döküldü. Balonlar, gömlekli ısıtıcılara yerleştirildi ve Clevenger aparatları takılarak destilasyon düzeneği oluşturuldu. Sulu numune karışımları yaklaşık 5 saat kaynamaya tabi tutuldu. Clevenger aparatlarında toplanan uçucu yağlar HPLC-hegzan ile çözülerek alındı. Sulu ekstraktlar ise çeşitli işlemlerden geçirilerek berraklaştırıldı ve suları, liyofilizatörde uçurularak konsantrasyonları belirlendi. Meyve suları ise selüloz nitrat bandı kullanılarak tromptan süzülerek berraklaştırıldı ve suları liyofilizatörde uçurularak konsantrasyonları belirlendi.

2.3.3. Ekstraksiyon Çözücülerinin Uçurulması

Kloroform ve metanol ekstraksiyonlarının çözücüleri döner vakum evaporatörüyle uçuruldu. Bir döner vakum evaporatörüyle tek basamaklı destilasyonlar hızlıca yapılabilir. Bu yöntemin esası, su banyosunda dönen buharlaştırıcı bir balon kullanılarak vakum altında çözücülerin buharlaştırılması ve yoğunlaştırılmasıdır. Vakum, kaynama sıcaklığını düşürür ve böylece destilasyonun performansını artırarak ürünleri korumaya yardım eder (Şekil 17).



Şekil 17. Döner vakum evaporatörü

Ekstraktların antioksidan ve antimikrobiyal kapasitelerinin belirlenmesinde konsantrasyonları belirli numuneler kullanılmalıdır. Bu amaçla; belli hacimde alınan kloroform ve metanol ekstraktlarının çözücüleri, döner buharlaştırma düzeneği kullanılarak tamamen uçuruldu ve ekstraktların konsantrasyonları belirlendi.

2.3.4. Numune Konsantrasyonlarının Belirlenmesi ve Stok Çözeltilerin Hazırlanması

Kloroform ve metanol ekstraktlarının her birinin konsantrasyonu, belli bir hacimde alınan ekstraktların artarda ikişer kez evaporasyonu sonucu balon cidarında kalan maddenin ağırlığı ile boş balonun ağırlığının farkı kullanılarak hesaplandı. Bulunan konsantrasyonlar Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 5. Kloroform ve metanol ekstraktlarının belirlenen konsantrasyonları

Çözücü	Konsantrasyonlar (mg/mL)							
	<i>Viburnum opulus</i> (Çandır)				<i>Viburnum orientale</i> (Ardahan)			
	yaprak	zar	çekirdek	o.dal	yaprak	zar	çekirdek	o.dal
Kloroform	3,6	3,5	4,4	2,3	5,3	4,2	9,5	1,9
Metanol	3,3	0,25	3,7	4,6	6,6	0,25	3,5	3,3

Konsantrasyonları bilinen kloroform ve metanol ekstraktlarının stok çözeltiler hazırlandı (Tablo 5).

Tablo 6. Kloroform ve metanol ekstraktlarının stok çözelti konsantrasyonları

Numune kodu	Konsantrasyon (mg/ml)	Çözücüsü
VOKYM	10	Metanol
VOKZM	2	Metanol
VOKCM	10	Metanol
VOKOM	10	Metanol
VOAYM	10	Metanol
VOAZM	1	Metanol
VOACM	10	Metanol
VOAOM	10	Metanol
VOKYK	10	Kloroform
VOKZK	10	Kloroform
VOKCK	10	Kloroform
VOKOK	10	Kloroform
VOAYK	10	Kloroform
VOAZK	10	Kloroform
VOACK	10	Kloroform
VOAOK	10	Kloroform

Clevenger tipi su buharı destilasyonu ile elde edilen sulu ekstraktlar önce cam pamuğundan süzüldü, ardından santrifüjlendi ve bulanıklığına göre mavi bant ya da selüloz nitrat bandı kullanılarak tromptan süzüldü. Elde edilen sulu berrak çözeltilerin suları, liyofilizatörde uçurularak şişenin cidarında kalan maddenin ağırlığı ile boş şişenin ağırlığının farkı kullanılarak konsantrasyonları hesaplandı.

Yeterli miktarda olmadığından bitkilerin zar kısımları Clevenger düzeneğine tabi tutulmamış, sulu zar ekstraktları hazırlanmamıştır.

Meyve suları da selüloz nitrat bandı kullanılarak tromptan süzüldü ve berrak çözeltilerin suları, liyofilizatörde uçurularak konsantrasyonları aynı şekilde hesaplandı.

Clevenger tipi su buharı destilasyonu sırasında Clevenger aparatlarında toplanan uçucu yağlar HPLC-hegzan ile çözülerek şişelere alındı. Şişeler köpükten yapılan bir buz banyosu içerisinde desikatöre yerleştirildi. Desikatöre takılan bir hortum yardımıyla vakum pompasına bağlanarak hegzan uçuruldu. Elde edilen uçucu yağların konsantrasyonları da

aynı şekilde hesaplandı ve stok çözeltileri hazırlandı. Sulu ekstraktların, meyve sularının ve uçucu yağların belirlenen konsantrasyonları Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 7. Sulu ekstraktların, meyve sularının ve uçucu yağların bilinen konsantrasyonları

Uçurulan Numune Çözücüsü	Numune	Konsantrasyon (mg/mL)	
		<i>Viburnum opulus</i> (Çandır)	<i>Viburnum orientale</i> (Ardahan)
SU	Yaprak	13,23	14,18
	Çekirdek	2,88	2,57
	Odunsu dal	13,03	0,32
	Meyve suyu	85,40	67,46
HEGZAN	Yaprak	12,33	16,00
	Çekirdek	4,00	2,40
	Odunsu dal	19,00	4,70

Konsantrasyonları bilinen sulu ekstraktların, meyve sularının ve uçucu yağların stok çözeltileri hazırlandı (Tablo 7).

Tablo 8. Sulu ekstraktların, meyve sularının ve uçucu yağların stok çözelti konsantrasyonları

Bitki	Numune kodu	Konsantrasyon (mg/ml)	Çözücüsü
<i>V. opulus</i>	VOKYS	2	Su
	VOKCS	2	Su
	VOKOS	2	Su
<i>V. orientale</i>	VOAYS	2	Su
	VOACS	2	Su
	VOAOS	1	Su
<i>V. opulus</i>	VOKMS	5	Su

Tablo 8'in devamı

<i>V. orientale</i>	VOAMS	5	Su
	VOKYY	1	HPLC-Hegzan
<i>V. opulus</i>	VOKCY	1	HPLC-Hegzan
	VOKOY	1	HPLC-Hegzan
	VOAYY	1	HPLC-Hegzan
<i>V. orientale</i>	VOACY	1	HPLC-Hegzan
	VOAOY	1	HPLC-Hegzan

2.4. Antioksidan Aktiviteler

2.4.1. Toplam Fenolik Madde Miktarları

Yöntem, suda ve organik çözücülerde çözülmüş olan fenolik bileşiklerin folin reaktifleri ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Oluşan mor–menekşe renkli kompleks 765 nm’de maksimum absorbands oluşturur (Slinkart ve Singleton, 1977).

Metanollü ve sulu ekstraktlar içindeki toplam fenol miktarları, bu yöntem kullanılarak kolorimetrik olarak tayin edildi. Bunun için; öncelikle ekstraktlar ve standartlardan (gallik asit ve kateşin) 1mg/ml konsantrasyonunda çözeltiler hazırlandı. Numunelerde tek konsantrasyonla, standartlarda 5 farklı konsantrasyonla (1- 0,5 – 0,25 – 0,125 – 0,625 mg/mL) çalışıldı. 50 µL ‘lik her bir numune/standart çözeltilisine sırasıyla; 2,5 mL saf su ve 250 µL saf su ile seyreltilmiş Folin-Ciocaltaeu reaktifi eklendi, vortekslendi, oda sıcaklığında 3 dakika inkübasyona bırakıldı. Ardından, 750 µL (%7,5’lik) Na₂CO₃ eklenerek tekrar vortekslendi ve oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakıldı. Her bir numune konsantrasyonu için üç paralel ve her bir standart konsantrasyonu için ise iki paralel çalışıldı. Ayrıca numune/standartın her bir konsantrasyonu için birer kör (numune/standart + Folin-Ciocaltaeu reaktifi çözücüsü [saf su]) çalışıldı. Süre sonunda 765 nm’de absorbandslar spektrofotometrede okundu. Hesaplamalarda iki paralelin ortalaması alınarak kör değerleri bu ortalamadan çıkarıldı, elde edilen verilerle grafik çizildi. Toplam fenolik madde miktarı gram ya da mL numune başına µg olarak ifade edilir

(Örneğin : μg Gallik asit eşdeğeri / gram kuru ekstrakt, μg GAE/g, veya μg kateşin eşdeğeri / 100 g orjinal kuru numune, μG CE/100 g kuru numune).

2.4.2. DPPH[•] Radikal Temizleme Aktivitesi

DPPH[•] radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak satın alınabilen bir radikal olup denemelerimizde satın alınan bu radikalın 100 μM 'lık metanolik çözeltisi kloroformlu, metanollü ve sulu ekstraktlarda kullanıldı. Denemelerde Cuendet vd. (1997) yöntemi kullanıldı. Elde edilen ekstraktlar (numuneler) ve standartlar (BHT, Troloks, Askorbik asit) değişik konsantrasyonlarda hazırlandı. Standartlar 0,25 - 0,125 - 0,0625 - 0,03125 - 0,015625 mg/ml'lik; numuneler 0,5 - 0,25 - 0,125 - 0,0625 - 0,03125 mg/ml'lik konsantrasyonlarda hazırlandı. Eşit hacimde (750 μL) DPPH[•] çözeltisi, numune çözeltileri üzerine eklenerek vortekslenildi ve oda sıcaklığında 50 dakika inkübasyona bırakıldı. Her bir numune ve standart konsantrasyonu için iki paralel çalışıldı. Ayrıca numune/standartın her bir konsantrasyonu için birer kör (numune/standart + DPPH[•] çözücüsü [metanol]) ve her bir çözücüsü (kloroform/metanol/aseton/etanol/su) için de (kontrol tüpleri [DPPH[•] + numune/standart çözücüsü]) üç paralel çalışıldı. Süre sonunda DPPH[•]'ın maksimum absorbans verdiği 517 nm'de absorbanslar okundu. Hesaplamalarda iki paralelin ortalaması alınarak kör değerleri bu ortalamadan çıkarıldı. Bulunan absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek IC₅₀ değerleri mg/mL cinsinden hesaplandı.

2.4.2.1. IC₅₀ Değerlerinin Bulunması

IC₅₀ radikal miktarını yarıya indiren numune konsantrasyonudur. IC₅₀ değerinin bulunması için farklı konsantrasyonlarda çalışmak gerekir. Bu nedenle çalışmalarda 5 farklı konsantrasyonda ölçüm yapıldı. Numunelerin yeterli miktarda farklı konsantrasyonu hazırlanıp absorbans ölçümleri yapıldı ve absorbanslar konsantrasyona karşı grafiğe geçirildi. Maksimum absorbansın yarısına karşılık gelen yani absorbansı yarıya düşüren konsantrasyon miktarı IC₅₀ değerini vermektedir. IC₅₀ değeri mg/mL veya mM gibi birimlerle ifade edilmektedir.

2.4.3. Demir (III) İndirgeme /Antioksidan Kuvvet (FRAP) Değerleri

Oyaizu (1986) tarafından geliştirilen yönteme göre indirgeme kuvveti, numunelerin dolaylı olarak toplam indirgeme potansiyelini göstermekte olup $Fe^{+3} \rightarrow Fe^{+2}$ indirgenmesi ile meydana gelen Fe^{+2} , 595 nm'de absorbands veren $K_3(Fe)CN_6$ renkli kompleksini oluşturur.

Bu deneme metanollü ve sulu ekstraktlarda kullanıldı. Bunun için önce ekstraktların ve standartların (Askorbik asit [C vitamini], Troloks) belli konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlandı. Sonra C vitamini adım adım seyreltilerek 5 farklı konsantrasyon (500- 250- 125- 62,5- 31,25 mikrom) elde edildi. Troloks ise tek konsantrasyonda (500 mikrom) denendi.

FRAP reaktifi taze hazırlandı. Spektrofotometre çalıştırılarak dalga boyu 595 nm'ye ayarlandı. Su banyosu (37°C) ve buz banyosu hazırlandı. Numune ve standart çözeltileri için hazırlanan deney tüplerine önce 3'er mL FRAP reaktifi aktarıldı. Numune körü tüplerine FRAP reaktifi yerine çözücüsü olan saf su (3 mL); reaktif körü tüplerine ise numune yerine 100'er µL çözücüsü (metanol/saf su/etanol) aktarıldı. Numune körü tüpleri dışındaki tüm tüplere tek tek 3.0 mL FRAP reaktifi eklendi. Standart ve numune körü tüplerine 100'er µL lik çözeltileri pipetlendi ve vortekslendi. 37 °C'de (su banyosunda) tüplük çalkalanarak 20 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda ilk pipetlenen tüpten başlanarak 20. dakikası dolan tüp alınıp, buzlu suda 10 saniye soğutulup, plastik küvete aktarıldı ve absorbands 595 nm'de okundu. (Hepsinin absorbandsı saf suya karşı okundu ve pipetlemeler 37 °C'de sıcak su banyosu içinde yapıldı.)

Sonuçlar, indirgeme potansiyeli yüksek ve aynı zamanda standart bir antioksidan madde olan askorbik asit ile karşılaştırılarak yorumlandı. Konsantrasyona karşı absorbands grafiği çizildi. Bu yöntemde, artan absorbands değeri artan indirgeme kuvvetini gösterir.

FRAP değeri= (Numune absorbandsının karşılık geldiği [Askorbik asit] x 2) µM

FRAP değeri= (Numune absorbandsının karşılık geldiği [Troloks]) µM

2.5. Antimikrobiyal Aktivite

Numunelerin antibakteriyal ve antifungal kapasitelerini belirlemek amacıyla ‘Disk Difüzyon’ yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle, metanollü, kloroformlu ve sulu ekstraktların, meyve sularının ve esansiyel yağların antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir.

Bütün test mikroorganizmaları ATC (American Type Culture Collection, Rockville, Maryland)’den temin edildi. *Viburnum* cinsi bitkinin iki farklı türünden elde edilen sulu, kloroformlu ve metanollü ekstrakt numunelerinin, meyve sularının ve sulu ekstraktlardan elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus salivarius* RSHE 606, *Klebsiella pneumonia* ATCC 5041, *Escherichia coli* ATC 29988, *Salmonella enteridis* ATCC 13076, *Streptococcus pneumonia* 10015, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Listeria monocytogenesis* NCTC 5348, *Streptococcus mutans* RSHE 676, , *Basillus licheniformis* B1001, *Micrococcus luteus* B1018, *Basillus subtilis* B209, *Pseudomonas aeruginosa* B2679, *Protous vulgaris* B123 and *Candida albicans* ATC 25922 ’e karşı analiz edilmiştir.

Bu testteki bakteri türleri Mueller Hilton Agar (Merck) ve Mueller Hilton Brot (Merck)’da yetişti. *C. albicans* ise Sabouraud Dextrose Broth (Difco) ve Sabouraud Dextrose Agar (Oxoid)’da yetişti. Mantar süspansiyonları 10^7 hücre/mL’ye ayarlanırken, bakteriyel süspansiyonlar 10^8 hücre/mL’ye seyreltilmiştir.

Antibakteriyal and antifungal aktiviteler agar (besiyeri)’da difüzyon disk plakaları yöntemi kullanılarak ölçüldü. Bunun için önce bu iki bitkinin farklı kısımlarının fraksiyonları %70’lik etil alkolde çözüldü. Bakteriler için Mueller Hinton Agar medium (Merck) ve mantarlar için Sabouraud Dextrose Agar (Oxoid)’den 20’şer mL 15 cm çaplı petri kaplarına döküldü. Mueller Hinton Broth medium (Merck)’de yetiştirilen bakteri suşları 37°C’de 24 saat inkübasyona alınmış ve sonra inhibisyon zonları milimetrik olarak ölçülmüştür. Sabouraud Dextrose Broth (Difco)’de yetiştirilen *C. albicans* ise 27°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Büyüme 600 nm’de ayarlanmıştır. Her bir mililitresinde yaklaşık 10^8 bakteri veya mantar bulunan süspansiyonlar (100 µL) petri kaplarına yerleştirilerek agar üzerine yaydırıldı. Sonra 6 mm çapında steril kağıt disklere (Blank Discs oxoi 486715) her bir bitki numunesinden 15'er µL (2 mg/ml) emdirilerek kurutuldu ve sonrasında bu kağıt diskler bakteri kültürlerinin yaydırıldığı agar üzerine belli aralıklarla yerleştirilmişlerdir. Pozitif kontrol için yerel eczacılıkta kullanılan standart

bakteriyel olarak Ampicillin ve Cephazolin, standart antifungal olarak Nystatin; negatif kontrol için ise etil alkol, kloroform ve metanol kullanıldı. İnhibisyon bölgeleri 27°C’de 48 saat inkübasyondan sonra belirlendi. Tüm testler üç kez tekrarlandı. Test sonuçları inkübasyondan sonra büyümenin görülmediği inhibisyon alanının çapı cinsinden ifade edilmiştir.

2.6. Uçucuların GC-MS Analizleri

Açık havada kurutulmuş *Viburnum opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin yaprak, çekirdek ve odunsu dal kısımları bir soğutucu kullanılarak Clevenger aparatlarında saf suyla ekstrakte edildi. Sistemde biriken yağlar, (0,5 mL) HPLC n-hegzan’da çözülerek alındı ve küçük kahverengi cam şişelere aktarıldı. Şişelerin ağzı sıkıca kapatılıp bantlandı ve +4°C’de saklandı. Analiz sırasında, bir mikrolitre (1µL) ekstrakt doğrudan GC-MS cihazına enjekte edildi.

GC-MS analizleri Agilent-5973 MS sistemiyle donatılmış Agilent-6890 GC sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. İyon tuzağı dedektörlü kütle spektrometresi, electron çarpışma iyonizasyonu altında (70 eV) tüm durumu taramak için kullanıldı.

Analizler için HP-5 kapiler (30m_0.32mm i.d., film kalınlığında 0.25 mm) kromatografik kolonu kullanıldı. 1mL=min akış oranında Helyum taşıyıcı gaz olarak kullanıldı. Enjeksiyonlar, 230°C’de bölünmemiş durumda gerçekleştirildi. Hegzandaki (HPLC derecede) bir mikrolitre (1µL) esansiyel yağ çözeltisi; başlangıçta 60°C’de 2 dakika ve sonra arttırılarak 260°C’de 5°C/dakika ısıtma rampasında, daha sonra da 260°C’de 20 dakika tutulan kolonla enjekte ve analiz edildi.

Ayrılmış bileşenlerin bağıl yüzde miktarları, bilgisayar donanımlı entegratörle toplam iyon kromatogramlarından hesaplandı.

Yağ bileşenleri, kendi kütle spektrumlarıyla kütle spektrum kütüphanelerinin (NIST, Wiley and HPCH) bileşenleri karşılaştırılarak tanımlandı.

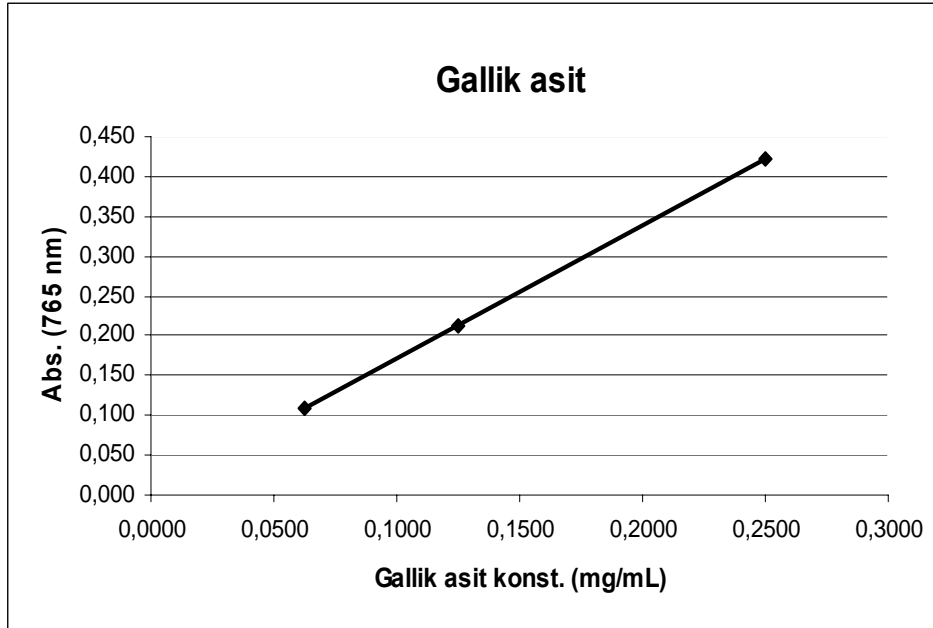
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Antioksidan Aktiviteler

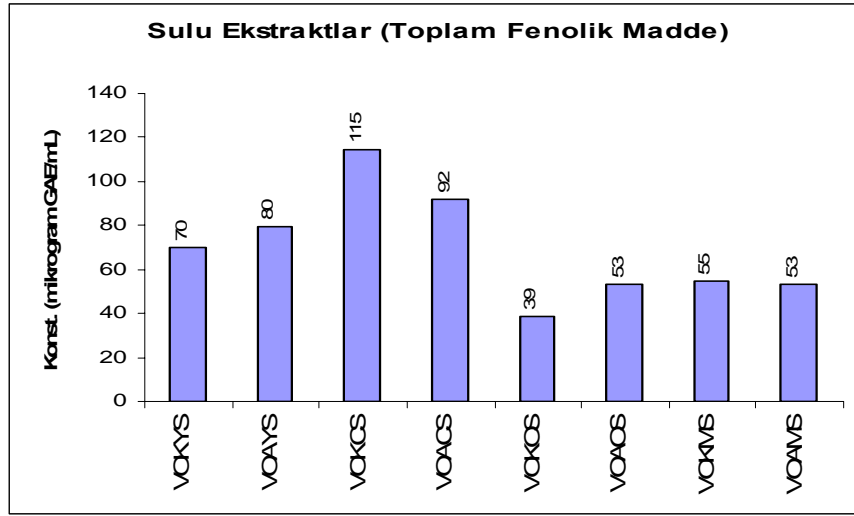
3.1.1. Toplam Fenolik Madde Miktarları

Sulu ve metanollü ekstraktlarda Toplam Polifenol Madde Miktarı yöntemiyle gallik asite ve/veya kateşine karşı belirlenen fenolik madde miktarları Şekil 19, Şekil 20 ve Şekil 21’de verilmiştir. 765 nm’de, mL numune başına eşdeğer miktarda µg gallik asitin artan konsantrasyonlarına karşılık gelen numunelerin fenolik madde içerikleri grafiğe geçirilerek belirlenmiştir.

3.1.1.1. Sulu Ekstraktlarda Toplam Polifenol Madde Miktarları



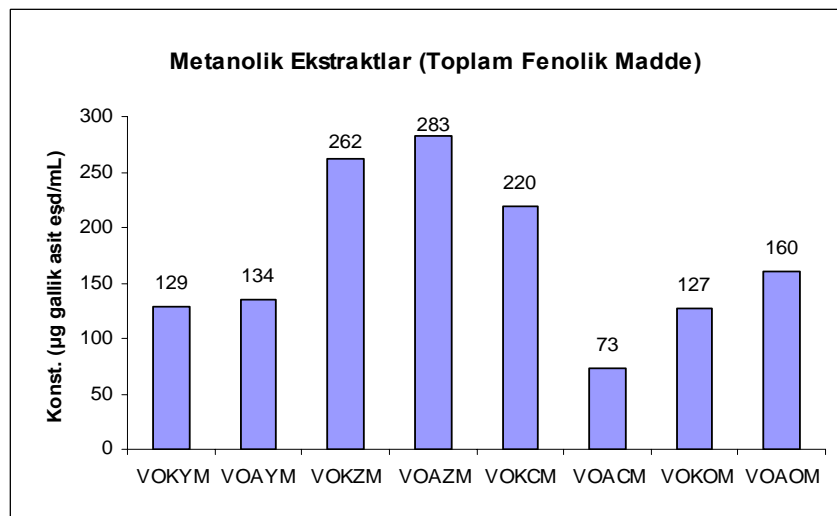
Şekil 18. Toplam fenolik madde tayini yönteminde standart olarak kullanılan gallik asitin farklı konsantrasyonlarına karşı 765 nm’de verdiği absorbans değerlerinin grafiği



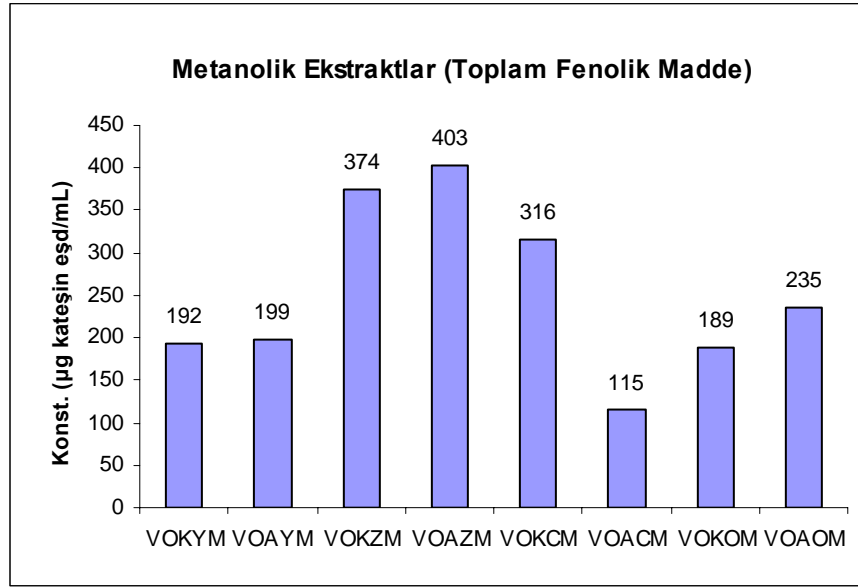
Şekil 19. *Viburnum opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin yaprak, çekirdek, zar ve odunsu dal kısımlarının sulu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları (mL numune başına eşdeğer miktarda μg gallik asit)

Sulu ekstaktların toplam fenolik madde miktarları karşılaştırıldığında en çok fenolik maddeyi *V.opulus* bitkisinin çekirdek kısmının (VOKCS) içerdiği söylenebilir. Şekil 19'da iki bitki türünün aynı kısımlarının birbirine yakın fenolik madde miktarına sahip olduğu görülebilir.

3.1.1.2. Metanol Ekstraktlarında Toplam Polifenol Madde Miktarları



Şekil 20. *V. opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin yaprak, çekirdek, zar ve odunsu dal kısımlarının metanolik ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları (mL numune başına eşdeğer miktarda μg kateşin)



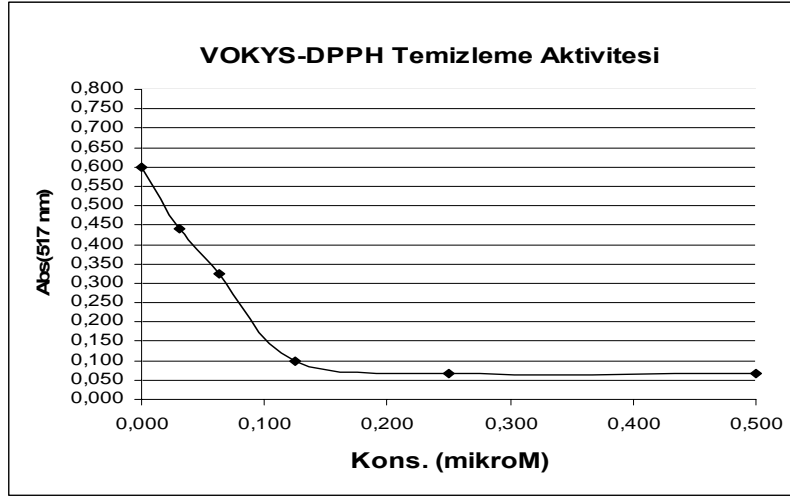
Şekil 21. *V. opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin yaprak, çekirdek, zar ve odunsu dal kısımlarının metanolik ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları (mL numune başına eşdeğer miktarda µg gallik asit)

Metanolik ekstraktların toplam fenolik madde miktarları karşılaştırıldığında en çok fenolik maddeyi *V.orientale* bitkisinin zar kısmının (VOAZM) içerdiği söylenebilir. Bunun dışında, sulu ekstraktlarla metanolik ekstraktlar karşılaştırıldığında iki bitkinin aynı kısımları arasında pozitif korelasyon olduğu söylenebilir (Şekil 20 ve Şekil 21).

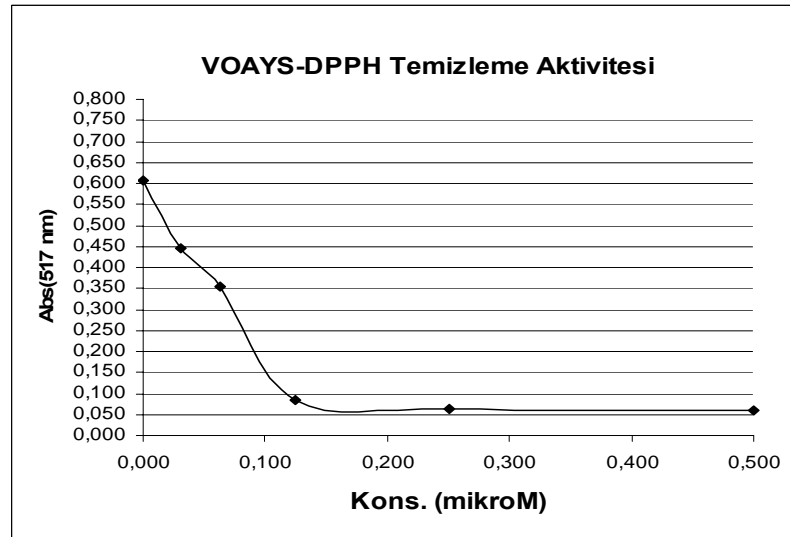
3.1.2. DPPH• Radikal Temizleme Aktiviteleri

Sulu, kloroformlu ve metanollü ekstraktlarda DPPH• radikali temizleme yöntemiyle belirlenen numune antioksidan kapasiteleri Şekil 22-50'den elde edilerek belirlenmiştir. Artan numune konsantrasyonuna karşı 517 nm'deki absorbanslar grafiğe geçirilerek elde edilen grafiklerden antioksidan kapasiteler kantitatif olarak ifade edilmiştir. Antioksidan aktivite, numunelerin IC₅₀ değerleri belirlenerek karşılaştırılmıştır (Şekil 30, Şekil 41, Şekil 50). IC₅₀, başlangıç DPPH• radikal konsantrasyonunu (kontrolün absorbansını) yarıya düşüren numune konsantrasyonudur ve genellikle mg/mL ya da mM olarak ifade edilmektedir.

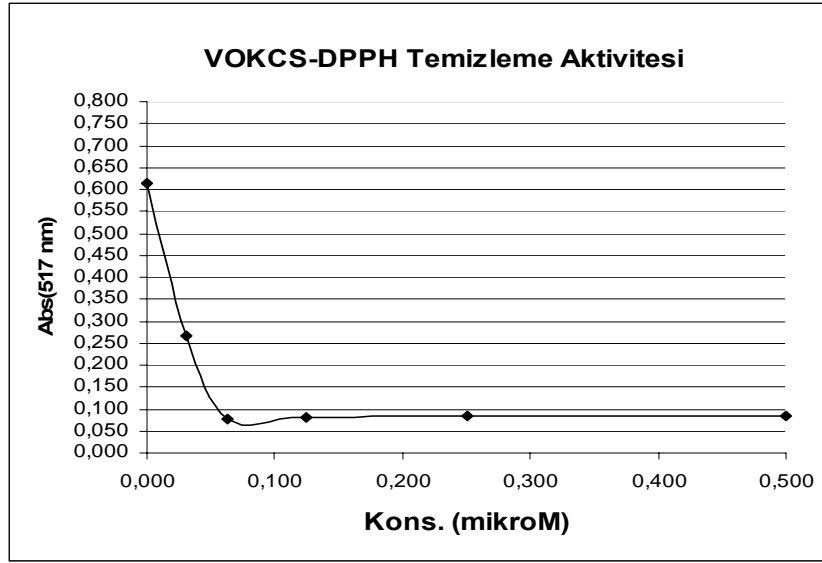
3.1.2.1. Sulu Ekstraktlarda DPPH• Radikal Temizleme Aktiviteleri



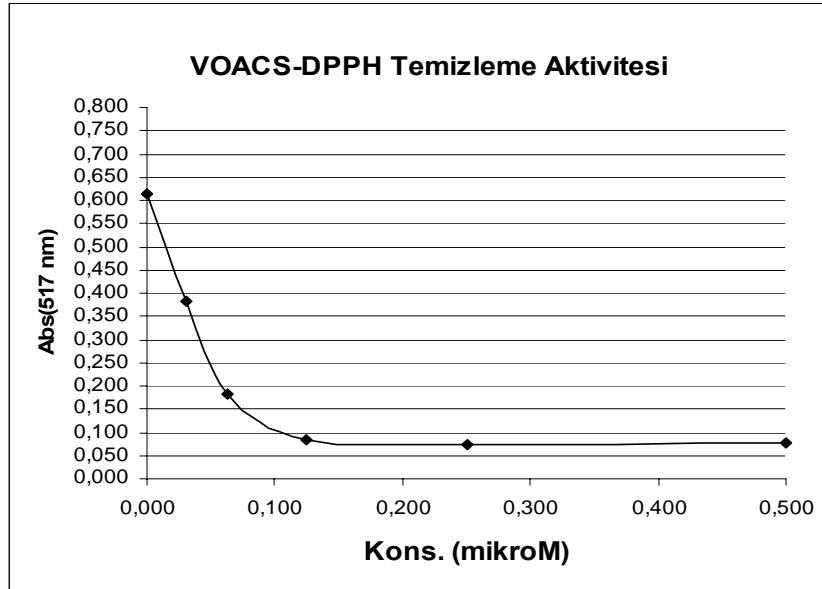
Şekil 22. *V. opulus*'un yaprak kısmının sulu ekstraktının (VOKYS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,0738$ mg/mL)



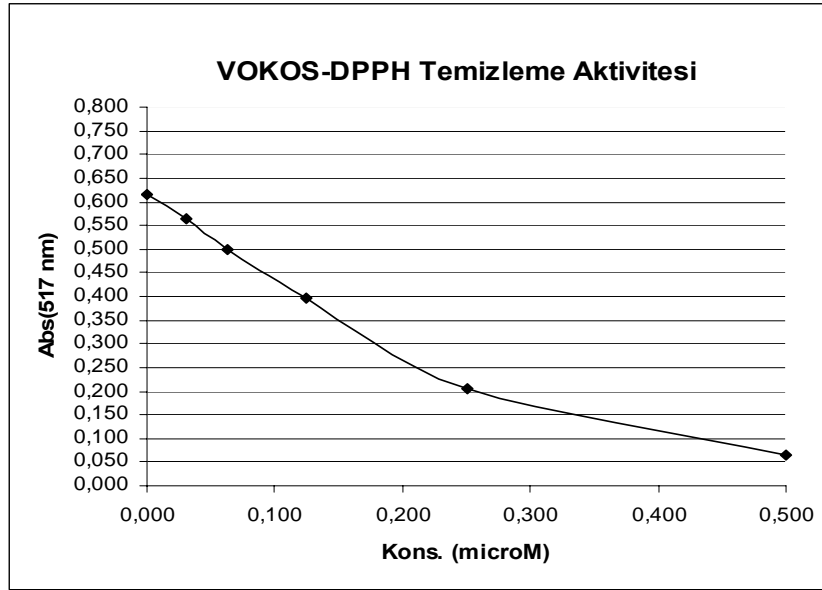
Şekil 23. *V. orientales*'nin yaprak kısmının sulu ekstraktının (VOAYS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,0728$ mg/mL)



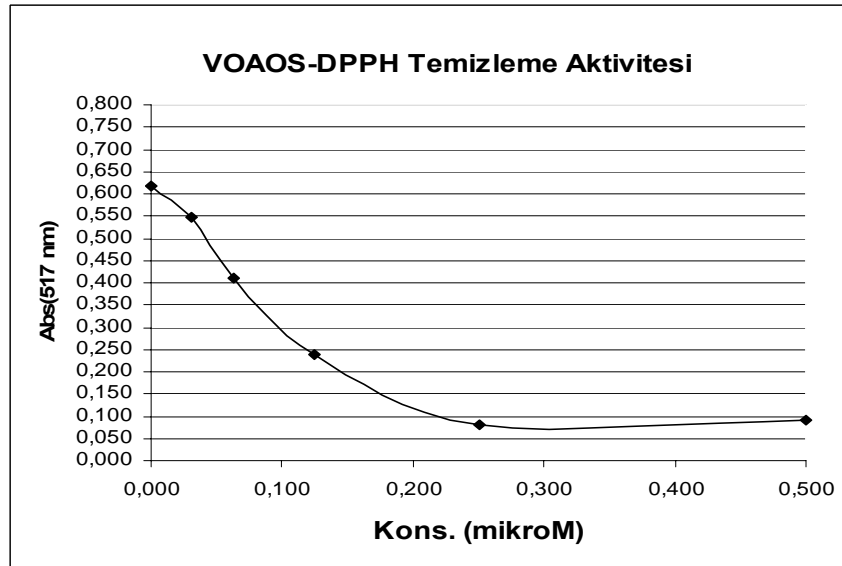
Şekil 24. *V. opulus*'un çekirdek kısmının sulu ekstraktının (VOKCS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorban değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbanını (maksimum absorban) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,0342$ mg/mL)



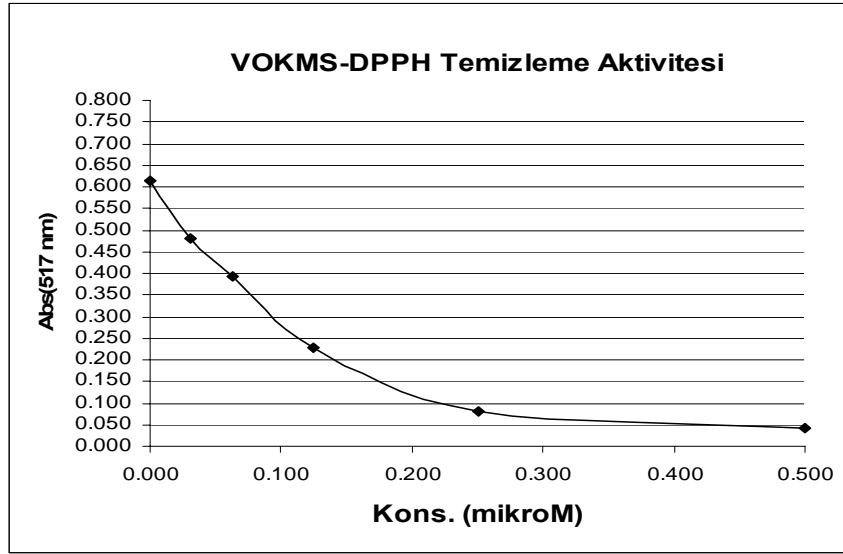
Şekil 25. *V. orientales*'nin çekirdek kısmının sulu ekstraktının (VOACS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorban değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbanını (maksimum absorban) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,0441$ mg/mL)



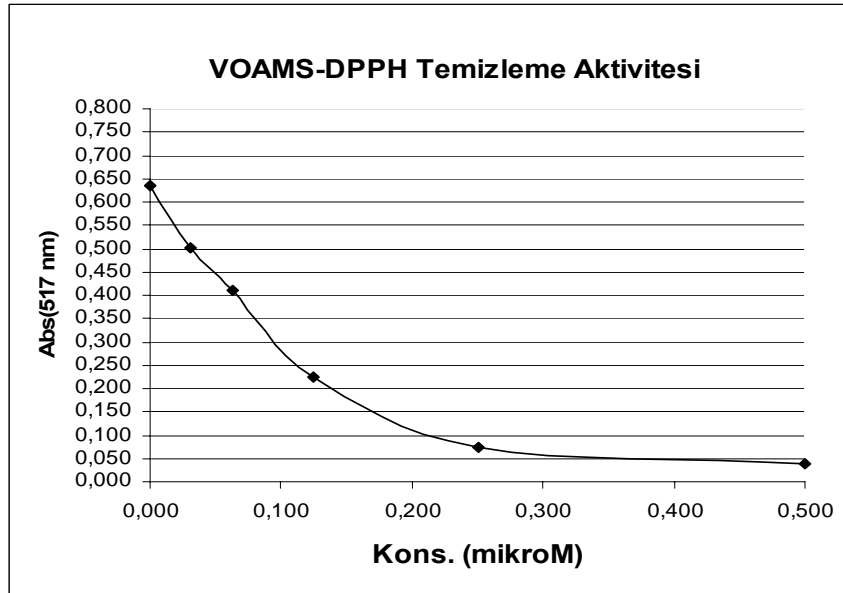
Şekil 26. *V. opulus*'un odunsu dal kısmının sulu ekstraktının (VOKOS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,185$ mg/mL)



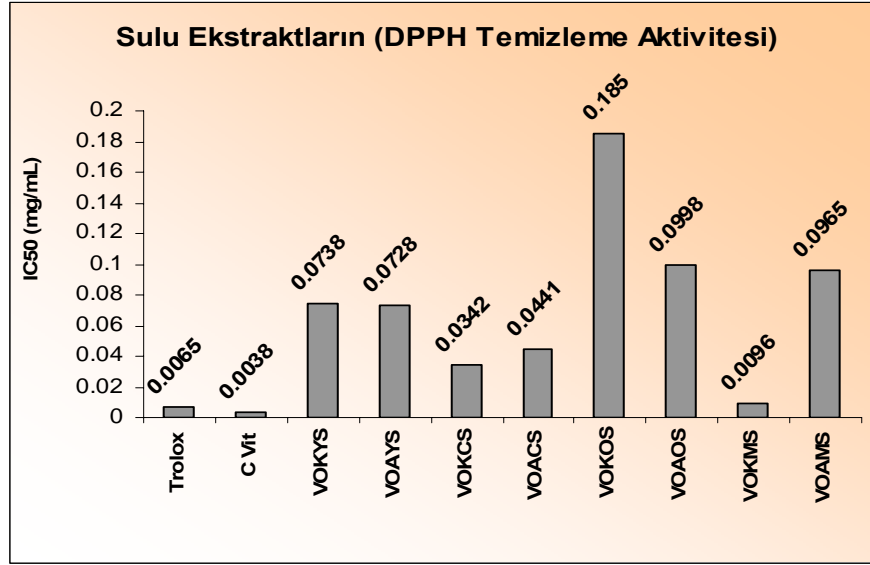
Şekil 27. *V. orientale*'nin odunsu dal kısmının sulu ekstraktının (VOAOS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,0998$ mg/mL)



Şekil 28. *V. opulus*'un meyve suyunun (VOKMS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,0096$ mg/mL)



Şekil 29. *V. orientalis*'nin meyve suyunun (VOAMS) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,0965$ mg/mL)

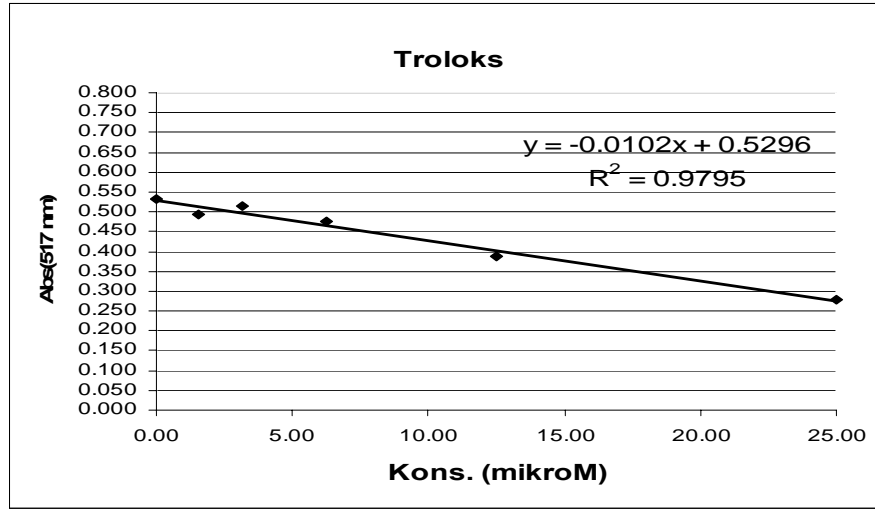


Şekil 30. Trolox® ve C vitamini standartları ile *V. opulus* ve *V.orientale* bitkilerinin yaprak, zar, çekirdek ve odunsu dal kısımlarının sulu ekstraktlarının 517 nm'deki DPPH• radikali temizleme aktivitesi tayinleri sonucu elde edilen IC₅₀ değerleri (mg/mL)

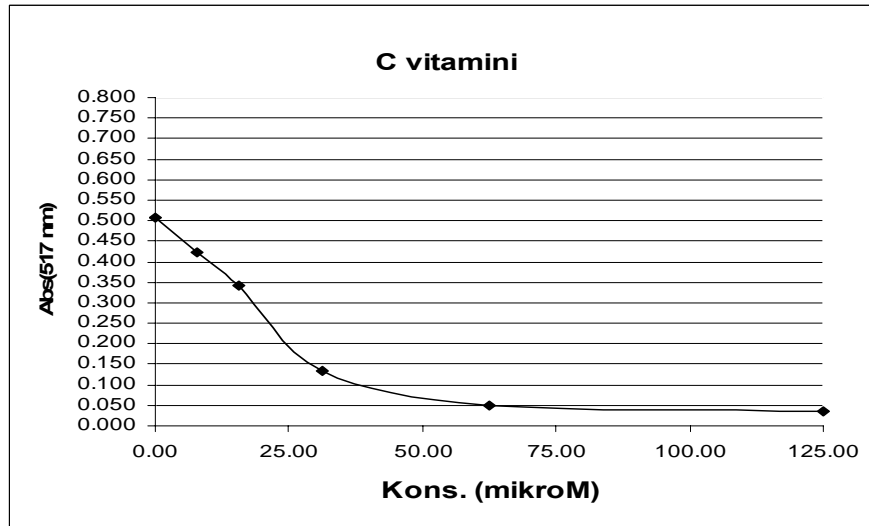
IC₅₀ değerlerini veren şekilden (Şekil 30) de anlaşılacağı gibi; sulu ekstraktlarda *V.opulus*'un meyve suyu numunesinin (VOKMS) antioksidan kuvveti diğer numunelerden oldukça iyidir, başlangıç konsantrasyonunu oldukça fazla düşürmüştür.

V.opulus ile *V.orientale*'nin aynı kısımları karşılaştırılacak olursa; *V.opulus*'un yaprak (VOKYS) ve odunsu dal (VOKOS) kısımlarının sulu ekstraktları *V.orientale*'ninkilerden daha düşük ;fakat çekirdek ve meyve suyu daha yüksek antioksidan kuvvete sahiptir.

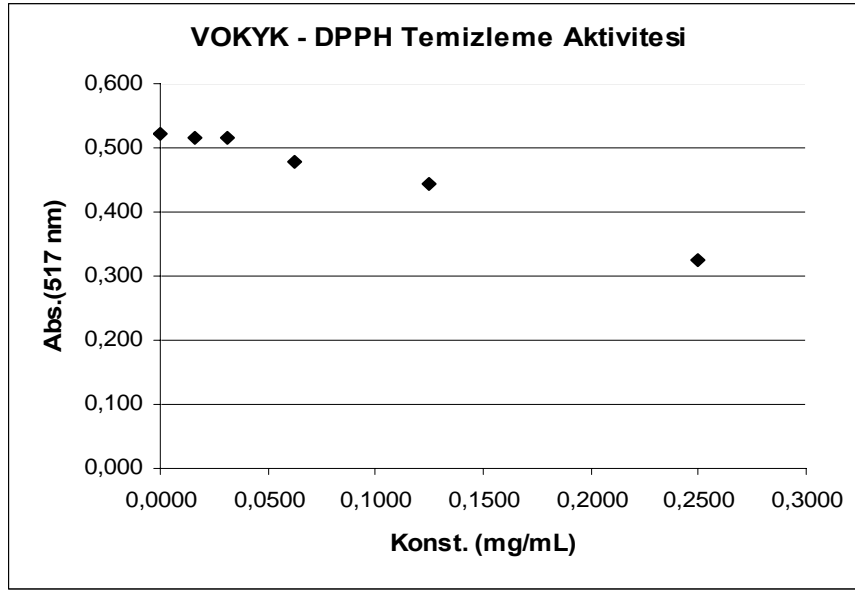
3.1.2.2. Kloroform Ekstraktlarında DPPH• Radikal Temizleme Aktiviteleri



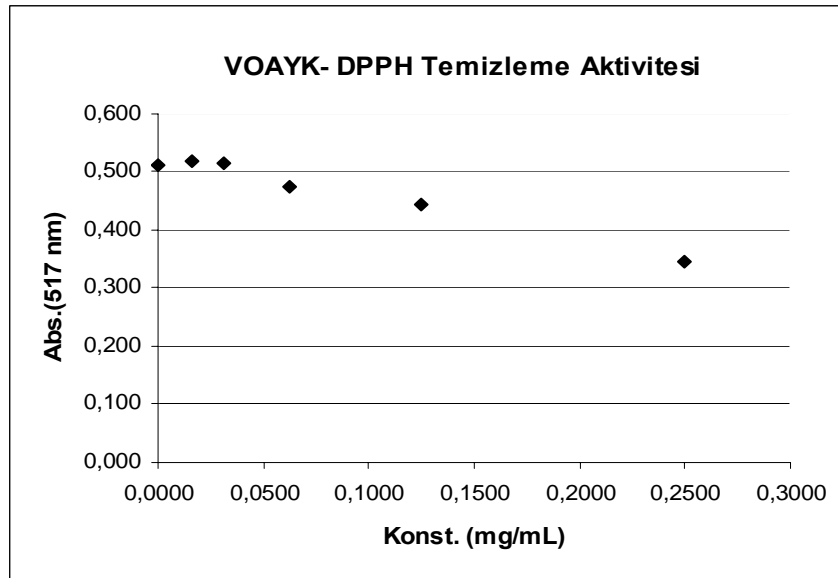
Şekil 31. DPPH• radikali temizleme aktivitesi yönteminde standart olarak kullanılan Trolox'un vitamininin farklı konsantrasyonlarına karşı 517 nm'de verdiği absorbans değerlerinin grafiği. Kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu $IC_{50}=25,96$ mikroM olarak bulundu. (mg/mL'ye çevrilirse $IC_{50}=0,0065$ mg/mL olur)



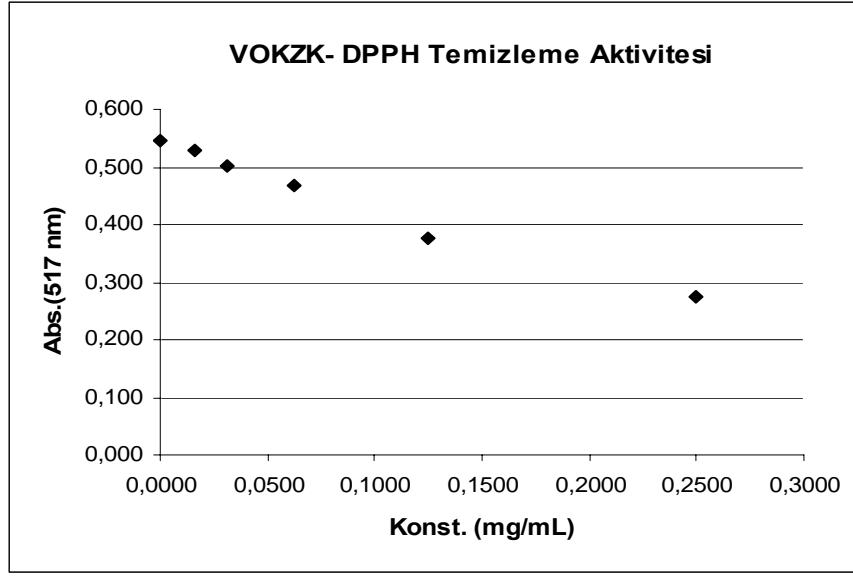
Şekil 32. DPPH• radikali temizleme aktivitesi yönteminde standart olarak kullanılan C vitamininin farklı konsantrasyonlarına karşı 517 nm'de verdiği absorbans değerlerinin grafiği. Kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu $IC_{50} = 21,52$ mikroM olarak bulundu.(mg/mL'ye çevrilirse $IC_{50} = 0,0038$ mg/mL olur)



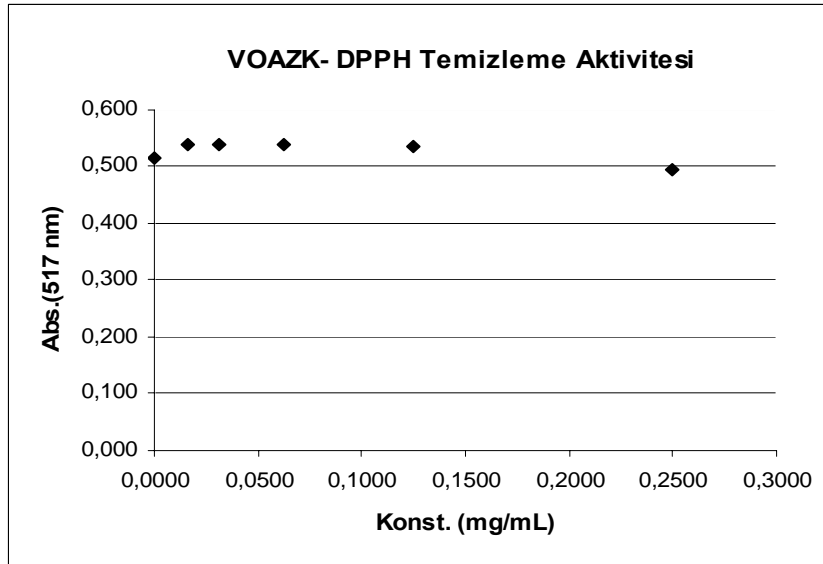
Şekil 33. *V. opulus*'un yaprak kısmının kloroform ekstraktının (VOKYK) DPPH[•] radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC₅₀) olarak ifade edildi (IC₅₀ = 0,3328 mg/mL)



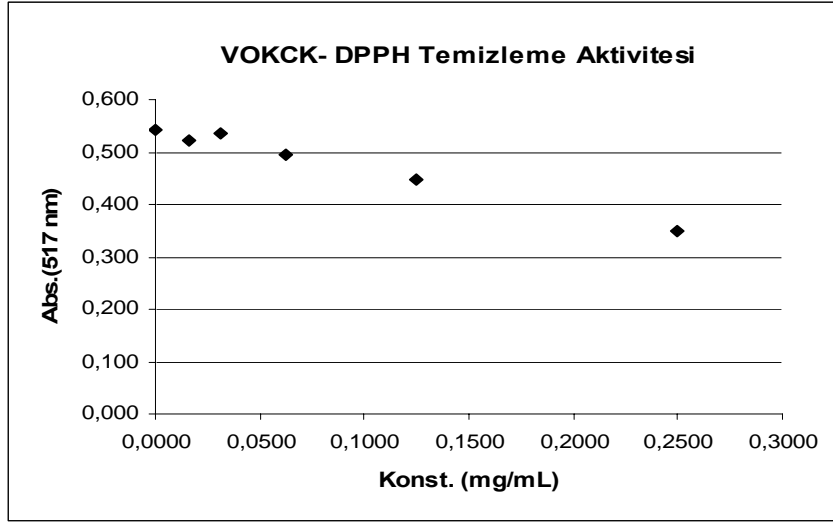
Şekil 34. *V. orientale*'nin yaprak kısmının kloroform ekstraktının (VOAYK) DPPH[•] radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC₅₀) olarak ifade edildi (IC₅₀ = 0,362 mg/mL)



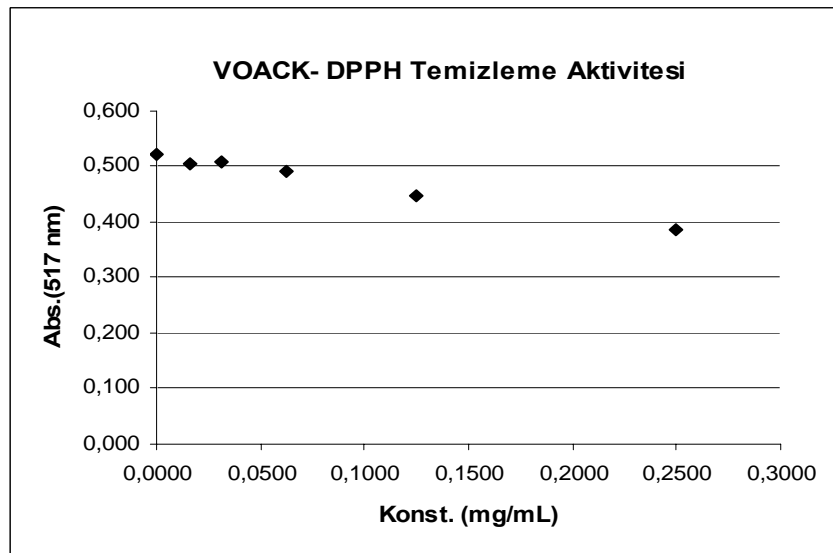
Şekil 35. *V. opulus*'un zar kısmının kloroform ekstraktının (VOKZK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,245$ mg/mL)



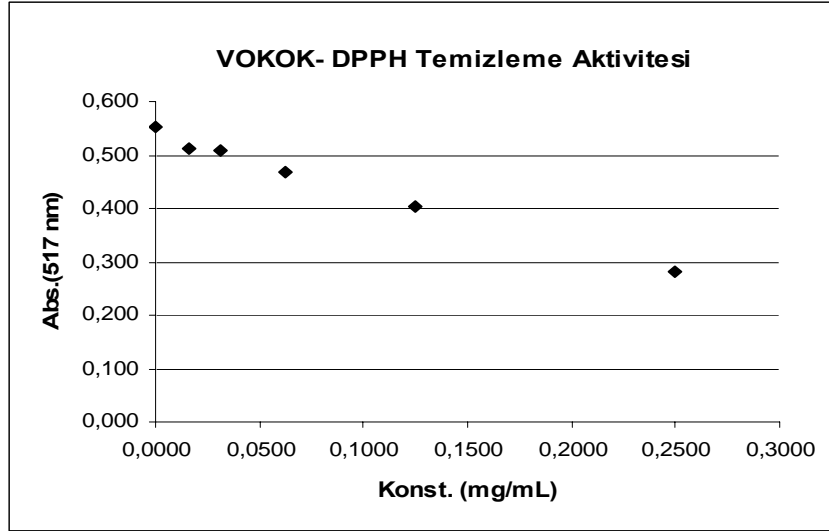
Şekil 36. *V. orientale*'nin zar kısmının kloroform ekstraktının (VOAZK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 1,103$ mg/mL)



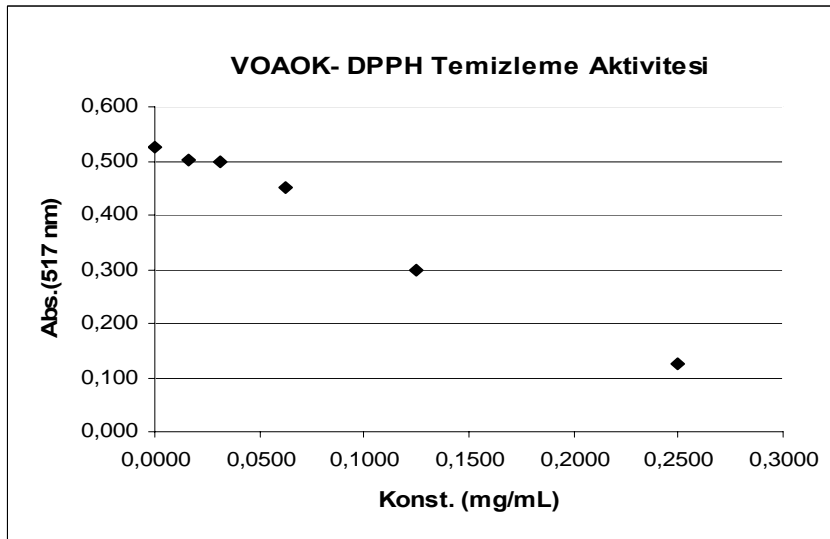
Şekil 37. *V. opulus*'un çekirdek kısmının kloroform ekstraktının (VOKCK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC₅₀) olarak ifade edildi (IC₅₀ = 0,336 mg/mL)



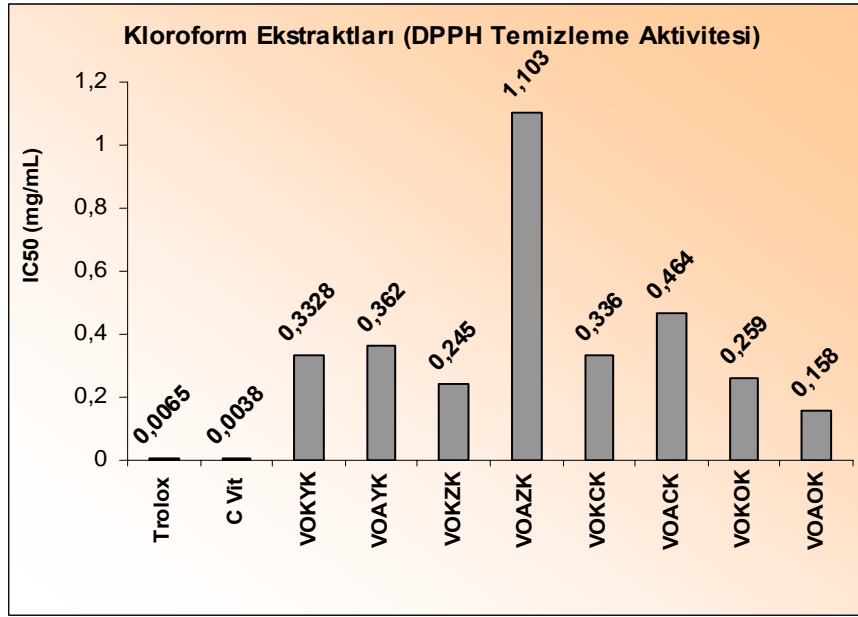
Şekil 38. *V. orientale*'nin çekirdek kısmının kloroform ekstraktının (VOACK) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC₅₀) olarak ifade edildi (IC₅₀ = 0,464 mg/mL)



Şekil 39. *V. opulus*'un odunsu dal kısmının kloroform ekstraktının (VOKOK) DPPH[•] radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC₅₀) olarak ifade edildi (IC₅₀ = 0,259 mg/mL)



Şekil 40. *V. orientale*'nin odunsu dal kısmının kloroform ekstraktının (VOAOK) DPPH[•] radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC₅₀) olarak ifade edildi (IC₅₀ = 0,158 mg/mL)

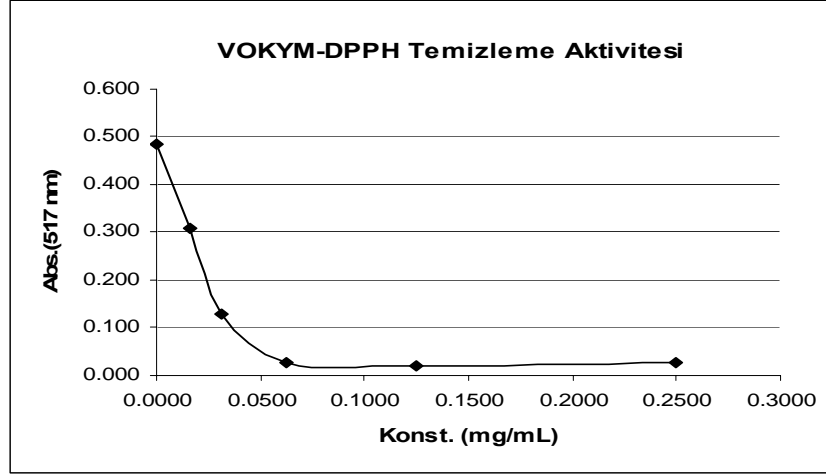


Şekil 41. Trolox® ve C vitamini standartları ile *V. opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin yaprak, zar, çekirdek ve odunsu dal kısımlarının kloroform ekstraktlarının 517 nm'deki DPPH• radikali temizleme aktivitesi tayinleri sonucu elde edilen IC₅₀ değerleri (mg/mL)

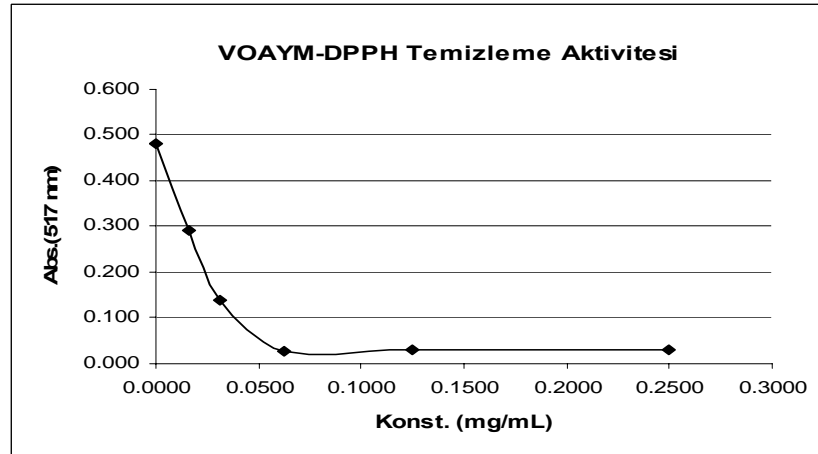
IC₅₀ değerlerini veren grafikten de anlaşılacağı gibi; kloroform ekstraktlarında *V.orientale*'nin odunsu dal numunesinin antioksidan kapasitesi diğer numunelerden oldukça iyidir, başlangıç konsantrasyonunu oldukça fazla düşürmüştür.

V.opulus ile *V.orientale*'nin aynı kısımları karşılaştırılacak olursa; *V.opulus*'un yaprak (VOKYK), zar (VOKZK) ve çekirdek (VOKCK) lerinin kloroformlu ekstraktları *V.orientale*'ninkilerden daha yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir.

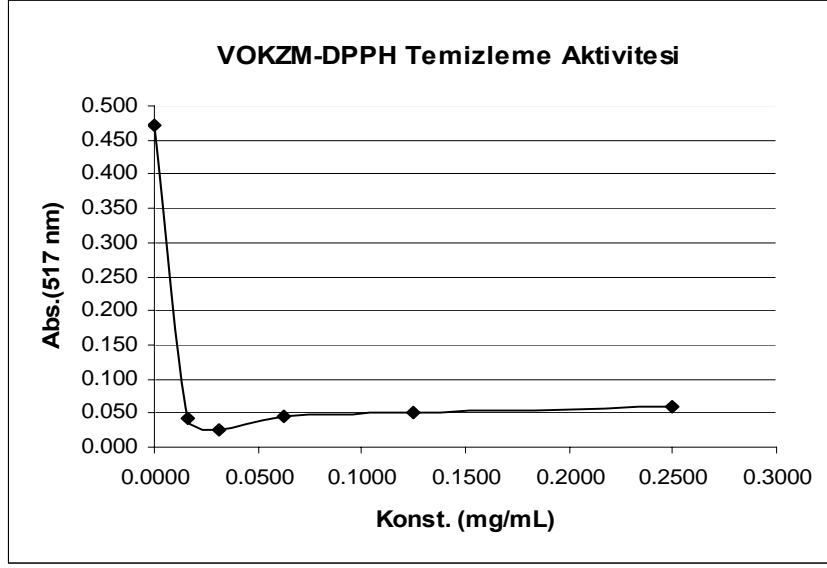
3.1.2.3. Metanol Ekstraktlarında DPPH• Radikal Temizleme Aktiviteleri



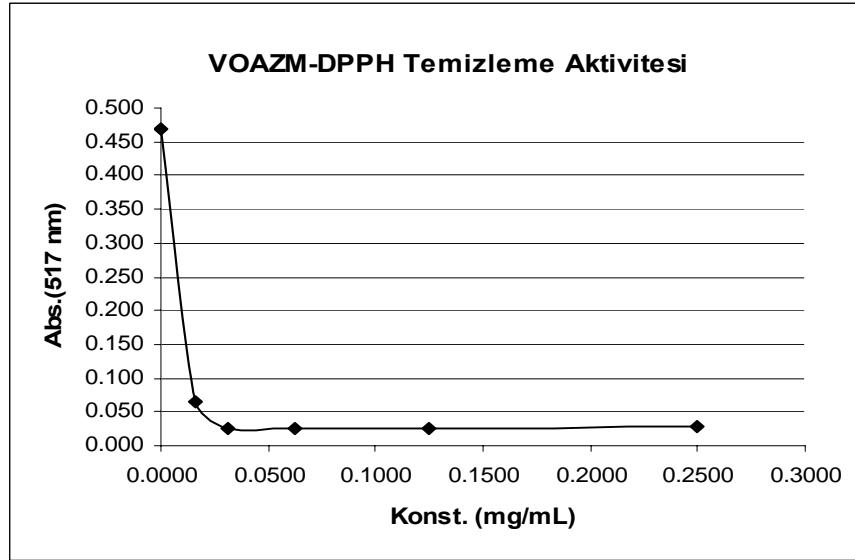
Şekil 42. *Viburnum opulus*'un yaprak kısmının metanolik ekstraktının (VOKYM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,0214$ mg/mL)



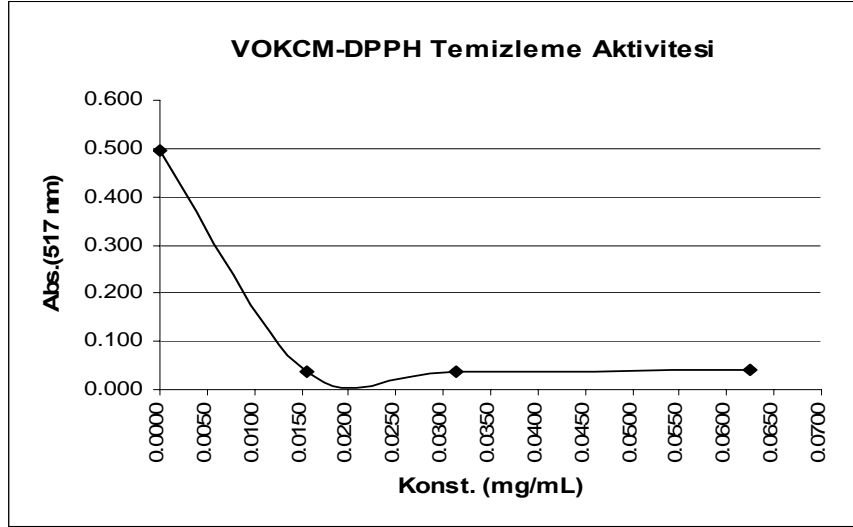
Şekil 43. *Viburnum orientale*'nin yaprak kısmının metanolik ekstraktının (VOAYM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,2175$ mg/mL)



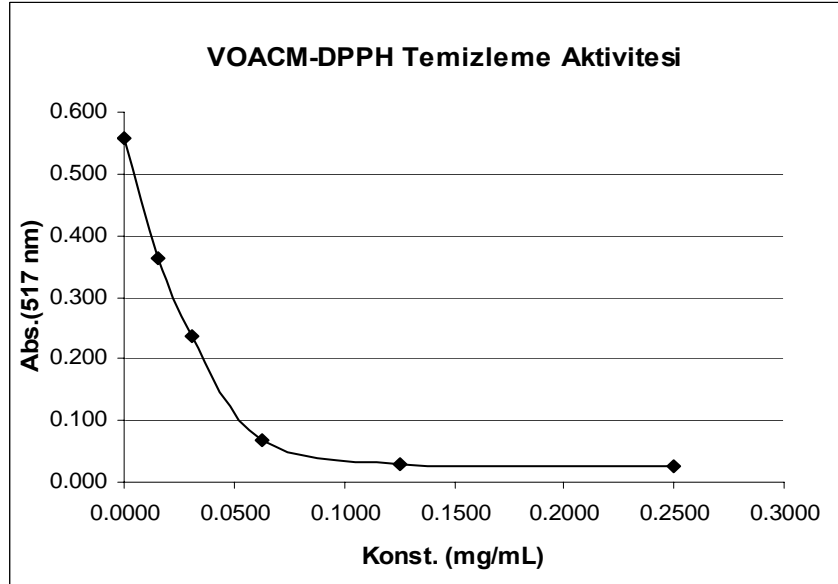
Şekil 44. *Viburnum opulus*'un zar kısmının metanolik ekstraktının (VOKZM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC₅₀) olarak ifade edildi (IC₅₀ = 0,0146 mg/mL)



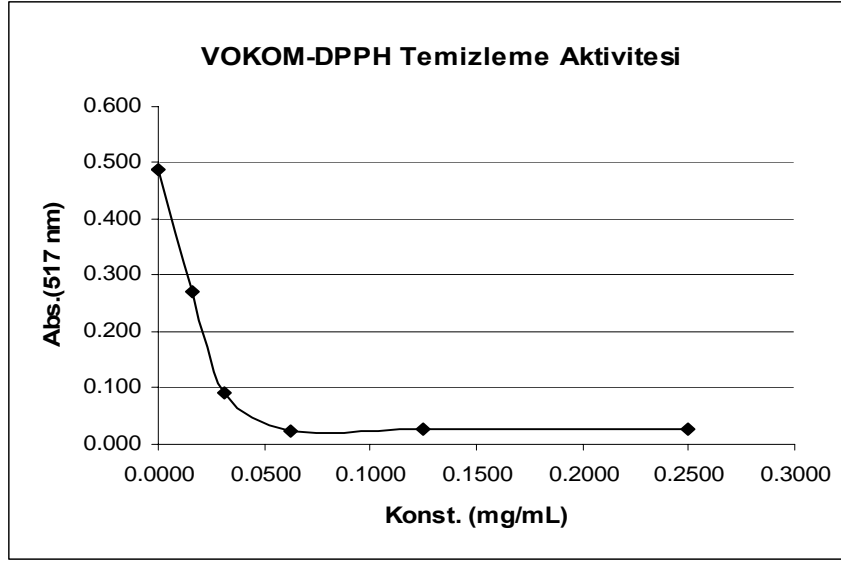
Şekil 45. *Viburnum orientale*'nin zar kısmının metanolik ekstraktının (VOAZM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorbans değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbansını (maksimum absorbans) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC₅₀) olarak ifade edildi (IC₅₀ = 0,0144 mg/mL)



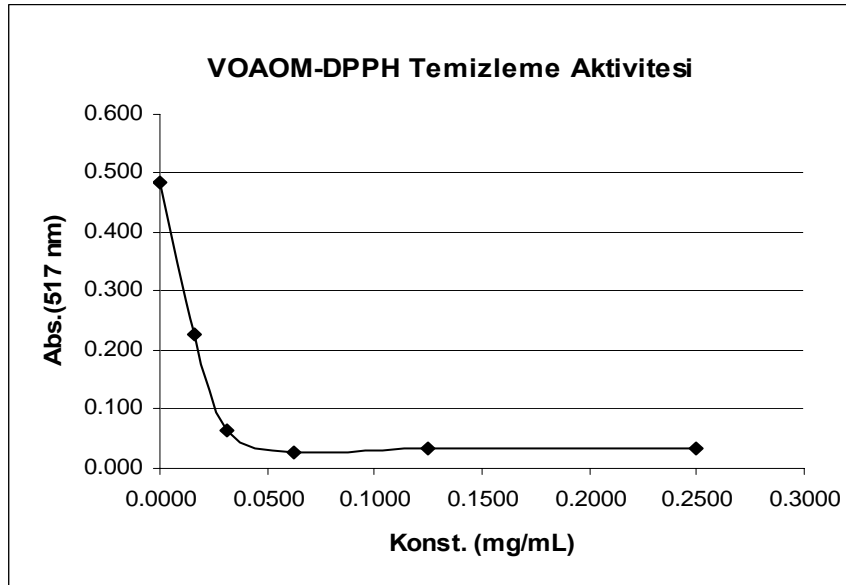
Şekil 46. *Viburnum opulus*'un çekirdek kısmının metanolik ekstraktının (VOKCM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorban değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbanını (maksimum absorban) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,0047$ mg/mL)



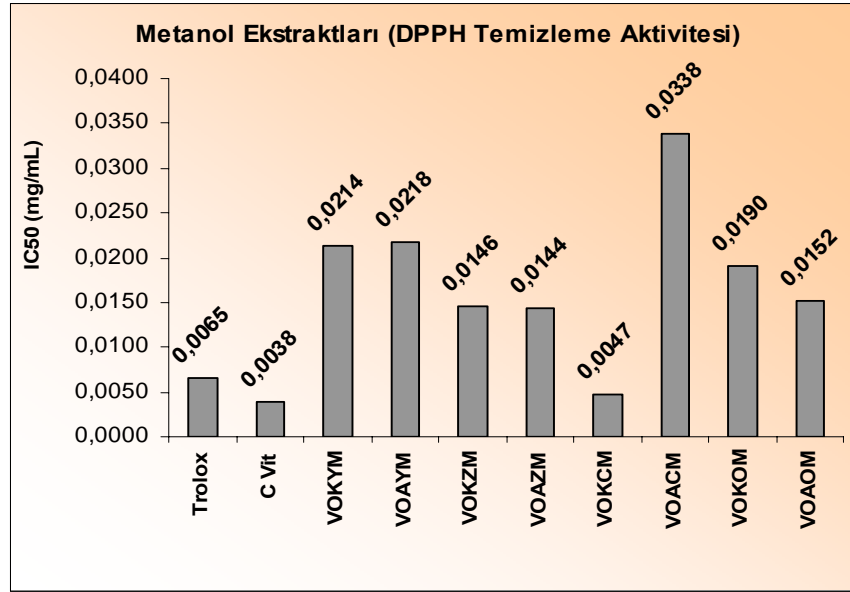
Şekil 47. *Viburnum orientale*'nin çekirdek kısmının metanolik ekstraktının (VOACM) DPPH• radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorban değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbanını (maksimum absorban) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edildi ($IC_{50} = 0,0338$ mg/mL)



Şekil 48. *Viburnum opulus*'un odunsu dal kısmının metanolik ekstraktının (VOKOM) DPPH[•] radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorban değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbanını (maksimum absorban) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC₅₀) olarak ifade edildi (IC₅₀ = 0,019 mg/mL)



Şekil 49. *Viburnum orientale*'nin odunsu dal kısmının metanolik ekstraktının (VOAOM) DPPH[•] radikali temizleme aktivitesi. Grafik, farklı numune konsantrasyonlarına karşılık gelen 517 nm'deki absorban değerlerini göstermektedir. Antioksidan aktivite, kontrolün absorbanını (maksimum absorban) yarıya düşüren numune konsantrasyonu (IC₅₀) olarak ifade edildi (IC₅₀ = 0,0152 mg/mL)



Şekil 50. Trolox® ve C vitamini standartları ile *Viburnum opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin yaprak, zar, çekirdek ve odunsu dal kısımlarının metanol ekstraktlarının 517 nm'deki DPPH• radikali temizleme aktivitesi tayinleri sonucu elde edilen IC₅₀ değerleri (mg/mL)

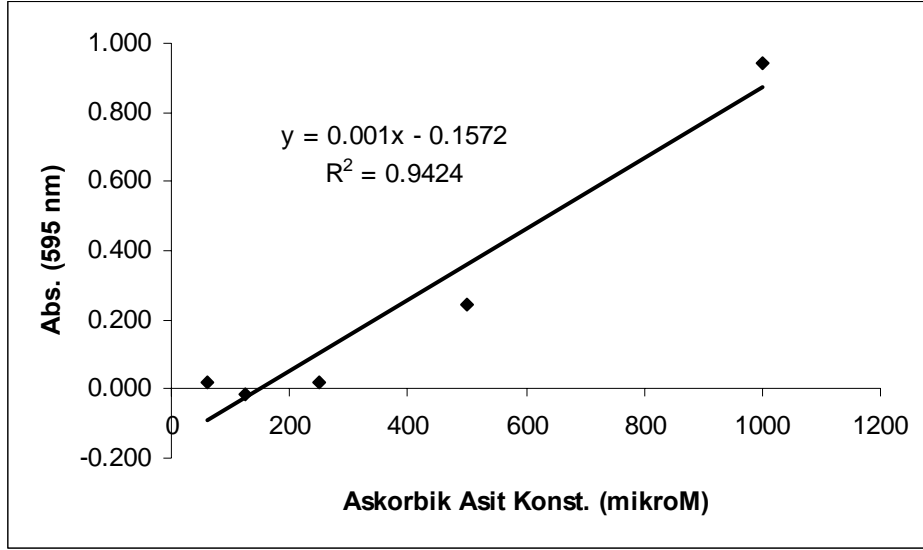
IC₅₀ değerlerini veren grafikten de anlaşılacağı gibi; metanol ekstraktlarında *V. opulus*'un çekirdek numunesinin antioksidan kapasitesi diğer numunelerden oldukça iyidir, başlangıç konsantrasyonunu oldukça fazla düşürmüştür.

V.opulus ile *V.orientale*'nin aynı kısımları karşılaştırılacak olursa; *V. orientale*'nin zar (VOAZK) ve odunsu dal (VOAOK) larının metanollü ekstraktları *V.opulus*'unkilerden daha yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. *V.opulus*'un ise yaprak (VOKYK) ve çekirdek (VOKCK) lerinin *V. orientale*'ninkilerden daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmektedir.

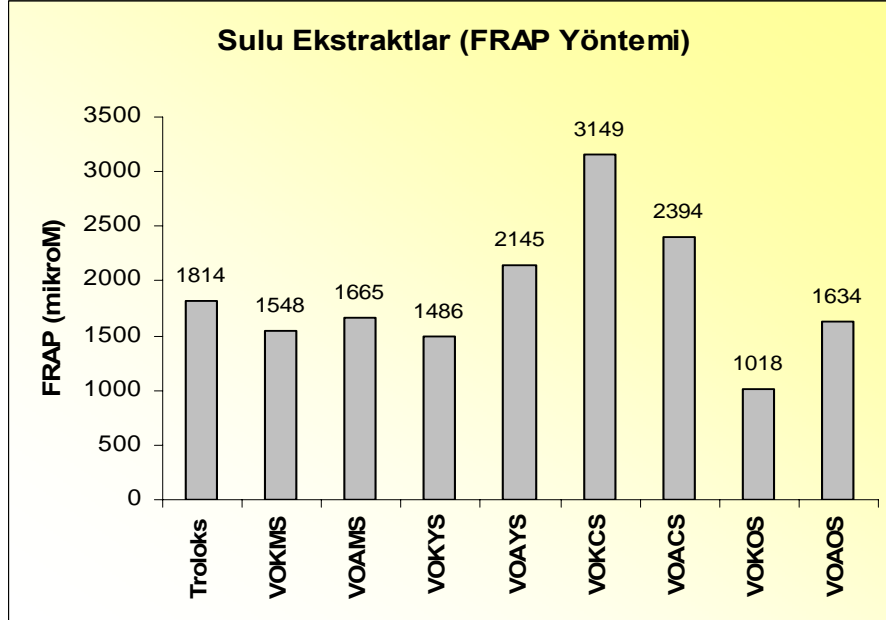
3.1.3. Demir (III) İndirgeme/Antioksidan Kuvveti

Metanollü ve sulu ekstraktlarda Demir (III) İndirgeme/Antioksidan Kuvveti yöntemiyle 595 nm'de numunelerin antioksidan kuvvetine karşılık gelen absorbans değerleri Şekil 52 ve Şekil 54'de verilmiştir. Her bir askorbik asit konsantrasyonunun karşılık geldiği değerin iki katı Trolox® için geçerlidir.

3.1.3.1. Sulu Ekstraktlarda Demir (III) İndirgeme Kuvveti



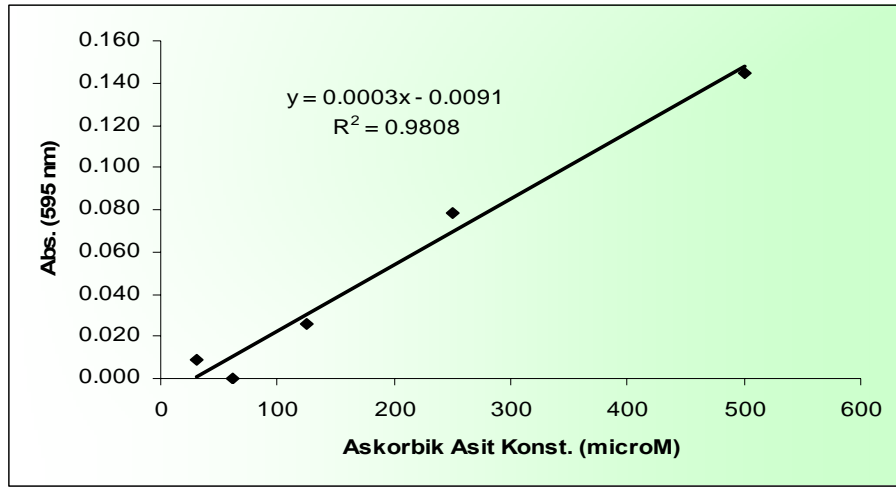
Şekil 51. Fe (III) indirgeme kuvveti (FRAP) yönteminde standart olarak kullanılan Askorbik asitin farklı konsantrasyonlarına karşı 595 nm’de verdiği absorbans değerlerinin grafiği



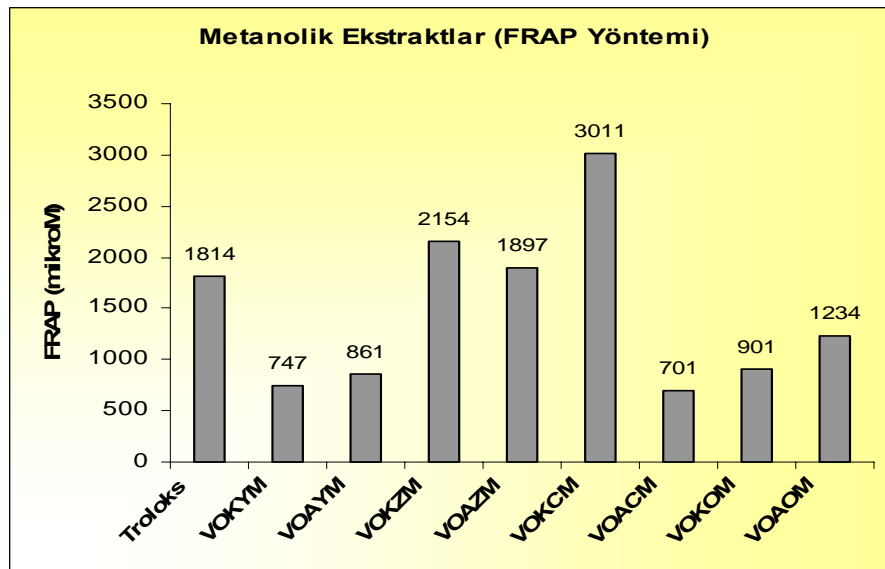
Şekil 52. Trolox® standardının ve sulu ekstraktların ve meyve sularının Fe (III) indirgeme kuvvetleri (FRAP)

Sulu ekstraktların demir (III) indirgeme potansiyelleri karşılaştırıldığında; VOKCS'nin demiri indirgeme potansiyeli yani antioksidan kuvveti diğerlerinden, hatta standart antioksidan olan Trolox®'tan bile oldukça iyidir. Ayrıca, Şekil 52'de görüldüğü gibi VOAYS ve VOACS'nin antioksidan kuvvetleri de Trolox®'tan daha fazladır.

3.1.3.2. Metanol Ekstraktlarında Demir (III) İndirgeme Kuvveti



Şekil 53. Fe (III) indirgeme kuvveti (FRAP) yönteminde standart olarak kullanılan Askorbik asitin farklı konsantrasyonlarına karşı 595 nm'de verdiği absorbans değerlerinin grafiği



Şekil 54. Trolox® standardının ve metanollü ekstraktların Fe (III) indirgeme kuvvetleri (FRAP)

Metanol ekstraktlarında da VOKCM'nin demir(III)'ü indirgeme potansiyeli diğer numunelerden daha yüksek çıkmıştır ve sulu ekstraktlarla karşılaştırıldığında aralarında pozitif bir korelasyon olduğu söylenebilir. Ancak, metanol ekstraktlarının antioksidan kuvveti Troloks®'tan oldukça düşüktür.

3.2. Antimikrobiyal Aktivite

Disk difüzyon yöntemine göre yapılan çalışmada VOKYM hariç, hiçbir numune 500µg/mL'de *B.subtillis* bakterisine karşı etki göstermemiştir. Ayrıca, VOKYS hariç sulu ekstraktların, meyve sularının ve esansiyel yağların hiçbiri çalışılan bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip değildir. VOKYS, *S.pneumonia* bakterisine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Cephazolin, *S.salivarius*'a karşı etki etmezken; kloroformlu ve metanollü ekstaktlardan VOKYM, VOKZM, VOKCM, VOKOM, VOAOM, VOAYK, VOKZK, VOAZK ve VOKCK *S.salivarius*'a karşı Ampicillin'den daha iyi antimikrobiyal aktivite göstermektedir. VOKOM, VOAZK, VOKCK, VOACK, VOKOK ve VOAOK ise Ampicillin ve Cephazolin'den daha iyi antimikrobiyal aktivite göstermektedir.

Kloroformlu numunelerin hiçbiri *Bacillus cereus*, *B.licheniformes* ve *B.subtillis* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip değildir.

Yine kloroformlu numunelerden VOAYK ve VOKZK *E.coli* bakterisine karşı Ampicillin kadar iyi (Cephazolin'den çok daha iyi) etki edebilmektedir.

Genel olarak bakıldığında, metanollü ekstraktların yaprak numunelerinde; *S.salivarius*, *S.mutans*, *Candida Albicans*, *E.coli* ve *B.subtillis*'e karşı *V.opulus V.orientale*'den daha iyi antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Ayı ekstraktların zar numunelerinde ise yine; *S.salivarius*, *K.pneumonia*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *M.luteus* ve *E.coli*'ye karşı *V.opulus V.orientale*'den daha iyi antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Ayı ekstraktların çekirdek numuneleri karşılaştırılacak olursa; tüm mikroorganizmalarda *V.orientale*'den daha iyi (birkaçında eşit) antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Odunsu dal numunelerinde; özellikle *S.pneumonia*, *Bacillus cereus* ve *M.luteus*'a karşı *V.opulus* oldukça iyi antimikrobiyal aktivite göstermektedir.

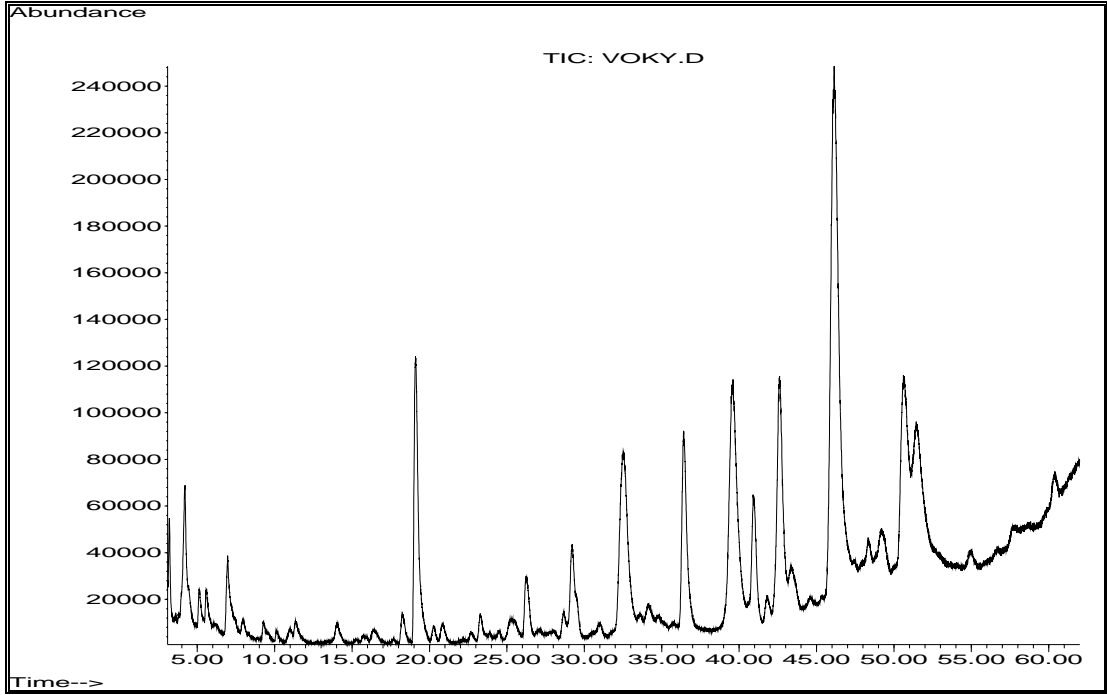
Kloroformlu ekstraktlarda ise genel olarak *V.opulus*'un yaprak numuneleri hariç, diğer kısımlarının numuneleri *V. orientale*'den daha iyi antimikrobiyal aktivite göstermektedir.

Tablo 9. Sulu, kloroformlu ve metanollü ekstraktların, esansiyel yağların ve meyve sularının antimikrobiyal aktivite tayini sonuçları (500 µg/mL)

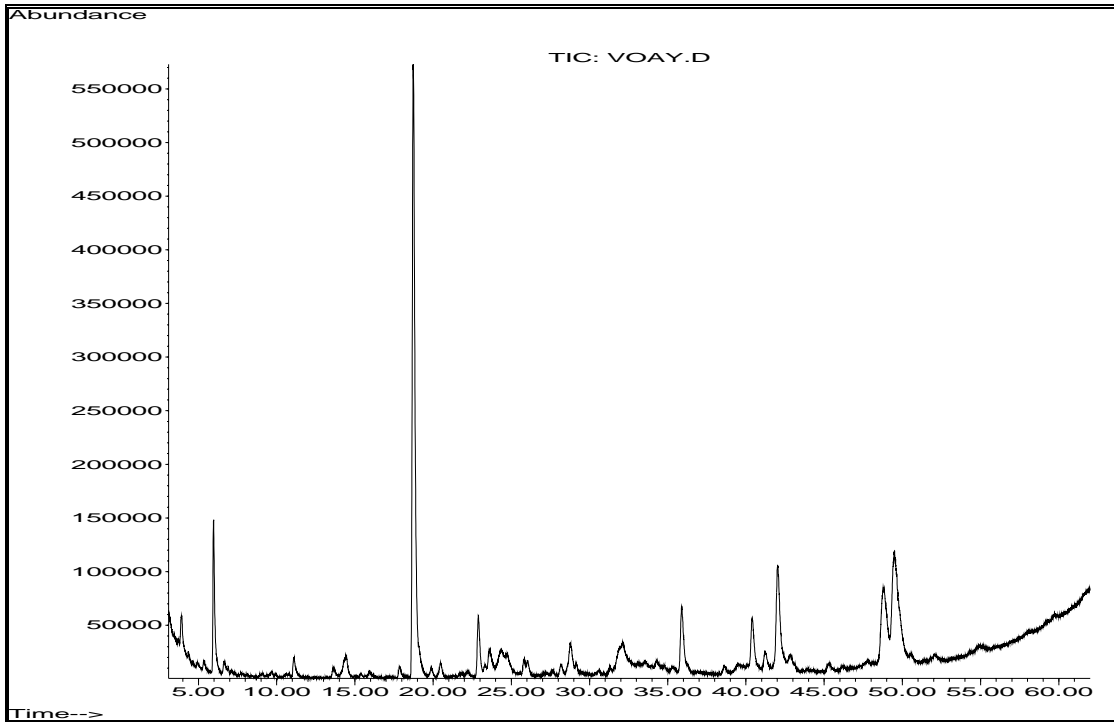
Numune	Mikroorganizmalar ve İnhibisyon Çapı (mm)														
	<i>S. salivarius</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>Salmonella enteridis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Listeria monocytogenesi</i>	<i>S. mutans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>B. licheniformes</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>
VOKYM	12	-	12	-	-	-	12	-	10	-	-	10	-	12	11
VOAYM	10	10	13	12	-	-	10	-	-	-	-	12	12	10	-
VOKZM	12	13	14	-	10	10	10	-	10	10	13	13	-	10	-
VOAZM	-	10	15	13	-	12	10	10	-	-	13	10	-	-	-
VOKCM	12	10	14	10	10	10	-	-	-	15	14	10	-	12	-
VOACM	10	10	10	10	-	-	-	-	-	-	13	-	-	12	-
VOKOM	12	14	-	18	10	10	10	-	-	-	10	12	12	12	-
VOAOM	13	12	-	15	-	10	10	-	-	-	12	-	10	13	-
VOKYK	10	10	-	13	-	-	-	10	10	-	10	10	10	12	-
VOAYK	12	10	-	12	-	10	-	-	10	-	13	12	12	14	-
VOKZK	12	12	-	13	-	10	-	-	10	-	12	12	10	14	-
VOAZK	12	14	-	13	-	10	-	-	10	-	12	10	12	13	-
VOKCK	13	16	16	12	-	12	-	-	10	-	10	12	12	12	-
VOACK	10	16	13	12	-	12	-	-	12	-	10	13	10	12	-
VOKOK	10	18	15	13	-	12	10	-	12	-	13	10	10	10	-
VOAOK	10	15	18	13	-	13	10	-	10	-	12	12	10	12	-
VOKYS	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOAYS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOKCS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOACS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOKOS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOAOS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOKSM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOASM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOKYY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOAYY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOKCY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOACY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOKOY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VOAOY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ampicillin	10	13	32	25	27	25	25	27	NT	30	26	-	11	14	34
Cephazolin	-	10	34	22	21	32	30	22	NT	25	-	35	-	10	36
Nystatin	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	15	NT	NT	NT	NT	NT	NT
70% ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%99,5 metanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
%99,5 kloroform	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: no inhibition, NT: Not tested, Parts used: Fr, flower;; Lf, leaf; Microorganisms: *S. salivarius* RSHE 606, *S. aureus* ATCC 6538, *K. pneumonia* ATCC 5041, *E. coli* ATC 29988, *S. enteridis* ATCC 13076, *S. pneumoniae* 10015, *B. cereus* ATCC 11778, *L. monocytogenesi* NCTC 5348, *S. mutans* RSHE 676, , *B. licheniformis* B1001, *M. luteus* B1018, *B. subtilis* B209, *P. aeruginosa* B2679, *P. vulgaris* B123 and *C. albicans* ATC 25922.

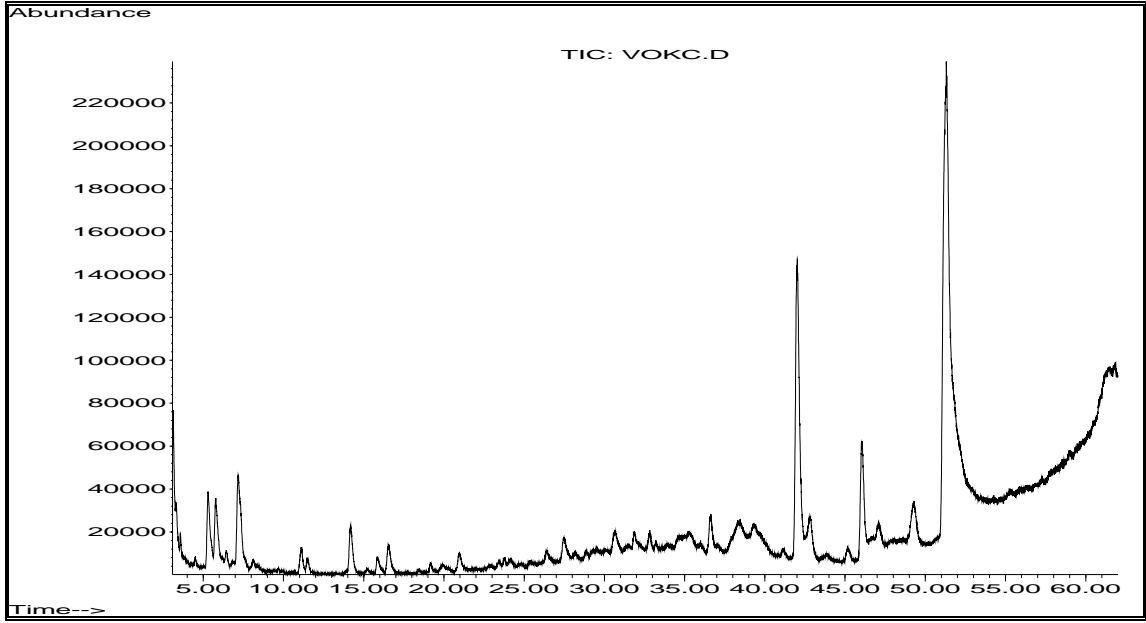
3.3. Kromatografik Analiz Bulguları



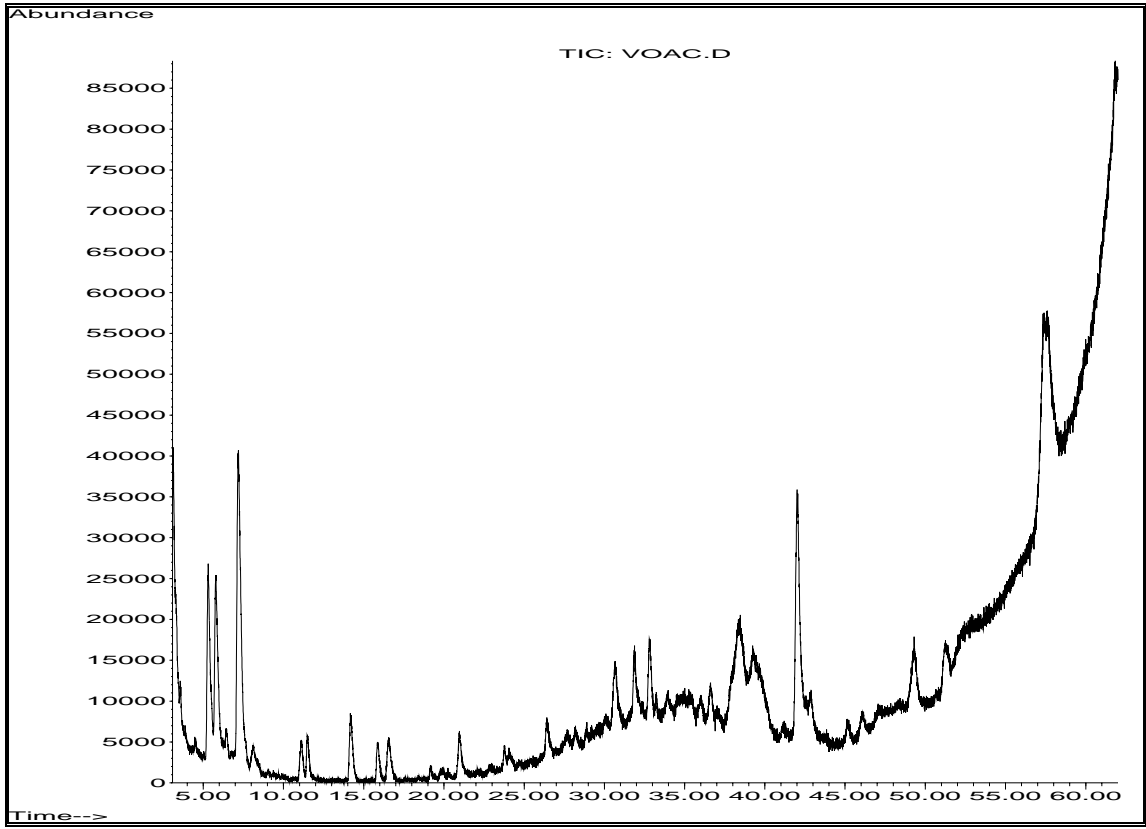
Şekil 55. *Viburnum opulus* bitkisinin yaprak kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOKYY) GC-MS kromatogramları



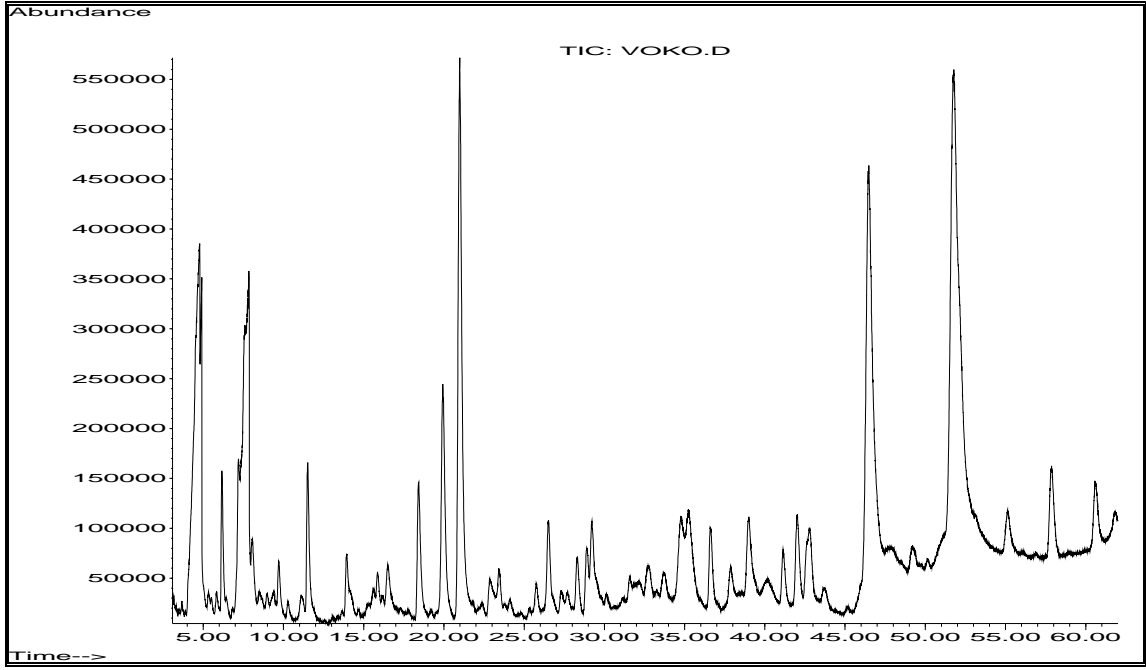
Şekil 56. *Viburnum orientale* bitkisinin yaprak kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOAYY) GC-MS kromatogramları



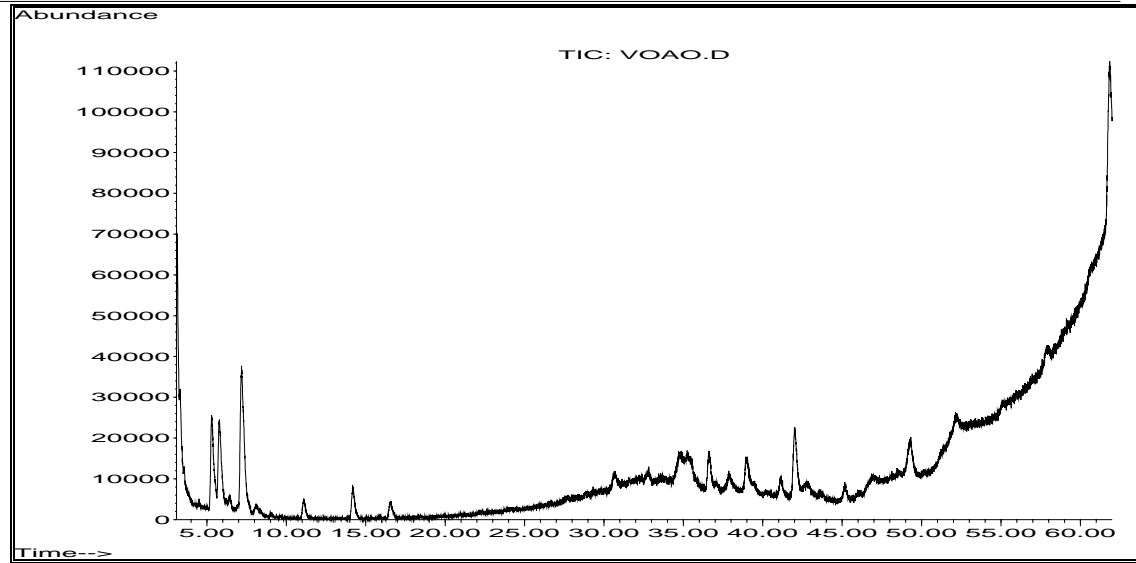
Şekil 57. *Viburnum opulus* bitkisinin çekirdek kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOKCY) GC-MS kromatogramları



Şekil 58. *Viburnum orientale* bitkisinin çekirdek kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOACY) GC-MS kromatogramları



Şekil 59. *Viburnum opulus* bitkisinin odunsu dal kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOKOY) GC-MS kromatogramları



Şekil 60. *Viburnum orientale* bitkisinin odunsu dal kısmından elde edilen esansiyel yağın (VOAOY) GC-MS kromatogramları

Tablo 10. VOKYY ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri

Numune	Madde	%Q	%Alan	RT	Kütüphane
VOKYY	Butanoic acid, 2-methyl-	83	2,61	4,20	a
VOKYY	Bilinmeyen-1	27	0,54	5,14	d
VOKYY	Bilinmeyen-2	27	0,60	5,59	d
VOKYY	Bilinmeyen-3	7	1,49	6,97	d
VOKYY	Bilinmeyen-4	45	0,32	9,29	d
VOKYY	Bilinmeyen-5	37	0,49	11,36	d
VOKYY	Benzene, 1-methyl-2-nitro-	97	0,56	14,03	b
VOKYY	Bilinmeyen-6	72	0,57	18,27	a
VOKYY	2H-1-Benzopyran, 3,4,4a,5,6,8a-...	83	5,72	19,11	a
VOKYY	Bilinmeyen-7	43	0,43	20,85	d
VOKYY	2-Buten-1-one, 1-(2,6,6- trimeth...	80	0,49	23,29	b
VOKYY	Bilinmeyen-8	35	0,70	25,34	
VOKYY	5,9-Undecadien-2-one, 6,10- dime...	94	1,20	26,26	b
VOKYY	Bilinmeyen-9	64	0,45	28,67	d
VOKYY	Bilinmeyen-10	64	2,41	29,21	a
VOKYY	Dodecanoic acid	99	7,14	32,52	b
VOKYY	Bilinmeyen-11	38	0,48	33,59	d
VOKYY	Bilinmeyen-12	43	0,94	34,14	d
VOKYY	TETRADECANAL	91	4,81	36,43	b
VOKYY	Tetradecanoic acid (CAS)	99	9,31	39,58	b
VOKYY	Bilinmeyen-13	78	2,90	40,94	a
VOKYY	Methyl (Z)-5,11,14,17- eicosatet.	86	6,43	42,61	b
VOKYY	Bilinmeyen-14	62	1,56	43,36	a
VOKYY	n-Hexadecanoic acid	94	21,97	46,14	b
VOKYY	2,6,10,14,18-Pentamethyl- 2,6,10...	86	2,19	48,36	b
VOKYY	Bilinmeyen-15	70	2,90	49,21	d
VOKYY	9-Octadecenoic acid, (E)-	83	0,14	56,68	b
VOKYY	Oleic Acid	91	0,23	56,68	b
VOKYY	Bilinmeyen-16	43	0,69	57,73	d
VOKYY	7-Hexadecenal, (Z)-	83	0,60	60,38	b

Kütüphaneler; a: Wiley7n.1, b: NIST05a.L, c: HPCH1607.L, d: NIST98.L.
Bilinmeyen bileşiklerin yüzde alanları toplamı = % 21,93.

Tablo 11. VOAYY ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri

Numune	Madde	%Q	%Alan	RT	Kütüphane
VOAYY	Bilinmeyen-17	38	1,00	3,92	d
VOAYY	Bilinmeyen-18	59	4,22	5,98	d
VOAYY	Bilinmeyen-19	42	0,73	6,66	d
VOAYY	NONANAL	86	0,89	11,11	c
VOAYY	Benzene, 1-methyl-2-nitro-	94	0,53	13,64	a
VOAYY	Bilinmeyen-20	39	1,65	14,43	d
VOAYY	Bilinmeyen-21	53	0,54	17,87	d
VOAYY	2-Oxabicyclo[4.4.0]dec-9-ene	86	26,12	18,75	a
VOAYY	Bilinmeyen-22	78	0,46	19,89	a
VOAYY	2H-1-Benzopyran, 3,4,4a,5,6,8	94	0,70	20,48	a
VOAYY	DAMASCENONE	97	2,49	22,90	c
VOAYY	Bilinmeyen-23	64	0,46	23,32	a
VOAYY	VIRIDIFLORENE	87	1,89	23,61	c
VOAYY	Bilinmeyen-24	42	2,41	24,36	d
VOAYY	Bilinmeyen-25	38	2,01	24,71	d
VOAYY	NERYL ACETONE	80	0,68	25,83	c
VOAYY	Bilinmeyen-26	64	0,67	26,04	a
VOAYY	Bilinmeyen-27	25	0,52	28,19	d
VOAYY	Bilinmeyen-28	40	1,99	28,78	d
VOAYY	Bilinmeyen-29	50	0,63	29,14	d
VOAYY	Dodecanoic acid	90	5,50	32,12	a
VOAYY	Bilinmeyen-30	38	0,70	33,11	d
VOAYY	Bilinmeyen-31	38	1,15	33,55	d
VOAYY	Bilinmeyen-32	43	1,01	34,30	d
VOAYY	27.55 DODECEN-1-OL	80	3,70	35,90	c
VOAYY	Bilinmeyen-33	52	0,44	38,62	d
VOAYY	Bilinmeyen-34	72	1,20	39,51	a
VOAYY	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimet	91	3,67	40,41	a
VOAYY	1,2-Benzenedicarboxylic acid	80	1,41	41,24	a
VOAYY	9,12,15-Octadecatrienoic acid	91	7,31	42,03	a
VOAYY	Bilinmeyen-35	50	1,56	42,84	c
VOAYY	Bilinmeyen-36	38	0,55	45,30	d
VOAYY	Bilinmeyen-37	35	0,87	47,78	d
VOAYY	HEXADECANOL	87	7,33	48,80	c
VOAYY	2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tet	95	12,58	49,49	a
VOAYY	Bilinmeyen-38	64	0,66	54,92	a
VOAYY	Bilinmeyen-39	76	0,07	54,33	a
VOAYY	Bilinmeyen-40	48	0,69	58,06	d

Kütüphaneler; a: Wiley7n.1, b: NIST05a.L, c: HPCH1607.L, d: NIST98.L.
Bilinmeyen bileşiklerin yüzde alanları toplamı = % 26,19.

Kromatogramlar da göz önünde bulundurularak VOKYY ve VOAYY karşılaştırıldığında; VOKYY'nin 23,29. dk.da çıkan 2-Buten1-on bileşiği ile VOAYY'nin 23,32. dk.da çıkan Bilinmeyen-22 bileşiği ve VOKYY'nin 49.21'de çıkan Bilinmeyen-14 ile VOAYY'nin 49,49'de çıkan 2-Hexadecen-1-ol bileşiği aynı bileşikler olabilir.

Tablo 12. VOKCY ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri

Numune	Madde	%Q	%Alan	RT	Kütüphane
VOKCY	Bilinmeyen-41	38	1,82	5,31	d
VOKCY	Bilinmeyen-42	38	2,07	5,79	d
VOKCY	Bilinmeyen-43	38	0,39	6,45	d
VOKCY	Bilinmeyen-44	59	3,40	7,19	d
VOKCY	Bilinmeyen-45	32	0,45	8,11	d
VOKCY	Bilinmeyen-46	53	0,59	11,12	d
VOKCY	Bilinmeyen-47	27	0,36	11,50	d
VOKCY	Benzene, 1-methyl-2-nitro-	91	1,37	14,19	a
VOKCY	Decanal	80	0,47	15,88	a
VOKCY	Benzene, 1-methyl-4-nitro-	93	0,90	16,56	a
VOKCY	Bilinmeyen-48	42	0,36	19,90	d
VOKCY	DECADIENAL	91	0,54	20,96	c
VOKCY	Bilinmeyen-49	27	0,37	24,16	d
VOKCY	Bilinmeyen-50	47	1,17	26,41	d
VOKCY	GERMACRENE D	93	1,43	27,48	c
VOKCY	Bilinmeyen-51	46	0,76	28,20	d
VOKCY	Bilinmeyen-52	46	0,61	28,87	d
VOKCY	Bilinmeyen-53	38	1,28	29,54	c
VOKCY	Bilinmeyen-54	35	0,86	30,08	d
VOKCY	Bilinmeyen-55	53	1,99	30,67	d
VOKCY	Bilinmeyen-56	35	1,09	31,52	d
VOKCY	Bilinmeyen-57	50	2,01	31,87	d
VOKCY	Bilinmeyen-58	46	1,41	32,82	d
VOKCY	Bilinmeyen-59	22	0,85	33,22	d
VOKCY	Bilinmeyen-60	30	4,08	35,28	d
VOKCY	Bilinmeyen-61	49	2,71	36,62	d
VOKCY	Nonyl-phenol mix of isomers	87	4,73	38,38	a
VOKCY	Bilinmeyen-62	30	4,41	39,33	d
VOKCY	1,2-Benzenedicarboxylic acid	90	9,79	42,01	a
VOKCY	Bilinmeyen-63	47	2,11	42,82	d
VOKCY	Bilinmeyen-64		0,43	45,18	
VOKCY	ETHYL HEXADECANOATE	98	3,43	46,05	c
VOKCY	1-Cyclohexene-1-carboxylic acid...	70	2,28	47,09	a

Tablo 12'nin devamı

VOKCY	€(-)-14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol	90	0,67	48,60	a
VOKCY	Bilinmeyen-65	60	2,27	49,28	a
VOKCY	METHYL LINOLEATE	91	33,73	51,31	c
VOKCY	9,12-Octadecadienoic acid	93	0,46	54,26	a
VOKCY	Bilinmeyen-66	49	0,75	55,31	d
VOKCY	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	93	0,13	57,29	a
VOKCY	Cyclohexane, 1-(1,5-dimethylhex...	86	0,35	59,00	a
VOKCY	9-Octadecenoic acid, €-	90	0,72	61,47	a

Kütüphaneler; a: Wiley7n.1, b: NIST05a.L, c: HPCH1607.L, d: NIST98.L.
Bilinmeyen bileşiklerin yüzde alanları toplamı = % 38,6.

Tablo 13. VOACY ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri

Numune	Madde	%Q	%Alan	RT	Kütüphane
VOACY	Bilinmeyen-67	50	4,41	5,32	d
VOACY	Bilinmeyen-68	32	5,07	5,79	d
VOACY	Bilinmeyen-69	64	9,73	7,19	a
VOACY	Bilinmeyen-70	64	0,88	11,11	a
VOACY	Bilinmeyen-71	49	1,01	11,50	d
VOACY	Benzene, 1-methyl-2-nitro-	95	1,67	14,20	a
VOACY	DECANAL	90	0,85	15,88	c
VOACY	Bilinmeyen-72	64	1,33	16,56	a
VOACY	Bilinmeyen-73	72	1,19	20,97	a
VOACY	Bilinmeyen-74	38	1,93	26,42	d
VOACY	Bilinmeyen-75	16	2,02	27,70	d
VOACY	Bilinmeyen-76	38	1,50	28,20	d
VOACY	Bilinmeyen-77	46	1,85	30,08	d
VOACY	Bilinmeyen-78	25	5,40	30,67	d
VOACY	Bilinmeyen-79	55	6,74	31,88	d
VOACY	Bilinmeyen-80	58	3,87	32,82	d
VOACY	Bilinmeyen-81	25	3,87	32,82	d
VOACY	Bilinmeyen-82	38	4,10	33,94	d
VOACY	Bilinmeyen-83	35	2,67	36,62	d
VOACY	Bilinmeyen-84	27	9,75	39,27	d
VOACY	Bilinmeyen-85	23	0,89	46,08	d
VOACY	Bilinmeyen-86	49	5,49	49,30	d
VOACY	Bilinmeyen-87	64	1,44	57,41	a

Kütüphaneler; a: Wiley7n.1, b: NIST05a.L, c: HPCH1607.L, d: NIST98.L.
Bilinmeyen bileşiklerin yüzde alanları toplamı = % 75,14.

Kromatogramlar da göz önünde bulundurularak VOKCY ve VOACY karşılaştırıldığında; VOKCY'de 14,19'da, VOACY'de 14,20'de 1-metil-2-nitro Benzen bileşiği gözlenmiştir. Ayrıca, VOACY'de 16,56'da çıkan Bilinmeyen-72, VOKCY'de yine 16,56'da çıkan 1-metil-4-nitro Benzen olabilir. VOACY'de 20,97'de çıkan Bilinmeyen-73 ise VOKCY'de 20,96'da çıkan Decadienal olabilir. Bunların dışında, VOKCY'de Bilinmeyen-50 (26,41) ile VOACY'de Bilinmeyen-74 (26,42), VOKCY'de Bilinmeyen-54 (30,05) ile VOACY'de Bilinmeyen-77 (30,08), VOKCY'de Bilinmeyen-55 (30,67) ile VOACY'de Bilinmeyen-78 (30,67), VOKCY'de Bilinmeyen-57 (32,82) ile VOACY'de Bilinmeyen-81 (32,82), VOKCY'de Bilinmeyen-61 (36,62) ile VOACY'de Bilinmeyen-83 (36,62), VOKCY'de Bilinmeyen-62 (39,33) ile VOACY'de Bilinmeyen-84 (39,27), VOKCY'de Etil heksadekanoat (46,05) ile VOACY'de Bilinmeyen-85 (46, 08) aynı bileşikler olabilir.

Tablo 14. VOKOY ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri

Numune	Madde	%Q	%Alan	RT	Kütüphane
VOKOY	Pentanoic acid	83	8,66	4,73	a
VOKOY	Bilinmeyen-88	25	0,30	5,34	d
VOKOY	2-Heptenal, (Z)-	83	1,11	6,18	b
VOKOY	Pentanoic acid, 3-methyl-	83	8,09	7,79	b
VOKOY	2,4-Heptadienal, (E,E)-	91	0,85	8,06	b
VOKOY	Bilinmeyen-89	22	0,37	9,39	d
VOKOY	Bilinmeyen-90	72	0,62	9,71	a
VOKOY	Bilinmeyen-91	49	0,19	10,29	d
VOKOY	Bilinmeyen-92	35	0,35	11,13	d
VOKOY	Nonanal	90	1,54	11,52	b
VOKOY	2-Nonenal, €-	86	1,14	13,94	b
VOKOY	Benzoic acid, 2-hydroxy-methy...	93	0,60	15,62	b
VOKOY	Bilinmeyen-93	74	0,51	15,87	a
VOKOY	Bilinmeyen-94	64	1,00	16,51	a
VOKOY	2-Decenal, €-	83	1,52	18,43	b
VOKOY	2,4-Decadienal	90	2,97	19,94	b
VOKOY	2,4-Decadienal, (E,E)-	91	7,07	20,99	b

Tablo 14'ün devamı

VOKOY	Bilinmeyen-95	74	0,61	22,88	a
VOKOY	2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimeth...	90	0,67	23,44	b
VOKOY	2-Butanone, 4-(2,6,6-trimethyl-	87	0,34	25,76	b
VOKOY	1H-Cycloprop[e]azulene, decahyd..	99	1,20	26,52	b
VOKOY	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-	99	0,26	27,32	b
VOKOY	3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimeth...	95	0,29	27,70	b
VOKOY	Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexa...	99	0,59	28,31	b
VOKOY	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-...	97	0,61	28,91	b
VOKOY	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexah...	96	1,32	29,23	b
VOKOY	Caryophyllene oxide	96	0,36	31,59	b
VOKOY	(-)-Spathulenol	80	0,71	32,16	b
VOKOY	Bilinmeyen-96	64	0,82	32,75	a
VOKOY	4,9-Undecadiyn-1-ol	90	0,77	33,72	a
VOKOY	.tau.-Cadinol	95	1,77	34,78	b
VOKOY	.alpha.-Cadinol	96	2,39	35,25	b
VOKOY	E-2-Tetradecen-1-ol	91	1,04	36,62	b
VOKOY	Bilinmeyen-97	74	0,76	37,87	a
VOKOY	Nonyl-phenol mix of isomers	89	0,27	38,45	a
VOKOY	Cyclohexane, 1-methylene-4-(1-m...	86	2,01	38,99	b
VOKOY	Bilinmeyen-98	68	1,18	40,18	a
VOKOY	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimet	86	0,85	41,15	b
VOKOY	Phthalic acid, butyl isohexyl	80	1,38	42,02	b
VOKOY	Bilinmeyen-99	64	1,89	42,78	a
VOKOY	Trichloroacetic acid, undec-2-	80	0,57	43,70	b
VOKOY	n-Hexadecanoic acid	95	11,26	46,48	b
VOKOY	n-Hexadecanoic acid	96	2,70	47,81	b
VOKOY	10-Heneicosene (c,t)	95	1,11	49,21	b
VOKOY	Oleic Acid	86	0,37	49,72	b
VOKOY	Bilinmeyen-100	60	0,49	50,15	a
VOKOY	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	95	20,65	51,77	b
VOKOY	Cyclotetradecane	90	1,25	55,13	b
VOKOY	9,17-Octadecadienal, (Z)-	96	0,15	56,08	b
VOKOY	9-Eicosene, €-	95	1,32	57,87	b
VOKOY	9-Eicosene, €-	93	0,74	60,61	b

Kütüphaneler; a: Wiley7n.1, b: NIST05a.L, c: HPCH1607.L, d: NIST98.L.

Bilinmeyen bileşiklerin yüzde alanları toplamı = % 9,09.

Tablo 15. VOAÖY ekstraktının GC-MS kullanılarak tanımlanan bileşikleri

Numune	Madde	%Q	%Alan	RT	Kütüphane
VOAÖY	Bilinmeyen-101	32	4,87	5,32	d
VOAÖY	Bilinmeyen-102	37	5,64	5,79	d
VOAÖY	Bilinmeyen-103	64	9,96	7,19	a
VOAÖY	Bilinmeyen-104	9	1,09	11,12	d
VOAÖY	Benzene, propyl-	90	1,66	14,20	a
VOAÖY	Bilinmeyen-105	38	0,95	16,56	d
VOAÖY	Bilinmeyen-106	47	4,85	27,63	d
VOAÖY	Bilinmeyen-107	35	2,99	28,88	d
VOAÖY	Bilinmeyen-108	38	8,48	30,68	d
VOAÖY	Bilinmeyen-109	30	2,57	31,60	d
VOAÖY	Bilinmeyen-110	22	4,30	32,20	d
VOAÖY	Bilinmeyen-111	46	3,50	32,80	d
VOAÖY	Bilinmeyen-112	27	3,64	33,70	d
VOAÖY	Bilinmeyen-113	30	8,39	34,86	d
VOAÖY	Bilinmeyen-114	22	7,17	35,28	d
VOAÖY	Bilinmeyen-115	53	4,55	36,62	d
VOAÖY	Bilinmeyen-116	35	3,15	37,89	d
VOAÖY	Bilinmeyen-117	35	3,99	38,99	d
VOAÖY	Bilinmeyen-118	32	1,25	41,14	d
VOAÖY	1,2-Benzenedicarboxylic acid	83	3,99	42,02	a
VOAÖY	Bilinmeyen-119	53	0,90	45,17	d
VOAÖY	Bilinmeyen-120	35	2,9	46,97	d
VOAÖY	Bilinmeyen-121	46	2,36	48,57	d
VOAÖY	Bilinmeyen-122	74	4,24	49,28	a
VOAÖY	Bilinmeyen-123	60	5,52	52,20	a
VOAÖY	Bilinmeyen-124	70	3,20	57,95	a

Kütüphaneler; a: Wiley7n.1, b: NIST05a.L, c: HPCH1607.L, d: NIST98.L.

Bilinmeyen bileşiklerin yüzde alanları toplamı = % 95,46.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yapılan deneyler sonucunda genel olarak, *Viburnum opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin sulu ve metanollü ekstraktlarının farklı miktarlarda fenolik madde içerdiği; sulu, kloroformlu ve metanollü her bir ekstraktın farklı antioksidan aktiviteye sahip olup, hiçbir ekstraktın oksidasyonu artırıcı özelliğinin olmadığı; sulu ve metanollü ekstraktların demir(III) indirgeme potansiyellerine (yani antioksidan kuvvetlerine) sahip olduğu bulundu.

Sulu ve metanollü ekstraktların fenolik madde miktarları Toplam Polifenol miktar tayini yöntemiyle yapıldı. Metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği sulu ekstraktlardan daha yüksek bulundu. *V. opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin sulu ve metanollü ekstraktları arasında VOAZM'nin en yüksek toplam fenolik madde miktarına sahip olduğu bulunmuştur. Bu değer kateşin cinsinden 283 µg kateşin eşd./mL iken, gallik asit cinsinden 403 µg gallik asit eşd./mL olarak bulunmuştur. Sulu ekstraktlar arasında ise VOKCS'nin en yüksek toplam fenolik madde miktarına sahip olduğu bulunmuştur (115 µg gallik asit eşd./mL). Genel olarak metanollü ekstraktların daha fazla fenolik madde içerdiği görülmüştür. Sulu ekstraktların odunsu dal kısımları hariç, diğer numuneler arasında karşılaştırma yapıldığında *V. opulus*'un yaprak, zar ve çekirdek kısımlarının daha yüksek fenolik madde içerdiği görülmektedir. Metanolik ekstraktlarda ise çekirdek kısımları hariç, diğer numuneler arasında karşılaştırma yapıldığında *V. orientale*'nin yaprak, zar ve odunsu dal kısımlarının daha yüksek fenolik madde içerdiği görülmektedir.

Sulu, kloroformlu ve metanollü ekstraktların antioksidan aktivite tayinleri DPPH radikal temizleme aktivitesi yöntemiyle yapıldı. *V. opulus* ve *V. orientale* bitkilerinin sulu ve kloroformlu ekstraktlarının hepsinin IC₅₀ değerleri Troloks® ve C vitamininden yüksek çıkarken, metanollü ekstraktlarda *Viburnum opulus*'un çekirdek kısmının (VOKCM) IC₅₀ değeri (IC₅₀= 0,0047 mg/mL) Troloks®'dan düşük çıkmıştır. Sulu ekstraktlardan *Viburnum opulus*'un meyve suyunun IC₅₀ değeri (IC₅₀= 0,0096 mg/mL) en düşük çıkmıştır. Bu bize VOKCM'nin ve VOKMS'nin oldukça yüksek DPPH radikal temizleme aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir. Sulu ekstraktlarda aynı kısımlar karşılaştırıldığında odunsu dal ve meyve sularının IC₅₀ değerleri arasında gözle görülebilir farklar bulunurken; diğer kısımların IC₅₀ değerleri birbirine yakın çıkmıştır. Bu da bize bu bitkilerin sulu ekstraktlarının yaprak ve çekirdek kısımlarının DPPH radikal temizleme aktivitelerinin

benzer olduğunu gösterir. Kloroform ekstraktlarında bitkilerin VOAZK dışındaki kısımlarının IC₅₀ değerleri 0,464-0,158 mg/mL arasında değişirken; VOAZK'nin IC₅₀ değeri=1,103 mg/mL bulunmuştur. Bu, VOAZK'nin oldukça düşük DPPH radikal temizleme aktivitesine sahip olduğunu gösterir.

Demir (III) indirgeme / antioksidan kuvveti tayin yöntemiyle Troloks® standardına göre sulu ekstraktların demir (III)'ü indirgeme kuvveti metanollü ekstraktlarınkinden oldukça yüksek çıkmıştır. Sulu ekstraktlardan VOAYS, VOKCS ve VOACS'nin demir (III)'ü indirgeme kuvvetleri Troloks®'dan oldukça yüksek bulundu. Bu yöntemle sulu ekstraktlarda en yüksek aktiviteyi VOKCS gösterirken, en düşük aktiviteyi VOKOS; metanollü ekstraktlarda ise en yüksek aktiviteyi VOKCM gösterirken, en düşük aktiviteyi VOACM göstermiştir.

Agar disk difüzyon yöntemine göre yapılan antimikrobiyal çalışmada VOKYM hariç, hiçbir numune 500µg/mL'de *B.subtilis* bakterisine karşı etki göstermemiştir. Ayrıca, VOKYS hariç sulu ekstraktların, meyve sularının ve esansiyel yağların hiçbiri çalışılan bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip değildir. Cephazolin, *S. salivarius*'a karşı etki etmezken; kloroformlu ve metanollü ekstaktlardan VOKYM, VOKZM, VOKCM, VOKOM, VOAOM, VOAYK, VOKZK, VOAZK ve VOKCK *S. salivarius*'a etki etmekte, hatta Ampicillin'den daha iyi antimikrobiyal aktivite göstermektedir. VOKOM, VOAZK, VOKCK, VOACK, VOKOK ve VOAOK ise Ampicillin ve Cephazolin'den daha iyi antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Kloroformlu numunelerin hiçbiri *B. cereus*, *B. licheniformes* ve *B.subtilis* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip değildir. Yine kloroformlu numunelerden VOAYK ve VOKZK *E.coli* bakterisine karşı Ampicillin kadar iyi (Cephazolin'den çok daha iyi) etki edebilmektedir. Ampicillin ve Cephazolin'in saf maddeler, bizim numunelerimizin ise birer ekstrakt olduğu düşünülürse; numunelerimizdeki aktif bileşiklerin saflaştırılabilmesi halinde aynı analizler yapıldığında bu standart antibakteriyal ajanlar olan Ampicillin ve Cephazolin'den çok daha iyi sonuç verebileceği düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR

- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yay., Konya.
- Akyüz, E., 2006. *Polygonum bistorta* ssp. *carneum* Bitki Ekstraktlarının Kromatografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Anşın, R. ve Özkan, Z.C., 1993. Tohumlu bitkiler , KTÜ Basımevi, Orman Fak. Yayını, No:19, Trabzon, 512 s.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. ve Altun, M., 2005. Total Antioxidant Capacity Assay of Human Serum Using Copper (II)-neocuproine as Chromogenic Oxidant: The CUPRAC Method, Taylor & Francis, 39, 9, 949-961.
- Baytop, T., 1963. Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İ. Ü. Eczacılık Fakültesi Yay. No: 1039, İstanbul.
- Baytop, T., 1984. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İ. Ü. Eczacılık Fakültesi Yay No: 3255, İstanbul.
- Çimen, Y., ve Burak, M., 1999. Flavonoids and Their Antioxidant Properties, T. Klin. J. Med. Sci., 19, 5, 296-304.
- Bilaloğlu, G.V. ve Harmandar, M., 1999. Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık Ltd.Şti., İstanbul, 336 s.
- Bravo, L., 1998. Polyphenol Chemistry, Dietary Sources, Metabolism and Nutritional Significance, Nutr. Rev., 56, 317-333.
- Chang, L.C., Kinghorn, A.D. ve Tringali, C., 2001. Bioactive Compounds from Natural Sources, Taylor & Francis, London, 159.
- Chen, L. H., Boissonneault, G. A. ve Glauert, H. P., 1988. Vitamin C, Vitamin E and Cancer (Review), Anticancer Res., 8, 739-748.
- Cuendet, M., Hostettmann, P. ve Potterat, O., 1997. Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*, Helv. Chim. Akta, 80, 1144-1152.
- Dean, J. R., 2003. Methods for Enviromental Trace Analysis, Northumbria University, Newcastle, UK.
- Dığrak, M., Alma, M.H., İçlim, A. ve Şen, S., 1998. Antibacterial and Antifungal Effects of Various Commercial Plant Extracts, Pharmaceutical Biology, 36, 5, 1-5.
- Dillard, C.J., ve German, J.B., 2000. Pytochemicals: Nutraceuticals and Human Health, J Sci Food Agric., 80, 1744-1756.

- Dündar, Y. ve Aslan, R., 2000. Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar, I. Basım, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon.
- Edge, R., Mc Garvey, D. J. ve Truscott, T. G., 1997. The Carotenoids as Antioxidants, a review, J. Photoch. Photobio., 41, 189-200.
- Erel, O., 2004. A Novel Automated Method to Measure Total Antioxidant Response against free radical reactions, Clin. Biochem., 37, 2, 112-119.
- Erel, O., 2004. A Novel Automated Direct Measurement Method for Total Antioxidant Capacity Using a New Generation, More Stable ABTS Radical Cation, Clin. Biochem., 37, 4, 277-285.
- Giese, J., 1994. Spices and Seasoning Blends: A taste for all seasons. Food Technol. 48, 4, 87-98.
- Guliyev, V. ve Harmandar, M., 2000. Flavonoidler, Aktif Yayınevi, İstanbul.
- Harborne, J.B., 1994. The Flavonoids Advances in Research Since 1986, Chapman & Hall/CRC, USA, 638.
- Hausteen, B. H., 2002. The Biochemistry and Medicalsignificance of the Flavonoids, Pharmacol. Exp. Ther., 96, 67-202.
- Kalaycıoğlu, A. ve Öner, C., 1994. Bazı Bitki Ekstraksiyonlarının Antimutajenik Etkilerinin Amest-Salmonella Test Sistemi ile Araştırılması, Tr. J. Botany, 18, 117-122.
- Kayalı, R. ve Çakatay, U., 2004. Basic Mechanisms of Protein Oxidation, Cerrahpaşa J Med, 35, 83-89.
- Leporatti, M. L. ve Ivancheva, S., 2003. Preliminary Comparative Analysis of Medicinal Plants Used in The Traditional Medicine of Bulgaria and Italy, Journal of Ethnopharmacology, 87, 123–142.
- Meister, A. ve Anderson, M. E., 1983. Glutathion, Annu. Rev. Biochem., 52, 711-60.
- Milton, D., 1998. Using Alternative and Complementary Therapies in the Emergency Setting, Clinical Articles, 24, 6, 501-508.
- Odabaş, H., 2005. Türkiyedeki *Viburnum L.*(Caprifoliaceae) Türlerinin Morfolojik ve Anatmik Yönden İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. ve Yagi, K., 1979. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbuturic Acid Reaction, Anal. Biochem., 95, 351-358.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on Product of Browning Reaction Prepared from Glucose Amine, Jap. J. Nutr., 44, 307-315.

- Rice-Evans, C. A., Miller N. J. ve Paganga G., 1997. Antioxidant Properties of Phenolic Compounds, Trends Plant Sci., 2 , 152-159.
- Rice-Evans, C. A., Miller N. J. ve Paganga, G., 1996. Structure Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids Free Radic., Biol. Med., 20, 7, 933-56.
- Shelef, L. A., 1983. Antimicrobial Effects of Spices. J. Food Safety, 6, 29-44.
- Skoog, D.A., James Holler, F. ve Nieman, T.A., 1998. Principles of Instrumental Analysis, Fifth Edition, Kılıç E., Köseoğlu F. ve Yılmaz H., Saunders College Publishing, US, Bilim Yayıncılık, Ankara.
- Slinkard, K. ve Singleton, V. L., 1977. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manuel Methods, Am. J. Enol. Viticult., 28, 49-55.
- Toroğlu, S., Dığrak, M. ve Çenet, M., 2006. Baharat Olarak Tüketilen *Laurus nobilis* Linn ve *Zingiber officinale* Roscoe Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri ve Antibiyotiklere in-vitro Etkilerinin Belirlenmesi, KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 9, 1, 20-26.
- Tosun, İ., Karadeniz, B., 2005. Çay ve Çay Fenoliklerinin Antioksidan Aktivitesi, OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 20, 1, 78-83.
- URL-1, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Polifenol>, 14.04.2007.
- URL-2, http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller.htm, 21.05.2007.
- URL-3, <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.doc>, 22.05.2007.
- URL-4, <http://www.bitkisel-tedavi.com/superantioksidan.htm>, 01.06.2007.
- URL-5, http://merkezlab.comu.edu.tr/index.php?option=com_content&task, 25.08.2007.
- URL-6, http://en.wikipedia.org/wiki/Flame_ionization_detector, 17.07.2007.
- URL-7, [http://en.wikipedia.org/wiki/Electron_Capture_Detector_\(ECD\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Electron_Capture_Detector_(ECD)), 29.08.2007.
- URL-8, <http://www.bap.gazi.edu.tr>, 21.07.2007.
- URL-9, www.answers.com, 15.05.2007.
- URL-10, www.ormandanenedir.blogspot.com, 15.05.2007.
- URL-11, www.kayseriliyim.com, 16.05.2007.
- URL-12, www.turkeyforum.com, 16.05.2007.
- URL-13, www.girabolul.com, 16.05.2007.
- URL-14, <http://www.cine-tarim.com.tr/dergi/arsiv46/arastirma02.htm>, 18.05.2007.

URL-15, www.davesgarden.com, 15.05.2007.

Yılmaz, S. ve Ozan, S. T., 2003. Meme Kanserli Hastalarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Enzim Aktiviteleri Arasındaki İlişki, Türk Biyokimya Dergisi, 28, 4, 252-256.

Yürüker, A., Çalış, I., Başer, K. H. C. ve Özek, T., 1995. Composition of the Essential Oil from *Viburnum orientale* Pallas Leaves, Journal of Essential Oil Research, 7, 321-3.

Wollgast, J. ve Anklam, E., 2000. Review on Polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in Composition During the Manufacture of Chocolate and Methodology for Identification and Quantification, Food Res. Int., 33, 423-347.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Trabzon'da doğdu. 1997 yılında Trabzon Kanuni Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 1999 yılında KTÜ Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü'ne girdi. 2004 yılında bu bölümden mezun oldu. 2005 yılında KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Programı'na başladı. Yabancı dili İngilizce'dir. Evli ve bir çocuk annesidir.