

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ASTERACEAE VE UMBELLIFERAE FAMILİYASINA AİT BAZI BİTKİ
TÜRLERİNİN ANTIMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Şehriban BAYRAKTAR

TEMMUZ 2009

TRABZON

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ASTERACEAE VE UMBELLIFERAE FAMILYASINA AİT BAZI BİTKİ
TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Biyolog Şehriban BAYRAKTAR

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

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 16.06.2009
Tezin Savunma Tarihi : 03.07.2009**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Atalay SÖKMEN
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Faik Ahmet AYAZ
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Nurettin YAYLI**

Enstitü Müdürü: Prof. Dr. Salih TERZİOĞLU

Trabzon 2009

ÖNSÖZ

“Asteraceae ve Umbelliferae familyasına ait bazı bitki türlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması” adlı bu çalışma Karadeniz teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü Anabilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenen, çalışmalarımın yürütülmesi sırasında ilgisini ve yardımlarını esirgemeyen Sayın hocam Prof. Dr. Atalay SÖKMEN’e, antioksidan aktivite testleri sırasında yardımlarını gördüğüm Sayın Prof. Dr. Münevver SÖKMEN’e, bitkilerin elde edilmesinde yardımlarını esirgemeyen Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Dr. H. Aşkın AKPULAT’a, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Hüseyin İNCEER’e, antimikrobiyal aktivite testleri sırasında yardımlarını gördüğüm Sayın Yrd. Doç. Dr. C. Kurtuluş BURUK’a, uçucu yağların GC-MS analizlerini gerçekleştiren Sayın Arş. Gör. Ahmet YAŞAR’a, yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Arş. Gör. Hülya TORUN’a ve bana emeği geçen hocalarıma teşekkür ederim.

Şehriban BAYRAKTAR
Trabzon 2009

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET	V
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
SEMBOLLER DİZİNİ	IX
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.1.1. Bitkiler Canlı Kimya ve İlaç Hammaddeleri Fabrikalarıdır	1
1.2. Bitkilerin Biyolojik Aktivite Potansiyellerine Genel Bir Bakış.....	3
1.3. Bitkiler ve Doğal Antioksidanlar	3
1.4. Antioksidanlar	4
1.5. Bitki Uçucu Yağların Genel Özellikleri.....	6
1.5.1. Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri	7
1.6. Çalışma Kapsamındaki Bitkilerin Biyolojik Aktiviteleri.....	8
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	11
2.1. Bitkilerin Toplanması ve Adlandırılması.....	11
2.2. Bitkilerin Kurutulması ve Özütleme İşlemleri.....	11
2.2.1. Su Distilasyonu ile Uçucu Yağların Hazırlanması	11
2.2.2. Özütlerin Hazırlanması	12
2.3. Antioksidan Aktivite Testleri	12
2.3.1. 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) Yöntemi	13
2.3.2. β -Karoten/Linoleik Asit Renk Açılım Yöntemi	13
2.4. Antimikrobiyal Aktivite Testleri.....	14
2.4.1. Bitki Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivite Testleri İçin Hazırlanması.....	14
2.4.2. Test Mikroorganizmaları.....	14
2.4.3. Özüt ve Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması.....	16

2.4.3.1.	Antibakteriyal Aktivite Testleri	16
2.4.3.1.1.	Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması	16
2.4.3.1.2.	Özüt ve Uçucu Yağların Agar-Kuyucuk Yöntemiyle Antibakteriyal Aktivitelerinin Belirlenmesi	16
2.4.3.1.3.	Aktif Örneklerin Minimal İnhibitör Derişimlerinin (MİK) Belirlenmesi	17
2.4.3.2.	Antikandidal Aktivite Testleri	18
2.4.3.2.1.	Mantar Süspansiyonlarının Hazırlanması	18
2.4.3.2.2.	Özütlerin ve Uçucu Yağların Kabaca Antikandidal Aktivitelerinin Belirlenmesi	18
2.4.3.2.3.	Özütlerin Antikandidal Minimal İnhibitör Derişimlerinin (MİK) Tespiti	18
2.5.	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GK-KS) Analizi	19
2.6.	Verilerin Analizi	20
3.	BULGULAR	21
3.1.	Antioksidan Aktivite Testleri.....	21
3.1.1.	1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) Yöntemi	21
3.1.2.	β -Karoten/Linoleik Asit Renk Açılım Yöntemi	26
3.2.	Antimikrobiyal Aktiviteler.....	28
3.2.1.	<i>Matricaria matricarioides</i> 'in Hekzan, Kloroform ve Su Özütleri ile Uçucu Yağının Antimikrobiyal Aktivitesi	28
3.2.2.	<i>Artemisia annua</i> 'nın Hekzan, Kloroform ve Su Özütleri ile Uçucu Yağının Antimikrobiyal Aktivitesi	30
3.2.3.	<i>Laser trilobum</i> 'un Hekzan, Kloroform ve Su Özütleri ile Uçucu Yağının Antimikrobiyal Aktivitesi	32
3.3.	Uçucu Yağların Kimyasal İçerikleri	33
4.	TARTIŞMA	40
5.	SONUÇLAR	49
6.	ÖNERİLER	52
7.	KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ		

ÖZET

Bu çalışma; *Artemisia annua* (L.), *Matricaria matricarioides* (Less.) Porter ex Britton ve *Laser trilobum* (L.) Borkh bitkilerinden elde edilen hekzan (Hek), kloroform (KLO) ve su özütleri ile uçucu yağlarının *in vitro* antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini çalışmak üzere tasarlandı.

Antioksidan aktiviteler, 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) ve β -Karoten/Linoleik Asit Renk Açılım yöntemi adlı iki tamamlayıcı test sistemi ile belirlendi. DPPH yönteminde tüm polar (su) özütler yüksek oranda radikal temizleyici etki gösterdi. β -Karoten yöntemi ile tüm özütlerin % bağıl antioksidan aktivite (% BAA) değerlerinin sentetik antioksidan BHT ile karşılaştırılabilecek kadar yüksek olduğu görüldü.

Özüt ve uçucu yağların antimikrobiyal (antibakteriyal ve antikandidal) aktiviteleri için, NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standarts) önerileri doğrultusunda agar kuyucuk yayılma deneyi (agar well diffusion), disk difüzyon, broth mikrodilüsyon ve agar dilüsyon yöntemlerinden yararlandı. Test mikroorganizmaları olarak altı bakteri ve dört maya suşu kullanıldı. Polar özütler genelde aktivite göstermezken, hekzan özütü ve uçucu yağlar kayda değer antibakteriyal ve antikandidal aktivite sergiledi.

Uçucu yağlarının kimyasal içerikleri Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GK-KS) ve Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü (GK-AİD) analizleri ile belirlendi. *Matricaria matricarioides* uçucu yağında geranil valerat (% 34.9) ve *E*- β -farnesen (% 23.3), *Artemisia annua* uçucu yağında artemisia keton (% 18.9), kamfor (% 13.7) ve 1,8-sineol (% 10.2), *Laser trilobum* uçucu yağında ise peril aldehit (% 73.0) ana bileşenlerdir.

Anahtar Kelimeler: *Artemisia annua*, *Matricaria matricarioides*, *Laser trilobum*, antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite, uçucu yağ, GK-KS, GK-AİD.

SUMMARY

An Investigation on the Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Asteraceae and Umbelliferae Species

This study was designed to carry out the *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of hexane, chloroform and water extracts as well as the essential oils obtained from *Artemisia annua* (L.), *Matricaria matricarioides* (Less.) Porter ex Britton and *Laser trilobum* (L.) Borkh.

The oils and extracts were screened for their possible antioxidant activities by two complementary test systems, namely 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging and β -Carotene color bleaching test – spectrophotometric methods. In DPPH, all polar extracts acted as radical scavengers on high proportions. With β -Carotene method it was seen that all extracts % relative antioxidant activity (% BAA) rates were high enough to be compared with that of synthetic antioxidant, BHT.

By following the protocols given by NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), the *in vitro* antimicrobial (antibacterial and anticandidal) activities of the extracts and the essential oils were determined by using agar well diffusion, disc diffusion (for the latter), broth microdilution and agar dilution methods. Six bacteria and four yeasts were used as test microorganisms. In general, no activity was found in the polar extracts, whilst hexane extracts as well as the essential oils showed a remarkable antibacterial and anticandidal activity.

The chemical substances of essential oils were determined by employing Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and Gas chromatography- flame ionization detector (GC-FID) analyses. Geranyl valerate (% 34,9) and *E*- β -Farnesene (% 23.3); Artemisia ketone (% 18,9), Camphor (% 13,7) and 1,8- Cineole (% 10.2); and Perillaldehyde (%73.0) were the main components of the essential oils of *Matricaria matricarioides*, *Artemisia annua* and *Laser trilobum*, respectively.

Key Words: *Artemisia annua*, *Matricaria matricarioides*, *Laser trilobum*, antimicrobial activity, antioxidant activity, essential oil, GC-MS, GC-FID.

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde <i>Matricaria matricarioides</i> 'in toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının su özütü derişimine karşı % inhibisyonu	21
Şekil 2.	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde <i>Matricaria matricarioides</i> 'in toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının kloroform özütü derişimine karşı % inhibisyonu	22
Şekil 3.	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde <i>Artemisia annua</i> 'nın toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının su özütü derişimine karşı % inhibisyonu.....	22
Şekil 4.	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde <i>Artemisia annua</i> 'nın toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının kloroform özütü derişimine karşı % inhibisyon değerleri	23
Şekil 5.	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde <i>Artemisia annua</i> 'nın toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının uçucu yağ derişimine karşı % inhibisyonu ...	23
Şekil 6.	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde <i>Laser trilobum</i> 'un toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının su özütü derişimine karşı % inhibisyonu.....	24
Şekil 7.	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde <i>Laser trilobum</i> 'un toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının kloroform özütü derişimine karşı % inhibisyonu	24
Şekil 8.	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde <i>Matricaria matricarioides</i> , <i>Artemisia annua</i> ve <i>Laser trilobum</i> 'un toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları su özütlerinin IC ₅₀ değerleri.....	25
Şekil 9.	β -karoten yönteminde <i>Matricaria matricarioides</i> 'in toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağının % BAA değerleri	26
Şekil 10.	β -karoten yönteminde <i>Artemisia annua</i> 'nın toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağının % BAA değerleri	27
Şekil 11.	β -karoten yönteminde <i>Laser trilobum</i> 'un toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağının % BAA değerleri	27

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Bakteri suşları ve özellikleri	15
Tablo 2. Mantar suşları ve özellikleri	15
Tablo 3. <i>Matricaria matricarioides</i> 'in toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi.....	29
Tablo 4. <i>Matricaria matricarioides</i> 'in toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağın minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri	29
Tablo 5. <i>Artemisia annua</i> 'nın toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi.....	31
Tablo 6. <i>Artemisia annua</i> 'nın toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağın minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri	31
Tablo 7. <i>Laser trilobum</i> 'un toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi	33
Tablo 8. <i>Laser trilobum</i> 'un toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütlerinin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK)değerleri	33
Tablo 9. <i>Matricaria matricarioides</i> uçucu yağın; A- kimyasal kompozisyonu, B- Bileşenlerin sınıflandırılması, C- Ana bileşikler	35
Tablo 10. <i>Artemisia annua</i> uçucu yağın; A- kimyasal kompozisyonu, B- Bileşenlerin sınıflandırılması, C- Ana bileşikler	36
Tablo 11. <i>Laser trilobum</i> uçucu yağın; A- kimyasal kompozisyonu, B- Bileşenlerin sınıflandırılması, C- Ana bileşikler	38

SEMBOLLER DİZİNİ

BHT	: Butillenmiş hidroksi toluen
BHA	: Butillenmiş hidroksi anizol
BAA	: Bağlı antioksidan aktivite
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPPH [•]	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EMB	: Eosine methylene blue agar
GK-KS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
GK-AİD	: Gaz kromatografisi-alev iyonlaşma detektörü
GP _x	: Glutasyon peroksidaz
Hek	: Hekzan
KA	: Kanlı agar
KLO	: Kloroform
ROT	: Reaktif oksijen türleri
MHA	: Mueller hinton agar
MHB	: Mueller hinton broth
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
MBC	: Minimum broth derişimi
SDA	: Saboraud dextrose agar
SOD	: Süperoksit dismutaz
YEPD	: Yeast extract, peptone, dextrose broth
NO [•]	: Azot radikali
O ₂ ^{•-}	: Süperoksit radikali
OH [•]	: Hidroksil radikali
OOH [•]	: Peroksit radikali
ROO [•]	: Alkil peroksi radikali
RO [•]	: Alkoksil radikali
RS [•]	: Tiyol radikali
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

1.1.1. Bitkiler Canlı Kimya ve İlaç Hammaddeleri Fabrikalarıdır

Güneş enerjisi yaşamın temel kaynağıdır. Bu enerji bitkiler tarafından kimyasal bağ enerjisine dönüştürülür ve bazı organik bileşikler aracılığı ile diğer organizmalara besin zinciri yoluyla aktarılır. Canlılığın devam etmesinde gerekli olan enerji akışı için bu bileşiklerden yararlanır. Enerji akışı üzerinde yer alan ve canlılarda çeşitli yaşamsal işlevler açısından büyük önem taşıyan bu bileşiklere “primer metabolitler” ya da birincil ürünler adı verilir. Bu metabolitler esasen şekerler, amino asitler, nükleotidler ve yağ asitleri ve gliseroldür. Bu bileşiklerin yapı taşlarını oluşturan polimerler, yani karbonhidratlar, proteinler, nükleik asitler ve lipitler sadece enerji edinimi, aktarımı veya taşınmasında değil aynı zamanda canlılık için gerekli diğer önemli süreçlerde de işlev görürler. Örneğin bitkilerde bu bileşikler; çözülmüş madde aktarımı, taşıma, sindirim, farklılaşma, kalıtsal bilginin aktarımı ve ifadenmesi gibi çok çeşitli ve farklı süreçlerde işlev görürler.

Yüksek bitkiler, yukarıda belirtilen süreçlerle doğrudan ilişkisi olmayan pek çok bileşik üretmektedir. Bu durum aynı zamanda bitkileri diğer canlılardan ayıran önemli bir özelliktir. Yaşamsal olarak önem taşımamakla birlikte üretildiği bitkilere bir takım uyumsal değerler ya da avantajlar sağlayan bu bileşiklere ise “sekonder metabolitler” adı verilir (Sökmen ve Gürel, 2001).

Tüm canlılarda olduğu gibi bitkilerin çevresi de çok çeşitli potansiyel düşman ya da rakiplerle kuşatılmış durumdadır. Doğaları gereği, bitkiler diğer canlılardan ve hatta yaşadığı ortamdaki diğer cansız öğelerden kaçamayacaklarına göre, bir takım savunma ve uyum mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar türe veya yakın türlere özgü olacak şekilde evrim süreci içinde kazanılmıştır. Bitkisel savunma ürünleri olarak değerlendirilen sekonder metabolit üretimi de bu mekanizmalardan biridir. Önceleri sekonder metabolitler, bitkiler tarafından oluşturulan ve hiç bir işlevi olmayan atık maddeler olarak kabul edilmekteydi. Ancak sonrasında bu metabolitlerin; savunma,

korunma, ortama uyum, hayatta kalma ve nesillerini sürdürmek için bitkiler tarafından geliştirilmiş karmaşık mekanizmaların ürünleri olduğu anlaşılmıştır (Philipson, 1990).

İlaç sanayinde kullanılan bazı önemli bitkisel kökenli kimyasallara bazı örnekler verilebilir. Digoksin (kardiyonik), digitoksin (kardiovasküler), efedrin (bronş açıcı), kinin, kinidin (sıtma tedavisi), vinkristin, vinblastin (lösemi tedavisi). Thaumatin, safran, gingeroller, geranial ve neral gibi bileşikler tatlandırıcı, koku verici ve koruyucu olarak besin ve gıda sanayiinde kullanılan bitkisel kökenli maddelerdir. Gül yağı, lavanta yağı, yasemin yağından parfümeri ve kozmetikte; nikotin, anakardik asit, piretrin, sinerin ve yasmolinden ise zirai mücadelede yararlanılır (Sökmen ve Gürel, 2001).

Bitkilerden elde edilen doğal ürünlerin tedavi amacıyla kullanılması bilim adamları için uzun zamandan beri ilgi çekici bir çalışma alanı olmuştur. Burada, halk arasında “kocakarı ilaçları” olarak bilinen bitkilerden yeni ilaçlar geliştirilmesinde, etnofarmakoloji biliminin önemli katkısı olmuştur. Vinkristin, vinblastin, rezerpin, kinin ve hatta aspirin, ekonomik ve sağlık açısından bugünkü önemlerini bu araştırmalara borçludurlar (Cox, 1990).

Tıbbi bitkilerin yetiştirilmesi, farmakognozi'nin gelişmesine paralel olarak artmıştır. 19. yüzyıl sonlarına doğru kimya alanında büyük ilerlemeler kaydedilmesi nedeniyle tıbbi bitkilerin yetiştirilmesi gerilemiş, ancak 1. Dünya Savaşı'ndan sonra tekrar ivme kazanmıştır. Ancak 1920'li yıllarda başlayan ve 1950'li yıllarda doruk noktasına ulaşan sentetik ilaçların geliştirilmesi ve mikroorganizmalar kullanılarak özellikle antibiyotiklerin mayalama yoluyla üretimi, tıbbi bitkilerin dünya ticaret hacmindeki payını önemli ölçüde azaltmıştır. Diğer taraftan sentetik katkı maddelerinin mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilerinin ortaya çıkması ile birlikte; et, süt, meyve, sebze, deniz ürünleri ve meşrubat sektörlerinde doğal ürünlere duyulan talepte artış görülmektedir (Fowler, 2006).

Günümüzde dünya nüfusunun çoğunluğu için bitkiler, ilaç hammaddesi olarak kullanılmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde nüfusun % 80'i sağlık gereksinimlerini ilk etapta geleneksel tıbbi bitkilerden sağlamaktadır. Dünya nüfusunun % 80'inin gelişmekte olan ülkelerde yaşadığı düşünülürse toplam dünya nüfusunun % 64'ü bitkileri tedavi amaçlı kullanmaktadır. Gelişmiş ülkelerde reçete ile satılan ilaçların yaklaşık % 25'i bitkisel kökenli kimyasallardır (Farnsworth, 1990).

1.2. Bitkilerin Biyolojik Aktivite Potansiyellerine Genel Bir Bakış

İlaç haline getirilebilen biyolojik, anorganik veya sentetik bütün ham maddelere *drog* adı verilir. Gelişmiş ülkelerde HIV başta olmak üzere birçok virüs, bakteri ve diğer hastalık yapıcı etkenlere karşı etkili ve yeni drogların bulunması için öncelikle doğal kaynaklara başvurulur ve elbette bu kaynakların başında bitkiler gelir. Örneğin; A.B.D.'de Ulusal Kanser Enstitüsü bünyesinde bitkilerin antibakteriyal ve antiviral özelliklerini araştırmak amacı ile Kuzey ve Güney Amerika florası incelenmiş ve bir program dahilinde araştırmalar yapılmıştır (Levingstone ve Zamora, 1983; Alice vd., 1991). Günümüzde bu gibi araştırmalar önemini yitirmeden devam etmektedir. Özellikle, geleneksel olarak bitkilerle tedavinin yaygın olduğu Çin ve diğer uzak doğu ülkelerinde bulunan endemik bitkiler de bu kapsamda değerlendirilmektedir (Chatterjee ve Pakrashi, 1995; Craker ve Giblette, 2002).

Bitkilerle yapılan bu çalışmalarda hiç kuşkusuz geleneksel kültür içeriği kadar, çalışılan coğrafi bölgenin bitkisel zenginliği de önemlidir. Dolayısı ile ilk planda tropik bitkilerin yoğun ve çok çeşitli olduğu bölgeler önem kazanmaktadır. Bununla beraber, Türkiye gibi coğrafi ve kültürel zenginliği olan bölgelerde de bu tartışmalar büyük öneme sahiptir. Doğu ile Batı arasında coğrafi bir köprü konumunda bulunan Anadolu'da tarih boyunca çeşitli medeniyetlerin yerleşmesi, gerek doğudan ve gerekse batıdan birçok kavmin bölgeye yerleşmesi büyük bir kültür mirasını da beraberinde getirmiştir. Bu mirasta elbette bitkilerle tedavi unsuru önemli bir yer tutmaktadır (Nagai ve Tada, 1987).

Bitkilerden elde edilen özüt, uçucu yağ veya izole kimyasalların antibakteriyal ve antioksidan aktiviteleri üzerine çok sayıda araştırma literatürde yerini almıştır. Ancak, bitkisel kökenli antibakteriyal ve antifungal ajanların ilaç hammaddesi olarak değerlendirilmesinin dezavantajları vardır. Bu hidrofobik doğaları, kararsızlıkları ve toksik/allerjenik etkileri ilk akla gelen dezavantajlardır (Tepe vd., 2005).

1.3. Bitkiler ve Doğal Antioksidanlar

İnsanoğlu için yaşamsal değeri tartışılmaz olan bitki primer metabolitlerinin yanı sıra, tat ve koku verici maddeler de besin endüstrisinde önemli yer tutmaktadır. Sentetik katkı maddelerinin mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilerinin ortaya çıkışı ile birlikte; et, süt, meyve, sebze, deniz ürünleri ve meşrubat sektörlerinde doğal ürünlere

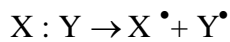
duyulan talep giderek artırmaktadır. Örneğin; butillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve butillenmiş hidroksi anizol (BHA) gibi sentetik antioksidanlar besinlerde bozunmanın önlenmesi ve raf ömürlerinin artırılması için kullanılır. Ancak bu sentetik kimyasalların kararsız yapıları ve uçucu özellikleri tüketicilerde kuşku uyandırmaktadır. Sonuçta bu kimyasalların yerine doğal ürünlerin kullanılması gündeme gelmiştir (Dapkevicius vd., 1998; Petersen ve Simmonds, 2003).

Bitkisel kökenli antimikrobiyal ajanların aksine, antioksidanlar günlük diyetle alınan doğal ürünlerdir. Rozmarinik asit (bir bitkisel fenolik), beta-karoten (bir terpen) ve vitaminler (A, C ve E) bu ürünlere örnek olarak verilebilir (Tepe ve Sökmen, 2007).

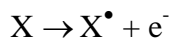
1.4. Antioksidanlar

Antioksidanların, hücrelerin solunumu sırasında yan ürünü olarak oluşan reaktif oksijen türlerine (ROT) karşı vücut savunma sisteminde önemli bir rolü olduğuna inanılır. Serbest radikal türleri, süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikali (OH^{\bullet}), peroksit radikali (OOH^{\bullet}), azot oksit radikali (NO^{\bullet})'dir. Serbest radikallerin yanı sıra alkil peroksi radikali (ROO^{\bullet}), alkoksil radikali (RO^{\bullet}), tiyol radikalleri (RS^{\bullet}), karbon merkezli radikaller de mevcuttur. Serbest radikaller üç yolla meydana gelir;

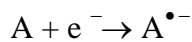
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi,



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.



Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Cu, Fe, Mn ve Mo geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde, serbest radikal olarak kabul edilemezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalizlediklerinden dolayı, serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar.

Antioksidan ajanlar etkilerini dört yolla gösterirler. Bunlar;

a. Scavenging (süpürücü/temizleyici) etki gösterenler: Yeni radikal oluşumunu engellerler ve oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Örnek olarak, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GP_x) gibi enzimleri ve metal bağlayıcı bazı proteinleri verebiliriz.

b. Quencher (giderici) etki gösterenler: Oksidanlarla etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini söndüren ve inaktif hale getiren bileşiklerdir. Örnek olarak, vitaminler (Vit A-beta karoten, Vit C-askorbat, Vit E-alfa tokoferol), flavonoidler, mannitol ve antosiyuanidinler verilebilir.

c. Chain breaking (zincir kırıcı) etki gösterenler: Zincirleme olarak devam eden tepkimeleri belli yerlerinden kırarak, oksidan etkiyi durdururlar. Örnek olarak bazı vitaminler, ürik asit, bilirubin ve albumin gösterilmektedir.

d. Repair (tamir edici) etki gösterenler: Bu grupta DNA tamir enzimleri, metionin sülfoksit redüktaz sayılabilir.

Canlı mekanizmalarda oluşan serbest radikaller, çoğu zaman lipit oksidasyonuna ve buna bağlı olarak da hücre ölümlerine neden olmaktadır. Antioksidan bir madde bu oksidasyonun çeşitli aşamalarında yukarıda özetlenen mekanizmalar yoluyla koruyucu özelliklere sahip olan maddelerdir. Sentetik olarak üretilebildiği gibi doğal kaynaklardan da elde edilebilirler. Bu tür maddeler, oluşan serbest radikalleri (reaktif oksijen türlerini, ROT) ya doğrudan temizleyerek ya da bu türlere elektron veya hidrojen aktarımı yaparak etkisiz hale getirir. Genel anlamda iki tür antioksidan madde tanımlanır. Birincil antioksidan maddeler, zincir kırma tepkimeleri oluşturan veya serbest radikal temizleyen türlerdir. İkincil antioksidan maddeler veya koruyucu antioksidan maddeler ise, metallerin aktivasyonunu azaltıcı lipit hidroperoksitlerin istenmeyen uçucu türlere parçalanmasını engelleyen, tekli oksijen yakalayan ya da birincil antioksidanların yeniden üretimini sağlayan türlerdir. Mekanizmalardaki bu çok çeşitlilik pek çok maddenin araştırılmasına olanak sağlamıştır.

Ancak, son yıllarda sentetik antioksidanların kendilerinin veya buldukları ortamda oluşturdukları yan ürünlerinin kanserojen sağlık anlamında istenmeyen etkileri olduğu pek çok araştırmacı tarafından rapor edilmektedir. Antioksidan özelliğe sahip maddeler doğrudan metabolizmada etkin olabildiği gibi beslenme yoluyla alınabildikleri gibi yiyecek endüstrisinde koruyucu katkı maddesi olarak da kullanılırlar. Besin yoluyla antioksidan maddelerin alınmasındaki artış, vücut için gerekli olan antioksidan miktarını korumaya ve böylece de canlı sistemlerin normal fizyolojik koşullarını korumada yardımcı olabilir. Bazı yiyecek ve sebzeler antioksidan maddelerin en önemli kaynaklarıdır. Bitkisel materyalden uygun yöntemlerle antioksidan bileşenler etkin bir şekilde ayrılabilir.

Bazı yazarlar, farklı çözücüler ve özütleme teknikleri kullanıldığında antioksidan aktivitede farklılıklar olduğunu göstermiştir. Literatür taraması, bütün aromatik bileşikler için tek bir özütleme yönteminin varlığının mümkün olmadığını göstermektedir. Bu aynı zamanda antioksidan bileşiklerin doğasındaki farklılıklar nedeniyle de beklenen bir sonuçtur. Bu nedenle, doğal bir antioksidan kaynağı olabilecek her bir bitki türü için en etkin özütleme yöntemini seçmek önemlidir.

1.5. Bitki Uçucu Yağların Genel Özellikleri

Uçucu yağlar ya bitkinin belirli organlarında örneğin taç yaprak, yaprak, meyve, kabuk, meyve sapı, odunsu doku gibi ya da bitkinin tüm organlarında ayrıca bazen bir organın belirli dokularında da bulunabilirler. Bu yağlar bitkilerin bağlı bulunduğu familyalara göre salgı tüyünde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında veya salgı hücrelerinde bulunur (Ceylan, 1987). Yıllardır değişik alanlarda; kozmetik, ilaç, gıda sanayisinde ve aromaterapi/fitoterapide kullanılırlar (Hammer vd., 1999). Son zamanlarda uçucu yağlar bilim insanlarının ilgisini çekmiş ve sonuçta kimyasal yapıları ile biyolojik aktiviteleri arasındaki bağıntılar ortaya konmuştur. Günümüzde tıbbi bitkilerin ve bu bitkilere ait uçucu yağların ana etken maddelerinin elde edilip değerlendirilmesi hem bilimsel hem de ekonomik yönden önem taşır. Uçucu yağ ve bileşenlerinin farmakolojik özellikleri incelenerek tıp, kozmetik ve endüstriyel alanlarda kullanılabilme olanakları güncelliğini korumaktadır (Kırbağ ve Bağcı, 2000).

Farmakolojik etkilere sahip bileşiklere 'etken madde' adı verilir (Baytop, 1999). Bu maddelerden biri olan uçucu yağlar (esanslar), esas itibarıyla terpenlerden oluşan karışımlardır. Oda sıcaklığında sıvı, bazen donabilen uçucu, kuvvetli kokulu ve

yağimsıdırlar (Tanker vd., 1990). Su buharı ile sürüklenir, suda çözünmez, organik çözücülerde kolaylıkla çözünürler. Özellikle çiçek ve meyvelerde bulunmakla beraber bitkinin diğer organlarından da elde edilebilirler. Bu amaçla su buharı distilasyonu veya organik çözücüler ile ekstraksiyon yöntemleri kullanılır (Baytop ve Başer, 1995).

Bugüne kadar uçucu yağlarda 2000'den fazla kimyasal bileşenlerin bulunduğu gösterilmiştir ki, bunların en önemlileri terpenler, fenilpropanlar vs. dir. Ayrıca çok sayıda su buharında uçucu olan azot ve kükürt içeren bileşiklerin varlığı da görülmüştür. Bu maddeler fizyolojik etkileri nedeni ile bazen tek tek veya bazen de karışım şeklinde terapide kullanılmaktadırlar (Ceylan, 1987). Uçucu yağlar eski çağlardan günümüze kadar tedavide kullanılan ilaçlar arasında yer alır (Kubeczka, 1979).

1.5.1. Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri

Son yıllarda antibiyotik-dirençli enfeksiyonlardaki artıştan dolayı bu enfeksiyonlarla mücadelede yeni ilaçların araştırılmasına yönelik çalışmalar büyük bir gereklilik arz etmektedir. Bu açıdan bitki uçucu yağları büyük bir öneme sahiptir ve bir çok araştırmacı tarafından antimikrobiyal ajanlar olarak rapor edilmişlerdir (Mouhssen, 2004). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal etkileri üzerinde günümüze kadar birçok araştırma yapılmıştır (Leal-Cardoso ve Fonteles, 1999). Nostro ve arkadaşları, yapmış oldukları çalışmada bazı bitki özütlerinin test mikroorganizması olarak kullanılan bazı Gram (+), Gram (-) bakteri ve maya suşlarına karşı inhibitörük etki gösterdiğini tespit etmişlerdir (Nostro vd., 2000). Disk difüzyon metodu kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada, antimikrobiyal aktivitenin Gram (+) bakteri ve maya suşlarına karşı Gram (-) bakterilerden daha etkili olduğu gözlenmiştir (Dağcı vd., 2002). Sartoratto ve arkadaşları, 8 farklı aromatik bitkiden elde edilen uçucu yağların 11 farklı mikroorganizma üzerinde farklı derecelerde inhibitörük etki gösterdiklerini bildirmişlerdir (Sartoratto vd., 2004). Bir başka çalışmada, Mısır Sinai yarımadasından toplanan *Tanacetum santolinooides* bitkisine ait uçucu yağların hem Gram (+) hem de Gram (-) bakterilere karşı antibakteriyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (El-Shazly vd., 2002). Al-Howiriny, *Salvia lanigera* bitkisinin uçucu yağını ekstrakte etmiş ve bu ekstraksiyonun *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Candida albicans* ve *Candida vaginalis* mikroorganizmalarına karşı oldukça iyi inhibisyon etkisi gösterdiğini ancak *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın bu uçucu yağa dirençli olduğunu rapor etmiştir (Al-Howiriny, 2003).

Uçucu yağların antibakteriyal ve antifungal özelliklerinden başka antiviral aktivitelerde ilgi çekmiş ayrıca rapor edilmiştir. Bammi ve arkadaşları, beş ayrı uçucu yağ ile yapmış oldukları bir çalışmada bu uçucu yağların Epstein-Barr virüsü (EBV) üzerinde etki gösterdiğini tespit etmişlerdir (Bammi vd., 1997).

1.6. Çalışma Kapsamındaki Bitkilerin Biyolojik Aktiviteleri

Asteraceae (Compositae) familyası, yaklaşık 1100 cins ve 20.000 türle, dünyada en fazla türü olan familyadır. Asteraceae familyasının Türkiye’de doğal olarak yetişen 130 cins ve 1130 türü bulunmaktadır (Grierson, 1975). Dünyada ve Anadolu’da geniş yayılım gösteren Asteraceae familyasına ait birçok türün farmakolojik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu familyadaki bitkiler, diterpenler ve flavanoidler yanı sıra ağırlıklı olarak, antibakteriyal, antifungal, antihelmintik, antienflamatuar, insektisit, antitümör gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip seskiterpen laktonlar içerirler (Picman, 1986; Shing vd., 2002; Ertürk, 2003). Bu bitkilerin çiçek durumunun kompozit yapısı, taksonomistlerin bu familyayı Compositae olarak anmasına yol açmıştır.

Artemisia türleri (Compositae, Asteraceae) halk arasında pelin otu, tarhun, peygamber süpürgesi, yavşan gibi adlarla anılırlar (Baytop, 1997). Eski Mısırlılar döneminden beri tedavide kullanılmaktadır. Anadolu’da 20 farklı *Artemisia* türü doğal olarak yetişmektedir. *Artemisia annua*; 50-150 cm boyunda, tüysüz, kuvvetli ve hoş kokulu, bir yıllık, otsu bir bitkidir. Uçucu yağ ve reçine taşır. Dahilen dizanteri ve vereme karşı, infüzyon (% 2-3) halinde, haricen ise çıbanları iyileştirici olarak kullanılmıştır. Anavatani ve doğal yayılış alanları; Kuzey Türkiye, Karasal Anadolu ve Güney Anadolu ile İspanya, Güney Fransa, Orta Avrupa, Kuzey Balkanlar, Güney Rusya, Kırım, Filistin, Suriye, Kuzey İran ve Türkistan’dır (URL-1, 2009). Ülkemizde Marmara, Batı Karadeniz, Konya ve Hatay yörelerinde doğal olarak yetişir (Davis, 1975).

A. annua’dan elde edilen uçucu yağın kimyasal kompozisyonu, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerine dair raporlar literatürde mevcuttur (Juteau vd., 2002; Brisibe vd., 2009). *A. annua* sekonder metabolitlerinin çok çeşitli biyolojik aktiviteleri de ayrıntılı olarak bir derlemede sunulmuştur (Bhakuni vd., 2001). Buna göre *A. annua* bitkisinin anti mikrobiyal aktiviteden sorumlu etken maddesi artemisinin’dir. Oksijen radikali absorbans kapasitelerine (ORAC) göre bazı tıbbi bitkilerin fenolik bileşikleri içeren özütleri

karşılaştırılmış ve sonuçta *A. annua* 'dan elde edilen özütün yüksek ORAC değeri taşıdığı saptanmıştır (Zheng ve Wang, 2001).

Bu çalışmada değerlendirilen diğer bitki türü *Matricaria matricarioides* (Compositae, Asteraceae) ülkemizde Artvin ve Kars yörelerinde doğal olarak yetişir (Davis, 1988). Çiçekleri hoş kokuludur ve kurutulmuş çiçekleri bitkisel-aromatik çay yapmada kullanılır (Schofield, 1990). Bu çayın spazm giderici, gaz giderici, yatıştırıcı ve solucan düşürücü etkileri vardır. Ancak allerjenik etkilerinden dolayı tıpta kullanımı tercih edilmez (Launert, 1981; Foster ve Duke, 1990; Schofield, 1990). Kurutulmuş bitkinin böcek uzaklaştırıcı (repellant) etkisi vardır ve bu amaçla kullanılır (Schofield, 1990).

M. matricarioides özüt ve/veya uçucu yağlarının biyolojik aktivitelerine dair herhangi bir rapora rastlanmamıştır. Ancak yakın türlerden söz konusu aktiviteler belirlenmiştir. Örneğin *M. chamomilla* (*Chamomilla recutita*) uçucu yağının antistreptokok ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiş ve düşük derişimli uçucu yağın antistreptokokkal ve antioksidatif ajan olarak kullanılabilirliği tartışmaya açılmıştır (Owlia vd., 2007). Mayıs papatyası olarak bilinen bu bitkiden hazırlanan papatya çayı marketlerde satılmakta ve yıllardır yaygın olarak tüketilmektedir. Çay çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir (orta düzeyde antimikrobiyal ve antioksidan, güçlü pıhtılaşma önleyici, yangı giderici, antimutajenik ve kolesterol düşürücü) (McKay ve Blumberg, 2006). Bitkinin su ve etanol özütlerinin ayrıca antimikrobiyal aktivitesi de bir başka raporda belirtilmiştir (Cho vd., 2005). Diğer bir raporda da özütlerin susuz tereyağının raf ömrünün uzatılmasında potansiyel olarak yararlanılabileceği öne sürülmüştür (Al-Ismail ve Aburjal, 2003).

Bu çalışmada değerlendirilen son bitki türü, *Laser trilobum* (Umbelliferae, Apiaceae) 50-120 cm boyunda, tüsüz, beyaz çiçekli, çok yıllık ve otsu bir bitkidir. Yapraklar geniş parçalı, parçalar 3 lobludur. Kimyonu andırır bir kokusu vardır. Zaten halk arasında da kefe kimyonu, sıra veya dağ kimyonu adıyla da bilinir (Baytop, 1997). Lezzeti reçinemsî ve baharat gibidir. Bitki Trakya ve Anadolu'da oldukça yaygındır. Drog bilhassa Kastamonu, Zonguldak, Eskişehir, Konya ve Adana illerinde elde edilmektedir. Adana ve İçel yöresinde baharat olarak kullanılır ve baharatçılarda satılır. Bu yöreden toplanan bitkilerin Mersin kökenli meyvelerinde sabit yağ (% 25) ve uçucu yağ (% 4.5) saptanmıştır (URL-2, 2009).

Bu bitki türüyle gerçekleştirilen ilk araştırma bu türün "yeni" bir baharat olarak kullanılabilirliği, besinlerde kontaminasyonu önlediği (Akgül, 1989) ve Türk mutfağının geleneksel yiyeceği köftenin doğal mikroflorasında yer alan bakteri ve mantarların

büyümesini engellediği rapor edilmiştir (Akgül, 1991). Bu bitkinin meyvelerinden elde edilen uçucu yağın ana bileşeninin limonen olduğu iki ayrı çalışmada rapor edilmiştir (Akgül, 1992; Başer vd., 1993). Bu bitki rizomu ve olgun meyvelerinden elde edilen iki uçucu yağ örneğinin antimikrobiyal ve antiradikal özellikleri güncel bir çalışmada rapor edilmiştir. Bu çalışmaya göre, rizom'dan elde edilen yağ meyvelerden elde edilene göre biraz daha güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahipken daha düşük antioksidan aktiviteye sahiptir (Petroviç vd., 2008). Benzer şekilde farklı kaynaklardan sağlanan meyvelerden elde edilen alkol özütlerinin antimikrobiyal aktivite gösterdiği, buna karşın uçucu yağın kayda değer bir aktivite göstermediği belirtilmiştir (Parlatan vd., 2008).

Bu çalışmada, *A. annua*, *M. matricarioides* ve *L. trilobum* türlerinin toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarından elde edilen hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağlarının antimikrobiyal ve antioksidan etkileri araştırılmıştır. Uçucu yağların GK-KS ve GK-AİD analizleri yoluyla kimyasal kompozisyonlarının saptanması da bu çalışma kapsamındadır. Özellikle *M. matricarioides* bitkisinden elde edilen özüt ve uçucu yağların antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerine ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle adı geçen bitki türünden elde edilen sonuçlar orijinal değer taşımaktadır. Diğer iki bitki türünden elde edilen sonuçlar ise daha önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılabilecek düzeydedir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Bitkilerin Toplanması ve Adlandırılması

Tez kapsamındaki bitkilerin lokaliteleri saptandı ve çiçeklenme dönemlerinde toprak üstü kısımları toplandı. *Laser trilobum* (L.) Borkh Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim Fakültesi Öğretim üyesi Dr. H. Aşkın Akpulat, *Artemisia annua* (L.) ve *Matricaria matricarioides* (Less.) Porter ex Britton ise Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Hüseyin İNCEER tarafından adlandırıldı. Adlandırmada P. H. Davis'in (1965-1988) "Flora of Turkey and the Aegean Islands" adlı eserinden yararlanıldı. Türlerin tip örnekleri yukarıda belirtilen birimlerin herbaryumlarında kayıtlıdır. Çalışmada yararlanılan bitkilerin adları ve toplandıkları lokaliteler ve herbaryum etiket numaraları aşağıda verilmektedir;

Artemisia annua (L.): A7 Trabzon, Kanuni Mahallesi, yol kenarı, 100 m, 02.10.2007, İnceer-708.

Laser trilobum (L.) Borkh: A9 Artvin: Yalnızçam Dağları, Kutul Yaylası, orman altı bitkisi, 1800 m, 05.09.2007, A.A.4314.

Matricaria matricarioides (Less.) Porter ex Britton: A9 Kars- Ardahan Gölü Yolu, yol kenarı, 1800 m, 18.07.2007, İnceer 420.

2.2. Bitkilerin Kurutulması ve Özütleme İşlemleri

Bitkilerin toprak üstü kısımları, güneş ışığı almayan ve iyi havalandırılan bir ortamda kurutuldu. Her bitki örneğinden çiçek ve yapraklar gövdeden ayrıldı, karışım halinde öğütüldü ve karışım aşağıda ayrıntılı olarak verilen uçucu yağ çıkarma ve özütleme işlemlerine tabi tutuldu.

2.2.1. Su Distilasyonu ile Uçucu Yağların Hazırlanması

Clevenger aparatında (British Pharmacopeia, BDH, U. K.) 4 saat su distilasyonu sonucunda bitkilerin uçucu yağları elde edildi (Moldao-Martins vd., 1999). Uçucu yağlara

susuz sodyum sülfat eklendi, filtre edildi ve aktivite çalışmaları yapılıncaya kadar buzdolabında, karanlıkta ve + 4 °C’de saklandı. Tüm bitkilerin kurutulmuş çiçek ve yaprak karışımlarından elde edilen uçucu yağ verimleri; *A. annua* % 1.6 (h/a), *L. trilobum* % 1.2 (h/a) ve *M. matricarioides* % 0.7 (h/a) olarak belirlendi.

2.2.2. Özütlerin Hazırlanması

Her bitki türünden 15 gr kuru ve toz materyal ayrı ayrı Soxhlet kartuşlarına yerleştirildi. Örnekler Soxhlet aparatında hekzan ile 40 °C’de 4 saat özütlendi. Vakum altında evaporasyonla çözücü (hekzan) tamamen uzaklaştırıldı. Sonuçta her bir bitkinin hekzan özütü hazırlandı. Hekzan özütü verimleri; *A. annua* % 2.5 (a/a), *L. trilobum* % 2.1 (a/a) ve *M. matricarioides* % 1.6 (a/a) olarak hesaplandı.

Hekzan ile yağı giderilen her bir örnek akabinde Soxhlet cihazında metanol ile 6 saat, 60 °C’de özütlendi. Metanol vakum altında 40 °C’de evapore edilerek tamamen uzaklaştırıldı. Kalan zamksı metanol özütleri 10 mL distile su’da tekrar çözüldü ve üzerine kloroform ilave edildi (10 mL). Polar (su) ve apolar (kloroform) kısımlandırmaları ayırma hunisinde gerçekleştirildi. Kloroform fazı oda sıcaklığında ve karanlıkta tamamen uçuruldu. Kloroform özüt verimleri *A. annua* % 3.2 (a/a), *L. trilobum* % 3.3 (a/a) ve *M. matricarioides* % 3.6 (a/a) olarak hesaplandı.

Kısımlandırma ile elde edilen su fazı -80 °C donduruldu, TELSTAR-CRIODOS (Spain) marka freze-drier ünitesinde liyofilize edildi. Su özüt verimleri *A. annua* % 5.2 (a/a), *L. trilobum* % 4.3 (a/a) ve *M. matricarioides* % 5.8 (a/a) olarak hesaplandı.

Tüm özütler ilgili aktivite testleri yapılıncaya kadar karanlıkta ve + 4 °C’de saklandı.

2.3. Antioksidan Aktivite Testleri

Bu çalışmada iki ayrı antioksidan aktivite belirleme yöntemi kullanıldı:

- 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) Yöntemi
- β -Karoten/Linoleik Asit Renk Açılım Yöntemi

2.3.1. 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) Yöntemi

Hazırlanan özüt ve uçucu yağların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde literatürde verilen yöntemle yapıldı (Cuendet vd., 1997; Kirby ve Schmidt 1997; Burits ve Bucar, 2000; Burits vd., 2001).

Bu test yöntemi, kararlı serbest radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH[•])'in elektron veya hidrojen atomları veren antioksidan kimyasalların varlığında, bu kimyasallar tarafından süpürülmesi (temizlenmesi) ile karakteristik mor renginin açılmasının spektrofotometrik olarak belirlenmesi temeline dayanır. Yani, materyal ne kadar güçlü antioksidan özelliğe sahipse metanolik DPPH çözeltisinin rengini o kadar çok açması beklenir. Bu yöntemde özüt ve uçucu yağların çeşitli derişimlerde hazırlanan 50 µL'lik metanol içinde hazırlanan çözeltileri % 0.004'lük (h/a) DPPH çözeltisinin 5 mL'si ile karıştırıldı. 30 dakikalık karanlıkta inkübasyon sonrasında, örneklerin absorbansı 517 nm'de ölçüldü. Örneklerinin absorbans değeri köre (50 µL metanol) karşı değerlendirildi. Her bir örnek ve kör testlerinin absorbans değerleri kullanılarak % inhibisyon değerleri aşağıda verildiği şekliyle hesaplandı (Burits ve Bucar, 2000);

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{Örnek}}}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

Elde edilen % inhibisyon değerleri örnek derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek her bir örneğin % 50 renk açılımını sağlayan derişimleri % 50 inhibisyon (IC₅₀) değeri olarak hesaplandı. BHT pozitif kontrol olarak kullanıldı.

2.3.2. β-Karoten/Linoleik Asit Renk Açılım Yöntemi

Özüt ve uçucu yağlar ve pozitif kontrolden (BHT) etanol içerisinde 2 g/L olacak şekilde ayrı ayrı çözeltiler hazırlandı.

Spektrofotometrede kullanılacak olan β-karoten-linoleik asit karışımı ise şu şekilde hazırlandı: 0.5mg β-karoten 1mL kloroformda çözüldü. 25 µL linoleik asit 200 mg Tween 80 ile emisyon haline getirilerek β-karoten çözeltisine eklendi. Karışım iyice çalkalandıktan sonra evaporatörde 50 °C'de kuvvetli vakum uygulanarak kloroformu

uçuruldu. Karışım zerine, linoleik asitin oksidasyonunu sağlayacak olan önceden 30 dakika boyunca oksijenle doyrulmuş (akış hızı 100 mL dak⁻¹) distile sudan 100 mL eklendi ve 1 dakika boyunca hızlı bir şekilde karıştırıldı. Bu işlem sonunda berrak, sarı renkli β-karoten-linoleik asit test karışımı elde edildi.

Bu karışımından 2500 μL'lik kısımlar tüplere alındı. Her bir örnek ve pozitif kontrol için üç tekrarlı seriler hazırlandı. 350 μL'lik test zeltileri, ilgili serilere ilave edildi. Aynı miktar etanol kontrol serisine uygulandı. Daha sonra tüplerin ağızları kapatılarak oda sıcaklığında, karanlıkta bekletildi ve 24 saat sonra 490 nm'de absorbansları ölçüldü. Yine pozitif kontrolün (BHT) ve örneklerin absorbans değeri ( tekrarın ortalaması) karşılaştırılarak bağlı antioksidan aktivite (BAA) değerleri aşağıdaki eşitliklerden hesaplandı.

$$\% \text{ BAA} = \frac{\text{Uçucu yağın absorbansı}}{\text{BHT'nin absorbansı}} \times 100$$

2.4. Antimikrobiyal Aktivite Testleri

2.4.1. Bitki ztlerinin Antimikrobiyal Aktivite Testleri İçin Hazırlanması

Bitki özütlerinden suda çözünen kısımları distile su, suda çözünmeyen (hekzan ve kloroform) kısımları ise dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılarak 10 mg/mL'lik zeltileri hazırlandı. Uçucu yağlar ise doğrudan 15 μL'lik hacimler halinde disklere emdirilerek kullanıldı.

2.4.2. Test Mikroorganizmaları

Bitki özütlerinin antimikrobiyal etkileri 10 patojen mikroorganizma üzerinde araştırıldı.

a) Bakteri suşları;

Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ) Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında bulunan koleksiyondan temin edildi.

Antibakteriyal etki araştırılacak bakteriler, morfolojik farklılıkları göz önünde bulundurularak belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1. Bakteri suşları ve özellikleri

Bakterinin Adı	Suş Numarası	Morfolojik Görünüm	Gram Özelliği	Üretildiği Besiyeri	Deney Besiyeri
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Kok	Pozitif	KA ^a	MHA ^b MHB ^c
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228	Kok	Pozitif	KA	MHA MHB
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Basil	Pozitif	KA	MHA MHB
<i>Branhamella catarrhalis</i>	ATCC 25238	Kok	Negatif	KA	MHB
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Basil	Negatif	EMB ^d	MHA MHB
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Basil	Negatif	EMB	MHA MHB

^a Kanlı Agar

^b Mueller Hinton Agar

^c Mueller Hinton Broth

^d Eosine Methylene Blue agar

b) Mantar suşları;

Mantar suşları KTÜ Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında bulunan koleksiyondan temin edildi. Çalışmada kullanılan suşlar ve özellikleri Tablo 2'deki gibidir.

Tablo 2. Mantar suşları ve özellikleri

Mantarın Adı	Suş Numarası	Morfolojisi	Üretildiği Besiyeri	Deney Besiyeri
<i>Candida albicans</i>	ATCC 60193	Maya	SDA ^a	SDA YEPD ^b
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019	Maya	SDA	SDA YEPD
<i>Candida kefyr</i>	ATCC 46764	Maya	SDA	SDA YEPD
<i>Candida glabrata</i>	ATCC 66032	Maya	SDA	SDA YEPD

^a Saboraud Dektroz Agar

^b Maya özütü, Pepton, Dekstroz Broth

2.4.3. Özüt ve Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması

2.4.3.1. Antibakteriyal Aktivite Testleri

Antibakteriyal etki araştırılacak bakterilerin seçiminde morfolojik farklılıklar göz önünde bulunduruldu. Bakterilere karşı özütlerin antibakteriyal etkisi, agar kuyucuk yayılma deneyi (agar well diffusion), sıvı mikroseyreltme (broth microdilution) ve agar dilüsyon yöntemleri kullanılarak araştırıldı.

2.4.3.1.1. Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması

Bakteri suşlarından *E. coli* ve *P. aeruginosa* EMB, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis* ve *B. catarrhalis* kanlı agar plaklarına ekildi ve atmosferik koşullarda 37 °C’de bir gece inkübe edildi.

Üremiş kültür plaklarından tek koloni alınarak 3 ml MHB’a ekim yapıldı. Sıvı kültürler, bakterinin üremesi neticesi oluşan bulanıklık McFarland’ın 0.5 no’lu bulanıklık tüpüne (yaklaşık 1.5×10^8 bakteri/ml) eşit hale gelinceye kadar 37 °C’de inkübe edildi.

2.4.3.1.2. Özüt ve Uçucu Yağların Agar-Kuyucuk Yöntemiyle Antibakteriyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Agar kuyucuk yayılma yöntemi ile yapıldı (Sökmen vd., 1999). Deney besiyeri olarak *B. catarrhalis* için KA, diğer bakteriler için MHA besiyeri kullanıldı. Besiyerlerinin yüzeyi, etüvde 15 dakika bekletilmek suretiyle kurutuldu. McFarland’ın 0.5 no’lu tüpüne denk bulanıklıktaki bakteri süspansiyonları eküvyon çubuğu ile besiyerleri üzerine homojen şekilde yayıldı. Besiyeri yüzeyinin kuruması için petri plakları etüvde 5 dakika bekletildi. Petrilerin alt yüzeyine özütlerin konacakları kuyucuk yerleri işaretlendi ve örnek numaraları yazıldı. Taşınabilir bir aspiratörün vakum ucuna bağlı hortuma ortadan kırılmış bir pastör pipeti, düzgün kısmı dışarıda kalacak şekilde takıldı. Cam pipet ucu % 96’lık alkole batırıldıktan sonra alevde yakılarak steril edildi. Uç soğuduktan sonra motor çalıştırılarak besiyeri içinde pastör pipeti çapında (6 mm) kuyucuklar açıldı. Her özütün PBS:DMSO (1:1) içinde konsantrasyonları 5 mg/ml olacak şekilde sulandırma yapıldı. Bu sulandırmadan kuyucuklara 100’er µl pipete edildi. Kontrol olarak 100 µg/ml

konsantrasyonunda ampisilin ve özüt içermeyen çözücü (PBS:DMSO, 1:1) kullanıldı. Plaklar 37 °C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapı ölçüldü.

2.4.3.1.3. Aktif Örneklerin Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi

Agar kuyucuk yayılma yönteminde pozitif aktivite gösteren özüt ve uçucu yağların MİK'leri, iş gücü azlığı, ekonomik oluşu ve pratikliği sebebiyle sıvı mikroseyreltme yöntemi ile belirlendi (Abbasoğlu vd., 1995).

Bu amaçla, hazırlanan MHB besiyerinden steril 96 kuyucuklu plakların her bir kuyucuğuna 100 µl dağıtıldı. Özütlerin PBS:DMSO (1:1) ile 10 mg/ml konsantrasyonda sulandırmaları hazırlandı. Bu sulandırmalardan 96 kuyucuklu plakların ilk kuyucuklarına 100'er µl aktarıldı.

Kontrol olarak;

1. Ampisilin: Standart suşun kalitesini ve deneyin doğruluğunu test etmek için bir serinin ilk kuyucuğuna 100 µl ampisilin süspansiyonu (ilk kuyucukta 100 µg/ml olacak şekilde) konuldu.

2. PBS:DMSO (1:1): Çözücünün sulandırmaları hazırlanarak, inhibitör etkinin çözücü ile ilişkisi araştırıldı.

3. Bakteri kontrol: Bir sıra kuyucukta bulunan besiyerinin üzerine 100 µl bakteri süspansiyonu eklenerek, bakterinin üreme kabiliyeti değerlendirildi.

4. Besiyeri kontrol: Bir sıraya sadece besiyeri eklenerek kontaminasyon sebebiyle oluşabilecek inhibitör etki araştırma dışı bırakıldı.

Sekiz kanallı pipet ile ilk kuyucuklardaki besiyeri ve özüt pipete edilerek iyice karıştırıldıktan sonra bunlardan alınan 100 µl'lik hacimler bir sonraki kuyucuklara aktarıldı. Bu şekilde 5-6 kez pipetlemeyi takiben bir sonraki kuyucuklara 100 µl aktararak özütlerin 1/2 seri sulandırmaları yapıldı (5 mg/ml – 2 µg/ml).

McFarland 0.5 bulanıklığındaki bakteri süspansiyonundan besiyeri ile 10^{-2} sulandırma yapılarak ml'sinde 10^6 bakteri olan süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan her kuyucuğa 100 µl aktarıldı. Sonuçta özütlerin 2.5 mg/ml ile 1µg/ml konsantrasyonları arası sulandırmaları elde edildi. Plaklar 37 °C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyonu takiben plaklardaki üreme kontrol edildi. Gözle görülebilen bir üremenin olmadığı,

dolayısıyla üremenin inhibe olduğu en düşük özüt konsantrasyonu, MİK olarak değerlendirildi.

2.4.3.2. Antikandidal Aktivite Testleri

Özütlerin antikandidal aktiviteleri agar kuyucuk yayılma ve sıvı mikroseyreltme yöntemleriyle araştırıldı (Abbasoğlu vd., 1995; Sökmen vd., 1999).

Mantarlar SDA besiyerinde üretildi. Özütlerin antikandidal MİK'lerinin belirlenmesinde YEPD besiyeri kullanıldı.

2.4.3.2.1. Mantar Süspansiyonlarının Hazırlanması

Kandida suşları SDA besiyerine tek koloni düşecek şekilde ekildi ve 35 °C'de inkübe edildi. Buradaki üremelerden YEPD besiyerine tek koloni alınarak 35 °C'de üretildi.

2.4.3.2.2. Özütlerin ve Uçucu Yağların Kabaca Antikandidal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Kandida suşlarının özütlere olan duyarlılığının belirlenmesinde agar kuyucuk yayılma yöntemi kullanıldı. YEPD besiyeri, *C. Albicans*'ın oluşturduğu bulanıklık McFarland 1 oluncaya kadar inkübe edildi. Bu tüpten eküvyon çubuğu ile etüvde 15 dakika bekletilmek suretiyle kurutulan SDA yüzeyine yaygın ekim yapıldı. Deney yukarıda belirtildiği şekilde yapıldı. Kontrol kuyucuklarına 250 µg/ml konsantrasyonunda amfoterisin B (Alves vd., 2000) ve özüt içermeyen PBS:DMSO (1:1)'den 100 µl eklendi. Petriler 35 °C'de 18 saat inkübe edildi. Süre sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapı cetvel ile ölçüldü.

2.4.3.2.3. Özütlerin Antikandidal Minimal İnhibitör Derişimlerinin (MİK) Tespiti

Agar kuyucuk yayılma yöntemi ile *C. albicans*'a karşı etkili olan özütlerin MİK'lerinin saptanması için sıvı mikroseyreltme yöntemi kullanıldı. Doksan altı kuyucuklu plaklarda, yukarıda ifade edildiği şekilde, YEPD besiyeri kullanılarak araştırıldı. Özüt ve

kontrollerin 2.5 mg/ml'den başlayarak 1/2 azalan konsantrasyonlarda dilüsyonları hazırlandı. Ayrıca bazı kuyucuklar *C. albicans*'ın üremesini değerlendirmek (özüt içermeyen kuyucuklar) ve besiyeri ile plak sterilliğini denetlemek (özüt ve mantar içermeyen kuyucuklar) amacıyla çalışmaya dahil edildi. Mantar süspansiyonlarından (10^6 hücre/ml) 100'er µl kuyucuklara pipetlendi (Skaltsa vd., 2000).

Plaklar 35 °C'de 18 saat inkübe edildi. Üremeleri makroskopik olarak ve invert mikroskop altında kontrol edildi. Gözle görülebilen bir üremenin olmadığı en düşük özüt ve kontrol derişimi MİK olarak kaydedildi.

2.5. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GK-KS) Analizi

Uçucu yağın yapı analizi Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GK-KS) ve Gaz Kromatografisi-Alev İyonlaşma Dedektörü (GK-AİD) ile yapıldı. Kapiler GK-AİD için Agilent-5973 Network Sistemine bir FİD eklendi. FİD saf hidrojen gazı ve hava ile desteklendi. Gaz Kromatografisinde HP 5 MS çapraz bağlı % 5 PH ME Siloksan dolgu maddeli 30 m uzunluğunda, 0.32 mm iç çapında, 0.25 µm film kalınlığına sahip kapillar bir kolon kullanıldı. GK-KS deteksiyonu için elektron iyonizasyon sistemi 70 eV'da, taşıyıcı gaz olarak 1 ml/dk hızda saf helyum gazı kullanıldı. Enjektör sıcaklığı ve ara yüzey sıcaklığı sırasıyla 220 °C ve 290 °C olarak ayarlandı.

Ayrılma hızını artırmak için bir GK sıcaklık programına ihtiyaç duyuldu. Kolon başlangıçta 2 dakika süreyle 60 °C'de tutuldu. Sonrasında kolon sıcaklığı 3 °C/dk hızla 240 °C'ye çıkarıldı, bu sıcaklıkta 10 dk bekletilip 10 °C/dk hızla 250 °C'ye çıkarıldı. HPLC saflıkta n-hekzan ile seyreltilmiş örneğin (1 /100) 1 µl'si enjektörle splitless olarak sisteme enjekte edildi. Her bileşiğin alıkonma endeksi aynı koşullar altında çalışılan ve literatürde yer alan verilerle karşılaştırıldı ve her uçucu yağın bileşenleri tanımlandı. Her örnek iki kez analiz edildi fakat veriler birbirine çok yakın olduğundan standart sapmalar verilmemiştir. Her uçucu yağın % bileşenleri doğrulama faktörleri kullanılmaksızın GK pik alanlarından hesaplandı.

2.6. Verilerin Analizi

Antimikrobiyal ve antioksidan aktivite sonuçları Bölüm 3 de bulgular kısmında Tablolar ve Grafikler halinde sunuldu. Tablo ve Grafiklerdeki değerler üç tekrarın ortalamasıdır. Antioksidan aktiviteye ait grafiklerde standart sapmalar verilmiştir fakat antimikrobiyal aktiviteye ait tablolarda, veriler birbirine çok yakın olduğundan standart sapmalar verilmemiştir.

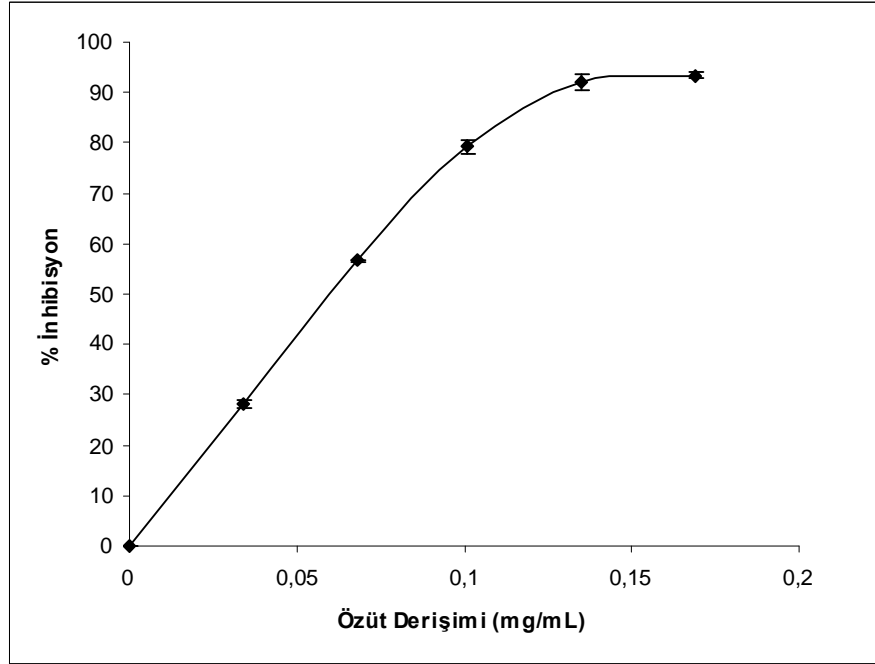
3. BULGULAR

3.1. Antioksidan Aktivite Testleri

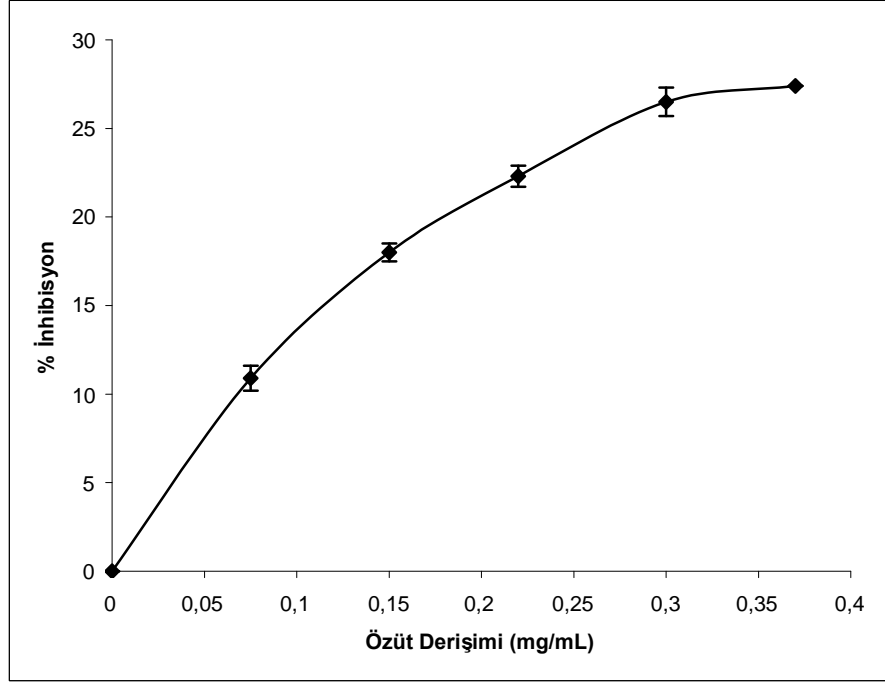
3.1.1. 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil DPPH Yöntemi

Yapılan çalışmalar kısmında ayrıntılı olarak verilen deneysel yöntem izlenerek DPPH kararlı radikalinin özüt ve uçucu yağlarındaki antioksidan içerikleri karşısında davranışı araştırıldı. Bunun için hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağların stok çözeltileri hazırlandı. Örneklerden ardışık seyreltme yoluyla elde edilen farklı derişimlerin % 0.004'lük DPPH çözeltisinde renk açma kapasiteleri % inhibisyon olarak belirlendi.

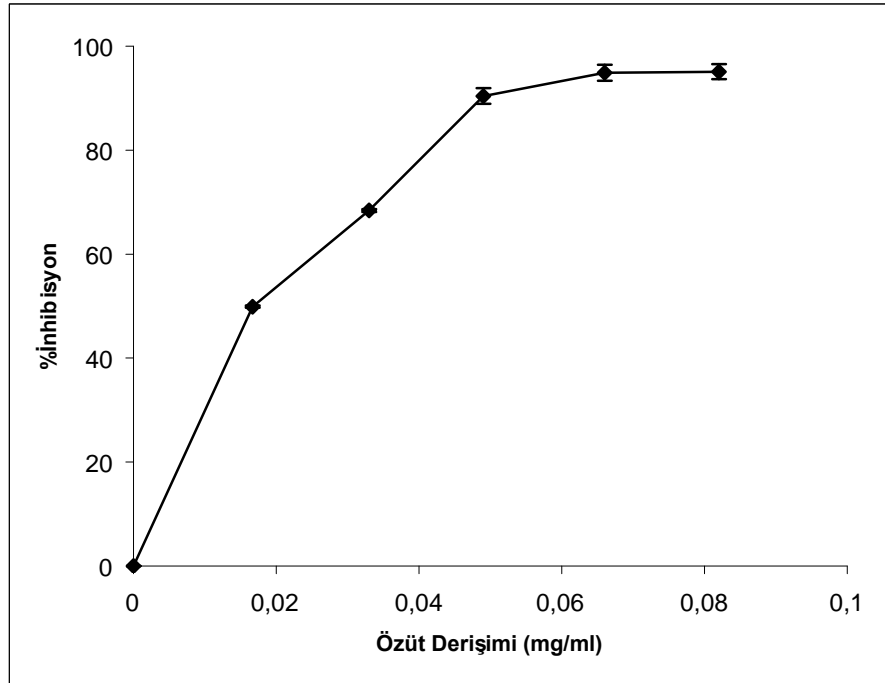
DPPH yöntemi ile çalışılan bitkilerden *A. annua*'nın hekzan özütünde, *L. trilobum* ile *M. matricarioides*'in hekzan özütlerinde ve uçucu yağlarında aktivite gözlenmedi. Bu nedenle sadece DPPH radikal süpürücü etkileri olan örneklerin özüt derişimlerine karşı % inhibisyon değerleri Şekil 1 - 7' de sunuldu.



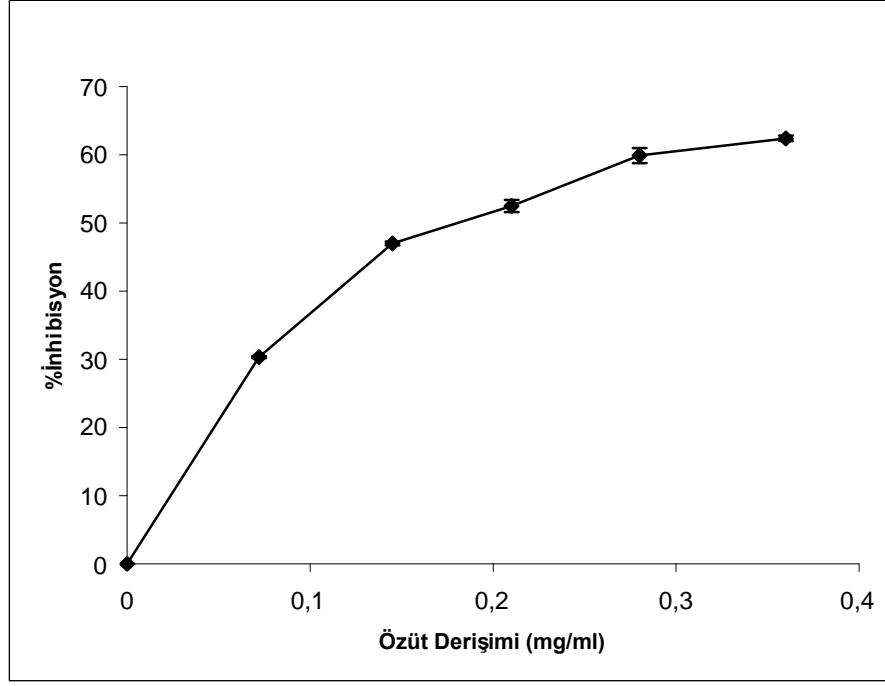
Şekil 1. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde *Matricaria matricarioides*'in toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının su özütü derişimine karşı % inhibisyonu



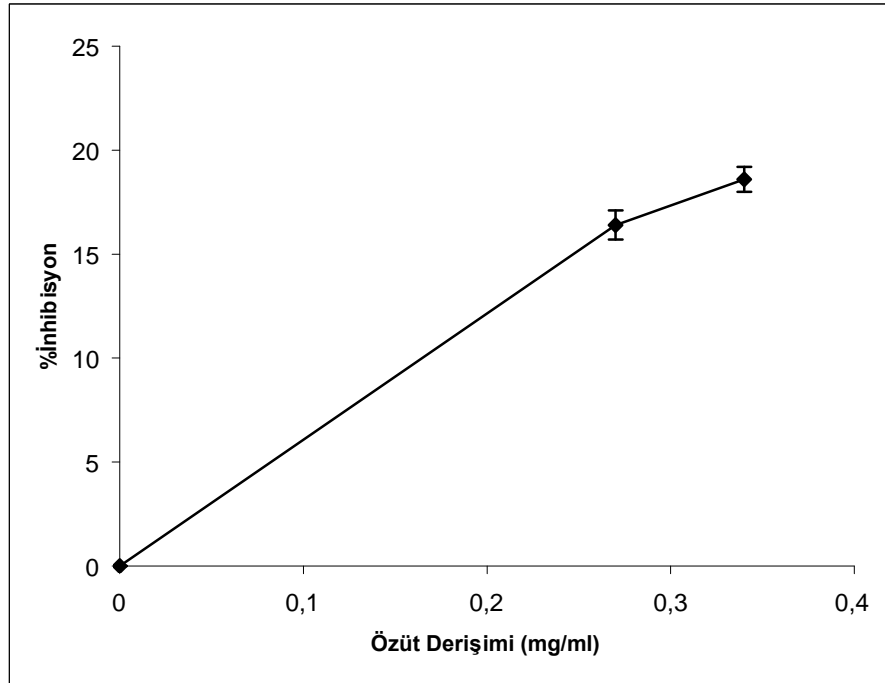
Şekil 2. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde *Matricaria matricarioides*'in toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının kloroform özütü derişimine karşı % inhibisyonu



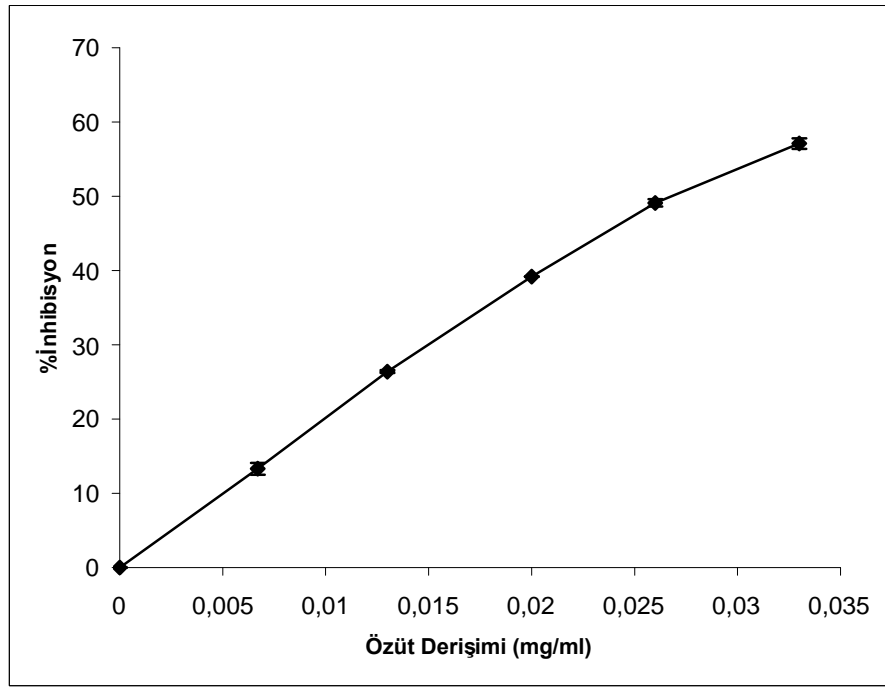
Şekil 3. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde *Artemisia annua*'nın toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının su özütü derişimine karşı % inhibisyonu



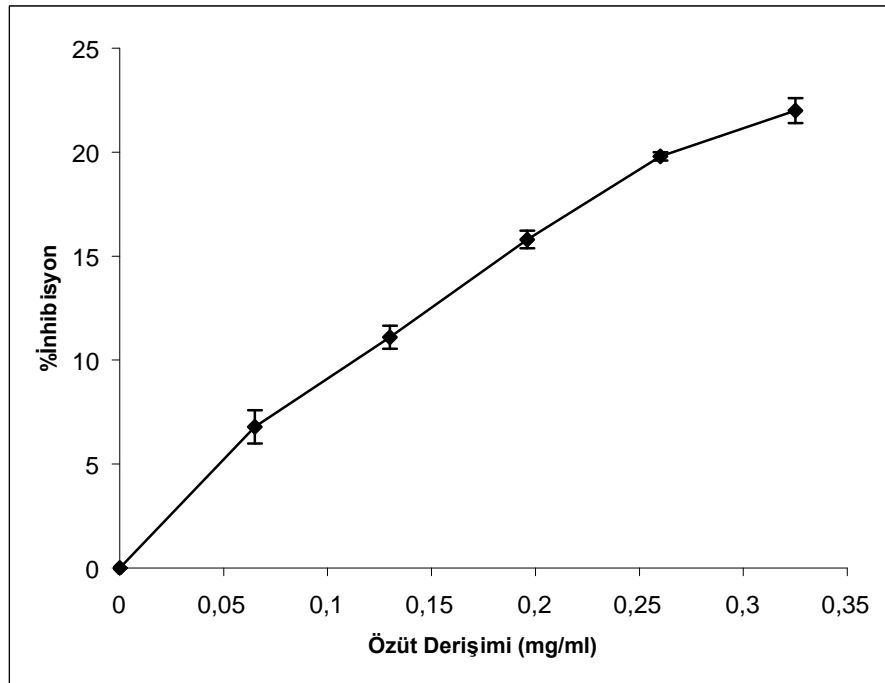
Şekil 4. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde *Artemisia annua*'nın toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının kloroform özütü derişimine karşı % inhibisyonu



Şekil 5. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde *Artemisia annua*'nın toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının yağ özütü derişimine karşı % inhibisyonu



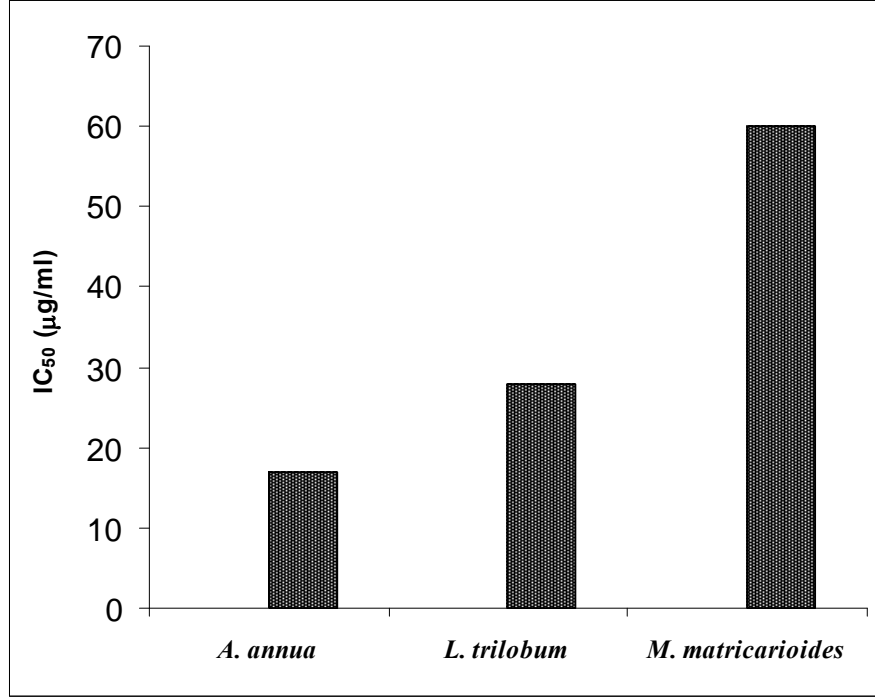
Şekil 6. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde *Laser trilobum*'un toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının su özütü derişimine karşı % inhibisyonu



Şekil 7. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde *Laser trilobum*'un toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarının kloroform özütü derişimine karşı % inhibisyonu

Şekillerden de görülebileceği gibi çalışılan bitkilerde su özütlерinin (polar faz) serbest radikal temizleme yetenekleri yüksek bulunmuştur. *M. matricarioides*'in kloroform özütlünde 0,4 mg/ml ve üzeri derişimlerde % 27'lik sabit inhibisyon, *A. annua*'nın kloroform ve yağ özütlерinde 0,4 mg/ml ve üzeri derişimlerde sırasıyla % 65 ve % 20 sabit inhibisyon gözlenirken, *L. trilobum*'un kloroform özütlünde aynı derişimde % 22'lik sabit inhibisyon saptanmıştır. Bu özütlerde derişim artırılrsa da DPPH serbest radikalının inhibisyon oranı sabit kalmıştır.

Daha yüksek aktiviteye sahip polar su özütlерinin Şekil 1, 3 ve 6'dan yararlanılarak % 50 inhibisyonu sağlayan derişimleri (IC_{50}) hesaplanmış ve değerler Şekil 8'de verilmiştir.



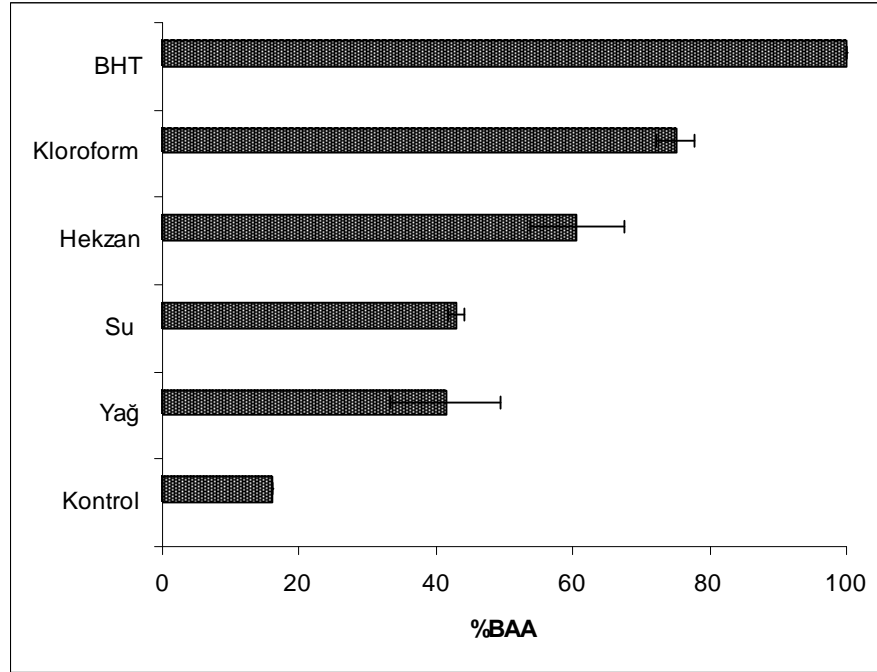
Şekil 8. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yönteminde *Matricaria matricarioides*, *Artemisia annua* ve *Laser trilobum*'un toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları su özütlерinin IC_{50} değerleri

IC_{50} değerinin düşük olması aktivitenin yüksek olmasını ifade etmektedir. Buna göre değerlendirildiğinde 17 µg/ml IC_{50} değeri ile *A. annua* aktivitesi en yüksek su özütlü olurken, 28 µg/ml IC_{50} değeri ile *L. trilobum* ve 60 µg/ml IC_{50} değeri ile *M. matricarioides* *A. annua*'yı takip etmektedir. Literatür verileri karşılaştırıldığında bu özütlерin serbest

radikal temizlemede oldukça etkin olduğu ve sentetik antioksidan BHT ile yarışır aktiviteye sahip olduğu söylenebilir.

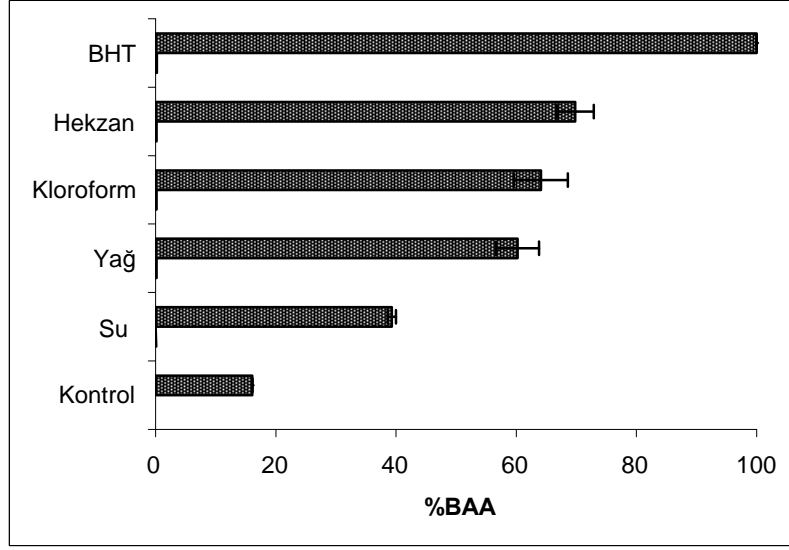
3.1.2. β -Karoten/Linoleik Asit Renk Açılım Yöntemi

Antioksidan aktivitesinde uygulanan diğer bir test yöntemi de β -karoten/Linoleik asit renk açılım yöntemidir. Bu yöntemde β -karoten'in karakteristik sarı renginin belli bir periyotta korunumu esas alınmıştır. 24 saatlik zaman süresinde ölçülen absorbans değerleri BHT nin absorbansına karşı değerlendirilmiş, % inhibisyon değerleri hesaplanmış ve % BAA değerleri rapor edilmiştir. Sonuçlar Şekil 9-11'de verilmiştir.



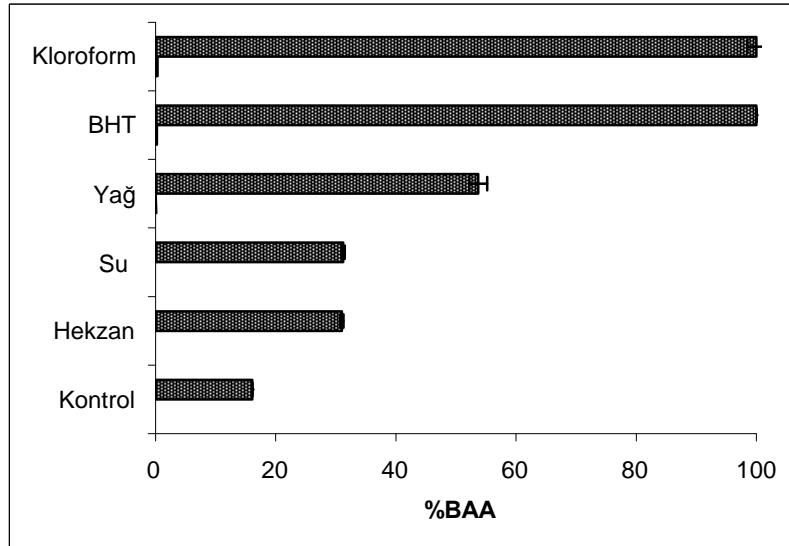
Şekil 9. β -karoten yönteminde *Matricaria matricarioides*'in toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağının % BAA değerleri

Şekil 9'da aktiflik sırasına göre sıralanmış özütler değerlendirildiğinde apolar bileşenlerin yoğunlaştığı kloroform fazının % 75,1 inhibisyon değeriyle en yüksek aktiviteye sahip olduğu, hekzan fazının % 60,6 ve uçucu yağın % 41,4 inhibisyon değerleri ile orta derecede aktif özütler olduğu söylenebilir.



Şekil 10. β -karoten yönteminde *Artemisia annua*'nın toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağının % BAA değerleri

Şekil 10'da aktiflik sırasına göre sıralanmış özütler değerlendirildiğinde apolar bileşenlerin yoğunlaştığı hekzan fazının % 69,8, kloroform fazının % 64,1 ve uçucu yağın % 60,2 inhibisyon değerleri oldukça yakın değerlerdir ve bu özütlerin tümü orta derecede aktif özütler olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 11. β -karoten yönteminde *Laser trilobum*'un toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımları hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağının % BAA değerleri

Şekil 11'den görüleceği üzere kloroform fazı en yüksek inhibisyon değeriyle BHT'ye eşdeğer aktiviteye sahiptir. Diğer özütler ise orta derecede aktiftir. Şekil 9 - 11'de özütlerin ve uçucu yağların % BAA değerleri BHT ile karşılaştırıldığında oldukça iyidir. Özellikle (non-polar fazlar) kloroform ve hekzan özütlerinin etkin olduğu gözlenmiştir. BHT gibi sentetik ve kanserojen olduğu şüphelenilen bir kimyasal yerine tamamen doğal olan ve kendine has kokusuyla yiyecek maddelerine tat ve lezzet katabilecek bir koruyucu katkı maddesinin kullanılması faydalı olacaktır.

3.2. Antimikrobiyal Aktiviteler

Yapılan çalışmalar kısmında ayrıntılı olarak verilen özütleme yöntemleri ile *M. matricarioides*, *L. trilobum* ve *A. annua*'dan özütler ve uçucu yağlar elde edildi. Bu örneklerden *L. trilobum*'un uçucu yağı yeterli miktarda olmadığından antimikrobiyal aktivite testleri bir ön çalışmadan ibarettir. Diğer özüt ve uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir.

Antimikrobiyal aktivite testleri üç farklı bitki türünde gerçekleştirildiğinden, her bitki türünden elde edilen sonuçlar ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

3.2.1. *Matricaria matricarioides*'in Hekzan, Kloroform ve Su Özütleri ile Uçucu Yağının Antimikrobiyal Aktivitesi

Bu bitkinin toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarından, giderek artan polariteye sahip (hekzan, kloroform, su) özütleri ile uçucu yağın agar kuyucuk yayılma yöntemi ile elde edilen antimikrobiyal (antibakteriyal ve antikandidal) aktivite sonuçları Tablo 3'de verilmiştir. Agar kuyucuk yayılma yönteminde aktif bulunan örneklerin nicel minimum inhibe edici derişim değerleri ise Tablo 4'de sunulmuştur.

Bu bitkinin hekzan ile hazırlanmış özütünün tüm test mikroorganizmalarına karşı etkili olduğu görülmüştür. Özellikle antibakteriyal aktivitenin yanı sıra antikandidal etki de gözlenmiştir. Genel anlamda hekzan (Hek) özütü, kloroform (KLO) ve su özütlerine göre daha aktiftir (Tablo 4). Bu özüt en yüksek aktiviteyi *B. catarrhalis*'e karşı göstermiştir. Zira bu test mikroorganizmasına karşı 15 mm.'lik bir zon çapı ve akabinde 0.039 mg/mL'lik bir MİK değerine ulaşılmıştır. Hekzan özütünün diğer test bakterilerine karşı

aktivitesi orta düzeyde olup 7-8 mm.'lik zon çapları ve 0.625-1.25 mg/mL değerlerinde MİK sonuçlarına ulaşılmıştır.

Tablo 3. *Matricaria matricarioides*'in hekzan, kloroform, su özütlerinin ve uçucu yağının antimikrobiyal aktiviteleri¹

MİKROORGANİZMALAR	ÖZÜTLER					
	Hekzan	Kloroform	Su	Uçucu Yağ	Atbk ^d	Çözücü ^f
<i>S. aureus</i>	8	7	—	10	30	—
<i>S. epidermidis</i>	8	- ^c	11	12	X	—
<i>B. subtilis</i>	8	9	- ^c	9	25	—
<i>B. catarrhalis</i>	15	14	8	8	45	—
<i>E. coli</i>	7	- ^c	- ^c	—	18	—
<i>P. aeruginosa</i>	7	—	- ^c	—	X ^d	—
<i>C. albicans</i>	8	0	0	8	X	—
<i>C. parapsilosis</i>	9	0	0	0	X	—
<i>C. kefir</i>	8	9	0	8	X	—
<i>C. glabrata</i>	10	8	- ^c	8	X	—

¹ Zon çapları kuyucuk çapını (6 mm) içerecek şekilde hesaplandı

^c İnhibisyon yok, ^d Çalışılmadı, ^e Antibiyotik (µg/ml), ^f Sulandırma oranı

Tablo 4. *Matricaria matricarioides*'in hekzan, kloroform, su özütlerinin ve uçucu yağının minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri¹

MİKROORGANİZMALAR	ÖZÜTLER					
	Hekzan	Kloroform	Su	Uçucu Yağ	Atbk ^d	S.F ^f
<i>S. aureus</i>	1.25	2.5	2.5	0.625	0.781	1
<i>S. epidermidis</i>	—	- ^c	0.625	0.625	X	1/2
<i>B. subtilis</i>	1.25	1.25	- ^c	0.625	1.562	1
<i>B. catarrhalis</i>	0.039	0.078	—	0.156	0.781	1/16
<i>E. coli</i>	0.625	- ^c	- ^c	1.25	1.562	1/2
<i>P. aeruginosa</i>	1.25	0.625	- ^c	0.625	X ^e	1/2
<i>C. albicans</i>	0.625	—	—	—	0.312	1/4
<i>C. parapsilosis</i>	—	—	—	—	X	1/4
<i>C. kefir</i>	—	—	—	—	X	—
<i>C. glabrata</i>	0.625	0.625	- ^c	0.625	X	1/4

¹ Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) (değerler mg/ml olarak verilmiştir)

^c Tüm kuyucuklarda üredi, ^d Antibiyotik (µg/ml), ^e Çalışılmadı, ^f Sulandırma faktörü

Özütün ayrıca *C. albicans* ve *C. glabrata* 'ya karşı ılımlı antikandidal aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (MİK: 0.625 mg/mL)(Tablo 4).

Bitkinin metanol ile özütlenmesinin ardından elde edilen KLO fazı (özütü) Hek özütüne göre daha zayıf antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Tablo 3 ve 4). Gerek *B. catarrhalis*'e karşı gösterdiği aktivite (14 mm zon çapı ve 0.078 mg/mL MİK değeri) ve *P. aeruginosa*'ya karşı biraz daha yüksek MİK değeri (0.625 mg/mL) bu özütü Hek özütüyle karşılaştırılabilir kılmaktadır. KLO özütü diğer bakterilere karşı zayıf veya etkisizdir ve sadece *C. glabrata*'ya karşı ılımlı antikandidal aktivite göstermiştir (MİK: 0.625 mg/mL) (Tablo 4).

Polar faz (su faz'ı veya özütü) ise sadece iki mikroorganizmaya karşı zayıf aktivite göstermiştir. Bunlardan sadece *S. epidermidis*'e karşı aktivitenin dikkate değer olduğu gözlenmiştir (MİK: 0.625 mg/mL).

Su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın % 0.59 (h/a) antimikrobiyal aktiviteleri de orta düzeydedir (ılımlıdır). Ancak burada da *B. catarrhalis* yine bir istisna teşkil etmiş ve güçlü bir aktivite gözlenmiştir (MİK: 0.156 mg/mL). Diğer tüm test bakterilerine karşı 0.625-1.2 mg/mL aralığında MİK değerleri elde edilmiştir. Uçucu yağ, diğer taraftan sadece *C. glabrata*'ya karşı orta derecede antikandidal aktivite göstermiştir (MİK: 0.625 mg/mL).

3.2.2. *Artemisia annua*'nın Hekzan, Kloroform ve Su Özütleri ile Uçucu Yağın Antimikrobiyal Aktivitesi

Yine bu bitkinin de toprak üstü (çiçek + yaprak) kısımlarından elde edilen hekzan, kloroform, su özütleri ile uçucu yağın antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 5-6'da özetlenmiştir.

A. annua'dan elde edilen özütler içerisinde sadece Hek özütünde antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir. Diğer özütlerin dikkate değer herhangi bir aktivite göstermediği anlaşılmıştır. Burada da en duyarlı mikroorganizma yine *B. catarrhalis* olmuştur (MİK: 0.078 mg/mL). Bunu *S. epidermidis* izlemiştir (MİK: 0.625 mg/mL). *S. aureus* ve *B. subtilis*'in bu özüte karşı daha dirençli olduğu gözlenmiştir (MİK: 1.25 mg/mL). *E. coli* ise tamamen direnç göstermiştir (Tablo5-6). Hek özütü güçlü sayılabilecek antikandidal aktiviteye sahiptir. Özellikle *C. kefyr*'e karşı aktivite yüksektir (MİK: 0.156 mg/mL). Diğer *Candida* türlerine karşı ise biraz daha düşük antikandidal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (MİK: 0.312 mg/mL).

Tablo 5. *Artemisia annua*'nın hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağının antimikrobiyal aktiviteleri¹

MİKROORGANİZMALAR	ÖZÜTLER			
	Hekzan	Kloroform	Su	Uçucu Yağ
<i>S. aureus</i>	16	- ^c	- ^c	13
<i>S. epidermidis</i>	20	- ^c	- ^c	13
<i>B. subtilis</i>	13	- ^c	- ^c	10
<i>B. catarrhalis</i>	8	8	8	22
<i>E. coli</i>	- ^c	- ^c	- ^c	—
<i>P. aeruginosa</i>	8	- ^c	- ^c	—
<i>C. albicans</i>	10	0	0	8
<i>C. parapsilosis</i>	8	0	0	12
<i>C. kefyr</i>	19	0	0	14
<i>C. glabrata</i>	14	- ^c	- ^c	12

¹Zon çapları kuyucuk çapını (6 mm) içerecek şekilde hesaplandı^cİnhibisyon yokTablo 6. *Artemisia annua*'nın hekzan, kloroform ve su özütleri ile uçucu yağının minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri¹

MİKROORGANİZMALAR	ÖZÜTLER			
	Hekzan	Kloroform	Su	Uçucu Yağ
<i>S. aureus</i>	1.25	- ^c	- ^c	0.625
<i>S. epidermidis</i>	0.625	- ^c	- ^c	0.625
<i>B. subtilis</i>	1.25	- ^c	- ^c	0.625
<i>B. catarrhalis</i>	0.078	—	—	0.0195
<i>E. coli</i>	- ^c	- ^c	- ^c	0.625
<i>P. aeruginosa</i>	0.625	- ^c	- ^c	0.625
<i>C. albicans</i>	0.312	—	—	0.312
<i>C. parapsilosis</i>	0.312	—	—	0.312
<i>C. kefyr</i>	0.156	—	—	0.312
<i>C. glabrata</i>	0.625	- ^c	- ^c	0.312

¹Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) (değerler mg/ml olarak verilmiştir)^cTüm kuyucuklarda üredi

A. annua' dan su distilasyonu yöntemi ile % 0.886 (h/a) oranında uçucu yağ elde edilmiştir. Uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi de Tablo 5-6'da verilmiştir. Uçucu yağ, *B. catarrhalis* hariç, genellikle orta derecede antibakteriyal aktivite göstermiştir (MİK: 0625 mg/mL). Oysa *B. catarrhalis*'in uçucu yağ örneğine karşı oldukça duyarlı olduğu gözlenmiştir (MİK: 0.019 mg/mL). Bu, çalışılan örnekler arasında elde edilen en yüksek MİK değeridir.

Uçucu yağ aynı zamanda güçlü antikandidal aktivite göstermiştir (MİK: 0312 mg/mL).

3.2.3. *Laser trilobum*'un Hekzan, Kloroform ve Su Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi

L. trilobum bitkisinden elde edilen hekzan, kloroform ve su özütlerinin antimikrobiyal aktiviteleri Tablo 7-8'de özetlenmiştir.

Çalışılan bitkiler içerisinde Hek özütünde en az aktivite bu bitki türünden elde edilmiştir. Bu özüt sadece gram-negatif bakterilerden *B. catarrhalis*'e karşı etkili olmuştur (MİK: 0.039 mg/mL). KLO özütü ise, bu bitkiye mahsus olmak üzere, antikandidal aktivite gösteren tek özüttür ve *C. glabrata*'ya karşı 0.625 mg/mL lik bir MİK değerine ulaşılmıştır (Tablo 8). KLO özütü Hek özütü gibi *B. catarrhalis*'e karşı etkili olmuştur (MİK: 0.039 mg/mL). Ayrıca *P. aeruginosa* ve *B. subtilis* bu özüte karşı duyarlılık gösterirken (MİK: 0.625 mg/mL) diğer test mikroorganizmaları direnç göstermiştir (Tablo 8).

L. trilobum'dan elde edilen su özütü, diğer bitkilerden aynı yolla elde edilen su özütlerinden daha farklı bir antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Bu özüt diğer polar özütlere göre daha yüksek aktivite göstermiştir. Örneğin *B. catarrhalis*'e karşı aktivite yüksektir (MİK: 0.078 mg/mL). Ayrıca *S. epidermidis*'e karşı orta düzeyde, *S. aureus*'a karşı ise zayıf antibakteriyal aktivite gözlenmiştir. Bu mikroorganizmaların varlığında elde edilen MİK değerleri sırasıyla, 0.625 ve 1.25 mg/mL olmuştur.

Bu bitkiden elde edilen uçucu yağ stoku antimikrobiyal aktivite çalışmalarında sadece bir ön çalışmaya olanak sağlamıştır. Bu ön çalışmada ise kayda değer bir aktivite bulunmamıştır.

Tablo 7. *Laser trilobum* 'un hekzan, kloroform ve su özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi¹

MİKROORGANİZMALAR	ÖZÜTLER		
	Hekzan	Kloroform	Su
<i>S. aureus</i>	9	12	11
<i>S. epidermidis</i>	- ^c	9	18
<i>B. subtilis</i>	- ^c	9	8
<i>B. catarrhalis</i>	10	24	15
<i>E. coli</i>	- ^c	- ^c	- ^c
<i>P. aeruginosa</i>	- ^c	—	- ^c
<i>C. albicans</i>	8	0	0
<i>C. parapsilosis</i>	9	0	0
<i>C. kefyr</i>	8	0	0
<i>C. glabrata</i>	10	- ^c	- ^c

¹Zon çapları kuyucuk çapını (6 mm) içerecek şekilde hesaplandı

^cİnhibisyon yok

Tablo 8. *Laser trilobum* 'un hekzan, kloroform ve su özütlerinin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri¹

MİKROORGANİZMALAR	ÖZÜTLER		
	Hekzan	Kloroform	Su
<i>S. aureus</i>	—	—	1.25
<i>S. epidermidis</i>	- ^c	—	0.625
<i>B. subtilis</i>	- ^c	0.625	—
<i>B. catarrhalis</i>	0.039	0.039	0.078
<i>E. coli</i>	- ^c	- ^c	- ^c
<i>P. aeruginosa</i>	- ^c	0.625	- ^c
<i>C. albicans</i>	—	—	—
<i>C. parapsilosis</i>	—	—	—
<i>C. kefyr</i>	—	—	—
<i>C. glabrata</i>	—	0.625	- ^c

¹Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) (değerler mg/ml olarak verilmiştir)

^cTüm kuyucuklarda üredi

3.3. Uçucu Yağların Kimyasal İçerikleri

Mevcut çalışma kapsamında değerlendirilen üç bitki türünün toprak üstü kısımlarından (yaprak + çiçek) Bölüm 2.2.1.'de verilen yöntemle uçucu yağları elde edilmiştir. Uçucu yağ verimleri; *A. annua* % 1.6 (h/a), *L. trilobum*. % 1.2 (h/a) ve *M. matricarioides* % 0.7 (h/a) olarak hesaplanmıştır.

Uçucu yağların analizi Bölüm 2.5.'de verilen yöntemle gerçekleştirilmiş ve her bitki türünün;

A- Uçucu yağ içeriği

B- Uçucu yağ bileşenlerin sınıfları ve

C- Ana bileşikler ile bu bileşiklerin ait olduğu terpen sınıfları sırasıyla Tablo 9-11'de verilmiştir.

Buna göre;

M. matricarioides uçucu yağ içeriğinin % 77.2'si ve sonuçta 15 bileşik tanımlanmıştır (Tablo 9A ve B). Ancak uçucu yağın % 22.4'ünü temsil eden iki bileşiğin (% 19.3 ve % 3.1) yapısı belirlenememiştir (Tablo 9A). Bu ana bileşenlerin dışında asıl ana bileşik geranil valerat (% 34.9) ve *E-β-farnesen* *M. matricarioides* uçucu yağının asıl ana bileşikler olduğu görülmüştür (Tablo 9C). *M. matricarioides* uçucu yağının önemli bir kısmını seskiterpenoidler (% 36.6) (C_{15}) ve seskiterpenler (% 23.8) oluşturmuştur (Tablo 9B). Diğer terpenlerin içeriği nispeten daha düşük bulunmuştur.

A. annua uçucu yağının kimyasal profili ise daha farklıdır. Bu uçucu yağda toplam 33 bileşiğin yapısı tanımlanmış ve sonuçta örneğin % 84.4'ünün yapısal analizi gerçekleştirilmiştir (Tablo 10A). Uçucu yağın ana bileşikler sırasıyla artemisia keton (% 18.9), kamfor (% 13.7) ve 1,8-sineol'dür (% 10.2) (Tablo 10A). Uçucu yağın ana bileşenleri monoterepenoidler olup, örneğin % 54.4'ünü teşkil ettiği görülmüştür (Tablo 10C). Seskiterpenler de yapıda % 11.1 oranında temsil edilirken, monoterepenlerin oranı % 8.8 olarak bulunmuştur.

Çalışma kapsamında yer alan son bitki türü *L. trilobum* diğer türlerden familya olarak farklı olduğundan uçucu yağ bileşimi de farklılık göstermiştir. Uçucu yağın yapısının % 97.6'sı analiz edilmiş ve sonuçta 20 bileşiğin yapısı tanımlanmıştır (Tablo 11A). Uçucu yağın ana bileşeni perilla aldehittir (% 73.0). Diğer önemli bileşenler perilla alkol ve *E-karyofillen*'dir. Her iki bileşik de uçucu yağda % 7.6 oranında bulunmuştur. *L. trilobum*'un uçucu yağında perilla aldehitten dolayı monoterepenoidlerin baskın olduğu görülmüştür.

Tablo 9. *Matricaria matricarioides* uçucu yağının; A- kimyasal kompozisyonu, B- Bileşenlerin sınıflandırılması, C- Ana bileşikler

A)

No	Bileşenler	Uçucu Yağ		Deneysel RI	LRI/MS	Lit.
		Q (%)	% Alanı			
1	Linalool	80	0.1	1104	1097	a
2	Naftalen	97	3.7	1186	1181	a
3	<i>E</i> - β -Farnesen	91	23.3	1456	1457	a
4	β -Bisabolen	99	0.3	1509	1506	a
5	Δ -Kadinen	99	0.2	1526	1523	a
6	Geranil butanoat	91	0.4	1568	1564	a
7	α -Muurolol	96	0.4	1650	1646	a
8	Geranil valerat	91	34.9	1659	1657	a
9	Bisabolon oksit	87	0.4	1685		
10	Geranil tiglät	72	0.2	1701	1696	a
11	6,10,14-Trimetil-2-pentadekanon	91	0.3	1849	1846	b
12	Bilinmeyen		19.3	1889		
13	Bilinmeyen		3.1	1903		
14	Fitöl	90	0.5	1947	1943	a
15	n-Eikosan	91	0.1	2100	2100	a
16	n-Tetrakosan	98	0.4	2399	2400	a
17	Pentakosan	97	0.3	2500	2500	a
	TOPLAM		97.6			

B)

Bileşenlerin Sınıfları	% Alanı	Bileşiklerin Sayısı
Monoterpenler	-	-
Monoterpenoidler	0.1	1
Seskiterpenler	23.8	3
Seskiterpenoidler	36.6	5
Diterpen	-	-
Diterpenoidler	0.5	1
Diğerleri	4.5	5
TOPLAM	65.5	15

C)

Bileşik Sınıfı	Ana Bileşik	% Alanı	RI
Monoterpen	-	-	-
Monoterpenoid	Linalool	0.1	1104
Seskiterpen	<i>E</i> - β -Farnesen	23.3	1456
Seskiterpenoid	Geranil valerat	34.9	1659
Diterpen	-	-	-
Diterpenoid	Fitöl	0.5	1947
Diğerleri	Naftalen	3.7	1186

Literatür; a) Adams, R. P (2004) b) Yaylı vd., (2005)

Kısaltmalar; RI; Refraktif Endeksi, LRI; Literatürden refraktif Endeksi, Q: Benzeşme

Tablo 10. *Artemisia annua* uçucu yağının; A- kimyasal kompozisyonu, B- Bileşenlerin sınıflandırılması, C- Ana bileşikler

No	Bileşenler	Uçucu Yağ		Deneysel RI	LRI/MS	Lit.
		Q (%)	% Alanı			
1	Santolina trien	91	0.4	912	909	a
2	Trisiklen	96	0.3	929	927	a
3	α -Pinen	97	2.7	942	939	a
4	Kamfen	94	2.8	956	954	a
5	β -Pinen	97	1.7	980	979	a
6	Mirsen	94	0.9	993	991	a
7	Yomogialkohol	83	0.6	1002	999	a
8	1,8-Sineol	98	10.2	1037	1031	a
9	Artemisia keton	39	18.9	1064	1062	a
10	Artemisia alkol	83	3.9	1085	1084	a
11	<i>cis</i> - β -Terpineol	82	0.1	1142	1144	a
12	<i>P</i> -Dietilbenzen	83	2.1	1153		
13	Kamfor	98	13.7	1149	1146	a
14	Pinokarvon	93	3.7	1164	1165	a
15	Terpinen-4-ol	96	2.2	1182	1177	a
16	1-Metilen-2-vinilsiklopentan	70	2.3	1213		a
17	<i>trans</i> -Karveol	83	0.4	1217	1217	a
18	Karvon	96	0.1	1246	1243	a
19	Öjenol	95	0.6	1362	1359	a
20	α -Kopaen	99	1.7	1381	1377	a
21	β - Borbonen	98	0.1	1389	1388	a
22	<i>Z</i> -Jasmon	99	0.2	1397	1393	a
23	<i>E</i> -Karyofilen	99	1.7	1421	1419	a
24	α -Humulen	98	0.2	1457	1455	a
25	<i>E</i> - β -Farnesen	97	0.6	1456	1457	a
26	Germakren D	91	0.5	1482	1485	a
27	β -Selinen	99	5.8	1496	1490	a
28	Δ -Kadinen	98	0.2	1526	1523	a
29	Bornil anjelat	94	0.9	1564	1566	a
30	Karyofillen oksit	93	4.5	1584	1583	a
31	6,10,14-Trimetil-2-pentadekanon	99	0.2	1849	1846	b
32	n-Eikosan	98	0.1	2100	2100	a
33	Pentakosan	98	0.1	2500	2500	a
	TOPLAM		84.4			

Tablo 10'un devamı

B)

Bileşenlerin Sınıfları	% Alanı	Bileşiklerin Sayısı
Monoterpenler	8.8	6
Monoterpenoidler	54.4	11
Seskiterpenler	11.1	9
Seskiterpenoidler	5.6	3
Diterpen	-	-
Diterpenoidler	-	-
Diğerleri	4.5	4
TOPLAM	84.4	33

C)

Bileşik Sınıfı	Ana Bileşik	% Alanı	RI
Monoterpen	Artemisia keton [*]	18.9	
	1,8-Sineol	10.2	956
Monoterpenoid	Kamfor	13.7	1149
Seskiterpen	β -Selinen	5.8	1496
Seskiterpenoid	Karyofillen oksit	4.5	1584
Diterpen	-	-	-
Diterpenoid	-	-	-
Diğerleri	1-Metilen-2-vinilsiklopentan	2.3	1213

Literatür; a) Adams, R. P (2004) b) Yaylı vd., (2005)

Kısaltmalar; RI; Refraktif Endeksi, LRI; Literatürden refraktif Endeksi Q: Kalite, ^{*}İrregular monoterpen

Tablo 11. *Laser trilobum* uçucu yağının; A- kimyasal kompozisyonu, B- Bileşenlerin sınıflandırılması, C- Ana bileşikler

A)

No	Bileşenler	Uçucu Yağ		Deneysel RI	LRI/MS	Lit.
		Q (%)	% Alanı			
1	Limonen	96	2.0	1029	1029	a
2	Artemisia keton	83	0.7	1064	1062	a
3	Linalool	90	0.6	1104	1097	a
4	Kamfor	96	0.3	1149	1146	a
5	Pinokarvon	96	0.1	1164	1165	a
6	Metal kavikol	90	1.0	1199	1196	
7	Peril aldehit	96	73.0	1274	1272	a
8	Peril alkol	99	7.6	1296	1295	a
9	<i>E</i> -Karyofillen	99	7.6	1421	1419	a
10	α -Humulen	99	0.6	1457	1455	a
11	<i>E</i> - β -Farnesen	96	0.1	1456	1457	a
12	Germakren D	99	0.1	1482	1485	a
13	Miristisin	98	0.2	1520	1519	a
14	Karyofillen oksit	99	2.1	1584	1583	a
15	Fitol	90	0.8	1947	1943	a
16	Neofitadien	98	0.2	2219	2218	a
17	Trikosan	95	0.1	2300	2300	a
18	Abietal	99	0.1	2317	2314	a
19	Pentakosan	97	0.2	2500	2500	a
20	Hekzakosan	96	0.2	2600	2600	a
TOPLAM			97.6			

B)

Bileşenlerin Sınıfları	% Alanı	Bileşiklerin Sayısı
Monoterpenler	2.0	1
Monoterpenoidler	83.3	7
Seskiterpenler	8.4	4
Seskiterpenoidler	2.1	1
Diterpen	0.2	1
Diterpenoidler	0.9	2
Diğerleri	0.7	4
TOPLAM	97.6	20

Tablo 11'in devamı

C)

Bileşik Sınıfı	Ana Bileşik	% Alanı	RI
Monoterpen	Limonen	2.0	1029
Monoterpenoid	Peril aldehit	73.0	1274
Seskiterpen	<i>E</i> -Karyofillen	7.6	1421
Seskiterpenoid	Karyofillen oksit	2.1	1584
Diterpen	Neofitadien	0.2	2219
Diterpenoid	-	-	-
Diğerleri	Miristisin	0.2	1520

Literatür; a) Adams, R. P (2004) b) Yaylı vd., (2005)

Kısaltmalar; RI; Refraktif Endeksi, LRI; Literatürden refraktif Endeksi, Q; Kalite

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, *Matricaria matricarioides* ve *Artemisia annua* (Asteraceae) ve *Laser trilobum* (Umbelliferae) bitkilerinden elde edilen özütler ve uçucu yağlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırıldı. Ancak son anılan bitki türünden elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi sadece bir ön araştırma ile kalmıştır. Uçucu yağların GK-KS ve GK-AİD analizleri yoluyla kimyasal kompozisyonlarının saptanması da bu çalışma kapsamındadır.

Çalışılan bitkilerden sadece *M. matricarioides* özüt ve uçucu yağlarının yukarıda anılan biyolojik aktivitelerine dair herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle adı geçen bitki türünün uçucu yağları ile özütlerinin antioksidan, antimikrobiyal aktiviteleri ve bu aktiviteden sorumlu kimyasalların nitel analizleri bu konuda yapılan orijinal bir araştırma konusu olarak sunulmuştur. *A. annua* ve *L. trilobum*'dan elde edilen sonuçlar bu bitkilerle yapılan ve literatürde yer alan bilgilerle karşılaştırılabilir düzeydedir. Aktivite sonuçlarını tartışmadan önce, konu itibarıyla, içerikleri ayrıntılı olarak tartışılan uçucu yağların değerlendirilmesine öncelik verilmiştir. Özellikle kimyasal bileşenler, uçucu yağların biyolojik aktiviteleri üzerinde çok önemli etmenlerdir.

Uçucu yağlar genellikle bitkilerin odunsu olmayan kısımlarının distilasyonu (su veya buhar distilasyonu) ile elde edilir. Bitki türüne bakılmaksızın elde edilen uçucu yağda çok sayıda kimyasal bileşik bulunur. Bu bileşikler; terpenler (mono-, seski- ve az da olsa diterpenler), alifatik hidrokarbonlar, asitler, alkoller, aldehitler ve laktonlar başlıkları altında sınıflandırılırlar.

Literatürlerden elde edilen bilgiler değerlendirildiğinde, aynı türe ait uçucu yağların içeriğinde bile az veya çok farklılık olduğu göze çarpar. Aynı bitki türünden elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonundaki farklılıklar; bitkinin genetik yapısına, uçucu yağın elde edildiği materyale (kök, çiçek, yaprak, meyve vb.) ve çevresel etmenlerin değişimine (yükseklik, sıcaklık, toprak yapısı, nem, toplama zamanı v.b.) bağlanabilmektedir. Bitkilerin *ekotip* ve *kemotip* olarak adlandırılan ve bitkilerin habitatlarına göre değişiklik gösteren formları, uçucu yağlardaki kompozisyon farklılığına dayanabilir. Ayrıca çalışma koşulları ve yöntem de uçucu yağlarla yapılan araştırmalarda önemli parametrelerdir (Perry vd., 1999; Karaman vd., 2001). Bu parametreler, bu çalışmada değerlendirilen ve bu kısımda tartışılan bitkilerin uçucu yağları için de

geçerlidir. Uçucu yağın kompozisyonundaki değişimler, kaçınılmaz olarak, biyoaktivitelerine de yansımaktadır (Sökmen vd., 2004).

Matricaria cinsine ait türlerin uçucu yağlarının kimyasal içeriklerine ait çok sayıda çalışma literatürde mevcuttur. Ancak *M. matricarioides* uçucu yağı ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Örneğin Estonya florası bitkisi *M. discoidea* DC. [*M. matricarioides*] uçucu yağının ana bileşenleri geranil izovalerat (% 34.9) ve *E-β*-farnesen ve herniarin'dir (Arak vd., 1988). Yine aynı florada yetişen bu bitki türünün uçucu yağı ile ilgili bir başka araştırmada da mirsen, limonen, geranil izovalerat ve *E-β*-farnesen ana bileşenler olduğu, uçucu yağ bileşiminin büyük ölçüde bitkinin taze veya kuru olarak değerlendirilmesine göre değiştiği ve özellikle farnesen ve mirsen'in miktarlarının önemli oranda değiştiği bildirilmiştir (Orav vd., 1996).

Mevcut çalışma kapsamında değerlendirilen *M. matricarioides* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ verimi % 0.7 (h/a) olup, bileşimindeki 15 bileşik tanımlanmıştır. Ancak uçucunun yağın % 22.4' ünü temsil eden iki bileşiğin (% 19.3 ve % 3.1) yapısı belirlenememiştir. Tanımlanabilen bileşikler arasında geranil valerat (% 34.9) ve *E-β*-farnesen uçucu yağının asıl ana bileşenleridir. Buradaki bulgular daha önce yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir (Arak vd., 1988).

Mevcut çalışmanın diğer Asteraceae türü *A. annua*'nın uçucu yağ içeriğine dair literatürde daha ayrıntılı bilgiler mevcuttur. Bu bitkinin çiçeklenme öncesi ve çiçeklenme döneminde uçucu yağ içerikleri araştırılmış ve çiçeklenme döneminde germakren D (% 21.2), kamfor (% 17.6), *β*-farnesen (% 10.2), *β*-karyofillen (% 9) ve bisiklogermakren'in (% 4.2) ana bileşenler olduğu bulunmuştur (Bilia vd., 2008). İran florasından, çiçeklenme döneminde toplanan bitkinin toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri ise kamfor (% 48.0), 1,8-sineol (% 9.39), kamfen (% 6.98) ve spathulenol'dür (% 4.89) (Verdian-Rizi vd., 2008). Yine İran'da kültürü yapılan *A. annua*'nın farklı gelişme safhalarında toplanan örneklerden, çiçeklenme dönemine ait olandan % 1.23 (v/w) uçucu yağ elde edilmiş ve sırasıyla kamfor, 1,8-sineol, kamfen (% 6.98), spathulenol, alfa-pinen ve artemisia keton'un ana bileşenler olduğu gözlemlenmiştir (Mohammadreza, 2008). Son olarak kurutma sıcaklığının uçucu yağ profiline etkisine dair bir araştırmada artan sıcaklıkla ters orantılı olarak uçucu yağ veriminde düşüş gözlenmiş, oda sıcaklığında kurutma işlemi sonucu elde edilen uçucu yağda artemisia keton ve 1,8-sineol'ün ana bileşenler olduğu saptanmıştır (Khangholil ve Rezaeinodehi, 2008). Mevcut çalışma kapsamında değerlendirilen *A. annua* uçucu yağının kimyasal profili bu son

araştırmayla benzerlik göstermektedir. Uçucu yağın ana bileşenleri artemisia keton (% 18.9), kamfor (% 13.7). ve 1,8-sineol'dür (% 10.2). Uçucu yağın ana bileşenleri monoterepenoidler olup, örneğin % 54.4'ünü teşkil etmektedir. Bu sonuç yukarıda anılan literatür verilerinin tümüyle uyum içerisinde (Khangholil ve Rezaeinodehi, 2008).

Literatürde *L. trilobum* bitkisinden elde edilen uçucu yağların kimyasal profili hakkında bazı veriler bulunmaktadır. Ancak bu veriler bu bitkinin meyve ve/veya rizomlarından elde edilen bulgulara dayanmaktadır. Bu bitki meyvelerinden elde edilen uçucu yağ bileşenlerine dair ilk araştırmada 22 bileşiğin yapısı tanımlanmış ve ana bileşenlerin limonen (% 60.70) ve peril aldehit (% 32.3) olduğu belirlenmiştir (Akgül, 1992). Yine o dönemde yapılan bir başka araştırmada aynı bileşiklerin meyve kökenli uçucu yağın ana bileşenleri olduğu, ancak miktarlarının meyvenin su distilasyonundan önceki durumuna göre değişkenlik gösterdiği ve sonuçta bu bitkinin meyvesinden iki tip uçucu yağ elde edilebileceği öne sürülmüştür (Başer vd., 1993). Bu bitkinin rizomu ve olgun meyvelerinin ayrı olarak değerlendirildiği güncel bir araştırma sonuçları da bu bulguları doğrular niteliktedir. Araştırma sonucunda bitkinin olgun meyvelerinde % 6.9 (h/a) uçucu yağ elde edilmiş ve örnekte limonen (% 51.6) ve peril aldehit'in (% 26.8) iki ana bileşen olduğu bildirilmiştir (Petroviç vd., 2008).

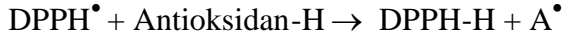
Bu çalışmada değerlendirilen *L. trilobum* bitkisinin yaprak ve çiçek karışımından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ verimi % 1.2 (h/a) olup, ana bileşen peril aldehittir (% 73.0). Diğer önemli bileşenler peril alkol ve *E*-karyofillen' dir. Her iki bileşik de uçucu yağda % 7.6 oranında bulunmaktadır. Limonen de uçucu yağ bileşiminde bulunmakla beraber, sadece % 2.0 oranındadır. Sonuçlar, bu bitkinin uçucu yağları ile yapılan daha önceki çalışmalara paralellik göstermektedir.

In vitro antioksidan aktivitenin belirlenmesinde genellikle ilgili tepkimelerle serbest radikaller oluşturulur. Antioksidan özelliğe sahip bileşenlerin bu radikalleri temizleme veya inhibisyon (engelleme) kapasitesi belirlenir. Çeşitli materyaller içinde antioksidan bileşenlerin varlığını kalitatif ve kantitatif olarak gösteren pek çok yöntem mevcuttur. Bu tür testlerin yapılmasında uygulanmak üzere yeni yöntemler de geliştirilmiştir.

Son zamanlarda toplam antioksidan aktiviteyi belirlemede önerilen yöntemler, karşılaştırmalı bir çalışmayla rapor edilmiştir (Koleva vd., 2002; Ou vd., 2002). Bu yöntemler arasında toplam antioksidan aktivite için, örneklerin polaritesinden tamamen bağımsız olan DPPH yöntemi (Burits ve Bucar, 2000; Burits vd., 2001; Koleva vd., 2002)

ve β -karoten renk açılımı yöntemi (Dapkevicious vd., 1998; Koleva vd., 2002) bitki özütlerinin anlamlı şekilde değerlendirilmesinde önerilmektedirler.

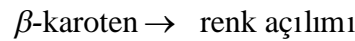
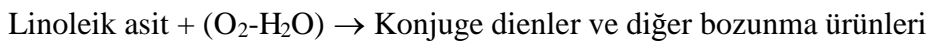
Kararlı organik radikal 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH[•]) tekli bileşenler, bitki özütleri ve yiyecek maddeleri antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Koleva vd., 2002). Yöntem, DPPH[•]'in alkolde hazırlanan çözeltilerinin bir hidrojen verici antioksidan madde varlığında radikal olmayan DPPH-H' a dönüşümünün spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. DPPH[•]'nin 517 nm'deki soğurum pikinin şiddetindeki azalmayla orantılı olacak şekilde antioksidan aktivitenin varlığı nitel ve nicel olarak belirlenir. Tepkime mekanizması aşağıdaki gibidir:



Belirli bir inkübasyon süresinden sonra kalan DPPH[•] derişimi spektrofotometrik olarak ölçülür. DPPH radikalinin rengindeki açılma antioksidan maddenin radikal temizleme aktivitesi olarak gösterilir. Yöntem hızlıdır, 30 dakikalık analiz süresi ve insan gücü açısından kolay çok özel cihaz ve reaktifler gerektirmediğinden dolayı da tercih edilir.

Literatürde antioksidan aktivitelerin belirlenmesinde birden fazla yöntemin uygulanması gerekliliği belirtilmektedir. β -karoten/linoleik asit renk açılımı yöntemi, önerilen diğer yöntemler arasındadır. Bu nedenle, karşılaştırma olarak bu yöntem seçilmiştir (Koleva vd., 2002).

β -Karoten/linoleik asit renk açılımı yöntemin de linoleik asit ve oksijenle doymuş sulu ortamda linoleik asitin oksidasyonu sonucu oluşan konjuge dienler ve diğer uçucu bozunma ürünlerinin β -karotenin rengini açması temeline dayanır. Antioksidan maddenin varlığında bu tepkimenin oluşumu engellendiğinden veya oluşan bozunma ürünleri (oluşan ROT) antioksidan tür tarafından temizlendiğinden β -karotenin alkol içindeki çözeltilisinin sarı rengi değişmeden kalacaktır.



Pek çok yöntem uygulanmakla beraber farklı polaritede örneklerle çalışıldığında çeşitli sınırlamalar ortaya çıkmaktadır. Örneğin sulu ortamda çözünmeme bu sınırlamalar içinde en önemlisidir. Bu nedenle hem β -karoten/linoleik asit yöntemi hem de DPPH yönteminde, alkollü çözeltilerle çalışıldığından çözünmeyle ilgili sorunlar ortadan kalkmıştır.

Bitki özütlerinin antioksidan aktiviteleri (Rakotoarisan vd., 1997; Pietta vd., 1998; Kahkonen vd., 1999; Parejo vd., 2003) ve bitki polifenol bileşiklerinin farklı grupları, flavonoidler (Habtemariam, 1997; Vitor vd., 2004), tanenler (Halsam, 1966; Yakozawa vd., 1998), proantosyanidinler (Plumb vd., 1998) ve fenolik asitler (Rice-Evens vd., 1977) hakkında literatürde pek çok çalışma bulunmaktadır. BHT gibi sentetik antioksidan bileşiklerin toksik zararlarının olduğu uzun süredir bilinmektedir (Chung vd., 2005). Bu açıdan bakıldığında bitki polifenollerini büyük önem taşır. Özellikle doğal polifenoller serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi için ideal bir yapıya sahiptirler. Bu maddelerin etkileri, vitamin A ve E gibi bilinen antioksidanların etkilerini baskılar (Rice-Evens vd., 1977). Eğer bir elektron veren grup varsa, özellikle *o*- konumu üzerine yerleşmiş olan bir hidroksil grubu ya da fenolik bileşiklerin *p*- pozisyonuna sahip olan bileşikler antioksidan aktiviteyi artırır (Weng, 1993; Duan vd., 1998). Çalışma kapsamında hazırlanan bitki özütlerinin ana bileşenleri fenolik bileşiklerdir ve oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahiptirler. Zira yapılarında bulunan fenolik bileşiklerin, oksidasyon zincir reaksiyonlarını engellemek için aktif haldeki serbest radikallere hidrojen atomları vermesi daha kolaydır (Weng ve Wang, 2000). Bu fikir ayrıca Gu ve Weng (2001) tarafından da rapor edilmiştir.

DPPH yöntemiyle çalışılan bitkilerde diğer özütlerle karşı su özütlerinin serbest radikal temizleme yeteneklerinin yüksek olduğu gözlenmiştir (*A. annua*'nın kloroform özütü 0,4 mg/ml lik derişime karşı % 65 sabit inhibisyon değeri ile buna istisna teşkil etmektedir). Bundan dolayı da su özütleri için % 50 inhibisyonu sağlayan derişimler (IC₅₀) hesaplandığında bitkiler içerisinde en yüksek aktivitenin 17 μ g/ml IC₅₀ ile *A. annua* olduğu gözlenmiştir.

Artemisia annua bitkisi uçucu yağının antioksidan aktivitesiyle ilgili olarak bir çalışma literatürde mevcuttur (Jeteau vd., 2002) ancak aktiviteyle ilgili olarak detay verilmemiştir. *A. scoparia* uçucu yağının antioksidan aktivitesiyle ilgili olarak çok yeni bir çalışma literatürde yayınlanmıştır (Singh vd., 2009). Bu çalışmada diğer *Artemisia* türlerinin uçucu yağlarının antioksidan aktivite sonuçları da rapor edilmiş, *A. scoparia* için DPPH yönteminde 146,3; deoksiriboz yönteminde 145,2 ve hidrojen peroksit yönteminde

de 270,1 µg/ml IC₅₀ değerleri bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen bulgular dikkate alındığında *A. annua*'nın uçucu yağının çok daha düşük aktivite gösterdiği açıktır. Ancak polar bileşenlerin özütlendiği sulu fazın aktivitesi çok yüksektir. Bunun daha çok suda çözünen fenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Han ve arkadaşları (2007) tarafından *A. annua* özütlerinden bir flavonoid olan kastizin izole edilmiş ve bu türün yüksek antitümoral ve antioksidan özelliklere sahip olduğu rapor edilmiştir (Hadju vd., 2007). Dolayısıyla bu tez kapsamında çalışılan *A. annua* türünün su özütlerinde gözlenen aktivite kastizin veya benzeri bir kimyasaldan kaynaklanıyor olabilir. Bu çalışmanın devamı olarak özütün izolasyonu ve yapı aydınlatması yapılarak aktif bileşen veya bileşenler tanımlanabilir.

Diğer taraftan *M. matricarioides* ile ilgili herhangi bir literatür verisine ulaşamamıştır. *L. trilobum* rizomunda elde edilen uçucu yağ güçlü anti-DPPH etkisi de rapor edilmekle beraber (Petroviç vd., 2008), materyal (rizom), uçucu yağ içeriği tamamen farklıdır ve burada sunulan verilerle karşılaştırmak mümkün değildir.

β -Karoten/linoleik asit renk açılım yönteminde çalışılan hemen tüm özütler orta ve yüksek düzeyde aktivite gösterdi. Bu yöntemde DPPH yönteminin aksine özellikle hekzan ve kloroform özütlerinde yüksek aktiviteler elde edildi. Çalışılan bitki özütlerinin içinde en yüksek aktivite (BHT'ye eşdeğer) *L. trilobum*'un kloroform özütünde saptandı. Tez kapsamında yer alan bitkilerin antioksidan aktiviteleri ile ilgili literatür β -karoten/linoleik asit renk açılım yöntemine rastlanmadığından, çalışmamızın bu boyutunda elde edilen bulgular yeni ve ilgi çekici sonuçlar olarak görülebilir.

Bitki özüt ve uçucu yağlarının antimikrobiyal (bu çalışma için antibakteriyal ve antikandidal) aktivitelerinin araştırılmasında genel olarak öncelikle nitel bir test, yani agar kuyucuk difüzyon (agar-well diffusion) ve/veya disk difüzyon testleri uygulanır. Bu çalışmada da özütler için birinci, uçucu yağlar için ikinci yöntem izlendi. Ancak bu testler antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde nicel değer taşımaz ve bu nedenle ya minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) ya da minimum broth derişimi (MBC) yöntemlerine başvurulur. Böylelikle 1. basamakta kabaca aktivite gösteren örneğin nicel anlamda derişimi ve antibiyotiklerle kıyaslanabilir değerleri 2. aşamadaki MİK ya da MBC yöntemleriyle netleşir. Bu çalışmada aktivite gösteren örneklerin MİK değerleri saptanmıştır.

Literatürde *M. matricarioides* özüt ve/veya uçucu yağlarının antimikrobiyal (antibakteriyal ve antikandidal) aktivitelerine dair ayrıntılı bir çalışmaya rastlanamamıştır.

Oysa mayıs papatyası olarak bilinen *M. chamomilla* (*Chamomilla recutita*) başta olmak üzere diğer *Matricaria* türlerinin özüt veya uçucu yağlarının dikkat çekici antimikrobiyal aktivitelerinden söz edilmektedir. Örneğin *M. chamomilla* uçucu yağının antistreptokok ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiş ve düşük derişimli uçucu yağın antistreptokokkal ve antioksidatif ajan olarak kullanılabilirliği tartışmaya açılmıştır (Owlia vd., 2007). Yine bu bitki türünün uçucu yağının *Helicobacter pylori*'ye karşı antibakteriyal aktivite gösterdiği rapor edilmiş, ancak aktif bileşen(ler) hakkında herhangi bir bilgi verilmemiştir (Shikov vd., 2008). Mayıs papatyası çayı olarak piyasada satılan çayın orta derecede antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (McKay ve Blumberg, 2006). Su ve etanol özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi de bir başka raporda belirtilmiştir (Cho vd., 2005). Özütlerin susuz tereyağının raf ömrünün uzatılmasında potansiyel olarak yararlanılabileceği öne sürülmüştür (Al-İsmail ve Aburjal, 2003).

Asteraceae familyasına ait diğer tür, *A. annua*'nın özüt ve uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerine ayrıntılı olarak çalışılmıştır (Juteau vd., 2002, Brisibe vd., 2009). Ayrıca sekonder metabolitlerinin çok çeşitli biyolojik aktiviteleri de ayrıntılı olarak bir derlemede sunulmuştur (Bhakuni vd., 2001). Buna göre *A. annua* bitkisinin antimikrobiyal aktiviteden sorumlu etken maddesi artemisinin'dir. Bu madde aynı zamanda sıtmaya karşı (antimalaryal) tedavide ve antitumoral ajan olarak çeşitli kanser türlerine karşı potansiyel değeri olan ve bu nedenle sağlık ve ekonomik açıdan değerli bir doğal üründür. Bu bitkinin İran florasında yetişen türlerinden elde edilen uçucu yağın gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı dikkate değer antibakteriyal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Verdian-Rizi vd., 2008). Bu çalışmada elde edilen ve Tablo 6' da sunulan MİK değerleri (Bölüm 3.2.2), söz konusu literatür verilerinden daha yüksektir. Bu olgunun, çalışmamızda kullanılan test mikroorganizmalarının daha duyarlı olduğu söylenebilir.

L. trilobum bitki özütleriyle yapılan ilk araştırmalar bu türün özütlerinin besinlerde kontaminasyonu önleyebileceğini (Akgül, 1989) ve köfte doğal mikroflorasında yer alan bakteri ve mantarların büyümesini engellediğini öne sürmektedir (Akgül, 1991). Rizom ve olgun meyvelerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal özellikleri gösterilmiş, rizom'dan elde edilen yağın meyvelerden elde edilene göre biraz daha güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Petroviç vd, 2008). Benzer şekilde farklı kaynaklardan sağlanan meyvelerden elde edilen alkol özütlerinin antimikrobiyal aktivite gösterdiği, buna karşın uçucu yağın kayda değer bir aktivite göstermediği

belirtilmiştir (Parlatan vd., 2008). Bu aktivitede elbette uçucu yağın kimyasal bileşimi etkili olmaktadır. Zira rizomdan elde edilen örneğin ana bileşenleri α -pinen, γ -terpinen, p -simen ve 1,4-dimetil azulen'dir. Son anılan bileşik hariç, diğer kimyasalların tek başına veya sinerjistik antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir (Sökmen vd., 2004). Oysa meyve uçucu yağının ana bileşenleri limonen ve peril aldehittir.

Çalışmamızda *L. trilobum* uçucu yağı ile sadece bir ön çalışma yapılabildi ve kayda değer bir aktivite saptanmadı. Bir ön çalışmadan ibaret olsa da, bu bulgu diğer bir çalışma ile paralellik göstermektedir (Parlatan vd., 2008).

Bölüm 3'de sunulan veriler değerlendirildiğinde, non-polar özütlerin (Hek ve KLO), polar (su) özütlerden daha güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülür. Shale ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan bir çalışmada hekzan ve metanol özütlerinin, suda çözünen özütlere göre daha yüksek antimikrobiyal aktiviteler gösterdiği belirtilmiştir. Antimikrobiyal ajanların canlı hücrelerde aktivite gösterebilmeleri için hücre içine alınmaları gerektiği bilinmektedir. Hücre zarının yapısı dikkate alındığında, yağda çözünebilen bileşikler zardan daha kolay geçebilecek ve hücre içine alınmaları daha kolay olacaktır (Özban, 1994). Uçucu yağların ve bu yağların monoterpen içeriklerinin mikroorganizma membran yapısı üzerindeki etki mekanizmasını aydınlatmak için yapılan araştırmalar, yağların lipofilik karakterlerinden dolayı hücre membranlarından kolaylıkla geçebildiğini ve membrana bağlı enzimleri inhibe ettiğini ortaya koymuştur (Andrews vd., 1980; Uribe vd., 1985).

Antimikrobiyal aktivite verileri, aynı zamanda, tüm özütlerin aktivite profilindeki benzerlikleri ortaya koymaktadır. Bu verilere göre bütün mikroorganizmalar arasında *B. catarrhalis* (gram-negatif) en yüksek duyarlılığı gösteren bakteridir. Bunu *P. aeruginosa* izlemektedir. Gram pozitif bakterilerde de duyarlılık gözlenmiş, bunlar içerisinde en duyarlı olan ise *S. epidermidis*'dir. Antimikrobiyal aktivite test sonuçları, bitkisel kökenli antimikrobiyal ajanlara karşı gram-pozitif bakterilerin gram-negatif bakterilerden daha dirençli olduğunu gösterir. Mikroorganizmaların gram boyanma özelliklerinin, antimikrobiyal ajanlara karşı geliştirdikleri dirençlilik ile yakından ilgili olduğuna dair değişik görüşler mevcuttur. Zaika'ya (1998) göre gram-pozitif bakteriler, uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerine karşı gram-negatif bakterilerden daha dirençli iken, yapılan başka bir çalışmada (Deans ve Ritchie 1987; Deans vd., 1995) gram faktörünün inhibisyon üzerinde daha az etkiye sahip olduğu belirtilmektedir.

Ancak bitkisel kökenli bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesine ilişkin diğer araştırmalar bitkisel kökenli antimikrobiyal ajanlara karşı gram-negatif bakterilerin gram-pozitif bakterilerden daha dirençli olduğunu göstermektedir (Sivropoulou vd., 1996; Aligiannis vd., 2001; Haznedaroğlu vd., 2001; Karaman vd., 2001).

Bu kimyasallar arasında özellikle terpenler gerek biyolojik aktiviteleri ve dolayısı ile terapötik etkileri, gerekse kozmetik/parfümeri ürünleri olarak ayrı bir öneme sahiptir (Dorman ve Deans, 2000). Uçucu yağlardaki antimikrobiyal aktiviteden büyük ölçüde terpenlerin sorumlu olduğunu, yapılan birçok çalışma ortaya koymuştur (Sivropoulou vd., 1996; Aligiannis vd., 2001; Karaman vd., 2001; Tzakou vd., 2001).

Çalışma kapsamında bulunan üç bitki türünden sadece *L. trilobum* uçucu yağı ile bir ön çalışma yapılabilmiş ve ön bulgulara göre kayda değer bir aktivite saptanamamıştır. Uçucu yağlar diğer özütlerle karşılaştırıldığında biraz daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu söylenebilir. Şöyle ki, *A. annua* uçucu yağı ile test mikroorganizmaları içerisinde en yüksek duyarlılığı gösteren *B. catarrhalis*'e karşı en yüksek MİK değeri elde edilmiştir (MİK: 0.019 mg/mL).

Uçucu yağlarının GK-KS ve GK-AİD analizleri yoluyla kimyasal kompozisyonlarının saptanması sonucu aktivite ile aktiviteden sorumlu olası bileşikler arasında bağlantı kurulabilir. Zira uçucu yağların bileşenleri, özellikle antimikrobiyal aktivitenin doğası üzerinde belirleyicidir. Bölüm 4.1.'de tartışıldığı gibi, uçucu yağların bileşimi üzerinde çok sayıda parametre etkilidir. Bu bağlamda timol, karvakrol, öjenol (sineol) gibi terpenlerin bulunması ve miktarları antimikrobiyal aktivitede birincil derecede belirleyicidir (Sökmen, 2004). -OH grubunun varlığı, molekül içerisindeki pozisyonu, bileşiklere bağlı bulunan gruplar (örn; asetat grubu), bileşiklerin alkolik özelliklere sahip olma durumları, bileşiklerin elektro negativiteleri gibi bazı faktörlerin de bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesine etki ettiği bilinmektedir (Dorman ve Deans, 2000).

Çok sayıda bitki türünün özüt ve/veya uçucu yağlarının, ya da saf olarak elde edilen kimyasalın antimikrobiyal aktiviteleri literatürde yerini almıştır. Ancak pek çoğundan pratikte yararlanılamamaktadır. Zira; aktivite gösteren kimyasalların kararsızlığı, apolar doğası ve allerjenik/toksik etkileri, bu bileşiklerin ilaç ham maddesi olarak kullanılmasına engel teşkil etmektedir. Yine de doğal ürünlerin daha güvenli oluşu, antibiyotiklere karşı gelişen direnç gibi fenomenler, bitkisel kökenli kimyasalları antimikrobiyal, antioksidan ve diğer tüm biyolojik aktivite ajanları olarak cazip kılmaktadır.

5. SONUÇLAR

1) DPPH yöntemi ile çalışılan tüm su özütleri yüksek oranda serbest radikal temizleme özelliğine sahiptir. Bundan nedenle su özütleri için % 50 inhibisyonu sağlayan derişimler (IC₅₀) hesaplandı ve en yüksek değer *A. annua*'dan elde edilen su (polar) özütünde olduğu gözlemlendi (17 µg/ml). Bitkilerin kloroform özütlerinde ise % 20-27 arasında düşük aktiviteler saptanırken hekzan özütlerinde aktivite gözlenmedi. Ayrıca *M. matricarioides* ve *L. trilobum*'un uçucu yağlarında aktivite gözlenmezken *A. annua*'nın uçucu yağında yüksek aktivite gözlemlendi (0,4 mg/ml derişim-% 65 sabit inhibisyon).

2) β-karoten/linoleik asit renk açılım yöntemi ile çalışılan bitki özütlerinde % BAA değerleri BHT ile karşılaştırıldığında oldukça etkin oldukları gözlemlendi. Özellikle hekzan ve kloroform özütlerinde yüksek aktivite sergiledi. *M. matricarioides* ve *A. annua*'nın tüm özütleri içinde kloroform (% 75,1-% 64,1) ve hekzan (% 60,6-% 69,8) (non-polar faz) özütleri yüksek aktivite gösterdi. Bütün bitki özütleri içinde en yüksek aktiviteyi ise *L. trilobum*'un kloroform özütü (BHT'ye eşdeğer) gösterdi. Diğer bitki özütleri ise orta derecede aktivite gösterdi.

3) *M. matricarioides* bitkisinin hekzan ile hazırlanmış özütünün tüm test mikroorganizmalarına karşı etkili olduğu görüldü. Özellikle antibakteriyal aktivitenin yanı sıra antikandidal etki de gözlemlendi. Genel anlamda He özütünün, CHL ve su özütlerine göre daha aktif olduğu gözlemlendi. Bu özüt en yüksek aktiviteyi 15 mm.'lik bir zon çapı ve akabinde 0.039 mg/mL' lik bir MİK değeri ile *B. catarrhalis* 'e karşı gösterdi.

Bitkinin CHL özütü He özütüne göre daha zayıf antimikrobiyal aktivite gösterdi. *B. catarrhalis* 'e karşı 14 mm zon çapı, 0.078 mg/mL MİK değeri ve *P. aeruginosa* 'ya karşı 0.625 mg/mL MİK değeri ile yüksek aktivite saptandı. CHL özütü diğer bakterilere karşı zayıftır ve sadece *C. glabrata* 'ya karşı ılımlı antikandidal aktivite göstermiştir (MİK: 0.625 mg/mL).

Su özütü ise sadece iki mikroorganizmaya karşı zayıf aktivite gösterdi. Bunlardan sadece *S. epidermidis* 'e karşı aktivite dikkate değerdir (MİK: 0.625 mg/mL).

Su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın % 0.59 (v/w) antimikrobiyal aktiviteleri de orta düzeydedir (ılımlıdır). Ancak burada da *B. catarrhalis* yine bir istisna teşkil etmektedir ve güçlü bir aktivite gözlenmiştir (MİK: 0.156 mg/mL). Diğer tüm test bakterilerine karşı 0.625-1.25 mg/mL aralığında MİK değerleri elde edildi. Uçucu yağ,

diğer taraftan sadece *C. glabrata*'ya karşı orta derecede antikandidal aktivite göstermektedir (MİK: 0.625 mg/mL).

4) *A. annua*'dan elde edilen özütler içerisinde sadece He özütünün antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmektedir. Diğer özütlerin dikkate değer herhangi bir aktivite göstermediği anlaşılmaktadır. Yine burada da en duyarlı mikroorganizma *B. catarrhalis*'tir (MİK: 0.078 mg/mL). He özütü güçlü sayılabilecek antikandidal aktiviteye sahiptir. Özellikle *C. kefyr*'e karşı aktivite yüksektir (MİK: 0.156 mg/mL). Diğer *Candida* türlerine karşı ise biraz daha düşük antikandidal aktivite söz konusudur (MİK: 0.312 mg/mL).

A. annua'dan su distilasyonu yöntemi ile % 0.886 (v/w) oranında uçucu yağ elde edildi. Uçucu yağ, *B. catarrhalis* hariç, genellikle orta derecede antibakteriyal aktivite göstermiştir (MİK: 0.625 mg/mL). Oysa *B. catarrhalis* bu örneğe karşı oldukça duyarlıdır (MİK: 0.019 mg/mL). Bu çalışılan örnekler arasında elde edilen en yüksek MİK değeridir.

Uçucu yağ aynı zamanda güçlü antikandidal aktivite göstermiştir (MİK: 0.312 mg/mL).

5) Çalışılan bitkiler içerisinde He özütünde en az aktivite *L. trilobium* bitki türünden elde edilmiştir. Bu özüt sadece gram-negatif bakterilerden *B. catarrhalis*'e karşı etkilidir (MİK: 0.039 mg/mL). Kloroform (CHL) özütü ise, bu bitkiye mahsus olmak üzere, antikandidal aktivite gösteren tek özüttür ve *C. glabrata*'ya karşı 0.625 mg/mL lik bir MİK değerine ulaşılmıştır. CHL özütü He özütü gibi *B. catarrhalis*'e karşı etkilidir (MİK: 0.039 mg/mL).

L. trilobum'dan elde edilen su özütü, diğer bitkilerden aynı yolla elde edilen özütlerden daha farklı bir antimikrobiyal aktivite profili çizmektedir. Bu özüt diğer polar özütlere göre kayda değer aktivite sergilemiştir. Örneğin *B. catarrhalis*'e karşı aktivite yüksektir (MİK: 0.078 mg/mL). Ayrıca *S. epidermidis*'e karşı orta düzeyde, *S. aureus*'a karşı ise zayıf antibakteriyal aktivite gözlenmiştir. Bu mikroorganizmaların varlığında elde edilen MİK değerleri sırasıyla, 0.625 ve 1.25 mg/mL'dir.

Bu bitkiden elde edilen uçucu yağ stoku antimikrobiyal aktivite ile ilgili çalışmalar için yetersiz kalmıştır. Ancak stokta bulunan örnekle yapılan başlangıç çalışmaları sadece bir kez yapılmış ve kayda değer bir aktivite belirlenmemiştir..

6) *M. matricarioides* uçucu yağının % 22.4'ünü temsil eden iki bileşiğin (% 19.3 ve % 3.1) yapısı belirlenmemiştir bu ana bileşenlerin dışında asıl ana bileşik Geranil valerat (% 34.9) ve *E-β*-Farnesen olarak belirlenmiştir. Uçucu yağın önemli bir kısmını

seskiterpenoidler (% 36.6) (C_{15}) ve seskiterpenler (% 23.8) oluşturmaktadır. Diğer terpenlerin içeriği nispeten daha düşüktür.

7) *A. annua* uçucu yağının ana bileşikleri sırasıyla artemisia keton (% 18.9), kamfor (% 13.7) ve 1,8-sineol'dür (% 10.2). Uçucu yağın ana bileşenleri monoterepenoidler olup, örneğin % 54.4'ünü teşkil etmektedir. Seskiterpenler de yapıda % 11.1 oranında temsil edilirken, monoterepenlerin oranı % 8.8'dir.

8) *L. trilobum*'un uçucu yağının ana bileşeni peril aldehittir (% 73.0). Diğer önemli bileşenler peril alkol ve *E*-Karyofillen' dir. Her iki bileşik de uçucu yağda % 7.6 oranında bulunmaktadır. *L. trilobum*'un uçucu yağında peril aldehitten dolayı monoterepenoidler baskındır.

6. ÖNERİLER

Bitkisel kökenli doğal ürünlerin başta ilaç sanayi olmak üzere gıda, kozmetik ve parfümeri, kimya ve zirai mücadele alanlarında kullanılması yönünde giderek artan bir eğilim söz konusudur. Elbette bu ürünlerin “doğal” oluşu ve sentetik ürünler üzerinde gün geçtikçe artan soru işaretleri bu ürünlere ilgiyi giderek artırmakta ve son yıllarda bu yönde yapılan çalışmalara ivme kazandırmaktadır. Bu çalışmalardan elde edilen ümit vaat edici sonuçlar, bitkisel kimyasalların gelecekte kullanılması muhtemel aday bileşenler olmalarını mümkün kılmaktadır.

Türkiye coğrafi, kültürel ve floristik zenginliği olan bir ülkedir. Ülkemiz florasında yetişen bitkilerin bu bağlamda değerlendirilmesi büyük önem taşır. Bu bağlamda, çalışma kapsamında yer alan bitkiler gibi ülkemiz florasında doğal olarak yetişen türlerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, bu bitkilerin radikal önleyici ve/veya temizleyici etkilerinin gıda sektöründe ve halk sağlığı anlamında değerlendirmesi önem taşımaktadır. Antioksidan aktivite testlerinde DPPH yöntemi bitki özütlerinin serbest radikal temizleme etkinliğinin bir ölçüsü iken β -karoten/linoleik asit yöntemi oksidasyonu inhibe etme yeteneğini gösterir. Bu çalışmada değerlendirilen bitkilerin özellikle polar özütlerinin, antioksidan aktiviteleri oldukça yüksektir. Doğada bol olarak yetişen bu türlerin üretimi ve hammadde amaçlı kullanımı düşünülebilir. Ancak aktiviteden sorumlu bileşik(lerin) doğasının belirlenmesi, bundan sonraki çalışmalar için bir hedef olabilir.

Bitkisel özüt ve/veya uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri de özellikle ilaç ham maddesi ve kozmetik sektörlerinde büyük önem taşır. Bu kimyasalların da, yukarıda değinildiği gibi, aktiviteden sorumlu bileşiklerinin saptanması ve etki mekanizmalarının aydınlatılması bundan sonra yapılacak araştırmalarla mümkün olacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Abbasoğlu, U., Tosun, F. ve Aydınoglu, A., 1995. Antimicrobial activity of *Gonocytisus angulatus* (L.) Spach. FABAD, Journal of Pharmaceutical Sciences, 20, 125-127.
- Adams, R. P., 2004. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured, Carol Stream, IL, USA.
- Akgül, A., 1989. A new spice from Turkey-*Laser trilobum* (L) BORKH. 1. Inhibitory effect on food-contaminating microorganism. Acta alimentaria, 18, 1, 65-69.
- Akgül, A., 1991. Effect of *Laser trilobum* spice on natural microflora of kofte, a Turkish ground meat product. Nahrung-Food, 35, 2, 149-154.
- Akgül, A., 1992. The essential oil composition of Turkish *Laser trilobum* (L.) Borkh. fruits. Journal of Essential Oil Research, 4, 1, 89-90.
- Al-Howiriny, T. A., 2003. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Salvia lanigera*. Pakistan Journal of Biological-Sciences, 6, 2, 133-135.
- Al-Ismail, K. M. ve Aburjai, t., 2003. A study of the effect of water and alcohol extracts of some plants as antioxidants and antimicrobial on long-term storage of anhydrous butter fat. Dirasat. Agricultural Sciences, 30, 3, 330-337.
- Alice, C. B., Vargas, V. M. F. C., Silva, G. A. A. B., De Siqueira, N. C. S., Schapoval, E. E. S., Gleye, J., Henriques, J. A. P. ve Henriques, A. T., 1991. Screening of plants used in south Brazilian folk medicine. J. Ethnopharmacology, 35, 165-171.
- AliGiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S. ve Chinou, I. B., 2001. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* Species. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49, 4168-4170.
- Alves, T. M. A., Silva, A. F. ve Brandão, M., et al., 2000. Biological screening of Brazilian medicinal plants. Mem Inst Oswaldo Cruz., Rio de Janeiro, 95, 367-373.
- Andrews, R. E., Parks, L. W. ve Spence, K. D., 1980. Some effects of Douglas fir terpenes on certain microorganisms. Applied and Environmental Microbiology, 40, 301-304.
- Arak, E., Kh., A. É., Raal, A. E., Pekhk, T. I., U., Yu. ve Myaéorg, U. Y., 1988. Components of *Matricaria discoidea* — Geranyl isovalerate, trans- β -farnesene, and herniarin. Chemistry of Natural Compounds, 24, 86, 684-685.

- Bammi, J., Khelifa, R. ve Remmal, A., et., al., 1997. Etudes de I activite antivirale de quelques huiles essentielles, In Proceedings of the intern, Congr. Arom. Medicinal Plants & Essential Oils, Benjilali B., Ettalibi M., İsmaili-Alaoui M., Zrira S, Eds, Actes Editions, Rabat, Morocco, 502.
- Baser, K. H. C., Ozek, T. ve Kirimer, N., 1993. The essential oil of *Laser trilobum* fruit of Turkish origin. Journal of Essential Oil Research, 5, 4, 365-369.
- Baytop, T. ve Başer, K. H. C., 1995. On Essential Oils and Aromatic Waters Used as Medicine in İstanbul Between 17 th. and 19 th. Centuries-Başer, K. H. C., Ed, Flavours Fragrances and Essential Oils-Proceedings of the 13 th. International Congres of Flavours, Fragrances and Essential Oils, Ocak, İstanbul.
- Baytop, T., 1997. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Türk Dil Kurumu Yayınları, Ankara, 512.
- Baytop, T., 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi Geçmişten Bugüne, Nobel Tıp Basımevi, İstanbul-Türkiye, 480.
- Bhakuni, R. S., Jain, D. C., Sharma, R. P. ve Kumar, S., 2001. Secondary metabolites of *Artemisia annua* and their biological activity. Current Sci., 80, 1, 35-48.
- Bilia, A. R., Flamini, G., Morgenni, F., Isacchi, B. ve Vincieri, F. F., 2008. GC MS Analysis of the Volatile Constituents of Essential Oil and Aromatic Waters of *Artemisia annua* L. at Different Developmental Stages. Natural Product Communications, 3, 12, 2075-2078.
- Brisibe, E. A., Umoren, E., Brisibe, F., Pedro, M. Magalhães, P. M., Ferreira , J. F. S., Luthria, D., Wu, X. ve Prior, R. L., 2009. Nutritional characterisation and antioxidant capacity of different tissues of *Artemisia annua* L., Food Chem., 115, 1240-1246
- Burits, M. ve Bucar, F., 2000. Antioxidant Activity of *Nigella sativa* Essential Oil, Phytother. Res., 14, 323-328.
- Burits, M., Asres, K. ve Bucar, F., 2001. The Antioxidant Activity of the Essential Oils of *Artemisia afra*, *Artemisia abyssinica* and *Juniperus procera*. Phytother. Res., 15, 103–108.
- Ceylan, A., 1987. Tıbbi Bitkiler 2 (Uçucu Yağ İçerenler), Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 481, 188, İzmir.
- Chatterjee, A. ve Pakrashi, S. C., 1995. The treatise on Indian medicinal plants. New Delhi: Publications & Information Directorate, CSIR xvii, 325.
- Cho, Y-J, Yoon, S. J., Kim, J. H. ve Chun, S. S., 2005. Biological activity of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) extracts. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 34, 4, 446-450.

- Chung, Y. C., Chen, S. J., Hsu, C. K., Chang, C. T. ve Chou, S. T., 2005. Studies on the antioxidant activity of *Graptopetalum paraguayense* E. Walther. Food Chemistry, 91, 419–424.
- Cox, P. A., 1990. Ethnopharmacology and the search for new drugs. In Bioactive Compounds from Plants, CIBA Foundation Symposium, John Wiley & Sons, Chichester, New York Brisbane, Toronto, Singapore, 154, 40-55.
- Craker, L. E. ve Giblette, J., 2002. Chinese Medicinal Herbs: Opportunities for Domestic Production. In: J. Janick and A. Whipkey, eds., Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA.
- Cuendet, M., Hostettmann, K. ve Potterat, O., 1997. Iridoid Glucosides With Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*, Helv. Chim. Acta, 80, 1144-1152.
- Dağcı, E., İzmirli, K. ve Dığrak, M., 2002. Kahramanmaraş İlinde Yetişen Bazı Ağaç Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması, KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 5(1), 38-46.
- Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Van Beek, T. A. ve Linssen, J. P. H., 1998. Antioxidant Activity of Extracts Obtained by Different Isolation Procedures from Some Aromatic Herbs Grown in Lithuania, J. Sci. Food Agric., 77, 140-146.
- Davis, P. H., 1975. Flora of Turkey and The East Aegean Volume 5 Edinburgh.
- Davis, P. H., 1988 Flora of Turkey and The East Aegean Volume 10 Edinburgh.
- Deans, S. G. ve Ritche, G., 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. International Journal of Food Microbiology, 5, 165-180.
- Deans, S. G., Noble, R. C., Hiltunen, R., Wuryani, W. ve Penzes, L. G., 1995. Antimicrobial and antioxidant properties of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr.&Perry: impact upon bacteria, fungi and fatty acid levels in ageing mice. Flavour and Fragrance Journal, 10, 323-328.
- Dorman, H. J. D. ve Deans, S. G., 2000. Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. Journal of Applied Microbiology, 88, 308-316.
- Duan, S., Weng, X. C., Dong, X. W., Liu, Y. P., Li, H. P. ve Jin, J. R., 1998. Antioxidant properties of butylated hydroxytoluene refluxed in ferric chloride solution. Food Chemistry, 61, 101–105.
- El-Shazly, A., Dorai, G. ve Wink, M., 2002. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil and Hexane-Ether Extract of *Tanacetum santolinoides*, (DC.) Feinbr. And Fertig, Z. Naturforsch., 57c, 620-623.
- Ertürk, Ö., 2003. Scorzonera mollis Bieb.(Compositae) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi, Çevre Koruma Dergisi, 47, 27-31.

- Essawi, T. ve Srour, M., 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology, 70, 343–349.
- Farnsworth, N. R., 1990. The role of the ethnopharmacology in drug development. In Bioactive Compounds from Plants, CIBA Foundation Symposium, 154, 2-21.
- Foster, S. ve Duke. J. A., 1990. A Field Guide to Medicinal Plants. Eastern and Central N. America. Houghton Mifflin Co. ISBN 0395467225.
- Fowler, M. W., 2006. Plants, medicines and man. J.Sci Food Agric, 86, 1797–1804.
- Grierson, A. J. C., 1975. *Tanacetum* L. In: Flora of Turkey and East Aegean Islands (ed. P. H. Davis), Edinburgh University Press, 5, 256-291.
- Gruntzender, J. ve Morris, J. C., 2001. Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. Drugs, 61, 1, 41 – 52.
- Gu, L. ve Weng, X., 2001. Antioxidant activity and components of *Salvia plebeia* R.Br.-a Chinese herb. Food Chemistry, 72, 299-305.
- Habtemariam, S., 1997. Flavonoids as inhibitors or enhancers of the cytotoxicity of tumor necrosis factor-alpha in L-929 tumor cells. Journal of Natural Products, 60, 775–778.
- Hammer, K. A., Carson, C. F. ve Riley, T. V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, Journal of Applied Microbiology, 86, 985-990.
- Haslam, E., 1966. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. Journal of Natural Products, 59, 205–215.
- Haznedaroğlu, M. Z., Karabay, U. ve Zeybek, U., 2001. Antibacterial Activity of *Salvia tomentosa* Essential Oil. Fitoterapia, 72, 829-831.
- Juteau, F., Masotti, V, Bessie`re, J. M., Dherbomez, M. ve Viano, J., 2002. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil, 73, 532-535.
- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. ve Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 3562–3954.
- Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U. ve Ilcim, A., 2001. Antibacterial and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. Journal of Ethnopharmacology, 76, 183-186.
- Kırbağ, S. ve Bağcı E., 2000. *Picea abies* (L.) Karst. ve *Picea orientalis* (L.) Link Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Bir Araştırma, Journal of Qafqaz University, III, I, 183-190.

- Kirby, A. J. ve Schmidt, R. J., 1997. The Antioxidant Activity of Chinese Herbs for Eczema and of Placebo Herbs, J. Ethnopharmacol., 56, 103-108.
- Koleva, I. I., van Beek, T. A., Linssen, J. P. H., de Groot, A. ve Evstatieva, L. N., 2002. Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: A Comparative Study on Three Testing Methods, Phytochem. Anal., 13, 8-17.
- Kubeczka, K. H., 1979. Vorkommen und Analytik Atherischeröle, Georg, Thieme Verlag, Stuttgart.
- Launert, E., 1981. Edible and Medicinal Plants. Hamlyn ISBN 0-600-37216-2 Covers plants in Europe. a drawing of each plant, quite a bit of interesting information.
- Leal-Cardoso, J. H. ve Fonteles, M. C., 1999. Pharmacological Effect of Essential Oils of Plants of the Northeast of Brazil. Acad Bras Cienc, 71, 2, 207-13.
- Levingstone, R. ve Zamora, R., 1983. Medicine trees of the tropics. Unasylva, 35, 7-10.
- McKay, D. L. ve Blumberg, J. B., 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). Phytother. Res., 20, 7, 519-530.
- Moldao-Martins, M., Bernardo-Gil, M. G., Beirao de Costa, M. L. ve Rouzet, M., 1999. Seasonal Variation in Yield and Composition of *Thymus zygis* L. subsp. *sylvestris* Essential Oil. Flavour and Fragrance Journal, 14, 177-182.
- Mouhssen, L., 2004. Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential oils. Phytother. Res., 18, 435-448.
- Nagai, M. ve Tada, M., 1987. Antimicrobial Compounds, Chinesin I and II from flowers of *Hypericum chinense* L. Chemistry Letters, John Wiley & Sons, Chichester, New York Brisbane, Toronto, Singapore, 1337-1340.
- Nostro, A., Germano, M. P., Dangelo, V., Marino, A. ve Cannatelli, M. A., 2000. Extraction Methods and Bioautography for Evaluation of Medicinal Plant Antimicrobial Activity. Lett. Appl. Microbiol., 30, 5, 79-84.
- Orav, A., Kailas, T. ve Kann, J., 1999. Volatile constituents of *Matricaria matricarioides* (Less.) Port. Journal of Essential Oil Research, 11, 2, 243-245.
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A. ve Deemer, E. K., 2002. Analysis of Antioxidant Activities of Common Vegetables Employing Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay, A Comparative Study, J. Agric. Food Chem., 50, 3122-3128.
- Owlia, P., Rasooli, I. ve Sadari, H., 2007. Antistreptococcal and antioxidant activity of essential oil from *Matricaria chamomilla* L. Res. J. Biol. Sci., 2, 2, 155-160.

- Özban, N., 1994. Hücre. İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, No. 231.
- Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Saavedra, G., Murcia, M. A., Jimenez, A. M. ve Codina, C., 2003. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. Life Sciences, 73, 1667–1681.
- Perry, N. B., Anderson, R. E., Brennan, N. J., Douglas, M. H., Heaney, A. J., McGimpsey, J. A. ve Smallfield, B. M., 1999. Essential Oils from Dalmation Sage (*Salvia officinalis* L.) Variations among Individuals, Plant Parts, Seasons and Sites. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 2048-2054.
- Petersen, M. ve Simmonds, M. S. J., 2003. Rosmarinic acid. Phytochemistry, 62, 2, 121-125.
- Petrović, S., Pavlović, M., Milenković, M., Kukić, J., Couladis, M., Tzakou, O. ve Niketić, M., 2008. *Laser trilobum* essential oils: composition, antimicrobial and antiradical properties. Planta Medica, 74, 9, 1190-1191.
- Philipson, J. D., 1990. Plants as Sources of Valuable Products. In Secondary Products from Plant Tissue Culture, Edt. Charlwood, B .V. & Rhodes, M. J., Oxford, Clarendon Pres, 1-22 .
- Picman, A. K., 1986. Biological Activities of Sesquiterpene Lactones, Biochem. Systematic and Ecology, 14, 3, 225-281.
- Pietta, P., Simonetti, P. ve Mauri, P., 1998. Antioxidant activity of selected medicinal plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 4487–4490.
- Plumb, G. W., De Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., Cheynier, V. ve Williamson, G., 1998. Antioxidant properties of catechins and proanthocyanidins, effect of polymerisation, galloylation and glycosylation. Free Radical Research, 29, 351–358.
- Rakotoarison, D. A., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, C. ve Pinkas, M., 1997. Antioxidant activities of polyphenolic extracts from flowers, in vitro callus and cell pension cultures of *Crataegus monogyna*. Pharmazie, 52, 60–64.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. ve Paganga, J., 1977. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Sciences, 2, 152–159.
- Sartoratto, A., Machado, A. L., Delarmelina, C., Figueria, G. M., Duarte, M. C. T. ve Rehder, V. L. G., 2004. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aromatic Plants Used in Brazil, 35, Braz. J. Microbiol., 275-280.
- Schofield, J. J., 1990. Discovering Wild Plants - Alaska, W. Canada and the Northwest.

- Shale, T. L., Stirk, W. A. ve van Staden, J., 1999. Screening of medicinal plants used in Lesotho for anti-bacterial and anti-inflammatory activity. Journal of Ethnopharmacology, 67, 347-354.
- Shing, B., Sahu, P. M. ve Sharma, M. K., 2002. Anti-Inflammatory and Antimicrobial Activities of Triterpenoids from *Strobilanthes callosus* Ness., Phytomedicine, 9, 355-359.
- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T. ve Arsenakis, M., 1996. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Origanum* Essential Oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44, 1202-1205.
- Skaltsa, H., Lazari, D., Panagouleas, C., Georgiadou, E., Garcia, B. ve Sokovic, M., 2000. Sesquiterpene lactones from *Centaurea thessala* and *Centaurea attica*. Antifungal activity. Journal of Ethnopharmacology, 55, 903-908.
- Sökmen, A., Jones, B. M. ve Ertürk, M., 1999. The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 67, 79-86.
- Sökmen, A. ve Gürel, E., 2001. Bitki Biyoteknolojisi, Edt. Babaoğlu M., Gürel E., Özcan S. Bölüm 7, Sekonder Metabolit Üretimi. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 211-261.
- Sökmen, M., Serkedjieva, J., Daferera, D., Gulluce, M., Polissiou, M., Tepe, B., Akpulat, H. A., Sahin, F. ve Sökmen, A., 2004. The in vitro antioxidant, antimicrobial and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 52, 3309-3312
- Tanker, M., Tanker, N., Şarer, E., Atasu, E., Şener, B., Kurucu, S., Meriçli, F., 1990. Result of Certain Investigation on the Volatile Oil Centaining Plants of Turkey, Essential Oils for Perfumery and Flavours, Preceedings of an International Conference, Mayıs, Antalya.
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. ve Polissiou, M., 2005. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food Chemistry, 90, 333-340.
- Tepe, B. ve Sökmen, A., 2007. Production and optimisation of rosmarinic acid by *Satureja hortensis* L. callus cultures. Natural Product Research, 21, 13, 1133-1144.
- Tzakou, O., Pitarokili, D., Chinou, I. B. ve Harvala, C., 2001. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Salvia ringens*. Planta Medica, 67, 81-83.
- Uribe, S., Ramirez, T. ve Pena, A., 1985. Effects of β -pinene on yeast membrane functions. Journal of Bacteriology, 161, 1195-1200.
- URL-1, <http://www.saglikbilimi.com/tarhun/> YKD Yayın Grubu. 18 Mayıs 2009.

- URL-2, <http://www.saglikbilimi.com/tarhun/> YKD Yayın Grubu. 18 Mayıs 2009.
- Weng, X. C., 1993. Antioxidant and their antioxidation mechanism. J. Zhengzhou Grain College, 3, 20–29.
- Weng, X. C. ve Wang, W., 2000. Antioksidant Activity of Compounds Isolated from *Salvia plebelia*. Food Chemistry, 71, 489-493.
- Vitor, R. F., Mota-Filipe, H., Teixeira, G., Borges, C., Rodrigues, A. I., Teixeira, A. ve Paulo, A., 2004. Flavonoids of an extract of *Pterospartum tridentatum* showing endothelial protection against oxidative injury. Journal of Ethnopharmacology, 93, 363–370.
- Yaylı N., Yaşar A., Güleç C., Usta A., Kolaylı S., Cosşkunçelebi K., Karaoğlu Ş. 2005, Composition and antimicrobial activity of essential oils from *Centaurea sessilis* and *Centaurea armena*, Phytochemistry 66, 1741-1745.
- Yokozawa, T., Chen, C. P., Dong, E., Tanaka, T., Nonaka, G. I. ve Nishioka, I., 1998. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Biochemical Pharmacology, 56, 213–222.
- Zaika, L. L., 1998. Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. Journal of Food Nutrition, 9, 97-118.
- Zheng, W. ve Wang, S. Y., 2001. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. J. Agric. Food Chem., 49, 11, 5165–5170.

ÖZGEÇMİŞ

Şehriban Bayraktar, 1980 yılında Trabzon'da doğdu. İlk ve Orta öğrenimini Trabzon'da tamamladı. 1997 yılında başladığı C. Ü. Biyoloji Bölümünden 2003 yılında mezun oldu. 2005 yılında K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2003 yılında Sivas C. Ü. Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında 6 ay gönüllü çalıştı. 2008 Eylül ayında Ardahan Damal Ş. P. Asteğmen Yılmaz Kaan Ç. P. Lisesinde 6 ay sözleşmeli biyoloji öğretmeni olarak çalıştı. Şu anda Trabzon Maçka Lisesinde kadrolu biyoloji öğretmeni olarak çalışmaktadır ve orta seviyede İngilizce bilmektedir.