

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
2019-YL-070

YABANI VE KÜLTÜR SEMİZOTU
(*Portulaca oleracea* L.) BİTKİSİNİN
ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ

Aylin YURDAGÜL

Tez Danışmanı
Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER

AYDIN

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Aylin YURDAGÜL tarafından hazırlanan “Yabani ve Kültür Semizotu (*Portulaca oleracea* L.) Bitkisinin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi” başlıklı tez, 11.07.2019 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan:	Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER	ADÜ	
Üye :	Prof. Dr. Tülin AYDEMİR	CBÜ	
Üye :	Doç. Dr. Murat UYGUN	ADÜ	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim KurulununSayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Gönül AYDIN
Enstitü Müdürü

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

.../.../20..

İmza

Aylin YURDAGÜL

ÖZET

YABANI VE KÜLTÜR SEMİZOTU (*Portulaca oleracea* L.) BİTKİSİNİN ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Aylin YURDAGÜL

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER
2019, 68sayfa

Bu çalışmada semizotu (*Portulaca oleracea* L.) bitkisinin antioksidan özelliklerinin araştırılması ve bu özelliklerin kültür de ve yabani türlerde değişimlerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Aynı zamanda, incelenen parametrelere, örnek hazırlama tekniğinin (liyofilizasyon veya sıvı azot ile parçalama) ve ekstraksiyonunda kullanılan çözen etkileri (su, metanol, etanol) hazırlanan ekstraktlarda araştırılmıştır. Ekstraktların antioksidan kapasitesi DPPH radikal süpürücü aktivite tayini, toplam fenolik bileşik tayini, toplam flavonoid tayini, toplam flavonol tayini, indirgeme gücü tayini, ferrik tiyosiyanat yöntemi ile total antioksidan kapasite tayini, süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini, kuprik iyon indirgeme antioksidan kapasite tayini, oksijen radikal absorbans kapasitesi, hidroksil radikal süpürücü aktivite tayini, Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite tayini, prolin miktarı tayini ve antimikrobiyal aktivite tayini yöntemleri ile araştırılmıştır. Örnek hazırlama yöntemlerinden liyofilizasyon yönteminin daha yüksek antioksidan kapasitesine sahip ekstraktların elde edilmesini sağladığı; kültüre ve yabani türlerden elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri arasında genellikle anlamlı farkların olmadığı saptanmıştır. İncelenen deney koşullarında ekstraktların hiçbirinde antimikrobiyal aktivite saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Semizotu, *Portulaca oleracea* L., antioksidan aktivite.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF WILD AND CULTURED PURSLANE PLANT (*Portulaca oleracea* L.)

Aylin YURDAGÜL

M.Sc. Thesis, Department of Chemistry
Supervisor: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER
2019, 68 pages

In this work, investigation of antioxidant and antimicrobial activities of purslane (*Portulaca oleracea* L.) and variation of these properties due to the cultured and wild species were investigated. Parallel to this, the effect of sample preparation techniques (lyophilization and liquid nitrogen disintegration) was investigated in extracts prepared using three different solvents (water, methanol, ethanol). Antioxidant capacity of the extracts were investigated using DPPH radical scavenging activity assay, total phenolics assay, total flavonoid assay, total flavonol assay, reducing power assay, total antioxidant capacity assay using ferric thiocyanate method, superoxide anion scavenging activity assay, cupric ion reducing antioxidant capacity assay, oxygen radical absorbance capacity assay, hydroxyl radical scavenging activity assay, Trolox equivalent antioxidant activity assay, proline content determination and of antimicrobial activity tests. Results revealed that lyophilization technique provided extracts with higher antioxidant capacity and extracts provided from cultured or wild species did not have antioxidant activities with significant differences. Under our experimental conditions none of the samples demonstrated antimicrobial activity.

Key Words: Purslane, *Portulaca oleracea* L., antioxidant activity.

ÖNSÖZ

“Yabani ve Kültür Semizotu (*Portulaca oleracea* L.) Bitkisinin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi” konulu tez çalışması Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Araştırma Laboratuvarı’nda gerçekleştirildi.

Öncelikle bana kendisiyle çalışma fırsatı verip bu projenin planlanması ve yürütülmesinde her türlü maddi, manevi desteğini ve değerli bilgilerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Değerli hocam olarak deneylerimde bilgi ve tavsiyeleriyle bana içtenlikle yardımcı olan, ablam olarak da manevi desteğiyle her zaman yanımda hissettiğim, tezimin yazılması sırasında sabır ve anlayış göstererek yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Rukiye YAVAŞER’e gönülden teşekkür ederim. Deneylerimin yapılış aşamasında yardımlarını, bilgilerini ve içtenliklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Deniz AKTAŞ UYGUN, Doç. Dr. Murat UYGUN, Prof. Dr. Hacı Halil BIYIK ve Prof. Dr. Kubilay METİN ve Prof. Dr. Yüksel ŞAHİN’e teşekkürlerimi içtenlikle sunarım. Antimikrobiyal aktivite tayini deneyinde bilgilerini aktaran, yol gösteren ve çalışma ortamı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL’e yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım. Kültür semizotu bitkisinin yetiştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet Ali DEMİRAL ve Arş. Gör. Seçil KÜÇÜK KAYA’ya teşekkürü borç bilirim. Laboratuvarımızın huzurla çalışan bir ortam olmasını sağlayan ve moral verip destek olan çok sevdiğim çalışma arkadaşlarım Merve SEZGİN, Bernis GİRGİN, Onur KORKMAZ ve Çağdaş SUNNA’ya çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca beni anlayış ile karşılayan maddi ve manevi yardımları ile destek olup her zaman yanımda olan aileme minnettar olduğumu belirtmek isterim. Ayrıca, bu çalışmaya “Yabani ve Kültür Semizotu (*Portulaca oleracea* L.) Bitkisinin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi” başlıklı FEF-15025 nolu araştırma projesi olarak maddi destek sağlayan Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü’ne ve olanaklarından yararlandığım Kimya Bölümü’ne teşekkür ederim.

Aylin YURDAGÜL

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxi
1. GİRİŞ	1
1.1. Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması	3
1.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	4
1.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	4
1.1.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GPx)	4
1.1.1.3. Katalaz (CAT)	4
1.1.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar	5
1.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	5
1.3. Bitkilerin Antimikrobiyal Aktivitesi	7
1.4. Semizotu (<i>Portulaca oleracea</i> L.) Hakkında Genel Bilgi	9
2. KAYNAK ÖZETLERİ	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM	19

3.1. Kimyasallar ve Cihazlar	19
3.1.1. Kimyasallar.....	19
3.1.2. Cihazlar.....	19
3.2. Yöntem	20
3.2.1. <i>Portulaca oleracea</i> L. Bitkisinin Toplanması ve Ekstraktların Hazırlanması	20
3.2.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH)	21
3.2.3. Toplam Fenolik Bileşik Tayini (TPC)	21
3.2.4. Toplam Flavonoid Tayini	22
3.2.5. Toplam Flavonol Tayini	22
3.2.6. İndirgeme Gücü Tayini	22
3.2.7. Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi İle Total Antioksidan Aktivite Tayini	23
3.2.8. Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini	24
3.2.9. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)	24
3.2.10. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC)	24
3.2.11. Hidroksil Radikal Süpürücü Aktivite Tayini.....	25
3.2.12. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC)	25
3.2.13. Prolin Miktarı Tayini	26
3.2.14. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	28
4.1. <i>P. oleracea</i> L. Ekstraktlarının Hazırlanması	28

4.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH) Sonuçları	28
4.3. Toplam Fenolik Bileşik Tayini (TPC) Sonuçları	32
4.4. Toplam Flavonoid Tayini Sonuçları	34
4.5. Toplam Flavonol Tayini Sonuçları	36
4.6. İndirgeme Gücü Tayini Sonuçları	37
4.7. Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi İle Total Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları	39
4.8. Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları	41
4.9. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC) Sonuçları	43
4.10. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) Sonuçları	45
4.11. Hidroksil Radikal Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları	46
4.12. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC) Sonuçları	47
4.13. Prolin Miktarı Tayini Sonuçları	49
4.14. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Sonuçları	50
5. SONUÇ	51
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	67

KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonat)
BHA	: Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksitoluen
CAT	: Katalaz
CUPRAC	: Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikril hidrazil
ET	: Elektron Transferi
FCR	: Folin-Ciocalteu Reaktifi
FRAP	: Ferrik İyon İndirgeme Antioksidan Gücü
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Okside Glutasyon
HAT	: Hidrojen Atom Transferi
HPLC	: Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
MBC	: Minimal Bakterisidal Konsantrasyon
MDA	: Malondialdehit
MHA	: Mueller-Hinton Agar
MIC	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MTT	: Mikrokültür Tetrazolium Testi

MUFA	: Tekli Doymamış Yağ Asitleri
NBT	: Nitroblue Tetrazolium
ORAC	: Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
PAA	: Piracethoun
PMS	: Fenazin Metasülfat
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
ROS	: Serbest Oksijen Radikalleri
SFA	: Doymuş Yağ Asidi
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeler
TCA	: Trikloroasetik asit
TEAC	: Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite
TRAP	: Total Radikal Yakalama Antioksidan Kapasitesi
TSA	: Tyriptic Soy Agar
UV/Vis	: Ultraviyole/Görünür
WBC	: Beyaz Kan Hücreleri
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
β CB	: β -karoten bleaching

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Antioksidan maddelerin sınıflandırılması	3
Şekil 4.1. Bu çalışmada kullanılan yabancı (a) ve kültür (b) semizotu bitkilerinin fotoğrafları	28
Şekil 4.2. Sıvı azotta parçalama (a) ve liyofilizasyon ile kurutma (b) sonucu elde edilen yabancı semizotu örneklerinin fotoğrafları	28
Şekil 4.3. DPPH'in antioksidan bileşikler ile arasındaki reaksiyon.....	29
Şekil 4.4. Çalışmada kullanılan standart antioksidan bileşiklerin DPPH radikal süpürücü aktivitelerinin kinetik eğrileri	30
Şekil 4.5. Kültür semizotu örneklerinin DPPH radikal süpürücü aktivitelerinin kinetik eğrileri	30
Şekil 4.6. Yabancı semizotu örneklerinin DPPH radikal süpürücü aktivitelerinin kinetik eğrileri.....	31
Şekil 4.7. Rutin bileşiğinin molekül yapısı	33
Şekil 4.8. Toplam fenolik bileşik tayini için hazırlanan rutin bileşiği çalışma grafiği.....	33
Şekil 4.9. Total flavonoid tayini için hazırlanan rutin bileşiği çalışma grafiği	35
Şekil 4.10. Toplam flavonol tayininde kullanılan rutin bileşiği standart grafiği....	36
Şekil 4.11. Kültür semizotu ekstraktlarının total antioksidan kapasiteleri.....	40
Şekil 4.12. Yabancı semizotu ekstraktlarının total antioksidan kapasiteleri.....	40
Şekil 4.13. NBT ²⁺ 'nin O ₂ ⁻ radikalleri ile formazana dönüşme reaksiyonu.....	42
Şekil 4.14. Kültür semizotu ekstraktları ve standart antioksidanların süperoksit radikali süpürücü aktiviteleri	42
Şekil 4.15. Yabancı semizotu ekstraktları ve standart antioksidanların süperoksit radikali süpürücü aktiviteleri	43
Şekil 4.16. Bakır (II) neokuproin şelatının antioksidan molekül tarafından bakır (I) neokuproin şelatına indirgenme tepkimesi.....	44
Şekil 4.17. Yabancı semizotu liyofilizasyon ile kurutulmuş örneğin etanol ekstraktının ORAC tayini ile çizilen zaman-A/A° grafiği.....	45

Şekil 4.18. Liyofilize ve azotta kurutulmuş semizotu ekstraktlarının ve gallik asit ve Troloks standart antioksidanlarının derişime karşı yüzde hidroksil radikal süpürücü aktiviteleri. 47

Şekil 4.19. $ABTS^{+}$ radikalinin antioksidan bileşik tarafından ABTS formuna indirgenme reaksiyonu 48



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bazı önemli fizyolojik antioksidanlar	2
Çizelge 4.1. Liyofilizasyon ve sıvı azotta parçalama ile hazırlanan semizotu örnekleri kullanılarak yapılan üç farklı çözgen (su, metanol, etanol) ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktların kodları	29
Çizelge 4.2. Kültür ve yabani semizotu ve standart antioksidanların IC ₅₀ değerleri	31
Çizelge 4.3. Kültür ve yabani semizotu bitkisinin toplam fenolik bileşik miktarları	34
Çizelge 4.4. Kültür ve yabani semizotu ekstraktlarının toplam flavonoid miktarları.	35
Çizelge 4.5. Kültür ve yabani semizotu ekstraktlarının toplam flavonol miktarları	36
Çizelge 4.6. Kültür semizotu ekstraktlarının yüzde indirgeme gücü değerleri	38
Çizelge 4.7. Yabani semizotu ekstraktlarının yüzde indirgeme gücü değerleri	38
Çizelge 4.8. Çalışmada kullanılan <i>P. oleracea</i> ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin TEAC _{CUPRAC} değerleri	44
Çizelge 4.9. Kültür ve yabani semizotu ekstraktlarının ve standart antioksidanların TEAC yöntemine göre hesaplanan TEAC katsayısı değerleri.....	48
Çizelge 4.10. Kültür ve yabani semizotu ekstraktlarının prolin miktarları	49

1. GİRİŞ

Çeşitli hastalıkların biyokimyasında "reaktif oksijen türleri (ROS)" olarak adlandırılan moleküller ve radikaller görev alır. ROS türlerinin başlıcalarını süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali oluşturur. Bu moleküller, oksijenin metabolizmada suya indirgenmesi sırasında oluşurlar. İnsan vücudunda fizyolojik koşullarda, üretilen ROS miktarı ile mevcut antioksidanlar arasında bir denge vardır. Bu denge oksidan yönüne doğru kayarsa hücre içinde "oksidatif stres" adı verilen ve çeşitli hastalık ve fizyolojik bozuklukların kaynağı olduğu düşünülen istenmeyen durum oluşur (Cornelli, 2009; Pellegrini vd., 2009; Stahl vd., 2002; Unsal vd., 2014).

Bitkilerin ürettiği antioksidan moleküllerin, canlı sistemlerde hücre içi oksidasyonu engelleyerek antimümöral, antimitojenik, antitrombotik, antikarsinogenik, antimetastatik, antimikrobiyal, antihipertansif, antiviral ve yaşlanma karşıtı aktivite gösterdikleri pek çok *in vivo* çalışma ile ortaya konmuştur (Stahl vd., 2002; Hassimoto vd., 2008; Unsal vd., 2014).

Son yıllarda bitkilerin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaya başlanmasıyla "alternatif tıp" alanı önem kazanmıştır. Son zamanlarda birçok ülkede yaklaşık 2500 şifalı bitki tespit edilerek bazıları çeşitli farmakolojik formlarda (tablet, toz, şurup, vb.) kullanıma sunulmuştur. Oksitlenebilen türlerin oksidasyonunu yavaşlatan veya durduran maddelere "antioksidan" denir. Canlılarda olağan kimyasal süreçler sırasında oksitlenme sebebiyle serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller son derece reaktif olup canlı sistemde karşılaştığı çeşitli moleküllerle kolayca reaksiyona girebilir ve bunun sonucunda hücre ve buna bağlı olarak canlı zarar görür. Antioksidanlar, serbest radikallerle hızlıca reaksiyona girerek onların hücreye zarar vermelerini engelleyebilir. Bu özellikleri nedeniyle, antioksidanlar, hücrelerin anormalleşme ve tümör oluşturma risklerini azaltırken hücre yıkımını da engelleyip daha sağlıklı, daha az yaşlılık etkileri gösteren bir yaşam şansını yükseltirler (Evans vd., 1996; Unsal vd., 2014; Shahidi, 1997).

İnsan antioksidan savunma sistemi enzimatik ve enzimatik olmayan türlerle donatılmıştır. Enzimatik türlerin başlıcalarını süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleri; enzimatik olmayan türleri ise hidrofilik (askorbat, glutatyon, ürat ve flavonoidler gibi) ve lipofilik (karotenoidler, tokoferoller, ubikinol gibi) moleküller oluşturur (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Bazı önemli fizyolojik antioksidanlar

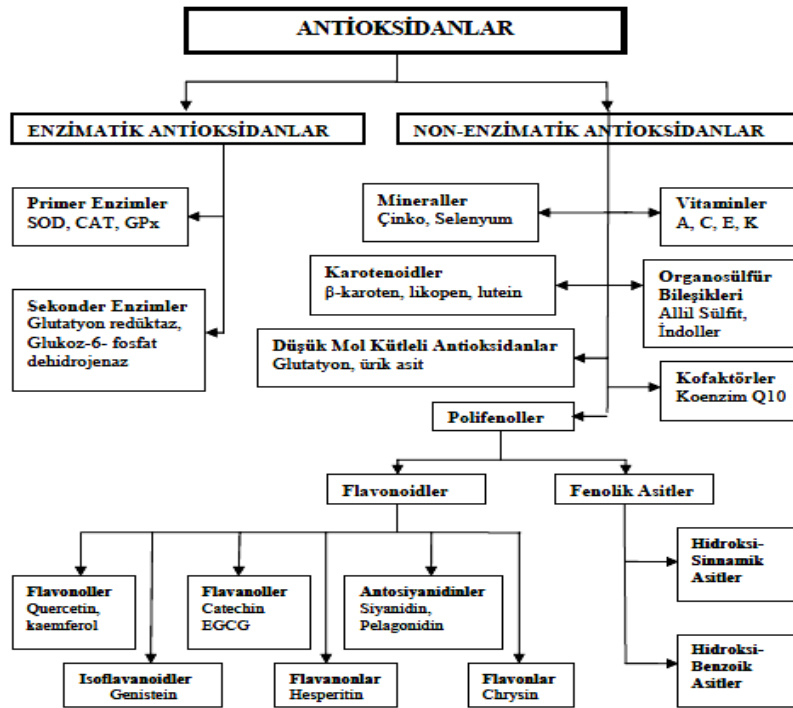
(http://www.iama.gr/ethno/eie/neda_en.htm)

Antioksidan	Vücutta Bulunduğu Yer	Özellikleri
Süperoksit Dismutaz (SOD)	Mitokondri, sitozol	Çok etkili enzimatik antioksidandır.
Glutasyon Peroksidaz (GPx)	Mitokondri, sitozol	Hücre içi indirgen ajandır. Hidrojen peroksit ve organik peroksitleri uzaklaştırır.
Katalaz (CAT)	Mitokondri, sitozol	Hidrojen peroksiti uzaklaştırır.
Vitamin C	Hücresin su fazı	Serbest radikal yakalayıcı olarak davranır ve Vitamin E'yi geri kazandırır.
Vitamin E	Hücre membranı	Hücre membranındaki en önemli zincir kırıcı antioksidandır.
Koenzim Q ₁₀	Tüm hücre zarlarında ve yağları taşıyan proteinlerin yapısında	Yağ asidi ve glukoz metabolizması sırasında elektron yakalayarak diğer elektron alıcılarına iletir.
Ürik Asit	Pürin metabolizması ürünü	OH ⁻ radikallerini yakalar.
Glutasyon (GSH)	Hücredeki nonprotein tiyol	Hücrel antioksidan savunmasında çoklu rol oynar.
α-lipoik asit	Endojen tiyol	Vitamin C'yi geri kazandırır; aynı zamanda biyolojik sistemlerde glutasyon yerine kullanılabilir.
Karotenoidler	Hücre membranı	Lipit çözebilen antioksidanlardır, ROS'ları tutarlar.
Bilirubin	Kan	Hem metabolizması ürünüdür; hücre dışı antioksidandır.
Ubiquinonlar	Mitokondri	İndirgenmiş halleri etkili antioksidanlardır.
Metal iyonları sekestrasyonları: Transferrin, ferritin, clactoferrin	Ekstraselüler ve intraselüler sıvılar	Metal iyonlarını şelat haline getirir. Fenton reaksiyonundan sorumludurlar.
Nitrik Oksit	Ekstraselüler ve intraselüler sıvılar	LP inhibitörü ve serbest radikal yakalayıcıdır.

Oksijen, anaerob canlılar hariç, tüm canlılar için hayati önemi olan bir moleküldür. Öte yandan oksijenin tam indirgenmemesi sonucu oluşan reaktif oksijen türleri oksidatif hasara yol açarak biyomoleküllerin fonksiyonlarını değiştirebilir. Oksidatif hasarlar vücuttaki antioksidan/oksidan oranının dengesizliği sonucu ortaya çıkabilir. Vücut için gerekli olan antioksidanlar metabolizma tarafından sentezlenebildiği gibi dışarıdan beslenme yoluyla da alınabilir. Vücudun yaşamsal fonksiyonlarının düzgün bir şekilde yerine getirecek oksidan/antioksidan oranının sabit tutulması önemlidir (Benzie, 2003; Shirinzadeh, 2010).

1.1. Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması

Antioksidanlar sentetik ve doğal olmak üzere iki ana grupta incelenebilir. Doğal antioksidanları etki mekanizmaları dikkate alınarak enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere iki ana gruba ayırmak mümkündür (Şekil 1.1). Antioksidan enzimleri primer (doğrudan) ve sekonder (dolaylı yoldan antioksidan sistemi destekleyenler) olmak üzere iki grupta incelenirken; non-enzimatik olanlarda molekül çeşitliliği çok fazla (Şekil 1.1) ve doğal ve doğal olmayanlar mevcuttur (Ratmam vd., 2006).

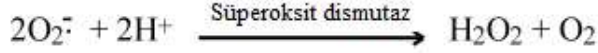


Şekil 1.1. Antioksidan maddelerin sınıflandırılması (Ratnam vd., 2006)

1.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

1.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

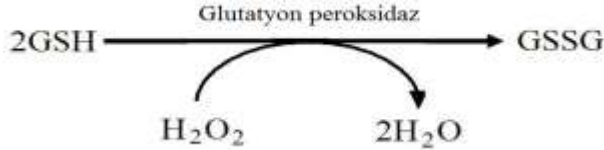
SOD doğada yaygın şekilde prokaryotik ve ökaryotik organizmalarda yer alır, Süperoksitin hidrojen peroksit ve oksijene dismutasyon reaksiyonunu katalizler.



İnsan vücudunda üç tür SOD enzimi bulunur. Bunlar mitokondriyal Mn-SOD, CuZn-SOD ve ekstrasellüler SOD olarak sıralanmaktadır. Cu-Zn SOD (bakır-çinko) sitoplazmada bulunur. Mitokondride aşırı ROS ve serbest radikal birikimi sonucunda Mn-SOD miktarı yükselmektedir. Bu da mitokondrinin kendini serbest radikallerin etkilerinden korumak için Mn-SOD'yi kendi ürettiği bir savunma sistemi olarak kullandığına işaret etmektedir (Shirinzadeh, 2010).

1.1.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

GPx enzimi tetramerik bir protein olup selenyum içerir. Enzim redükte glutasyon molekülünü oksitlerken, hidrojen peroksiti de suya indirger.



Hidrojen peroksitin giderilmesi için kullanılan redükte glutasyondan oluşan okside form (GSSG) daha sonra bir başka enzim, glutasyon redüktazla, katalizlenerek indirgenir (Cihaner, 2009).

1.1.1.3. Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi eritrositlerden akciğerlere kadar pek çok hücrede bol miktarda bulunan bir enzimdir. Enzim, zararlı hidrojen peroksit molekülünü oksijen ve su moleküllerine parçalayarak serbest radikal etkisinden koruma sağlar.



Ayrıca, CAT, peroksidatif reaksiyonlar sonucu oluşan formaldehit, alkol, formik asit ve fenolik bileşikler gibi toksik bileşiklerin etkilerini azaltmak için de çalışır.

1.1.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar

Canlı tarafından üretilen veya beslenme ile alınabilen antioksidanlardır. Non-enzimatik antioksidan çeşitleri aşağıdaki gibidir:

- Mineraller (Selenyum, çinko)
- Vitaminler (C, A, K, E)
- Karotenoidler (lutein, likopen)
- Organosülfür bileşikleri (allilsülfür)
- Polifenoller
- Düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar (ürik asit)
- Antioksidan kofaktörler (Koenzim Q10)
- Melatonin ve indol türevleri

Kişilerde ortaya çıkan çoklu genlerdeki mutasyonların neden olduğu kanser hastalıklarının 2/3'nün günlük beslenme profilinin düzenlenmesi ve bu antioksidanların listeye alınmasıyla önlenebileceği düşünülmektedir. Önerilen mekanizmalar, hastalıkları önlemede zararlı bileşiklerden enzimatik detoksifikasyonu ve bu bileşiklerin DNA'ya bağlanmasının önlenmesi şeklindedir (Shirinzadeh, 2010). Özellikle son 200 yılda maruz kalınan serbest radikal kaynaklarındaki artış sentetik antioksidanları daha önemli bir hale getirmektedir (Cihaner, 2009).

1.2. Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivitenin ifade edilmesinde literatürde oldukça farklı terimler kullanılmaktadır. Bu terimlerden bazıları “total antioksidan kapasite”, “total antioksidan aktivite”, total antioksidan güç”, “antioksidan parametre”, “antioksidan potansiyel”, antioksidan potens” ve “antioksidan aktivite”dir. “Aktivite” terimi basınç, sıcaklık, reaksiyon ortamı, ortamdaki diğer bileşenler gibi spesifik koşullara bağlı olacaktır. O nedenle tek bir analiz yöntemi ile “antioksidan aktivite” o koşullardaki sonucu verdiği için “total antioksidan gücün” bir ölçüsü olarak kullanılamayabilir. Bu nedenle “total antioksidan kapasitenin bir göstergesi” olarak farklı tayin yöntemleri ile ölçüm yapmak ve sonucu “kapasite” olarak ifade etmek mümkündür. Bir diğer yol ise “peroksil

radikal süpürücü kapasite” veya “ süperoksit anyonu süpürücü aktivite” gibi kullanılan tayin yöntemini spesifik olarak belirten terimlerin kullanılmasıdır (Ardağ, 2008; Şen, 2011).

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri, kullanılan kimyasal reaksiyon açısından temel olarak iki sınıfta toplanabilir:

Hidrojen Atomu Transferi (HAT) Temelli Yöntemler

Temel olarak hidrojen atomu transferine dayanan bu yöntemler, azo bileşiklerinin bozunması sonucu oluşan peroksil radikallerinin antioksidan ve substrat tarafından yarışmalı bir şekilde giderilmesi temeline dayanır (Ardağ, 2008). Önce bir radikal başlatıcı kullanılarak peroksil radikali (ROO[•]) meydana gelir. Reaksiyon ortamındaki antioksidan ve substrat, radikalleri yakalamak için yarışır. ROO[•] tercihen, antioksidandan bir hidrojen atomu alır. Bu sayede peroksil radikali ve hedef molekül arasındaki reaksiyon geciktirilir veya inhibe edilir (Ou vd., 2002; Huang vd., 2005; Şen, 2011).

HAT analiz yöntemleri:

İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu

Oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC)

Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP)

Krosin ağartma deneyleri olarak sıralanabilir (Ardağ, 2008).

Elektron Transferi (ET) Temelli Yöntemler

Antioksidan molekülün, Fe³⁺, ABTS^{•+} gibi bir oksitleyici tarafından yükseltgenmesi sonucunda antioksidandan oksidana bir elektron transfer edilir; bu da oksidanın renk değişimine neden olur. UV/Vis spektrofotometre ile absorban değişimi kaydedilir. Bu absorban değişimi antioksidan derişimi ile orantılı olduğundan, antioksidanın indirgeyici kapasitesinin belirlenmesinde kullanılır (Huang vd., 2005; Şen, 2011).

ET esaslı analiz yöntemleri (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2006):

- Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde tayini
- Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü
- Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ölçümü
- Cu(II) kompleksinin oksidan olarak kullanıldığı “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi
- DPPH kullanarak “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemi
- CUPRAC (Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi olarak sıralanabilir.

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için literatürde yirmiden fazla yöntem yer almaktadır. Bitkilerin antioksidan kapasitelerinin tayini söz konusu olduğunda antioksidan aktivite ile seçilen tayin yönteminin birbirine bağımlı olduğu bilinmektedir. Belirlenen antioksidan aktivite (veya kapasite) ile bitki ekstraktlarının total fenolik bileşik içeriği arasında tam bir korelasyon gözlenmeyebilir (Miliauskas vd., 2004; Şen, 2011).

Gıdaların kompozisyonlarının kompleks oluşu, antioksidanların çok çeşitli fonksiyonlar göstermeleri ve sinerjik etkileşimleri nedeniyle, gıda bileşenlerinin özel olarak ayrılması ve çalışılması maliyetli ve zordur. Bu nedenle genellikle antioksidan aktivite bir bütün olarak incelenmektedir. Antioksidan aktivite ölçümü için çok çeşitli metot mevcuttur, ancak fazla çeşit görüş ayrılıklarını da beraberinde getirmektedir. Ölçüm yapılırken farklı oksidasyon koşullarında farklı oksidasyon ürünlerini ölçmek için birden fazla metot kullanılmaktadır (Miliauskas vd., 2004; Şen, 2011).

1.3. Bitkilerin Antimikrobiyal Aktivitesi

Bitkisel ilaçlar, bazı ülkelerde sağlık sorunlarına ve tıbbi ilaçların yüksek maliyetlerine karşılık alternatif çözüm olarak geliştirilmiştir. Bitkiler genel olarak uzun bir süreye yayılmış hastalıklara karşı etkili olmuştur (Çitoğlu ve Altanlar, 2003).

Çeşitli bitkilerin çay, baharat ve tedavi aracı olarak kullanımı hem dünyada hem de ülkemizde giderek yaygınlaşmaktadır (Toroğlu ve Çenet, 2006; Yıldırım, 2008). Türkiye’de 9000 civarında farklı doğal bitki türü olduğu ve bunların

yaklaşık %30'unun endemik tür olduğu bilinmektedir. Bu zenginlikten yeteri kadar faydalanılmadığı da düşünülmektedir (İlçim vd., 1998; Yıldırım, 2008).

Bitkilerin bazı mikroorganizmalara karşı öldürücü etki göstermesinin, insan sağlığı için yararlı olabileceği 1920'li yıllardan beri araştırılmaktadır (Vonderbank, 1949; Dığrak vd., 1999; Yıldırım, 2008). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) araştırmalarına göre dünyada tedavi amacı ile kullanılan bitki sayısının 20000 civarında olduğu bildirilmektedir (Kalaycıoğlu ve Öner, 1994; Yıldırım, 2008).

Bazı bitkilerden elde edilen sulu ekstraktlar veya uçucu yağların antibakteriyel ve/veya antifungal etki gösterdiği bilinmektedir. Etki dereceleri içerdikleri bileşenlerin özelliklerine bağlı olarak değişiklik gösterir (Bağcı ve Dığrak, 1997).

Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

Antimikrobiyal duyarlılık testleri içinde en sık kullanılanları:

Disk difüzyon testleri

Dilüsyon testleri

Agar dilüsyon testleri (katı besiyerinde sulandırım testi)

Broth dilüsyon testleri

Makrodilüsyon (tüp dilüsyon) yöntemi

Mikrodilüsyon testleri

Gradient strip testleri (E-test, MICE)

Otomatize yöntemler

Moleküler yöntemlerdir.

Dilüsyon Yöntemi

Bu yöntemde aktivitesi test edilecek madde sıvı veya katı besi yerinde bir seri seyreltilir. Bu ortamlara, duyarlığı test edilecek mikroorganizmanın belli sayıda hücre içeren süspansiyonundan eşit miktarda ilave edilir. Bakteri deney setleri uygun sıcaklıkta (35-37°C'de) ve uzun süre (16-20 saat) bekletilerek üreme takip edilir (Akyüz, 2007). Süspansiyonun bulanık olduğu tüplerde antimikrobiyal madde derişimi inhibe edici derişimin altında demektir. Berrak tüpler ise antimikrobiyal maddenin bakterinin üremesini inhibe edici derişim düzeyine eşit veya daha yüksek olduğu sonucunu verir. Bulanıklığın giderildiği, bir başka deyişle inhibisyona neden olan en düşük madde derişimi MIC (Minimum İnhibitör Konsantrasyonu) olarak kabul edilir. Seyreltme yöntemleri tüp içinde

gerçekleştirilirse yöntemle makrodilüsyon, mikrotitrasyon plakalarında gerçekleştirilirse mikrodilüsyon yöntemi olarak adlandırılır (Hacıoğlu, 2005).

Difüzyon Yöntemi

Yöntemde test edilecek materyal agarda difüze olur ve aldığı mesafe kadar test edilen mikroorganizmaları inhibe eder. Bu yöntemde “disk difüzyonu” ve “çukur agar difüzyon” olmak üzere iki alt grup mevcuttur. Bu yöntemlerde çalışma prensipleri aynı olmakla beraber çukur agar difüzyon testinde test edilecek madde agar üzerine açılan çukurlara yerleştirilir. Öte yandan disk difüzyon testi için test edilecek maddenin emdirildiği kağıt disk agar yüzeyine yerleştirilir (Çakır ve Yıldırım, 2008). Disk difüzyon yönteminde, belirli miktarda antimikrobiyal ajan içeren kağıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakların yüzeyine yerleştirilir. Diskteki antimikrobiyal madde besi yeri içerisine yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller. Sonuçta, disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı (zonu) oluşur. İnhibisyon zonunun çapı, bakterinin duyarlılığı ile doğrudan ilişkilidir. Bu alanın çapı ölçülerek her antimikrobiyal madde için farklı olabilen duyarlılık sınırı değerleriyle karşılaştırılır. İnhibisyon alanının büyüklüğüne göre duyarlı, orta veya dirençli şeklinde duyarlılık kategorisi belirlenir (Öztürk, 2009).

1.4. Semizotu (*Portulaca oleraceae* L.) Hakkında Genel Bilgi

Semizotu genel olarak kırmızımsı, pürüzsüz, yere yatık tüysüz gövdeye ve dizilişe sahip, sapsız, sarı ve yeşil renklere sahip iki farklı yaprak kümelerine sahiptir (Dweek, 2001; Unsal vd., 2014).

Semizotunun vitaminler (A, B1, B2, B6, C, E, niasin, nikotinik asit, riboflavin, beta karoten, folat vb.), mineraller (özellikle K, Ca, Fe, Mg, Na, P, Cu ve Mn), doymamış yağ asitlerinden özellikle omega-3 yağ asitleri, glutamik asit, glutatyon ve aspartik asit açısından zengin olduğu belirtilmektedir.

Semizotu hem tarımcılar hem de beslenme uzmanları tarafından özel olarak ilgilenilmeyi hak eden bir bitkidir. Besin değeri yüksek olan bu bitki kompozisyonu ve antioksidan özellikleri nedeni ile “güç yiyeceği” olarak da tarif edilir. Semizotunun bilimsel bileşimi ve yararları türüne, toplanma zamanına ve yetiştiği çevreye bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Semizotu bir omega-6yağ

asidi olan α -linoleik asit açısından oldukça zengindir. Ispanaktan beş kat daha fazla omega-3 yağ asidi içerdiği gösterilmiştir (Simopoulos vd., 1992).

Semizotu bitkisi (*Portulaca oleraceae* L.) semizotugiller familyasından tek yıllık bir sebze olup çok dallı ve yapraklı sürüngen bir gövdeye sahiptir. Kışın, soğukta, kurur ve ölür. Ülkemizde kültür formları da (özellikle batı bölgelerinde) ticari boyutlarda yetiştirilir. Diğer bölgelerde daha çok yabani formları doğadan toplanarak kullanılır.

Ülkemizde kültür sebzeleri arasında semizotunun önemli bir yeri olmakla beraber, sebze olarak tüketimi vardır. Okzalik asiti bolca bulunduran bitkinin yapraklarında ekşimsi bir tat vardır ve salata malzemesi olarak kullanılır. C vitamini ve mineraller açısından zengin olup, kalorisi düşüktür. Semizotunun 100 gramında 5-8 gram arası kuru madde bulunur. Bitkinin geri kalan kısmını su oluşturur. Yüzde 1-2 protein, %0.2-0.4 yağ, %1-2 karbohidrat içeren bitkinin son yıllarda, özellikle omega-3 yağları açısından zengin olması nedeniyle tüketimi özendirilmektedir.

Bu tezde amaçlanan çalışma aşağıdaki başlıklarda özetlenebilir:

- 1) Yabani ve kültür semizotlarının çeşitli yöntemlerle antioksidan aktivitelerinin ölçülerek karşılaştırılması; varsa antimikrobiyal aktivitelerinin de saptanması
- 2) Semizotu örneklerinin hazırlanmasında
 - a) Liyofilizasyon ile suyu uzaklaştırma
 - b) Sıvı azot ile parçalandıktan sonra kurutma işlemlerinin uygulanması sonucu örneklerin antioksidan aktiviteleri arasında fark olup olmadığının saptanması
- 3) Su, metanol, etanol çözümleri kullanılarak hazırlanan örneklerin antioksidan aktivitelerinin karşılaştırılması.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından da işaret edildiği gibi *P. oleracea* dünyanın tropik ve ılıman bölgelerinde en fazla kullanılan tıbbi bitkiler arasında sayılmaktadır (Sabzghabae vd., 2014).

P. oleracea bitkisi hakkında literatürdeki araştırmalar incelendiğinde besin değeri, polisakkaritleri, antioksidan özellikleri, yağ asidi içerikleri, mineral kompozisyonu ile ilgili çeşitli çalışmalar yapıldığı görülmektedir.

Gazzani vd. (1998) tarafından bazı günlük diyet sebzelerinin suda çözünen bileşenlerinin anti- ve prooksidan aktiviteleri incelenmiştir. Farklı sıcaklıklarda (2°C, 25°C, 102°C) yapılan ölçümlerde öncelikle düşük sıcaklıklarda sebze suyu üretiminden hemen sonra yapılan ölçümlerde ilk 10 dakikada prooksidan aktivitenin baskın olduğu gözlemlenmiştir. Otuz dakika sonra bazı sebze suları için prooksidan aktivite, antioksidan aktiviteye dönüşmüştür. Sonuçlar deneysel koşullarda incelenen bütün meyve sularının lipid peroksidasyonunu etkilediğini göstermiştir. Etkilenme derecesinin sebzenin türüne, zamanına ve sıcaklığa bağlı olduğu ifade edilmiştir.

Maisuthisakul ve Pongsawatmanit vd. (2004) tarafından Kradonbok (*Careya sphaerica* Roxb.) yapraklarının antioksidan aktivite üzerine örnek hazırlama yöntemi ve ekstraksiyon süresinin etkisi incelenmiştir. Örnek hazırlama yönteminin ekstrakt verimi üzerine etkisi tespit edilmezken, total fenolik ve antioksidan üzerinde olumlu etki gösterdiği tespit edilmiştir. Dondurma özellikle de hızlı dondurma yöntemi ile saklanan yapraklarda total fenolik bileşik içeriği ve antioksidan aktivite daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak hızlı dondurma uygulamasının antioksidan aktivite ölçümleri için uygun olduğu; ekstraksiyon süresinin ise 4.5-6 saat olması gerektiği ifade edilmiştir.

Kılıç vd. (2008) tarafından *P. oleracea* L.'nin tuz giderici bir ekin olarak performansı incelenmiştir. Bazı özel bitkiler topraktan tuzu uzaklaştırabilir, ekimleri ile birlikte bahçe toprağının tuz giderimi sağlanabilir. Bu çalışmada verimde düşmeye sebep olmadan bir tuz giderici bitkinin etkili olabileceği en yüksek tuz seviyesi tayini yapılmıştır. Sonuçlara göre semizotunun tüm yıl boyunca kültive edilmesi halinde kümülatif olarak oldukça yüksek miktarda tuzu

uzaklaştırabileceği sonucuna varılmıştır. Bu sonuçlara göre semizotu için makul tuzluluk düzeyi 6.5 dSm^{-1} olarak hesaplanmıştır.

Oliveira vd. (2009) tarafından Portekiz'in farklı bölgelerinden elde edilen *P. oleracea* L. yaprak ve dallarının fitokimyasal karakterizasyonu ve DPPH radikal süpürücü etkisi incelenmiştir. Nem, total yağ, fenolik bileşik içerikleri de belirlenmiştir. Doymuş yağ asitleri (SFA) oranlarının 42.56 ± 6.81 ile 50.02 ± 5.57 oranında; tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) 12.39 ± 6.09 ile 20.49 ± 10.80 oranında; çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) miktarının ise 29.50 ± 10.12 ile 45.64 ± 15.59 oranında olduğu rapor edilmiştir. DPPH radikali kullanılarak ölçülen radikal süpürücü aktivitenin yapraklarda daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Erkan (2012) tarafından ters-faz ayırma ile kaba ekstraktan elde edilen ham *P. oleracea* fraksiyonları antioksidan aktiviteleri ve fenolik madde içerikleri açısından incelenmiştir. Ayrılan beş fraksiyon arasından üç nolu fraksiyon 200-400 nm dalga boyunda diğer fraksiyonlardan daha yüksek absorpsiyon yapmıştır. Ham ekstraktlar ile karşılaştırıldığında bu fraksiyonda ölçülen fenoliklerin miktarının oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Üç nolu fraksiyonda serbest asitler olarak klorojenik, kafeik, p-kumarik, ferulik asitlerin, serbest flavonoidler olarak ise kuersetin ve kaempferolün bulunduğu tespit edilmiştir. DPPH, TEAC, TBARS deneyleri ile yapılan antioksidan çalışmalarında üç nolu fraksiyon ürünlerinin yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. Zhou vd. (2015) tarafından *P. oleracea* L.'nin fitokimyası ve farmakolojik etkileri ayrıntılı olarak gözden geçirilmiştir. Bitkinin flavonoid, alkaloid, polisakkarit, yağ asidi, terpenoid, sterol, protein, vitamin ve mineral karakterli bileşenleri belirlenmiş ve geniş spektrumlu farmakolojik özellikleri irdelenmiştir.

Uddin vd. (2012) tarafından farklı büyüme evrelerinde semizotunun antioksidan özellikleri ve mineral değerleri incelenmiştir. Olgun *P. oleracea* bitkisinin daha yüksek total fenolik bileşik içeriğine sahip olduğu, antioksidan aktivitelerinin de (DPPH ve FRAP yöntemleri ile) yüksek olduğu görülmüştür. Ca, Mg, K, Fe ve Zn düzeyleri de olgun bitkide daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlar öncelikle fonksiyonel gıda ve hastalık önleyici beslenme uygulamalarında uygun olgunluktaki *P. oleracea* bitkilerinin seçilmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

P. oleracea L. insanlarda hafif rahatsızlıkları tedavi etmek için pek çok ülkede tıpta kullanılır. *P. oleracea* L'den ekstrakte edilen polisakkaritin (POL-P)

hipoglisemik ve lipolipidemik aktiviteleri yanında, antioksidan ve antitümör aktiviteleri de bulunmaktadır. Kolon kromatografisi kullanılarak saflaştırılan POL-P3b polisakkarit fraksiyonu rahim kanseri üzerinde *in vitro* ve *in vivo* denenmiştir. POL-P3b'nin rahim kanseri hücre büyümesini doza ve zamana bağlı olarak inhibe ettiği ve inhibisyon mekanizmasının Sub-G1 hücre çevrimi tutuklanması, DNA hasarının tetiklenmesi ve apoptozisin indüklenmesi yoluyla gerçekleştiği rapor edilmiştir (Zhao vd., 2013).

Egea-Gilabert vd. (2014) üç kültür ve dokuz lokal semizotu örneğinden hazır gıda üretilmesi uygunluğunun araştırılması yapılan çalışmada moleküler, morfolojik ve biyokimyasal analizler yapılmıştır. CM 13-00809 olarak kodlanan yabancı türün hazır gıda üretimine uygun olabileceği sonucuna varılmıştır.

Petropoulos vd. (2015) tarafından semizotunun altı genotipinin kimyasal kompozisyonu ve verimi incelenerek alternatif omega-3 yağ asitleri kaynağı olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bitki genotipinin besin değeri ve kimyasal kompozisyonuna olan etkileri de incelenmiştir. Kuru besin maddeleri verimi, şeker içeriği, bitki boyu, dal çapı gibi parametrelerde genotip ışığında incelenmiştir. Yaprak boyu, genişliği, kalınlığı gibi faktörler de incelenmiştir. Organik asit (okzalik asit, malik asit, sitrik asit, fumarik asit) ve şeker (fruktoz, glukoz, sükroz) değerleri de genotipler arasında farklı bulunmuştur. Antioksidan özellikler fenolik ve flavonoid bileşikler açısından incelendiğinde aralarında anlamlı farklar bulunmuştur. Genotiplerin antioksidan özellikleri, DPPH radikal süpürücü aktivite, indirgeme gücü, β -karoten bleaching inhibisyonu, TBARS inhibisyonu yöntemleri ile ölçülerek karşılaştırılmış ve bazı genotipler istatistik olarak farksız, bazıları arasında ise anlamlı farklar bulunmuştur. Besin endüstrisinde kullanım sırasında uygun ekotipin seçilmesinin yüksek kaliteli gıda ürünlerinin üretiminde ve artı katma değer etkisinin artmasında katkısı olacağı sonucuna varılmıştır. Omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin dengeli bir oranda bulunduğu genotipin kullanılmasının daha uygun olacağı rapor edilmiştir.

Lei vd. (2015) tarafından *P. oleracea* L.'den antibakteriyel özelliğe sahip dört yeni bileşiğin ayrılması ve saflaştırılması yapılmıştır. *P. oleracea* soğuk tabiatlı ve asidik tadı olan bir bitkidir. Diyarenin durdurulması için kanın soğutulması amacıyla da besin olarak kullanımı araştırılmıştır. Bileşiklerin *in vitro* antibakteriyel özellikleri MIC ve minimal bakterisidal konsantrasyon (MBC)

testleri incelenmiştir. Antibakteriyel testler yeni bileşiklerin enteropatojenik bakterileri yüksek derecede inhibe ettiği veya öldürdüğü de rapor edilmiştir.

Sun vd. (2015) *P. oleracea* L. ve *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz bitkilerinin su ve etanol ekstraktlarının ineklerde meme iltihabına neden olan patojenik *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus galactiae* ve *Streptococcus dysgalactiae* bakterilerine karşı antibakteriyel etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. *P. oleracea* L.'nin etanol ekstraktı *Escherichia coli* dışındaki bakterilere karşı, su ekstraktına göre daha yüksek inhibisyon göstermiştir. *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz su ekstraktı etanol ekstraktına göre daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir. Çalışmada her iki bitkinin ekstraktlarının en çok *Escherichia coli*'ye karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *P. oleracea* L. (0.5 g/mL) 22.7 ± 0.24 mm'lik bir inhibisyon zonu oluştururken, *Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz 21.3 ± 0.16'lık bir zon oluşturmuştur. Ayrıca ekstrakt derişimi arttıkça antimikrobiyal aktivitenin de arttığı rapor edilmiştir.

Askari vd. (2016) tarafından *P. oleracea* hidro-etanolik ekstraktlarının izole insan lenfositlerinde Th1/Th2 dengesine etkisi incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlarla yapılan çalışmada kanser veya astım gibi hastalıklarda Th1/Th2 dengesindeki azalma sonucu ortaya çıkan iltihaplanmada *P. oleracea*'nın tedavi edici etkisi olduğu ifade edilmiştir.

Li (2016) tarafından *P. oleracea* L.'den üç yeni alkaloid (oleracimine A, oleracone A ve oleracone B) ile daha önceden bilinen fakat *P. oleracea* L.'de bulunduğu ilk kez gösterilen β -carbolinoleracimine'nin lipopolisakkarit makrofajlarda antienflamatuar etkisi incelenmiştir. Oleracimine'nin nitrik oksit üretimini kayda değer derecede inhibe ettiği ve hücre kültürü süpernatantlarında tümör necrosis faktör 6, prostaglandin E2 sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir.

Sadeghi vd. (2016) tarafından semizotu tozunun (POP) 280 günlük et tavuklarının büyüme performansı, karkas karakteristiği, antioksidan özellikleri ve kan metabolitleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Karaciğer CAT düzeyi yükselmiş, eritrosit G-SH-Px aktivitesi de yüksek bulunmuştur. Serum total antioksidan kapasitesi ve serum ve karaciğer MDA düzeyleri etkilenmemiş, serum trigliserit düzeyleri ise yükselmiştir. Diyete POP ilavesi *Lactobacillus* popülasyonunu arttırmış, *E. coli* popülasyonunu azaltmıştır. Sonuçta POP'un beslenme etkinliğini

ve antioksidan durumunu güçlendirdiği ve et tavuklarının yeminde katkı maddesi olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Bai vd. (2016) tarafından *P. oleracea* L.'nin anti-diyabetik etkisi incelenmiştir. Semizotunun diyabet tedavisinde kullanılabilirliğinin araştırıldığı bu çalışmada polisakkaritler bitkiden ayrıştırılarak saflaştırılmış, fiziksel ve kimyasal özellikleri ile antioksidan aktivitesi ve anti-diyabetik mekanizması, ilaç geliştirilmesi amacıyla, araştırılmıştır. Semizotundan ham suda çözünür polisakkarit elde edilerek vücut ağırlığına, glukoz toleransına, açlık kan glukozuna, açlık serum insülinine, insülin duyarlılık indeksine, interlökin-6, metandikarboksilik asit dehidrojeneze etkileri incelenmiştir. Sonuçlar semizotu bitkisinin ham ekstraktlarının antidiyabetik etkisinin ekstraktların antioksidan ve antienflamatuar etkilerinden kaynaklandığı fikrini vermektedir.

Meng vd. (2016) tarafından Oleracone olarak isimlendirilen ve *P. oleracea* L.'den elde edilen bir alkaloidin anti-enflamatuar etkisi ve farmokinetiği incelenmiştir. Oleracane'un oldukça yüksek anti-enflamatuar etkisi bulunmuştur.

Wang vd. (2017) tarafından *Portulaca oleracea* (semizotu) bitkisinin indol amidleri içeren fenolik ekstraktlarının yaşlı farelerde yüksek dozda D-galaktoz/NaNO₂ ile indüklenmiş zihinsel bozulma üzerine etkisi incelenmiştir. Bitki ekstraktları, karşılaştırma amaçlı kullanılan nootropik ilaç piracethoun (PAA) ile benzer şekilde yaşam sürecini uzatmış ve hatırlama yeteneğini arttırmıştır. Düşük ve yüksek dozdaki PAA'ların öğrenme kabiliyetini de arttırdığı tespit edilmiştir. Yüksek dozdaki PAA'ların yükselen SOD aktivitesini normale düşürdüğü, CAT aktivitesini yükselttiği ve beyin ve plazmada malondialdehit (MDA) düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir. Ayrıca PAA'ların hipokampal nöronal hasarı inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. Sonuçta bu fenolik ekstraktların yaşlanmayı engelleyici ve yaşlanmaya bağlı zihinsel fonksiyonların yetersizliği üzerine olumlu etkiler yapacağı görüşü ifade edilmiştir.

Iransahy vd. (2017) tarafından *P. oleracea* L.'nin geleneksel kullanımı, fitokimyası ve farmakolojisi gözden geçirilmiştir. *P. oleracea* De Materia Medica'da damar büzücü olarak isimlendirilmiş ve baş ağrısı, diğer organların enflamasyonu, mide yanması, idrar yolu hastalıkları, diş uyuşması, yüksek ateş, kurt, dizanteri, hemoroid, kan toplanması ve ısıriklara karşı kullanılabileceğini ifade etmişlerdir. Bu bitkinin fitokimyasal incelenmesi sonucu alkaloid, terpenoid,

flavonoid, organik asit ve ikincil metabolit çeşitleri açısından zengin olduğu rapor edilmiştir. En önemli farmakolojik etkilerinin böbrek koruyucu etki ve metabolizma üzerine olan etkileri olduğu bildirilmiştir. *P. oleracea*'nın metabolik sendromlu hastaların kan şekeri ve lipid profillerini düşürdüğü, ayrıca bitkinin güvenilirliğinin de pek çok klinik deneyde ispatlandığı bildirilmiştir.

Li vd. (2017) tarafından *P. oleracea*'dan oleraciamid A ve oleraciamid B adı verilen iki alkaloidin ilk kez izolasyonu rapor edilmiştir. Bunlardan oleraciamid A'nın insanlar için 80 µM'a kadar sitotoksite göstermediği bildirilmiştir.

Kaveh (2017) tarafından *P. oleracea* ekstraktı ve onun bir bileşeni olan alfa-linoleik asidin serum oksidan düzeyleri ve enflamatuar hücrelerin üzerine etkisi incelenmiştir. Değişen derişimlerde *P. oleracea* ekstraktı verilen gruplarda SOD, CAT ve tiyol değerlerinin azaldığı fakat NO₂, NO₃, MDA ve total beyaz kan hücreleri (WBC) sayısı ve ezonofil ve nükleofil yüzdelерinin arttığı görülmüştür. Sonuç olarak *P. oleracea* ekstraktı ve onun bir bileşeni olan alfa-linoleik asidin enflamatuar hücreler ve serum oksidan, antioksidan düzeylerine pozitif etki yaptığı bildirilmiştir.

Sallam ve Anwar (2017) tarafından Dünya Sağlık Örgütü tarafından oluşturulan en fazla kullanılan tıbbi sistemlerde yer alan semizotunun antioksidan düzeyleri üzerinde bazı çözenlerin etkisi ve ışın etkisi incelenmiştir. Metanol, etanol ve distile su ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri DPPH, FRAP, βCB (β-karoten bleaching) yöntemleri ile ölçülerek araştırma yapılmıştır. Yüzde ellilik metanol ile yapılan ekstraksiyonlarda daha yüksek antioksidan aktivite elde edildiği görülmüştür. Işınların dozuna bağlı olarak total antioksidan içeriği ve aktivitesi de artmıştır. HPLC ile ölçülerek 9Kgy ışına ve %50'lik metanol ekstraksiyonu ile doğal fenolik asit bileşiklerinin en yüksek seviyesine ulaşıldığı saptanmıştır.

Mousavi ve Niazmand vd. (2017) tarafından semizotu tohumunun yağ asidi kompozisyonunu ve oksidasyon kinetiği parametreleri araştırılmıştır. Linoleik, α-linoleik, palmitik ve oleik asitlerin semizotu bitkisinde dominant yağ asitleri olduğu bulunmuştur. Doymuş yağ asitleri total yağ asitlerinin yaklaşık %21'ni oluşturmaktadır. Geriye kalan %78.9 ise doymamış yağ asitlerinden oluşmaktadır. Semizotu tohumunun farklı su-metanol oranları ile elde edilen ekstraktlarının

DPPH radikal süpürme aktivitesi ölçümü sonucunda farklı antioksidan aktiviteler bulunmuştur. Lipid oksidasyonu hızı sıcaklığa oldukça yüksek oranda bağlıdır.

Durđević vd. (2018) tarafından mükemmel bir biyolojik aktiviteye sahip olan nar çekirdeklerinin yağı (PSO) antioksidan ve sitotoksik potansiyeli açısından incelenmiştir. Mikrodalga ile muamele edilen çekirdeklerin süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile yağı elde edilmiş ve yağ asidi, karotenoid ve tokoferol içeriğini araştırmışlardır. Çoklu doymamış yağ asitleri açısından iyi bir kaynak olduğu (%83.5) ve tekli doymamış ve doymuş yağ asitleri açısından da sırasıyla %9.5 ve %7.0 içeriği saptanmıştır. α -TEAC analizi ile antioksidan aktivitesi saptanmış; Mikrokültür Tetrazolyum Testi (MTT) ile malin HeLa, LS174 ve A549 hücrelerine karşı sitotoksik aktivitesi saptanmıştır. Normal hücrelere sitotoksikite gösterebildiği de belirlenmiştir.

Santiago-Saenz vd. (2018) tarafından fitokimyasal ve biyoaktif bitkilerin potansiyel kaynağı üç sebzenin (*Amaranthus hybridus* L., *Chenopodium berlandieri* L., *Portulaca oleracea* L.) fizikokimyasal, besinsel antioksidan karakterizasyonunun çalışıldığı çalışmada en farklı total flavonoid içeren sebzenin semizotu olduğu ve en yüksek antioksidan aktiviteyi (DPPH ve FRAP metodu ile) gösterdiği saptanmıştır. Bu örneklerin yüksek besin değeri olduğu da tartışılmıştır.

Montoya-García vd. (2018) tarafından gübreleme ile semizotu bitkisinin yağ asidi içeriğinde ve antioksidan kapasitesindeki değişimlerin ilişkisi incelenmiştir. Bu içeriklerin azot, fosfor ve potasyum gibi abiyotik faktörlerle etki kurabilmeleri dikkate alınarak N, P, K gübrelemeleri uygulanmış iki farklı hasat dönümü (27 ve 42 gün) ve farklı gübre dozları kullanılarak incelenmiştir. Azot gübrenmesi düşük dozlarda total fenolik, flavonoid, β -karoten ve klorofil miktarını, yüksek dozlarda linoleik ve α -linoleik asit miktarı incelenmiştir. P ve K uygulaması total fenolik ve askorbik asit içeriğini arttırmıştır. Bu çalışma semizotu bitkisinin içeriğinin ve antioksidan kapasitesinin gübreleme ayarlaması ile kontrol edilebileceği fikrini oluşturmuştur.

Ma vd. (2018) tarafından semizotundan dört lignin aydınlatılmış ve antioksidan aktivesi araştırılmıştır. Semizotundan oleralignan adı verilen yeni bir lignin ve (+)-siringaresinol, (+)-lirioresinol A ve monometil 3,3', 4,4'-tetrakidoki-5-truksinat bileşiği izole edilmiştir. Bu dört ligninin antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi ile

antioksidan ve bu ligninlerin BHA'dan daha yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

Fan vd. (2019)'nin çalışmasında semizotu etanol ile ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstraktın domuz etinin 4°C'de saklanması sırasında gösterdiği koruyucu etkisini incelemişlerdir. Ekstraktın DPPH yöntemi ile ölçülen IC₅₀ değeri $42.87 \pm 2.87 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır. Sentetik bir antioksidan olan BHA'nın IC₅₀ değerine ($5.26 \pm 0.35 \mu\text{g/mL}$) göre 8 kat daha yüksek IC₅₀'ye sahip olan semizotu ekstraktının DPPH radikal süpürücü aktivitesinin yadsınamaz derecede olduğu kabul edilmiştir. Ekstraktın amonyum molibdat metodu ile belirlenen total antioksidan kapasitesi ise BHA'ya göre 1.5 kat düşük bulunmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kimyasallar ve Cihazlar

3.1.1. Kimyasallar

Etanol, metanol, gallik asit, BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), rutin, NADH (nikotinamid adenin dinükleotid), NBT (nitroblue tetrazolyum), PMS (fenazin metasülfat), sodyum hidroksit (NaOH), PGR (pirogallol red), alüminyum klorür heksahidrat ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil), *n*-hekzan, demir (II) klorür (FeCl_2) ve TBA (tiyobarbitürik asit), potasyum ferrisiyanür, Folin-Ciocalteu reaktif ve toluen kimyasalları Sigma (Steinheim, Almanya)'dan temin edildi.

Potasyum heksaziyanoferrat [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$], askorbik asit, 2,2'-Azo-bis(2-aminidinopropan dihidroklorür (AAPH) ve [(±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilroman-2-karboksilik asit] (Troloks) kimyasalları Fluka (Buchs/Switzerland)'dan temin edildi. $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (bakır(II) klorür dihidrat), neokuproin (2,9-dimetil 1,10-fenantrolin kimyasalları Aldrich (Milwaukee, WI, ABD)'den temin edildi.

NH_4Ac (amonyum asetat), NH_4SCN (amonyum tiyosiyanat), linoleik asit, EDTA (etilen diamin tetra asetik asit), $\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (demir (III) klorür tetrahidrat) $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (demir (III) klorür heksahidrat) ve HCl (hidroklorik asit) kimyasalları Merck (Darmstadt/Almanya)'dan temin edildi. Glasiyel asetik asit, KH_2PO_4 (potasyum dihidrojen fosfat) ve TCA (trikloroasetik asit) Carlo Erba (Ronado/İtalya)'dan temin edildi. Tüm deneylerde ultra saf su kullanıldı.

3.1.2. Cihazlar

Deneylerde su banyosu [Memmert (WBU)], hassas terazi [0.0001 g duyarlılıkta, Ohaus-Pioneer (PA214C)], pH metre [Hanna (pH) 211], çalkalamalı su banyosu [Memmert (WB14)], spektrofotometre [Shimadzu (UV-1601)], vorteks [Heidolph (Reax Top)], otomatik pipetler [Brand (Transferpette)], manyetik karıştırıcı [Hanna (HI190M)], buzdolabı [Vestel (White FR 540)], distile su cihazı [GLF (2001/4)], ultra saf su cihazı (Millipore, Simplicity UV, Fransa), liyofilizatör [Labconco (Freezone 6)], rotary evaporatör [IKA (RV 05 Basic 1B)], etüv ve masaüstü çalkalayıcı [Heraeus (Fuktion Line)] kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. *Portulaca oleracea* L. Bitkisinin Toplanması ve Ekstraktların Hazırlanması

Bitkinin toplanması: Yabani semizotu örnekleri İzmir'in Bayındır ilçesindeki Karapınar köyünden (GPS: 38°12'31.5"N 27°32'21.6"E) toplandı. Tohumu Bursa Tohumculuk A.Ş.'den temin edilen kültür semizotu (Çeşit: BT Yeşil Kulak) örneklerinin ekimi ise Aydın ili Koçarlı ilçesinde bulunan Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü araştırma görevlisi Seçil KÜÇÜK KAYA tarafından yapıldı. Laboratuvara getirilen örnekler temizlenip ayıklandıktan sonra açıkta kurutma işlemine alınarak kurutuldu. Fakat açıkta kurumaya bırakılan semizotu bitkisi örnekleri 24 saat içinde çürüdü. Bu nedenle açıkta kurutma yönteminden vazgeçildi. Bitki doğrudan kullanılarak, liyofilizasyon ve sıvı azotta parçalama olmak üzere iki farklı yöntemle parçalandı ve ekstrakt hazırlama aşamasına geçildi.

Ekstraktların hazırlanması: Yabani ve kültür semizotu bitkisinde ekstraktlar hazırlanması için önce iki farklı yöntem kullanıldı. Birinci yöntemde toplanıp yıkanan ve ayıklanan yabani ve kültür semizotu yaprakları sıvı azot içinde dondurularak parçalandı. Etüvde 25°C'de 24 saat kurutuldu ve daha sonra boyut küçültmek üzere blender yardımı ile öğütüldü. İkinci yöntemde ise yabani ve kültür semizotlarının yaprakları dondurulup liyofilizatörde 24 saat kurutulduktan sonra öğütüldü. Hazırlanan örnekler farklı polariteye sahip üç farklı çözügen [etanol, metanol, su (sırasıyla 20°C'deki dielektrik sabitleri: $\epsilon_{\text{etanol}}= 32.63$, $\epsilon_{\text{metanol}}= 24.30$, $\epsilon_{\text{su}} = 80.37$)] ile ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. Öğütülmüş kuru örneklerden etanol, metanol ve su ekstraktlarının her biri için sırasıyla: liyofilizatörde kurutulmuş örnekten 5.0 g; azotta dondurulmuş örnekten de 5.0 gram tartıldı ve üzerlerine 50'şer mL çözügen (etanol, metanol, su) eklendi. Dört saat karışmaya bırakıldı. Dört saatlik karışma sürecinden sonra ekstraktlar süzüldü. İkinci ekstraksiyon süreci 20 saat ve 3. ekstraksiyon süreci 24 saat olmak üzere aynı işlemler 3 kez tekrarlanarak toplamda 48 saatlik ekstraksiyon süreci tamamlandı. Süzüntüler birleştirildi. Su ekstraktlarının suyu liyofilizatörde, etanol ve metanol ekstraktlarının çözügenleri evaporatörde uçuruldu. Elde edilen kalıntılar folyo ile kaplanmış cam şişelerde ağzı kapaklı olarak buzdolabına (+4°C) yerleştirilmiş desikatörde saklandı. Tüm örneklerle aşağıdaki antioksidan kapasite tayin yöntemleri ve antimikrobiyal aktivite tayini işlemi uygulandı.

3.2.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH)

DPPH radikal süpürücü aktivite tayini Brand-Williams vd. (1995)'a göre yapıldı. DPPH'in metanolde hazırlanan $1,0 \times 10^{-4}$ M çözeltisinden 0.3 mL alınarak üzerine 0 (Kontrol) 10-50-100-250-500-750 ve 1000 $\mu\text{g/mL}$ derişimindeki ekstrakt çözeltilerinden (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ekstraktı ise suda çözüldü) 0.9 mL ilave edildi, vorteks ile çalkalandı ve 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süreci bittikten sonra 517 nm'de absorbans okundu. Standart antioksidanlar olarak BHT, BHA, Troloks, rutin ve gallik asit kullanıldı. Yüzde inhibisyon değeri aşağıdaki formülden hesaplanarak derişime karşı yüzde inhibisyon grafiğı çizildi ve her bir örnek/standart antioksidan için IC_{50} değerleri hesaplandı. İşlemler üç kez tekrarlandı ($n=3$).

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}} \times 100$$

A_{Kontrol}: Kontrolün absorbansı

A_{Örnek}: Örneğın/standart antioksidanın absorbansı

3.2.3. Toplam Fenolik Bileşik Tayini (TPC)

Toplam fenolik bileşik tayini, Singleton vd. (1999)'a göre yapıldı. Her bir ekstraktın 0.5 mg/mL derişimdeki çözeltileri (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ekstraktı ise suda çözüldü) hazırlandı. Bu çözeltilerden 2, 5, 8, 10, 15, 20, 30, 40, 50 μL alındı, üzerlerine sırasıyla 98, 95, 92, 90, 85, 80, 70, 60, 50 μL distile su eklenerek toplam hacim 100 μL 'ye tamamlandı. Hazırlanan stok çözeltilerin üzerlerine 0.25'şer mL Folin-Ciocalteu Reaktif (FCR) satın alındığı şekilde ilave edildi. Üç dakika oda sıcaklığında bekletildi ve sonra 0.75'şer mL %2'lik sodyum karbonat çözeltisi (Na_2CO_3) eklendi. Elde edilen bu karışım iki saat boyunca çalkalayıcıda çalkalandı ve süreç sonucunda oluşan rengin absorbansı 760 nm'de saf suya karşı okundu. Bu yöntemde rutin bileşığı standart olarak kullanıldı. Rutinin kalibrasyon (rutin miktarına karşı absorbans) grafiğinin çizilmesi için 0.5 $\mu\text{g/mL}$ derişiminde hazırlanan rutinin etanoldeki çözeltisinden 2-5-8-10-15-20-30-40-50 μL alınıp toplam hacimler su ile 100 μL 'ye tamamlandı ve yukarıda anlatıldığı gibi örnekler için yapılan işlemlerin aynısı uygulandı. Sonuç olarak örneklerdeki toplam fenolik bileşik miktarı, rutin kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak rutin eşdeğeri olarak hesaplandı. İşlemler üç kez tekrarlandı ($n=3$).

3.2.4. Toplam Flavonoid Tayini

Toplam flavonoid tayini Quettier-Deleu (2000)'e göre yapıldı. Her bir ekstraktın 1.0 mg/mL derişimdeki çözeltilisinden (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ekstraktları suda çözüldü) 1.0'er mL alındı, üzerlerine $AlCl_3$ 'ün metanoldeki %2.0'lik çözeltilisinden 1.0'er mL eklendi. Oda sıcaklığında 15 dakika beklendikten sonra 430 nm'de absorbansları okundu. Bu yöntemde rutin standart olarak kullanıldı. Rutin kalibrasyon (derişime karşı absorbans) grafiğinin çizilmesi için 5-10-20-30-40-50 ve 60 µg/mL derişiminde hazırlanan rutin etanoldeki çözeltilerinden 1'er mL alındı ve ekstraktlara uygulanan işlemlerin aynısı uygulandı. Rutin kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak örneklerdeki toplam flavonoid miktarı rutin eşdeğeri olarak hesaplandı. İşlemler üç kez tekrarlandı (n=3).

3.2.5. Toplam Flavonol Tayini

Toplam flavonol tayini Yermakov vd. (1987)'e göre yapıldı. Her bir ekstraktın 1.0 mg/mL derişimindeki çözeltilisinden (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ekstraktları suda çözüldü) 1.0'er mL alındı, üzerlerine sırası ile $AlCl_3$ 'ün metanoldeki %2.0'lik çözeltilisinden 1'er mL ve %5.0'lik sodyum asetatın sudaki çözeltilisinden 3.0'er mL eklendi, 20°C'de 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sürecinin sonunda 430 nm'de absorbansları okundu. Bu yöntemde rutin grafiği standart olarak kullanıldı. Rutin kalibrasyon (derişime karşı absorbans) grafiğinin çizilmesi için 5-10-20-30-40-50 ve 60 µg/mL derişiminde hazırlanan rutin etanoldeki çözeltilerinden 1.0'er mL alındı ve ekstraktlara uygulanan işlemlerin aynısı uygulandı. Rutin kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak örneklerdeki toplam flavonoid miktarı rutin eşdeğeri olarak hesaplandı. İşlemler üç kez tekrarlandı (n=3).

3.2.6. İndirgeme Gücü Tayini

İndirgeme gücü tayini Oyaizu (1986)'a göre yapıldı. Her bir ekstraktın ve standart antioksidanın 25 mg/10 mL derişimdeki çözeltilisinden (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde ve su ekstraktları suda çözüldü.) 100 µL alındı ve hacimleri su ile 1.0 mL'ye tamamlandı. Üzerlerine sırası ile 1 mL 0,2 M fosfat tamponu pH 6.6 ve 1 mL %1.0'lik potasyum ferrisiyanür [$K_3Fe(CN)_6$] eklendi ve 20 dak 50°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sürecinden sonra 1.0 mL

%10'luk trikloroasetik asit (TCA) eklendi ve hazırlanan bu karışımdan 1.0 mL alınarak üzerine sırasıyla 1.0 mL distile su ve 0.2 mL %1.0'lik FeCl₃ eklenip hazırlanan çözeltilerin 700 nm'de absorbansları okundu. Aynı işlemler askorbik asit kalibrasyon grafiği çizilmek üzere 25 mg/10 mL derişimindeki askorbik asit çözeltilerinden 0-2-4-6-8 ve 10 µL alınıp toplam hacim su ile 1.0 mL'ye tamamlanarak tekrar edildi. Ekstraktların ve standart antioksidanların indirgeme gücü değerleri askorbik asit kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak % askorbik asit olarak hesaplandı. İşlemler üç kez tekrarlandı (n=3).

3.2.7. Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi İle Total Antioksidan Aktivite Tayini

Bu yöntem Saha vd. (2004)'e göre uygulandı. Her bir ekstraktın ve standart antioksidanın 1.0 mg/mL derişimdeki çözeltilerinden (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ekstraktı ise suda çözüldü) 1.0'er mL alındı. Kontrol için 1.0 mL tampon çözelti alındı. Kontrol için tampon çözelti alınmasının sebebi örnek içerisinde de tampon bulunmasıdır. Alınan 1.0'er mL örneklerin üzerlerine sırası ile 1.025 mL 0.081 M linoleik asit emülsiyonu (2.51 mL linoleik asit+100 mL etanol), 2 mL 0.04 M pH 7.4 fosfat tamponu ve 0.975 mL distile su ilave edilip 40°C'de inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan bu çözeltilerden başlangıç anından itibaren 24 saat arayla 144 saate kadar 100 µL alınıp üzerine sırasıyla 4.85 mL etanol (kör için 4.95 mL), 50 µL FeCl₂ (20 mM %3.5'lük HCl'de) ve 50 µL %30'lük amonyum tiyosiyanat eklendi. Hazırlanan bu karışımlar vortekslendikten sonra 500 nm'de absorbansları okundu. Zamana karşı absorbans grafiği çizildi. Kontrolün absorbansının maksimum olduğu saatteki absorbanslar dikkate alınarak örneklerin ve standart antioksidanların total antioksidan aktiviteleri aşağıdaki formülden hesaplandı. İşlemler üç kez tekrarlandı (n=3).

$$A.A. = 100 - (\Delta A_{\text{Örnek}} - \Delta A_{\text{Kontrol}}) / A_{\text{Kontrol}} \times 100$$

A.A. : Antioksidan Aktivite

$\Delta A_{\text{Örnek}}$: *Örnek/standart antioksidan için (t saatteki absorbans – başlangıç anındaki absorbans)*

$\Delta A_{\text{Kontrol}}$: *Kontrol için (t saatteki absorbans – başlangıç anındaki absorbans)*

3.2.8. Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini

Süperoksit anyonu süpürücü aktivite tayini Liu vd. (1997)'nin modifikasyonu ile Gülçin vd. (2003)'e göre yapıldı. Tüplere sırasıyla 16 mM Tris-HCl pH 8.0 tamponunda hazırlanan 50 µM NBT, 78 µM NADH, 100 µg/mL derişiminde ekstraktları ve standart antioksidanların 100 µg/mL derişimindeki çözeltilerinden 0.5 mL alınıp, 10 µM fenazin metasülfat (PMS) çözeltisinden 0.5'er mL eklenip 25°C'de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sürecinden sonra 560 nm'de absorbans değerleri okundu. Yüzde inhibisyon değeri aşağıdaki formülden hesaplanarak inhibisyon değerleri üzerinden bir hesaplama yapıldı. İşlemler üç kez tekrarlandı (n=3).

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}} \times 100$$

A_{Kontrol}: Kontrolün absorbansı

A_{Örnek}: Örneğin/standart antioksidanın absorbansı

3.2.9. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC)

Bakır(II) indirgeyici antioksidan kapasite tayini Güçlü vd. (2006)'a göre yapıldı. Tüplere sırasıyla 0.5 mL 0.01 M CuCl₂, 0.5 mL 7.5 mM neokuproin, 0.5 mL 1 M amonyum asetat (NH₄Ac) (pH 7.0), 0.1 mL (0-10-20-30-40-60-80 ve 100 µg/mL derişimlerinde) örnek veya standart antioksidan çözeltisi ve 0.45 mL distile su eklenip 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sürecinden sonra 450 nm'de absorbans değerleri okundu. Her bir ekstrakt ve standart antioksidan için derişime karşı absorbans grafikleri çizildi. Elde edilen grafiklerin eğimleri Troloks için çizilen standart grafiğin eğimine oranlanarak TEAC_{CUPRAC} değerleri hesaplandı. İşlemler üç kez tekrarlandı (n=3).

3.2.10. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC)

Oksijen radikal absorbans kapasite tayini Lopez-Alarcon ve Lissi (2005)'e göre yapıldı. Küvete sırasıyla 0.5 mL 20 mM AAPH [2,2'-Azo-bis (2-aminodipropan) dihidroklorür] [75 mM fosfat tamponunda pH 7.4], 0.1 mL farklı (70-140-210-280 ve 350 µg/mL) derişimlerde ekstrakt veya standart antioksidan çözeltisi, 0.35 mL fosfat tamponu ve 50 µL 100 µM PGR (pirogallol red) çözeltisi eklenip çalkalandı ve hemen spektrofotometre cihazına yerleştirilip 15 dakika boyunca her dakikadaki absorbans düşüşü 37°C'de kaydedildi. t anındaki absorbans değerleri

t=0 anındaki absorbans değerine oranlanarak zamana karşı A/A° grafiği çizildi. Daha sonra elde edilen eğrilerin doğrusal kısımlarının eğimleri hesaplandı. Kontrolün eğimi her bir derişimde elde edilen eğime bölündü. Derişime karşı R°/R grafiklerinin eğimleri Troloks'un eğimine oranlanarak $TEAC_{ORAC}$ değeri hesaplandı. İşlemler üç kez tekrarlandı (n=3).

3.2.11. Hidroksil Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

Hidroksil radikali süpürücü aktivite tayini Halliwell vd. (1987)'nin biraz modifikasyonu ile Umamaheswari ve Chatterjee (2008)'e göre yapıldı. Bu tayinde fosfat tamponunda çözünebilen su ekstraktlarının ve standart antioksidanların (gallik asit ve Troloks) hidroksil radikali süpürücü aktiviteleri incelendi. Tüplere sırasıyla 0.1 mL 28 mM deoksi-D-riboz [20 mM fosfat tamponunda (pH 7.4)], 0.5 mL farklı (2-4-6-8 ve 10 mg/mL) derişimlerde ekstrakt/standartantioksidan çözeltisi [20 mM fosfat tamponunda (pH 7.4)], 0.2 mL [0,1 mL 1.04 mM EDTA + 0.1 mL 0.2 mM $FeCl_3$ (azot gazı geçirilmiş suda)] çözeltisi, 0.1 mL 1.0 mM H_2O_2 (suda) çözeltisi ve 0.1 mL 1.0 mM askorbik asit (azot gazı geçirilmiş suda) çözeltisi eklenip 1 saat $37^{\circ}C$ 'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süreci bittikten sonra tüplere sırasıyla 1.0'er mL %2.8' lik TCA (trikloroasetikasit, suda) ve %1.0'lik TBA (tiyobarbitürikasit) (50 mM NaOH sulu çözeltisinde) eklendi ve $100^{\circ}C$ 'deki su banyosuna yerleştirilip 20 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 532 nm'de çözeltilerin köre karşı absorbansları okundu. Yüzde inhibisyon değeri aşağıdaki formülden hesaplanarak derişime karşı yüzde inhibisyon grafiği çizildi ve her bir örnek/standart antioksidan için IC_{50} değerleri hesaplandı. . İşlemler üç kez tekrarlandı (n=3).

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{Kontrol} - A_{Örnek}) / A_{Kontrol} \times 100$$

A_{Kontrol}: Kontrolün absorbansı

A_{Örnek}: Örneğin/standart antioksidanın absorbansı

3.2.12. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC)

Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite tayini, Miller vd., (1993) ve Dubeau vd., (2010)'a göre bazı değişiklikler yaparak uygulandı. ABTS'nin distile sudaki çözeltisi (0.0768 g/10 mL) ve potasyum persülfat çözeltisi (0.0132 g/10 mL) karıştırıldı. Çözelti 20-24 saat boyunca mekanik karıştırıcıda bekletildi. Kullanıma hazır gelen mavi yeşil renkli ABTS radikal çözeltisi, 730 nm'de

absorpsiyon 0.700 ± 0.020 olacak şekilde distile su ile 1:1000 oranında seyreltildi. Kuvartz küvete 1.0 mL seyreltilmiş ABTS radikal çözeltisinden ilave edilip üzerine 0-100 $\mu\text{g/mL}$ derişim aralığındaki ekstrakt örneklerinden (etanol ekstraktı etanolde, metanol ekstraktı metanolde, su ekstraktı ise suda çözüldü) ve standart antioksidan çözeltilerinden 50 μL eklendi. Altıncı dakikada 730 nm’de absorbans değerleri okundu. İşlemler üç tekrarlı ($n=3$) yapıldı. Örnekler için çizilen derişime karşı absorbans grafiklerinin eğimi, Troloks için çizilen derişim-absorbans grafiğinin eğimine oranlanarak ($\text{TEAC} = \frac{\text{Eğim}_{\text{örnek}}}{\text{Eğim}_{\text{Troloks}}}$) sonuçlar TEAC katsayısı cinsinden hesaplandı.

3.2.13. Prolin Miktarı Tayini

Ekstraktlardan 0.05 g tartılarak 10 mL %3.0’lük sülfosalisilik asit içinde vorteksenerek homojenize edildi. Süzüntülerden 1.0’er mL tüplere alındı. Birer mL asit-ninhidrin çözeltisi ve 1.0’er mL glasiyel asetik asit ilave edildi. Tüpler 100°C’deki su banyosunda 1 saat bekletildi. Bir saatin sonunda tüpler alınarak buz banyosu yardımıyla soğutuldu ve üzerlerine 2.0’şer mL toluen ilave edilerek şiddetle vortekslendi. Toluen fazları aspire edilerek saf toluene karşı 520 nm’de absorbansları spektrofotometre yardımıyla okundu. Aynı işlemler prolin standardı için de uygulandı. Grafiği aktarılan standart sonuçları yardımıyla örneklerdeki prolin miktarları μg prolin/g kuru örnek cinsinden hesaplandı (Bates, 1973). İşlemler üç kez tekrarlandı ($n=3$).

3.2.14. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Antimikrobiyal aktivite tayini agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri *Staphylococcus aureus* ATCC25929, *Enterococcus faecalis* ATCC21599, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia*, *Escherichia coli* DHIOB bakterilerine karşı denendi. Bu bakteriler Tryptic Soy Agar (TSA) (37g/L) besi yerlerine ekildi ve 37°C’de etüvde inkübe edildi. Bakteriler 5.0 mL distile su içeren tüpler içerisinde 0.5 McFarland bulanıklığa eşdeğer olacak şekilde süspanse edildi. Süspanse edilen bakterilerin ekileceği ve ekstraktların ekleneceği petrilere Mueller Hinton Agar (MHA) döküldü. Bu amaçla 34 g MHA 1 L distile suda çözüldü ve otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edildi. Hazırlanan besi yeri çözeltisi oda sıcaklığında steril hale getirildikten sonra plastik petri kaplarına döküldü ve soğumaya bırakıldı. Katılaştıran MHA besiyerlerine bakteri

süspansiyonlarından steril eküvyon ile ekim yapıldı. Bu besiyerlerine agar delici ile 6 mm çapında kuyucuklar açıldı. Ekstraktlar 1.0 mg/mL ve 10 mg/mL olacak şekilde DMSO'da çözüldü ve 0.45 µm'lik steril filtrelerden geçirildi. Kuyucuklara her bir ekstraktın 1 mg/mL ve 10 mg/mL derişimlerdeki çözeltilerinden 50 µL eklendi. İşlemler iki tekrarlı yapıldı. Petri kapları 1 saat +4°C'de bekletildikten sonra 24 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sürecinden sonra besiyerlerinde inhibisyon zonu oluşup oluşmadığı gözlemlendi.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Şekil 4.1’de çalışmada kullanılan yabani ve kültür semizotu bitkilerinin fotoğrafları görülmektedir.



Şekil 4.1. Bu çalışmada kullanılan yabani (a) ve kültür (b) semizotu bitkilerinin fotoğrafları

Şekil 4.2’ de farklı örnek hazırlama prosedürü uygulanmış semizotu örneklerinin işlem sonrası görüntüleri görülmektedir.



Şekil 4.2. Sıvı azotta parçalama (a) ve liyofilizasyon ile kurutma (b) sonucu elde edilen yabani semizotu örneklerinin fotoğrafları

4.1. *P. oleracea* L. Ekstraktlarının Hazırlanması

Çalışma için iki farklı kurutma yöntemi (liyofilizasyon ve sıvı azotta parçalama) ile hazırlanan semizotu örnekleri kullanılarak yapılan üç farklı çözgen (su, metanol, etanol) ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlar Çizelge 4.1’deki gibi kodlandı.

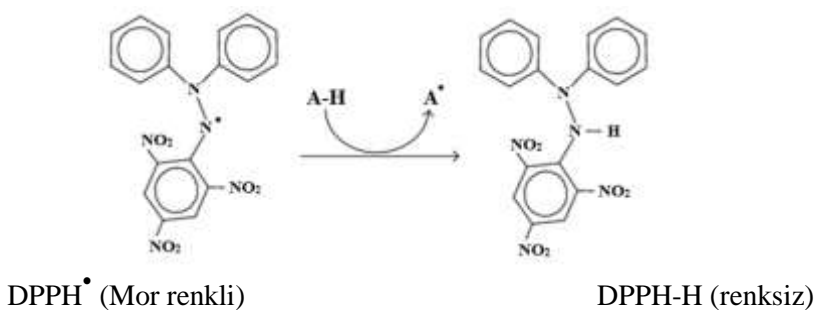
Çizelge 4.1. Liyofilizasyon ve sıvı azotta parçalama ile hazırlanan semizotu örnekleri kullanılarak yapılan üç farklı çözgen (su, metanol, etanol) ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktların kodları

Kurutma Yöntemi	Ekstraksiyon Çözgeni	Kodu
Doğrudan liyofilizasyon	Saf su	LYS-SU
	Metanol	LYS-MET
	Etanol	LYS-ET
Sıvı azot ile parçalanıp etüvde kurutma (40°C)	Saf su	AZOT-SU
	Metanol	AZOT-MET
	Etanol	AZOT-ET

Sıvı azotta dondurularak ve liyofilizatörde kurutularak hazırlanan kültür semizotu örneklerinin verimleri sırasıyla %19.73 ve %8.33 olarak hesaplandı. Aynı yöntemler ile hazırlanan yabani semizotu örneklerinin verimleri ise sırasıyla %12.65 ve %11.48 olarak belirlendi.

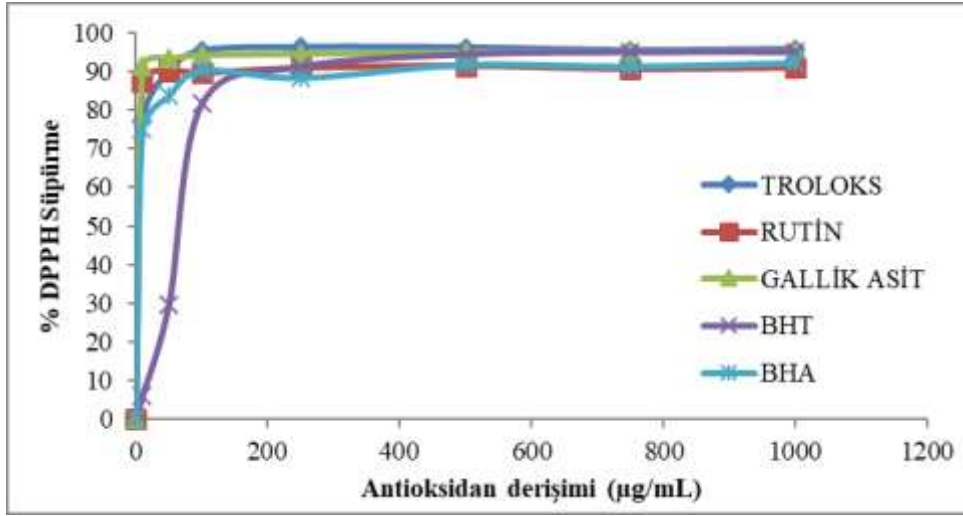
4.2. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini (DPPH) Sonuçları

DPPH bir ET (elektron transfer) antioksidan tayin yöntemi olup reaksiyon (Şekil 4.3) sırasında DPPH radikalinin indirgenmesi renk değişikliği ile takip edilir. DPPH'in 517 nm'de absorbans yapan morumsu rengi renksiz dönüşerek absorbans azalması takip edilir. Bu yöntem kolaylığı nedeniyle antioksidan aktivite tayini için en çok kullanılan yöntemler arasına girmiştir. Ortamda bulunan DPPH radikalini süpürmek için ne kadar az antioksidan kullanılırsa söz konusu antioksidanın aktivitesinin o kadar yüksek olduğu kabul edilir (Roy vd., 2010). Yöntemde gerçekleşen reaksiyon aşağıdaki gibidir (Şekil 4.3):

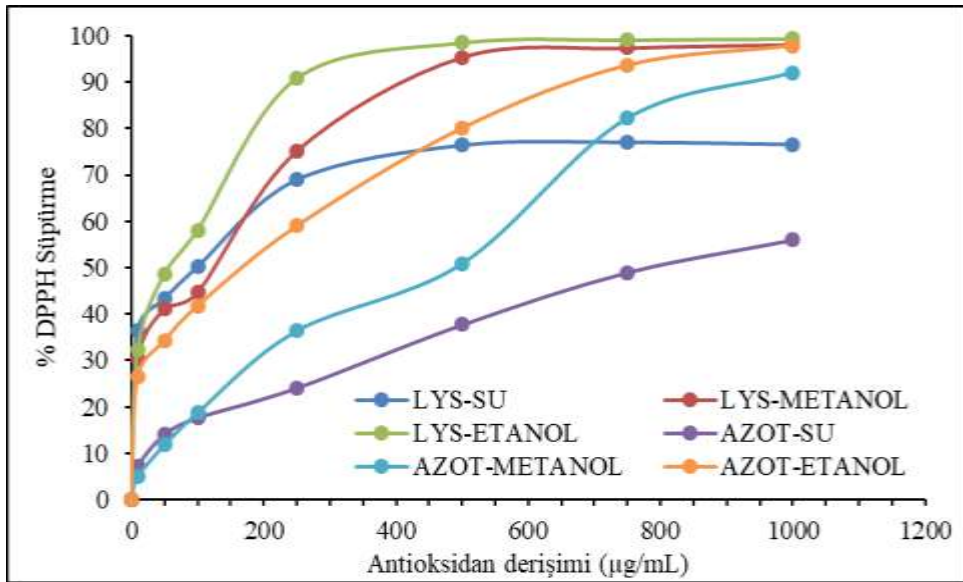


Şekil 4.3. DPPH ile antioksidan bileşikler ile arasındaki reaksiyon

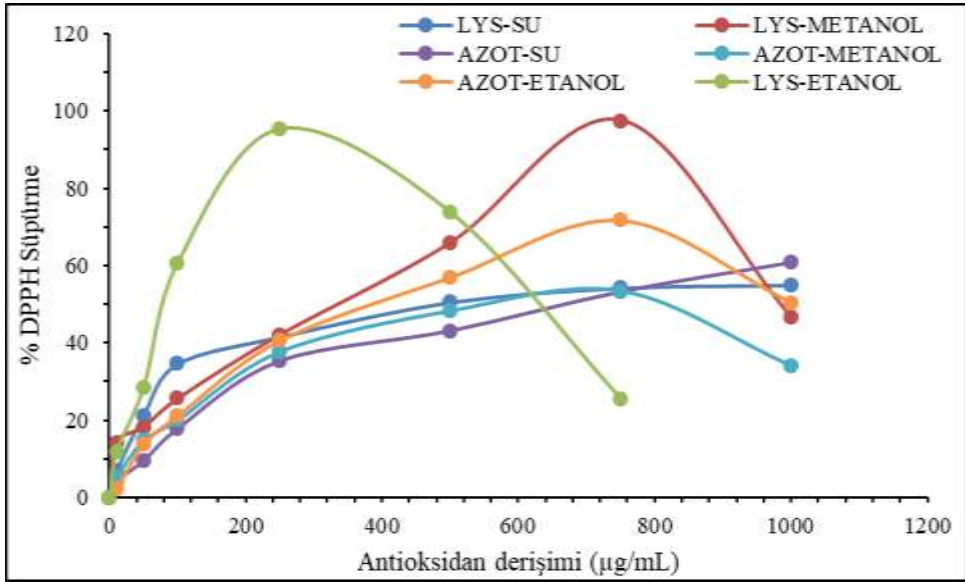
Standart antioksidan bileşikler, kültür ve yabani semizotu örnekleri için DPPH sonuçları Şekiller 4.4, 4.5 ve 4.6'da ve bu grafiklerden elde edilen sonuçlarla hesaplanan $IC_{50} \pm SD$ değerleri (mevcut DPPH radikalının %50'sini süpürmeye yetecek antioksidan miktarı) Çizelge 4.2'de gösterilmektedir.



Şekil 4.4. Çalışmada kullanılan standart antioksidan bileşiklerin DPPH radikal süpürücü aktivitelerinin kinetik eğrileri



Şekil 4.5. Kültür semizotu örneklerinin DPPH radikal süpürücü aktivitelerinin kinetik eğrileri



Şekil 4.6. Yabani semizotu örneklerinin DPPH radikal süpürücü aktivitelerinin kinetik eğrileri

Çizelge 4.2. Kültür ve yabani semizotu ve standart antioksidanların IC₅₀ değerleri

Ekstraktın Cinsi	IC ₅₀ (µg/mL) ± SD				
	Kültür (K) Sonuçları		Yabani (Y) Sonuçları		
	LYS	AZOT	LYS	AZOT	
Su	13.68 ± 0.57	70.95 ± 3.24	75.04 ± 31.67	123.2 ± 38.27	
Metanol	16.49 ± 1.62	100.2 ± 9.45	36.51 ± 9.30	100.9 ± 28.35	
Etanol	15.47 ± 0.82	18.83 ± 0.15	43.07 ± 8.31	335.3 ± 216.9	
Standartlar	BHT	BHA	Rutin	Gallik Asit	Troloks
	83.31 ± 9.00	6.69 ± 0.44	5.59 ± 0.30	5.52 ± 0.03	6.48 ± 0.09

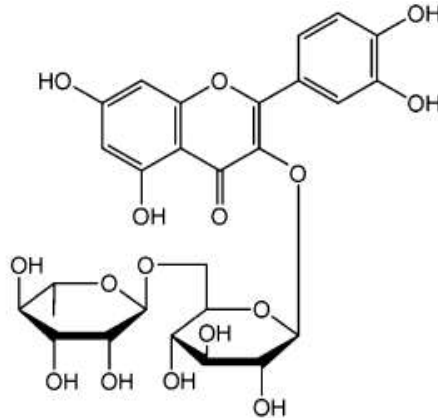
Çizelge 4.2'den görüleceği üzere kültür semizotundan liyofilizasyon yöntemi kullanılarak elde edilen antioksidan örneklerinin hepsi DPPH radikalini süpürmekte oldukça yüksek aktivite göstermişlerdir. Öte yandan azotta parçalama yöntemi ile hazırlanan su ve metanol özütleri daha düşük antioksidan aktivite göstermişlerdir. Erkan (2012) tarafından yabani semizotunun liyofilizasyon yöntemi ile hazırlanan ve metanol ile ekstrakte edilen örneklerinde DPPH yöntemi ile ölçülen antioksidan aktiviteleri bu çalışmada elde edilen aktivitelerden yaklaşık

15 kat daha düşüktür. Oliveria vd. (2019) tarafından farklı çeşit semizotu yapraklarında ve dallarında yapılan bir çalışmada sulu ortamda homojenize edilen örnekler daha sonra kaynar su ile 45 dakika ekstrakte edilmiş ve liyofilizatörde kurutularak DPPH analizine tabi tutulmuştur. Bütün örneklerin yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri; ancak yaprak örneklerinin en yüksek aktiviteye sahip oldukları sonucuna varılmıştır. IC_{25} olarak ifade edilen DPPH radikali süpürücü aktivite incelenen çeşitler arasında Samil örnekleri en yüksek (\sim %80) , Q. Pinheiro Manso örnekleri ise en düşük (\sim % 60) aktivite göstermişlerdir. Dallarda da en iyi sonuç (\sim %70) Samil ile en kötü sonuç (\sim %45) ise S. Bartolomeu çeşidi ile alınmıştır. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri farklı bileşiklerin bir kısmının yararlı etkileri diğerlerinin ise antagonist etkilerinin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Semizotu antioksidan aktiviteye katkı yapan fenolik bileşikler ve organik asitler açısından oldukça zengin bir bitkidir. Bu nedenle, çalışmamızda elde edilen yüksek antioksidan aktivite değerleri zengin antioksidan içeriğinin bir göstergesidir.

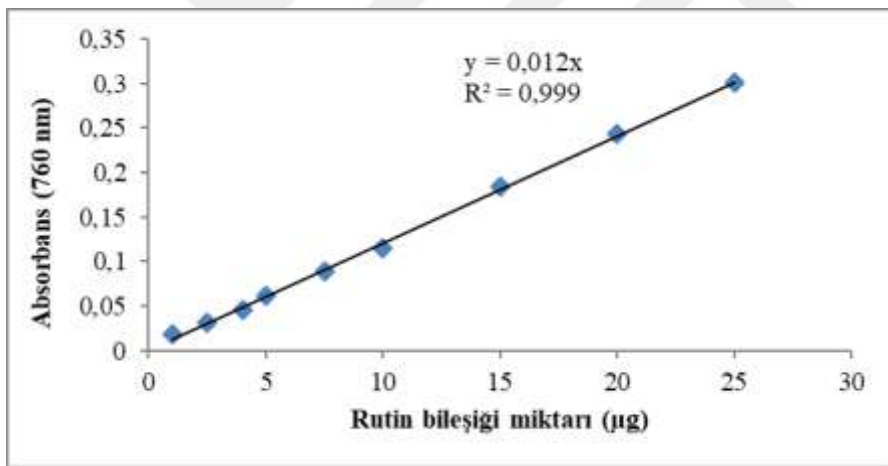
Ancak sentetik standart antioksidan olarak kullanılan BHT'nin de benzer özellik gösterdiği dikkat çekmektedir. Totalde değerlendirildiğinde kültüre semizotu bitkisi özütlerinin DPPH radikal süpürücü aktivite açısından oldukça etkin oldukları ifade edilebilir.

4.3. Toplam Fenolik Bileşik Tayini (TPC) Sonuçları

Fenolik bileşikler yaklaşık 8000 üyesi olan ve antioksidan aktivite gösteren büyük bir aromatik bileşik grubudur. Çoğu zaman bitkinin fenolik bileşik içeriği ile antioksidan aktivitesi arasında pozitif korelasyon vardır. Toplam fenolik bileşik tayini özellikle bitki örneklerinde antioksidan gücün bir göstergesi olarak ifade edilir. Yöntemde genel olarak antioksidan aktivitesi yüksek olan bir saf antioksidan karşılaştırma maddesi olarak kullanılır ve bunun için bir çalışma grafiği kullanılır. Bu lineer grafiğin denklemi kullanılarak ekstraktlardaki total fenolik bileşik miktarı tespit edilir. Bu çalışmada fenolik bileşik olarak rutin (Şekil 4.7) kullanılmış ve hazırlanan çalışma grafiği Şekil 4.8'de verilmiştir. Örneklerin, Şekil 4.8'deki grafiğin denklemi kullanılarak hesaplanan toplam fenolik bileşik içerikleri Çizelge 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Rutin bileşiğinin molekül yapısı (Mauludin ve Müller, 2013)



Şekil 4.8. Toplam fenolik bileşik tayini için hazırlanan rutin bileşiği çalışma grafiği

Singleton ve Rossi tarafından geliştirilen bu yöntem, Folin-Ciocalteu reaktifindeki (FCR) fosfotungstik asit ve fosfomolibdik asit komplekslerinin fenoller tarafından indirgenip molibden mavisi ve tungsten mavisi komplekslerinin oluşması ve bu rengin kolorimetrik olarak 760 nm'de absorbansının ölçülmesi esasına dayanır (Karaca, 2011; İşbilir Selen, 2008; Ikawa vd., 2003).



Çizelge 4.3. Kültür ve yabani semizotu bitkisinin toplam fenolik bileşik miktarları

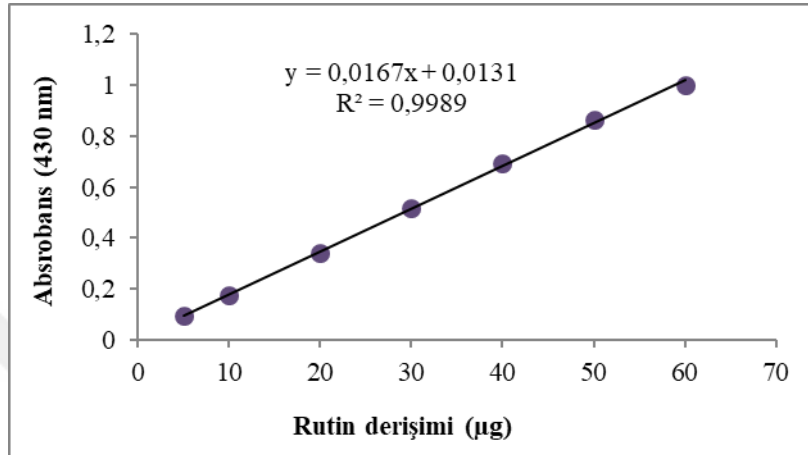
Ekstraktın Cinsi	Toplam fenolik bileşik miktarı (μg rutin/g ekstrakt \pm SD)			
	Kültür (K) Sonuçları		Yabani (Y) Sonuçları	
	LYS	AZOT	LYS	AZOT
Su	39.25 \pm 4.00	32.68 \pm 1.00	79.52 \pm 2.17	45.69 \pm 0.25
Metanol	114.44 \pm 7.09	91.33 \pm 4.50	99.44 \pm 0.83	92.94 \pm 1.31
Etanol	123.15 \pm 3.67	113.91 \pm 7.93	117 \pm 1.62	91.69 \pm 0.67

Çizelge 4.3'den görüleceği üzere liyofilizasyon yöntemi ile hazırlanan kültür semizotu örneklerinde etanolde çözünen fenolik bileşik fraksiyonunun daha yüksek ($123.15 \pm 3.67 \mu\text{g}$ rutin/g ekstrakt) bulunurken; yabani bitkideki etanolde çözünen fenolik bileşiklerin yüzdesi LYS örneklerinde su ve metanol ekstraktlarına göre yüksek bulunmuştur. Öte yandan yabani türün tüm ekstraktlarındaki toplam fenolik bileşik düzeyi kültüre göre daha yüksektir.

Bir çalışmada metanol çözgeni kullanılarak 5 farklı kromatografik fraksiyona ayrılan bir semizotu örneğinde başlıca tespit edilen fenolik bileşikler klorojenik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, rosmarinik asit, kuersetin ve kaempferol olarak bildirilmiştir. Bu bileşiklerden klorojenik, kafeik, p-kumarik, ferulik ve rosmarinik asitler serbest fenolik asitler olup, diğer iki bileşik (kuerstein ve kaempferol) ise flavonoid sınıfına aittirler (Erkan, 2012). Çalışmamızda spesifik antioksidan moleküllerin tayini yapılmamış olmakla beraber total fenolik bileşik miktarlarının oldukça yüksek olduğu ifade edilebilir.

4.4. Toplam Flavonoid Tayini Sonuçları

Pek çok çalışmada semizotu bitkisinin flavonoidleri arasında kaempferol ve kuersetin en bol bulunan ilk beş bileşik içinde sayılmaktadır. Rutin bileşiği ise kaempferolün hidroksil grubu üzerinden glikozillenmiş formu olarak kabul edilebilir. Bu nedenle ve kullanılan metoda uyularak flavonoid standardı olarak rutin kullanılmıştır. Rutin derişimine bağlı olarak ölçülen absorbans değerleri ile oluşturulan çalışma grafiği Şekil 4.9'da görülmektedir.



Şekil 4.9. Total flavonoid tayini için hazırlanan rutin bileşiği çalışma grafiği.

Şekil 4.9'daki çalışma grafiği kullanılarak, çalışılan örneklerde hesaplanan toplam flavonoid tayini sonuçları Çizelge 4.4'de görülmektedir.

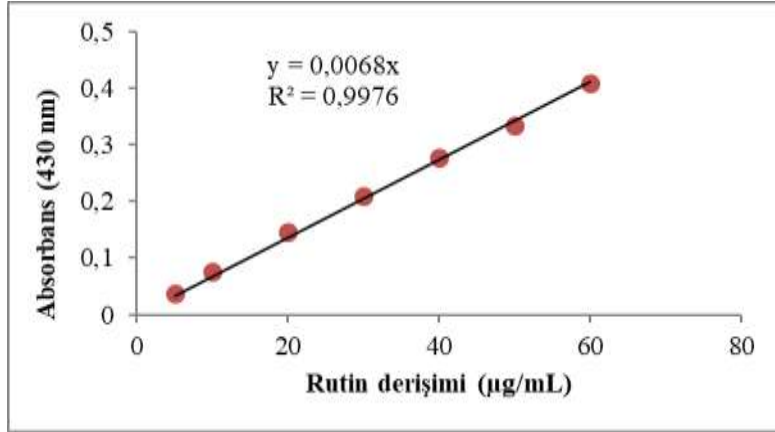
Çizelge 4.4. Kültür ve yabani semizotu ekstraktlarının toplam flavonoid miktarları

Ekstraktın Cinsi	Toplam flavonoid miktarı (µg rutin/g ekstrakt ± SD)			
	Kültür (K) Sonuçları		Yabani (Y) Sonuçları	
	LYS	AZOT	LYS	AZOT
Su	2.15 ± 0.14	4.71 ± 0.07	4.38 ± 0.07	1.31 ± 0.16
Metanol	33.78 ± 2.92	36.86 ± 2.62	44.52 ± 0.05	43.04 ± 0.19
Etanol	14.22 ± 0.10	16.63 ± 1.00	48.05 ± 0.41	47.56 ± 0.06

Sonuçlara göre hem kültür hem de yabani semizotu ekstraktlarının toplam flavonoid miktarında liyofilize örnekler ile sıvı azot ile hazırlanmış örnekler arasında çok büyük farklar ölçülmemiştir. Öte yandan kültüre örneklerde Sallam ve Anwar (2017)'in rapor ettiği sonuçlara uygun olarak metanol ekstraktları en yüksek toplam flavonoid miktarı içerirken; yabani semizotu örneklerinde etanol ekstraktları en yüksek toplam flavonoid miktarı içermektedir. Bu yüksek değerlerin üzerinde, örnek hazırlama yönteminin (liyofilizasyon ile kurutma veya sıvı azotta parçalama etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

4.5. Toplam Flavonol Tayini Sonuçları

Toplam flavonol tayini deneylerinde de rutin bileşiği standart antioksidan olarak kullanıldı ve sonuçlar Şekil 4.10'daki çalışma grafiğinin denklemi kullanılarak μg rutin/mg ekstrakt olarak hesaplandı.



Şekil 4.10. Toplam flavonol tayininde kullanılan rutin bileşiği standart grafiği

Çizelge 4.5'de iki farklı örnek hazırlama yöntemi ile hazırlanmış kültür ve yabani semizotu örneklerinden üç farklı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmiş ekstraktların toplam flavonol miktarları görülmektedir. Çizelgeden görüleceği üzere kültür örneklerinde liyofilize veya sıvı azot örneklerinin toplam flavonol miktarları arasında anlamlı bir fark bulunmazken, yabani semizotu örneklerinde liyofilizasyon ile elde edilen ekstraktların sıvı azot parçalaması ile elde edilenlerden anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.5. Kültür ve yabani semizotu ekstraktlarının toplam flavonol miktarları

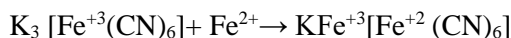
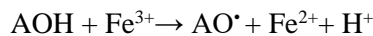
Ekstraktın Cinsi	Toplam flavonol miktarı (μg rutin/mg ekstrakt \pm SD)			
	Kültür (K) Sonuçları		Yabani (Y) Sonuçları	
	LYS	AZOT	LYS	AZOT
Su	2.81 \pm 0.64	6.12 \pm 0.38	2.63 \pm 0.48	0.56 \pm 0.09
Metanol	16.02 \pm 0.71	16.75 \pm 0.36	32.57 \pm 1.41	13.13 \pm 0.89
Etanol	26.09 \pm 2.53	23.34 \pm 0.99	38.78 \pm 0.44	7.42 \pm 0.10

Antioksidan aktiviteleri araştırılan bitkiler söz konusu olduğunda bu özelliklerini pekiştirecek bitki bileşiklerinin en önemli sınıfı fenolik bileşiklerdir. Genel olarak fenolik bileşik tayini Folin-Ciocalteu ile yapılır ve sonuç toplam fenolik madde içeriği olarak verilir. Öte yandan bitkilerde bulunan fenolik bileşikler yaklaşık 8000 çeşide sahip olup flavonoidler bu başlık içinde yer almaktadırlar. Fenolik içeriğin alt başlıkları olan flavonol tayini sıklıkla yapılamayan bir analiz olup literatürde sonuçların rapor edildiği çalışma azdır.

Çizelge 4.5’de sunulan sonuçlara göre *P. oleracea* L. bitkisinin metanol ve etanol ekstraktları flavonoller açısından zengin görülmektedir. Öte yandan az sayıda yapılan çalışmalardan Zhou vd. (2015)’de rapor edildiğine göre *P. oleracea* L. ‘den izole edilen flavonoidlerin ikisi (kaempferol ve kuersetin) flavonol yapısına, apriyenin, luteolin, mirisetin ise flavon yapısına sahiptir. Zhou vd. (2015) tarafından semizotunda varlığı tespit edilen flavanoidlerden Portulacanonones A, B, C, D bileşikleri de flavonoid sınıfında olup alt sınıf olarak homoisoflavonoid sınıfındadırlar. Semizotunda varlığı tespit edilen genistein bir izoflavonon genistin ise bir izoflavonon glikozittir. Bu çalışmada yapılamayan alkaloid, terpenoid, organik asit, vitaminler, mineraller, diğer bileşikler ve fenolik bileşik asit analizlerinin ve bu çalışmada rapor edilen fenolik/flavonoid/flavonol sonuçlarının gösterdiğine göre *P. oleracea* bu kimyasal içeriklerine paralel olarak nöroprotektif, antimikrobiyal, antidiyabetik, anti-enflamatuar, antiülsergenik ve antikanser aktiviteleri gösterebilecek bir bitki olup besin endüstrisinin önemli bir enstrümanıdır.

4.6. İndirgeme Gücü Tayini Sonuçları

Bu tayin yönteminde, potasyum ferrisiyanür ortamında ferrik demir (Fe^{3+}), antioksidan bileşik aracılığı ile ferröz demire (Fe^{2+}) indirgenir ve oluşan potasyum ferri-ferro siyanür kompleksinin 700 nm’de absorbansı ölçülür (Guo vd., 2009). Bu kompleksin oluşum reaksiyonları aşağıda görülmektedir.



$KFe^{3+}[Fe^{2+}(CN)_6]$ kompleksi oluşmadan önce sarı olan çözelti rengi, prusya mavisi renkli kompleksin oluşumu ile yeşil-mavi arası bir renge dönüşür. Mavi renk ne kadar koyu ise o kadar çok Fe^{3+} iyonu indirgenmiş demektir ve reaksiyon

karişımının absorbandsı o kadar fazla olacaktır. Yani absorbands değerindeki artış örneğin indirgeme gücü ile doğru orantılıdır (Guo vd., 2009; Singhal vd., 2011; Vladimir-Knežević 2011; Anonim 9; Tünek, 2015).

Bölüm 3.2.6’da anlatıldığı şekilde yapılan ölçümler sonucu elde edilen indirgeme gücü değerleri kültür semizotu için Çizelge 4.6’da yabancı semizotu için Çizelge 4.7’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Kültür semizotu ekstraktlarının yüzde indirgeme gücü değerleri

Ekstrakt	İndirgeme gücü (% askorbik asit ± SD)	
	100 µL	200 µL
LYS-SU	2.91 ± 0.18	3.43 ± 0.06
LYS-METANOL	3.88 ± 0.07	5.62 ± 0.02
LYS-ETANOL	3.86 ± 0.27	4.38 ± 0.12
AZOT-SU	3.02 ± 0.10	3.44 ± 0.24
AZOT-METANOL	4.09 ± 0.16	4.27 ± 0.44
AZOT-ETANOL	3.94 ± 0.19	4.59 ± 0.09

Çizelge 4.7. Yabancı semizotu ekstraktlarının yüzde indirgeme gücü değerleri

Ekstrakt	İndirgeme gücü (% askorbik asit ± SD)	
	100 µL	200 µL
LYS-SU	3.48 ± 0.19	5.11 ± 0.25
LYS-METANOL	6.72 ± 0.57	6.84 ± 0.36
LYS-ETANOL	35.4 ± 1.50	70.1 ± 4.34
AZOT-SU	0.89 ± 0.67	3.54 ± 0.30
AZOT-METANOL	3.07 ± 0.03	12.9 ± 0.07
AZOT-ETANOL	5.46 ± 0.08	14.5 ± 0.18

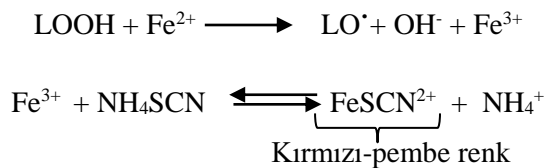
Kültür semizotu ekstraktlarından 100 µL örnek kullanılarak gerçekleştirilen indirgeme gücü deneylerinde her iki yöntemle de hazırlanan (liyofilizasyon ve sıvı azot ile parçalama) örneklerde metanol ekstraktları genellikle kendi içinde daha yüksek indirgeme gücü göstermiştir. Örnek miktarı 2 katına çıkarıldığında aynı katlama tespit edilmemiştir.

Yabani semizotunun liyofilizasyondan sonra etanol ile ekstraksiyonu yapılan örneklerinde 100 µL ile yapılan indirgeme gücü çalışmasında %35.4±1.50 askorbik asit eşdeğeri ölçülmüş; 200 µL ile yapılan indirgeme gücü analizinde bu miktar ikiye katlanmıştır. Kültür örneklerinde ise % askorbik asit eşdeğeri indirgeme gücü tüm örneklerde düşük bulunmuştur.

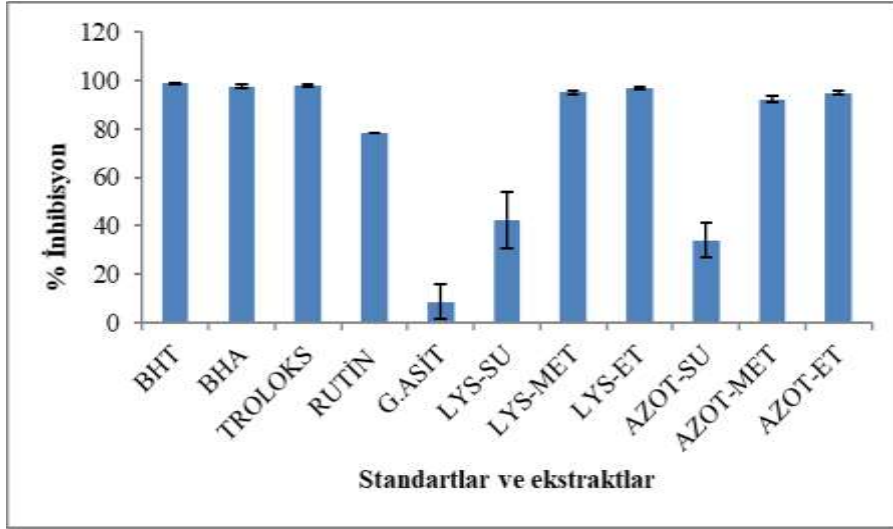
Bitkilerin indirgeme gücü aktivelinin karşılaştırıldığı bir çalışmada Nile vd. (2017) 12 farklı Hint tıbbi ve aromatik bitkinin indirgeme gücü incelendiğinde referans molekül Troloks olduğunda *P. oleracea*'nın indirgeme gücü *Hyssopus officinalis* Linn.'den sonra ikinci en yüksek indirgeme gücü olan bitki olarak rapor edilmiştir. Bu çalışmada referans molekül olarak çok güçlü indirgeme gücüne sahip askorbik asit kullanıldığında değerler LYS-etanol örnekleri hariç düşük görülmekle beraber, LYS-etanol örnekleri nispeten yüksek indirgeme gücü göstermiştir.

4.7. Ferrik Tiyosiyanat Yöntemi İle Total Antioksidan Kapasite Tayini Sonuçları

Bu tayinde linoleik asidin fosfat tamponu ile oluşturulan emülsiyonu ortamında 40°C'de oksidan ile inkübasyonu sonucu oluşan lipid peroksidin miktarı ölçülür. Yüksek absorbans düşük antioksidan aktiviteyi, düşük absorbans ise yüksek antioksidan aktiviteyi gösterir. Ortamda bir antioksidan maddenin varlığında lipid peroksit ürünü oluşmaz ve derişimi dolayısıyla absorbansı düşük çıkar. Aşağıdaki reaksiyonda gösterilen yolla oluşan kırmızı-pembe renkli FeSCN^{2+} kompleksinin 500 nm'de absorbansının ölçülmesi ile antioksidan bileşiğın lipid peroksidasyonunu ne derecede önlediğı belirlenebilir (Yavaşer, 2011). Yöntemin uygulanmasında meydana gelen reaksiyonlar aşağıdaki gibi gösterilebilir:



Kültür ve yabani semizotu bitkisinden liyofilizasyon ve sıvı azot parçalaması yöntemleri ile elde edilen örneklerin su, metanol ve etanol ekstraktlarının ve standart antioksidanların ferrik tiyosiyanat yöntemi ile belirlenen total antioksidan kapasiteleri Şekiller 4.11 ve 4.12'de görülmektedir.



Şekil 4.11. Kültür semizotu ekstraktlarının total antioksidan kapasiteleri



Şekil 4.12. Yabani semizotu ekstraktlarının total antioksidan kapasiteleri

Ferrik tiyosiyanat yöntemi ile saptanan total antioksidan kapasitesi ölçümlerinde kültür semizotu liyofilize ve sıvı azot örneklerinin metanol ve etanol ekstraktlarının hepsi sentetik antioksidanlar olan BHT, BHA ve Troloks'un antioksidan kapasitelerine çok yakın, doğal bir glikozil antioksidan olan rutinden

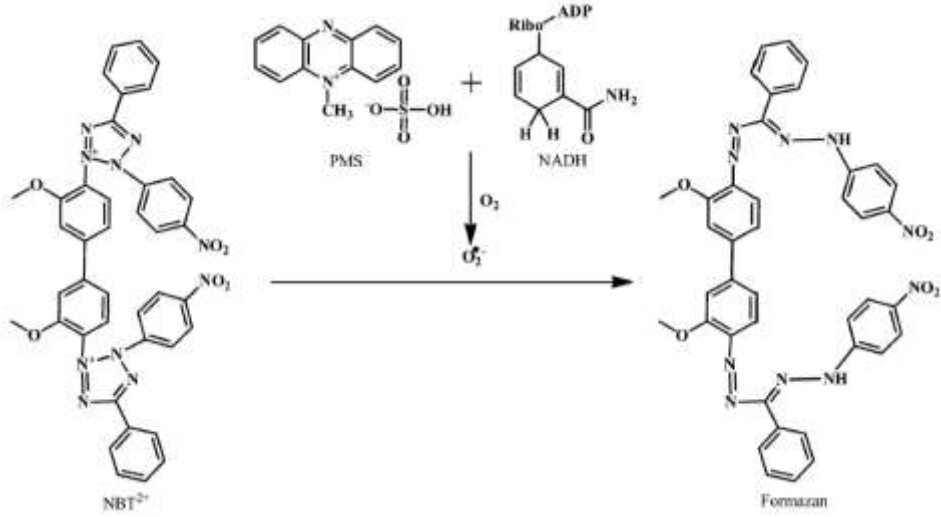
daha yüksek ve yine doğal bir antioksidan olan gallik asitten çok yüksek total antioksidan kapasite göstermişlerdir.

Yabani semizotu liyofilize örneklerinin metanol ve etanol ekstraktları ise BHT, BHA ve Troloks antioksidan kapasitelerine çok yakın, sıvı azot ile hazırlanmış örnekler ise biraz daha düşük fakat yine çok yakın olarak bulunmuştur. Öte yandan kültür semizotunun liyofilize, metanol ve etanol ve azot metanol ve etanol örnekleri yabani türden biraz daha düşük antioksidan aktivite göstermişlerdir. Yabani türün su ekstraktları ise kültüre türün su ekstraktlarından daha düşük total antioksidan kapasitesine sahip olmakla birlikte gallik asitin total antioksidan kapasitesinden daha yüksek kapasite ölçülmüştür.

Semizotunun demleme su ve su ekstraktlarının ferrik tiyosiyonat antioksidan kapasite tayininin araştırıldığı bir çalışmada (Peksel vd., 2006) demleme su için yaklaşık %70; su ekstraktları için ise yaklaşık % 80 inhibisyon tespit edilmiştir. Su ekstraktlarının total antioksidan kapasiteleri düşük ölçülürken metanol ve etanol ekstraktları %100'e yakın antioksidan kapasite göstermiştir.

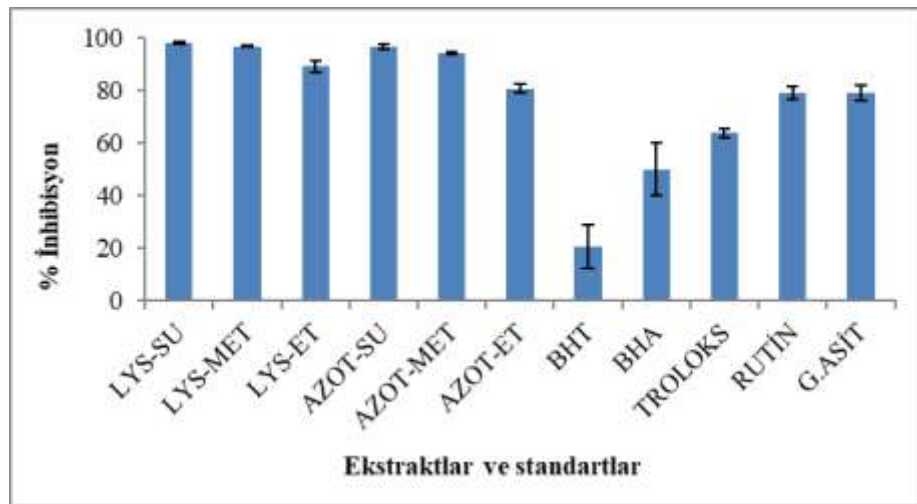
4.8. Süperoksit Anyonu Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları

Bu tayin yönteminde fenazın metasülfat (PMS), nitroblue tetrazolyum klorür (NBT) ve NADH (nikotinamid adenin dinükleotitin indirgenmiş formu) tarafından oluşturulan sistem aracılığı ile antioksidan maddelerin süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikalini süpürme aktivitesi ölçülür. Çözünmüş oksijen varlığında PMS ile NADH'ın reaksiyonu sonucu süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikali üretilir ve ortamdaki sarı renkli nitroblue tetrazolyum (NBT^{2+})'u mavi-mor renkli formazan (NBT) türevine indirgenir (Şekil 4.13). Formazan 560 nm'de maksimum absorpsiyon yapar. Reaksiyon karışımındaki süperoksit radikallerini süpüren antioksidan bileşiklerin fazla olması durumunda düşük absorbans değerleri elde edilir (İşbilir Selen, 2008; Nimse ve Pal, 2015; Tünek, 2015).

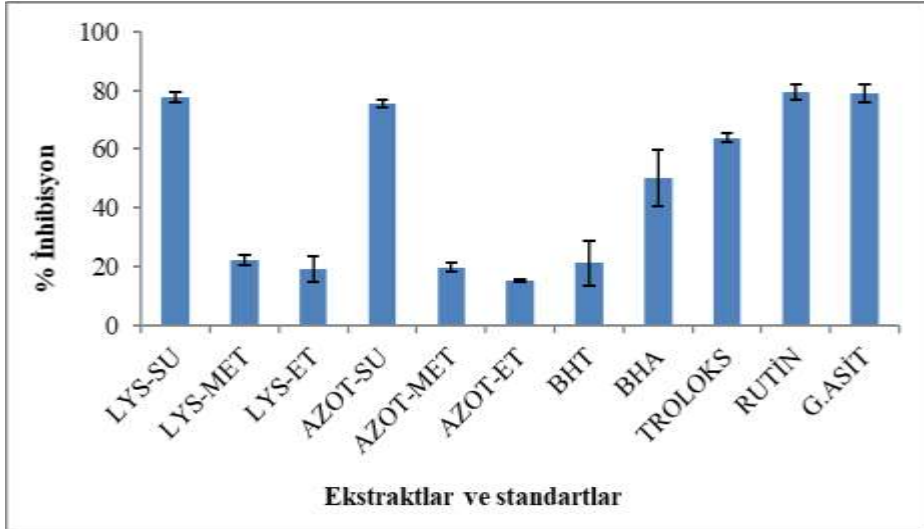


Şekil 4.13. NBT²⁺'nin O₂^{•-} radikalleri ile formazana dönüşme reaksiyonu (Nimse ve Pal, 2015)

Süperoksit radikali süpürme aktivitesi tayininde liyofilize ve azot ile parçalanmış örneklerin tüm ekstraktları karşılaştırma için kullanılan standart antioksidanlardan daha yüksek aktiviteye sahiptirler (Şekiller 4.14 ve 4.15).



Şekil 4.14. Kültür semizotu ekstraktları ve standart antioksidanların süperoksit radikali süpürücü aktiviteleri



Şekil 4.15. Yabani semizotu ekstraktları ve standart antioksidanların süperoksit radikali süpürücü aktiviteleri

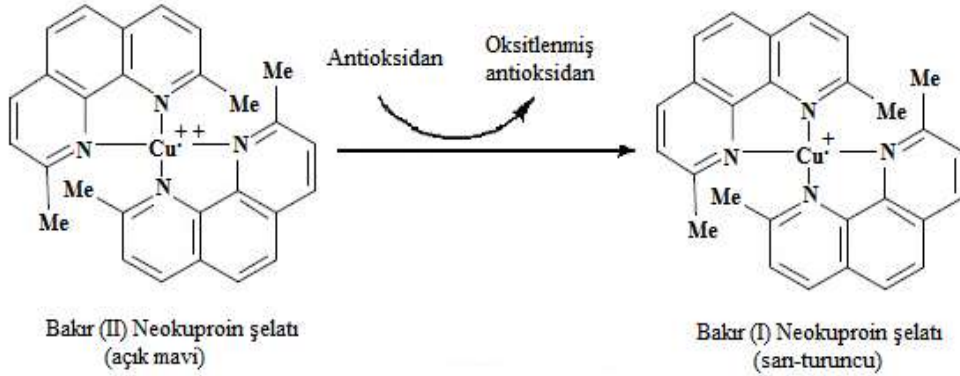
Bu durum süperoksit radikali süpürme aktivitesi söz konusu olduğunda başka örneklerde de gözlenmiştir. Örneğin bazı tıbbi bitkilerde yapılan süperoksit radikali süpürme aktivitesi deneylerinde bir seri bitkinin yaprak ve yaprak sapları ekstraktları pozitif kontrol olan BHT'den daha yüksek veya yakın aktivite göstermişlerdir (Choudhary ve Swarnkar, 2011).

Semizotunun süperoksit radikali süpürücü aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada (Peksel vd., 2006) bitkinin demleme su ve su ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri ölçülmüş ve Epikatekin, BHA, Troloks ve askorbik asidin aktiviteleri ile karşılaştırılmıştır. Semizotu örneklerinin (mg/mL örnekleri) aktiviteleri BHA ve epikatekininkine yakın; Troloks ve askorbik asidinkinin yaklaşık % 50'si kadar antioksidan kapasitesi göstermişlerdir.

4.9. Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite Tayini (CUPRAC) Sonuçları

Total antioksidan kapasite ölçümlerinde kullanılan CUPRAC yöntemi 2000'li yılların başında Apak vd. (2004) tarafından ilk kez geliştirilmiştir. Bu yöntemde Cu(II) indirgenmesi sonucu oluşan Cu(I)'i stabilize etmek üzere neokuproin [2,9-dimetil-1,10-fenantrolin] kullanılır. Hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanların kapasitesini ölçmekte kullanılan bu yöntem geç zamanda

geliştirilmiş olmasına rağmen oldukça fazla kullanım alanı bulmaktadır. Yöntemin esası antioksidan ile CUPRAC reaktifi arasında oluşan redoks reaksiyonu sonucu (Şekil 4.16) Cu(II)-neokuproin (Nc) şelatının 450 nm’de absorbsansının ölçülmesine dayanır (Apak, 2018).



Şekil 4.16. Bakır (II) neokuproin şelatının antioksidan molekül tarafından bakır (I) neokuproin şelatına indirgenme tepkimesi

Bu çalışmada denenen örnekler ve standart antioksidanların derişime karşı absorbsans grafikleri ve bu grafiklerden elde edilen sonuçlarla hesaplanan $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri Çizelge 4.8’de görölmektedir.

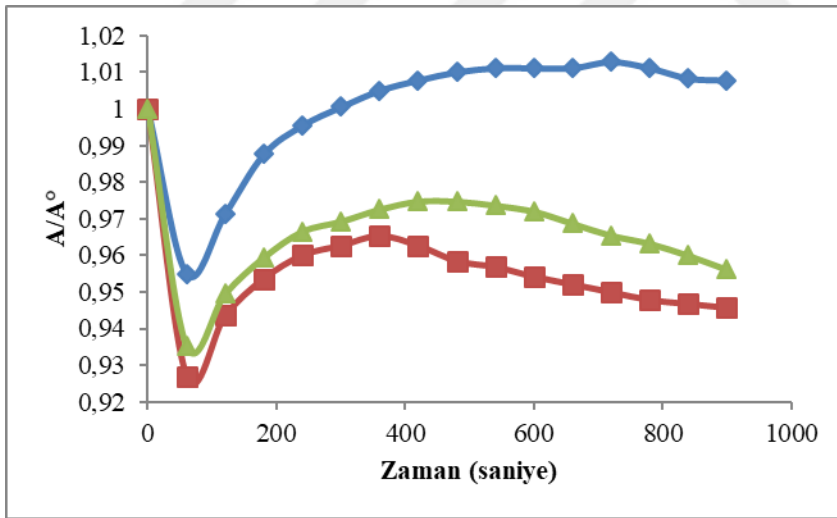
Çizelge 4.8. Çalışmada kullanılan *P. oleracea* ekstraktları ve standart antioksidan bileşiklerin $TEAC_{CUPRAC}$ değerleri

Ekstraktın Cinsi	$TEAC_{CUPRAC} \pm SD$				
	Kültür (K) Sonuçları		Yabani (Y) Sonuçları		
	LYS	AZOT	LYS	AZOT	
Su	$0.08 \pm 0.32 \times 10^{-3}$	$0.06 \pm 0.24 \times 10^{-3}$	$0.09 \pm 0.43 \times 10^{-2}$	0.07 ± 0.06	
Metanol	$0.08 \pm 0.32 \times 10^{-3}$	0.06 ± 0.03	$0.19 \pm 0.75 \times 10^{-3}$	$0.16 \pm 0.43 \times 10^{-2}$	
Etanol	0.17 ± 0.03	0.14 ± 0.06	0.24 ± 0.01	0.15 ± 0.01	
Standartlar	BHT	BHA	Rutin	Gallik Asit	Troloks
	1.34 ± 0.007	1.63 ± 0.02	0.89 ± 0.02	$3.61 \pm 0.88 \times 10^{-2}$	1.00

Çizelge 4.8'den görüldüğü üzere örneklerin TEAC_{CUPRAC} değerleri çok yüksek antioksidan aktiviteye işaret etmemektedir. Kültür örneklerinde en yüksek aktiviteyi her iki örnek hazırlama yönteminde de (liyofilizasyon ve azot ile parçalama) etanol fraksiyonu göstermiştir. Yabani örnekler içinde en yüksek olan liyofilize örneğin etanol ekstraktına ait olan TEAC_{CUPRAC} değeri bile Trolox's'unkinden yaklaşık 4 kat düşüktür.

4.10. Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) Sonuçları

ORAC deneyleri örneklerin sıradışı davranışları nedeniyle değerlendirme dışı bırakılmıştır. Bu ölçüm yönteminde absorbansın giderek azalması ve eğrinin eğiminden hesap yapılması gerekirken defalarca yapılan deneylerde belirli bir süre sonra eğimin ters yönde artması ölçümü ve hesaplamayı imkansız kılmaktadır. Bu duruma bir örnek Şekil 4.17'de gösterilmiştir.

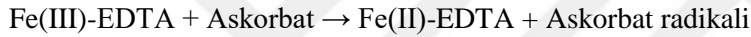


Şekil 4.17. Yabani semizotu liyofilizasyon ile kurutulmuş örneğin etanol ekstraktının ORAC tayini ile çizilen zaman-A/A° grafiği

4.11. Hidroksil Radikal Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları

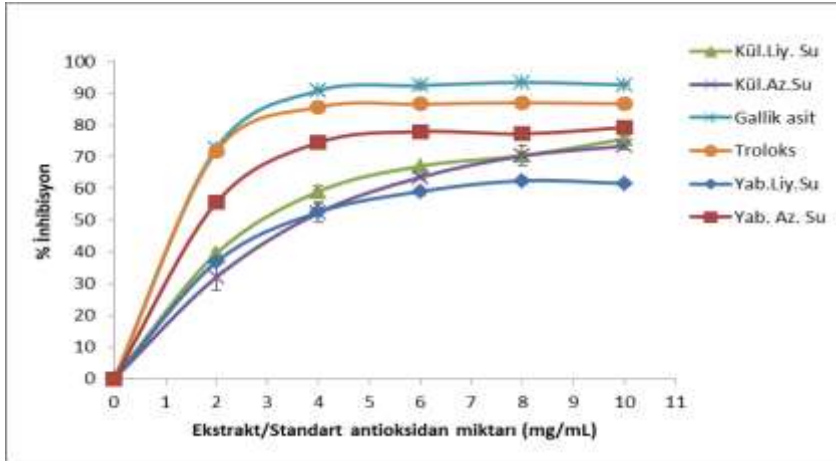
Hidroksil radikali aktivitesi, Fe³⁺/askorbat/EDTA/H₂O₂ sistemi ile oluşturulan hidroksil radikalleri ile antioksidan ve deoksiribozun (2-deoksi-D-riboz) yarışmalı reaksiyonundan yararlanılarak ölçülür (Mary vd., 2002).

Deoksiriboz şekeri Fenton sistemi ile oluşturulmuş hidroksil radikallerini indirger (Çetinyürek, 2012). Bu yöntemde Fenton reaksiyonunun uygulama şekillerinden biri; askorbik asit, hidrojen peroksit ve Fe(III)-EDTA karışımıyla hidroksil radikallerinin üretilmesidir (Tünek, 2015). Hidroksil radikali oluşum reaksiyonları aşağıda verilmiştir:



Hidroksil radikali süpürücü aktivite tayini yöntemi alkol ile ekstrakte edilen ve alkolde çözünebilen örneklere uygulanamamaktadır. Zira alkolün kendisi de hidroksil radikali süpürücü aktivite göstermektedir (Ingelman-Sundberg ve Johansson, 1984). Bu nedenle, sadece kültür ve yabani *P. oleracea* örneklerinin liyofilizasyon ve azotla parçalama teknikleri ile hazırlanmış su özütleri çalışılmıştır. Ayrıca standart antioksidanlardan suda çözünen gallik asit ve Trolox karşılaştırma için kullanılmıştır.

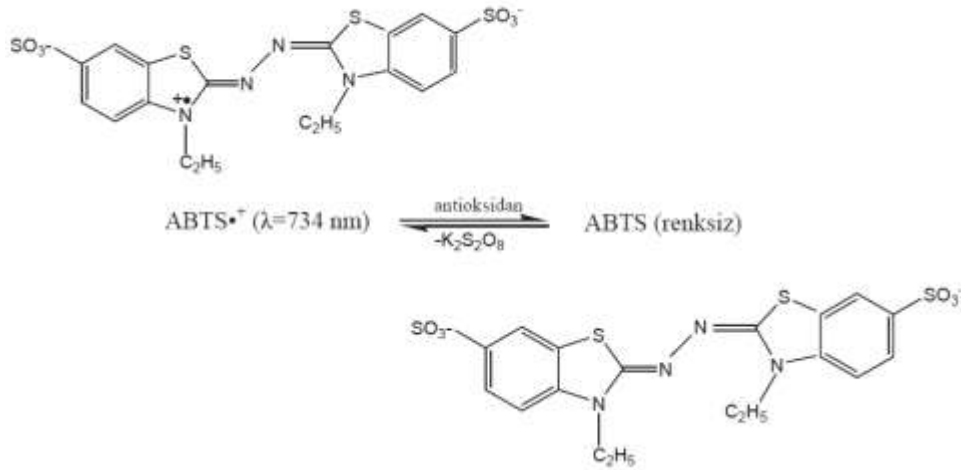
Sonuçlar Şekil 4.18'de görülmektedir. Kültür örneklerinde liyofilizasyon ile hazırlanan ekstraktlar azotla parçalama ile hazırlanana göre daha düşük IC₅₀ değerleri gösterirken, yabani örneklerde azot parçalaması ile hazırlanan su ekstraktları daha düşük IC₅₀ değeri göstermiştir. Öte yandan gallik asit ve Trolox antioksidanlarının IC₅₀ değerleri karşılaştırıldığında özellikle yabani azot su örneği dikkati çekecek kadar yüksek antioksidan aktiviteye sahip olup, diğer üç örnek de yüksek antioksidan aktivite göstermişlerdir.



Şekil 4.18. Liyofilize ve azotta kurutulmuş semizotu ekstraktlarının ve gallik asit ve Troloks standart antioksidanlarının derişime karşı yüzde hidroksil radikal süpürücü aktiviteleri.

4.12. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini (TEAC) Sonuçları

TEAC yöntemi ilk defa 1993 yılında Miller ve Rice-Evans tarafından önerilmiştir. Yöntem $ABTS^{\bullet+}$ radikalinin antioksidan bileşikler tarafından indirgenmesine dayanır. Daha sonraki yıllarda Re ve arkadaşları tarafından (1999) $ABTS^{\bullet+}$ radikalinin, 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) ($ABTS^{\bullet+}$)'in persülfatla oksidasyonu ile önceden oluşturulması tekniği geliştirilmiştir. $ABTS^{\bullet+}$ radikalinden kaynaklanan çözeltinin mavi-yeşil rengi, radikalini indirgenmesi (Şekil 4.19) ile açılır ve 734 nm'deki karakteristik absorbansın azalması takip edilir. Antioksidan bileşiklerin kararlı $ABTS^{\bullet+}$ serbest radikalini süpürme kabiliyeti, Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) ile karşılaştırılması yapılarak değerlendirilir (Büyüktuncel, 2013; Arts vd., 2004; Pellegrini, 2003; Tünek, 2015).



Şekil 4.19. ABTS•⁺ radikalinin antioksidan bileşik tarafından ABTS formuna indirgenme reaksiyonu (Bektaşoğlu, 2007).

Çizelge 4.9. Kültür ve yabani semizotu ekstraktlarının ve standart antioksidanların TEAC yöntemine göre hesaplanan TEAC katsayısı değerleri

Ekstraktın Cinsi	TEAC katsayısı				
	Kültür (K) Sonuçları		Yabani (Y) Sonuçları		
	LYS	AZOT	LYS	AZOT	
Su	0.02 ± 0.08x10 ⁻²	0.008 ± 0.002	0.08 ± 0.03	0.07 ± 0.27x10 ⁻³	
Metanol	0.02 ± 0.001	0.01 ± 0.002	0.08 ± 0.75x10 ⁻³	0.06 ± 0.03	
Etanol	0.02 ± 0.001	0.01 ± 0.001	0.17 ± 0.03	0.14 ± 0.06	
Standartlar	BHT	BHA	Rutin	Gallik Asit	Troloks
	1.34 ± 0.01	1.63 ± 0.02	0.89 ± 0.02	3.61 ± 0.01	1.00

Çizelge 4.9'dan görüleceği üzere kültür ve yabani semizotu örneklerinin liyofilizasyon veya sıvı azotta parçalama ile hazırlanmış su, metanol ve etanol ekstraktlarının çoğu ABTS radikalini süpürme açısından düşük TEAC değerleri göstermiştir. Ancak bu düşük değerler içinde de genel bir değerlendirme yapılacak olursa; yabani semizotu örneklerinin TEAC değerleri kültür semizotu örneklerinininkine göre daha yüksektir.

4.13. Prolin Miktarı Tayini Sonuçları

Pek çok bitkinin çevresel stres etkilerine karşı tepkisi prolin biriktirme şeklinde olmaktadır (Dar vd., 2016). Bitkilerin strese toleransı ile prolin birikimi arasında bir korelasyon olduğu da bilinmektedir. Mevcut bilgiler prolinin bir osmolit olarak davranmasının yanında bir metal şelatlayıcı ve bir antioksidatif savunma molekülü olarak önemli bir görevi olduğunu ifade etmektedir.

Bu çalışmada incelenen örneklerde hesaplanan prolin miktarı değerleri Çizelge 4.10'da görülmektedir.

Çizelge 4.10. Kültür ve yabani semizotu ekstraktlarının prolin miktarları

Ekstraktın Cinsi	Prolin miktarı ($\mu\text{g/g}$ ekstrakt) \pm SD			
	Kültür (K) Sonuçları		Yabani (Y) Sonuçları	
	LYS	AZOT	LYS	AZOT
Su	2945.34 \pm 76.748	1996.27 \pm 20.33	3090.68 \pm 234.47	2220.91 \pm 46.70
Metanol	886.33 \pm 57.78	1247.41 \pm 19.92	376.60 \pm 39.17	292.96 \pm 34.55
Etanol	342.65 \pm 26.33	937.68 \pm 8.56	603.10 \pm 34.90	601.86 \pm 71.89

Liyofilizasyon yöntemi ile hazırlanmış kültür ve yabani semizotu örneklerinde su ekstraktı en yüksek prolin içeriğine sahiptir. Prolinin sudaki çözünürlüğü çok yüksektir (162 mg/100 mL, 25°C'de) . Bu nedenle su ekstraksiyonu ile elde edilen örneklerde bu yüksek değerler beklenen sonuçlardır. Öte yandan prolinin alkoldeki çözünürlüğü düşüktür (1.55 g/100 mL, 35°C'de); bu nedenle değerler beklenen sınırlar içindedir.

Prolin karbohidratlardan sonra en fazla osmotik basınç ayarlayıcısı olarak kabul edilir ve bitkilerin prolin içeriği ile bitkinin uygun olmayan çevre faktörlerine karşı dayanıklılığı arasındaki ilişkiyi rapor eden pek çok çalışma mevcuttur (Hossain vd., 2014).

Prolin bitkilerde osmolit, reaktif oksijen türleri süpürücü, redoks ayarlayıcısı, sitozolik pH tamponu, moleküler şaperon ve protein yapısı stabilizatörü olarak davranır (Szabados ve Savoure, 2010).

Prolinin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber su potansiyeli üzerinde pozitif bir etkisi olduğu ve ksantofil çevriminin koruyucu pigmentlerinin oluşumu üzerinde de etkili olduğu bilinmektedir (Dobra vd., 2010).

Çalışmamızda yabancı semizotu örneklerinde sulu fazda daha yüksek prolin içeriği tespit edilmiştir. Bu beklenen bir durumdur zira kontrol edilmeyen ortamlarda yetişen bitkiler daha fazla oksidatif strese maruz kalırlar ve koruyucu olarak daha fazla prolin içerirler.

4.14. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Sonuçları

P. oleracea L. bitkisinin su ve etanolde elde edilmiş ekstraktları ile yapılan bir antibakteriyel aktivite ölçümünde *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus galactiae* ve *Streptococcus dysgalactiae* bakterilerine karşı 0.5 g/mL'lik derişimlerin etkili olduğu rapor edilmiştir (Sun vd., 2015).

Bir başka çalışmada semizotunun flavonoidlerinin besinlerde üreyen patojenler ve *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor racemosus* ve *Aspergillus niger*'in üremesini önlediği ancak *Candida tropicalis* ve *Saccharomyces cerevisiae*'nin üremesini önlemediği rapor edilmiştir (Dan, 2006). Ayrıca, *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis* (Elkhayat vd., 2008) ve *Helicobacter pylori* (Cho vd., 2008) için de antibakteriyel etki gözlenmiştir.

Ancak çalışmamızda yapılan antimikrobiyal etki araştırmasında denenen yedi farklı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite gözlenememiştir. Antimikrobiyal aktivitenin daha önce rapor edilmiş olmasına rağmen tespit edilememiş olmasının derişimin düşük olmasından ve hazırlanan ekstraktların çok sayıdaki antioksidan aktivite deneyinde kullanılmış olması nedeniyle deneylerin tekrarı için yeterli materyal bulunamamasından kaynaklanmıştır.

5. SONUÇ

P. oleracea besin endüstrisi için oldukça önemli bir bitki olup nörokoruyucu, antimikrobiyal, antidiyabetik, antioksidan, antienflamatuar, antiülserogenik ve antikanser aktivitesi ile bu önemi hak etmektedir. Bu özellikleri, aslında, flavonoidler, alkaloidler, polisakkaritler, yağ asitleri, terpenoidler, steroller, proteinler, vitaminler ve mineraller gibi zengin kimyasal içeriği nedeniyle ortaya çıkmaktadır (Zhou vd., 2015).

Anthony C. Dweck (2001) Kişisel Bakım Magazini'nde semizotu (*P. oleracea*) ile ilgili olarak yazdığı makalesinin girişinde şu ilginç cümleyi kullanmıştır: "Arada bir öylesine mükemmel bir bitkiyle karşılaşırız ki, 'nasıl oldu da bunu daha önce göremedik?' diye merak ederiz. Semizotu böylesine bir bitkidir. Bu bitkinin yeryüzündeki bütün kültürlerde neredeyse aynı tanınırlığa sahip olmasının bir anlamı olmalı." Tarihçesi ile ilgili olarak 1653 yılından itibaren semizotu için yazılanlara bakıldığında bu bitkinin önemi daha iyi anlaşılmaktadır.

Yabani ve *in vitro* kültür bitkilerinde farklı antioksidan aktivitesi olan fenolik bileşik profillerinin farklı olduğu konusunda çalışmalar vardır (Costa vd., 2012) ve bu çalışmalarda bazen kültüre bazen de yabani bitkilerin daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmektedir (Dong ve Yao, 2008). Ayrıca farklı ekstraksiyon metodlarının tıbbi ve aromatik bileşiklerin total fenolik içerikleri, antioksidan, antitümör ve enzim inhibe etme aktiviteleri üzerinde farklılıklar yarattıkları da bilinmektedir (Nile vd., 2017).

P. oleracea'dan izole edilen bileşikler veya üretilen ekstraktların biyoaktiviteleri *in vivo* ve *in vitro* ortamlarda hayvan modelleri ve hücre kültürü çalışmaları ile gösterilmiş olmakla birlikte etki mekanizmaları üzerinde yeteri kadar durulmamıştır. Bu nedenle, *P. oleracea*'nın klinik kullanımları ile ilgili daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

P. oleracea'nın geleneksel tıpta kullanım tarihçesi oldukça eskidir. Ancak, *P. oleracea*'nın farmakolojik özellikleri hala ortaya çıkarılmayı beklemektedir. Bazı hayvan çalışmalarında klinik pratiğe taşınamayacak yüksek dozlar (0.4-2.0 g/kg gibi) kullanılmıştır. Bu nedenle, *P. oleracea* güvenli bir medikal bitki olarak kabul edilmekte ise de insan çalışmalarında yüksek *P. oleracea* dozlarının kullanımı çok dikkat gerektirmektedir (Iranshahy vd., 2017). Ayrıca insan vücudunda emilim,

dağılım ve metabolizmasının aydınlatılması için de pek çok çalışmanın yapılması gerekmektedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda umut verici sonuçlar elde edilmiş olmasına rağmen destekleyici klinik çalışmaların ve insandaki sonuçların gözlenmesinin artması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abascal, K., Yarnell, E. 2002. Herbs and drug resistance. Potential of botanical in drug-resisrant microbes. **Alternative & Complementary Therapies**. Part: 1, 237-241.
- Akyüz, E. 2007. *Polygonum bistorta* ssp. *carneum* bitki ekstraktının kromotografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Anonim 9. Kimya’da temel kavramlar
[http://home.anadolu.edu.tr/~americ/T%C3%BCrk%C3%A7e%20Linkler/\[DERS%20NOTLARI/GENEL%20K%C4%B0MYA-I-\(1-4.B%C3%B6l%C3%BCmler\)%20\(1-31.sayfalar\).pdf\]](http://home.anadolu.edu.tr/~americ/T%C3%BCrk%C3%A7e%20Linkler/[DERS%20NOTLARI/GENEL%20K%C4%B0MYA-I-(1-4.B%C3%B6l%C3%BCmler)%20(1-31.sayfalar).pdf), Erişim Tarihi: 29.04.2015.
- Apak, R. 2018. Electron transfer-based antioxidant capacity assays and the cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) assay. **Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications**, 57.)
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52(26): 7970-7981.
- Ardağ, A. 2008. Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Arts, M. J. T. J., Haenen, G. R. M. M., Voss, H. P., Bast, A. 2004. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) assay. **Food and Chemical Toxicology**, 42: 45-49.

- Askari, V. R., Rezaee, S. A., Abnous, K., Iranshahi, M., Boskabady, M. H. 2016. The influence of hydro-ethanolic extract of *Portulaca oleracea* L. on Th1/Th2 balance in isolated human lymphocytes. **Journal of Ethnopharmacology**, 194: 1112-1121.
- Bağcı, E., Dığrak, M. 1997. *In vitro* antimicrobial activities of some fir essential oils. **Turkish Journal of Biology**, 21(3): 273-281.
- Bai, Y., Zang, X., Ma, J., Xu, G. 2016. Anti-diabetic effect of *Portulaca oleracea* L. Polysaccharide and its mechanism in diabetic rats. **International Journal of Molecular Sciences**, 17(8): 1201.
- Bates, S. L. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, 39: 205-207.
- Bektaşoğlu, B. 2007. Hidroksil radikal süpürülmesine dayalı antioksidan ölçümünde yeni bir yöntem geliştirilmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Benzie, I. F. 2003. Evolution of dietary antioxidants. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, 136(1): 113-126.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie**, 30: 609-615.
- Büyüktünel, E. 2013. Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca yöntemler. **Marmara Pharmaceutical Journal**, 17: 93-103.
- Cho, Y. J., Ju, I. S., Kwon, O. J., Chun, S. S., An, B. J., Kim, J. H. 2008. Biological and antimicrobial activity of *Portulaca oleracea*. **Applied Biological Chemistry**, 51(1): 49-54.
- Choudhary, R. K., Swarnkar, P. L. 2011. Antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds in some medicinal plants of India. **Natural Product Research**, 25(11): 1101-1109.

- Cihaner, S. S. 2009. İndol-amino asit türevi yeni ilaç etken maddelerinin sentezleri ve biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- Cornelli, U. 2009. Antioxidant use in nutraceuticals. **Clinics In Dermatology**, 27(2): 175-194.
- Costa, P., Gonçaves, S., Valentão, P., Andrade, P. B., Coelho, N., Romano, A. 2012. *Thymus lotocephalus* wild plants and *in vitro* cultures produce different profiles of phenolic compounds with antioxidant activity. **Food Chemistry**, 135(3): 1253-1260.
- Çakır, A., Yıldırım, S. 2008. Dentin bağlayıcı sistemlerin antibakteriyel özelliklerinin değerlendirilmesi için kullanılan *in vitro* yöntemler. **Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi**, 17:141-145.
- Çetinyürek, F. 2012. Buğday ruşeymi ve buğday ruşeym yağının antioksidan parametrelerinin incelenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Çitoğlu, G. S., Altanlar, N. 2003. Antimicrobial activity of some plants used in folk medicine. **Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi**, 32(3): 159-163.
- Dan, Z. 2006. Study on antimicrobial effect of flavonoids from *Portulaca oleracea* L. **Journal of Anhui Agricultural Sciences**, 34(1): 7.
- Dar, M. I., Naikoo, M. I., Rehman, F., Naushin, F., Khan, F. A. 2016. Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development. In *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies* (pp. 155-166). Springer, New Delhi.
- Dığrak, M., İlçim, A., Alma, M.H. 1999. Antimicrobial activities of several parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*. **Phytotherapy Research**, 13: 584-587.
- Dobra, J., Motyka, V., Dobrev, P., Malbeck, J., Prasil, I. T., Haisel, D., Gaudinova, A., Havlova, M., Gubis, J., Vankova, R. 2010. Comparison of

- hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content. **Journal of Plant Physiology**, 167(16): 1360-1370.
- Dong, C. H., Yao, Y. J. 2008. In vitro evaluation of antioxidant activities of aqueous extracts from natural and cultured mycelia of *Cordyceps sinensis*. **LWT-Food Science and Technology**, 41(4): 669-677.
- Dubeau, S., Samson, G., Tajmir-Riahi, H. 2010. Dual effect of milk on the antioxidant capacity of green, Darjeeling, and English breakfast teas. **Food Chemistry**, 122: 539-545.
- Đurđević, S., Šavikin, K., Živković, J., Böhm, V., Stanojković, T., Damjanović, A., Petrović, S. 2018. Antioxidant and cytotoxic activity of fatty oil isolated by supercritical fluid extraction from microwave pretreated seeds of wild growing *Punica granatum* L. **The Journal of Supercritical Fluids**, 133: 225-232.
- Dweck, A. C. 2001. Purslane (*Portulaca oleracea*)-the global panacea. **Personal Care Management**, 2: 7-15.
- Egea-Gilabert, C., Ruiz-Hernández, M. V., Parra, M. Á., Fernández, J. A. 2014. Characterization of purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions: Suitability as ready-to-eat product. **Scientia Horticulturae**, 172: 73-81.
- Elkhyat, E. S., Ibrahim, S. R., Aziz, M. A. 2008. Portulene, a new diterpene from *Portulaca oleracea* L. **Journal of Asian Natural Products Research**, 10(11): 1039-1043.
- Erkan, N. 2012. Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleracea* L. **Food Chemistry**, 133(3): 775-781.
- Evans, W.C. 1996. Trease and Evans' Pharmacognosy, 14. Ed, pp. 264, 477, 494, WB Saunders Co. Ltd., London.
- Fan, X. J., Liu, S. Z., Li, H. H., He, J., Feng, J. T., Zhang, X., Yan, H. 2019. Effects of *Portulaca oleracea* L. extract on lipid oxidation and color of pork meat during refrigerated storage. **Meat Science**, 147: 82-90.

- Gazzani, G., Papetti, A., Massolini, G., Daglia, M. 1998. Anti-and prooxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 46(10): 4118-4122.
- Guo, L., Zhang, Y., Li, Q. M. 2009. A Novel Spectrophotometric Method for the Determination of Levodopa with the detection system of potassium ferricyanide-Fe(III). **Journal of the Chinese Chemical Society**, 56: 568-574.
- Güçlü, K., Altun, M., Özyürek, M., Karademir, S. E., Apak, R. 2006. Antioxidant capacity of fresh, sun-and sulphited-dried Malatya apricot (*Prunus armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and folin methods. Department of Chemistry, 41: 76-85.
- Gülçin, İ., Büyükokuroğluemin, M. E., Oktay, M., Küfrevioğlu; Ö. İ. 2003. Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. Subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe. **Journal of Ethnopharmacology**, 86: 51-58.
- Hacıoğlu, Ö. 2005. *Achillea* (*Anthemideae*) cinsi *Filipendulinae* ve *Santolinoidea* seksiyonunlarına ait yedi türün uçucu yağ kompozisyonları ve antimikrobiyal aktivite özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., Aruoma, O. I. 1987. The deoxyribose method: A simple "test tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. **Analytical Biochemistry**, 165 (1): 215-219.
- Hassimotto, N. M. A., Pinto, M. D. S., Lajolo, F. M. 2008. Antioxidant status in humans after consumption of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) juices with and without defatted milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56(24): 11727-11733.
- Hossain, M. A., Hoque, M. A., Burritt, D. J., Fujita, M. 2014. Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms. In *Oxidative damage to plants* (pp. 477-522). Academic Press.

http://www.iama.gr/ethno/eie/neda_en.htm. Erişim tarihi:2015

- Huang; D., Ou, B., Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: 1841-1856.
- Ikawa, M., Schaper, T. D., Dollard, C. A., Sasner, J. J. 2003. Utilization of folin-ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51: 1811-1815.
- Ingelman-Sundberg, M., Johansson, I. 1984. Mechanisms of hydroxyl radical formation and ethanol oxidation by ethanol-inducible and other forms of rabbit liver microsomal cytochromes P-450. **Journal of Biological Chemistry**, 259(10): 6447-6458.
- Iranshahy, M., Javadi, B., Iranshahi, M., Jahanbakhsh, S. P., Mahyari, S., Hassani, F. V., Karimi, G. 2017. A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Portulaca oleracea* L. **Journal of Ethnopharmacology**, 205: 158-172.
- İlçim, A., Dıġrak, M., Baġcı, E. 1998. Bazı bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. **Turkish Journal of Biology**, 22: 119-125.
- İşbilir Selen, Ş. 2008. Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Edirne.
- Kalaycıoġlu, A., Öner, C. 1994. Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin Amest- Salmonella test sistemi ile araştırılması. **Turkish Journal of Botany**, 18: 117—122.
- Karaca, E. 2011. Nar suyu konsantresi üretiminde uygulanan bazı işlemlerin fenolik bileşenler üzerine etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Kaveh, M., Eidi, A., Nemati, A., Boskabady, M. H. 2017. The extract of *Portulaca oleracea* and its constituent, alpha linolenic acid affects serum oxidant levels and inflammatory cells in sensitized rats. **Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology**, 16(3): 256-270.

- Kiliç, C. C., Kukul, Y. S., Anaç, D. 2008. Performance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) as a salt-removing crop. **Agricultural Water Management**, 95(7): 854-858.
- Lei, X., Li, J., Liu, B., Zhang, N., Liu, H. 2015. Separation and identification of four new compounds with antibacterial activity from *Portulaca oleracea* L. **Molecules**, 20(9): 16375-16387.
- Li, C. Y., Meng, Y. H., Ying, Z. M., Xu, N., Hao, D., Gao, M. Z., Zhang, W. J., Xu, L., Gao, Y. C., Ying, X. X. 2016. Three novel alkaloids from *Portulaca oleracea* L. and their anti-inflammatory effects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 64(29): 5837-5844.
- Li, C., Ying, Z., Gao, M., Wei, W., Hao, D., Xu, L., Tao, X., Zhang, W., Ying, X., Liu, J. 2017. Two new similar alkaloids from *Portulaca oleracea* L. **Natural Product Research**, 31(15): 1792-1798.
- Liu, F., Ooi, V. E. C., Chang, S. T. 1997. Free radical scavenging mushroom polysaccharide extracts. **Life Science**, 60: 763-736.
- López-Alarcón, C., Lissi, E. 2005. Interaction of pyrogallol red with peroxy radicals. A basis for a simple methodology for the evaluation of antioxidant capabilities. **Taylor & Francis Group**, 39 (7): 729-736.
- López-Alarcón, C., Lissi, E. 2006. A novel and simple ORAC methodology based on the interaction. **Informa Healthcare**, 40 (9): 979-985.
- Ma, Y., Bao, Y., Zhang, W., Ying, X., Stien, D. 2018. Four lignans from *Portulaca oleracea* L. and its antioxidant activities. **Natural Product Research**, 1-7.
- Maisuthisakul, P. O., Pongsawatmanit, R. 2004. Effect of sample preparation methods and extraction time on yield and antioxidant activity from Kradonbok (*Careya sphaerica* Roxb.) leaves. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, 38(5): 8-14.

- Mary, N. K., Shylesh, B. S., Babu, B. H., Padikkala, J. 2002. Antioxidant and hypolipidaemic activity of a herbal formulation-Liposem. **Indian Journal of Experimental Biology**, 40: 901-904.
- Mauludin, R., Müller, R. H. 2013. Preparation and storage stability of rutin nanosuspensions. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, 43(5): 395-404.
- Meng, Y., Ying, Z., Xiang, Z., Hao, D., Zhang, W., Zheng, Y., Gao, Y., Ying, X. (2016). The anti-inflammation and pharmacokinetics of a novel alkaloid from *Portulaca oleracea* L. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 68(3), 397-405.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., Van Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, 85(2): 231-237.
- Miller, N.J., Rice- Evans, C.A., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, 84: 407- 412.
- Montoya-García, C. O., Volke-Haller, V. H., Trinidad-Santos, A., Villanueva-Verduzco, C. 2018. Change in the contents of fatty acids and antioxidant capacity of purslane in relation to fertilization. **Scientia Horticulturae**, 234: 152-159.
- Mousavi, S. R. J., Niazmand, R. 2017. Fatty acids composition and oxidation kinetic parameters of purslane (*Portulaca oleracea*) seed oil. **Agricultural Research**, 6(4): 421-426.
- Nile, S. H., Nile, A. S., Keum, Y. S. 2017. Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with different extraction methods. **3 Biotech**, 7(1): 76.
- Nimse, S. B., Pal, D. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **The Royal Society of Chemistry**, 5: 27986-28006.

- Oliveira, I., Valentão, P., Lopes, R., Andrade, P. B., Bento, A., Pereira, J. A. 2009. Phytochemical characterization and radical scavenging activity of *Portulaca oleraceae* L. leaves and stems. **Microchemical Journal**, 92(2): 129-134.
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., Deemer, E. K. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50(11): 3122-3128.
- Oyaizu, M. 1986. Studies on product of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. **Japanese Journal of Nutrition**, 44: 307-315.
- Öztürk, H. 2009. *Jurinea consanguinea*'nın antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Peksel, A., Arisan-Atac, I., Yanardag, R. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of purslane (*Portulaca oleracea* subsp. sativa L.). **Italian Journal of Food Science**, 18(3).
- Pellegrini, N., Miglio, C., Del Rio, D., Salvatore, S., Serafini, M., Brighenti, F. 2009. Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 60(sup2): 12-22.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Rio D. D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. 2003. Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. **J. Nutr.**, 133: 2812-2819.
- Petropoulos, S. A., Karkanis, A., Fernandes, Â., Barros, L., Ferreira, I. C., Ntatsi, G., Petrotos, K., Lykas, C., Khah, E. 2015. Chemical composition and yield of six genotypes of common purslane (*Portulaca oleracea* L.): an alternative source of omega-3 fatty acids. **Plant Foods For Human Nutrition**, 70(4): 420-426.

- Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J. C., Bailleul, F., Trotin, F. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. **Journal of Ethnopharmacology**, 72: 35-42.
- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., Kumar, M. R. 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, 113(3): 189-207.
- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., Kumar, M. R. 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, 113(3): 189-207.
- Re, R., Pellegrini, N., Protrggente, A., Pannala, A., Yang, M. Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26: 1231-1237.
- Roy, M. K., Koide, M., Rao, T. P., Okubo, T., Ogasawara, Y., Juneja, L. R. 2010. ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusions: relationship between total polyphenol and individual catechin content. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 61(2): 109-124.
- Sabzghabae, A. M., Kelishadi, R., Jelokhanian, H., Asgary, S., Ghannadi, A., Badri, S. 2014. Clinical effects of *Portulaca oleracea* seeds on dyslipidemia in obese adolescents: a triple-blinded randomized controlled trial. **Medical Archives**, 68(3): 195.
- Sadeghi, G., Karimi, A., Shafeie, F., Vaziry, A., Farhadi, D. 2016. The Effects of purslane (*Portulaca oleracea* L.) powder on growth performance, carcass characteristics, antioxidant status, and blood metabolites in broiler chickens. **Livestock Science**, 184: 35-40.
- Saha, K., Lajis, N. H., Israf, D. A., Hamzah, A. S., Khozirah, S., Khamis, S., Syahida, A. 2004. Evalutaion of antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 92: 263-267.

- Sallam, E. M., Anwar, M. M. 2017. Antioxidant activity of some extracts from gamma irradiated purslane (*Portulaca oleracea*) plant. **International Journal of Agriculture and Biology**, 19(1).
- Santiago-Saenz, Y. O., Hernández-Fuentes, A. D., Monroy-Torres, R., Cariño-Cortés, R., Jiménez-Alvarado, R. 2018. Physicochemical, nutritional and antioxidant characterization of three vegetables (*Amaranthus hybridus* L., *Chenopodium berlandieri* L., *Portulaca oleracea* L.) as potential sources of phytochemicals and bioactive compounds. **Journal of Food Measurement and Characterization**, 12(4): 2855-2864.
- Shahidi, F. (Ed.). 1997. Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. The American Oil Chemists Society.
- Shirinzadeh, H. 2010. İndol Türevi Yeni Bileşiklerin Sentezleri, Yapı Aydınlatmaları Ve Biyolojik Aktivite Üzerine Çalışma. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Simopoulos, A. P., Norman, H. A., Gillaspay, J. E., Duke, J. A. 1992. Common purslane: a source of omega-3 fatty acids and antioxidants. **Journal of the American College of Nutrition**, 11(4): 374-382.
- Singhal, M., Paul, A., Singh, H. P., Dubey, S. K., Gaur, K. 2011. Evaluation of Reducing Power Assay of Chalcone Semicarbazones. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, 3 (3): 639-645.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Roventós, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, 299: 152-178.
- Stahl, W., Van Den Berg, H., Arthur, J., Bast, A., Dainty, J., Faulks, R. M., Gärtner, C., Haenen, G., Hollman, P., Holst, B., Kelly, F. J., Polidori, M. C., Rice-Evans, C., Southon, S., van Vliet, T., Viña-Ribes, J., Williamson, G., Astley, S. B. 2002. Bioavailability and metabolism. **Molecular Aspects of Medicine**, 23(1-3): 39.
- Sun, S., Dai, W., Yu, H., Wang, Y., Wang, X., Peng, S. 2015. Antibacterial activity of aqueous and ethanolic extracts of *Portulaca oleracea* L. And

- Taraxacum mongolicum* Hand.-Mazz against pathogenic bacteria of cow mastitis. **Indian Journal of Animal Research**, 49(6): 827-829.
- Szabados, L., Savoure, A. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. **Trends in Plant Science**, 15(2): 89-97.
- Şen, C. 2011. *Hibiscus sabdariffa* L. Bitkisinin Antimikrobiyal Ve Antioksidan Aktivitesinin Araştırılması. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Edirne.
- Toroğlu, S., Çenet, M. 2006. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. **KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi**. 9 (2): 12-18.
- Tünek, M. 2015. Deniz Börülcesinin (*Salicornia europaea*) Antioksidan Parametrelerinin Ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Uddin, M., Juraimi, A. S., Ali, M., Ismail, M. R. 2012. Evaluation of antioxidant properties and mineral composition of purslane (*Portulaca oleracea* L.) at different growth stages. **International Journal of Molecular Sciences**, 13(8): 10257-10267.
- Umamaheswari, M., Chatterjee, T. K. 2008. In vitro antioxidant activities of the fractions of *Coccinia grandis* L. leaf extract. **Afr. J. Traditional**, 5 (1): 61-73.
- Unsal, V., Toroğlu, S., Kurutaş, E. B., Taner, S. Ş., Atalay, F., Bahar, G. 2014. Dereotu, Semizotu ve Roka'da Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitenin Araştırılması. **Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi**, 3(2): 25-32.
- Vladimir-Knežević, S., Blažeković, B., Štefan, M. B., Alegro, A., Kószegi, T., Petrik, J. 2011. Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected Micromeria species from Croatia. **Molecules**, 16: 1454-1470.
- Vonderbank, H. 1949. Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberculose. **Pharmazie**, 4: 198-207.

- Wang, P., Sun, H., Liu, D., Jiao, Z., Yue, S., He, X., Xia, W., Ji, J., Xiang, L. 2017. Protective effect of a phenolic extract containing indoline amides from *Portulaca oleracea* against cognitive impairment in senescent mice induced by large dose of D-galactose/NaNO₂. **Journal of Ethnopharmacology**, 203: 252-259.
- Yavaşer, R. 2011. Doğal Ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Yermakov, A. I., Arasimov, V. V., Yarosh, N. P., 1987. Methods of biochemical analysis of plants, **Leningard: Agropromizdat**, Russia.
- Yıldırım, N. 2008. *Centaurea balsamita* Lam. ve *Centaurea coronopifolia* Lam. Türlerinin Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya.
- Zhao, R., Gao, X., Cai, Y., Shao, X., Jia, G., Huang, Y., Qin, X., Wang, J., Zheng, X. 2013. Antitumor activity of *Portulaca oleracea* L. polysaccharides against cervical carcinoma in vitro and in vivo. **Carbohydrate Polymers**, 96(2): 376-383.
- Zhou, Y. X., Xin, H. L., Rahman, K., Wang, S. J., Peng, C., Zhang, H. 2015. *Portulaca oleracea* L.: a review of phytochemistry and pharmacological effects. **BioMed Research International**, 1-11.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Aylin YURDAGÜL
Doğum Yeri ve Tarihi : İzmir-Konak/1988

EGİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Pamukkale Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü,
Yüksek Lisans Öğrenimi : Aydın Adnan Menderes Üniversitesi,
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Makaleler: Yok.

b) Bildiriler

-Ulusal

1. Yurdagül A., Yavaşer R., Karagözler A.A., Yabani Semizotu (*Portulaca oleracea* L.) Bitkisinin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi, 3.İlaç Kimyası Kongresi, 20-22 Mart 2015, Antalya.
2. Yurdagül A., Karagözler A.A., Örnek Hazırlama Yönteminin Antioksidan Aktivite Üzerine Etkisi *Portulaca oleracea* L.(semizotu) örneği. 27. Ulusal Kimya Kongresi, 23-28 Ağustos 2015, Çanakkale.

c) Katıldığı projeler

Yabani ve Kültür Semizotu (*Portulaca oleracea* L.) Bitkisinin Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi". ADÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu. Proje No: FEF 15025.- Araştırmacı

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı kurumlar ve Yıl : Özel Aydın Bilgi Koleji (2015/2016)
Özel Çiğli Tek Ada Temel Lisesi (2016/2017)
Özel Güzelbahçe Oğuzhan Özkaya Fen Lisesi
(2017-devam ediyor)

İLETİŞİM

E-posta Adresi : ayurdagul13@gmail.com

Tarih :