

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOSOVA'DA YABANİ OLARAK YETİŞEN *Thymus serpyllum L.* (Yabani Kekik)'in
ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

ELİF MULA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Filiz SANAL

EDİRNE-2025

Elif MULA'nın hazırladığı **KOSOVA'DA YABANI OLARAK YETİŞEN *Thymus serpyllum* L. (Yabani Kekik)' in ANTiOKSiDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ** başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından **Biyoloji** Anabilim Dalında bir **Yüksek lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):

İmza

Prof. Dr. Özlem AKSOY

Prof. Dr. Şebnem SELEN İŞBİLİR

Doç. Dr. Filiz SANAL

Tez Savunma Tarihi: 16 / 06 / 2025

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Doç. Dr. Filiz SANAL
Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Doç. Dr. Filiz UMAROĞULLARI
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

16 / 06 / 2025

Elif MULA

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Kosova’da Yabani Olarak Yetişen *Thymus serpyllum L.* (Yabani Kekik)’in Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji AnaBilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada halk arasında yabani kekik ya da anne kekiği olarak da bilinen *Thymus serpyllum* (Yabani kekik) bitkisinin antioksidan özelliklerinin araştırılması ve iki farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinin analizi amaçlanmıştır. Yabani kekik bitkisi öğütülüp, metanol ve etil asetat çözücülerini kullanılarak ultrasonik su banyosu ve çalkalamalı su banyosunda kullanılarak ekstraksiyonları gerçekleştirilmiştir. Her ekstraktta toplam fenolik madde tayini, toplam flavonoid tayini gerçekleştirilmiş, metal şelatlama gücü, DPPH ve ABTS radikalleri giderme aktiviteleri tayin edilmiştir. Ayrıca LC-MS/MS cihazı ile ekstraktların fenolik içerik analizi yapılmıştır.

Metanol ve etil asetat çözücülerini gerçekleştirilen ultrasonik destekli ekstraksiyondan ve çalkalamalı su banyosu ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktlarda, metanol ekstraktlarının fenolik madde içeriği, etil asetat ekstraktlarına göre daha yüksek bulundu. Toplam flavonoid tayininde; ultrasonik destekli ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında, çalkalamalı su banyosundan elde edilen metanol ve etil asetat ekstraktlarında daha yüksek oranda flavonoid tespit edildi.

Serbest radikal giderme aktivitesinden elde edilen verilere göre; DPPH radikali ve ABTS radikali giderme yöntemlerinin her ikisinde de metanol ekstraktları, etil asetat ekstraktlarına göre daha yüksek düzeyde aktivite göstermiştir. Bitki ekstraktları demir (II) iyonlarını şelatlamada başarılı olmamıştır.

LC/MS-MS yöntemi ile yapılan fenolik bileşik tayininde, analizlenen 24 tür standart maddeden ekstraksiyon yöntemi ve çözücü cinsine bağlı olarak gallik asit, protokateşik asit, sirینگik asit ve salisilik asit başta olmak üzere 22-24 çeşit fenolik bileşen tayin edilmiştir.

Yıl : 2025

Sayfa Sayısı : 76

Anahtar Kelimeler : yabani kekik, ekstraksiyon, antioksidan aktivite, fenolik madde.

Masters Thesis

Determination of Antioxidant Properties of *Thymus serpyllum* L. (Wild Thyme) Growing Wild in Kosovo

Trakya Univeristy Institute of Natural Sciences

Department of Biology

ABSTRACT

In this study, the antioxidant properties of *Thymus serpyllum* (commonly known as wild thyme or mother thyme) were investigated, and the antioxidant activities of the extracts obtained using two different extraction methods were analyzed. The wild thyme plant was ground and subjected to extraction using methanol and ethyl acetate solvents through ultrasonic water bath and shaking water bath techniques. In each extract, total phenolic content, total flavonoid content, metal chelating capacity, and DPPH and ABTS radical scavenging activities were determined. Additionally, the phenolic composition of the extracts was analyzed using the LC-MS/MS system.

Among the extracts obtained via ultrasonic-assisted extraction and shaking water bath extraction using methanol and ethyl acetate, the methanol extracts exhibited higher phenolic content compared to the ethyl acetate extracts. In the determination of total flavonoid content, higher flavonoid levels were detected in the extracts obtained from the shaking water bath compared to those from the ultrasonic-assisted method.

According to the data obtained from free radical scavenging activity assays, methanol extracts showed higher antioxidant activity than ethyl acetate extracts in both DPPH and ABTS radical scavenging methods. However, the plant extracts were not effective in chelating ferrous (Fe^{2+}) ions.

Phenolic compound analysis conducted via the LC-MS/MS method revealed the presence of 22–24 different phenolic compounds, depending on the extraction method and solvent type. Among the identified compounds, gallic acid, protocatechuic acid, syringic acid, and salicylic acid were found to be predominant.

Year: 2025

Number of pages: 76

Keywords: wild thyme, extraction, antioxidant activity, phenolic substance.

TEŞEKKÜR

Beni yüksek lisans öğrencisi olarak kabul eden ve eğitimim süresince desteğini, bilgisini, anlayışını ve hoşgörüsünü esirgemeyen değerli tez hocam sayın Doç.Dr. Filiz SANAL'a;

Kimya bölümü laboratuvarı'nda gerçekleştirilen deneysel çalışmaların sırasında yardımını ve bilgisini esirgemeyen Trakya Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim üyesi sayın hocam Prof.Dr. Şebnem SELEN İŞBİLİR'e;

Çalışmam kapsamında fenolik bileşik analizlerinin LC-MS/MS cihazı ile gerçekleştirilmesinde verdikleri teknik destek ve katkılarından dolayı TÜTAGEM Teknoloji Araştırma ve Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezin'e;

Bugünlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve bana güvenen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.....	4
2.1. Lamiaceae (Ballıbabagiller) Ailesi.....	4
2.2. <i>Thymus serpyllum</i> (Yabani Kekik).....	6
2.3. Oksidatif Stres.....	10
2.4. Antioksidanlar.....	12
2.5. Bitkilerin Antioksidan Etkileri.....	14
2.6. Fenolik Bileşikler.....	16
2.7. Flavonoidler.....	18
BÖLÜM 3.....	22
3.1. Materyal.....	22
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Bitki.....	22
3.1.2. Bitkinin Temin Edilmesi.....	23
3.2. Metod.....	23
3.2.1. Ekstraktların Hazırlanışı.....	23
3.2.2. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	26
3.2.3. Toplam Flavonoid Madde Tayini.....	27
3.2.4. DPPH Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini.....	28

3.2.5. ABTS Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini.....	29
3.2.6. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesinin Tayini.....	29
3.2.7. LC-MS/MS (Sıvı Kromatografi-Kütle/Kütle Spektrometrisi) Yöntemi ile Fenolik Bileşiklerin Tayini.....	30
3.2.8. İstatiksel Analizler.....	31
BÖLÜM 4.....	32
4.1. Ekstraksiyon.....	32
4.2. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	33
4.3. Toplam Flavonoid Tayini.....	35
4.4. DPPH Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini.....	36
4.5. ABTS Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini.....	38
4.6. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesinin Tayini.....	40
4.7. LC-MS/MS Yöntemi ile Fenolik Bileşiklerin Tayini.....	41
BÖLÜM 5.....	47
SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	47
KAYNAKLAR.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	63

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

ABTS	2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
CAPE	Kafeik Asit Fenetil Ester
DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
FCR	Folin Ciocalteu Reaktifi
GA	Gallik Asit
KUE	Kuersetin
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SBE	Çalkalamalı su banyosu ekstraksiyonu
TPC	Toplam Fenolik Madde Tayini
UDE	Ultrasonik destekli ekstraksiyon

Simgeler

μ	Mikro simgesi
-------	---------------

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Thymus serpyllum</i> (Yabani kekik).....	6
Şekil 2.2. <i>Thymus serpyllum</i> (Yabani kekik) botanik çizimi ve çay olarak ticari kullanımı.....	9
Şekil 2.3. Serbest radikaller ve oksidatif hasar sonucu oluşan hasarlı hücre.....	10
Şekil 2.4. Antioksidanların sınıflandırılması.....	14
Şekil 2.5. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması.....	18
Şekil 3.1. <i>Thymus serpyllum</i> (Yabani kekik) bitkisi.....	22
Şekil 3.2. Ekstraksiyon aşamaları.....	25
Şekil 3.3. Toplam fenolik madde tayini deney aşamaları.....	27
Şekil 4.5. Gallik asit standart grafiği.....	34
Şekil 4.6. Kuersetin standart grafiği.....	35
Şekil 4.7. <i>Thymus serpyllum</i> bitkisinin metanol ve etil asetat ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktivitesi.....	37
Şekil 4.8. <i>Thymus serpyllum</i> bitkisinin metanol ve etil asetat ekstraktlarının ABTS radikalini giderme aktivitesi.....	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Flavonoidlerin alt grupları, kimyasal yapıları ve bulundukları besin kaynakları.....	21
Çizelge 4.1. Yabani kekiğin ultrasonik destekli ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktların ekstraksiyon verimleri.....	33
Çizelge 4.2. Yabani kekiğin çalkalamalı su banyosu ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktların ekstraksiyon verimleri.....	33
Çizelge 4.3. Ekstraktların gallik asit eşdeğeri cinsinden ultrasonik su banyosunda toplam fenolik madde miktarı.....	34
Çizelge 4.4. Ekstraktların gallik asit eşdeğeri cinsinden çalkalamalı su banyosunda toplam fenolik madde miktarı.....	34
Çizelge 4.5. Ekstraktların kuersetin eşdeğeri cinsinden çalkalamalı su banyosunda toplam flavonoid madde miktarı	36
Çizelge 4.6. Ekstraktların kuersetin eşdeğeri cinsinden ultrasonik su banyosunda toplam flavonoid madde miktarı.....	36
Çizelge 4.7. SBE- etil asetat ekstraktında LC-MS/MS ile tespit edilen fenolik bileşikler.....	41
Çizelge 4.8. SBE- metanol ekstraktında LC-MS/MS ile tespit edilen fenolik bileşikler.....	42
Çizelge 4.9. UDE- etil asetat ekstraktında LC-MS/MS ile tespit edilen fenolik bileşikler.....	43
Çizelge 4.10. UDE- metanol ekstraktında LC-MS/MS ile tespit edilen fenolik bileşikler.....	44

BÖLÜM 1

GİRİŞ

İnsan vücudundaki oksidasyon süreci, serbest radikal adı verilen hücre zarlarına ve diğer yapılara zarar veren kimyasallar üretir. Canlı yaşamının sürdürülebilirliği için moleküler oksijen gereklidir. Ancak vücuttaki oksijenin % 1-3'ü Reaktif Oksijen Türleri (ROT) adı verilen zararlı ve toksik bileşiklere dönüşebilmektedir. Serbest radikaller reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri olarak vücudumuz tarafından çeşitli endojen sistemler, farklı fizikokimyasal koşullara veya patolojik durumlara maruz kalma yoluyla üretilir. Serbest radikaller, dış yörüngelerinde eşleşmemiş bir veya daha fazla elektrona sahip, oldukça reaktif moleküllerdir. (Kolaç vd., 2017) İnsanlar, oksijen ve nitrojen kaynaklı reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi bir takım reaktif moleküllere maruz kalmaktadırlar. Bu reaktif türlerinin oluşumu öncelikle plazma membranında oksidatif hasara yol açarak zamanla gelişen aşırı ROT hücre fonksiyonlarının kaybına, apoptoz yada nekroz gelişimine neden olabilmektedir. (Hamamcıoğlu, 2017) Normal şartlarda, serbest radikaller antioksidan sistemler tarafından vücuttan temizlenir. Sağlıklı bir canlı metabolizması için serbest radikaller ve antioksidanlar arasında bir denge olması gereklidir. Vücutta fazla miktarda serbest radikal biriktiğinde, bu durum dengenin bozulmasına ve oksidatif stresin oluşmasına neden olur. Oksidatif doku hasarı, oksidan moleküllerinin proteinler, lipitler, karbonhidratlar, nükleik asitler ve enzimler gibi hücresel bileşenlerle reaksiyona girerek zarar vermesiyle meydana gelir. (Salaria vd. , 2023). Oksidatif stres kontrol altına alınmadığında çeşitli sağlık sorunlarına ve hastalıklara yol açabilmektedir. Bu süreçte, vücutta savunma mekanizması görevi gören antioksidanlar devreye girer ve oksidatif strese karşı koruyucu rol oynar. Özellikle yaşla birlikte gelen olumsuz değişiklikler, çevresel faktörler, alkol ve sigara kullanımı, sağlıksız beslenme, X ışınları ve UV ışınları gibi serbest radikal kaynaklarının

artışıyla vücutta bulunan karbonhidratların, lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın zarar görmesine yol açabilmektedir. Serbest radikallerin vücutta artması sonucu meydana gelen doku ve hücre hasarları sağlık açısından ciddi sorunlar oluşturabilmektedir. (Alkadi, 2020).

Serbest radikallerin kanser, Alzheimer, kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, diyabet gibi çeşitli hastalıklarla bağlantılı olduğu bildirilmiştir. Zamanla vücutta oluşan aşırı serbest radikal ve oksidatif stresin sonucunda hücre ve dokularda meydana gelen hasarlar bir takım dejeneratif süreçlere ve normal yaşlanmaya yol açar. Vücut yaşlandıkça da serbest radikallerin oluşturduğu etkilerle mücadele etme yeteneğini kaybeder. Serbest radikaller ve antioksidanlarla ilişkili olan hastalıkların önlenmesi için oksidatif stresin kontrol altına alınması ve antioksidan maddeler ile dengede olması hastalıkların ilerlemesinin ve önlenmesinde önemli aşamalardan biri olarak görülmektedir (Lobo vd., 2010). Antioksidanlar radikal temizleyici, onarım ve savunma gibi farklı düzeylerde görev yaparlar. Buna bağlı olarak antioksidanlar, serbest radikallerden vücudu koruyan ve hücre hasarını engellemede yardımcı olan moleküllerdir. Antioksidanlar, serbest radikallerin reaksiyonlarını engelleyerek, oksijeni ve metalleri bağlayarak oksidasyon sonucu meydana gelen hasarları önler ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ile lipoprotein oksidasyonunu engeller. Kısacası antioksidanlar, insan vücudunun hastalıklarla bağlantılı olan serbest radikallerle savaşıma ve serbest radikaller tarafından oluşan oksidatif stresi ortadan kaldırmada önemli bir doğal savunma sistemidir.

Antioksidanlar, vücut tarafından doğal olarak üretildiği gibi dışardan da takviye veya gıda yoluyla alınabilirler. Doğal antioksidanlar gıdalarda sebze-meyvelerde ve bazı şifalı bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu doğal antioksidanlar, özellikle polifenoller ve karotenoidler, anti-inflamatuar, anti-aging, anti-ateroskleroz ve antikanser etkiler dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik etkiler sergilemektedir. Flavonoidler, askorbik asit, E vitamini, beta-karoten, selenyum ve manganer mineralleri en iyi bilinen antioksidan maddeleri arasında yer almaktadır (Karabulut & Şükrü Gülay, 2016).

Yapılan araştırmalara göre kozmetik ve gıda endüstrisinde kullanılan BHT (butillenmiş hidroksitoluen) ve BHA (butillenmiş hidroksianizol) gibi birçok sentetik antioksidanların toksisiteleri nedeniyle son yıllarda kullanımları azalmış ve insan sağlığı açısından tehlike oluşturduğu yapılan araştırmalarda belirtilmiştir. Bundan dolayı toksik

etkisi olmayan doğal antioksidanlar, özellikle günlük hayatımızda tercih ettiğimiz fenolik bileşiklerce zengin tıbbi ve aromatik bitkiler son yıllarda en çok araştırılan konular arasında yer almaktadır.

Bitkiler insanlık tarihi boyunca birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Bitkiler, doğal antioksidan bileşiklerin başlıca kaynağını oluşturmaktadır. Diğer bir deyişle bitkilere süper antioksidanlar da denilebilmektedir. Fenolik maddeler doğal antioksidanların önemli bir grubunu oluştururlar. Bu fenolik maddeler bitkilerin tüm kısımlarında görülebilmektedir.

Çok sayıda tıbbi ve aromatik bitki yaygın olarak görülen fenolik bileşikler ve flavonoidler başta olmak üzere vitaminler, karotenoidler, tokoferoller gibi birçok önemli biyoaktif bileşik içermektedir (Deveci vd., 2016). Antioksidanların insan sağlığına olan olumlu etkileri göz önüne alındığında, yabani kekik, Lamiaceae familyasının çeşitli üyelerinde bulunan yüksek fenolik bileşenlerin ve güçlü antioksidanlar için kaynak olabileceği düşünülen bir bitkidir. Bu açıdan araştırmalar için içeriği ve antioksidan özellikleri açısından dikkat çeken bir bitki olmuştur (Mrkonjić vd., 2021a).

Bu çalışmanın amacı halk arasında sıklıkla kullanılan Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasından olan *Thymus serpyllum* (Yabani Kekik) bitkisinin farklı ekstraksiyon yöntemleri (ultrasonik destekli ve çalkalamalı su banyosunda) ve farklı çözücüler (metanol ve etil asetat) kullanılarak ekstraktlarının elde edilmesi, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içerik tayini, metal şelatlama, DPPH ve ABTS serbest radikal giderme aktivitelerinin belirlenmesi ve LC/MS-MS yöntemi ile fenolik bileşiklerin tayininin gerçekleştirilmesidir.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Lamiaceae (Ballıbabagiller) Ailesi

Lamiaceae (Ballıbabagiller), nane ailesi olarak bilinen, aromatik ve şifalı bitkileri içeren kozmopolit bir bitki familyasıdır. Lamiaceae ailesi, yaklaşık 7.200 türü kapsayan ve 240 cinsten yer alan tıbbi ve aromatik bitkiler içermektedir. En büyük cinsleri arasında *Salvia* (yaklaşık 900 tür), *Scutellaria* (360), *Stachys* (300), *Plectranthus* (300), *Hyptis* (280), *Teucrium* (250), *Vitex* (250), *Thymus* (220) ve *Nepeta* (200) yer almaktadır. Güncel literatür kaynakları, Lamiaceae ailesine ait bitkilerin, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-inflamatuar özellikler gösterdiğini bildirmektedir. Lamiaceae, dünya genelinde yaygın olarak bulunan ve tür çeşitliliği bakımından zengin bir bitki ailesidir. Lamiaceae familyasına ait türler genellikle yaz aylarındaki yağışlarda yayılır ve çoğunlukla kuru yaşam alanlarında, ormanlık bölgelerde veya çayırlarda yer alır. Bu familyanın çeşitliliği, özellikle Akdeniz bölgelerinde yoğunlaşmış olup, ayrıca Avustralya, Güneybatı Asya ve Güney Amerika'da da görülmektedir. Lamiaceae türleri dünya çapında geniş bir dağılıma sahip olup, farklı yükseklikler ve yaşam alanlarında yetişirler. Genellikle sıcak iklimleri tercih etseler de, düşük sıcaklıklara sahip bölgelerde de yaşayabilirler (Raja, 2012; Patrigan vd., 2021). *Thymus* cinsi, hem botanik açıdan zengin çeşitliliğe sahip hem de kimyasal bileşim açısından oldukça farklılık gösteren çok sayıda aromatik türü içinde barındırır. Bu bitkilerin en önemli kısımlarından biri, özellikle yapraklarda yoğun olarak bulunan uçucu yağlardır. Uçucu yağlar, bitkiye özgü kokuyu ve aromayı sağlayan uçucu aromatik bileşenlerden oluşur. Bu yağlar, antioksidan, antitümör, inflammatuar, antiviral, analjezik, antitüsif, antiastmatik, ateş düşürücü, antimikrobiyal, antiemetik ve antifungal özellikler gösterir. Bu bileşenlerin başlıcaları; terpenler, seskiterpenler ve bunların

oksijenli türevleri olan alkoller, aldehitler, ketonlar, asitler, fenoller, eterler ve esterler gibi bileşiklerdir. Bu kimyasal gruplar, bitkinin karakteristik aromasının oluşmasında belirleyici rol oynar. Ayrıca üriner sistem sorunları, hipertansiyon, diyabet, apoptozis, inflamasyon ve oksidatif strese karşı olumlu iyileştirici etkiler gösterdiği düşünülmektedir (Angelov vd., 2013).

Ayrıca, *Aedes aegypti*'ye karşı böcek öldürücü, antidiyabetik, antihipertansif, antipruritik, dekonjestan, antinosiseptif, karminatif, antiromatizmal, antidepresan, nöroprotektif, kolinerjik, sedatif ve antiseptik etkilere sahiptir. Bu yağlar ayrıca antiparaziter, antihelmintik, immün düzenleyici, antialerjik, antianjiyojenik, antihepatotoksik ve antikanser özellikleriyle de dikkat çeker (Ramos Da Silva vd., 2021). Lamiaceae ailesine ait türler, yıllık veya çok yıllık otsu bitkilerdir. Genellikle bu türler ot veya çalı formundadır. Bazı türler, uçucu yağ içerikleri nedeniyle aromatik özellikler taşır. Yapraklar genellikle basit yapılıdır; çoğunlukla bölünmemiş veya tüylü parçalı, nadiren ise tüylü bileşik şekildedir. Yapraklar karşılıklı veya halkalı dizilimde bulunur, bazen de alternatif ve saplı olabilir.

Nane, kekik, biberiye, adaçayı, melisa, lavanta, fesleğen, mercanköşk başlıca Lamiaceae ailesinin üyelerindendir. Aromatik yapılarının yanı sıra, bu bitkiler kolayca yetiştirilebilmeleri nedeniyle de tercih edilir (Das vd., 2023). Lamiaceae familyasına ait birçok aromatik bitki türü, biyolojik özellikleri sayesinde geleneksel tıpta ve ilaç ile gıda endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Geleneksel tıpta *Thymus* türlerinden kaynatma ve infüzyon (bitkisel çay) yolu ile hidroalkolik özler elde edilmekte olup, bu preparatlar spazmolitik, antiseptik, antitussif (öksürük kesici) ve ekspektoran (balgam söktürücü) olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Janiak vd., 2017). Lamiaceae bitki ailesinin çeşitli kısımlarının özleri, kardiyoprotektif ve terapötik özellikler taşıyan birçok biyoaktif bileşik içermektedir. Bu bileşikler arasında Leonurin, Rosmarinik asit, Quercetin, Apigenin, Karvakrol, Timokinon, Baicalein ve daha birçok bileşik bulunmaktadır. *Thymus* cinsine ait türler, içerdiği uçucu yağlar ve fenolik bileşikler sayesinde güçlü antioksidan ve antibakteriyel aktiviteler göstermektedir. Ayrıca bu bitkiler, antienflamatuvar, antiviral, antitümör etkilerinin yanı sıra sindirim sistemi üzerinde uyarıcı etkilere de sahiptir.

2.2. *Thymus serpyllum* (Yabani Kekik)



Şekil 2.1. *Thymus serpyllum* L. (Yabani kekik) (Jarić vd, 2015)

T. serpyllum (Yabani kekik), Lamiaceae (Ballıbabagiller) ailesinin önde gelen türlerindendir. Palearktik (Avrupa, Asya, Kuzey Afrika bölgeleri) bölgenin farklı iklimlerinde yetişen yabani kekik, günümüzde aromatik uçucu yağı ve gıda ve ilaç sektöründe kullanılan içerdiği bitkisel bileşenler nedeniyle pek çok farklı bölgede yetişmektedir. Yabani kekik Asya, Afrika, Avrupa, Kuzey Amerika ve Doğu Afrika'nın bazı bölgelerinde de bulunmaktadır. Yabani kekiğin botanik adı *Thymus serpyllum* L.'dir. Fakat bitkinin farklı coğrafi bölgeleri ve keşfedildiği yerler doğrultusunda, birçok yazarın yaptığı çeşitli tanımlamalar sonucunda farklı dillerde pek çok botanik eş anlamlı isimler bulunmaktadır. Latince'de 'serpere' kelimesi 'sürünmek' anlamına gelmesiyle yabani kekik aynı zamanda 'sürünen kekik' olarak ta bilinmektedir (Jalil vd., 2024). *Thymus* cinsine ait aromatik bitki türleri, yaygın olarak kekik yağı olarak bilinen uçucu yağları sayesinde pek çok terapötik özelliğe sahip tıbbi bitkilerin önemli bir parçası haline gelmiştir. Bu özellikler arasında antiromatizmal, antiseptik, antispazmodik, antimikrobiyal, kardiyak, karminatif, idrar söktürücü ve balgam söktürücü etkiler bulunur (Nikolić vd., 2014). Richard, farklı *Thymus* türlerini dünya çapında tanımlamıştır. Dünya kontrol listesine göre, kekik cinsi 250-350 *Thymus* L. türü ve toplamda 7534 tür içerir. *T.*

serpyllum, 5-7 cm yüksekliğe kadar ulaşabilen çok yıllık bir bitkidir. Sürünücü ve tüylü bir yapıya sahip olup, küçük pembe-mor çiçek kümeleri taşır. (Şekil 2.1) Çiçeklenme dönemi Temmuz ile Eylül ayları arasındadır. Çiçekler Temmuz'dan Ağustos'a kadar açar ve tohumlar Ağustos'tan Eylül'e kadar olgunlaşır. Tohumlar, genellikle ilkbaharın sonlarındaki dönemin ardından, erken veya yaz aylarında üreme amacıyla kullanılır. Yaprakları oval şekildedir ve 4-6 mm uzunluğunda, 2-4 mm genişliğindedir. *T. serpyllum* hermafrodit olup, kelebekler, arılar ve sinekler gibi polinatörler tarafından ziyaret edilir ve kendine özgü aromasından etkilenir. Gevşek, kumlu, kayalık ve besin yönünden fakir topraklarda iyi gelişir; orta ila kuru nem içeriği ve iyi drene edilmiş ortamda en iyi şekilde büyür. Kuraklığa ve sert rüzgarlara karşı yüksek toleransı ile bilinir, ancak gölgeli yerlerde gelişimi azalabilir. Ortalama nemli topraklarda hızla büyüyebilir ve bol güneş ışığına ihtiyaç duyar (Salaria vd., 2023). *Thymus* türleri, binlerce yıldır geleneksel tıpta şifa kaynağı olarak kullanılmış ve önemli tıbbi bitkiler arasında yer almıştır. Her bir *Thymus* türü, kimyasal bileşimlerini ve farmakolojik etkilerini doğrudan belirleyen farklı biyoaktif bileşenlere sahiptir. Bu bileşiklerin en yaygın olanları timol, karvakrol, flavonoidler ve fenolik bileşiklerdir. *T. serpyllum* içerdiği flavonoidler ve fenolik asitler gibi birçok aktif bileşen sayesinde antioksidan, antikanser ve antimikrobiyal özellikler gösterir. Bu özellikler, onu etkili ve zengin içerikli bir biyoaktif bileşik kaynağı haline getirmektedir. Balgam söktürücü, ağrı kesici, uyarıcı, terletici, idrar söktürücü ve iltihap giderici terapötik özellikleri sayesinde halk arasında yaygın olarak tercih edilen bir bitkidir. Ayrıca, ağız gargaralarında ve öksürük ile soğuk algınlığına karşı kullanılmakla birlikte romatizma ve saç dökülmesi tedavilerinde de kullanılmaktadır (Jovanović vd., 2022b; Mrkonjić vd., 2024b).

T. serpyllum bitkisinin çiçeklenme döneminde toplanan taze ve kuru üst kısımları, yüksek oranda uçucu yağ içermesi nedeniyle çeşitli iyileştirici özellikler taşıdığı bilinmektedir. Yabani kekik, dünya genelinde yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Baharat olarak kullanımının yanı sıra, yabani kekik demir şarabı, yağı veya sirkeyi tatlandırmak için de kullanılmaktadır; çiçek salkımları, sapları ve yaprakları ise bitki çayı yapımında değerlendirilmektedir. Solunum sorunlarının yönetimi ve tedavisinde ilaç sektöründe yer almaktadır. Ayrıca, boğaz pastilleri ve diğer tıbbi şekerleme ürünlerinde sıkça ana bileşen olarak bulunur. Yabani kekik, geleneksel tıpta şuruplar, tentürler, çaylar, infüzyonlar ve kaynatmalar gibi birçok bitkisel tedavi formülasyonunun içinde yer

almaktadır. Bitkinin toprak üstü kısmı, uzun yıllardır antihelmintik, antiseptik, terletici, idrar söktürücü, ağrı kesici ve balgam söktürücü özellikleriyle bilinmektedir.

Balkanlar'da, yabani kekik, sakinleştirici, kolesterolü düşürücü ve periferik dolaşımı iyileştirici etkileriyle, aynı zamanda bağışıklık sistemini güçlendiren bir ajan olarak kullanılır. Çin tıbbında, mide bulantısı, ishal, gaz, öksürük, diş ağrısı, kaşıntı ve genel ağrılar için kullanımı yaygındır. Antimikrobiyal ve öksürük kesici etkileri nedeniyle soğuk algınlığı, farenjit ve öksürük tedavisinde geleneksel olarak kullanılır. Yabani kekiğin güçlü kaynatılması, boğmaca semptomlarını hafifletir, bronşit ve astımda salgıların incelmelerini sağlar. Bu özellikleri, onu solunum yolu hastalıklarının tedavisinde özel bir bitki haline getirir. Yabani kekik özütü, en bol bulunan bileşenleri arasında rosmarinik asit ve luteolin-7-O-glukozit (flavon glukozit) içerir. Bu bileşikler, güçlü antioksidan ve genoprotektif özelliklere sahip olup, özellikle yüksek radikal temizleme yetenekleriyle dikkat çekerler. Bunun yanı sıra, yabani kekik özütlerinde bulunan diğer fenolik asitler (kafeik asit, p-hidroksibenzoik asit) ve flavonoidler (apigenin, luteolin, kuersetin) de yüksek radikal temizleme kapasitesine sahiptir (Jovanović vd., 2021a). Yabani kekik, kozmetik sektöründe bir özüt olarak kullanılmaktadır. Kekik yağı, kokuları nötrleştirme kabiliyeti ve antimikrobiyal özellikleri sayesinde kozmetik alanında da yaygın olarak kullanılmaktadır. Sabun ve deterjan ürünlerinde, güçlü ve ferahlatıcı özellikleri ve tıbbi faydaları nedeniyle yaygın olarak tercih edilmektedir (Jalil vd., 2024).

Hassas ciltler için kaşıntıyı hafifletici etkisi ve antiseptik özellikleri ile, ayrıca kafa derisindeki kan dolaşımını artırarak saç sağlığını desteklemesi önerilmektedir. Yabani kekik mutfak baharatı ve çay olarak kullanılmasının yanı sıra gıda takviyesi olarak da kullanılmaktadır. (Şekil 2.2) *T. serpyllum*, Belçika, Hırvatistan, Fransa, Almanya ve İtalya gibi Avrupa ülkelerinde sindirim fonksiyonunu destekleme, gastrointestinal motilasyonu düzenleme ve gaz atılımına yardımcı olma gibi sağlık yararlarıyla gıda takviyelerinde olumlu bir şekilde listelenmektedir. Ayrıca, burun ve boğaz sağlığı için de faydalı olduğu belirtilmektedir. Asya ülkelerinde ise *T. serpyllum*, bir gıda bileşeni olarak tanınmaktadır. Son yıllarda yapılan bilimsel araştırmalar, ilaç ve kimya endüstrilerinde birçok farklı formülasyon için yüksek kaliteli bir kaynak olarak hizmet veren *T. serpyllum* türünün tıbbi özelliklerine ilişkin etnobotanik, fitokimyasal ve farmakolojik araştırmalara olan ilgi artmıştır. Bu bitkiye bağlı uçucu yağlar, fenolik asitler ve flavonoidler,

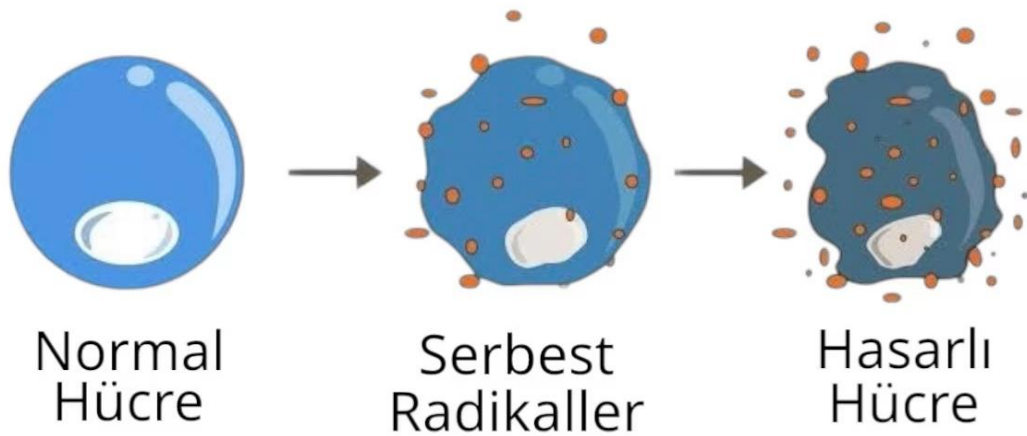
sağlığı koruyucu etkileri ve terapötik özellikleri destekleyen potansiyel olarak karmaşık fitokimyasal sinerjilere işaret etmektedir (Jarić vd., 2015).



Şekil 2.2. *Thymus serpyllum* (Yabani kekik) botanik çizimi ve çay olarak ticari kullanımı (Jalil, 2024)

2.3. Oksidatif Stres

Endojen ya da eksojen kökenli reaktif oksijen ve nitrojen türlerindeki artış, hücresel metabolizmadaki dengeyi bozarak oksidatif stres oluşumuna neden olur. Bu durum, hücre metabolizması sırasında reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı miktarda üretilmesi ve bu zararlı bileşiklerin organizma tarafından yeterince detoksifiye edilememesiyle ortaya çıkar; dolayısıyla pro-oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucu oksidatif stres meydana gelir. Oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikallerin artışıyla, hücre içindeki proteinlerin yapısı ve işlevi bozulur. Ayrıca, lipidlerin çoklu doymamış yağ asitleri ile peroksidasyonu, hücre zarlarının hasar görmesine yol açmaktadır. Bu durum, nükleik asitlerin baz modifikasyonlarına, kromozomal değişikliklere (DNA'nın tek ve çift zincirli kırılmaları, DNA ile proteinlerin çapraz bağlanması gibi) ve hücre ölümüne sebep olabilmektedir. (Şekil 2.3) Ayrıca, hücresel yapılar ve bileşenlerde oksidatif hasar, polisakkaritlerin parçalanması ve karbonhidratların bozulması gibi sorunlara neden olabilir. Serbest radikallerin aşırı üretiminin oksidatif strese neden olduğu, bunun da oksidasyona ve canlı sistemdeki önemli makromoleküllere zarar vererek sinyal iletim yolları ve antioksidan dengesini bozduğu bilinmektedir (Sadiq, 2023; Vona vd., 2021).



Şekil 2.3. Serbest radikaller ve oksidatif stres sonucu oluşan hasarlı hücre (Zhu vd., 2024)

Serbest radikaller, atom yörüngelerinde eşleşmemiş bir veya daha fazla elektrona sahip olan, bu nedenle de oldukça reaktif ve kararsız yapılar sergileyen atom veya moleküllerdir. Eşleşmemiş elektronlar, bu bileşiklerin çevrelerindeki moleküllerle kolayca etkileşime girmelerine neden olur. Bu reaktivite nedeniyle serbest radikaller, oksidatif tepkimelere girerek kendilerini nötralize etmeye çalışırlar. Reaktif oksijen türleri (ROT), genellikle mitokondriyal aktivitenin artışından kaynaklanan yan ürünlerdir ve hücrelerde oksidatif strese yol açar. Düşük ve orta düzeydeki reaktif oksijen türleri (ROT), hücresel sinyallemeyle destekleyerek normal hücresel tepkilerin devamlılığını sağlar. Bu seviyelerdeki serbest radikaller, bağışıklık yanıtında patojenlerle mücadele, düz kas hücrelerinin çoğalmasını önlemek ve sistemik dolaşımın düzenlenmesi gibi çeşitli fizyolojik işlevlerde önemli roller üstlenebilir. Ancak, ROT seviyesi belirli bir seviyeyi aştığında, bu durum hücre ölümüne neden olabilir. Bilindiği üzere vücutta serbest radikallerin aşırı miktarda üretilmesi zararlı etkilere yol açmaktadır (Akbari vd., 2022; Liguori vd., 2018). Aşırı alkol tüketimi, stres, radyasyon, sigara kullanımı, aşırı güneşe maruz kalma ve çevre kirliliği gibi faktörler de oksidatif stresi tetikleyen faktörler arasında yer almaktadır. Normalde serbest radikaller, vücudun antioksidan sistemleri sayesinde etkisiz hale getirilir ve vücuttan uzaklaştırılır. Ancak, bu sistemin düzgün çalışmaması durumunda hücreler zarar görebilir. Bu yüzden, hücreleri korumak, reaktif oksijen türlerinin (ROT) birikimini kontrol etmek ve oluşabilecek hasarları önlemek ya da onarmak için güçlü bir antioksidan savunma mekanizmasına ihtiyaç vardır (Chaudhary vd., 2023). Ayrıca, oksidatif stresin kardiyovasküler hastalıklar, kronik akciğer hastalıkları, böbrek yetmezliği, nörolojik hastalıklar, kanser, Alzheimer ve ateroskleroz gibi birçok hastalıkların ortaya çıkmasında etkili olduğu bilinmektedir. ROT birikimi, yağ oksidatif stresini tetikler ve bu durum, sinyal iletimi, yağ hücresi metabolizması, tip 2 diyabet, obezite ve insülin direnci gibi klinik sonuçlarla bağlantılıdır. Obezitede, beslenme durumu, hiperglisemi, hiperlipidemi ve kronik inflamasyon oksidatif stresin artmasına yol açabilmektedir. Birçok organizma, insan vücudunu oksidatif hasara karşı korumak amacıyla Askorbik asit, α -tokoferol ve glutatyon gibi bileşiklerle etkili bir koruma sağlar. Meyve, sebze ve bitkisel bileşiklerde yüksek antioksidan özellikler bulunur; bu antioksidan seviyeleri ne kadar yüksekse, vücut o kadar güçlü bir hastalıklara karşı direnç geliştirebilir. Antioksidanlar, biyomolekülleri serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyan ve ROT'nin neden olduğu hasarı azaltan veya onaran maddelerdir.

Antioksidanlara bir nevi koruyucu savunma sistemi de denilebilmektedir (Kıran vd., 2023).

2.4. Antioksidanlar

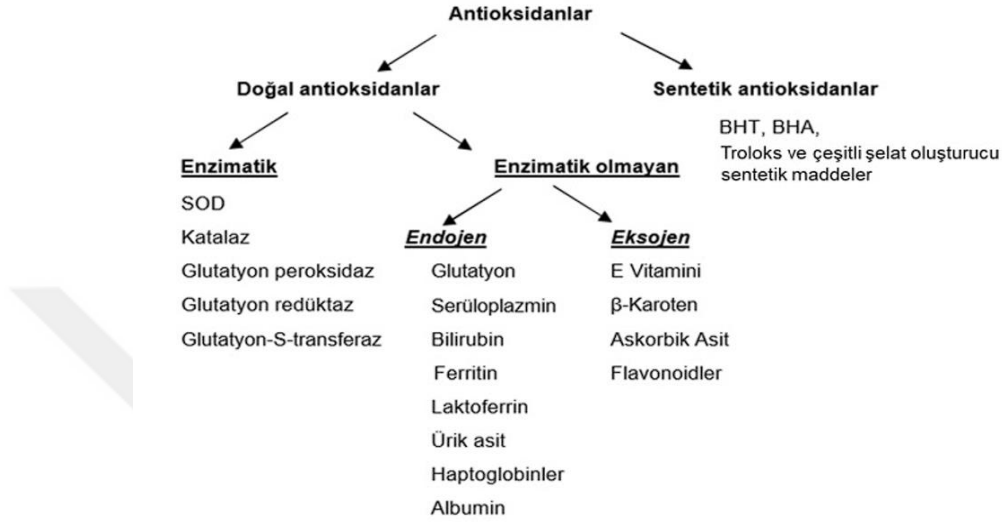
İnsan vücudunda gerçekleşen oksidasyon süreçleri, hücre zarları ve diğer yapılar üzerinde zararlı etkilere sahip serbest radikal adı verilen kimyasalların oluşumuna neden olur. Vücut, reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşı çeşitli doğal savunma mekanizmaları geliştirerek serbest radikalleri kontrol altında tutar. Serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarı önleyen, bu radikalleri yakalayarak stabilize edebilen ve vücudu koruyan maddelere “antioksidan” denir (Kıran vd., 2023). Vücudun antioksidan savunma sistemi fazla serbest radikali nötralize edemezse, bu dengesizlik kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar ve diğer hastalıklara yol açabilir. Antioksidanlar, oksidasyon sürecini engelleyen bileşiklerdir. Serbest radikal ara maddelerini kendilerini oksitleyerek nötralize ederler ve bu etkiyi çok düşük konsantrasyonlarda bile gösterirler. Böylece vücuttaki oksidasyon reaksiyonlarını durdurarak, zararlı zincirleme reaksiyonlardan korunmasına yardımcı olurlar. Günümüzde en yaygın olarak kullanılan antioksidanlar arasında beta-karoten, C ve E vitaminleri, likopen, koenzim Q-10, selenyum, çinko ve manganez gibi organik ve inorganik bileşikler bulunmaktadır (Vona vd., 2021). Antioksidanlar, sentetik antioksidanlar, doğal antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler. Sentetik antioksidanlar, doğal antioksidanların çeşitleri ve türevlerinden elde edilen kimyasallardır. Sentetik antioksidanlar, doğal yapılarla benzerlik taşımayan yapay bileşiklerdir. Bu tür antioksidanlar, özellikle gıdalarda koruyucu amaçlarla ve yağların oksidasyonunu engellemek için yaygın bir şekilde kullanılır. En sık karşılaşılan sentetik antioksidanlar arasında Etoksikuin, BHA (Butillenmiş hidroksi anisol), BHT (Butillenmiş hidroksi toluen), PG (Propil gallat) ve TBHQ (Tersiyer butil hidrokinon) yer almaktadır. Enzimatik antioksidanlar, glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimleri içerir. Ayrıca, vücuttaki toplam antioksidan kapasitesine katkıda bulunan ve serumda görülen

başka enzimler de vardır. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise A, E, C vitaminleri, D vitamini, enzim kofaktörleri (örneğin, Q10), peptitler ve bazı mineraller (çinko, selenyum) gibi çeşitli bileşenlerden oluşur. Antioksidanların sınıflandırması Şekil 2.4 'te gösterilmektedir (Anwar vd., 2018). Doğal antioksidanlar, genellikle meyve, sebze, kuruyemiş, tohum, yaprak, kök ve kabuk gibi bitkilerin çeşitli bölümlerinde yer alan fenolik bileşiklerdir. Bitki, meyve, sebzelerde bulunan ve doğal kaynaklardan elde edilen en önemli bileşikler arasında ise güçlü antioksidan özelliklere sahip polifenolik bileşikler bulunur. Askorbik asit, karotenoidler, tokoferoller, peptitler, flavonoidler, polifenoller ve enzimatik antioksidanlar başlıca doğal antioksidanlardır. Bitkilerdeki aktif bileşikler özellikle fenolik ve polifenolik bileşenlerden oluşur ve bu bileşikler sekonder bitki metabolitleri olarak tanımlanır (Ayşe Çelik vd., 2020).

Doğal antioksidanlar, oksidatif strese karşı koruma sunarak ve kronik hastalık riskini azaltarak, dengeli bir diyetin önemli bir parçasını oluşturur. Meyve, sebze ve diğer bitki bazlı gıdalarda bol miktarda bulunan polifenoller, flavonoidler, karotenoidler, fenolik asitler, lignanlar gibi bileşenler sağlık üzerinde birçok fayda sağlar. Bu doğal ürünler, hastalıklarla mücadele etme ve genel sağlığı iyileştirme yetenekleri sayesinde hem geleneksel hem de modern tıpta değerli terapötik ajanlar olarak yer alır. Bazı meyve ve sebzelerde bulunan karotenoidler göz sağlığını ve bağışıklığını desteklerken, C ve E vitaminleri gibi farklı vitaminler güçlü antioksidan özelliklere sahip temel mikro besinler olarak sağlık açısından önemlidir. Meyve ve sebzeler, besleyici değerleri ve sağlık üzerindeki olumlu etkileriyle yaygın olarak önerilen gıda maddeleridir. Yüksek miktarda mineral (özellikle elektrolitler) ve vitaminler (özellikle C ve E vitaminleri) içermeleri, onları geleneksel beslenme biçimlerinde önemli bir yere yerleştirmiştir. C vitamini (Askorbik asit), güçlü bir antioksidan olarak meyve, sebze gibi gıdalarda bolca yer alır. C vitamini, süperoksit ve hidroksil radikallerini ortadan kaldırmada önemli bir rol oynarken, E vitamini hücre zarlarındaki lipidlerin oksidasyonunu engelleyerek koruyucu bir işlev görür (Akbari vd., 2022).

Ayrıca, modern araştırmalar bu gıdaların antioksidan özellikler taşıyan fitokimyasal bileşenlere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu antioksidanlar, diyabet, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi dejeneratif sağlık sorunlarıyla bağlantılı serbest radikalleri temizleyerek, bu hastalıkların etkilerini azaltabilir. Bu nedenle, düzenli olarak meyve ve sebze tüketimi, bu hastalıklarla ilişkili ölüm riskini düşürebilir. Son yıllarda

yapılan toksikolojik çalışmalar sentetik antioksidanların zararlı ve olumsuz etkilerini ortaya koymuştur. Bu bulgular, araştırmacıları, doğal kaynaklarda bulunan ve uygun antioksidan potansiyeline sahip alternatifleri keşfetmeye yönlendirmiştir (Pinilla-González vd, 2024).



Şekil 2.4. Antioksidanların sınıflandırılması (Demir & Akpınar., 2020)

2.5. Bitkilerin Antioksidan Etkileri

Antik çağlardan günümüze kadar bitkiler, çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmış ve bu yönleriyle geleneksel tıbbın temel bileşenleri arasında yer almıştır. Şifalı bitkiler olarak da adlandırılan tıbbi bitkiler, insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösteren ve terapötik potansiyele sahip çeşitli biyolojik olarak aktif bileşenler içermektedir. Bu maddelerin içeriği ve verimi bitkinin geliştiği çevre, hasat zamanı ve bitkinin nasıl kurutulup saklandığına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bitkilerin serbest radikal temizleme kapasitesi ve antioksidan zenginliği, polifenoller, tokoferoller, karotenoidler, askorbik asit, polisakkaritler, peptitler ve uçucu yağlar gibi bileşenlerle bağlantılıdır (Michalak, 2022; Akbari vd., 2022). Birçok bitki ve türevleri, yüksek biyoaktiviteye sahip olup, düşük toksisite seviyeleriyle dikkat çeker. Bu özellikleri sayesinde, oksidatif stresi önlemek amacıyla önemli doğal antioksidan kaynakları olarak yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Günümüzde sentetik ilaçların yan

etkilerinin fazla olması, bitkisel kaynaklı ilaçlara olan ilgiyi artırmıştır. Yapılan bilimsel çalışmalar, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve DNA hasarı gibi birçok hastalığın serbest radikallerle bağlantılı olduğunu ortaya koymuştur (Karadağ, 2019; Emin Diken, 2009; Ayşe Çelik vd., 2020).

Bitki antioksidanları, biyoaktif bileşiklerin doğal kaynaklarıdır. Ayrıca bitkilerin çevre faktörlerine karşı uyum sağlamalarında önemli rol oynamaktadırlar. Bitkiler sıcaklık, besin-su eksikliği, kirlilik, aşırı yağış gibi çevresel faktörlerden etkilenmektedirler. Bu faktörler reaktif oksijen türlerinin (ROT) dengesini bozarak bitkilerde oksidatif strese yol açabilir. ROT, bitki gelişimi için gerekli olsa da aşırı birikimleri bitki hücrelerinde de hasarlara neden olabilmektedir. Dolayısıyla, oksidatif dengenin korunması, bitkilerin çevresel stresle başa çıkabilmesi açısından önem taşımaktadır (Maury vd., 2020). Antioksidan bakımından zengin olan bazı tıbbi bitkiler en büyük ve doğal antioksidanlar olarak kabul edilir. Tıbbi bitkilerdeki yüksek fenolik ve flavonoid düzeyleri, bu bitkilerin antioksidan özellikleriyle bağlantılıdır. Dolayısıyla antioksidan özelliği bulunan bir çok bitki fitokimyasal içermektedir. Fitokimyasallara bitki kimyasaları da denilmektedir. Bu kimyasallar bitki yaşamının sürdürülmesi açısından çok önemlidir. Ayrıca fitokimyasallar anti inflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antifungal, kemopreventif gibi birçok önemli ve hayati farmakolojik etkiye sahiptir (Ayşe Çelik vd., 2020).

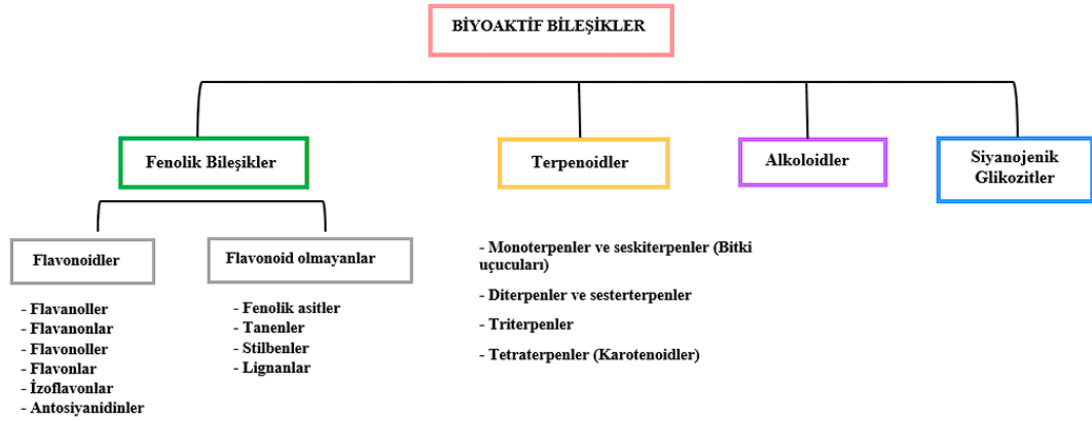
Fitokimyasallarca açısından zengin olan bitkiler tüketildiğinde insan sağlığı açısından çok yararlıdır. Fitokimyasallar işlevlerine göre birincil ve ikincil metabolitler olarak iki gruba ayrılır. Birincil metabolitler arasında yaygın şekerler, amino asitler, klorofiller, nükleik asitlerin pürin ve pirimidinler ile proteinler bulunur. İkincil metabolitler ise alkaloidler, flavonoidler, fenolik bileşikler, terpenler, lignanlar, bitki steroidleri, saponinler, glikozitler gibi çeşitli kimyasallardan oluşmaktadır. Bu ikincil metabolitler içinde fenolik bileşikler en yüksek orana sahiptir; bitkilerin ikincil fitokimyasal bileşenlerinin %45'ini fenolikler, %27'sini terpenoidler ve steroidler, %18'ini alkaloidler, %10'unu ise diğer bileşenler oluşturur (Karataş vd., 2019). Bu bileşenlerin sağlık açısından birçok faydası bulunmaktadır. Bağışıklık sistemini güçlendirir, oksidatif stresi azaltır ve kanser hücrelerinin gelişimini yavaşlatır. Ayrıca

iltihap ve enfeksiyon risklerinin azaltması ve DNA hasarının önlenmesinde önemli özellikleri arasındadır. Yapılan bilimsel araştırmalara göre fitokimyasallar bir süredir kanser hastalıklarında monoterapi ya da diğer ajanlarla birlikte kombine terapi olarak kullanılmaktadır (Nwozo vd., 2023).

2.6. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, fitokimyasalların önemli ve büyük bir kısmını oluştururken, bitkiler dünyasında da en yaygın bileşikler arasında yer alır. Fenolik bileşikler, bir veya birden fazla hidroksil grubunun benzen halkasına bağlandığı bileşiklerdir. Bu bileşikler, bitkilerin sekonder metabolizmaları aracılığıyla üretilir ve doğada bitkiler tarafından genellikle savunma amacıyla sentezlenir. Her bitki türü, bu bileşenleri farklı niteliklerde ve çeşitli konsantrasyonlarda üretir. Fenolik bileşikler, bitkilerin savunma mekanizmalarında önemli rol oynar; virüsler, parazitler, patojenler ve herbivorlar gibi biyotik zararlılara karşı koruma sağlarken, ultraviyole (UV) radyasyonu, mekanik yaralanma ve kuraklık gibi abiyotik stres faktörlerine karşı da bitkide koruyucu bir görev üstlenir. (Khoddami vd., 2013; Atak & Emin Uslu, 2018). Fenolik bileşikler, flavonoidler, fenolik asitler, tanenler, stilbenler ve lignanlar olmak üzere 5 ana gruba ayrılmaktadır. (Şekil 2.5) (Karataş vd., 2019). Fenolik bileşikler, vitaminler ve karotenoidler gibi doğal antioksidanlardır ve oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Fenolik bileşikler, sekonder metabolitler olarak, vücutta oksidatif stresle savaşıyor, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengeyi korur. Oksidatif stres sonucu, hücrelere zarar veren serbest radikallerin birikimi birçok hastalığın gelişimine yol açabilir. Fenolik bileşikler, bu zararlı serbest radikalleri nötralize ederek, vücudun sağlık dengesini korumaya yardımcı olur (Van Hung, 2016; Vuolo vd., 2019). Fenolik bileşikler, güçlü antioksidan özelliklerinin yanı sıra antimikrobiyal, antialerjik, antienflamatuvar, antidiyabetik, antiviral ve antitrombotik gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Bu bileşikler; kansere karşı koruyucu etkiler göstermeleri, kan pıhtılaşmasını önlemeleri, mide ülserlerinin iyileşmesine katkıda bulunmaları, damar tıkanıklıklarını engellemeleri, alerjik reaksiyonları hafifletmeleri, inflamasyonu azaltmaları, oksidatif strese karşı koruma sağlamaları, bağışıklık sistemini güçlendirmeleri, kardiyovasküler sağlığı desteklemeleri ve analjezik etkiler göstermeleri gibi çok yönlü faydalarıyla dikkat çekmektedir (Demir & Akpınar, 2020; Zhang vd., 2022). Fenolik bileşiklerin antioksidan etkinliği, hidrojen veya elektron bağışlayabilme kapasitelerine dayalı olarak indirgeyici

özellikleri ile ilişkilidir. Bu özellikleri sayesinde, fenolik bileşikler serbest radikalleri temizleyerek antioksidan etkisi gösterirler. Ayrıca, özellikle demir ve bakır gibi metallerle etkileşime girerek, metal şelatlama kapasitesine sahip olup, metal katalizli serbest radikal üretimini engellerler. Fenolik bileşiklerin yapıları, radikal temizleyici ve metal şelatlama etkinlikleri ile doğrudan bağlantılıdır. Hidroksil gruplarının sayısı ve karboksil gruplarının konumu, bu bileşiklerin antioksidan aktivitesini önemli ölçüde etkiler. Fenolik bileşiklerin, kanser hücrelerinin inhibisyonunda rol oynayan enzimlerin aktivitesini artırarak, tümör oluşumu ve kanser gelişiminde etkili olan nitrozaminlerin oluşumunu ve yayılımını engellediği düşünülmektedir. Fenolik bileşikler, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, osteoporoz ve nörodejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etkilere sahip olmanın yanı sıra, gıdaların renk, tat ve koku gibi duyuşal özelliklerini de etkileyen önemli bileşiklerdir. (Karabulut & Yemiş, 2019). Fenolik bileşikler, sebze, meyve, tahıl ve baklagil gibi gıdaların yanı sıra çay, kahve, bira ve şarap gibi bitki kaynaklı içeceklerde de bulunur. Bunlar arasında, soğan, brokoli ve elma gibi gıdalarda bolca bulunan flavanol, flavonoid ve kuersetin; farklı çaylar ve meyvelerde yer alan bir diğer flavanol türü olan kateşin; greyfurtta bulunan ana flavanon olan naringenin; soya fasulyesinde bulunan başlıca izoflavanonlar olan glisitin, genistein ve daidzein; ve böğürtlen, ahududu ve siyah frenk üzümünde bolca bulunan siyanojen glikozitler öne çıkmaktadır. Bu bileşiklerin insan sağlığına sağladığı yararlar nedeniyle, fenolik bileşikler açısından zengin gıdaların tüketimi önerilmektedir. (Chaudhary vd., 2023). Yabani kekik, içerdiği terpenoid bileşikler sayesinde tıbbi olarak önemli antiseptik ve antifungal özellikler gösterir. Bu bitkinin çayı, soğuk algınlığı ve bronşit gibi solunum yolu rahatsızlıklarında ya da akne tedavisinde destekleyici olarak kullanılabilir. *T. serpyllum*'un yaprakları ve çiçekleri, birçok faydalı bileşen bakımından oldukça zengindir. Bu bitkinin fitokimyasal içeriği oldukça çeşitlidir; başlıca uçucu yağlar (örneğin trisiklen, sabin asetat, α -terminen), alkaloidler, karbonhidratlar, uçucu yağ asitleri, glikozitler (flavonoid ve kardiyak glikozitler, saponinler), fenolik bileşikler (fenilpropanoidler, flavonoidler, tanenler), fenolik karboksilik asitler, poliasetilenler, steroidler, karotenoidler, diterpenoidler ve terpenoidler (ursolik asit, oleanolik asit, dihidrosolik asit gibi) içerir. Sulu özütler, özellikle rosmarinik asit ve luteolin-7-glukozit gibi flavonoid bileşikler bakımından oldukça zengindir (Aitbekov vd, 2024).



Şekil 2.5. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması (Arslan vd., 2021)

2.7. Flavonoidler

Fenolik asitler gibi, flavonoidler de polifenollerin en büyük grubunu oluşturan ikincil metabolitlerdir. Oksijen içeren bir piren halkası ile iki benzen halkasının birleşiminden meydana gelen bu polifenoller, bitkilerde çoğunlukla glikozit formlarında bulunur. Flavonoidler, başta meyve ve sebzeler olmak üzere çay, kakao, şarap, kahve çekirdekleri, tahıllar, baharatlar ve soya ürünleri gibi çeşitli bitkisel kaynaklarda yüksek oranda bulunan, biyolojik açıdan aktif bileşiklerdir. Bu nedenle, söz konusu bileşikler literatürde genellikle diyet flavonoidleri olarak tanımlanmakta ve günlük beslenme yoluyla önemli miktarda alınmaktadır (Demir & Akpınar, 2020). Flavonoidler, bitkilerde bulunan ve güçlü antioksidan özelliklere sahip bir fenolik bileşik grubudur. Fenolik bileşikler, bitkilerde renk, tat ve koku gibi duyuşsal özelliklerin oluşumunda rol oynarken; çiçeklerin renk ve kokusunun gelişimine katkı sağlarlar. Aynı zamanda patojen saldırıları, fiziksel yaralanmalar ve aşırı ultraviyole ışınları gibi çevresel stres faktörlerine karşı bitkinin savunma mekanizmalarında önemli bir koruyucu görev üstlenirler. Flavonoidler, insan sağlığı üzerinde de birçok fayda sağlar. Antioksidan özelliklerinin yanı sıra, anti-inflamatuar etkiler gösterir, kanser gelişimini engelleyebilir, kardiyovasküler sağlığı destekler ve beyin fonksiyonlarını iyileştirebilir (Haminiuk vd, 2012; Van Hung, 2016). Flavonoidler, bitkilerde önemli biyolojik işlevler üstlenen bileşiklerdir. Flavonoidlerin içerdiği güçlü antioksidanlar, serbest radikallerin hücrelere zarar vermesini engelleyerek, hücrelerin sağlıklı kalmasını sağlar. Bu özellikleri sayesinde, flavonoidlerin kronik

hastalıkların gelişimini engellemeye ve yaşlanma sürecini yavaşlatmaya yardımcı olabileceği düşünülmektedir (Čižmarová vd., 2023).

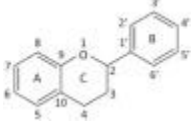
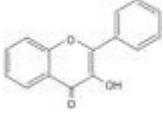
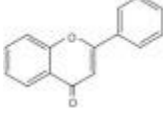
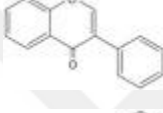
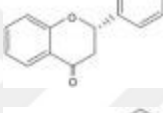
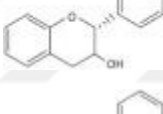
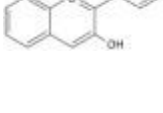
Doğada en yaygın bulunan flavonoid türleri arasında antosiyaninler, flavonlar, flavonoller, flavanonlar, izoflavonlar ve diğer alt gruplar yer almaktadır. (Çizelge 2.1) Flavononlar, özellikle turunçgillerde bulunan flavonoid türleridir; portakalda hesperitin, limonlarda eriodiktyol ve greyfurtta ise naringenin aglikonunu içerirler. İzoflavonlar, flavonoidlerin bir alt grubunu oluşturur ve östrojen hormonlarına benzer yapılar sergilerler. Antosiyaninler, kırmızı, mavi veya mor renklerde görülen ve bitkilerin çiçekleri, yaprakları, sapları, kökleri ve meyveleri gibi tüm dokularında yer alan suya çözünebilir pigmentlerdir. Bu bileşikler, tahıllarda, kırmızı şarapta, bazı kök sebzelerde (soğan, lahana, fasulye gibi) ve özellikle kiraz, kırmızı meyveler ve nar gibi meyvelerde bolca bulunur. Antosiyaninlerin, kalp krizi ve kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle ölüm riskini azaltmaya yardımcı olarak kalp sağlığını destekleyen koruyucu etkileri vardır (Zhang vd., 2022). Flavonoidler esas olarak su ile çözünür moleküllerdir ve güçlü antioksidan özellikleri sayesinde karsinogenezin her aşamasında vücudu koruma işlevi görürler. Bu nedenle, kanser hastaları için potansiyel bir diyet takviyesi ve kemoprotektif ajan olarak önemli bir rol oynarlar (Karataş vd., 2019). Meyve ve sebzelerdeki flavonoidlerin miktarı, bitkinin tür çeşitliliği, edafoklimatik koşullar (ışık, su, sıcaklık, rakım ve toprak özellikler vb.) kullanılan bitki kısmı, yetiştirilme yöntemleri ve olgunlaşma düzeyine bağlı olarak farklılık gösterebilir. Flavonoidler, gıdalardaki sadece renk özelliklerini belirlemekle kalmaz, aynı zamanda tat vermede de etkilidirler, lipid peroksidasyonunun engellenmesi, enzimlerin işlevi ve vitamin bileşenlerinin sağlıklı işleyişine de katkı sağlarlar (Panche vd, 2016; Vuolo vd., 2019). Flavonoidler, doğal boyalar, kozmetik ürünleri ve cilt bakım ürünlerinde, özellikle kırıksıklık karşıtı ajanlar olarak yaygın şekilde kullanılır. Ancak, bu polifenollerin en belirgin ve etkili kullanımı tıp alanında görülmektedir. Flavonoidler, birçok sağlık sorunu üzerinde olumlu etkiler gösteren güçlü bileşiklerdir ve genellikle antikanser, antimikrobiyal, antiviral, antianjiyojenik, antimalaryal, antioksidan, nöroprotektif, antitümör ve antiproliferatif özellikleriyle bilinirler. Bu özellikleri sayesinde, flavonoidler modern tıpta birçok hastalığın tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. Flavonoid bakımından zengin besinler, nörodejeneratif hastalıkların riskini düşürmeye yardımcı olabilir ve aynı zamanda yaşa bağlı bilişsel bozulmalarla mücadele eder. Bu besinler, beyin sağlığını

koruyarak, yaşlanma süreciyle birlikte gelişen zihinsel gerilemenin önlenmesine katkı sağlar. Flavonoidlerin anti-inflamatuar etkileri, tıbbi ve kozmetik ürünlerde sıkça tercih edilmelerinin başlıca nedenidir. Bu özellikleri sayesinde, flavonoidler inflamasyon süreçlerinde rol oynayan birçok bağışıklık hücresinin etki mekanizmaları üzerinde de etkileri vardır. Bu bağlamda, astım tedavisinde antosiyanidinler, flavonlar, flavonoller ve izoflavonlar gibi flavonoidlerin olumlu etkiler gösterdiği bilimsel olarak doğrulanmıştır (Ullah vd., 2020; Maleki vd., 2019).

Yapılan birçok bilimsel çalışma, *T. serpyllum*'un fenolik bileşikler ve özellikle flavonoidler açısından zengin bir içeriğe sahip olduğunu göstermektedir. Bu bitkinin yapısında, flavonoidlerin başlıca alt gruplarından olan flavonoller (kuersetin, rutin, kaempferol), flavanonlar (naringenin, hesperidin) ve flavonlar (apigenin ve luteolin glikozitleri) gibi biyolojik açıdan önemli bileşiklerin bulunduğu bilinmektedir. Bu flavonoidlerin, bitkiye güçlü antioksidan özellikler kazandırdığı ve çeşitli farmakolojik etkilerle (antiinflamatuar, antimikrobiyal, kardiyoprotektif vb.) ilişkilendirildiği bildirilmektedir. Özellikle luteolin ve apigenin glikozitleri gibi flavonların, oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (Boros vd., 2010) (Aksić vd., 2023; Sonmezdag vd., 2016). Yabani kekiğin antiseptik etkisi, büyük ölçüde uçucu yağlarında bulunan timol, karvakrol, p-simen, linalool, α -pinen gibi bileşenlerden; ayrıca β -kariofilen, germakren D ve nerolidol gibi mono- ve seskiterpenlerden kaynaklanır.

Antioksidan kapasitesi ise rosmarinik asit gibi fenolik asitler ile kuersetin, eriositrin, luteolin, apigenin ve serpinin gibi flavonoid bileşenlere dayanmaktadır (Corina Iuliana vd, 2014). Flavonoidler, ciltteki serbest radikal oluşumunu tetikleyen faktörleri engelleyerek, yaşlanma sürecini yavaşlatır ve cildin daha genç görünmesini sağlar. Flavonoidler, ayrıca plazmadaki düşük yoğunluklu lipoproteinleri azaltma, trombositlerin toplanmasını engelleme, serbest radikalleri temizleme ve hücre çoğalmasını önleme gibi işlevleri de vardır. Flavonoidler, insan sağlığına faydalı etkiler sağlamakta olup, çeşitli diyet terapilerinde flavonoid açısından zengin gıda ve içeceklerin tüketilmesi sıklıkla tavsiye edilmektedir (Atak & Emin Uslu., 2018; Akbari vd., 2022).

Çizelge 2.1. Flavonoidlerin alt grupları, kimyasal yapıları ve bulundukları besin kaynakları (Maleki vd ., 2019)

Alt sınıf	Yapı	Tip	Yiyecek
			
Flavonol		Quercetin, kaempferol, galandın, mirisetin	Elma, kiraz, çilek, soğan, domates, brokoli, çay, şarap oku
Flavon		Luteolin, apigenin, kimin	Meyveler, sebzeler, tahıllar
İzoflavon		Genistein, daidzein, glisitın	Soya fasulyesi gibi baklagiller
Flavanon		Naringenin, hesperetin, eriodiktyol	Turunçgiller
Flavanol		Kateşin, epikateşin, gallokateşin	Elma, kırmızı üzüm, çay
Antosiyanidin		Siyanidin	Meyveler

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Bitki



Şekil 3.1. *Thymus serpyllum* L. (yabani kekik) bitkisi

Alem: Plantae

Şube: Tracheophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Takım: Lamiales

Familya: Lamiaceae

Cins: Thymus

Tür: *Thymus serpyllum* L. (Yabani Kekik) (Aitbekov vd, 2024)

3.1.2. Bitkinin Temin Edilmesi

Deneylerde kullanılan bitkisel materyal olan yabani kekik (*T. Serpyllum*) bitkisi, Kosova'nın Prizren şehrindeki yerel pazardan kurutulmuş şekilde satın alındı. Temin edilen örnekler analiz çalışmalarında kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında kilitli poşetlerde saklanarak muhafaza edildi.

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler Ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Sigma Aldrich ve Merck'ten satın alındı. Çalışmada ultrasonik su banyosu (Daihan WUC A06H), çalkalamalı su banyosu (Daihan 20-250 rpm; dijital), spektrofotometre (Shimadzu UV-1240), evaporatör (Heidolph Hei-VAP Value G1), analitik terazi (Sartorius Entris), vorteks (Yellow Line TTS2), ısıtıcı ve manyetik karıştırıcı (IDL LMS-1003), mikropipetler (Thermo scientific), ve blender deneylerde sırasında kullanılan başlıca cihazlardır.

3.2. Metod

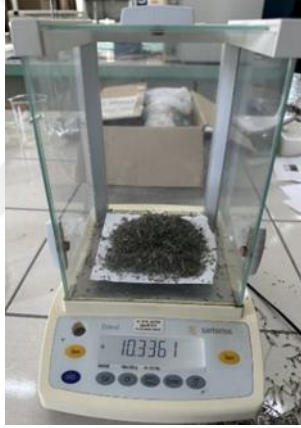
3.2.1. Ekstraktların Hazırlanışı

Bitkinin doğal antioksidanlarını incelemek için ekstraksiyon, önemli ve ilk temel adımdır. Ekstraksiyon, biyoaktif bileşiklerin bitki materyalinden elde edilmesi için temel bir işlem olarak tanımlanır (Karataş vd., 2019). Yabani kekik bitkisinin ekstraksiyonu için çözücü olarak metanol ve etil asetat seçildi. Metanol ve etil asetat çözücüleri kullanılarak ultrasonik destekli ekstraksiyon ve çalkalamalı su banyosunda gerçekleştirilen ekstraksiyon olmak üzere 2 farklı ekstraksiyon modeli kullanıldı (Danjolli-Hashani & Selen-İşbilir, 2022).

10 g tartılmış yabani kekik bitki örnekleri, ev tipi blender ile öğütüldükten sonra, metanol ve etil asetat çözücüleri kullanılarak ekstraktları hazırlandı. (a) (Şekil 3.2) Ultrason destekli ekstraksiyonda metanol çözücüsüyle 16 g öğütülmüş yabani kekik örneğine 320 mL metanol çözücüsü (katı:sıvı oranı 1:20) eklendi. (b) Ultrasonik su banyosunda 70 °C'de 80 dakika süresiyle ekstraksiyon işlemi yapıldı. (c) Süzgeç kağıdından süzüldü. (e) Daha sonra süzüntünün çözücüsü evaporatörde 35-38 °C' de uçuruldu. (f) Etil asetat çözücüsüyle aynı şekilde ev tipi blenderda 10 g öğütülmüş yabani kekik 250 mL etil asetat çözücüsü (katı:sıvı oranı 1:25) eklenerek 80 dakika süreyle

ekstraksiyon işlemi yapıldı ve bitkinin ekstraktı elde edildi. Metanol ve etil asetat çözücülerıyla yabani kekik bitkisinden ekstrakte edilen bileşiklerin miktar tayini için ekstraktların birkaç gün kuruması beklendikten sonra sonra hassas terazide örneklerin tartımı yapıldı. (g)

Ultrasonik destekli ekstraksiyondaki prosedür aynı aşamalarla çalkalamalı su banyosunda da yapıldı. 10 g tartılmış yabani kekik ev tipi blender cihazında öğütüldü. 200 mL metanol ve etil asetat çözücücü kullanılarak katı sıvı oranı 1:20 olacak şekilde ekstraksiyon işlemi yapıldı. Çalkalamalı su banyosunda 50 °C ' de 120 rpm' de sallama hızıyla 4 saat süreyle çalkalandı. (d) Süzgeç kağıdından süzüldü ve süzüntünün çözücüsü evaporatörde 35 °C' de uçuruldu. (e,f) Hassas terazide tartılarak ekstraksiyon verimi hesaplandı.



a.



b.



c.

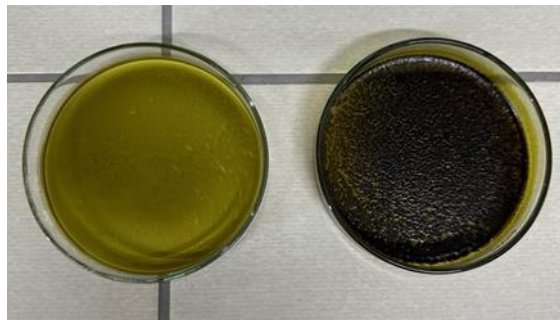


d.



e.

f.



g.

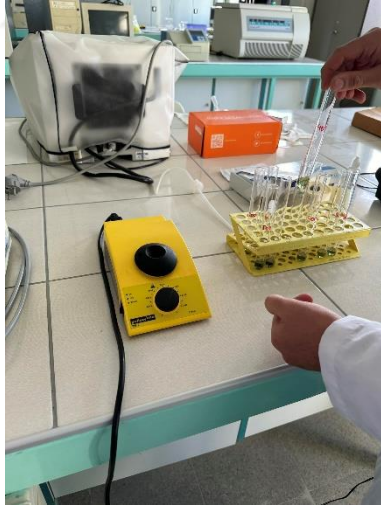
Şekil 3.2. Ekstraksiyon aşamaları

3.2.2. Toplam Fenolik Madde (TPC) Tayini

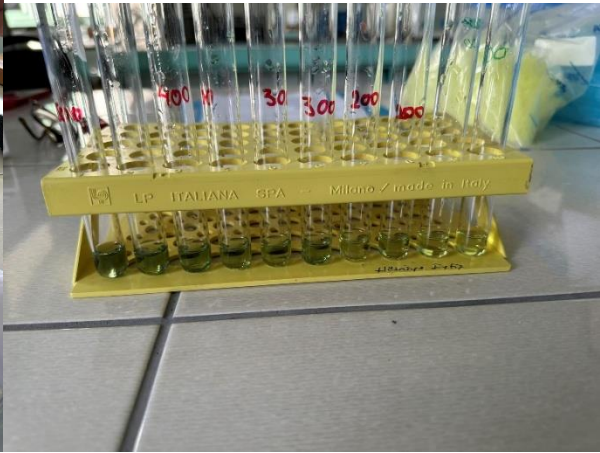
Yabani kekik (*T. Serpyllum*) bitkisinin metanol ve etil asetat ekstraktlarında bulunan toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile tayin edildi (Jovanović vd., 2022).

Yabani kekik bitkisinin metanol ve etil asetat ekstraktlarından 20 μ L (1mg/mL) alınıp 1500 μ L (1,5 mL) distile su ve 100 μ L Folin Ciocalteu Reaktifi eklendikten sonra vorteksleyip 5 dakika dinlenmeye bırakıldı. (a) Karışımın üzerine distile su ile hazırlanan %20'lik sodyum karbonat çözeltisinden 300 μ L eklendi. Ardından karışım distile su ile 2 mL' ye tamamlandı. (b) Oda koşullarında folyoyla sarılı bir şekilde karanlık ortamda 2 saat bekletildi. (c) Spektrofotometrede 765 nm.'de absorbans ölçümü yapıldı. (d) Standart olarak 100,200,300,400,500 μ g/mL gallik asit çözeltileriyle yapılan deneyden elde edilen absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği çizilerek elde edilmiş eğri kullanıldı.

Örneklerin toplam fenolik madde miktarları μ g gallik asit (μ g GAE/mL ekstrakt) eşdeğeri şeklinde hesaplandı. Tüm analizler 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi.



a.



b.



c.



d.

Şekil 3.3. Toplam fenolik madde tayini deney aşamaları

3.2.3. Toplam Flavonoid Tayini

Yabani kekik (*T. Serpyllum*) ekstraktlarındaki Jovanović' in toplam flavonoid tayini metoduna göre gerçekleştirildi. Örneklerin toplam flavonoid miktarı kuersetin standardı kullanılarak hesaplandı (Jovanović vd., 2022).

Yabani kekik bitkisinden elde edilen metanol ve etil asetat ekstraktları, 50–250 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında hazırlanarak deney tüplerine sırasıyla 250 μL (1mg/mL) ekstrakt, 75 μL sodyum nitrit çözeltisi ve 1,25 mL distile su eklendi. Vorteksleyip 5 dakika karanlıkta bekletildi. Süre tamamlandıktan sonra üzerine 150 μL alüminyum klorür çözeltisi ve 500 μL 1 M sodyum hidroksit çözeltisi eklenip vortekslendi. Son olarak karışıma 275 μL distile su eklenerek 2,5 mL'ye tamamlandı. Daha sonra absorbans 425 nm.'de ölçüldü.

Elde edilen absorbanslar ile seçilen konsantrasyonlar arasında standart grafik çizildi. Standart olarak Kuersetin kullanıldı. Sonuçlar kuersetin eşdeğeri $\mu\text{g KUE/mL}$ olarak ifade edildi.

3.2.4. DPPH Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini

Bu yöntem, serbest radikal olan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikalinin giderilme etkisinin belirlenmesi amacıyla Re ve arkadaşlarının (1999) uyguladığı yöntemle yapıldı. Mor renkteki DPPH radikalinin rengi, antioksidanların radikalleri temizlemesi sonucunda açılıp sarıya dönüşüyorsa, bu durum antioksidan aktivitesinin varlığını gösterir. Başka bir deyişle, rengin açılması, DPPH radikalinin yüksek oranda giderildiğini ortaya koymaktadır.

Yabani kekik (*T. Serpyllum*) bitkisinden hazırlanan ekstraktlar DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini için yedi farklı konsantrasyonda (25,50,100,250,500,750,1000 µg/mL) hazırlandı. Bu çalışmada serbest radikal olarak DPPH'in 0,1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraktlardan (25-1000 µg/mL) deney tüplerine 1'er mL alınarak, üzerine 4 mL DPPH (0.1 mM) çözeltisi eklendikten sonra numuneler vortekslendi. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 517 nm 'de absorbans değerleri okundu. Örnek yerine etanol kullanılarak kontrol tüpü çalışıldı. Standart olarak bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve askorbik asit kullanıldı. Aktiviteler hesaplandıktan sonra %inhibisyon-konsantrasyon grafiği çizildi.

%DPPH radikali giderme aktivitesi aşağıda verilen formül ile hesaplandı:

$$\% \text{ DPPH Radikali Giderme Aktivitesi} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

A_{kontrol} = Kontrolün Absorbansı,

$A_{\text{örnek}}$ = Bitki ekstraktı veya standart maddeninin absorbansını göstermektedir.

(3.1)

3.2.5. ABTS Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini

Yabani kekik bitkisinin metanol ve etil asetat ekstraktlarının ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikali giderme aktivitesi Mrkonjić vd., 2024'in metoduna göre modifiye edilerek yapılmıştır.

Öncelikle ABTS 1:05 oranında (5 mL ABTS + 2,5 mL potasyum persülfat) karıştırılıp, 16-20 saat aralığında karanlıkta olgunlaştırıldı. Kullanmadan önce etanolle absorbans 734 nm.'de 0,700 olacak şekilde seyreltildi.

Yabani kekik (*T. serpyllum*) bitkisinden hazırlanan ekstraktlar ABTS radikali giderme aktivitesi tayini için altı farklı konsantrasyonda (25,50,100,250,500,1000 µg/mL) hazırlanmıştır. Deney tüplerine farklı konsantrasyonlardaki (25-1000 µg/mL) 50 µL örnek ve 2950 µL ABTS çözeltisi eklendikten sonra karışım 734 nm.'de absorbans ölçümü yapıldı. Standart madde olarak BHT ve BHA kullanıldı.

Tüm analizler 3 tekrar halinde gerçekleştirildi. Aşağıdaki denkleme göre, % inhibisyon değerleri hesaplandı. Burada,

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

A_{kontrol} = Kontrolün Absorbansı,

$A_{\text{örnek}}$ = Bitki ekstraktı veya standart maddenin absorbansını göstermektedir. (3.2)

3.2.6. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesinin Tayini

Deney tüplerine farklı konsantrasyonlardaki (50-250 µg/mL) bitki ekstraktlarının Fe^{+2} iyonlarını şelatlama aktivitesi Dinis ve ark. metoduna göre çalışıldı (Dinis vd., 1994).

1 mL örneğe 3,7 mL distile su ve 100 µL 2 mM FeCl_2 çözeltisi eklendi. Oda koşullarında 30 dakika bekletildikten sonra 200 µL 5 mM ferrozin çözeltisi eklendi. Ardından vorteksledi ve 10 dakika beklemeden sonra 562 nm.'de absorbans ölçümü

yapıldı. Örnek yerine 1 mL distile su kullanılarak kontrolü yapıldı. Standart olarak 5-100 µg/mL konsantrasyonlarında EDTA çözeltileri kullanıldı. Ferrozin-Fe⁺² kompleksinin inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\% \text{ Şelatlama Aktivitesi} = 1 - \frac{\text{562 nm.'de örnek absorbansı}}{\text{562 nm.'de kontrol absorbansı}} \times 100 \quad (3.3)$$

3.2.7 LC-MS/MS (Sıvı Kromatografi-Kütle/Kütle Spektrometrisi) Yöntemi ile Fenolik Bileşiklerin Tayini

Fenolik bileşiklerin analizi için likid kromatografi-kütle/kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) yöntemi kullanıldı. LC-MS/MS sistemi, çoklu analitlerin tespiti ve eser miktardaki bileşiklerin hassas şekilde ölçülmesi için tercih edilen bir tekniktir. Bu yöntem, son derece düşük konsantrasyonlardaki bileşenlerin bile doğru şekilde analiz edilmesine olanak tanır. Yüksek hassasiyet ve doğruluk sağlayarak güvenilir sonuçlar elde edilmesini mümkün kılar. Meyve, sebze, et, vb. gıda örneklerinin analizinde, su kirliliği analizlerinde, hormonlar, flavonoidler, aflatoksinler ve mikotoksinlerin tespitinde etkili bir şekilde kullanılır (Pitt J., 2009).

Laboratuvaradaki numuneler likid kromatografi-kütle/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) kullanılarak, üçlü kuadropol sistemiyle TÜTAGEM’de analiz edilmiştir. Analiz sürecinde, önce sertifikalı standart bileşikler 5-100 ng/mL arası konsantrasyonlarda 5 farklı noktada hazırlanarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu yöntemde, bileşiklerin kromatogramda belirli bir zaman diliminde ortaya çıkması, ana iyon ile doğrulama iyonlarının oranları ve matriks spikedan elde edilen parçalanmış iyonların oranları dikkate alınarak karşılaştırmalar yapılmaktadır. Elde edilen analiz verileri, pik alanlarının eklenen standardın numunede bulunan konsantrasyonu ile grafiksel olarak ilişkilendirilmesiyle sonuçlandırılmaktadır. Bu sayede, yüksek hassasiyet ve doğrulukla madde tayini yapılabilmektedir. Fenolik bileşiklerin analizinde ise, iki farklı numune hazırlama yöntemi uygulanmıştır.

Yöntem 1. Hidroliz:

100 µL numune üzerine 900 µL ekstraksiyon solüsyonu (%79 ultra saf su, %20 metanol ve %1 formik asit karışımı) eklenmiştir. Karışım, 30 saniye süreyle vorteks edilmiştir. Ardından, 45°C’de ultrasonik banyoda 10 dakika bekletildi. Sonrasında, numuneler 9000 rpm hızda 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Elde edilen berrak süzöntü, enjeksiyon için insert cam viallere alınmıştır.

Yöntem 2. Asidik Hidroliz Yöntemi:

100 µL numune üzerine 2 M HCl çözeltisinden 200 µL eklenmiştir. Karışım, 30 saniye boyunca vorteks edilmiştir. Ardından, 90°C’de ultrasonik banyoda 40 dakika bekletilmiştir. Bu işlemin ardından, 700 µl ekstraksiyon solüsyonu (%79 ultra saf su, %20 metanol ve %1 formik asit karışımı) ilave edildi. Numuneler, 9000 rpm hızda 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir ve elde edilen berrak süzöntü, enjeksiyon için insert cam viallere alınmıştır.

Fenolik bileşiklerin analizleri, Agilent 1260 infinity likit kromatografi, Agilent 6460 Triple Quadrupole MS/MS Sistem (Jet Stream Electrospray iyon kaynağı) ile gerçekleştirilmiştir. Mobil Faz A:5 mM Amonyum Asetat Ultra Saf Suda

Mobil Faz B:%50 Asetonitril %49 Metanol %1 Asetik Asit (v:v:v)

Kolon:Agilent Zorbax SB-C8 3.0X150 mm 3,5 Micron

3.2.8 İstatiksel Analizler

Tüm deneyler, iki veya üç paralel ölçüm ile gerçekleştirildi. Elde edilen veriler, tanımlayıcı istatistikler kapsamında aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma (SS) şeklinde sunuldu. Grafikler, Microsoft Excel programı kullanılarak hazırlanmış olup, hata çubukları grafikler üzerinde gösterildi.

BÖLÜM 4

BULGULAR

T. serpyllum (Yabani kekik) bitkisinin antioksidan özellikleri çeşitli metodlarla incelenmiştir. Metanol ve etil asetat çözücüsü kullanılarak gerçekleştirilen çalkalamalı su banyosu ve ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemleri ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde ve toplam flavonoid miktarları, metal şelatlama, DPPH ve ABTS radikal giderme aktiviteleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar, Gallik asit ve Kuersetin standartları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Genel olarak, metanol çözücüsü kullanılarak gerçekleştirilen deneylerde daha başarılı sonuçlar elde edildi.

4.1. Ekstraksiyon

Kurutulmuş yabani kekik bitkisi ekstraktları, metanol ve etil asetat çözücüleri kullanılarak iki farklı çözücü ile çalkalamalı su banyosu ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edildi. Çizelge 4.1 ve 4.2 'de, yabani kekik bitkisinden elde edilen ekstraktların ekstraksiyon verimleri gösterilmektedir. Aşağıdaki tabloda da görüldüğü üzere, en yüksek ekstraksiyon verimi metanol çözücüsü kullanılarak elde edilen ekstraktlara aittir. Ekstraksiyon veriminin sonuçları, etil asetata göre metanol ekstraksiyonunun yaklaşık ultrasonik ekstraksiyonda 7 kat fazla olduğunu, su banyosu ekstraksiyonunda da benzer şekilde metanol ekstraksiyonunun yaklaşık 5 kat daha verimli olduğu gözlemlendi.

Çizelge 4.1. Yabani kekiğin ultrasonik destekli ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktların ekstraksiyon verimleri

Çözücüler	Kuru bitki materyali	Elde edilen kuru özüt	% Verim
Metanol	16 g	2,33 g	14,5
Etil Asetat	10 g	0,23 g	2,3

Çizelge 4.2. Yabani kekiğin çalkalamalı su banyosu ekstraksiyonundan elde edilen ekstraksiyon verimleri

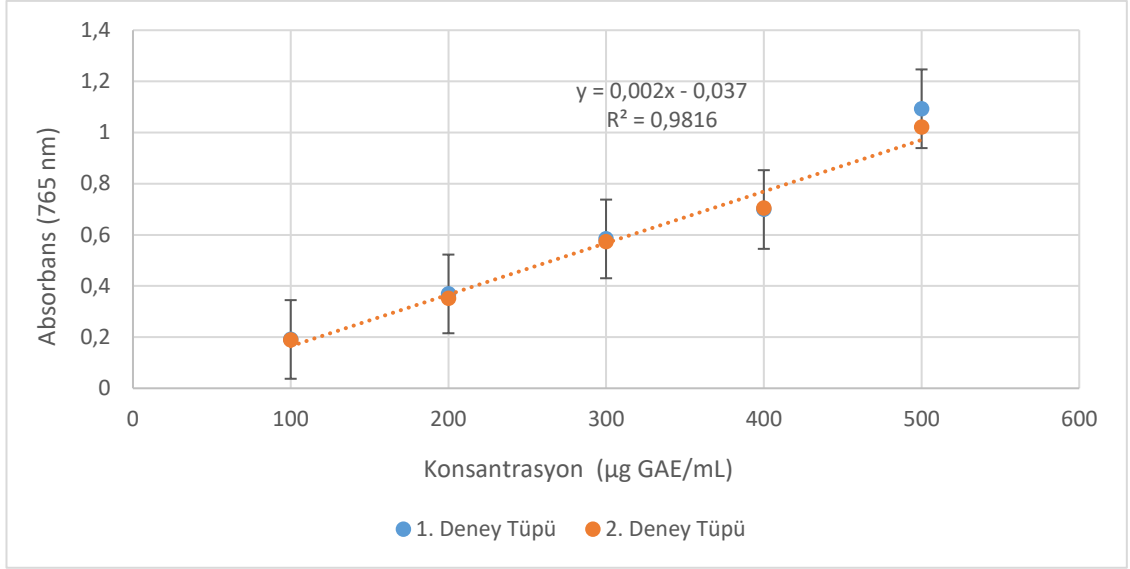
Çözücüler	Kuru bitki materyali	Elde edilen kuru özüt	% Verim
Metanol	10 g	1,15 g	11,5
Etil Asetat	10 g	0,26 g	2,6

Ayrıca ultrasonik destekli ekstraksiyon yönteminde metanol çözücüsü ile yapılan ekstraksiyon, çalkalamalı su banyosundaki ekstraksiyona göre daha verimli olmuştur.

4.2. Toplam Fenolik Madde (TPC) Tayini

T. serpyllum bitkisinden elde edilen metanol ve etil asetat ekstraktlarındaki toplam çözünebilen fenolik maddeler Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile tayin edildi (Jovanović vd., 2022). Gallik asit kullanılarak standart grafiki hazırlandı. (Şekil 4.5'te görülen)

Standart grafik kullanılarak örneklerin toplam fenolik madde miktarları μg gallik asit eşdeğeri (μg GAE/mL ekstrakt) olarak hesaplandı. Standart grafik denkleminden çıkan sonuçlar gallik asit ekivalenti cinsinden ultrasonik destekli ekstraksiyonda metanol ekstraktı için $98,83 \pm 1,04$, etil asetat ekstraktı için $84,66 \pm 5,75$ GAE $\mu\text{g/mL}$, çalkalamalı su banyosundan elde edilen metanol ekstraktı için $316,16 \pm 3,88$, etil asetat için $99,83 \pm 1,60$ GAE $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlendi. Hesaplanan verilere göre, metanol ekstraktlarının fenolik madde içeriğinin etil asetat ekstraktlarına kıyasla daha zengin olduğu tespit edildi.



Şekil 4.5. Gallik asit standart grafiği

Çizelge 4.3. Ekstraktların gallik asit eşdeğeri cinsinden ultrasonik su banyosunda toplam fenolik madde miktarı

Ekstraksiyon çözücüsü ve Ekstraksiyon tekniği	Toplam Fenolik Madde Miktarı (µg GAE/mL ± SS)
Metanol - Ultrasonik Su Banyo	98,83 ± 1,04
Etil Asetat - Ultrasonik Su Banyo	84,66 ± 5,75

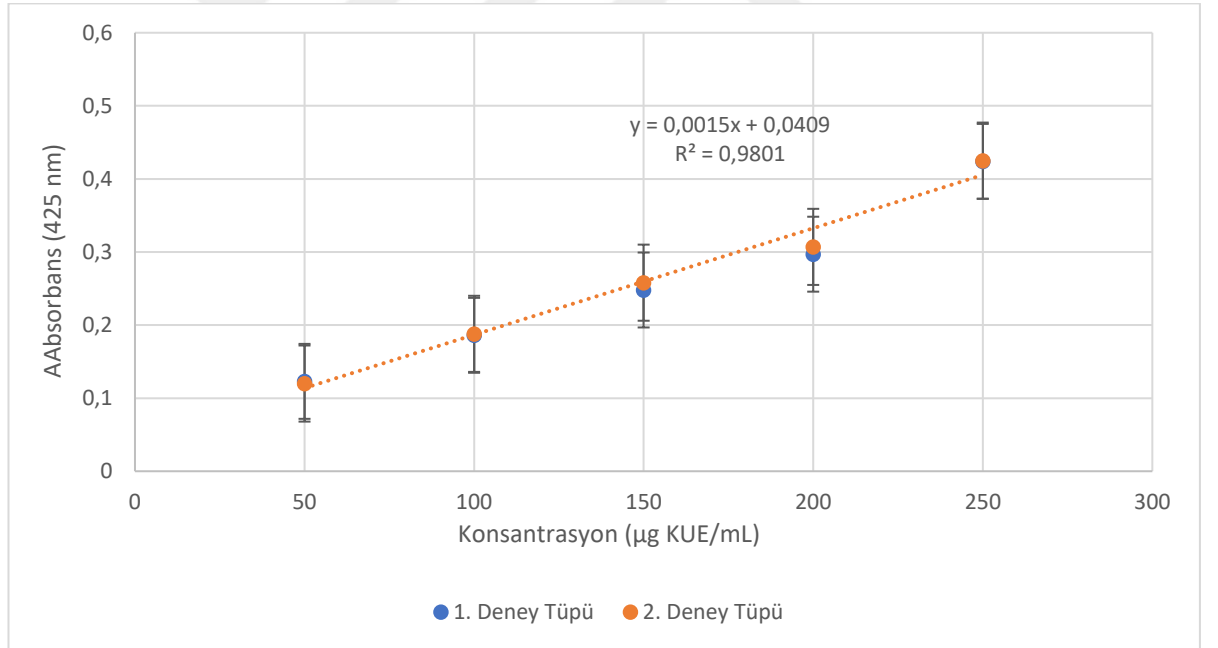
Çizelge 4.4. Ekstraktların gallik asit eşdeğeri cinsinden çalkalamalı su banyosunda toplam fenolik madde miktarı

Ekstraksiyon çözücüsü ve Ekstraksiyon tekniği	Toplam Fenolik Madde Miktarı (µg GAE/mL ± SS)
Metanol - Çalkalamalı Su Banyosu	316,16 ± 3,88
Etil Asetat - Çalkalamalı Su Banyosu	99,83 ± 1,60

4.3. Toplam Flavonoid Tayini

Yabani kekik bitkisinin metanol ve etil asetat ekstraktlarındaki toplam çözünebilen flavonoid bileşik içeriğinin tayini için kuersetin üzerinden karşılaştırma yapmak üzere standart grafik hazırlandı. (Şekil 4.6)

Kuersetin standart grafiği kullanılarak mg kuersetin ($\mu\text{g KUE /mL}$) eşdeğeri şeklinde hesaplandı. Standart grafik denkleminde (Şekil 4.6) çıkan sonuçlar kuersetin standardı cinsinden UDE- metanol ekstraktı için $85,4 \pm 9,86$, UDE-etil asetat için $456,73 \pm 20,66 \mu\text{g KUE/mL}$, SBE- metanol ekstraktı için $559,4 \pm 8,1$, SBE- etil asetat için $422,28 \pm 30,66 \mu\text{g KUE/mL}$ olarak belirlendi. Hesaplanan sonuçlara göre ultrasonik destekli ekstraksiyonla kıyaslayacak olursak çalkalamalı su banyosu ekstraksiyonu metanol ve etil asetat ekstraktlarının flavonoid eldesi bakımından daha yüksek sonuçlar verdiği gözlemlendi.



Şekil 4.6. Kuersetin standart grafiği

Çizelge 4.5. Ekstraktların kuersetin eşdeğeri cinsinden çalkalamalı su banyosunda toplam flavonoid madde miktarı

Ekstraksiyon çözücüsü ve Ekstraksiyon tekniği	Toplam Flavonoid Madde Miktarı ($\mu\text{g KUE /mL} \pm \text{SS}$)
Metanol - Ultrasonik Banyo	85,4 $\pm$ 9,86
Etil Asetat - Ultrasonik Banyo	456,73 $\pm$ 20,66

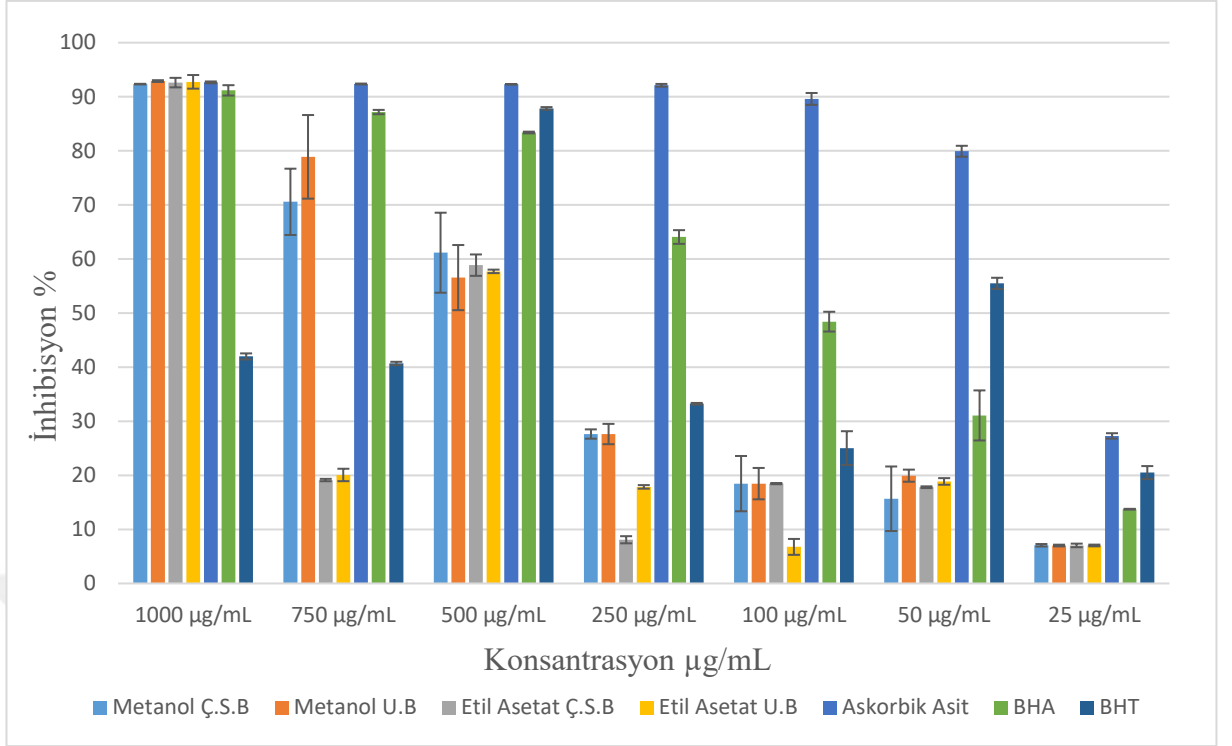
Çizelge 4.6. Ekstraktların kuersetin eşdeğeri cinsinden ultrasonik su banyosunda toplam flavonoid madde miktarı

Ekstraksiyon çözücüsü ve Ekstraksiyon tekniği	Toplam Flavonoid Madde Miktarı ($\mu\text{g KUE /mL} \pm \text{SS}$)
Metanol - Çalkalamalı Su Banyosu	559,4 $\pm$ 8,11
Etil Asetat - Çalkalamalı Su Banyosu	422,28 $\pm$ 30,66

4.4. DPPH Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini

T. serpyllum bitkisinden metanol ve etil asetat çözeltilisiyle hazırlanan ekstraktlar DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini için yedi farklı konsantrasyonda (25,50,100,250,500,750,1000 $\mu\text{g/mL}$) hazırlandı. Standart madde olarak BHA, BHT ve Askorbik asit kullanıldı. Reaksiyon sonucu DPPH'in rengi, antioksidanların radikalleri etkisiz hale getirmesi sonucu mor renkten sarı renge dönüştüğünden renk değişimleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Bitki ekstraktlarının aktiviteleri, standartlarla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Ekstraktların DPPH serbest radikalini giderme aktivitelerine ilişkin konsantrasyon-% inhibisyon grafik oluşturuldu. (Şekil 4.7)



Şekil 4.7. *Thymus serpyllum* bitkisinin metanol ve etil asetat ekstraktlarının DPPH radikalini giderme aktivitesi (UDE -Ultrasonik destekli ekstraksiyon, SBE -Çalkalamalı subanyosu ekstraksiyonu)

Yapılan deneyler sonucunda, metanol ve etil asetat ekstraktlarının DPPH radikal giderme aktivitelerinin birbirinden farklı olduğu belirlendi. *T. serpyllum* bitkisinin metanol ekstraktlarının, etil asetat ekstraktlarına kıyasla yüksek konsantrasyonlarda DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin daha etkili olduğu, etil asetatın ise DPPH serbest radikali giderme aktivitesinin düşük olduğu gözlemlenmektedir.

Metanol çözücüsü ile gerçekleştirilen ultrasonik destekli ve çalkalamalı su banyosunda yapılan her iki ekstraksiyon modelinde, en yüksek değer 1000 µg/mL'lik konsantrasyonda UDE- metanol ekstraktı %92.3 , SBE- metanol ekstraktı % 92.32, UDE- etil esetat ekstraktı % 23.31, SBE – etil asetat ekstraktı ise % 23.17 oranlarında % inhibisyon elde edilmiştir. En düşük konsantrasyon 25 µg/mL ise UDE- metanol ekstraktında % 7.06, SBE– metanol ekstraktında % 7.07, UDE- etil asetat ekstraktında % 4.09, SBE- etil asetat ekstraktında % 5.67 oranlarında % inhibisyon elde edilmiştir. Etil asetat çözücüsü kullanılarak yapılmış her iki ekstraksiyon modelinde düşük inhibisyon değerleri ortaya çıkmıştır. Standart maddelerise ise 1000 µg/mL'lik konsantrasyonda

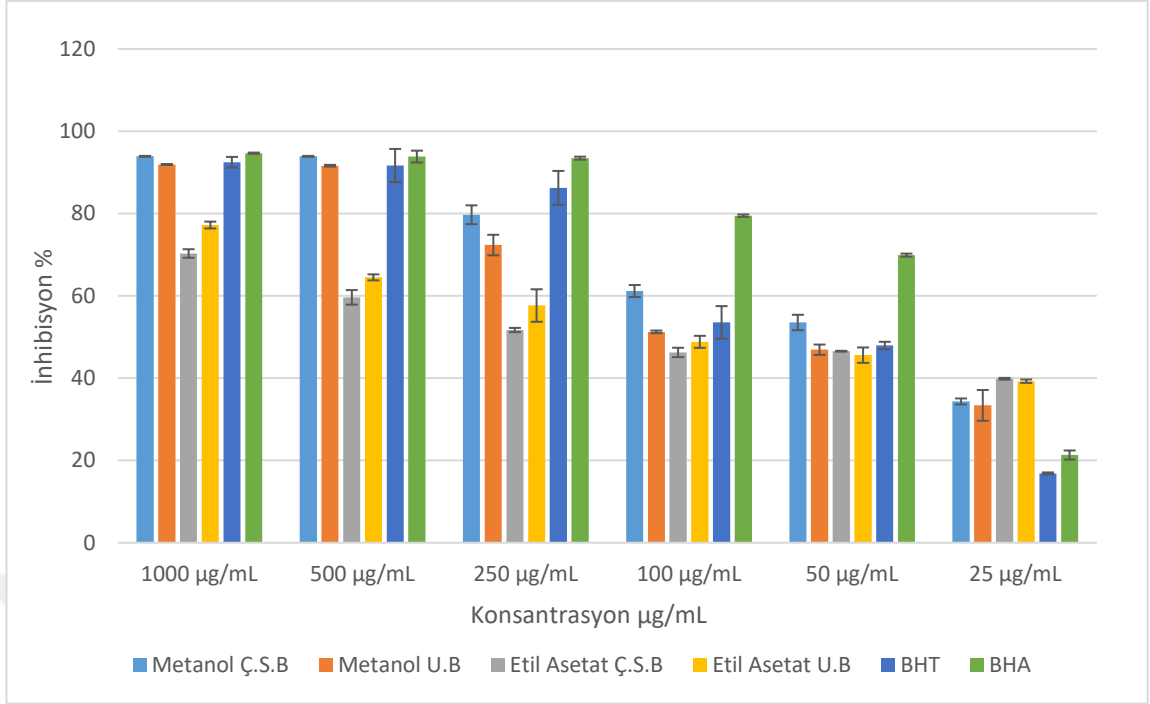
BHA % 91.18, BHT % 42.14, Askorbik Asit ise % 92,38 oranında, en düşük 25 µg/mL'lik konsantrasyonda ise BHA % 13.78, BHT % 4.51, Askorbik Asit % 20.91 oranında % inhibisyon değerleri belirlendi. Bu bulgular, her iki ekstraktın yüksek konsantrasyonlarda etkili radikal temizleyiciler olduğunu göstermektedir. Daha düşük konsantrasyonlarda (özellikle 250 µg/mL ve altı) metanol ekstraktının, etil asetat ekstraktına kıyasla daha yüksek inhibisyon oranları sergilediği belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit ise tüm konsantrasyonlarda %79 ile %92 arasında değişen yüksek inhibisyon değerleriyle güçlü antioksidan etkisini doğrulamıştır. Sentetik antioksidanlar arasında BHA, 1000 µg/mL konsantrasyonda %91,18 inhibisyon oranı ile metanol ve etil asetat ekstraktlarına benzer bir aktivite göstermiştir. BHT ise düşük konsantrasyonlarda (25–250 µg/mL) etil asetat ekstraktından daha düşük aktivite sergilemiş, 500 µg/mL'de %87,84'e kadar artış göstermesine rağmen 1000 µg/mL'de %41,98 ile belirgin bir düşüş yaşamıştır.

Şekil 4.7'de görüldüğü gibi *Thymus serpyllum* bitkisinin ekstraktları yüksek konsantrasyonlarda (1000,750,500 µg/mL) daha yüksek inhibisyon değerleri göstermektedir. Bununla birlikte ekstraksiyonda kullanılan çözücü ve ekstraksiyon yöntemine göre oranlar değerler değişiklik göstermektedir. Metanol ekstraktı, etil asetat ekstraktına kıyasla daha yüksek bir aktivite sergilemiş ve DPPH radikali giderme aktivitesi belirgin şekilde artmıştır.

4.5. ABTS Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini

T. serpyllum bitkisinden metanol ve etil asetat çözeltilisiyle hazırlanan ekstraktların ABTS serbest radikal giderme aktivitesi tayini için 25-1000 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı. Standart madde olarak BHA ve BHT kullanıldı.

Ekstraktların ABTS serbest radikalini giderme aktivitelerine ilişkin konsantrasyon-% inhibisyon grafikleri oluşturuldu. (Şekil 4.8.)



Şekil 4.8. *T. serpyllum* bitkisinin metanol ve etil asetat ekstraktlarının ABTS radikalini giderme aktivitesi

ABTS radikali giderme aktivitesinde çalkalamalı su banyosu ve ultrasonik destekli ekstraksiyon modellerinden elde edilen metanol ve etil asetat ekstraktları karşılaştırıldığında radikal giderme aktivitelerinde birbirlerine yakın değerlerin ortaya çıktığı görülmektedir. DPPH ve ABTS radikal giderme aktiviteleri incelendiğinde, etil asetat ekstraktının DPPH yöntemi ile değerlendirildiğinde düşük düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Buna karşılık, ABTS radikal giderme aktivitesinde etil asetat ekstraktı daha yüksek antioksidan aktivite sergilemiştir. Ancak, her iki yöntemde de metanol ekstraktının, etil asetat ekstraktına kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite değerleri gösterdiği tespit edilmiştir. Burada en yüksek değer 1000 µg/mL'lik konsantrasyonda UDE- metanol ekstraktı % 91.91, SBE- metanol ekstraktında % 93.97 inhibisyon elde edilmiştir. Etil Asetat ekstraktında ise 1000 µg/mL'lik konsantrasyonda UDE- etil asetat ekstraktında % 77.2, SBE- etil asetat ekstraktında % 70.29 oranında inhibisyon sonuçları elde edilmiştir. En düşük konsantrasyonda 25 µg/mL' de ise UDE- etil asetat ekstraktında % 33.38, SBE- metanol ekstraktında % 34.41, UDE-etil asetat ekstraktında % 39.26, SBE- etil asetat ekstraktında ise % 39.85 oranında inhibisyon

değerleri görünmektedir. Konsantrasyon değerleri artıkça % inhibisyon değerlerinde artış gözlemlenmektedir. Şekil 4.8’de görüldüğü gibi yüksek konsantrasyonlarda (1000,500,250 µg/mL) daha yüksek inhibisyon değerleri görülmektedir. Pozitif kontrol olarak kullanılan sentetik antioksidanlardan BHA, 1000 µg/mL’de %94,66 inhibisyon oranı ile metanol ekstraktına yakın bir performans sergilerken, etil asetat ekstraktından daha üstün bir aktivite göstermiştir. BHT ise aynı konsantrasyonda %92,46 inhibisyon oranıyla metanol ekstraktına benzer bir etki oluşturmuş, ancak 25–100 µg/mL arasındaki düşük konsantrasyonlarda etkinliği belirgin şekilde azalmıştır.

Genel olarak, metanol ekstraktı ABTS radikal giderme kapasitesi bakımından etil asetat ekstraktından üstün bulunmuş ve sentetik antioksidanlar BHA ile BHT’ye yakın güçlü bir antioksidan potansiyel sergilemiştir. Etil asetat ekstraktı ise yüksek konsantrasyonlarda anlamlı bir etkinlik gösterse de, düşük dozlarda metanol ekstraktına kıyasla daha sınırlı bir aktivite ortaya koymuştur.

4.6. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesinin Tayini

Çalışmada kullanılan her iki ekstraksiyon metoduyla elde edilen ekstraktlar ile 50-250 µg/mL aralığındaki farklı konsantrasyonlarda Fe⁺² iyonlarını şelatlama deneyi yapılmış, ancak ekstraktlar uygulanan yöntem ile tespit edilebilir bir demir şelatlama aktivitesi göstermemiştir.

4.7. LC/MS-MS Yöntemi ile Fenolik Bileşiklerin Tayini

Bu çalışmada *T. serpyllum* bitkisinden etil asetat ve metanol çözücülerini kullanılarak çalkalama ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen fenolik bileşik profilleri LC-MS/MS yöntemiyle belirlenmiştir. Çözücü ve ekstraksiyon yöntemi farklılıklarının fenolik madde verimi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Analiz sonuçları incelendiğinde, çözücü tipi ve ekstraksiyon yönteminin fenolik bileşiklerin verimi üzerinde belirgin farklılıklar oluşturduğu tespit edilmiştir. Özellikle gallik asit, protokateşik asit, kafeik asit, salisilik asit, siringik asit ve jaceosidin gibi ana fenolik bileşiklerin miktarları uygulanan ekstraksiyon koşullarına göre anlamlı düzeyde değişiklik göstermiştir.

Çizelge 4.7. SBE-Etil asetat ekstraktında LC-MS/MS ile tespit edilen fenolik bileşikler

Bileşikler	RT	Yanıt	Final konsantrasyon
Gallik Asit	1,694	203690	58835,709 ng/g
Protokateşik Asit	1,83	33643	26153,7788 ng/g
2,5-Dihidroksibenzoik Asit	2,075	1318	2468,863 ng/g
Kafeik Asit	3,657	60576	19673,1465 ng/g
Siringik Asit	3,716	362	11063,917 ng/g
Klorojenik Asit	3,703	2386	1131,9279 ng/g
Salisilik Asit	3,717	7429	5125,8233 ng/g
p-Kumarik Asit	3,988	1557	3232,3718 ng/g
Verbascoide	3,912	16985	3012,8756 ng/g
Rutin	3,921	390	93,194 ng/g
trans-Ferulik Asit	4,013	456	3352,2139 ng/g
Hesperidin	3,904	1888	1337,7964 ng/g
Etil Gallat	4,055	1777	171,8925 ng/g
Kuersetin	4,221	2661	234,0198 ng/g
Absisik Asit	4,282	565	1320,1072 ng/g
Luteolin	4,264	39678	4124,0841 ng/g
Naringenin	4,315	5103	2560,5531 ng/g
Kaempferol	4,264	297	389,6082 ng/g
Jasmonik Asit	4,394	338	2319,6482 ng/g
Apigenin	4,384	3660	773,0555 ng/g
Genistein	4,375	433	718,9407 ng/g
Jaceosidin	4,381	48821	7804,3291 ng/g

Çizelge 4.8. SBE-Metanol ekstraktında LC-MS/MS ile tespit edilen fenolik bileşikler

Bileşikler	RT	Yanıt	Final konsantrasyon	
Gallik Asit	1,669	2265	654,2647	ng/g
Protokateşik Asit	1,838	26562	20648,89	ng/g
2,5-Dihidroksibenzoik Asit	2,083	7848	14703,8826	ng/g
Kafeik Asit	3,657	36022	11698,7955	ng/g
Siringik Asit	3,69	322	9814,6885	ng/g
Salisilik Asit	3,709	27491	18967,1337	ng/g
p-Kumarik Asit	3,988	1314	2728,3467	ng/g
Verbascoide	3,938	25470	4811,3579	ng/g
Rutin	3,946	2589	1104,2347	ng/g
trans-Ferulik Asit	4,038	402	2865,5395	ng/g
Hesperidin	4,048	9398	9827,103	ng/g
Kuersetin	4,221	3536	336,9546	ng/g
Absisik Asit	4,299	590	1378,5791	ng/g
Luteolin	4,272	77858	9189,1686	ng/g
Naringenin	4,315	7366	4020,5823	ng/g
Kaempferol	4,281	691	1077,103	ng/g
Apigenin	4,392	15361	3244,8951	ng/g
Genistein	4,4	1927	3542,6595	ng/g
Jaceosidin	4,406	54674	8740,0067	ng/g

Çizelge 4.9. UDE-Etil asetat ekstraktında LC-MS/MS ile tespit edilen fenolik bileşikler

Bileşikler	RT	Yanıt	Final konsantrasyon
Gallik Asit	1,694	15826	4571,2776 ng/g
Protokateşik Asit	1,822	31567	24539,6102 ng/g
2,5-Dihidroksibenzoik Asit	2,075	2424	4542,014 ng/g
Kafeik Asit	3,666	76673	24900,9398 ng/g
Siringik Asit	3,699	483	14741,883 ng/g
Salisilik Asit	3,717	9168	6325,4172 ng/g
p-Kumarik Asit	3,988	2037	4229,5986 ng/g
Verbascoide	3,921	15023	2630,795 ng/g
Rutin	3,946	3157	1431,1685 ng/g
trans-Ferulik Asit	4,021	441	3220,7174 ng/g
Hesperidin	3,912	5255	4772,1457 ng/g
Kuersetin	4,229	3868	378,1127 ng/g
Absisik Asit	4,291	475	1111,1282 ng/g
Luteolin	4,264	44662	4746,9564 ng/g
Naringenin	4,315	7305	3979,5217 ng/g
Apigenin	4,392	5418	1144,5844 ng/g
Genistein	4,383	631	1060,8416 ng/g
Jaceosidin	4,389	44348	7089,401 ng/g

Çizelge 4.10. UDE-Metanol ekstraktında LC-MS/MS ile tespit edilen fenolik bileşikler

Bileşikler	RT	Yanıt	Final konsantrasyon
Gallik Asit	1,669	30108	8696,7343 ng/g
Protokateşik Asit	1,83	25725	19998,296 ng/g
2,5-Dihidroksibenzoik Asit	2,075	7588	14217,6735 ng/g
Kafeik Asit	3,657	72686	23606,2194 ng/g
Siringik Asit	3,707	325	9912,816 ng/g
Klorojenik Asit	3,678	5250	2680,1416 ng/g
Salisilik Asit	3,7	40417	27885,2438 ng/g
p-Kumarik Asit	4,005	1519	3154,408 ng/g
Rutin	3,929	1550	564,812 ng/g
trans-Ferulik Asit	4,038	316	2125,6319 ng/g
Hesperidin	4,057	12998	14704,885 ng/g
Kuersetin	4,229	3228	299,7836 ng/g
Absisik Asit	4,282	272	636,8914 ng/g
Luteolin	4,264	70898	8221,3037 ng/g
Naringenin	4,315	14572	9299,5879 ng/g
Kaempferol	4,264	671	1038,9718 ng/g
İzorhamnetin	4,263	2923	437,1025 ng/g
Jasmonik Asit	4,377	424	2906,1818 ng/g
Apigenin	4,384	34487	7284,8753 ng/g
Genistein	4,392	4066	9769,6834 ng/g
Jaceosidin	4,356	24118	3855,4346 ng/g
CAPE	4,526	78	4,6518 ng/g

LC-MS/MS analizleri sonucunda sonucunda ekstraktlarda toplam 24 farklı fenolik bileşik tespit edilmiştir. Genel olarak her iki yöntem ve çözücüde benzer ana bileşikler tespit edilmekle birlikte, bazı bileşikler sadece belirli ekstraksiyon koşulları ve çözücülerinde saptanmıştır. Bazı bileşikler de ya hiç tespit edilmemiş ya da çok düşük düzeyde bulunmuştur. Örneğin, izorhamnetin ve CAPE (Kafeik asit fenetil ester) sadece UDE- metanol ekstraktında tespit edilmiştir; etil gallat yalnızca SBE- etil asetat ekstraktında tespit edilmiştir. Verbascoide bileşiği, UDE- metanol ekstraktında tespit edilememiş ancak diğer ekstraktlarda bulunmuştur. Ekstraksiyon yöntemleri ve kullanılan çözücülere göre belirlenen bileşikler değerlendirildiğinde, en yüksek seviyede tespit edilen bileşikler özetle şu şekildedir: SBE- etil asetat ekstraktında en yüksek düzeyde gallik asit (58.835 ng/g) tespit edilmiştir. Gallik asidi sırasıyla protokateşik asit (26.153

ng/g), kafeik asit (19.673 ng/g) ve siringik asit (11.063 ng/g) takip etmiştir. SBE- metanol ekstraktında ise protokateşik asit (20.648 ng/g) ve salisilik asit (18.967 ng/g) öne çıkarken, bunları 2,5-dihidroksibenzoik asit (14.703 ng/g) ve kafeik asit (11.699 ng/g) izlemiştir. UDE- etil asetat ekstraktında kafeik asit (24.900 ng/g) ve protokateşik asit (24.539 ng/g) yüksek miktarda belirlenmiş; ardından siringik asit (14.741 ng/g) tespit edilmiştir. UDE- metanol ekstraktında en yüksek düzeyde salisilik asit (27.885 ng/g) saptanmış; bunu kafeik asit (23.606 ng/g), protokateşik asit (19.998 ng/g), hesperidin (14.704 ng/g) ve 2,5-dihidroksibenzoik asit (14.704 ng/g) izlemiştir.

Gallik asit açısından değerlendirildiğinde, SBE- etil asetat ekstraktında 58.835 ng/g gibi oldukça yüksek bir miktar elde edilmiştir. Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında ise SBE- metanol ekstraktında 654 ng/g, UDE- etil asetat ekstraktında 4.571 ng/g ve SBE- metanol ekstraktında 8.696 ng/g düzeylerinde daha düşük miktarlar tespit edilmiştir. Bu bulgular bitki örneğinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda hem çözücü polaritesinin hem de uygulanan ekstraksiyon yönteminin belirleyici rol oynadığını göstermektedir. Etil asetat, düşük polariteli bileşikler için daha avantajlı bir çözücü olurken, metanol daha polar bileşiklerin (ör. salisilik asit, hesperidin, protokateşik asit) ekstraksiyonunda etkili sonuçlar vermiştir. Kafeik asit, hem metanol hem de etil asetat çözücülerinde benzer konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. En yüksek düzey, UDE- metanol ekstraktında (23.606 ng/g), en düşük düzey ise SBE- etil asetat ekstraktında (19.673 ng/g) elde edilmiştir. Protokateşik asit, tüm yöntemler arasında tutarlı şekilde yüksek miktarlarda belirlenmiş ve konsantrasyonları 20.648–24.539 ng/g aralığında değişmiştir.

Çalışma genelinde, protokateşik asit, kafeik asit, salisilik asit, siringik asit ve jaceosidin, ekstraktlarda en baskın ve tekrarlayan fenolik bileşikler olarak öne çıkmıştır. Bu bileşikler, tüm ekstraksiyon koşullarında yüksek miktarlarda tespit edilmiştir. Ekstraksiyon yöntemi açısından bakıldığında, ultrasonik destekli ekstraksiyon, özellikle polar fenolik bileşiklerin (salisilik asit, hesperidin) verimini artırmada etkili olmuştur. Örneğin, UDE- metanol ekstraktında salisilik asit miktarı 27.885 ng/g olarak belirlenmiş ve bu değer UDE- etil asetat ekstraktıyla (6.325 ng/g) kıyaslandığında oldukça yüksektir. Aynı zamanda, metanol–ultrasonik yöntemi, çalkalama yöntemine göre yaklaşık %47 oranında daha yüksek salisilik asit verimi sağlamıştır.

Sonuç olarak, elde edilen bulgular ekstraksiyon veriminin, hedeflenen fenolik bileşğin yapısal özelliklerine uygun çözücü ve yöntem seçimiyle optimize edilmesinin önemini ortaya koymaktadır. Etil asetat–çalkalama yöntemi düşük polariteli bileşiklerde (ör. gallik asit) yüksek verim sağlarken; metanol ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemi kombinasyonu, polar fenolik bileşiklerin (salisilik asit, hesperidin) ekstraksiyonu için daha etkili bir yaklaşım olarak öne çıkmaktadır.



BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Yabani kekik (*T. serpyllum*), son verilere göre 250-350 tür arasında değişen çeşitliliğiyle Lamiaceae ailesinin önde gelen üyelerindendir. Asya, Afrika, Avrupa, Kuzey Amerika ve Doğu Afrika'nın bazı bölgelerinde yayılmaktadır. Eski çağlardan günümüze kadar kullanılan yabani kekik, özellikle yüksek antioksidan içeriğiyle tanınmaktadır. Bunun yanı sıra, sindirim ve solunum sistemi rahatsızlıkları, romatizma, adet düzensizlikleri, yaralar, yatıştırıcı etkiler, balgam söktürücü özellikler ve egzama gibi cilt hastalıklarının tedavisinde de yaygın bir şekilde kullanılmıştır (Mrkonjić vd., 2024). Bu çalışmada, Kosova bölgesinde yetişen antioksidan kapasitesi kullanmış olduğumuz çözücüler ve ekstraksiyon yöntemleri ile daha önce ayrıntılı olarak araştırılmamış olan yabani kekik bitkisinin, toplam fenolik ve flavonoid içerikleri belirlenmiş ve DPPH ile ABTS radikal giderme aktiviteleri gibi çeşitli yöntemler kullanılarak antioksidan kapasitesi incelenmiştir. Bu bölümde, incelenen bitkinin deneysel sonuçları ile benzer literatürlerdeki veriler göz önünde bulundurularak sonuçlar karşılaştırılmış ve değerlendirilmiştir.

Yabani kekik bitkisinin metanol ve etil asetat çözücülerıyla elde edilen ekstraktları, ultrasonik destekli ekstraksiyon ve çalkalamalı su banyosu kullanılarak iki farklı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmiştir. Literatürde yapılan incelemelerde bir çok araştırmacı tarafından çözücü olarak en fazla etanol ve metanol, aseton, hekzan ve kloroform gibi çözücülerin kullanıldığı, ancak etil asetatla ilgili çok fazla çalışma bulunmadığı görülmüştür (Balpetek Külcü vd., 2019; Nutrizio vd., 2020). Ekstraksiyon yöntemleri arasında ise en çok tercih edilenler arasında soxhlet ekstraksiyonu, maserasyon ve ultrasonik destekli ekstraksiyona rastlanmıştır (Vural C., 2008; Dukić vd., 2017). Literatürde, ultrasonik destekli ekstraksiyon ve çalkalamalı su banyosu yöntemleri farklı oranlar, sıcaklık dereceleri ve zaman aralıklarında uygulanmıştır. Materyal olarak

kullandığımız kurutulmuş yabani kekik örneğiyle karşılaştırıldığında ise, yabani kekiğin esansiyel yağıyla yapılan çalışmalar daha yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Bu çalışmada, daha önce sıkça tercih edilmeyen ve kolayca temin edilebilen çözücüler ve yöntemler kullanılmıştır. Kurutulmuş yabani kekik ile metanol çözücüsünde yapılan ultrasonik destekli ekstraksiyon sonucunda %14,5 verim elde edilirken, kurutulmuş yabani kekik ile etil asetat çözücüsünde %2,3 verim elde edilmiştir. Kurutulmuş yabani kekik ile metanol çözücüsünde çalkalamalı su banyosu yöntemiyle %11,5 verim, etil asetat çözücüsünde ise %2,6 verim sağlanmıştır. Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre, en yüksek ekstraksiyon verimi metanol çözücüsüyle elde edilen ekstraktlara aittir. Metanolün yabani kekik bitkisinden daha fazla bileşen çözme kapasitesine sahip olduğu düşünülmektedir. Ekstraksiyon verimleri Çizelge 4.1.' ve 4.2.' de gösterilmiştir. Kindl vd., (2019)'nin yapmış oldukları çalışmada, *T. serpyllum*' un ultrasonik destekli ekstraksiyonunda metanol çözücüsü kullanılarak %8,9 oranında verim elde edilmiştir (Kindl vd, 2019). Goyal ve arkadaşları (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, çalkalamalı su banyosu yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen metanol ekstraksiyonunda en yüksek verim %24,61 olarak elde edilmiştir (Goyal vd., 2021).

Toplam fenolik madde tayini, FCR (Folin-Ciocalteu Reaktif) yöntemiyle yapılmış olup, *T. serpyllum* bitkisinden elde edilen ekstraktların gallik asit cinsinden toplam fenolik madde miktarları belirlenmiştir (Jovanović vd., 2022b). UDE- metanol ekstraktında yapılan ekstraksiyonda $98,83 \pm 1,04$ µg GAE/mL toplam fenolik madde, etil asetat ekstraktında ise $84,66 \pm 5,75$ µg GAE/mL toplam fenolik madde tespit edilmiştir. Diğer bir ekstraksiyon yöntemi olan SBE- metanol ekstraktı için $316,16 \pm 3,88$ µg GAE/mL, etil asetat ekstraktı için ise $99,83 \pm 1,60$ µg GAE/mL değerleri elde edilmiştir. Çizelge 4.3 ve 4.4'te görüldüğü üzere, kullanılan ekstraksiyon çözücüsü ve yöntemine göre, metanol çözücüsü ve çalkalamalı su banyosu ile yapılan ekstraksiyonlarda daha yüksek değerler elde edilmiştir. El Babili, vd., (2013)'nin *T. serpyllum* bitkisinin metanol özütüyle yapmış oldukları bir çalışmada toplam fenolik tayini gallik asit eşdeğeri cinsinden 945.70 ± 0.81 g/kg olarak bulunmuştur (El Babili vd., 2013). Daha önce Aksić vd., (2023)'in yapmış olduğu çalışmada ise toplam fenolik bileşik tayini etil asetat özütünde 155.50 ± 0.14 mg GAE/g verim tespit edilmiştir (Aksić vd., 2023). Mrkonjić vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak etanol çözücüsü ile elde edilen toplam fenolik madde miktarı 32,7

mg GAE/L olarak tespit edilmiş (Mrkonjić vd., 2021a). Dukić ve arkadaşları (2017) tarafından etanol çözücü kullanılarak ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemiyle yapılan çalışmada, toplam fenolik madde içeriği 124.42 ± 0.87 mg GAE/g olarak belirlemişlerdir (Dukić vd., 2017).

Örneklerin toplam flavonoid miktarı ise Kuersetin standardı kullanılarak hesaplandı (Jovanović vd., 2022b). Çizelge 4.5 ve 4.6' da flavonoid madde miktarları gösterilmiştir. Çalkalamalı su banyosu kullanılarak yapılan ekstraksiyonda metanol ekstraktında $316,16 \pm 3,88$ µg KUE/mL, etil asetatta $99,83 \pm 1,60$ µg KUE/mL sonuç elde edilmiştir. Ultrasonik destekli ekstraksiyonda ise metanol ekstraktında $98,83 \pm 1,04$ µg KUE/mL, etil asetat ekstraksiyonunda $84,66 \pm 5,75$ µg KUE/g sonuç elde edilmiştir. Toplam flavonoid içeriği, toplam fenolik madde tayininde kullanılan yöntemle benzer şekilde belirlenmiştir. Analizler, 20–250 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda gerçekleştirilmiş olup, elde edilen veriler kuersetin eşdeğeri (QE) olarak ifade edilmiştir. Çalkalamalı su banyosunda metanol çözücüsü $559,4 \pm 8,11$ µg KUE/mL, etil asetat çözücüsüyle ise $422,28 \pm 30,66$ µg KUE/mL bulunmuştur. Ultrasonik destekli ekstraksiyonda metanol $85,4 \pm 9,86$ µg KUE/mL, etil asetat ekstraksiyonu ise $456,73 \pm 20,66$ µg KUE/mL eşdeğer toplam flavonoid miktarı tespit edilmiştir. Daha önce El Babili., vd. 2013'nin yapmış oldukları çalışmada *T. serpyllum* bitkisinin metanol özütüyle yapmış oldukları bir çalışmada toplam flavonoid miktarı kuersetin eşdeğeri cinsinden 180.58 ± 1.7 g/kg olarak bulunmuştur (El Babili., 2013). Shahr vd., 2023' nin yapmış oldukları analizde toplam flavonoid tayininde $51,9 \pm 0,00$ mg/g değer elde etmiş (Shahr vd., 2023). Dukic vd., 2017'in etanol çözücü kullanılarak ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile yapılan bir çalışmada toplam flavonoid tayini rutin eşdeğeri cinsinden 20.55 ± 0.17 mg RU/g olarak elde edilmiştir (Dukić vd., 2017).

DPPH yöntemi, antioksidan aktiviteyi ölçmek için yaygın olarak kullanılan hızlı ve kolay bir tekniktir. Bu yöntem, serbest radikal yıkıcı özelliklere sahip bileşiklerin tespiti için tercih edilmektedir. DPPH, mor renkli bir serbest radikal olup, antioksidanlar ile reaksiyona girerek rengini sarıya dönüştürür. Yapılan deneyler sonucunda, metanol ve etil asetat ekstraktlarının DPPH radikal giderme aktivitelerinin birbirinden farklı olduğu belirlendi. *T. Serpyllum* bitkisinin metanol ekstraktlarının, etil asetat ekstraktlarına kıyasla yüksek konsantrasyonlarda DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin daha etkili olduğu, etil asetat ekstraktının ise DPPH serbest radikali giderme aktivitesinin düşük

olduğu gözlemlenmektedir. DPPH deneyi, 25–1000 µg/mL aralığında yedi farklı konsantrasyon düzeyinde gerçekleştirilmiştir. 1000 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek inhibisyon oranları sırasıyla; UDE- metanol ekstraktında %92.30, SBE- metanol ekstraktında %92.32, UDE- etil asetat ekstraktında %23.31, SBE- etil asetat ekstraktında ise %23.17 olarak bulunmuştur. Buna karşılık, 25 µg/mL gibi en düşük konsantrasyonda ise; UDE- metanol ekstraktında %7.06, SBE- metanol ekstraktında %7.07, UDE- etil asetat ekstraktında %4.09 ve SBE- etil asetat ekstraktında ise %5.67 oranlarında inhibisyon gözlemlenmiştir. Çalışmada yer alan yabani kekiğin DPPH radikalini nötralize etme etkilerinin % inhibisyon değerleri, Şekil 4.7’ de sunulmuştur. Yabani kekik bitkisinin farklı çözücüler ve konsantrasyonlar kullanılarak yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edildi. Ekstraksiyonda kullanılan çözücü ve ekstraksiyon modeline göre değerler değişiklik göstermektedir. Metanol ekstraktı, etil asetat ekstraktına kıyasla daha yüksek bir aktivite sergilemiş ve DPPH radikali giderme aktivitesi belirgin şekilde artmıştır. Etanol çözücüsü kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada, *T. serpyllum* ekstraktının DPPH radikal giderme aktivitesi IC₅₀ değeri olarak 35.15 ± 0.33 µg/mL şeklinde raporlanmıştır (Aksić vd., 2023). Mrkonjić ve arkadaşlarının (2021) yaptığı çalışmada, *T. serpyllum* bitkisinin DPPH radikal giderme aktivitesi %60’lık etanol konsantrasyonunda 0,2410 mM Trolox eşdeğeri/g (TE/g) olarak belirlenmiştir (Mrkonjić vd., 2021a). Shahar vd., 2023’ nin metanol özütüyle yapmış oldukları DPPH analizinde 48,58 ± 0,64 µg/mL değer elde etmiş (Shahar vd, 2023). Jovanović ve arkadaşlarının 2021’de yapmış olduğu bir çalışmada, %70’lik etanol çözeltilisiyle elde edilen *T. serpyllum* ekstraktının DPPH radikal giderme aktivitesi, IC₅₀ değeri olarak 2.6 ± 0.3 mg/mL şeklinde bulunmuştur (Jovanović vd., 2021b).

ABTS yönteminde, metanol ve etil asetat ekstraktlarını çalkalamalı su banyosu ve ultrasonik destekli ekstraksiyon modelleriyle karşılaştırdığımızda radikal giderme aktivitelerinde yakın değerlerin ortaya çıktığı görülmektedir. DPPH radikali giderme aktivitesinde etil asetat değerleri daha düşük iken ABTS giderme aktivitesinde daha yüksek sonuçlar görülmektedir. Ancak, diğer deneylerde olduğu gibi metanol çözücüsü ile gerçekleştirilen ekstraksiyonda elde edilen ekstraktlarda daha yüksek radikal giderme aktivitesi gözlenmiştir. En yüksek konsantrasyon olan 1000 µg/mL düzeyinde, inhibisyon oranları UDE- metanol ekstraktında %91.91, SBE- metanol ekstraktında ise %93.97 olarak belirlenmiştir. Aynı konsantrasyonda, UDE- etil asetat ekstraktında %77.20, SBE-

etil asetat ekstraktında ise %70.29 inhibisyon göstermiştir. En düşük konsantrasyon olan 25 µg/mL'de ise UDE- metanol ekstraktında %33.38, SBE- metanol ekstraktında %34.41, UDE- etil asetat ekstraktında ise %39.26, SBE- etil asetat ekstraktında %39.85 oranında inhibisyon sergilemiştir. Şekil 4.8 ' de ABTS radikali giderme aktivite değerleri gösterilmiştir. Yaptığımız çalışmada metanol ekstraktlarında 1000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda her iki ekstraksiyon yönteminde de standartlarla benzer oranda bir inhibisyon yüzdesine ulaşılmıştır. Yabani kekik bitkisiyle ilgili bilimsel araştırmalar, çeşitli çözücüler ve yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mrkonjić ve arkadaşlarının (2021) yaptığı çalışmada, %60'lık etanol konsantrasyonu ile elde edilen *T. serpyllum* ekstraktının ABTS radikal giderme aktivitesi 0,4878 mM Trolox eşdeğeri/g (TE/g) olarak belirlenmiştir (Mrkonjić vd., 2021b). Kukić ve arkadaşlarının (2008) gerçekleştirdiği çalışmada, *T. serpyllum* bitkisinin metanol ekstraktının ABTS radikal giderme aktivitesi 0.36 ± 0.01 mM Trolox eşdeğeri/g olarak belirlenmiştir (Kukić vd., 2008). Jovanović vd., 2021'in yapmış oldukları bir çalışmada, ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen *T. serpyllum* ekstraktının ABTS radikal giderme aktivitesi, %50'lik etanol konsantrasyonunda $11,7 \pm 0,1$ mmol Trolox/mL olarak belirlenmiştir (Jovanović vd., 2021c).

Elde edilen verilere göre, etil asetat ekstraktı DPPH radikal giderme testinde düşük düzeyde antioksidan aktivite göstermiştir. Bu durum, etil asetatın DPPH ile reaksiyona giren antioksidan bileşikleri yeterince çözmediğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, aynı ekstrakt ABTS radikal giderme testinde daha yüksek bir antioksidan aktivite sergilemiştir. Bu sonuç, ABTS yönteminin daha geniş bir spektrumdaki antioksidan bileşenleri ölçmeye duyarlı olmasıyla ilişkilendirilebilir. Her iki test yöntemi dikkate alındığında, metanol ekstraktı en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Bu durumda metanolün başta fenolik bileşikler olmak üzere polifenoller ve flavonoidler gibi antioksidan kapasitesi yüksek olan hidrofilik bileşikler çözme kabiliyetinin yüksek olduğunu desteklemektedir. Dolayısıyla, metanolün ekstraksiyon çözücüsü olarak tercih edilmesi, bitkisel materyallerden biyolojik olarak aktif bileşenlerin elde edilmesinde daha verimli sonuçlar sağlayabilir. Bu veriler, antioksidan aktivite değerlendirmelerinde çözücü türünün önemli bir etkiye sahip olduğunu ve ekstraksiyon yöntemlerinin standardize edilmesinin önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. Bu çalışmada gerçekleştirilen analizler sonucunda, yabani kekik örneklerinde fenolik

bileşiklerin ekstraksiyon veriminin, kullanılan çözücü tipi ve ekstraksiyon yöntemi gibi faktörlere bağlı olarak anlamlı farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Protokateşik asit, kafeik asit ve salisilik asit, tüm ekstraksiyon koşulları altında yüksek miktarlarda elde edilen başlıca fenolik bileşikler olarak öne çıkmıştır. Metanol–ultrasonik ekstraksiyon yöntemi, özellikle salisilik asit ve hesperidin gibi polar fenolik bileşiklerin verimini artırmada daha etkili bulunurken; etil asetat çözücüsü için çalkalamalı su banyosunda ekstraksiyon yöntemi, gallik asit gibi düşük polariteli bileşiklerin ekstraksiyonunda daha yüksek verim sağlamıştır. Bununla birlikte, bazı fenolik bileşikler yalnızca belirli çözücü ve yöntem kombinasyonlarında tespit edilmiştir. Bu durum, ekstraksiyon koşulları seçilirken hedeflenen bileşiğin kimyasal özelliklerinin dikkate alınmasının önemini ortaya koymaktadır. LC-MS/MS tekniğiyle yabani kekik özütünden elde edilen veriler, daha önceki çalışmalarda tanımlanan protokateşik asit, klorojenik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, rutin, hesperidin, luteolin, naringenin, apigenin ve kaempferol gibi bazı bileşiklerle benzerlik göstermektedir. Yaptığımız çalışma ile literatürdeki bulgular birlikte değerlendirildiğinde, tespit edilen bileşiklerin *T. serpyllum*'daki fenolik asitlerin varlığını desteklediği söylenebilir. Ayrıca, hem bizim çalışmamız hem de literatürdeki diğer araştırmalar göz önünde bulundurulduğunda, *T. serpyllum*'da fenolik asitler (kafeik asit, p-kumarik asit, klorojenik asit gibi), flavanoller (kuersetin, rutin), flavanonlar (naringenin, hesperidin) ve flavonlar (apigenin ve luteolin glikozitleri) gibi bileşiklerin varlığını doğruladığı sonucuna ulaşılmıştır (Boros vd., 2010). Elbette, bu sonuçların, yabani kekiğin yetiştiği ve toplandığı bölge, o bölgedeki iklim koşulları ve çevresel faktörlere bağlı olarak diğer çalışmalardan farklılık göstermesi normaldir. Mariconda vd. (2020) tarafından gerçekleştirilen LC-MS/MS analizinde, toplamda 14 fenolik bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden beşi fenolik asit ve dokuzu flavon-3-ol sınıfına aittir. *T. serpyllum* 'un metanol özüt çözeltisinde yapılan sıvı kromatografisi/kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) analizi ile tanımlanan bileşikler arasında; protokateşik asit-heksozid, rosmarinik asit-glukozid, rosmarinik asit, klorojenik asit, neoklorojenik asit, apigenin 6,8-di-C-glukozid, rutin, luteolin 7-O-glukozid, luteolin 7-O-glukuronid, kaempferol O-glukuronid, naringin, apigenin O-glukuronid, metil kaempferol O-rutinosid ve luteolin yer almaktadır. LC-MS/MS tekniği ile *T. serpyllum* özütü üzerinde elde edilen veriler, literatürde tanımlanan farklı analitlerin (bunlar arasında en yüksek yoğunluğa sahip olanlar Luteolin 7-O-glukozit, Rosmarinik asit, Luteolin ve Kaempferol O-glukuronid)

görelî bolluk değerleriyle tutarlı sonuçlar göstermektedir (Mariconda vd., 2020). Sonmezdağ (2016) tarafından yapılan çalışmada toplam 18 fenolik bileşik tanımlanmıştır. Bunlardan sekizi daha önce tanımlanmayan fenolik asitler, on tanesi ise flavon-3-ol sınıfına ait bileşikleridir. Tanımlanan bileşikler arasında gallik asit, protokateşik asit-heksozid, apigenin 6,8-di-C-glukozid, naringin, luteolin-O-diglukuronid, kaempferol-O-glukuronid, rosmarinik asit-glukozid, apigenin-O-glukuronid ve metil kaempferol-O-rutinosid yer almaktadır. Rosmarinik asit-glukozit, yabani kekikte bulunan önemli bir fenolik asittir. Bu bileşik, güçlü antioksidan etkisi, serbest radikal temizleme ve antiviral özellikleriyle tanınmaktadır (Sonmezdag vd., 2016). Boras ve arkadaşlarının 2010 yılında gerçekleştirdiği bir çalışmada, LC-MS (Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi) yöntemi kullanarak *T. serpyllum* örneklerinden polifenolik bileşiklerin analizi yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, kafeik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit, ferulik asit, p-kumarik asit, eriodiktyol, apigenin-7-glukozid, apigenin, hesperetin, kuersetin ve rutin gibi bileşiklere rastlanmıştır. Araştırmada, en baskın bileşik olarak rosmarinik asit vurgulanmıştır (Boros vd., 2010). Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına ve literatürdeki antioksidan özellikleri belirlemede elde edilen verilerdeki farklılıkların; kullanılan yabani kekik bitkisinin temin edildiği coğrafi bölge, olgunlaşma durumu, hasat zamanı, iklim koşulları, toprak özellikleri, bitkinin kuru ya da taze oluşu gibi etmenler ve ekstraksiyon yöntemi, ekstraksiyon çözücüsü gibi parametrelerden etkilendiği öngörülmektedir. Bu çalışmanın, gelecekte daha kapsamlı araştırmalar yapılmasına ve *T. serpyllum* bitkisinin farklı çözücüler veya yöntemlerle antioksidan aktivitesinin daha geniş bir şekilde incelenmesine katkı sağlayacağı düşünölmektedir.

KAYNAKLAR

- Aitbekov, R., Zhamanbayeva, G., Aralbaeva, A., Zhunussova, G., Zhumina, A., Dodonova, A., Zhusupova, A., Umbetyarova, L., Yeszhanov, B., Zhaparkulova, N., Murzakhmetova, M., Ydyrys, A. (2024). Pharmacological Composition of *Thymus Serpyllum* and Its Components, ES Food and Agroforestry, 17. [10.30919/esfaf1244](https://doi.org/10.30919/esfaf1244)
- Akbari, B., Baghaei-Yazdi, N., Bahmaie, M., Mahdavi Abhari, F. (2022). The role of plant-derived natural antioxidants in reduction of oxidative stress. *BioFactors (Oxford, England)*, 48(3), 611–633. <https://doi.org/10.1002/biof.1831>
- Aksić M., Dekić B., Janićević, S. (2023). Determination of polyphenol and flavanoid content and antioxidant activity of ethanolic, chloroform and ethyl acetate extract of the plant species *Thymus serpyllum* L. *Bulletin of Natural Sciences Research*, 13, 5-9. [10.5937/bnsr13-44767](https://doi.org/10.5937/bnsr13-44767)
- Alkadi, H. (2020). A Review on Free Radicals and Antioxidants. *Infectious Disorders - Drug Targets*, 20(1), 16–26. <https://doi.org/10.2174/1871526518666180628124323>
- Anwar, H., Hussain, G., & Mustafa, I. (2018). Antioxidants from Natural Sources. InTech, 178. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75961>
- Angelov, I., Bermejo Villanueva, D., Stateva, R., Reglero, G., Ibanez, E., Fornari, T. (2013). Extraction of Thymol From Different Varieties of Thyme Plants Using Green Solvents. *Institute of Chemical Engineering Bulgarian Academy of Sciences*, 95(14). <https://doi.org/10.1002/jsfa.7031>
- Arslan, D., Aydın, M., Türker, S. (2021). Extraction Methods of Medical and Aromatic Plants, Its Use in Foods and Evaluation in Food Supplement Field. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 9(5), 926-936. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v9i5.926-936.4399>
- Atak, E., Emin Uslu, M. (2018). Fenolik Bileşikler, Ekstraksiyon Metotları ve AnalizYöntemleri. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 27, (3). <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/604016>

- Ayşe Çelik, Ayran, İ. (2020). Antioksidan Kaynağı Olarak Bazı Tıbbi ve Aromatik --- Bitkiler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 13 (2), 115-125. <https://www.derleme.gen.tr/index.php/derleme/article/view/349/342>
- Balpetek Külçü, D., Demir Gökışık, C., Aydın, S. (2019). An Investigation of Antibacterial and Antioxidant Activity of Nettle (*Urtica dioica* L.), Mint (*Mentha piperita*), Thyme (*Thyme serpyllum*) and Chenopodium album L. Plants from Yaylacık Plateau, Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology, 7(1), 73-80. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i1.73-80.2123>
- Boros, B., Jakabová, S., Dörnyei, A., Horváth, G., Pluhár, Z., Kilar, F., Felinger, A. (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in Thymus species. *Journal of Chromatography A*, 1217(51), 7972-7980. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.07.042>
- Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A.O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A.F., Modu, B., Calina, D., Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, 11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1158198>
- Čižmarová, B., Hubková, B., Tomečková, V., & Birková, A. (2023). Flavonoids as Promising Natural Compounds in the Prevention and Treatment of Selected Skin Diseases. *International journal of molecular sciences*, 24(7), 6324. <https://doi.org/10.3390/ijms24076324>
- Corina Iuliana, C., Nicoleta Gabriela, H., Szakal, R., Veronica, P., Georgeta Sofia, P., Riviş, A., Hadaruga, D. (2014). Antioxidant activity of thyme extracts. Influence of the extraction solvent. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 18(3), 126-132. <http://www.journal-hfb.usab-tm.ro/>
- Danjoli-Hashani, D., & Selen-İşbilir, Ş. (2022). Effects of Extraction Period on Bioactive Compounds Extracted from Olea Europaea (var. Domat) Leaves by Ultrasound-Assisted Extraction. *Acta Chimica Slovenica*, 69(2), 430-436. <https://doi.org/10.17344/acsi.2021.7332>
- Das, S., Sultana, K., Chandra, I., (2023). In vitro propagation, phytochemistry and pharmacology properties of Basilicum polystachyon (L.) Moench (Lamiaceae): A short review. *South African Journal of Botany*, (155), 178-186. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.02.009sciences/lamiaceae>

- Demir, T., Akpınar, Ö. (2020). Bitkilerde Bulunan Fitokimyasalların Biyolojik Aktiviteleri. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8 (8),1734-1746. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i8.1734-1746.3484>
- Deveci, H. A., Nur, G., Kırpık, M., Harmankaya, A., vd. (2016). Fenolik Bileşik İçeren Bitkisel Antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1), 26-32. https://dergipark.org.tr/tr/pub/kujs/issue/30865/338472#article_cite
- Dinis, T. C., Maderia, V. M., & Almeida, L. M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Archives of biochemistry and biophysics*, 315(1), 161–169. DOI: <https://doi.org/10.1006/abbi.1994.1485>
- Dukić, D., Mašković, P., Vesković Moraćanin, S., Kurćubić, V., Milijašević, M., Babić, J. (2017). Conventional and unconventional extraction methods applied to the plant, *Thymus serpyllum L. Earth and Environmental Science*, 85(1). [10.1088/1755-1315/85/1/012064](https://doi.org/10.1088/1755-1315/85/1/012064)
- El Babili, F., Babili, M., Souchard, J., Chatelain, C. (2013). Culinary Decoctions: Spectrophotometric Determination of Various Polyphenols Coupled with their Antioxidant Activities. *Pharmaceutical Crops*, 15-20. [10.2174/2210290601304010015](https://doi.org/10.2174/2210290601304010015)
- Emin Diken, M. (2009). *Bazı Şifalı Bitkilerin Antioksidan İçerikleri* (Yayınlanmamış yüksek Lisans Tezi), Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir <https://dspace.balikesir.edu.tr/xmlui/handle/20.500.12462/1705>
- Goyal, S., Pandey, H., Guleria, K., Tewari, G. (2021). Variation in Antioxidant Activity and Antioxidant Constituents of *Thymus Serpyllum L.* Grown in Different Climatic Conditions of Uttarakhand Himalayas, *Defence Life Science Journal*, 6(2), 109-116. <https://doi.org/10.14429/dlsj.6.15759>
- Hamamcıoglu, A. C. (2017). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetes Mellitus. *Turkish Journal of Diabetes and Obesity*, 1(1), 7-13. https://dergipark.org.tr/tr/pub/tudod/issue/33700/373534#article_cite
- Haminiuk, C., Maciel, G., Plata-Oviedo, M., Peralta, R. (2012). Phenolic compounds in fruits – an overview, *International Journal of Food Science and Technology*, 47(10), 2023–2044. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>

- Jalil, B., Pischel, I., Feistel, B., Suarez, C., Blainski, A., Spreemann, R., Roth-Ehrang R., Heinrich, M. (2024). Wild thyme (*Thymus serpyllum* L.): a review of the current evidence of nutritional and preventive health benefits. *Frontiers in nutrition*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1380962>
- Janiak, M., Slavova Kazakova, A., Kancheva, V., Ivanova, M., Tsrunchev, T., Karamac, M. (2017). Effects of γ -Irradiation of Wild Thyme (*Thymus serpyllum* L.) on the Phenolic Compounds Profile of Its Ethanolic Extract. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(4), 309-315. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0020>
- Jarić, S., Mitrović, M., Pavlović, P. (2015). Review of ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological study of thymus serpyllum L. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1155/2015/101978>
- Jovanović, A., Vajić, U., Mijin, D., Zdunić, G., Šavikin, K., Branković, S., Kitić, D., Bugarski, B. (2022). Polyphenol extraction in microwave reactor using by-product of *Thymus serpyllum* L. and biological potential of the extract. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 31. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214786122000493>
- Jovanovic, A., Balanc, B., Petrovic, B., Pravilovic, R., Djordjevic, V. (2021a). Pharmacological potential of *Thymus serpyllum* L. (wild thyme) extracts and essential oil: A review. *Journal of Engineering & Processing*, 13(2), 32-41. <https://doi.org/10.7251/JEPM2102032J>
- Jovanović, A., Djordjević, V., Petrović, P., Pljevljakusić, D., Zdunić, G., Katarina P. Savikin, K., Bugarski, B. (2021b). The influence of different extraction conditions on polyphenol content, antioxidant and antimicrobial activities of wild thyme. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 25. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100328>
- Jovanović, A., Petrović, P., Dordević, V., Zdunic, G., Savikin, K., Bugarski, B., (2021c). Free radicals' scavenging capacity of *Thymus serpyllum* L. extracts depending on applied extraction conditions and extraction techniques. *Hrana i Ĩshrana* 62(2), 15-20. <https://doi.org/10.5937/hraIsh2102015J>
- Karabulut, G., & Yemiş, O. (2019). Fenolik Bileşiklerin Bağlı Formları ve Biyoyararlılığı. *Akademik Gıda*, 17(4), 526-537. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.667270>

- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76. <https://doi.org/10.24880/maeuvfd.260790>
- Karadağ, A. (2019). Türkiyede'ki Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antioksidan Potansiyelleri ve Fenolik Kompozisyonları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi* (16), 631-637. <https://doi.org/10.31590/ejosat.592711>
- Karataş, İ., Karataş, R., & Elmastaş, M. (2019). Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Sıcak Su İnfüzyonlarının Sekonder Metabolit İçeriği ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 8(2), 49-57. <https://dergipark.org.tr/en/pub/gbad/issue/48739/575637>
- Khoddami, A., Wilkes, M., Roberts, T. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>
- Kıran, T., Otlı, O. & Karabulut, A. (2023). Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *Journal of Laboratory Medicine*, 47(1), 1-11. <https://doi.org/10.1515/labmed-2022-0108>
- Kindl, M., Bucar, F., Jelić, D., Brajša, K., Blažeković, B., Vladimir-Knežević, S. (2019). Comparative study of polyphenolic composition and anti-inflammatory activity of Thymus species. *European Food Research and Technology*, 245(9) 1951-1962. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03297-x>
- Kolaç, T., Gürbüz, P., Yetiş, G. (2017). Doğal Ürünlerin Fenolik İçeriği Ve Antioksidan Özellikleri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, Cilt 5 (1), 26-42. <https://dergipark.org.tr/en/pub/inonusaglik/issue/29401/410872>
- Kukić, J., Popović, V., Petrović, S., Mucić, G., Ciric, A., Stanojkovic, T., & Soković, M. (2008). Antioxidant and antimicrobial activity of *Thymus serpyllum* L. (Lamiaceae) essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(17), 7709–7715. <https://doi.org/10.1021/jf800818j>
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Abete, P.(2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, 13, 757–772. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>

- Maleki, S., Crespo, J., Cabanillas, B. (2019). Anti-Inflammatory effects of flavanoids. *Food Chemistry*, 229. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124>
- Maury, G. L., Rodríguez, D. M., Hendrix, S., Arranz, J. C. E., Boix, Y. F., Pacheco, A. O., Díaz, J. G., Morris-Quevedo, H. J., Dubois, A. F., Aleman, E. I., Beenaerts, N., Méndez-Santos, I. E., Ratón, T. O., Cos, P., & Cuypers, A. (2020). Antioxidants in Plants: A Valorization Potential Emphasizing the Need for the Conservation of Plant Biodiversity in Cuba. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(11), 1048. <https://doi.org/10.3390/antiox9111048>
- Mariconda, A., Vassallo, A., Bonomo, M.G., Calabrone, L., Salzano, G., Claps, M., Sinicropi, M., Capasso, A., Saturnino, C. (2020). Herbal Formulations of *Thymus Serpyllum L.* and *Hypericum Perforatum L.* from Southern Italy: Preparation And Chemical Characterization. *English, Journal article, Italy*, 1-10. <https://www.researchgate.net/publication/341151608>
- Michalak, M. (2022). Bitki Kaynaklı Antioksidanlar: Cilt Sağlığı ve Yaşlanma Sürecindeki Önemi. *Uluslararası Moleküler Bilimler Dergisi* , 23 (2), 585. <https://doi.org/10.3390/ijms23020585>
- Mrkonjić, Z., Rakić, D., Olgun, E., Canli, O., Kaplan, M., Teslić, N., Zeković, Z., Pavlić, B. (2021a). Optimization of antioxidants recovery from wild thyme (*Thymus serpyllum L.*) by ultrasound -assisted extraction: Multi-response approach. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100333>
- Mrkonjić, Ž., Rakić, D., Kaplan, M., Teslić, N., Zeković, Z., & Pavlić, B. (2021b). Pressurized-Liquid Extraction as an Efficient Method for Valorization of *Thymus serpyllum* Herbal Dust towards Sustainable Production of Antioxidants. *Molecules*, 26(9), 2548. <https://doi.org/10.3390/molecules26092548>
- Mrkonjić, Ž., Kaplan, M., Milošević, S., Božović, D., Sknepnek, A., Miletić, D., Lazarević Mrkonjić, I., Rakić, D., Zeković, Z., & Pavlić, B. (2024). Green Extraction Approach for Isolation of Bioactive Compounds in Wild Thyme (*Thymus serpyllum L.*) Herbal Dust—Chemical Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activity and Comparison with Conventional Techniques. *Plants*, 13(6), 897. <https://doi.org/10.3390/plants13060897>

- Nikolić, M., Glamočlija, J., Ferreira, I., Calhelha, R., Fernandes, A., Marković, T., Marković, D., Giweli, A., Soković, M. (2014). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*. 52, 183-190. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.006>
- Nutrizio, M., Pataro, G., Carullo, D., Carpentieri, S., Mazza, L., Ferrari, G., Chemat, F., Banović, M., & Režek Jambrak, A. (2020). High Voltage Electrical Discharges as an Alternative Extraction Process of Phenolic and Volatile Compounds from Wild Thyme (*Thymus serpyllum* L.): In Silico and Experimental Approaches for Solubility Assessment. *Molecules*, 25(18), 4131. <https://doi.org/10.3390/molecules25184131>
- Nwozo, O. S., Effiong, E. M., Aja, P. M., & Awuchi, C. G. (2023). Antioxidant, phytochemical, and therapeutic properties of medicinal plants: a review. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 359–388. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2157425>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Pinilla-González, V., Rojas-Solé, C., Gómez-Hevia, F., González-Fernández, T., Cereceda-Cornejo, A., Chichiarelli, S., Saso, L., & Rodrigo, R. (2024). Tapping into Nature's Arsenal: Harnessing the Potential of Natural Antioxidants for Human Health and Disease Prevention. *Foods*, 13(13), 1999. <https://doi.org/10.3390/foods13131999>
- Pitt J. J. (2009). Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. *The Clinical biochemist. Reviews*, 30(1), 19-34. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2643089/>
- Ramasubramania Raja, R. (2012). Medicinally Potential Plants of Labiatae (Lamiaceae) Family: An Overview. *Journal of Medical Plant*, 6(3), 203-213. [10.3923/rjmp.2012.203.213](https://doi.org/10.3923/rjmp.2012.203.213)
- Ramos Da Silva L., Ferreira O., Cruz J., De Jesus Pereira Franco C., Oliveira Dos Anjos T., Cascaes M., Almeida Da Costa W., Helena De Aguiar Andrade E., Santana De Oliveira M. (2021). Lamiaceae Essential Oils, Phytochemical Profile,

- Antioxidant, and Biological Activities. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1155/2021/6748052>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology & medicine*, 26(9-10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Sadiq, İ.Z. (2023). Free Radicals and Oxidative Stress: Signaling Mechanisms, Redox Basis for Human Diseases, and Cell Cycle Regulation. *Current Molecular Medicine*, 23(1), 13-35. [10.2174/1566524022666211222161637](https://doi.org/10.2174/1566524022666211222161637)
- Salaria, D., Rolta, R., Lal, U.R., Dev, K., Kumar, V. (2023). A comprehensive review on traditional applications, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Thymus serpyllum*. *Indian Journal of Pharmacology*. 55(6), 385-394. https://doi.org/10.4103/ijp.ijp_220_22
- Shahar, B., İndira, A., Santosh, O., Dolma, N., Chongtham, N. (2023). Nutritional composition, antioxidant activity and characterization of bioactive compounds from *Thymus Serpyllum L.*: An underexploited wild aromatic plant. *Food*, 10. <https://doi.org/10.1016/j.meafoo.2023.100092>
- Sonmezdag, A., Kelebek, H., Selli, S. (2016). Characterization of aroma-active and phenolic profiles of wild thyme (*Thymus serpyllum*) by GC-MS-Olfactometry and LC-ESI-MS/MS. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 1957-1965. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2144-1>
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A.-H., & Jaremko, M. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*, 25(22), 5243. <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>
- Van Hung, P. (2016). Phenolic Compounds of Cereals and Their Antioxidant Capacity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(1), 25–35. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.708909>
- Vona, R., Pallotta, L., Cappelletti, M., Severi, C., & Matarrese, P. (2021). The Impact of Oxidative Stress in Human Pathology: Focus on Gastrointestinal Disorders. *Antioxidants*, 10(2), 201. <https://doi.org/10.3390/antiox10020201>

- Vuolo, M., Lima, V., Marostica Junior M. (2019). Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. *Bioactive Compounds*. 33-50. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>
- Vural, C., Özcan, S., Toprak, G., & Torun, C., (2008). Thymus sipyleus Boiss subsp rosulans Borbas J Jalas ın organik ekstrakt ve uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi . *Biyolojik Bilimleri Araştırma Dergisi (BİBAD)*, (17-22). <https://doi.org/10.21597/jist.936856>
- Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., Zhang, Y. (2022). A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. *Natural Product Communications*. 17,(1). [10.1177/1934578X211069721](https://doi.org/10.1177/1934578X211069721)
- Zhu, Y., Che, R., Zong, X., Wang, J., Li, J., Zhang, C., Wang, F. (2024). A comprehensive review on the source, ingestion route, attachment and toxicity of microplastics/nanoplastics in human systems. *Journal of Environmental Management*.<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479724000252>

ÖZGEÇMİŞ

Eğitim hayatımın ilk yıllarını Kosova'nın Prizren şehrinde geçirdim ve burada ilkokul, ortaokul ve liseyi tamamladım. 2018 yılında Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne başlayarak üniversite eğitimimi tamamladım. 2022 yılında ise Biyoloji Anabilim Dalında tezli yüksek lisans programına kabul edildim.

