

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE’NİN FARKLI BÖLGELERİNDEN TEMİN EDİLEN
MADIMAK ÖRNEKLERİNİN BAZI BİYOAKTİF
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Nilsu MARANGOZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK

Temmuz, 2020

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE’NİN FARKLI BÖLGELERİNDEN TEMİN EDİLEN
MADIMAK ÖRNEKLERİNİN BAZI BİYOAKTİF
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Nilsu MARANGOZ tarafından hazırlanan tez çalışması 22.07.2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK, Danışman

Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Salih KARASU, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üye. Ertan ERMİŞ, Üye

İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi

Danışmanım Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Türkiye'nin Farklı Bölgelerinden Temin Edilen Madımak Örneklerinin Bazı Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Nilsu MARANGOZ

İmza



Canım aileme

ve

Biricik eşime

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan ve bu desteğini tez çalışmam sırasında da devam ettiren, bana yol gösterici ve yardımcı olan değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK'e, ilgisini ve önerilerini göstermekten kaçınmayan, deneyimlerini ve bilgisini benimle paylaşan, laboratuvar çalışmaları süresince desteğini benden asla esirgemeyen Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Doktora Öğrencisi Kübra DOĞAN'a, yardımlarından dolayı Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde görev yapan Arş. Gör. Perihan Kübra AKMAN'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışmayı hazırlarken geçirdiğim süreçte benden desteğini esirgemeyen, hem özel sektörde çalışıp hem de yüksek lisans eğitimime devam etmeme imkân tanıyan Yeni Elif Gıda Maddeleri şirketi yönetimine ve çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Çalışmam süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde bana destek olan değerli eşim Mete MARANGOZ'a, beni her zaman motive eden ve başaracağıma inanmamı sağlayan biricik kardeşim Bengisu GÜL'e ve beni bugünlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren ve benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen bu hayattaki en büyük şansım olan biricik ailem, annem Sevil KURU ve babam Veysel KURU'ya sonsuz teşekkürler.

Nilsu MARANGOZ

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	vii
KISALTMA LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	4
1.3 Hipotez	5
2 GENEL BİLGİLER	6
2.1 Madımak Bitkisi	6
2.1.1 Madımak Bitkisinin İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi	8
2.2 Antioksidan Bileşikler ve Fenolik Maddeler	10
2.3 Fenolik Madde Miktarı Tayini	12
2.4 Antioksidan Aktivite Testleri	13
2.4.1 DPPH Radikali Süpürme Kapasitesi Yöntemi	14
2.4.2 FRAP Metodu	15
2.4.3 CUPRAC Metodu	15
3 MATERYAL VE METOT	17
3.1 Materyal	17
3.1.1 Madımak Bitkisi Örnekleri	17
3.1.2 Kimyasal Çözeltiler ve Ekipmanlar	20
3.1.3 Kullanılan Kimyasal Çözeltiler	20
3.2 Metot	22

3.2.1 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanışı.....	22
3.2.2 Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini.....	22
3.2.3 Antioksidan Aktivite Tayini	23
3.2.4 Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini.....	24
3.2.5 Fenolik Madde Kompozisyonunun Belirlenmesi	24
3.2.6 Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	25
3.2.7 İstatistiksel Analizler	26
4 BULGULAR VE TARTIŞMA	27
4.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	27
4.2 Antioksidan Aktivite.....	29
4.2.1 DPPH Yöntemi ile Belirlenen Antioksidan Aktivite	29
4.2.2 FRAP Yöntemi ile Belirlenen Antioksidan Aktivite.....	31
4.2.3 CUPRAC Yöntemi ile Belirlenen Antioksidan Aktivite.....	34
4.3 Toplam Flavonoid Madde Miktarı.....	37
4.4 Fenolik Madde Kompozisyonu	39
4.5 Antimikrobiyal Aktivite	41
5 SONUÇ VE ÖNERİLER	48
KAYNAKÇA	50
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	56

SİMGE LİSTESİ

pH	Asitlik-bazlık derecesini tarif eden ölçü birimi
g	Gram
A_{kontrol}	Kontrolün absorbens değeri
P_k	Kontrolün popülasyonu (log kob/mL)
L	Litre
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
ppm	Milyonda bir (mg/kg)
nm	Nanometre
$A_{\text{örnek}}$	Örneğin absorbens değeri
$P_{\text{ö}}$	Örneğin popülasyonu (log kob/mL)
V	Volt
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

Abs	Absorbans
Akt	Aktivite
CUPRAC	Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Aktivitesi
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrihidrazil
ET	Elektron transferini esas alan yöntemler
FCR	Folin-Ciocalteu reaktifi
FRAP	Demir iyonu indirgeyici antioksidan güç
GAE	Gallik asit eşdeğeri
HAT	Hidrojen atomu transferini esas alan yöntemler
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
KAE	Kateşin Eşdeğeri
RPM	Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per Minute)
TE	Troloks eşdeğeri
TPTZ	Tripiridiltriazin
TFM	Toplam flavonoid miktarı
TFMM	Toplam fenolik madde miktarı
UV	Ultraviyole

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Madımak bitkisi	6
Şekil 2.2 Madımak bitkisinin hasat anı	7
Şekil 2.3 Antioksidanların sınıflandırılması	11
Şekil 3.1 Orta Anadolu bölgesinden temin edilen madımak bitkisi örnekleri...	18
Şekil 3.2 Madımak bitkilerinin fanlı etüvde kurutulma aşaması	18
Şekil 3.3 Kurutulmuş madımak bitkisi	19
Şekil 3.4 Öğütülmüş kuru madımak bitkisi.....	19
Şekil 4.1 Gallik asit kalibrasyon eğrisi	27
Şekil 4.2 Madımak ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları	28
Şekil 4.3 Madımak ekstraktlarının DPPH metodu ile belirlenen antioksidan aktivitesi.....	30
Şekil 4.4 Standart demir çözeltisi kalibrasyon eğrisi.....	31
Şekil 4.5 FRAP için troloks kalibrasyon eğrisi.....	32
Şekil 4.6 Madımak ekstraktlarının FRAP metodu ile belirlenen antioksidan aktivitesi.....	33
Şekil 4.7 CUPRAC için troloks kalibrasyon eğrisi.....	34
Şekil 4.8 Madımak ekstraktlarının CUPRAC metodu ile belirlenen antioksidan aktivitesi.....	35
Şekil 4.9 Madımak ekstraktlarının yapılan tüm metotlar ile belirlenen antioksidan aktivitelerinin kıyaslanması.....	36
Şekil 4.10 Kateşin kalibrasyon eğrisi	37
Şekil 4.11 Madımak ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarı	38
Şekil 4.12 Madımak ekstraktlarının fenolik madde kompozisyonu.....	40
Şekil 4.13 Madımak ekstraktlarının %0,5 konsantrasyonda ilavesi ile patojen mikroorganizmaların % inhibisyon değerleri	45

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Madımak bitkisinin içerdği bazı elementler (Demir, 2006).....	8
Tablo 4.1 Madımak ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları.....	28
Tablo 4.2 Madımak ekstraktlarının DPPH yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivitesi	30
Tablo 4.3 Madımak ekstraktlarının FRAP yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivitesi	32
Tablo 4.4 Madımak ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivitesi	35
Tablo 4.5 Madımak ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarı	37
Tablo 4.6 Madımak ekstraktlarının fenolik madde kompozisyonu.....	39
Tablo 4.7 Farklı konsantrasyonlarda madımak ekstraktının <i>L. monocytogenes</i> üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi (log kob/mL)	41
Tablo 4.8 Farklı konsantrasyonlarda madımak ekstraktının <i>S. aureus</i> üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi (log kob/mL)	42
Tablo 4.9 Farklı konsantrasyonlarda madımak ekstraktının <i>E. coli</i> O157:H7 üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi (log kob/mL)	43
Tablo 4.10 Farklı konsantrasyonlarda madımak ekstraktının <i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi (log kob/mL).....	44

Türkiye’nin Farklı Bölgelerinden Temin Edilen Madımak Örneklerinin Bazı Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi

Nilsu MARANGOZ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK

Madımak (*Polygonum cognatum* Meissn.) bitkisi genellikle Türkiye’nin Anadolu ve Karadeniz bölgelerinde yetişen, antioksidan, antikanserojen, antimutajen ve antimikrobiyal gibi birçok biyoaktif özelliği bulunan endemik bitki türlerinden biridir. Bu çalışmada, Türkiye’nin Orta Karadeniz ve Orta Anadolu bölgelerinden tedarik edilen taze madımak bitkilerinin biyoaktif özelliklerinin üzerinde bitkinin yetiştiği lokasyonun etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla öncelikle madımak bitkileri kurutulmuş ve etanol ekstraktları elde edilmiştir, sonrasında antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri ile fenolik madde profilleri incelenmiştir.

Yapılan analizler sonucunda, Orta Anadolu ve Orta Karadeniz Bölgesinde yetişen madımak bitkisi örneklerinin Folin-Ciocalteu yöntemi ile tayin edilen toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 67,30 GAE mg/g ve 58,59 GAE mg/g olarak hesaplanmış olup, Zhinsen metodu ile ölçülen toplam flavonoid miktarları ise sırasıyla 50,88 KAE mg/g, ve 32,86 KAE mg/g olarak belirlenmiştir. Madımak

örneklerinin antioksidan aktivitelerinin tespiti için DPPH, FRAP ve CUPRAC olmak üzere üç farklı metot kullanılmıştır. Farklı bölgelerden toplanan bitkilerden elde edilen ekstraktların her ikisi de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiş ve antimikrobiyal etkinin ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olduğu tespit edilmiştir. Madımak örneklerinin fenolik madde profilleri lokasyona göre farklılık göstermiş olup, Orta Anadolu ve Orta Karadeniz madımak örneklerinde bulunan majör fenolik bileşenler sırasıyla rutin ve kafeik asit olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak, Orta Anadolu'da yetişen madımak bitkisinin toplam fenolik madde ve flavonoid miktarı istatistiksel olarak daha yüksek ($p < 0,05$) bulunmuştur. Fakat Orta Karadeniz bölgesinden toplanan madımak bitkisinin istatistiksel olarak daha yüksek ($p < 0,05$) antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Bu farklılığın sebebi her iki bölgedeki madımak örneklerinin farklı fenolik madde profiline sahip olmasıdır. İçerdikleri fenolik bileşenlerin konsantrasyonları farklı olduğu için antioksidan kapasiteleri de farklılık göstermiştir. Sonuç olarak, madımak bitkisinin doğal florasını bozmadan kültüre alınmasına karar verilirken konumun etkisinin dikkate alınması gerektiği anlaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Madımak, endemik bitki, fenolik, flavonoid, antimikrobiyal

Determination of Some Bioactive Properties of Madimak Samples Collected From Different Regions of Turkey

Nilsu MARANGOZ

Department of Food Engineering

Master of Science Thesis

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih TÖRNÜK

Madimak (*Polygonum cognatum* Meissn.) is an endemic plant that is mainly grown in Anatolia and Black Sea regions of Turkey and has many bioactive properties such as antioxidant, antimutagen, anticancer and antimicrobial. In this study, bioactive properties of the madimak obtained from Central Black Sea and Central Anatolia regions of Turkey were determined and the effect of location on these properties was investigated. For this purpose, firstly madimak plants were dried and ethanolic extracts were obtained, then antioxidant and antimicrobial activities and phenolic compound profiles were analysed.

As a result of the analyses, the total phenolic contents of the madimak samples grown in the Central Anatolia and Central Black Sea Regions determined by the Folin-Ciocalteu's method were calculated as 67.30 GAE mg/g and 58.59 GAE mg/g while the their total flavonoid contents as measured by the Zhinsen method were determined as 50.88 KAE mg/g and 32.86 KAE mg/g, respectively. Three different methods, namely DPPH, FRAP and CUPRAC were used for the

determination of antioxidant activities of the madimak samples. The extracts from plants collected from both regions were found to have high antimicrobial activity against *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* and the effect was concentration dependent. Phenolic compound profiles of madimak samples differed by location, and major phenolic components found in Central Anatolia and Central Black Sea madimak samples were determined as rutin and caffeic acid, respectively.

As a result, the madimak samples grown in Central Anatolia had statistically higher ($p < 0.05$) total phenolic and flavonoid contents. However, it was found that the madimak plant grown in the Central Black Sea region showed statistically higher ($p < 0.05$) antioxidant and antimicrobial activity. The reason for this difference is that Madimak samples in both regions have different phenolic substance profiles. Because the concentrations of phenolic compounds contained in the samples are different, the antioxidant capacities of the samples are also different. In conclusion, it was revealed that effect of location should be taken into consideration when deciding on the cultivation of the madimak plant without impairing its natural flora.

Keywords: Madimak, endemic plant, phenolic, flavonoid, antimicrobial

1.1 Literatür Özeti

Dünya üzerinde 750.000'in üzerinde bitki türünün bulunduğu tahmin edilmekte ve bunlardan yalnızca 500.000 adedinin belirlendiği araştırmalarda belirtilmiştir. Ülkemizde ise bu rakam 9.000 civarında olup; gıda, ilaç ve diğer benzer maddeler olarak tüketilenlerin 1.300 adet, tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin ise en az 500 adet civarlarında olduğu yapılan araştırmalarda belirtilmektedir (Demir, 2006). Türkiye'de yetişen 9.000 civarındaki bitki türünün yaklaşık %30'unun endemik olduğu, yani sadece ülkemizde yetiştiği tespit edilmiştir. Bu durum ülkemizin, özellikle Anadolu'nun bitki örtüsü zenginliği açısından önemli bölgelerden biri olduğunu kanıtlar niteliktedir. (Saraç ve vd., 2018).

Anadolu bölgesi, bitki örtüsünün çeşitliliği açısından sadece ülkemizin değil dünyanın da en önemli bölgelerinden biridir. Burada birçok yabancı bitki halen doğal florasını korumaktadır. Bu bitkiler genellikle taze olarak tüketilmekte ya da gıdalara işlenebilmektedir. Bu bitkiler Dünya pazarında da yer bulmaktadır (Demir, 2006). Bu tez çalışmasında kullanılan Madımak bitkisi de genellikle Anadolu ve çevresinde yetişen endemik yabancı bitkilerden biridir.

Madımak bitkisi ile ilgili yapılan birçok bilimsel çalışma mevcuttur. Genellikle taze madımak bitkisinin ya da farklı çözücü ekstraktlarının fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri incelenmiştir (Alan & Padem, 1989; Demir, 2006; Yıldırım, Mavi & Kara, 2003; Özer & Aksoy, 2019). Madımak bitkisi ile ilgili olarak literatürdeki çalışmalardan bazıları şu şekildedir;

Alan ve Padem (1989) araştırmasında Erzurum ve yöresinden topladığı taze madımları 65°C'de kurutarak bazı analizler yapmıştır. Taze madımak bitkisinin su oranını %78,8 bulurken, kurutulmuş madımdaki su oranını %7,72 bulmuştur. Kuru madde miktarını ise taze madımda 22,2g/100g, kurutulmuş madımda 92,28g/100g hesaplamıştır. Ayrıca kurutulmuş madımak örneklerinde yaptığı

diğer bazı analizlerin sonuçları şu şekildedir; pH değeri 4,91, askorbik asit miktarı 137,2mg/100g, protein değeri %4,56, yağ miktarı %0,39, kül miktarı %2,12'dir. Bazı mineral madde miktarlarının tespitine de çalışmasında yer vermiştir. 100 g örnek için sonuçlar ise şu şekildedir; azot 0,37 g, fosfor 28,6 mg, potasyum 412,9 mg, demir 1,32 mg, kalsiyum 213,2 mg, sodyum 42,6 mg, mangan 0,55 mg.

Yıldırım, Mavi ve Kara (2003) araştırmasında Sivas ilinin Gölova ilçesinden temin ettikleri madımak örneklerinin antioksidan ve fenolik madde içeriklerini ele almışlardır. Madımak örneklerini eter, etanol ve suda ekstrakte ederek analizlerde kullanmışlardır. Toplam fenolik madde miktarlarını gallik asit eşdeğeri cinsinden sırasıyla 0,014, 0,5 ve 0,477 $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplamışlardır. 100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda DPPH radikali yakalama aktivitesini suda ve etanol ekstraktında sırasıyla %50 ve %12 olarak belirlemişlerdir. Madımak örneklerinin eter ve etanol ekstraktları antimikrobiyal etki gösterirken, suda ekstraktının antimikrobiyal etki göstermediğini gözlemlemişlerdir. Eter ve etanol ekstraktlarını inhibisyon zon çapları sırasıyla *S. aureus*'a karşı 1.7 cm, 1 cm hesaplanırken *B. subtilis*'e karşı 1.6 cm ve 0.8 cm hesaplanmıştır. Eter ve etanollü madımak ekstraktlarının *E. coli*, *C. albicans* ve *P. aeruginosa*'a karşı zon oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Demir (2006)'in yapmış olduğu çalışmada Erzurum'da şehir merkezinden uzak otlaklarda haziran ayı başında toplanan taze madımak bitkisi kullanılmıştır. Yapılan analizlere göre taze madımak bitkisinin kuru madde miktarı %19,61, kül miktarı %9,48, pH değeri 6,11, askorbik asit miktarı ise 86,21 mg/100 g bulunmuştur. Ayrıca taze madımak örneklerinin 100 gramında mineral madde içerikleri ise şu şekilde belirlenmiştir; sodyum 24,96 mg, potasyum 348 mg, kalsiyum 36,49 mg, magnezyum 61,81 mg, fosfor 6,4 mg, demir 23,23 mg, bakır 0,21 mg, çinko 0,53 mg, mangan 0,86 mg.

Özbucak, Akçin ve Yalçın (2007) yaptıkları çalışmada Ordu ilinden toplanan farklı bitki çeşitlerinin yenilebilen kısımlarında bazı besin elementi değerlerini ve kuru madde miktarlarını analiz etmişlerdir. Bu analizler sonucunda madımak bitkisinin sırasıyla yaprak ve sap kısımlarının azot %4.4, %3.29; fosfor %0,05, %0,01; protein %28.03, %20.56 ve kuru madde %2.7, %12.3 olarak bulunmuştur.

Baş ve Pandır'ın (2016) yaptığı çalışmada kullandıkları madımak Yozgat ilindeki yerel pazarlardan temin edilmiştir, analizlerde ise su ile hazırlanmış ekstraktlar kullanılmıştır. Antioksidan aktivite değeri FRAP eşdeğeri olarak 5,142 $\mu\text{mol/L}$, Troloks eşdeğeri olarak 104,45 $\mu\text{mol/L}$ tespit edilmiştir.

Murathan (2018) yaptığı çalışmada Ardahan ilinden toplanan madımak bitkisi incelenmiştir. Yapılan analizlerde kullanılan madımak bitkisi metanolde çözünmüş ekstraktıdır. Analizler sonucunda toplam fenolik madde miktarı 223,6 mg/100g ve toplam flavonoid madde miktarı 26,17 mg/100g olarak hesaplanmıştır. Ayrıca yine aynı çalışmada antioksidan aktivite üç farklı metot ile (DPPH, FRAP, ABTS) belirlenmiştir. *Polygonum cognatum* ekstresinin FRAP metoduna göre antioksidan aktivite değeri 602,3 $\mu\text{mol Fe II/g}$, DPPH metoduna göre ise %46,2 $\pm$ 0,9 olarak rapor edilmiştir.

Saraç, Daştan, Demirbaş Daştan, Karaköy ve Durukan (2018) yapmış oldukları çalışmada Sivas ve yöresinden otlak arazilerden Mayıs-haziran ayları arasında topladıkları madımak bitkilerini incelemişlerdir. Makro ve mikro besin elementlerini analiz etmek için madımak bitkisini 48 saat boyunca 70°C'de kurutmuşlardır. Yapılan analiz sonuçlarına göre azot miktarı % 3,5, fosfor %0,259, potasyum %3,9, kalsiyum %0,51, magnezyum %0,44, demir 144,7 ppm, çinko 40,3 ppm, mangan 30,1 ppm, bakır 7,5 ppm olarak belirlenmiştir.

Özer ve Aksoy (2019) çalışmasında Orta Karadeniz bölgesindeki Samsun, Ordu, Amasya ve Tokat illerinin 5 farklı ilçelerinden toplanan taze madımak örneklerini 105°C'de etüvde kurutarak analizlerinde kullanmıştır. Farklı türde madımaclara rastlayan araştırmacıların yaptığı analizlere ait sonuçlarda pH değerinin 4,96 ile 5,26 arasında değiştiğini ve asidik yapıya sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Kuru madde içeriğini % 23,11 ile 26,68 arasında hesaplamışlardır. Kül oranının %8,42 ve %10,21 aralığında, azot oranının ise %2,95 ile %3,31 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca mineral madde içerikleri 100 g örnek için şu aralıklarda belirlenmiştir; potasyum 642,5-703,13 mg, magnezyum 254,84-354,94 mg, demir 8,47- 17,2 mg, çinko 2,6-3,37 mg, mangan 1,2-1,87 mg, fosfor 338,09-414,03 mg, bakır 3,1-7,3 mg, sodyum 292,93-311 mg, kalsiyum 91,93-246,63 mg.

Erurygur, Uçar, Ataş, Ergül, Ergül ve Sözman'ın (2020) yaptıkları araştırmada Sivas ilinden toplanan madımak bitkisinin bazı özellikleri incelenmiştir. Bu çalışmada madımak bitkisinin toplam fenolik madde miktarını $31,59 \pm 2.02$ mg GAE/g hesaplarken, toplam flavonoid miktarını $12,36 \pm 0,435$ mg KAE/g bulmuşlardır. Ayrıca madımak bitkisinin etanol ekstraktının antimikrobiyal aktivite MİK değerlerini ise; *E. coli* 0,625 mg/mL, *P. aeruginosa* 0,312 mg/mL, *S. aureus* 0,156 mg/mL, *E. faecalis* ve *K. Pneumoniae* için $>2,5$ mg/mL ve *C. albicans* için 2,5 mg/mL olarak tespit etmişlerdir.

Pekdemir, Çiftci ve Karatepe'nin (2020) yaptıkları araştırmada Elazığ'dan temin edilen madımak bitkilerini kurutup, öğüttükten sonra toz haline getirmiş ve metanol, etanol, aseton ve hekzan çözücülerinde ekstraksiyon gerçekleştirmiştir. Madımak örneklerinin toplam fenolik madde miktarlarını sırasıyla $24,58 \pm 1,63$ mg GAE/g, $19,26 \pm 1,36$ mg GAE/g, $10,76 \pm 0,56$ mg GAE/g ve $4,35 \pm 0,93$ mg GAE/g hesaplanırken, toplam flavonoid miktarı sırasıyla $483,40 \pm 1,63$ µg KAE/g, $970,07 \pm 0,94$ µg KAE/g, $404,4 \pm 0,82$ µg KAE/g ve $232,07 \pm 1,25$ µg KAE/g olarak belirlenmiştir. *Polygonum cognatum* Meissn bitki ekstraktının MİK değerlerini ise *E. coli* için sırasıyla 0,625 mg/mL, 0,625 mg/mL, 0,312 mg/mL, 0,625 mg/mL; *B. subtilis* için sırasıyla 0,625 mg/mL, 0,625 mg/mL, 0,312 mg/mL, 0,312 mg/mL; *S. aureus* için sırasıyla 0,625 mg/mL, 0,625 mg/mL, 0,625 mg/mL, 0,625 mg/mL; *C. albicans* için sırasıyla 0,625 mg/mL, 0,625 mg/mL, 0,625 mg/mL, 0,625 mg/mL olarak belirlemişlerdir.

1.2 Tezin Amacı

Bu çalışma ile Türkiye'nin endemik bitkilerinden biri olan ve halk arasında tıbbi amaçlar için kullanılan, Orta Karadeniz ve Orta Anadolu bölgesinde yetişen madımak bitkilerinin biyoaktif özelliklerinden antioksidan aktivitesi, fenolik madde miktarı, detaylı fenolik madde profili ve antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi ve lokasyona göre kıyaslama yapılması amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Türkiye’de yetişen 9.000’den fazla bitki türünün yaklaşık 3.000 kadarı endemik bitki olduğu bilinmektedir. Bu durum ülkemizin, özellikle Anadolu’nun bitki örtüsü zenginliği açısından önemlidir. Madımak bitkisi de Anadolu ve çevresinde yetişen bu endemik bitkilerden olup aynı zamanda yabancı bitki sınıfına girer. Yabancı bitkilerde bulunan bazı etken maddelerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve bu durumun sağlık üzerindeki olumlu bir etkisi olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur. Bu çalışmada farklı bölgelerde yetişen madımak bitki örneklerinin biyoaktif özellikleri ve antimikrobiyal aktiviteleri karşılaştırılmış ve daha güçlü özelliklere sahip bitki örneğinin yetiştiği bölge tespit edilmiştir. Bu bölgenin yetiştirme şartları detaylıca incelenebilir, tıbbi amaçlar için tüketilebilen madımak bitkisi yetiştiriciliği endüstriyel boyuta taşınabilir ve üretim yapılmakta olan bölgeye ticari yatırımlar hedeflenebilir.

2.1 Madımak Bitkisi

Madımak bitkisi (*Polygonum cognatum* Meissn.), *Polygonaceae* familyasındandır. Toprak üstünde sürünücü gövdeli, pembemsi renkli çiçekli, çok yıllık, otsu, yenilebilen yabani bir bitki olan madımak bitkisinin yaprak kısmı gövdesini sarar halde ve zarımsı yapıdadır. Yaprakları elips biçiminde ve kısa saplıdır. Çiçekleri yaprak üzerinde kümeler halindedir, pembe veya kırmızı renkli ve 4-5 mm boyunda olup 2-5 adet bir aradadır (Saraç ve vd., 2018). Şekil 2.1'de madımak bitkisinin görünümü bulunmaktadır.



Şekil 2.1 Madımak bitkisi

İlk çiçeklenme süreci mayıs ayı, son çiçeklenme süreci ise eylül ayı dolaylarındadır. Bu aylardan itibaren kırlarda, yol ve tarla kenarlarında, yamaçlar ve uçurum kenarlarında, ortalama 720–3000 m yüksekliklerde yetiştiği görülür. Ülkemizde madımak, Orta Karadeniz, Orta Anadolu, Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu

bölgelerinde yayılım gösterir. Çoğunlukla Sivas, Çorum, Yozgat, Amasya, Erzurum, Tokat, Kayseri, Gümüşhane yörelerinde yetişir (Saraç vd., 2018).

Madımak subtropik iklimden tropik iklime kadar çok çeşitli iklimlerde yetişebilir ve kuraklığa dayanıklı bir bitkidir. Besin elementi bakımından zayıf, iyi havalanmayan, farklı çeşitli toprak tiplerinde yetişebilir. Ayrıca, tuz ve kalsiyum oranı yüksek, ağır metal kirliliğine sahip, değişik pH seviyelerinde (5-8,4) bulunan topraklara da tolerans gösterebilir (Özer & Aksoy, 2019).

Madımak bitkisinin hasadı toprak üzerinde paralel olarak gelişen gövdesinin bıçakla kesilmesi ile yapılmaktadır (Şekil 2.2). Bölge halkı tarafından; taze bitkinin yaprakları haşlanıp salata şeklinde veya karışık veya yumurtalı kavurması yapılarak tüketilebilir. Ayrıca çorbası, pilavı ve cacığı yapılarak da değerlendirilmektedir (Saraç ve vd., 2018; Gülümser, Doğrusöz, Mut, Başaran & Mut,2017),



Şekil 2.2 Madımak bitkisinin hasat anı

Madımağın yurdumuzdaki bilinen diğer adları şöyledir: Kuş ekmeği, Kuş epmeği, Madımalah, Madımalak, Badımak, Badımalak, Badıma, Badimah, Can otu, Çoban ekmeği, Kuş eymeyi, Kuşkuş ekmeği, Kuşyemi, Madamak, Madık, Madınak, Madmalak, Madumah, Madımalak, Çankırı'da Badıma, Kırşehir'de Kadımelek, Kahramanmaraş'ta Tatlıdamak (Üçer, 2010).

Demir'in yaptığı araştırma (Demir, 2006) sonuçlarına göre taze madımak bitkisinin içerdiği bazı element miktarları Tablo 2.1'de belirtilmiştir.

Tablo 2.1 Madımak bitkisinin içerdiği bazı elementler (Demir, 2006)

Elementler	Konsantrasyon (mg/100g)
Potasyum (K)	348
Askorbik asit (C vitamini)	86,21
Magnezyum (Mg)	61,81
Kalsiyum (Ca)	36,49
Sodyum (Na)	24,96
Demir (Fe)	23,23
Fosfor (P)	6,4
Mangan (Mn)	0,86
Çinko (Zn)	0,53
Bakır (Cu)	0,21

2.1.1 Madımak Bitkisinin İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi

Yabani bitkilerin yapısında bulunan etken maddelerden bazılarının sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin olduğunu belirten araştırmalar günümüzde giderek artmaktadır. Ve bu olumlu etkilerin belirlenmesiyle bu etken maddeler giderek daha fazla ilgi çekmektedir. Yabani bitkilerde bulunan etken maddeler genellikle yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerdir. Askorbik asit, tokoferol, karotenoid, flavonoid gibi antioksidan aktivitesi yüksek bileşiklerin aynı zamanda antimutajenik, antikanserojenik, antimikrobiyal ve antiaging gibi birçok biyolojik fonksiyonu da olduğu bilinmektedir (Saraç ve vd., 2018).

Anadolu, değişken iklimi ve çok sayıda ekolojik bölgesi nedeniyle zengin bir bitki florasına sahiptir. Floradaki bu çeşitlilik şifalı bitki kaynağı sağlar ve Anadolu insanı uzun zamandır bu şifalı bitkilerle tedaviler geliştirmektedir. Kırsal alanlarda yaşayan halkının büyük çoğunluğu bitkileri beslenme ve tıbbi amaçlar için kullanır (Çakılcıoğlu, U., & Türkoğlu, I., 2010).

Yabani bitkiler, çeşitli hastalıkların tedavisinde “geleneksel” veya “doğal ilaç” olarak kullanılmaktadır (Saraç vd., 2018). Çeşitli bitkilerin ekstraktlarının birçok ülkede tıbbi amaçlar için bazı hastalıkların tedavilerinde kullanıldığı, ayrıca antikanserojen etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bitki ekstraktlarından elde edilen ilaçlar, antikanserojenik etki gösteren ilaçların yaklaşık olarak %63’ünü kapsadığı yapılan araştırmalar sonucunda ortaya konulmuştur. Ayrıca bu bitkisel ekstrakt kökenli ilaçların yan etkisinin olmadığı ve tedavilere cevap verme olasılıklarının daha yüksek olduğu yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir (Pekdemir, Çiftci & Karatepe; 2020).

Madımak bitkisi zengin vitamin ve mineral içeriğinin yanı sıra antioksidan bileşenleri de içermesi sebebiyle hem beslenmede hem de bitkisel tedavi amaçlı kullanımı Anadolu’da yaygınlaşmış bir bitkidir. Madımak bitkisi içeriğinde bulunan maddelerin antidiyabetik ve antihipertansif etki gösterdiği, yüksek antioksidan etkiye sahip olduğu ve aynı zamanda antimikrobiyal, antiaging, antikanserojenik, antimutajenik gibi birçok biyoaktiviteye sahip olduğu ve flavonoid, kumarin, aromatik asitler, seskiterpenoidler ve antrakınon türevleri gibi bileşenlerin bulunduğu yapılan bazı çalışmalarca kanıtlanmıştır (Ulubelen, Tan & Ucer; 1992).

Madımak örneklerinden izole edilen bazı bileşikler ise şu şekildedir: kuersetin-3-metil eter, kuersetin-3-glukozid, kuersetin-3-rutinozid, kampferol-3-metil eter, kampferol-3-glukozid, p-hidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asit, krizin ve protokateşik asit (Üçer, 2010; Ulubelen, Tan & Üçer; 1992).

Madımak bitkisi diyabet ve mide rahatsızlıklarına karşı sık sık yemeği yapılan şifalı bitkilerden biridir. Madımak bitkisinin idrarı arttırmak ve kan şekerini düşürmek için kullanıldığı da bilinmektedir. Ayrıca madımak damar büzücü özelliği sayesinde kanamayı durdurur. Karın ağrısını gidermek ve böbrek taşları için de madımak bitkisinin kökleri kaynatılıp, suyunun içilmesi yöre halkı arasında yaygın bir yöntemdir. Bitkinin yapraklarını üzerine kaynar su dökülerek kısa bir süre demlenmeye bırakılarak özünün alınıp ısıtılarak için cilde sürüldüğü de bilinmektedir (Üçer, 2010; Ergen Akçin vd., 2014).

2.2 Antioksidan Bileşikler ve Fenolik Maddeler

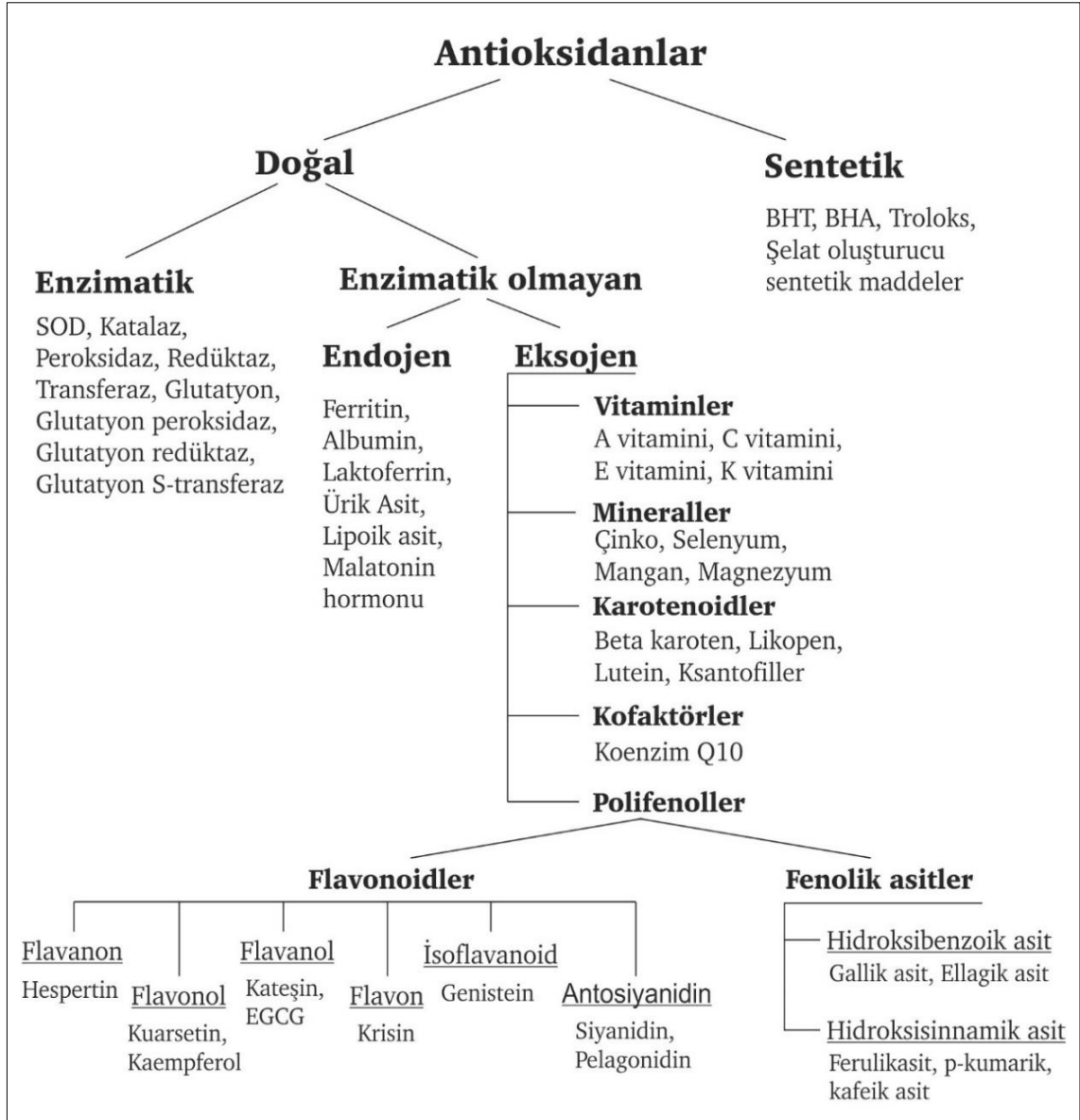
Serbest radikal, bir veya birçok eşlenmemiş elektronu bulunan, düşük molekül ağırlığına sahip, kararsız, kısa ömürlü ve etkin yapılar olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca, serbest radikaller hücrede endojen veya eksojen kaynaklı unsurlara bağlı olarak oluşabilir (Ali vd., 2008; Mercan, 2004).

Antioksidan ise bu serbest radikallerin neden olduğu istenmeyen oksidatif etkinin yok edilmesine yardımcı olan ve bu olumsuz etkiye karşı hücreleri koruyan bileşiklerdir. Antioksidanlar, oksidasyonu ciddi derecede engeller veya geciktirirler (Ali vd., 2008; Mercan, 2004; Yavaş, R., 2011).

Antioksidanlar vücut hücrelerimiz tarafından üretilebildikleri gibi, gıdalar ile beslenme yoluyla da alınabilirler. Gıdalarda mevcut olan ve hücreleri serbest radikallerin istenmeyen etkilerine karşı koruyan doğal antioksidanlardan başlıcaları; bazı vitamin ve mineraller, flavonoidler, fenolik asitler ve karotenoidlerdir (Yavaş, R., 2011). Antioksidan kapasitesi yüksek bileşikler genellikle bitkisel kaynaklıdır (Ali vd., 2008).

Ratnam vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada antioksidanların yaşlanma, vücudun savunma sistemini zayıflatan hastalıklara, nörolojik hastalıklara ve diğer bazı hastalıklara karşı iyileştirici, önleyici ve hatta tedavi edici rolü olduğunu ortaya koymuştur. Anadolu bölgesi sahip olduğu zengin bitki florası sayesinde antioksidanlar bakımından dikkat çekmektedir (Yavaş, R., 2011). Gıdalarda ve biyolojik sistemde bulunan bileşiklerin antioksidan kapasitesinin çalışılması son dönemlerde önem kazanmıştır (Albayrak vd., 2010).

Antioksidanları birçok şekilde sınıflandırmak mümkündür. Antioksidanları genel bir sınıflandırma yapacak olursak doğal ve sentetik olarak iki gruba ayırabiliriz. Doğal antioksidanlar ise enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ayrılabilir. Antioksidanların ayrıntılı sınıflandırılması Şekil 2.3'te verilmiştir (Yavaş, R., 2011; Dardağan, 2014; Okan, Varlıbaş, Mehmet & Deniz, 2013).



Şekil 2.3 Antioksidanların sınıflandırılması

Fenolik bileşik diğer bir adıyla polifenol, benzen halkasında bir ya da birden fazla hidroksil grubu içeren organik bileşiklerdir. Bitkisel veya bitkisel kökenli gıdalarda sık bulunan polifenoller, günlük beslenmede oldukça önemli rol oynar. Fenolik bileşikler, acılık ve burukluk gibi önemli iki tat unsurunu oluşturmaktadır. Bir kısmı sarı ve daha koyu sarı renkteyken, antosiyanidinler mavi-mor renklerdedir. Polifenoller flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere iki alt gruba ayrılır (Sarıçam, 2014).

Flavonoidler flavanon, flavonol, flavanol, flavon, isoflavanoid ve antosiyanidinler olmak üzere 6 alt başlıkta incelenmektedir. Flavanonlar grubunun en önemli üyeleri taksifolini hespertin ve silibininidir. Portakal, limon, turunç gibi meyvelerin kabuklarında bulunurlar. Flavonoller, lahana, elma ve özellikler çayda bol miktarda bulunurlar. Kamferol, kuersetin, mirisetin, ramnetin, rutin, tamariksetin ve fisetin bu grubun üyeleridir. Flavonlar, kereviz, soğan, turunç kabuklarında bol miktarda bulunurlar. Apigenin, luteolin, krisin, orientin bu grubun üyeleridir. Flavanoller, flavonların indirgenmiş türevleridirler. Çayda ve şarapta bol miktarda bulunur. Bu grup üyeleri kateşin, epikateşin, epikateşingallat, epigallokateşingallatlardır. İsoflavanoidler, soya fasulyesinde bol miktarda bulunur. Genistin ve daidzein bu grubun üyeleridir. Antosiyanidinler, malvidin, siyanidin, apigenidin, delfinidin, pelargonidin, peonidin, petunidinlerden oluşmaktadır (Tongur, 2014).

Fenolik asitler, yapısında karboksilik asit grubu bulundurmaktadır. Fenolik asitler gıdalarda flavonoidlerden daha fazla bulunur ve tüketilirler (Tongur, 2014). Hidroksisinamik ve hidroksibenzoik olarak 2 gruba ayrılır.

Hidroksisinnamik asitlerden başlıcaları; kafeik asit, ferulik asit, izoferulik asit, p-kumarik asit ve sinapik asittir (Tongur, 2014). Hidroksisinamik asitler ısıya duyarlıdır. Bu asitler kivi, elma, yabanmersini ve kiraz gibi meyvelerde bulunurlar (Sarıçam, 2014). Salisilik asit, gallik asit, protokateşik asit, m-hidroksibenzoik asit, p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, sirincik asit ise hidroksibenzoik asit grubunun başlıca bileşenleridir (Tongur, 2014). Hidroksibenzoik asit; soğan, karaturp ve bazı üzüksü meyvelerde bulunur (Sarıçam, 2014).

2.3 Fenolik Madde Miktarı Tayini

Folin Ciocalteu yöntemi adıyla da anılan bu yöntem toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde kullanılır. Yöntemde Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılır, bu reaktifin tam adı molibdofosfotungstik heteropoliasittir. Singleton ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu yöntemin temeli fenolik bileşiklerin diğer indirgeyici bileşiklere elektron transfer etmesine dayanır. Reaksiyon temsili olarak aşağıdaki gibi gerçekleşir.



Mavi renkli oluşan kompleks 765 nm’de gözlemlenir, standart çözelti olarak genelde gallik asit kullanılır ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) şeklinde verilir. Gallik asit yerine ayrıca klorojenik asit, kafeik asit, protokateşik asit, vanilik asit, ferrulik asit ve tannik asit cinsinden de ölçümler yapılabilir (Albayrak vd., 2010; Büyüktuncel, 2013; Prior, Wu & Schaich, 2005).

Folin Ciocalteu yöntemi elektron transferine dayanan diğer yöntemlere göre mükemmel doğrusal korelasyona sahip olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca Folin Ciocalteu yöntemi toplam fenolik madde tayini için basit, kolay tekrarlanabilir ve güvenilir sonuç veren bir metottur (Büyüktuncel, 2013).

Yöntemin en önemli dezavantajı çok sayıda standart çözeltisinin kullanılabilir olmasıdır, dolayısıyla çok farklı eşdeğerler ile sonuçlanabilir olmasıdır. Örneğin aynı numunenin gallik asit, kateşik asit, kafeik asit, kateşin eşdeğeri olarak sonuçlanmış farklı çalışmaları mevcuttur. Bu durum yorumlama kısmında ve standardizasyonu sağlamak açısından sorun teşkil etmektedir. Örneğin eğer standart olarak kullanılan maddenin reaktifliği yüksek ve yüksek bir absorbans değeri veriyor ise ölçülen numune değeri düşük çıkacaktır. Bunun nedeni ise absorbans değerlerinin genellikle reaksiyona giren fenolik hidroksil gruplarının sayısı ile orantılı olmasıdır. Diğer bir dezavantaj ise metodun sulu fazda gerçekleşmesidir, dolayısıyla lipofilik bileşikler için uygulanamamaktadır (Büyüktuncel, 2013).

2.4 Antioksidan Aktivite Testleri

Antioksidan aktivitenin ölçülmesine yönelik metotlar reaksiyon mekanizmasına göre iki gruba ayrılır. Bunlar, hidrojen atomu transferini (HAT) ve elektron transferini (ET) esas alan yöntemlerdir.

HAT esaslı yöntemler azobileşenlerin bozulması sonucu ortaya çıkan peroksil radikalleri için antioksidanın ve ortamdaki substratın yarışına dayanan yöntemlerdir. HAT reaksiyonları pH ve çözücü etkisinde çok kısa sürede gerçekleşirler. Bu yöntemler; toplam radikal yakalayıcı antioksidan aktivite (TRAP) yöntemi, oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) yöntemi ve karotenoid ağartma (krosin) yöntemidir.

ET esaslı metotlar ise antioksidan ve oksidan arasındaki indirgenme yeteneğine dayanmaktadır. Antioksidanların, oksidan bileşiği indirgeme yeteneği renk değişimi sonucunda ölçülür. Renk değişiminin derecesi antioksidan konsantrasyonu ile ilgilidir. ET reaksiyonları pH ve çözücü etkisinde HAT temelli yöntemlere göre daha yavaş gerçekleşirler. ET esaslı yöntemler; Folin- Ciocalteu ile toplam fenolik madde miktarı yöntemi (FCR), Troloks eşdeğeri olarak antioksidan kapasitesi (TEAC) yöntemi, Fe^{+3} iyonunu indirgeyici antioksidan kapasitesi (FRAP) yöntemi, oksidan olarak Cu^{+2} kullanan toplam antioksidan kapasitesi yöntemi (CUPRAC) ve DPPH (2,2-difenil- 1-pikrilhidrazil) radikali süpürme kapasitesi yöntemidir. (Somogyi vd., 2007; Albayrak vd., 2010; Yörük, 2019).

Bitki örneklerinde yapılan antioksidan kapasite yöntemleri, ekstraktın içeriğine, yöntemin şartlarına ve benzeri birçok unsura bağlı olarak değişebilir (Ergen, 2019). Tek bir yöntem kullanılarak yapılan çalışmalar antioksidan aktiviteyi bütünüyle yansıtmayabilir, bu yüzden birkaç değişik yöntem uygulanması sonucun kesinliği açısından tercih edilmelidir. Bu çalışmada 3 farklı antioksidan aktivite metodu uygulanmıştır.

2.4.1 DPPH Radikali Süpürme Kapasitesi Yöntemi

Bu yöntem DPPH radikalinin antioksidan bileşikler tarafından süpürülmesinin ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır. DPPH radikali, açılımı 2,2-difenil- 1-pikrilhidrazil olan, kararlı nitrojen radikalidir. Koyu mor renktedir ve UV absorpsiyonu 515-525 nm arasındadır. Ticari olarak bulunur ve uygulamadan önce hazırlanması zorunlu değildir. Belirli bir konsantrasyondaki DPPH çözeltisi hidrojen atomu verebilecek bir madde ile bir araya geldiğinde radikal indirgenir ve DPPH radikalinin renginde bir değişim gözlemlenir. Gerçekleşen reaksiyon temsili olarak aşağıdaki gibidir (Tongur, 2014).



DPPH yöntemi bitkiler ve gıdalardaki radikal süpürücü aktiviteyi değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir metottur (Albayrak vd., 2010).

DPPH yönteminin avantajları arasında basit ve hızlı olması, doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar vermesi ve cihaz olarak sadece tek bir cihaza (UV Spektrofotometre) ihtiyaç duyulması sayılabilir. DPPH yönteminin dezavantajlarından birisi DPPH çözeltisinin yalnızca alkol ortamında çözünmesidir. Yani sulu ortamda çözünmeyen DPPH çözeltisi hidrofilik antioksidanların belirlenmesinde sınırlama getirir. Ayrıca metanol içerisindeki DPPH çözeltisinin ışık, oksijen, nem ve pH gibi faktörlerden etkilenmesi de bu yöntemin bir diğer dezavantajıdır (Büyüktuncel, 2013; Yıldız, 2007).

2.4.2 FRAP Metodu

Benzei ve Strain tarafından bulunan bu yöntem, Cheng ve ark. tarafından modifiye edilmiş ve bu çalışmada kullanılmıştır. FRAP metodunun temel ilkesi düşük pH'da (pH=3,6) demir (III) iyonunun TPTZ ile reaksiyonu sonucu oluşan kompleks yapının antioksidanlar ile demir (II) iyonuna indirgenmesidir. Demir (II)'ye indirgenen çözelti koyu mavi renklidir ve 593 nm'de spektrometrik olarak ölçülebilir. Sonuçlar troloks eşdeğeri olarak ifade edilmektedir (Yıldız, 2007; Okan, 2013).

FRAP metodunun en önemli avantajı basit, hızlı, maliyetsiz ve güvenilir olmasıdır. Özel ekipmanlara ihtiyaç duymaz ve yarı otomatik hatta manuel yöntemler ile gerçekleştirilebilir. Ayrıca, hidrofilik ve lipofilik antioksidanların analizi için uygun bir yöntemdir. FRAP metodunun en önemli dezavantajı ise spesifik olmamasıdır. Yani 0,7 V'dan düşük redoks potansiyelindeki her madde antioksidan özelliği olsun veya olmasın demir (III) iyonunu indirgeyebilir. Ayrıca düşük pH'da çalışması da yöntemin bir diğer negatif özelliğidir (Büyüktuncel, 2013).

2.4.3 CUPRAC Metodu

Apak ve arkadaşlarının (2004) geliştirdiği bu yöntemin ilkesi Cu(II) iyonunun neokuproin ile oluşturduğu kompleks ile Cu(I) iyonuna indirgenme yeteneğinden yararlanarak antioksidan kapasitesinin hesaplanmasıdır (Yıldız, 2007). Yöntem 450 nm'de spektrometrik olarak ölçülebilir.

CUPRAC metodu spesifiktir, seçici davranır, basit şekerler ve sitrik asit ile okside olmaz. CUPRAC reaktifi, hızlıdır, kararlıdır ve kolay temin edilebilir. Hava, ışık, nem ve pH gibi etkenlerden etkilenmez. CUPRAC yöntemi askorbik asit, gallik asit veya ürik asit için birkaç dakikada sonuçlanabilirken, daha kompleks moleküller için çok daha uzun süreler gereklidir. Kompleks antioksidan karışımlarında bu yöntem için uygun reaksiyon zamanını seçmek tek dezavantajdır (Büyüktuncel, 2013).



3.1 Materyal

3.1.1 Madımak Bitkisi Örnekleri

Bu çalışmada kullanılan madımak bitkisi (*Polygonum cognatum*) Türkiye'nin Tokat, Amasya, Çorum, Sivas, Erzurum, Yozgat illerindeki yerel pazarlardan temin edilmiştir. Farklı illerden gelen madımak bitkisi örnekleri her ilden eşit miktarlarda olacak şekilde gruplandırılmış ve coğrafi bölgesine göre 2 gruba ayrılmıştır. Tokat, Amasya, Çorum illerinden temin edilen örnekler “Orta Karadeniz Bölgesi Madımak Örneği” olarak, Sivas, Erzurum, Yozgat illerinden temin edilen örnekler ise “Orta Anadolu Bölgesi Madımak Örneği” olarak isimlendirilmiş ve tüm analizlerde bu iki bölgenin madımak bitkisi örnekleri analiz edilmiş ve kıyaslanmıştır.

Madımak bitkileri üzerindeki toz ve topraklar uzaklaştırılmış ve bitkinin yenilebilen kısmı olan yaprak ve sapları, köklerinden ayrılarak fanlı etüvde (Memmert UF110) 50°C, %100 Fan şartları altında, 18 saat kurutulmuştur. Çalışmada taze madımak bitkisinin nem değerinin %10'un altına düşürmek amaçlanmıştır (Polatçı & Tarhan, 2009). Buna göre belirli zaman aralıklarında örneklerin nemi ölçülmüş ve 18. saatte örneklerin nem değeri $7,32 \pm 0,5$ bulunmuştur. Uygun nem miktarına geldiği tespit edilen madımak bitkisi örneklerinin kurutma işlemine 18. saatte son verilmiştir. Kurutulan bitki örnekleri öğütülmüş (Tefal) ve beherlere alınıp ağzı parafin ile kapatılarak ertesi gün ekstraksiyonda kullanılmak için oda koşullarında saklanmıştır. Yaprakları ayrılan madımak bitkisi Şekil 3.1'de, kurutma için fanlı etüve dizilen madımak bitkisi örnekleri Şekil 3.2'de, Şekil 3.3'te ise kurutulmuş madımak bitkileri ve Şekil 3.4'te ise kurutulduktan sonra öğütülen madımak bitkisi örneği gösterilmektedir.



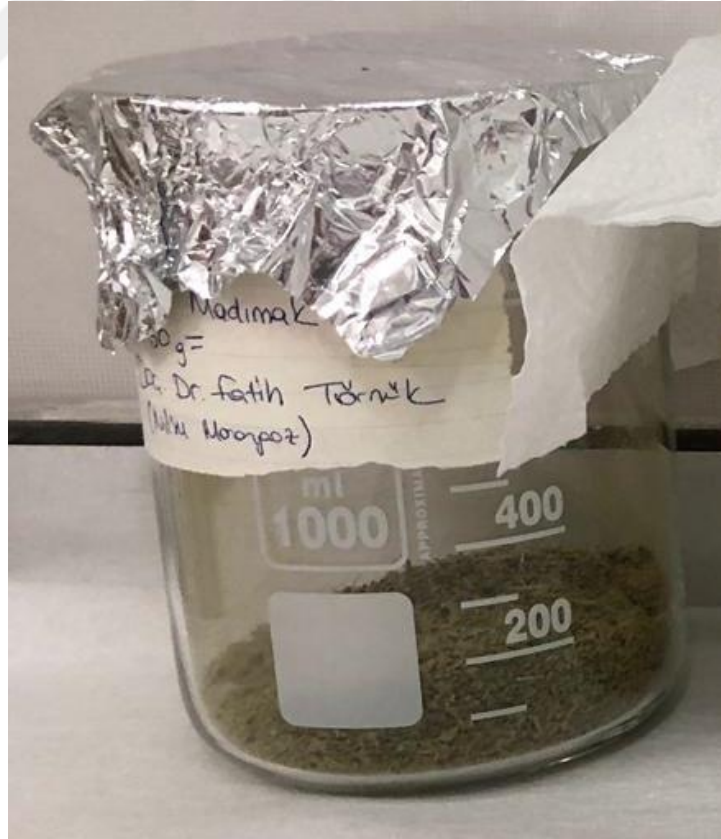
Şekil 3.1 Orta Anadolu bölgesinden temin edilen madımak bitkisi örnekleri



Şekil 3.2 Madımak bitkilerinin fanlı etüvde kurutulma aşaması



Şekil 3.3 Kurutulmuş madımak bitkisi



Şekil 3.4 Öğütülmüş kuru madımak bitkisi

3.1.2 Kimyasal Çözeltiler ve Ekipmanlar

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Merck (Darmstadt, Almanya), Aldrich Chemistry (Darmstadt, Almanya) ve Yasin Teknik (İstanbul, Türkiye)'ten temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan başlıca ekipmanlar; rondo (Tefal), fanlı etüv (Memmert UF110), nem ölçme cihazı (Radwag Wagi Elektroniczne MA 50.R), saf su cihazı (Elga Pure Lab Prima DV25), ultratoraks (IKA Eurostar 20), çalkalamalı su banyosu (Wisebath Wisd), santrifüj (Thermo Scientific Heraeus Multifuge X3FR), rotary evaparatör (Buchi R-220 SE), liyofilizatör (Chris), spektrofotometre (Shimadzu UV-1800), pH metre (Hanna Instrument HI 2211), analitik terazi (Radwag AS220R2 ve Shimadzu TW423L), ısıtıcı manyetik karıştırıcı (Heidolph MR3001 ve IKA C-MAG HS7), HPLC (Shimadzu) ve otomatik pipetlerdir.

3.1.3 Kullanılan Kimyasal Çözeltiler

%80'lik Etanol Çözeltisi

800 ml etanol alınarak balon jodede 1 L'ye saf suya tamamlandı.

0,2 N Folin-Ciocalteu Reaktifi

2N Folin-Ciocalteu Reaktifinden 10 ml alınıp 100 ml'e saf su ile tamamlandı.

%7,5'luk Na₂CO₃ Çözeltisi

3,75 g Na₂CO₃ tartılıp 50 ml'e saf su ile tamamlandı.

300 mM Asetat Tampon Çözeltisi (pH=3,6)

3,1 g sodium asetat trihidrat tartıldı, üzerine 1,6 ml glasiyal asetik asit eklendi ve 100 ml'ye saf su ile tamamlanır. pH değeri 3,6 olup olmadığı kontrol edildi.

40 mM HCl Çözeltisi

%37'lik HCl kimyasalından 33,2 µL alınıp 10 ml'e saf su ile tamamlandı.

10 mM TPTZ Çözeltisi

0,031 g TPTZ tartıldı, üzerine 10 ml, 40 mM HCl çözeltisi eklendi. 50°C su banyosunda çözündürüldü.

20 mM Demir (III) Klorür Çözeltisi

0,135 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tartılıp 25 ml'e saf su ile tamamlandı.

FRAP Reaktifi

300 mM asetat tamponunda 25 ml, 10 mM TPTZ çözeltisinden 2,5 ml ve 20 mM demir (III) klorür çözeltisinden 2,5 ml alınarak (10:1:1 oranında) karıştırıldı.

0,1 mM DPPH Reaktifi

0,00394 g DPPH kimyasalından tartıldı ve 100 ml'e metanol ile tamamlandı. DPPH'in metanol içerisinde iyice çözünmesi sağlandı ve hazırlanan çözelti amber renkli şişede muhafaza edildi.

0,01M CuCl_2 Çözeltisi

Bakır(II)klorür dihidrat'tan ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,4262 g tartılıp saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

1M Amonyum Asetat Tampon Çözeltisi (pH=7)

Amonyum asetat (NH_4Ac)'tan 19,27 g tartılıp saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

7,5 mM Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) Çözeltisi

Neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin)'den 0,039 g tartılıp %96'lık etil alkolle 25 mL'ye tamamlandı.

%5'lik NaNO_2 Çözeltisi

2,5 g NaNO_2 tartılıp 50 ml'e saf su ile tamamlandı.

%10'luk AlCl_3 Çözeltisi

5 g AlCl_3 tartılıp 50 ml'e saf su ile tamamlandı.

1M NaOH Çözeltisi

4 g NaOH tartılıp 100 ml'e saf su ile tamamlandı.

3.2 Metot

3.2.1 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanışı

Madımak ekstraksiyonu için kurutulmuş ve öğütülmüş madımak bitkisi örneklerinden kapaklı cam şişe içerisine 50 g tartım alındı. Her 50 gramlık madımak örneğinin üzerine 750 ml %80'lik etanol çözeltisi eklendi (katı-sıvı oranı 1:15). Örnekler 3 dakika boyunca ultratoraks (IKA Eurostar 20) ile muamele edildi. Daha sonrasında 30°C'de 24 saat boyunca çalkalamalı su banyosunda (Wisebath Wisd) 170 rpm'de karıştırıldı. Su banyosundan alınan örnekler filtre kağıdı ile süzüldü. Süzülen örnekler 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip filtre kağıdından süzme işlemi tekrarlandı ve sıvı ekstraktlar elde edildi (Ahmad-Qasem ve ark., 2016). Elde edilen sıvı ekstrakttaki etanol rotary evaporatör (Buchi R-220 SE) yardımıyla çözücüye uygun koşullarda uçuruldu. Rotary evaporatörden alınan sıvı ekstraktları, cam petri kabına alınarak -80°C'de 24 saat boyunca dondurulmuş ve kondenser sıcaklığı $-50 \pm 1^\circ\text{C}$ olan liyofilizatör cihazında (Chris), ağızları parafilm ile kapatılıp delindikten sonra yaklaşık 120 saat süreyle kurutulmuştur (Çakmak ve ark., 2016). Sonuç olarak katı halde madımak bitkisi ekstraktları elde edildi. Elde edilen bitki ekstraktları analizlerde kullanılmak üzere -18°C'de muhafaza edildi.

3.2.2 Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Madımak ekstraktlarındaki çözünebilen toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile tayin edildi (Singleton ve Rossi, 1965). Örnekler 3 paralel olacak şekilde çalışıldı. Her tüpe 0,5 mL ekstrakt alınıp, sırasıyla 2,5 mL Folin Ciocelteau reaktifi (0,2N) ve 2 mL Na_2CO_3 (%7,5) kimyasalı eklendi. Örnekler karanlık bir ortamda, oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı ve sonrasında absorbans değerleri UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu UV-1800) kullanılarak 760 nm dalga boyunda ölçüldü. Toplam fenolik madde miktarları galik asit eşdeğeri (mg GAE/L) olarak (3.1) eşitliğine göre hesaplandı (Li vd., 2006).

$$\text{TFMM (mg GAE/L)} = [\text{Abs.} / 13,356] \times \text{Seyreltme Oranı} \quad (3.1)$$

3.2.3 Antioksidan Aktivite Tayini

3.2.3.1 DPPH Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Tayini

Madımak ekstraktlarının antioksidan aktivitesi tayini için kullanılan yöntemlerden biri DPPH radikali kullanılarak uygulanan bir yöntemidir. Bu yöntem DPPH radikalini indirgeme esasına dayanmaktadır (Singh vd., 2002). Esas alınan metoda göre her tüpe 0,1 ml örnek ve 0,1 mM 4,9 ml DPPH reaktifi eklendi. Karanlık ortamda, oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyona bırakıldı ve sonrasında UV-VIS spektrofotometre ile (Shimadzu UV-1800) ile madımak örneklerinin absorbansı 517 nm dalga boyunda ölçülmüştür. (3.2) eşitliğine göre örneklerin antioksidan aktivitesi yüzde (%) olarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ DPPH} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.2)$$

A_{kontrol} : Kontrolün absorbansı

$A_{\text{örnek}}$: Örneğin absorbansı

3.2.3.2 FRAP Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Tayini

Madımak ekstraktlarının antioksidan aktivitesi tayini için kullanılan diğer yöntem Benzie ve Strain (1996) bulduğu ve Cheng ve arkadaşlarının (2013) modifiye ettiği metoda göre yapılmıştır. Yöntem demir (III) iyonlarının indirgenme esasına dayanmaktadır. Örnekler 3 paralelli olarak çalışıldı. FRAP reaktifi analiz günü taze olarak hazırlanmıştır. Her tüpe 20 µL örnek alınıp üzerine 500 µL FRAP reaktifi eklendi. Oda sıcaklığında, karanlık bir oramda 8 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800) ile 593 nm dalga boyunda örneklerin absorbans değerleri ölçüldü. Madımak örneklerinin antioksidan kapasiteleri FRAP metoduna göre (3.3) eşitliğinden troloks eşdeğeri (TE mg/g) olarak, (3.4) eşitliğinden ise standart demir (Std FE mg/g) eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Antioksidan Akt. (mg TE/g)} = [(Abs. + 0,0116) / 35,992] \times \text{Seyreltme Oranı} \quad (3.3)$$

$$\text{Antioksidan Akt. (mg Fe}^{+2}\text{/g)} = [(Abs. - 0,1149) / 0,0019] \times \text{Seyreltme Oranı} \quad (3.4)$$

3.2.3.3 CUPRAC Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Tayini

Örneklerin antioksidan aktivitesi tayini için kullanılan bir diğer yöntem Cu^{+2} 'nin Cu^{+1} 'e indirgenmesi temeline dayanır (Apak vd., 2004). Örnekler 3 paralelli olacak şekilde çalışıldı. Her tüpe 1 mL CuCl_2 (0,01M), 1 mL Neokuproin (7,5 mM), 1 mL amonyum asetat tamponu (pH=7), 0,1 mL madımak ekstraktı ve 1 mL saf su eklenerek son hacim 4,1 mL'ye ulaştı. Tüpler oda sıcaklığında, karanlık ortamda 1 saat inkübe edildi. UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800) ile 450 nm dalga boyunda örneklerin absorbans değeri belirlendi. CUPRAC metoduna göre örneklerin antioksidan aktivitesi (3.5) eşitliğinden troloks eşdeğeri (TE mg/g) olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Antioksidan Akt. (mg TE/g)} = [(\text{Abs.} - 0,0231)/1,2067] \times \text{Seyreltme Oranı} \quad (3.5)$$

3.2.4 Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Toplam flavonoid miktarı Zhinsen ve arkadaşlarının (1999) analiz metodu kullanılarak yapıldı. Her tüpe 1 ml ekstrakt alınıp üzerine 4 ml saf su ilave edildi. Daha sonra üzerine 0,3 ml NaNO_2 çözeltisi (%5'lik) eklendi ve 5 dakikalık beklendi. 5 dakika sonunda 0,3 ml AlCl_3 çözeltisi (%10'luk) ilave edilerek karıştırıldı ve 6 dakika bekletildi. Süre sonunda 2 ml NaOH (1M) eklenip hacim 10 ml'ye saf su ile tamamlandı. UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu UV-1800) ile örneklerin absorbansı 510 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar (3.6) eşitliğine göre kateşin eşdeğeri (KAE mg/g) olarak hesaplanmıştır.

$$\text{TFM (KAE mg/g)} = [(\text{Abs.} - 0,0004)/3,0714] \times \text{Seyreltme Oranı} \quad (3.6)$$

3.2.5 Fenolik Madde Kompozisyonunun Belirlenmesi

Madımak ekstraktlarındaki fenolik madde profili HPLC-DAD cihazı ile belirlenmiştir. Standart kalibrasyon eğrileri; gallik asit, protokateşik asit, p-hidroksibenzoik asit, kafeik asit, klorojenik asit, sirinjik asit, o-kumaik asit, m-kumarik asit, p-kumarik asit, rutin, ferulik asit, mirisetin, kuersetin, kamferol ve krisin kullanılarak hazırlanmıştır.

Ekstraktlar 0,45 µm'lik membran filtren süzöldü ve HPLC (Shimadzu) ile analiz edildi. HPLC sistemi; LC-20AD pompası, SPD20A DAD dedektörü, SIL-20A HT otomatik örnekleyici, CTO-10ASVP kolon fırını, DGU-20A5R degazör ve CMB-20A sistem kontrolöründen oluşmaktadır. Ayırımlar 40° C'de Intersil® ODS C-18 ters faz kolonunda (250 mm x 4,6 mm uzunluk, 5 µm partikül büyüklüğü) gerçekleştirildi. Mobil faz olarak % 0.1 (v / v) asetik asit ile ultra saf su (solvent A) ve % 0.1 (v/v) asetik asit ile asetronitril (solvent B) kullanılmış ve gradient olarak gerçekleşmiştir. Gradient elüsyonu aşağıdaki gibidir;

% 10 B (0–2 dk), % 10–30 B (2–27 dk), % 30–90 B (27–50 dk) ve % 90-100 B (51–60 dk) ve 63 dakikada başlangıç koşullarına döndü (Uçar & Karadağ, 2019). Akış hızı 1 mL/dakikadır. Kromatogramlar 254-380 nm aralığında kaydedildi. Tanımlama ve kantitatif analiz alıkonma sürelerine ve dış standart eğrilere göre yapıldı. HPLC–DAD sonuçları µg/g ekstrakt, olarak verildi.

3.2.6 Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Madımak ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi, Törnük (2014) tarafından özetlenen yöntemle, taze mikrobiyal bakteri kültürü (*Escherichia coli* O157:H7 ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 19118 ve *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028) içeren sıvı besiyeri (Nutrient Broth) içerisinde 24 saat boyunca takip edilmesi suretiyle belirlenmiştir.

Öncelikle, stok bakteriyel kültürler, 37°C'de 24 saat süreyle Nutrient Broth içerisinde peş peşe 2 kez aktifleştirilmiştir. Aktifleştirilen bakteriler 6 mL steril besiyeri içerisine $\sim 10^{6-7}$ kob/mL düzeyinde inoküle edilmiş ve üzerine %0,5, %1 ve %2 oranında madımak ekstraktı ilave edilmiştir. Sıvı besiyeri 1 dakika vorteks ile karıştırılarak ekstraktın besiyeri içerisine iyice disperse olması sağlanmıştır. Ardından mikroorganizma ve ekstrakt içeren sıvı besiyerlerinden inkübasyonun başlangıcı ve sonunda (0. ve 24. saatlerde) örnekler alınmıştır. Örneklerin peptonlu su (Merck, Almanya) çözeltisi ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır.

Bu seri dilüsyonlardan Nutrient Agar'a yayma ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonucunda gelişen koloniler plak sayma yöntemine göre sayılmıştır. Koloni sayıları logaritmik değerlere çevrilmiş ve sonuçlar log kob/mL olarak ifade edilmiştir. Ayrıca madımak ilaveli örneklerin seçilen patojen mikroorganizmalara karşı gelişim inhibisyon değerleri ise yüzde olarak (3.7) eşitliğinden hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(P_K - P_0) / P_K] \times 100 \quad (3.7)$$

P_K : Kontrolün popülasyonu (log kob/mL)

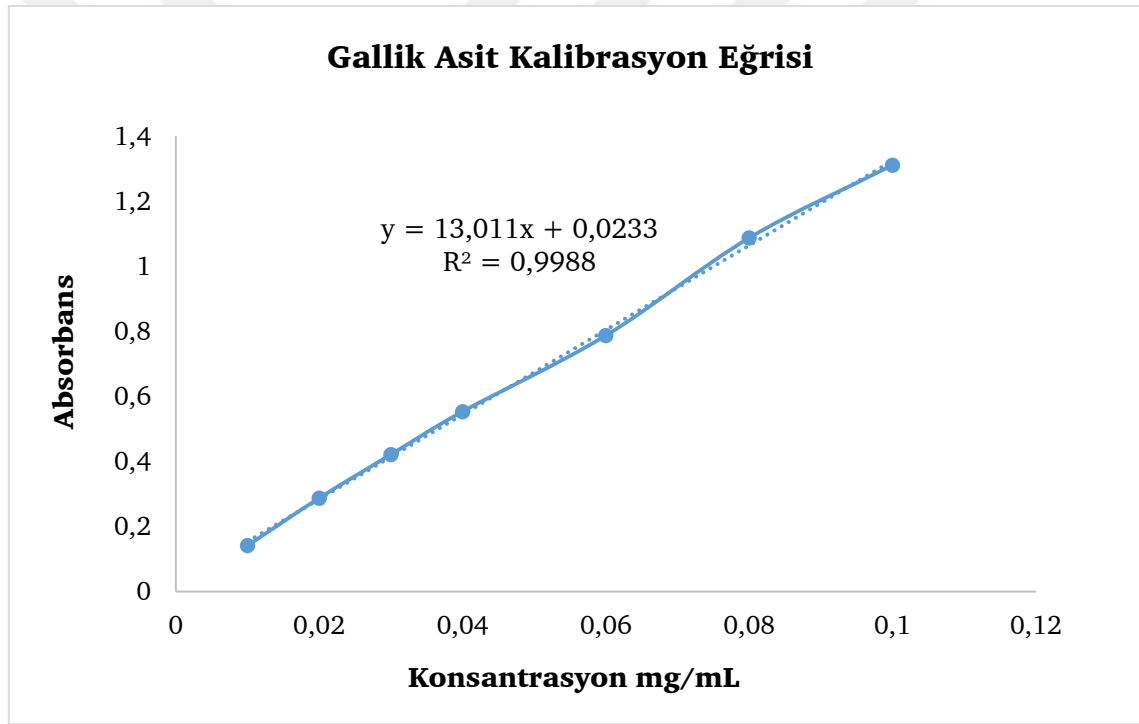
P_0 : Örneğin popülasyonu (log kob/mL)

3.2.7 İstatistiksel Analizler

Analizlerden elde edilen verilerin karşılaştırılması için istatistiksel analiz programı SPSS Statistics 22.0 kullanılmıştır ve varyans analizi (ANOVA) yapılarak değerlendirilmiştir. Ortalamaların arasındaki önemli fark ise ($p < 0,05$) %95 güven aralığında Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak analiz edilmiştir. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir. Ekstraksiyon üç tekerrürlü yapılmış ve tüm analizler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

4.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı

Toplam fenolik madde miktarı tayini (TFMM) sonuçları gallik asit eşdeğeri olarak (GAE) hesaplanmaktadır. Bu yüzden öncelikle gallik asidin kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Gallik asit kalibrasyon eğrisinin çizilmesinde 10-100 ppm aralığında gallik asit standart çözeltileri kullanılmıştır. Gallik asidin kalibrasyon eğrisi Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



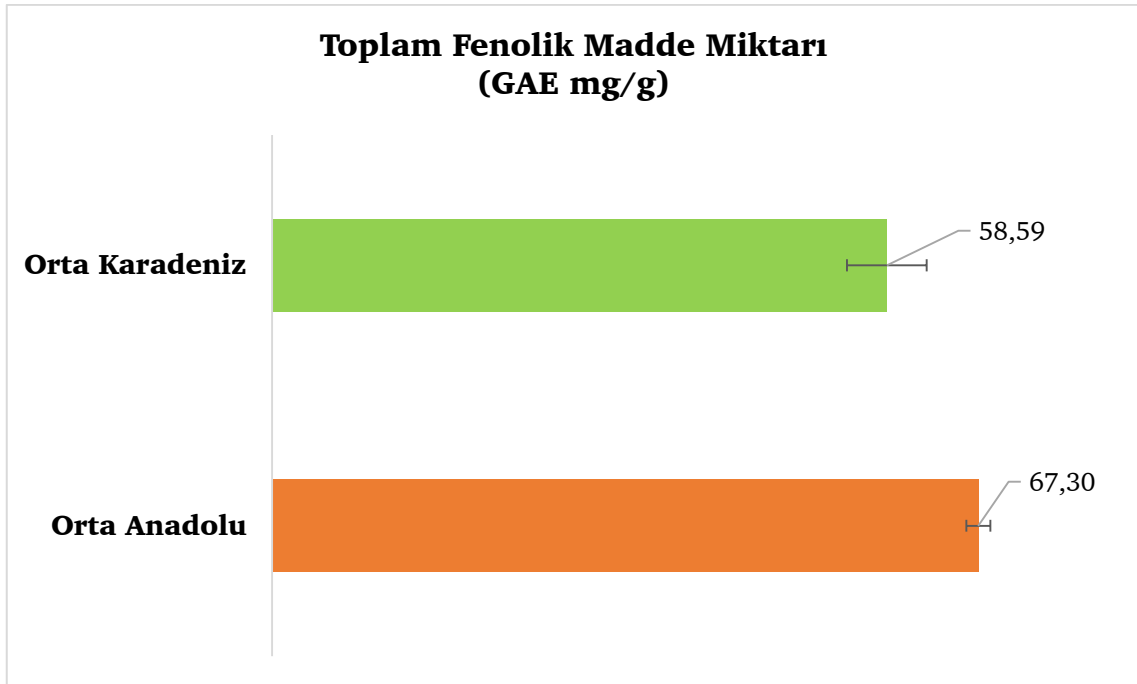
Şekil 4.1 Gallik asit kalibrasyon eğrisi

Madımak örneklerinin toplam fenolik madde miktarı, gallik asit kalibrasyon eğrisi kullanılarak gallik asit eşdeğeri (GAE mg/g) olarak kalibrasyon denkleminde hesaplanmıştır. Farklı bölgelerden toplanan madımak örneklerinin toplam fenolik madde miktarları Tablo 4.1’de verilmiş olup, Şekil 4.2’de karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.1 Madımak ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları

	Toplam Fenolik Madde Miktarı (GAE mg/g)
Orta Anadolu Madımak Örneği	67,30±1,14 ^b
Orta Karadeniz Madımak Örneği	58,59±3,80 ^a

a-b: Farklı harfler, aynı sütundaki veriler arasında farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (p<0,05)



Şekil 4.2 Madımak ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları

Her iki madımak türü de fenolik madde miktarı bakımından zengin bir içeriğe sahiptir, fakat farklı bölgelerin madımak örnekleri arasında istatistiksel olarak (p<0,05) anlamlı bir fark bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı Orta Anadolu madımak örneğinde 67,30 mg GAE/g, Orta Karadeniz madımak örneğinde ise 58,59 mg GAE/g hesaplanmıştır. Bu durumda Orta Anadolu bölgesinde yetişen madımak bitkisinin toplam fenolik madde miktarının Orta Karadeniz bölgesinde yetişene göre daha fazla olduğu istatistiksel olarak belirlenmiştir.

Eruygur ve ark. (2020) yaptıkları araştırmada Sivas ilinden toplanan madımak bitkisinin etanol ekstraktındaki toplam fenolik madde miktarını 31.59 mg GAE/g olarak hesaplanmıştır. Murathan (2018) ise araştırmasında Ardahan ilinden toplanan madımak bitkisinin metanol ekstraktının toplam fenolik madde miktarını 223,6 mg GAE/100g olarak belirlemiştir. Pekdemir ve ark. Çalışmalarında (2020) Elazığ'dan temin edilen madımak bitkilerinin farklı çözücü ekstraktlarının incelemiş ve etanol çözücüsündeki madımak ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarını 19,26+1,36 mg GAE/g olarak hesaplamıştır. Bu çalışmada kullanılan Orta Karadeniz ve Orta Anadolu bölgesinden tedarik edilen madımak bitkisi örneklerinin etanol çözücüsündeki ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları Eruygur ve ark.(2020), Murathan(2018) ve Pekdemir ve ark.(2020) yaptıkları çalışmalarda elde ettiği sonuçlardan daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın en önemli sebebi madımak bitkisi örneklerinin farklı illerden temin edilmiş olmasıdır. Bitkinin yetiştiği yerin coğrafi ve iklimsel koşulları bitkinin içerdiği fenolik bileşen miktarını da etkilemektedir.

4.2 Antioksidan Aktivite

Bitkilerin antioksidan kapasitesini ölçmek için birçok yöntem geliştirilmiş ve kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden elektron transferine dayananları antioksidanın oksidasyonu indirgeme yeteneğine bağlıdır. Bu çalışmada antioksidan aktiviteyi belirlemek için 3 farklı elektron transferine dayanan metot kullanılmıştır. Bunun sebebi her yöntemin farklı bir iyonun indirgenme potansiyelini esas almasıdır. Bundan dolayı birden fazla metot uygulayarak antioksidan kapasitenin belirlenmesinin daha doğru olduğu düşünülmüştür.

4.2.1 DPPH Yöntemi ile Belirlenen Antioksidan Aktivite

Farklı bölgelerden toplanan madımak örneklerinin DPPH metoduna göre belirlenen antioksidan aktivite değerleri yüzde (%) olarak hesaplanmış olup değerler Tablo 4.2'de verilmiş, Şekil 4.3'te karşılaştırılmıştır.

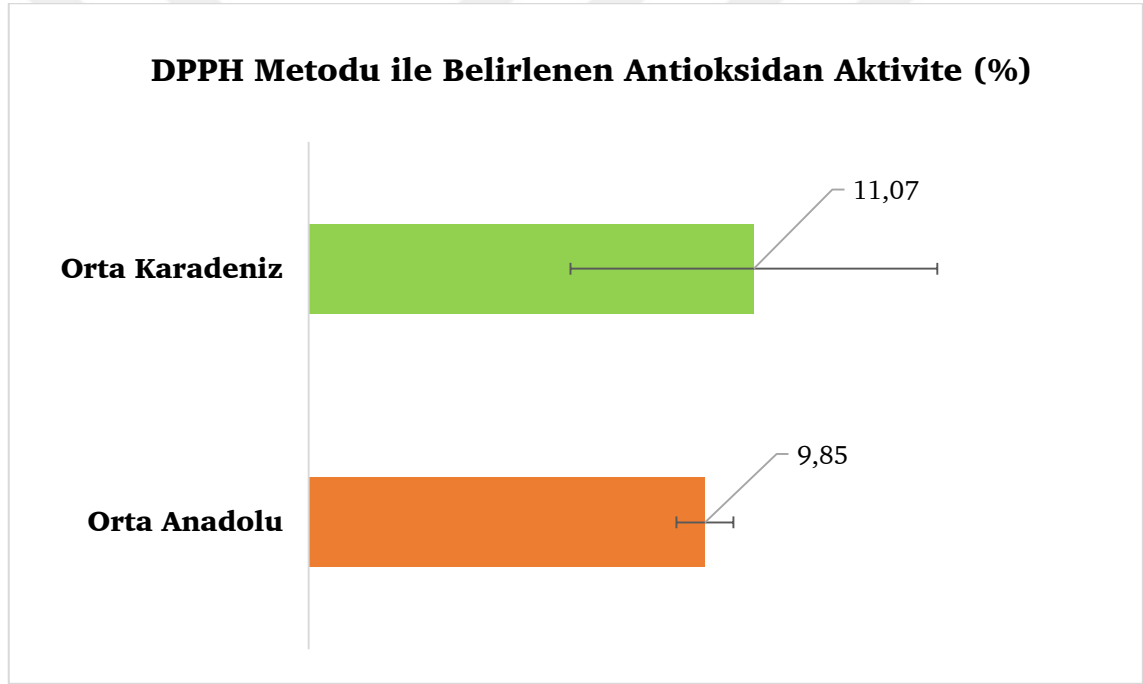
Orta Anadolu madımak örneğinin antioksidan aktivitesi DPPH metoduna göre %9,85, Orta Karadeniz madımak örneğinin ise %11,07 hesaplanmıştır. Her iki madımak türünün antioksidan aktivite değerleri arasında istatistiksel olarak

anlamalı bir fark ($p<0,05$) bulunmuş olup Orta Karadeniz bölgesinden temin edilen madımak bitkisinin antioksidan aktivitesinin Orta Anadolu bölgesinden temin edilene göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.2 Madımak ekstraktlarının DPPH yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivitesi

	Antioksidan Aktivite (%)
Orta Anadolu Madımak Örneği	$9,85 \pm 0,71^a$
Orta Karadeniz Madımak Örneği	$11,07 \pm 4,56^b$

a-b: Farklı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$)



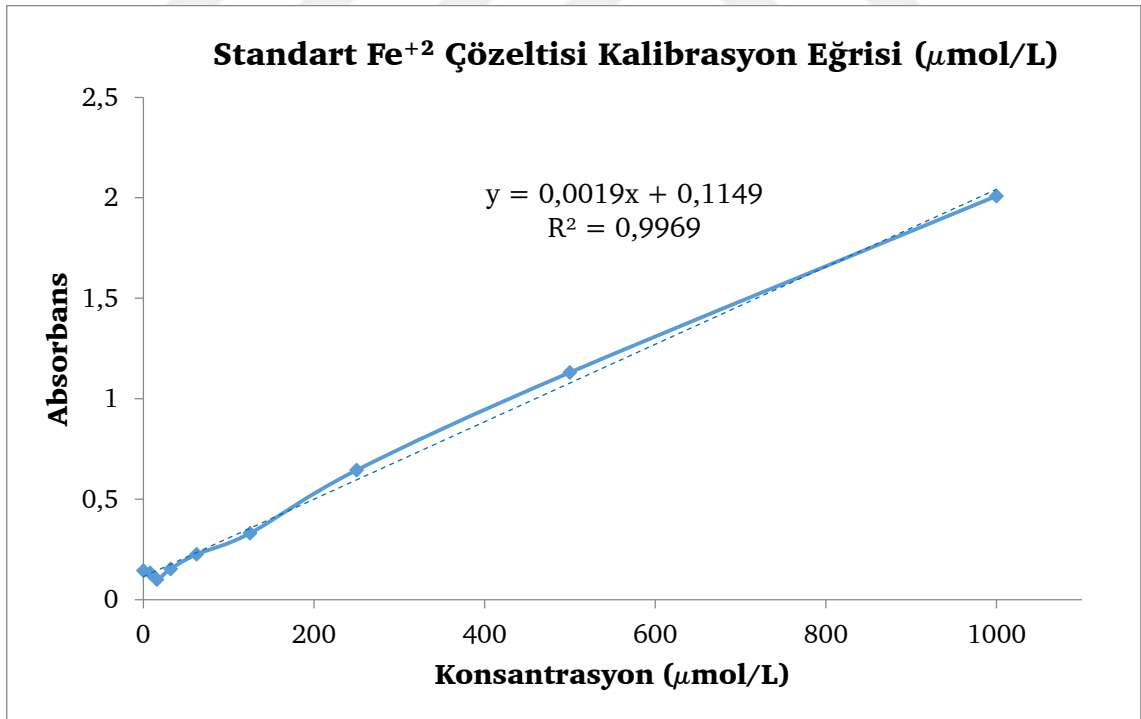
Şekil 4.3 Madımak ekstraktlarının DPPH metodu ile belirlenen antioksidan aktivitesi

Yıldırım ve ark. (2003) yaptıkları araştırmada Sivas ilinin madımak örneklerinin su ve etanol ekstraktlarında DPPH metoduna göre antioksidan aktivitesini sırasıyla %50 ve %12 olarak belirlemiştir. Murathan (2018) araştırmasında Ardahan ilindeki madımak bitkisinin metanol ekstraktının antioksidan aktivitesini DPPH metoduna göre %46,2 olarak bulmuştur. Literatür çalışmalarındaki madımak bitkisinin DPPH metoduna göre hesaplanan antioksidan aktivite değerlerinin

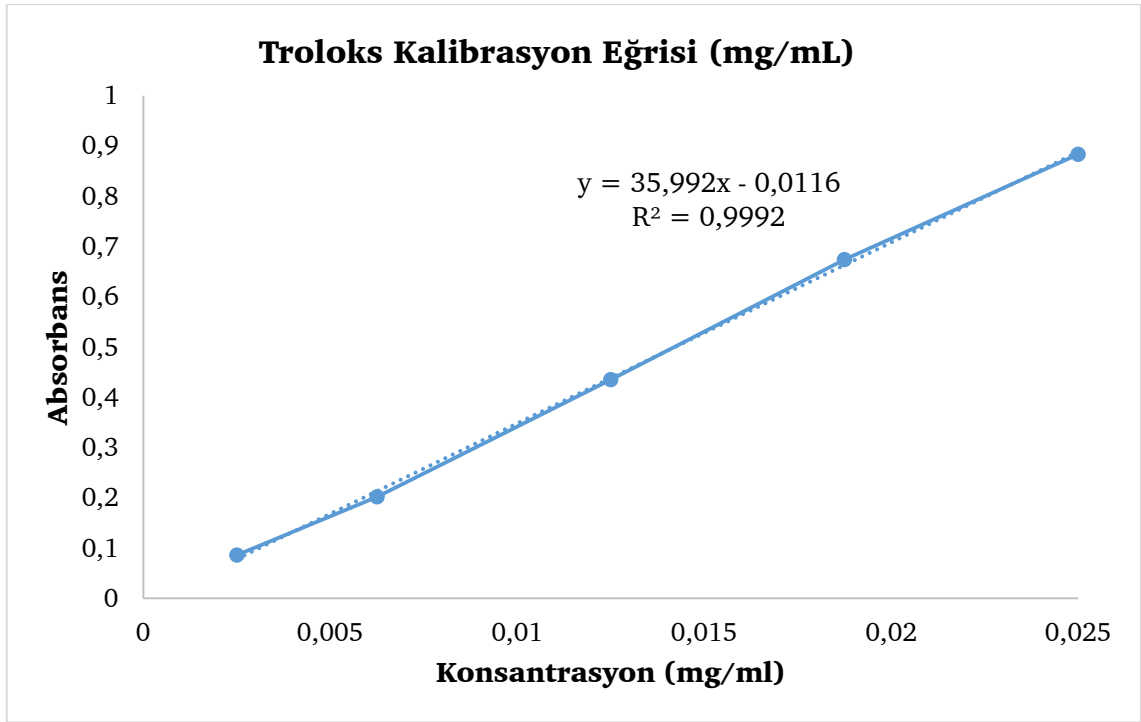
ekstraktların çözücüsüne bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir. Su ve metanol ile ekstrakte edilen örnekler etanol ile ekstrakte edilene göre daha yüksek DPPH metoduyla belirlenmiş antioksidan aktivite göstermişlerdir. Bu çalışmada ise madımak bitkilerinin etanol ekstraktlarının DPPH metoduyla belirlenen antioksidan aktivite değeri, literatürdeki değerlere yakın olsa da bir miktar daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın sebebi bitkinin yetiştiği toprak yapısı ve iklim şartlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca bitki ekstraktlarının eldesi için kullanılan ekstraksiyon yöntemleri de bitki içeriğindeki antioksidan bileşen miktarını etkileyen başlıca diğer faktördür.

4.2.2 FRAP Yöntemi ile Belirlenen Antioksidan Aktivite

FRAP yöntemi ile antioksidan aktivitesi tayininde sonuçlar standart demir cinsinden ya da troloks cinsinden hesaplanmaktadır. Bu amaçla öncelikle 0-1000 $\mu\text{mol/l}$ konsantrasyon aralığında standart demir çözeltisi kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 4.4). Daha sonra ise 2,5-25 ppm konsantrasyon aralığında troloks kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.4 Standart demir çözeltisi kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.5 FRAP için troloks kalibrasyon eğrisi

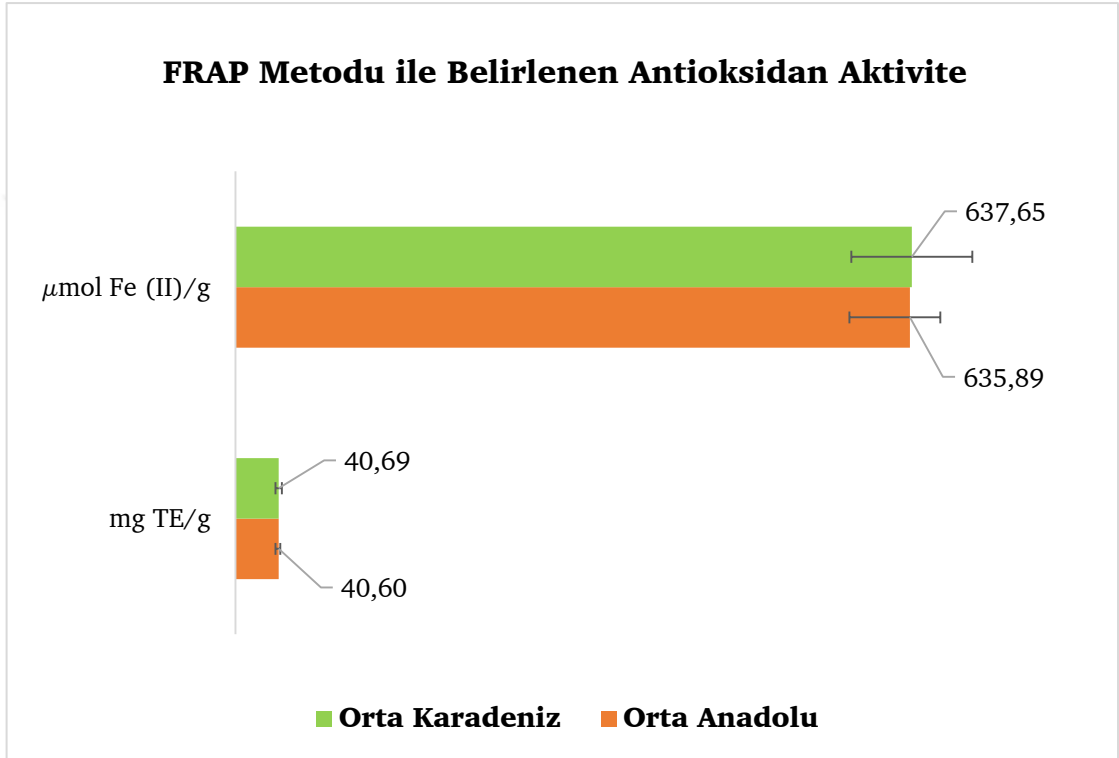
Madımak örneklerinin konsantrasyonu kalibrasyon eğrilerinin içinde kalacak şekilde belirlenmiştir. FRAP metoduna göre antioksidan aktivite değerleri kalibrasyon denklemlerinden hesaplanarak sonuçlar Tablo 4.3'te verilmiş olup Şekil 4.6'de karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.3 Madımak ekstraktlarının FRAP yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivitesi

	Antioksidan Aktivite (mg TE/g)	Antioksidan Aktivite (μ mol Fe (II)/g)
Orta Anadolu Madımak Örneği	40,60 $\pm$ 1,51 ^a	635,89 $\pm$ 28,62 ^a
Orta Karadeniz Madımak Örneği	40,69 $\pm$ 3,02 ^a	637,65 $\pm$ 57,14 ^a

a: Aynı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını göstermektedir ($p > 0,05$)

Orta Anadolu madımak örneğinin FRAP metoduyla tayin edilen antioksidan aktivitesi 40,60 mg TE/g ve 635,89 $\mu\text{mol Fe (II)}/\text{g}$, Orta Karadeniz madımak örneğinin ise 40,69 mg TE/g ve 637,65 $\mu\text{mol Fe (II)}/\text{g}$ olarak hesaplanmış olup her iki madımak türünün FRAP metoduna göre antioksidan aktivite değerleri arasında istatistiksel anlamda önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Bu durumun her iki bölgenin madımak örneklerinin içeriğindeki demir iyonu miktarlarının benzer olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



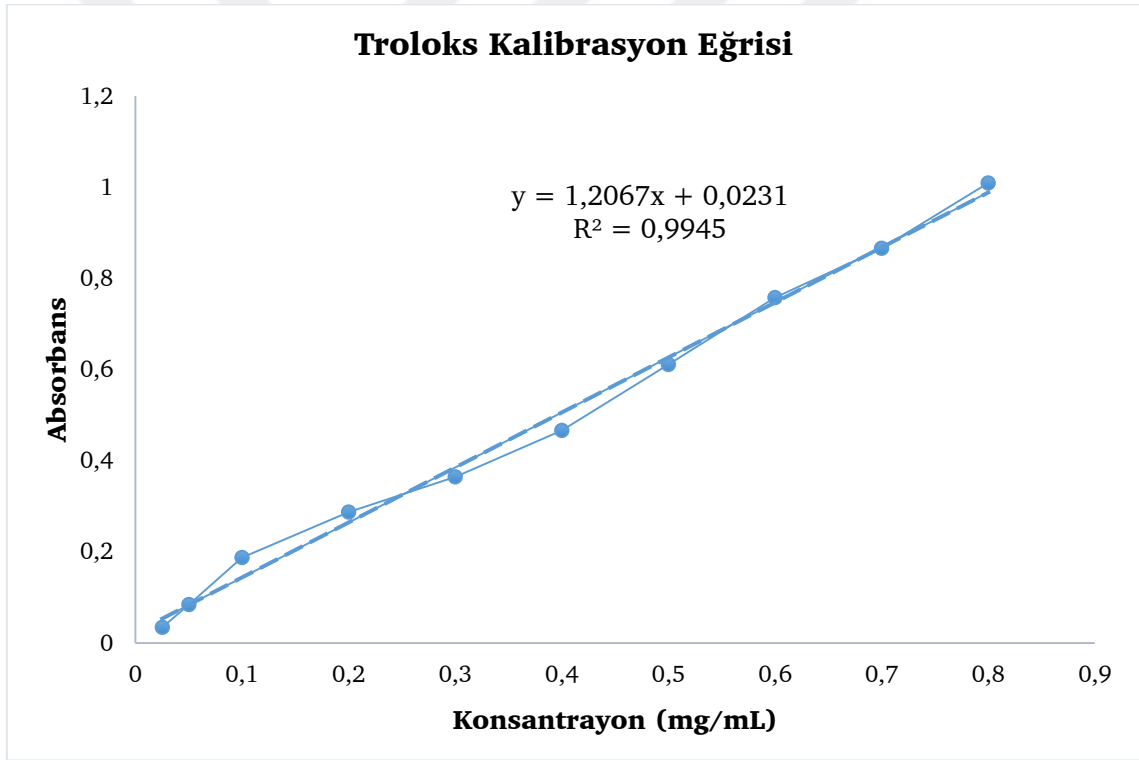
Şekil 4.6 Madımak ekstraktlarının FRAP metodu ile belirlenen antioksidan aktivitesi

Murathan (2018) yaptığı çalışmada Ardahan’da yetişen madımak bitkisinin metanol ekstraktında FRAP yöntemiyle antioksidan aktivitesini belirlemiş ve 602,3 $\mu\text{mol Fe(II)}/\text{g}$ olarak hesaplamıştır. Murathan (2018)’ın yaptığı çalışmada elde ettiği sonuçların bu çalışmadaki değerlerden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığın en önemli sebeplerinden biri ekstraksiyonda kullanılan çözücünün farklı olmasıdır. Aynı zamanda madımak bitkilerinin yetiştiği bölgelerin farklı olması da antioksidan miktarında farklılıklara sebep olmaktadır.

Yolcu (2010) ise yaptığı çalışmasında kuşburnu meyvesinin FRAP metoduyla belirlenen antioksidan aktivitesi değerini su ekstraktında $387,55 \pm 24,33 \mu\text{mol Fe(II)/g}$, metil alkol ekstraktında ise $229,11 \pm 41,06 \mu\text{mol Fe(II)/g}$ olarak hesaplamıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Yolcu (2010)'nun yaptığı çalışmada elde ettiği sonuçlardan farklı olmasının sebebi ise farklı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin farklılık göstermesine dayanmaktadır.

4.2.3 CUPRAC Yöntemi ile Belirlenen Antioksidan Aktivite

CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivitesi tayini sonuçları troloks eşdeğeri (TE mg/L) olarak hesaplanmaktadır. Buradan hareketle öncelikle Cu (II) reaktifi ile troloks kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 4.7). Kalibrasyon eğrisi çiziminde 25-800 ppm aralığındaki troloks çözeltileri kullanılmıştır.



Şekil 4.7 CUPRAC için troloks kalibrasyon eğrisi

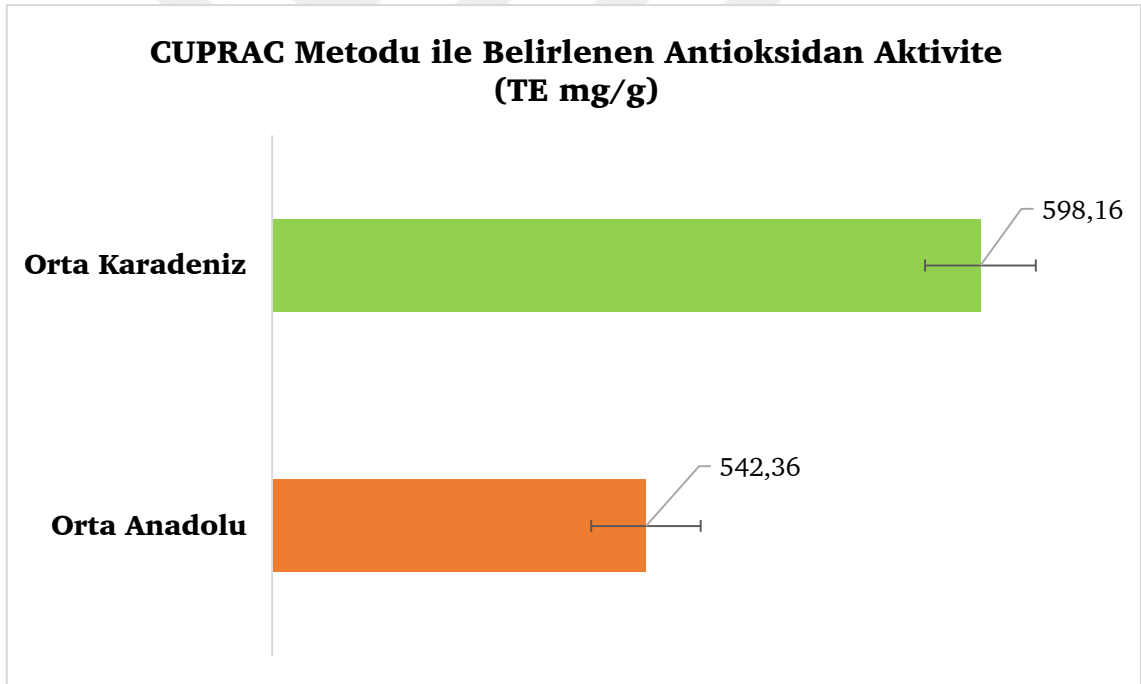
Madımak örneklerinin CUPRAC metoduna göre antioksidan aktivite değerleri kalibrasyon denkleminde hesaplanmış ve Tablo 4.4'te verilmiştir, Şekil 4.8'da karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.4 Madımak ekstraktlarının CUPRAC yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivitesi

	Antioksidan Aktivite (TE mg/g)
Orta Anadolu Madımak Örneği	542,36±9,13 ^a
Orta Karadeniz Madımak Örneği	598,16±9,23 ^b

a-b: Farklı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$)

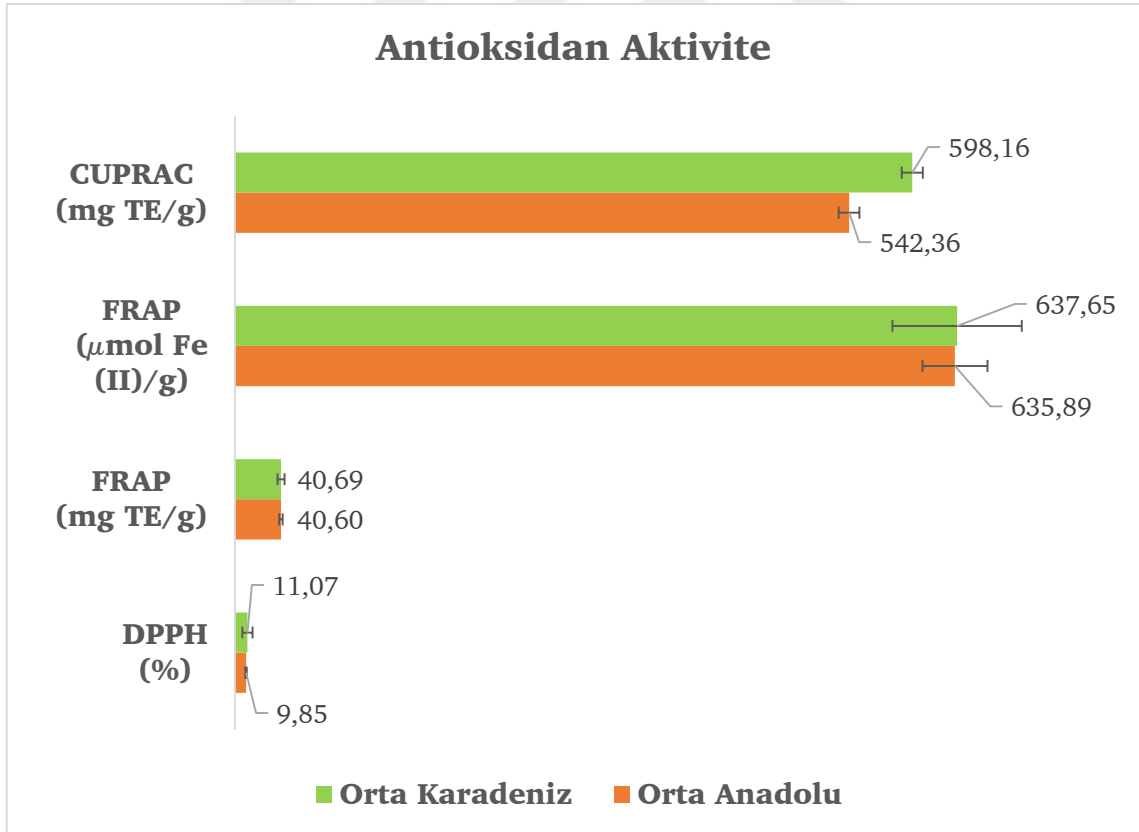
CUPRAC metodu ile yapılan antioksidan aktivitesi değeri her iki bölgenin madımak örnekleri için karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Orta Anadolu madımak örneğinin antioksidan aktivitesi CUPRAC metoduna göre 542,36 mg TE/g hesaplanırken, Orta Karadeniz madımak örneğinin ise 598,16 mg TE/g olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.8 Madımak ekstraktlarının CUPRAC metodu ile belirlenen antioksidan aktivitesi

Literatürdeki madımak ile yapılan çalışmalar incelendiğinde madımak bitkisinin antioksidan aktivite değeri için CUPRAC metodunun daha önce hiç kullanılmadığı tespit edilmiştir. Yıldız (2007) yaptığı tez çalışmasında çeşitli bitkilerin çeşitli çözeltilerdeki ekstraktlarının antioksidan kapasitesi değerlerinin CUPRAC

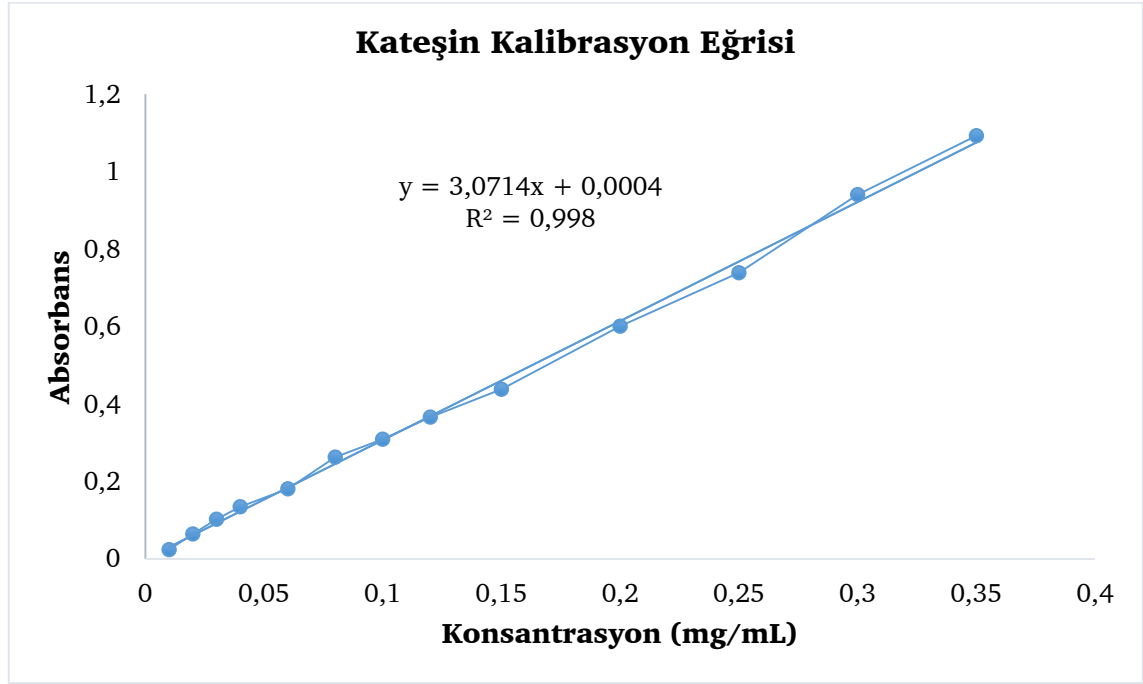
metoduyla tayin etmiştir. Maydanoz bitkisinin %100, %70 ve %50 metanol; %100 su, %100, %70 ve %50 etanol; %100, %70 ve %50 aseton çözeltilerindeki ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri sırasıyla; 0,112 mmol TE/g, 0,079 mmol TE/g, 0,059 mmol TE/g, 0,054 mmol TE/g, 0,087 mmol TE/g, 0,113 mmol TE/g, 0,089 mmol TE/g, 0,068 mmol TE/g, 0,131 mmol TE/g, 0,093 mmol TE/g olarak belirlenmiştir. Isırgan otu, adaçayı, ıhlamur, aslanpençesi, dereotu, civanperçemi, mercanköşk, kekik ve nane bitkilerinin %70 metanol çözeltisindeki ekstraktının antioksidan kapasiteleri sırasıyla 0,097 mmol TE/g, 0,526 mmol TE/g, 0,734 mmol TE/g, 1,520 mmol TE/g, 0,129 mmol TE/g, 0,300 mmol TE/g, 0,640 mmol TE/g, 1,100 mmol TE/g ve 0,402 mmol TE/g olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların, Yıldız (2007)'ın çalışmasında elde ettiği sonuçlardan farklı olmasının sebebi farklı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin farklılık göstermesidir. Antioksidan aktiviteyi belirlemek için yapılan üç farklı metodun sonuçlarının bir arada karşılaştırılması amacıyla oluşturulan grafik Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.9 Madımak ekstraktlarının yapılan tüm metotlar ile belirlenen antioksidan aktivitelerinin kıyaslanması

4.3 Toplam Flavonoid Madde Miktarı

Toplam flavonoid miktarı tayininde sonuçlar kateşin eşdeğeri (KAE mg/L) olarak hesaplanmış olup bu amaçla öncelikle kateşin kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Kalibrasyon eğrisi çizilirken 10-350 ppm aralığındaki kateşin standart çözeltileri kullanılmıştır. Kateşin kalibrasyon eğrisi Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4.10 Kateşin kalibrasyon eğrisi

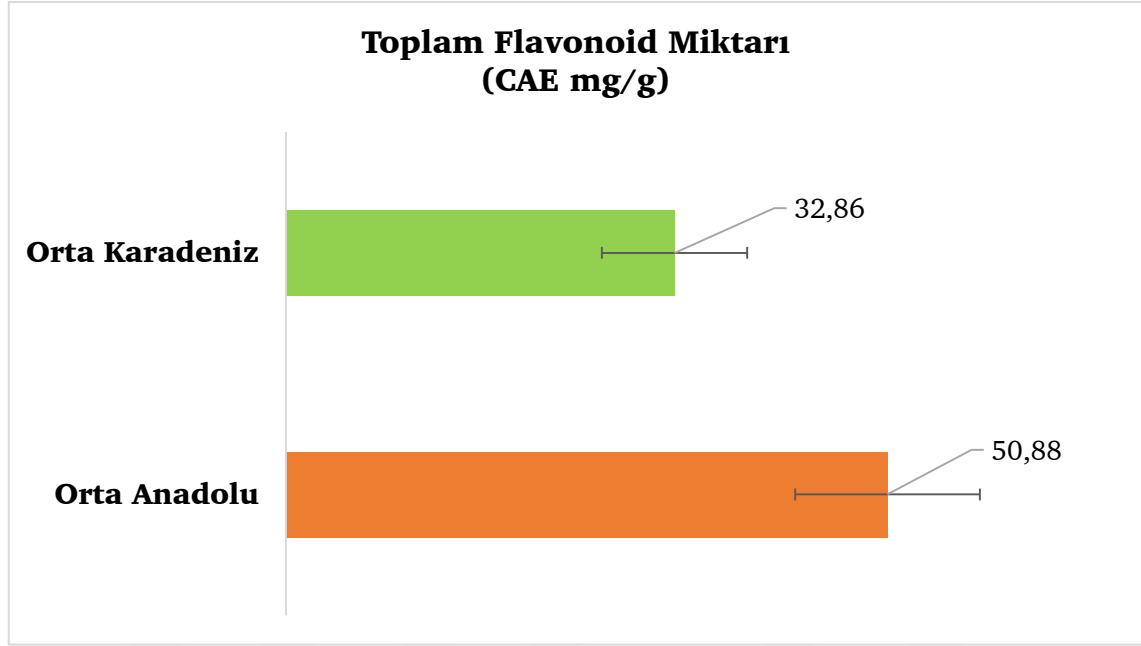
Madımak örneklerinin konsantrasyonu kalibrasyon eğrisi içinde kalacak şekilde belirlenmiş olup toplam flavonoid madde miktarları kalibrasyon denkleminde hesaplanarak Tablo 4.5'te gösterilmiş, Şekil 4.11'de karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.5 Madımak ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarı

	Toplam Flavonoid Madde Miktarı (KAE mg/g)
Orta Anadolu Madımak Örneği	50,88±7,82 ^b
Orta Karadeniz Madımak Örneği	32,86±6,15 ^a

a-b: Farklı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$)

Toplam flavonoid madde miktarı Orta Anadolu madımak örneğinde 50,88 mg KAE/g, Orta Karadeniz madımak örneğinde 32,86 mg KAE/g olarak hesaplanmış olup Orta Anadolu’da yetişen madımak bitkisinin toplam flavonoid madde miktarının Orta Karadeniz’de yetişen madımak bitkisinden istatistiksel olarak ($p<0,05$) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.11 Madımak ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarı

Murathan (2018) yaptığı araştırmasında Ardahan’dan toplanan madımağların metanol ekstraktında toplam flavonoid miktarını 26,17 mg/100 g olarak hesaplamıştır. Eruygur ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada Sivas ilinden temin edilen madımak bitkisinin etanol ekstraktında toplam flavonoid madde miktarını 12,36 mg KAE/g olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada incelenen Orta Karadeniz ve Orta Anadolu bölgesinden toplanan madımak bitkilerinin etanol çözücüsündeki ekstraktlarının toplam flavonoid miktarlarının hem Murathan (2018) hem de Eruygur ve ark. (2020) yaptıkları çalışmalarda elde ettikleri toplam flavonoid miktarlarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığın başlıca sebepleri; bitkinin yetiştirildiği toprak yapısı ve özellikleri, yetiştiği bölgenin iklimi ve yağış miktarı, ekstraksiyon yöntemindeki farklılıklar ve çözücünün cinsidir. Bu faktörlere bağlı olarak bitkinin içerdiği flavonoid madde miktarı değişkenlik gösterebilmektedir.

4.4 Fenolik Madde Kompozisyonu

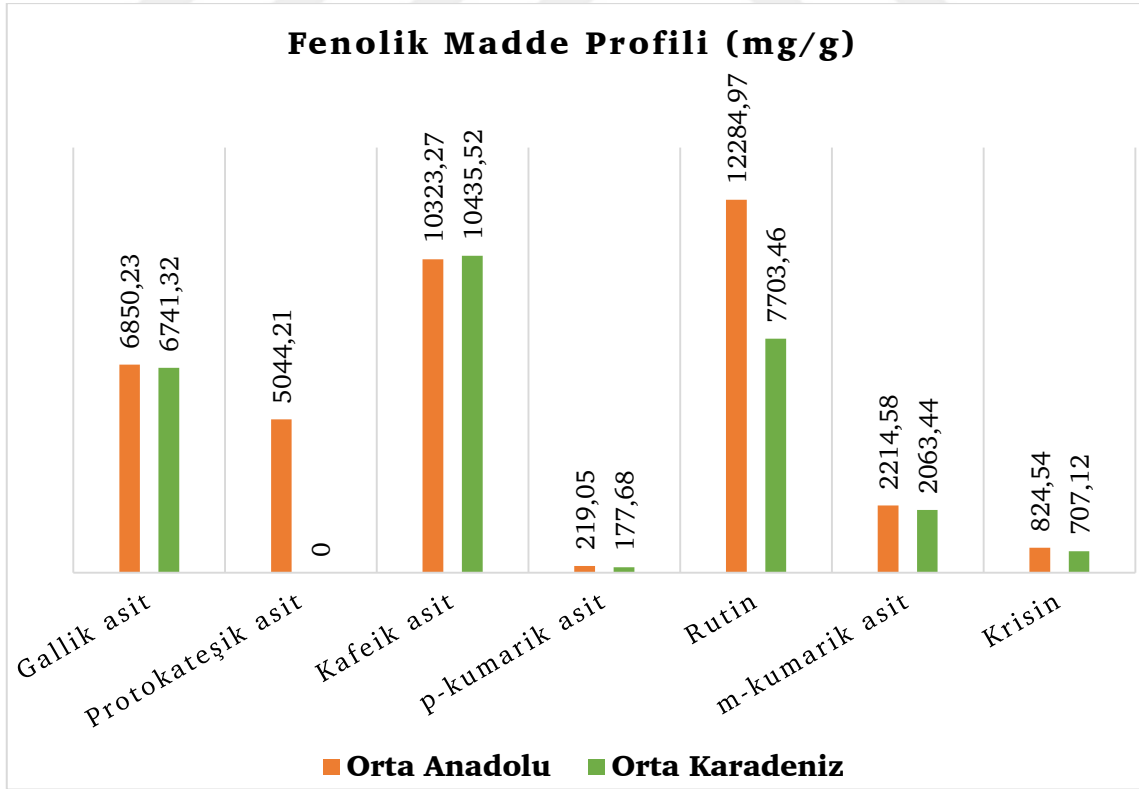
Her iki bölgenin de madımak örneklerinin detaylı fenolik madde profilleri Tablo 4.6'da verilmiş, Şekil 4.12'de karşılaştırılmıştır. Fenolik madde kompozisyonu genel olarak incelendiğinde toplam fenolik madde miktarını doğrular şekilde belirlenmiş olup Orta Anadolu'da yetişen madımak bitkisinden istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur. Fenolik bileşikler detaylı incelendiğinde ise örneklerin fenol profillerinin farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Rutin Orta Anadolu bölgesinde kafeik asit ise Orta Karadeniz bölgesindeki madımak bitkilerinde bulunan majör fenolik bileşenler olarak tespit edilmiştir. P-kumarik asit ise her iki bölgenin madımak bitkisinin ekstraktlarında minör fenolik bileşik olarak tespit edilmiştir. Protokateşik asit fenolik bileşeni ise Orta Anadolu'da yetişen madımak bitkisinde bulunup, Orta Karadeniz'de yetişen madımak bitkisinde tespit edilememiştir. P-hidroksibenzoik asit, sirinjik asit, ferulik asit, o-kumaik asit, mirisetin, kuersetin ve kamferol fenolik bileşenleri ise her iki bölgenin madımak örneklerinde tespit edilememişlerdir.

Tablo 4.6 Madımak ekstraktlarının fenolik madde kompozisyonu

Fenolik Madde	Orta Anadolu Madımak Örneği		Orta Karadeniz Madımak Örneği	
	Alıkonma zamanı	Konsantrasyon (mg/g)	Alıkonma zamanı	Konsantrasyon (mg/g)
Gallik asit	6,64	6850,23 ^e	6,29	6741,32 ^d
Protokateşik asit	9,36	5044,21 ^d	T.E.	T.E
p-hidroksibenzoik asit	13,72	T.E	13,00	T.E
Kafeik asit	15,27	10323,27 ^f	15,27	10435,52 ^f
Sirinjik asit	15,58	T.E	T.E	T.E
p-kumarik asit	19,69	219,05 ^a	20,19	177,68 ^a
Rutin	21,01	12284,97 ^g	20,19	7703,46 ^e
Ferulik asit	22,05	T.E	22,06	T.E
m-kumarik asit	22,96	2214,58 ^c	24,62	2063,44 ^c
o-kumaik asit	T.E	T.E	T.E	T.E
Mirisetin	T.E	T.E	T.E	T.E
Kuersetin	T.E	T.E	T.E	T.E
Kamferol	T.E	T.E	T.E	T.E
Krisin	41,82	824,54 ^b	41,82	707,12 ^b

T.E: Tespit edilemedi. a-g: Farklı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$).

Literatürde yapılan araştırmalarda madımak bitkisinin fenolik madde profili incelemeleri sonucunda madımak bitkisinden tespit edilen bazı bileşikler ise şu şekildedir; krizin, p-hidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asit, kamferol-3-metil eter, kamferol-3-glukozid, kuersetin-3-metil eter (izorhamnetin), kuersetin-3-glukozid (izokuersetin), kuersetin-3-rutinozid (rutin) ve protokateşik asit (Üçer, 2010; Ulubelen, Tan & Üçer; 1992). Bu tez çalışmasında araştırılan Orta Karadeniz ve Orta Anadolu bölgesinden toplanan madımak bitkisi örneklerinde tespit edilemeyen kamferol, kuersetin fenolik bileşenleri literatürdeki başka madımak örneklerinde tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu araştırmada kullanılan madımak bitkisi ekstraktlarının içeriğinde tespit edilen kafeik asit, m ve p-kumarik asit gibi fenolik bileşenlere literatürde rastlanmamıştır. Bu farklılığı oluşturan durumun madımak bitkisinin yetiştiği bölgenin iklim şartları, toprak yapısı gibi etkenlere bağlı olduğu düşünülmekte olup bu tür farklılıkların oluşması doğaldır. Aynı zamanda fenolik bileşenlerin çözünürlüğü farklı çözücüler için farklı olup, bitkinin ekstraksiyonu için kullanılan çözücünün cinsi de fenolik madde profilinin belirlenmesinde önemlidir.



Şekil 4.12 Madımak ekstraktlarının fenolik madde kompozisyonu

4.5 Antimikrobiyal Aktivite

Bu araştırmada, farklı lokasyonlardan temin edilmiş madımlardan elde edilen ekstraktlarının farklı konantrasyonlarda ilavesinin *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium'a karşı antimikrobiyal etkisi test edilmiştir.

Madımların *Listeria monocytogenes* üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri, Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7 Farklı konantrasyonlarda madımak ekstraktının *L. monocytogenes* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi (log kob/mL)

Örnekler	Süre (Saat)	
	0. Saat	24. Saat
Kontrol	6,97±0,08 ^{aA}	10,92±0,06 ^{cB}
Orta Anadolu (%0,5)	6,97±0,08 ^{aA}	7,41±0,28 ^{bB}
Orta Anadolu (%1,0)	6,97±0,08 ^{aA}	6,95±0,24 ^{bA}
Orta Anadolu (%2,0)	6,97±0,08 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}
Orta Karadeniz (%0,5)	6,97±0,08 ^{aB}	5,41±0,28 ^{bA}
Orta Karadeniz (%1,0)	6,97±0,08 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}
Orta Karadeniz (%2,0)	6,97±0,08 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}

a-e: Farklı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). Aynı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını göstermektedir ($P>0,05$).

A-B: Farklı büyük harfler, aynı satırdaki verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). Aynı büyük harfler, aynı satırdaki verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını göstermektedir ($P>0,05$).

Madımak örneklerinin antimikrobiyal aktivitesinin konantrasyona bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir. Hiçbir ekstrakt içermeyen kontrol örneklerinde 24 saat içerisinde *L. monocytogenes* sayılarında 3,95 log'luk artış meydana gelmiştir.

Her iki madımak ekstraktının da %2'lik konantrasyonu, *L. monocytogenes*'in tamamen inhibisyonunu sağlamıştır.

Orta Anadolu madımak ekstraktının %1 oranında eklenmesiyle 24. saat sonunda alınan sonuç ile 0. saat kontrol örneği arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. Başka bir deyişle Orta Anadolu madımak ekstraktının %1

oranında ilave edilmesiyle *L. monocytogenes*'in 24 saatlik inkübasyon sırasında gelişimi durdurulmuş, ancak tam olarak eliminasyon gerçekleşmemiştir.

İki madımak türü kıyaslandığında, Orta Karadeniz madımak örneğinin *L. monocytogenes*'e karşı antibakteriyel aktivitesinin Orta Anadolu madımak örneğinden daha yüksek olduğu görülmektedir.

Farklı konsantrasyonlarda madımak ekstraktı içeren örneğin *Staphylococcus aureus* üzerindeki antimikrobiyal aktivite değerleri log kob/mL olarak Tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.8 Farklı konsantrasyonlarda madımak ekstraktının *S. aureus* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi (log kob/mL)

Örnekler	Süre (Saat)	
	0. Saat	24. Saat
Kontrol	6,15±0,04 ^{aA}	10,04±0,13 ^{eB}
Orta Anadolu (%0,5)	6,15±0,04 ^{aA}	8,82±0,04 ^{dB}
Orta Anadolu (%1,0)	6,15±0,04 ^{aA}	8,21±0,14 ^{cB}
Orta Anadolu (%2,0)	6,15±0,04 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}
Orta Karadeniz (%0,5)	6,15±0,04 ^{aA}	6,28±0,05 ^{bB}
Orta Karadeniz (%1,0)	6,15±0,04 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}
Orta Karadeniz (%2,0)	6,15±0,04 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}

a-e: Farklı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). Aynı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını göstermektedir ($P>0,05$).

A-B: Farklı büyük harfler, aynı satırdaki verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). Aynı büyük harfler, aynı satırdaki verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını göstermektedir ($P>0,05$).

Tablo 4.8'de görüleceği gibi, madımak örneklerinin antimikrobiyal aktivitesi konsantrasyona bağlı olarak değişim göstermiş olup hiç ekstrakt içermeyen kontrol örneklerinde, 24 saat içerisinde *S. aureus* sayılarında 3,89 log'luk artış meydana gelmiştir.

Her iki madımak ekstraktının da %2'lik konsantrasyonu, *S. aureus*'un tamamen inhibisyonunu sağlamıştır.

Her iki madımak türü kıyaslandığında, Orta Karadeniz madımak örneğinin *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivitesinin Orta Anadolu madımak örneğinden daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Tablo 4.9’da farklı konsantrasyonda madımak bitkisi ekstraktı içeren örneklerin *Escherichia coli* O157:H7 üzerindeki antimikrobiyal aktivite değerleri log kob/mL olarak verilmiş olup madımak örneklerinin antimikrobiyal aktivitesi konsantrasyona bağlı olarak değişiklik göstermiştir.

Tablo 4.9 Farklı konsantrasyonlarda madımak ekstraktının *E. coli* O157:H7 üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi (log kob/mL)

Örnekler	Süre (Saat)	
	0. Saat	24. Saat
Kontrol	6,87±0,16 ^{aA}	10,67±0,08 ^{eB}
Orta Anadolu (%0,5)	6,87±0,16 ^{aA}	9,53±0,06 ^{dB}
Orta Anadolu (%1,0)	6,87±0,16 ^{aA}	8,00±0,10 ^{cB}
Orta Anadolu (%2,0)	6,87±0,16 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}
Orta Karadeniz (%0,5)	6,87±0,16 ^{aA}	7,08±0,16 ^{bA}
Orta Karadeniz (%1,0)	6,87±0,16 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}
Orta Karadeniz (%2,0)	6,87±0,16 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}

a-e: Farklı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). Aynı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını göstermektedir ($P>0,05$).

A-B: Farklı büyük harfler, aynı satırdaki verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). Aynı büyük harfler, aynı satırdaki verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını göstermektedir ($P>0,05$).

Hiç ekstrakt içermeyen kontrol örneklerinde 24 saat içerisinde *E. coli* O157:H7 sayılarında 3,80 log’luk artış meydana gelmiştir.

Her iki madımak ekstraktının da %2’lik konsantrasyonu, *E. coli* O157:H7’nin tamamen inhibisyonunu sağlamıştır.

Orta Karadeniz madımak ekstraktının %0,5 oranında eklenmesiyle 24. saat sonunda alınan değer ile 0. saat kontrol örneği arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Yani, Orta Karadeniz madımak ekstraktının %0,5 oranında ilave edilmesi *E. coli* O157:H7’nin 24 saatlik inkübasyon sırasında gelişimini durdurmuş, fakat tam olarak inhibisyon gerçekleştirilmemiştir.

Her iki bölgenin madımak örnekleri kıyaslandığında, Orta Karadeniz madımak örneğinin *E. coli* O157:H7’ye karşı antimikrobiyal aktivitesinin Orta Anadolu madımak örneğinden daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda madımak ekstraktı içeren örneğin *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium üzerindeki antimikrobiyal aktivite değerleri ise log kob/mL olarak Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.10 Farklı konsantrasyonlarda madımak ekstraktının *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi (log kob/mL)

Örnekler	Süre (Saat)	
	0. Saat	24. Saat
Kontrol	6,91±0,11 ^{aA}	9,94±0,31 ^{eB}
Orta Anadolu (%0,5)	6,91±0,11 ^{aA}	9,05±0,16 ^{dB}
Orta Anadolu (%1,0)	6,91±0,11 ^{aA}	8,13±0,31 ^{cB}
Orta Anadolu (%2,0)	6,91±0,11 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}
Orta Karadeniz (%0,5)	6,91±0,11 ^{aA}	6,92±0,12 ^{bA}
Orta Karadeniz (%1,0)	6,91±0,11 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}
Orta Karadeniz (%2,0)	6,91±0,11 ^{aB}	0,00±0,00 ^{aA}

a-f: Farklı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). Aynı küçük harfler, aynı sütunda verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını göstermektedir ($P>0,05$).

A-B: Farklı büyük harfler, aynı satırdaki verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). Aynı büyük harfler, aynı satırdaki verilen değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını göstermektedir ($P>0,05$).

Tablo 4.10'da belirtildiği üzere, madımak örneklerinin *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium'a karşı antimikrobiyal aktivitesi konsantrasyona bağlı olarak farklılık göstermiş olup ekstrakt içermeyen kontrol örneklerinde 24 saat içerisinde mikroorganizma sayısında 3,03 log'luk artış meydana gelmiştir.

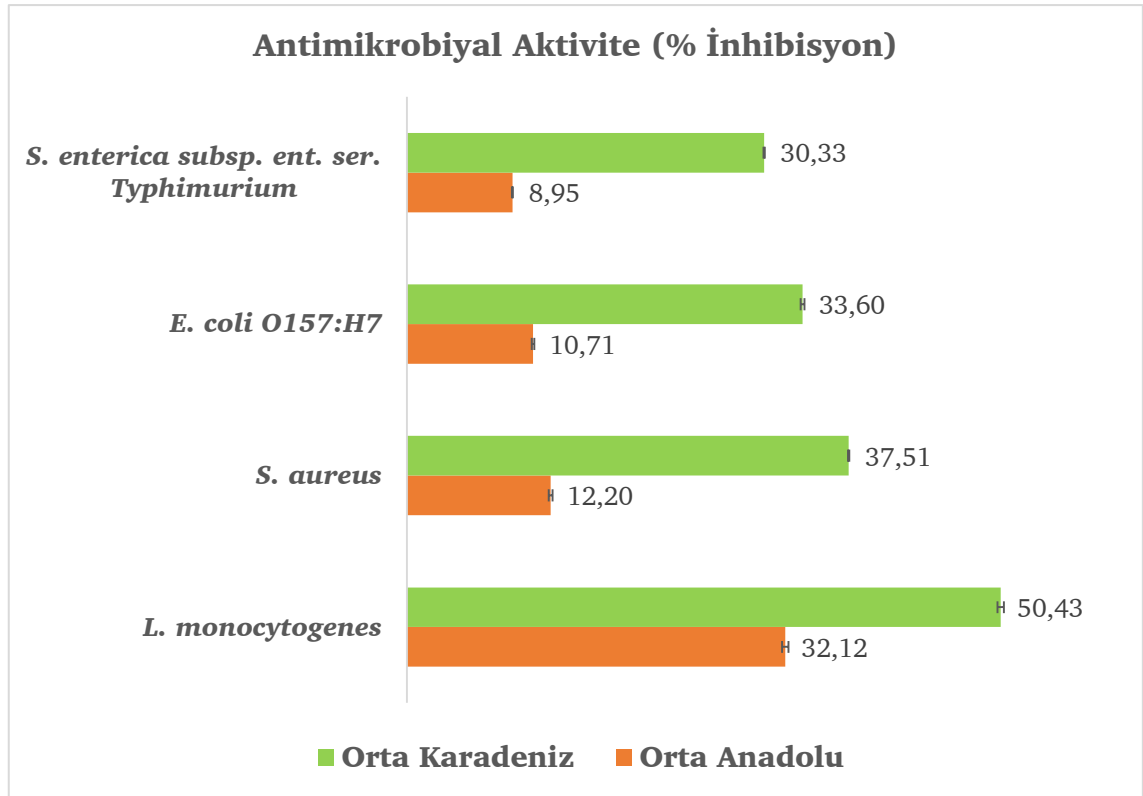
Her iki madımak ekstraktının da %2'lik konsantrasyonu, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium'un tamamen inhibisyonunu sağlamıştır.

Orta Karadeniz madımak ekstraktının %0,5 oranında eklenmesiyle 24. saat sonunda alınan değer ile 0. saat kontrol örneği arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Yani, Orta Karadeniz madımak ekstraktının %0,5 oranında ilave edilmesi *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium'un 24 saatlik inkübasyon aşamasında gelişimini durdurmuş, ancak tam olarak öldürücü etki göstermemiştir.

Her iki bölgenin madımak örnekleri kıyaslandığında ise, Orta Karadeniz madımak örneğinin *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium'a karşı antimikrobiyal

aktivitesinin Orta Anadolu madımak örneğinden daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Tüm bu sonuçlar çerçevesinde, antimikrobiyal aktivitenin inhibisyon yüzdesini karşılaştırmak için en uygun konsantrasyon miktarının %0,5 olduğuna karar verilmiştir. Madımak ekstraktının %0,5 konsantrasyonda ilave edilmesinin analiz edilen patojen mikroorganizmalara karşı inhibisyon yüzdesini nasıl değiştiği Şekil 4.13’de belirtilmiştir.



Şekil 4.13 Madımak ekstraktlarının %0,5 konsantrasyonda ilavesi ile patojen mikroorganizmaların % inhibisyon değerleri

Şekil 4.13’de de açıkça görüldüğü gibi, Orta Karadeniz’de yetişen madımağın tüm bakteri suşlarına karşı antibakteriyel aktivitesi, Orta Anadolu madımağına kıyasla daha yüksektir. Madımak ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesine karşı en dirençli mikroorganizma *Salmonella enterica subsp. enterica* serovar Typhimurium iken, onu sırasıyla *E. coli* O157:H7, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* takip etmiştir.

Analiz edilen patojen mikroorganizmaları gram boyama özelliklerine göre gruptandırdığımızda *S. aureus* ve *L. monocytogenes* gram(+), *E. coli* O157:H7 ve

S. enterica subsp. *enterica* serovar Typhimurium ise gram (-) özelliktedir. Gram negatif bakterilerin hücre zarında bulunan lipopolisakkaritlerin bakteriye seçici geçirgen bir özellik kazandırdığı ve antimikrobiyal özellik gösteren bileşenlere karşı daha dirençli hale getirdiği bilinmektedir (Nikaido & Vaara, 1985). Ayrıca gram negatif bakterilerin hücre zarı çift kat peptidoglikan tabakası içerirken gram pozitif bakterilerde ise tek kat peptidoglikan tabakası bulunur ve bu yapı çok etkili olmayan bir geçirgenlik bariyeri olarak bilinmektedir (Negi ve ark., 2005).

Bu araştırmanın sonucunda, farklı konsantrasyonlardaki madımak bitki ekstraktlarının gram (+) bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinin daha yüksek olduğu ve antimikrobiyal aktiviteye karşı gram (-) bakterilerin daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığın nedeni gram (+) ve gram (-) bakterilerin hücre duvarı bileşimi arasındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Gram (-) bakteriler seçici geçirgen olan ve antimikrobiyal maddelerin membran altındaki dokulara ulaşmasını engelleyen lipoprotein ve lipopolisakaritten oluşan kalın kompleks bir dış zara sahiptir (Alzoreky & Nakahara, 2003), bu durum gram (-) bakterileri madımak bitkisinin antimikrobiyal etkisine karşı gram (+) bakterilerden daha dirençli hale getirmiştir.

Madımak bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi, literatürde yapılan çeşitli çalışmalarda ortaya konulmuştur. Eruygur ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada Sivas ilinden toplanan madımak bitkisinin etanol ekstraktının MİK (Minimum İnibisyon Konsantrasyonu) değerleri; *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Candida albicans* için sırasıyla 0,625 mg/mL, 0,312 mg/mL, 0,156 mg/mL, >2,5 mg/mL, >2,5 mg/mL ve 2,5 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Madımak bitkisinin antimikrobiyal etkisine karşı en dirençli mikroorganizmalar *E. faecalis* ve *K. pneumoniae* iken bunları sırasıyla *C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* takip etmiştir. Madımak ekstraktının antimikrobiyal aktivitesine karşı *E. coli*'nin *S. aureus*'tan daha dirençli bir bakteri olduğunu Eruygur ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada olduğu gibi kendi çalışmamda da kanıtlamış bulunmaktayım. Yıldırım ve ark. (2003) araştırmasında Sivas'tan temin ettikleri madımakların eter ve etanol ekstraktları

antimikrobiyal etki gösterdiğini, su ekstraktının ise antimikrobiyal etki göstermediğini gözlemlemişlerdir. Eter ve etanol ekstraktlarını inhibisyon zon çapları sırasıyla *S. aureus*'a karşı 1,7 cm, 1,0 cm hesaplanırken *Bacillus subtilis*'e karşı 1,6 cm ve 0,8 cm hesaplanmıştır. Hesaplanan değerlerden de anlaşılağı üzere eter çözücüsünün, etanol çözücüsüne göre madımak bitkisine daha yüksek antimikrobiyal etki sağladığı belirlenmiştir.

Bu çalışmadaki tüm analizlerde madımak bitkisinin genel olarak yetiştiğı iki bölge olan Orta Karadeniz ve Orta Anadolu bölgeleri kıyaslanmıştır. Analizler sonucunda belirlenen farklılıklar lokasyonlardaki bazı özelliklerden kaynaklandığı belirlenmiştir.

Bir bitkinin gelişimi, içerdiği vitamin, enzim, genetik yapı gibi bitkisel faktörlere; hastalık, zararlılar gibi biyotik faktörlere; sıcaklık, yağış, güneşlenme süresi, nem, atmosferik gaz yoğunluğu gibi iklimsel faktörlere; yükseklik, basınç, toprak yapısı, topraktaki mineral madde miktarı gibi yer şekillerine bağı faktörlere bağıdır (Kacar, Katkat & Öztürk, 2013). Bu faktörler coğrafi bölgeler arasında farklılık gösterdiği için Orta Anadolu ve Orta Karadeniz bölgelerinde yetişen madımak bitkilerinin içeriklerinin de farklılık göstermesi olağandır. Orta Karadeniz bölgesinin yıllık yağış miktarı Orta Anadolu bölgesine kıyasla daha fazla olup, bölge yüksekliği ve gece ve gündüz arasındaki sıcaklık farkı daha düşüktür. Ayrıca Orta Karadeniz bölgesinin iklimi Orta Anadolu bölgesine nazaran daha ılımandır (Akengin & Dölek, 2019). Bu durumlardan dolayı Orta Karadeniz bölgesinin toprak verimliliği endemik yenilebilen yabani bitkilerin yetişmesi için daha elverişlidir. Yapmış olduğum analizler sonucunda bu durumu doğrular nitelikte veriler elde edilmiş olup Orta Karadeniz bölgesinden temin edilen madımak bitkisinin antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal aktivitesinin Orta Anadolu'da yetişen madımak bitkisine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Madımak, yüksek biyoaktif özelliklere sahip ülkemizin endemik bitkilerinden biridir. Bu çalışmada kullanılan madımak bitkisi en sık yetiştiği ve tüketildiği Orta Karadeniz bölgesi ve Orta Anadolu bölgesinden tedarik edilmiştir.

Madımak bitkisinin “tıbbi bitki” olarak sınıflandırılmasını sağlayan çeşitli biyoaktif özellikleri (antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid miktarı, fenolik profili) detaylıca incelenmiş, ayrıca antimikrobiyal aktiviteleri de belirlenmiş ve iki farklı bölgenin özellikleri arasında karşılaştırma yapılmıştır.

Sonuçlar aşağıdaki şekilde özetlenebilir;

- 1- Orta Anadolu’da yetişen madımak bitkisi Orta Karadeniz’de yetişen madımak bitkisine göre istatistiksel olarak daha yüksek ($p<0,05$) fenolik madde miktarına ve toplam flavonoid içeriğine sahiptir.
- 2- Buna nazaran, Orta Karadeniz bölgesinde yetişen madımak bitkisi Orta Anadolu bölgesinde yetişen madımak bitkisine göre daha yüksek antioksidan aktivite sergilemiştir. Bu farklılığın sebebi her iki bölgedeki madımak örneklerinin farklı fenolik madde profiline sahip olmasıdır. İçerdikleri fenolik bileşenlerin konsantrasyonları farklı olduğu için antioksidan kapasiteleri de farklılık göstermiştir.
- 3- Fenolik madde profili toplamına genel olarak bakıldığında toplam fenolik madde miktarını doğrular şekilde Orta Anadolu’da yetişen madımak bitkisinde Orta Karadeniz’de yetişen madımak bitkisine göre istatistiksel olarak daha yüksek ($p<0,05$) fenolik madde varlığı hesaplanmıştır.
- 4- Her iki bölgenin de fenolik madde profillerinin farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Orta Anadolu bölgesi ve Orta Karadeniz bölgesinden tedarik edilen madımak bitkilerinde bulunan majör fenolik bileşenler sırasıyla rutin ve kafeik asit olarak belirlenmiştir.

- 5- Orta Karadeniz’de yetişen madımak bitkisinin antimikrobiyal etkisinin Orta Anadolu bölgesinden tedarik edilen madımak bitkisinden daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Her iki madımak ekstraktının antimikrobiyal aktivitesine karşı en dirençli mikroorganizma *Salmonella enterica* subsp. Typhimurium olmuştur. Madımak ekstraktının antimikrobiyal aktivitesine karşı gram (-) bakterilerin daha dirençli olduğu belirlenmiştir. Madımak ekstraktı gram (+) bakteriler üzerinde daha yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir.

Bu çalışma sonucunda genel olarak; madımak bitkisinin doğal ortamını bozmadan kültüre alınmasına karar verilirken bitkinin en çok yetiştiği ve tüketildiği bölgelerden olan Orta Anadolu ve Orta Karadeniz bölgelerinde yetişen bitkilerin özelliklerinin karşılaştırılmasının yararlı olacağı düşünülmüştür.

Bu tez çalışması dikkate alınarak, literatürün geliştirilmesi amacıyla yapılacak öneriler şu şekildedir;

- 1- Madımak bitkisinin tıbbi özelliklerinin daha detaylı araştırılabilir.
- 2- Madımak bitkisinin antioksidan madde profili daha detaylı incelenip bölgeler arasındaki antioksidan aktivite farkının nedenleri araştırılabilir.
- 3- Madımak bitkisinin etanolden farklı çözücülerde ekstraktları hazırlanıp, biyoaktif özellikleri incelenerek çözücülere göre bir kıyaslama yapılabilir.
- 4- Yörelere göre farklı tüketim şekilleri (çiğ, haşlanarak, pişirilerek) olan madımak bitkisinin tüketim şekillerinde maruz kaldıkları ısı değişimine göre besin değerlerinin ve antioksidan özellik gösteren bileşenlerinin durumu araştırılabilir.
- 5- Madımak bitkisi çeşitli gıda bileşenleri olarak kullanıldığında oluşabilecek etkileri incelenebilir.
- 6- Madımak bitkisinin içerdiği fenolik bileşenlerin çeşitli gıda proseslerindeki stabilitelerinin belirlenmesi hakkında yeni çalışmalar yapılabilir.

- Ahmad-Qasem, M. H., Ahmad-Qasem, B. H., Barrajon-Catalan, E., Micol, V., Cárcel, J. A., & García-Pérez, J. V. (2016). Drying and storage of olive leaf extracts. Influence on polyphenols stability. *Industrial Crops and Products*, 79, 232-239.
- Akengin, H., & Dölek, İ. (2019). Türkiye'nin Fiziki Coğrafyası. ISBN 978-605-318-064-7. Pagem Akademi.
- Alan, R., & Padem, H. (1989). Erzurum ve Yöresinde Sebze Olarak Kullanılan Yabani Otlardan Işgın, Uzun Yemlik, Madımak, Tel Pancarı ile Ebegümeci Üzerinde Araştırmalar. *Gıda*, 14(5).
- Albayrak, S., Sağdıç, O., & Aksoy, A. (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26(4), 401-409.
- Ali, S. S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., & Bora, U. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food research international*, 41(1), 1-15.
- Alzoreky, N. S., & Nakahara, K. (2003). Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International journal of food microbiology*, 80(3), 223-230.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Baş, H., Pandır D. (2016). Yozgat'ta Tarımı Yapılan ve Çokça Tüketilen Madımak (*Polygonum Cognatum*) Bitkisinin Antioksidan Kapasitesi ve H₂O₂'nin İnsan Eritrositlerinde Meydana Getirdiği in vitro Toksik Etki Üzerine Koruyucu Rolü, I.Uluslararası Bozok Sempozyumu, 05-07 Mayıs, Yozgat.

- Büyüktuncel, E. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(2), 93-103.
- Cheng, H., Feng, S., Jia, X., Li, Q., Zhou, Y., & Ding, C. (2013). Structural characterization and antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Epimedium acuminatum*. *Carbohydrate polymers*, 92(1), 63-68.
- Çakılcıoğlu, U., & Türkoğlu, I. (2010). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 165-175.
- Çakmak, H., Bozdoğan, N., Turkut, G. M., Kumcuoğlu, S., & Tavman, Ş. (2016). Dağ çileğinin (*Arbutus unedo* L.) kuruma kinetiğinin incelenmesi ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Gıda*, 41(4), 227-234.
- Dardağan, U. (2014). Hidrojen peroksit maruz kalan sıçanların biyokimyasal parametreler üzerine naringenin ve bazı organik maddelerin etkileri (Yüksek Lisans Tezi, Adıyaman Üniversitesi).
- Demir, H. (2006). Erzurum'da yetişen madımak, yemlik ve kızamık bitkilerinin bazı kimyasal bileşimi. *Bahçe; Sayı: 35*.
- Ergen Akçin Ö., Akçin Y., Akbulut M. K. (2014). The ethnobotanical and anatomical properties of *Polygonum cognatum* Meissn. (Polygonaceae). *Biological Diversity and Conservation*, 7/2 (2014) 117-121, ISSN 1308-5301.
- Ergen, B. (2019). *Rosa pimpinellifolia* L. (Koyungözü) Meyvesinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri ile Antioksidan Aktivite ve Fenolik Profilinin Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi, Bayburt Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Eruygur, N., Ucar, E., Ataş, M., Ergul, M., Ergul, M., & Sozmen, F. (2020). Determination of biological activity of *Tragopogon porrifolius* and *Polygonum cognatum* consumed intensively by people in Sivas. *Toxicology reports*, 7, 59-66.

- Gülümser, E., Doğrusöz, M. Ç., Mut, H., Başaran, U., & Mut, Z. Yozgat Turizminde Tarım ve Yöresel Ürünlerin Rolü. 04-06 MAYIS 2017, 45.
- Kacar, B., Katkat, A. V., & Öztürk, Ş. (2013). Bitki fizyolojisi. Nobel Yayın Dağıtım. Yayın No: 848, Ankara, 563s.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., & Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food chemistry, 96(2), 254-260.
- Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15(1), 91-96.
- Murathan, Z. T. (2018). Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi ekolojik koşullarında yetişen bazı tıbbi bitkilerin biyokimyasal içeriği ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 20(2), 51-60.
- Negi, P. S., Chauhan, A. S., Sadia, G. A., Rohinishree, Y. S., & Ramteke, R. S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed extracts. Food Chemistry, 92(1), 119-124.
- Nikaido, H., & Vaara, M. (1985). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. Microbiological reviews, 49(1), 1.
- Okan, O. T., Varlıbaş, H., Mehmet, Ö. Z., & Deniz, İ. (2013). Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecek odun dışı bazı bitkisel ürünler. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 13(1), 48-59.
- Özbucak, B. T., Akçin E. Ö., & Yalçın, S. (2007). Nutrition contents of the some wild edible plants in Central Black Sea Region of Turkey. International Journal of Natural and Engineering Sciences, 1, 11-13.
- Özer, M. Ö., & Aksoy, M. (2019). Orta Karadeniz Bölgesi'nde Sebze Olarak Tüketilen Madımak (*Polygonum*) Türlerinin Beslenme Durumu. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 29(2), 204-212.

- Pekdemir, S., Çiftci, M., & Karatepe, M. (2020). Elazığ'da Yetişen *Polygonum cognatum* Meissn (Madımak) Bitki Ekstraktlarının In vitro Biyolojik Aktiviteleri ve Bazı Fitokimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (18), 368-378.
- Polatçı, H., & Tarhan, S. (2009). Farklı kurutma yöntemlerinin reyhan (*Ocimum basilicum*) bitkisinin kuruma süresine ve kalitesine etkisi.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., & Kumar, M. R. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*, 113(3), 189-207.
- Saraç, H., Daştan, T., Demirbaş, A., Daştan, S. D., Karaköy, T., & Durukan, H. (2018). Madımak (*Polygonum cognatum* Meissn.) Bitki Özütlerinin Besin Elementleri ve In Vitro Antikanserojen Aktiviteleri Yönünden Değerlendirilmesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 340-347.
- Sarıçam, A. (2014). Üzüm çekirdeği ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, Türkiye, 96s.
- Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N., & Jayaprakasha, G. K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(1), 81-86.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., & Nagy, G. (2007). Antioxidant measurements. *Physiological measurement*, 28(4), R41.

- Tongur, T. (2014). *Daphne Sericea ve Daphne Gnidioides Bitki Ekstraktlarının Bileşimlerinin ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi* (Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Törnük, F. (2014). *Biyoaktif Madde Yüklenmiş Nanokillerle Güçlendirilmiş Aktif Ambalaj Üretimi ve Gıda Ambalajlamada Kullanımı* (Doctoral dissertation, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri).
- Ucar, T. M., & Karadag, A. (2019). The effects of vacuum and freeze-drying on the physicochemical properties and in vitro digestibility of phenolics in oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3), 2298-2309.
- Ulubelen, A., Tan, N., & Ucer, M. (1992). Flavonoids from *Polygonum cognatum*. *Fitoterapia*, 63, 87.
- Üçer, M., & Eczacı, A. Y.. (2110). Sivas yöresinde yerel bitkilerden yapılan ilaçlar. *Bitkilerle tedavi*, 29.
- Yavaşer, R. (2011). *Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması* (Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Yıldırım, A., Mavi, A., & Kara, A. A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activities of *Polygonum cognatum* Meissn extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(1), 64-69.
- Yıldız, L. (2007). *Bazı bitki örneklerinde antioksidan kapasitenin spektrofotometrik ve kromatografik tayini*. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Yolcu, H. (2010). *Kuşburnu pulpu üretiminde antioksidan özelliklerin değişimi* (Master's thesis, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Yörük, G. (2019). *Uludağ'da Yetiştirilen Bazı Yaban Mersini Çeşitlerinin Fenolik Bileşiklerinin Ve Antioksidant Kapasitelerinin Araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).

Zhishen, J., Mengcheng, T. ve Jianming, W. (1999). Dutta flavonoid içeriğinin belirlenmesi ve süperoksit radikalleri üzerindeki temizleme etkileri. Gıda kimyası , 64 (4), 555-559.



TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

İletişim Bilgisi: nilsu_kuru@hotmail.com

Konferans Bildirileri

1. MARANGOZ Nilsu, DOĞAN Kübra, AKMAN Perihan Kübra, TÖRNÜK Fatih, “Türkiye’nin Farklı Bölgelerinden Temin Edilen Madımak Örneklerinin Biyoaktif Ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi”, IMASCON Uluslararası Marmara Fen ve Sosyal Bilimler Kongresi, 19.06.2020, Kocaeli/Türkiye (Online).

