

T. C.
ARTVİN ÇORUH ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ORMAN ENDÜSTRİ MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

ANASONUN (*Pimpinella anisum* L.) ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ; UÇUCU YAĞ VE FENOLİK
BİLEŞENLERİNİN AÇIĞA ÇIKARILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Raziye TASA

Danışman
Doç. Dr. Şule CEYLAN

ARTVİN-2024

T. C.
ARTVİN ÇORUH ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ORMAN ENDÜSTRİ MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

ANASONUN (*Pimpinella anisum* L.) ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ; UÇUCU YAĞ VE FENOLİK
BİLEŞENLERİNİN AÇIĞA ÇIKARILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Raziye TASA

Danışman
Doç. Dr. Şule CEYLAN

ARTVİN-2024

TEZ BEYANNEMESİ

Artvin oruh Üniversitesi Lisanüstü Eğitim Enstitüsüne Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Anasonun (Pimpinella anisum L.) Antioksidan, Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi; Uçucu Yağ ve Fenolik Bileğenlerinin Açığa çıkarılması*” bağlıklı bu arağtırmayı en bağtan sonuna kadar danığman hocam Doç. Dr. Şule CEYLAN’ın gözetiminde bitirdiğimi, bitki örneklerini kendim elde ettiğimi, alığma içerisinde bulunan deneyleri/analizleri ilgili laboratuvar ortamlarında yaptığımı/yaptırdığımı, bağka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, alığma sürecinde bilimsel arağtırma ve etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Lisansüstü Eğitim-ğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

- ☐ Tezimin tamamı her yerden eriğime açılabilir.
- ☐ Tezim sadece Artvin oruh niversitesi yerleğkelerinden eriğime açılabilir.
- ☐ Tezimin ... ay süreyle eriğime açılmasını istemiyorum. Bu srenin sonunda uzatma için bağvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin tamamı her yerden eriğime açılabilir.

...../...../2024

Raziye TASA

T.C.
ARTVİN ÇORUH ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ORMAN ENDÜSTRİ MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

ANASONUN (*Pimpinella anisum* L.) ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ; UÇUCU YAĞ VE FENOLİK
BİLEŞENLERİNİN AÇIĞA ÇIKARILMASI

Raziye TASA

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : .../.../2024

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : .../.../2024

Başkan : Prof. Dr. Hüseyin PEKER

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Şule CEYLAN

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Özlem SARAL

ONAY:

Bu Yüksek Lisans tezi, Artvin Çoruh Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından 15/02/2024 tarihinde **oybirliği** ile uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../2024 tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

.../.../2024

Prof. Dr. Mustafa Çağatay KORKMAZ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Günümüzde bitkiler tedavi amaçlı sıklıkla kullanılmaktadır. Yan etkilerinin az olmasından dolayı eski çağlardan beri bitkiler şifa amaçlı tüketilmektedir. Bu çalışmada anason bitkisinin antioksidan değerlerinin belirlenmesinde; CUPRAC, FRAP, DPPH yöntemleri, antimikrobiyal değerlerinin belirlenmesinde; disk difüzyon ve MİK (minimum inhibisyon konsantrasyonu) yöntemleri, uçucu yağ bileşenleri belirlenmesinde; SPME ve GS-MS yöntemleri ve fenolik bileşen içerikleri belirlenmesinde; HPLC-UV yöntemi kullanılmıştır.

Bu araştırma kapsamında bana her zaman yol gösteren, her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Şule CEYLAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalar ve elde edilen verilerin değerlendirmesi aşamasında yardımlarından dolayı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Özlem SARAL, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yasemin CAMADAN ve Sayın Prof. Dr. Hüseyin PEKER hocalarıma da teşekkür ederim. Bunun yanında antimikrobiyal analiz kısımları için de desteklerini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Özge ÖZŞEN BATUR'a ve tez düzenleme kısmında yardımlarından dolayı Öğr. Gör. Kemal Vehbi İMAMOĞLU'na teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca daima yanımda olduklarını hissettiren, her türlü maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme yürekten teşekkürlerimi sunuyorum.

.

Raziye TASA

Artvin-2024

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ BEYANNEMESİ	I
JÜRİ KABUL TUTANAĞI	II
ÖNSÖZ.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VI
SUMMARY.....	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
1 GİRİŞ	1
1.1 Genel Bilgiler	1
1.2 Antioksidanlar	4
1.2.1 Antimikrobiyal Maddeler ve Özellikleri	5
1.3 Fenolik Bileşenler	7
1.3.1 Fenolik Bileşiklerin Kimyasal Yapısı.....	7
1.4 Uçucu Yağlar ve Kullanım Alanları	9
1.4.1 Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri	11
1.4.1.1 Destilasyon Yöntemi	11
1.4.1.2 Ekstraksiyon Yöntemi	12
1.4.1.3 Katı-Faz Mikroekstraksiyon (Solid Phase Microextraction-SPME).....	12
1.4.1.4 Süperkritik Sıvı Ekstraksiyonu (Supercritical fluid extraction-SFE).....	12
1.5 Anason (<i>Pimpinella anisum</i> L.).....	13
2 MATERYAL VE YÖNTEM	16
2.1 Materyal	16
2.1.1 Araştırmada Kullanılan Test Mikroorganizmaları, Temini ve Saklanma Koşulları	16
2.1.2 Mikroorganizmaların Çoğaltılmasında Kullanılan Besiyerler	17
2.1.3 Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	17
2.1.4 Araştırmada Kullanılan Cihaz ve Aletler	18
2.1.5 Analizlerde Kullanılacak Olan Numune Çözeltisinin Hazırlanması	18

2.2 Antioksidan Analizleri.....	19
2.2.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	20
2.2.2 Toplam Flavonoid Madde İçerik Tayini	21
2.2.3 CUPRAC (Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Analizi	21
2.2.4 FRAP (Fe^{+3} İndirgeme Gücü) Deneyi	22
2.2.5 DPPH• Radikali Süpürme Etkisinin Analizi	23
2.3 Antimikrobiyal Aktivite Analizi	24
2.3.1 Bakterilerin Tespitinde Kullanılan Sıvı Mikrodilüsyon Analizi	24
2.3.2 Maya Suşlarının Tespitinde Kullanılan Sıvı Mikrodilüsyon Analizi	25
2.4 Uçucu Yağ Bileşikleri Analizi	25
2.4.1 Katı Faz Mikroekstraksiyon Yöntemi (SPME).....	25
2.4.2 Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS)	26
2.4.3 Analiz Sonucunda Elde Edilen Bileşenlerin Tanımlanması	27
2.5 HPLC-UV İle Fenolik Bileşiklerin Analizi.....	27
3 BULGULAR	29
3.1 Antioksidan Aktivite Çalışmaları	29
3.1.1 Toplam Fenolik Madde Analizi Sonucu.....	29
3.1.2 Toplam Flavonoid Madde İçerik Analizi Sonucu	30
3.1.3 FRAP Analizi Sonucu	30
3.1.4 CUPRAC Analizi Sonucu	31
3.1.5 DPPH• Analizi Sonucu	32
3.2 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	33
3.3 Uçucu Yağ Bileşiklerinin Analiz Sonuçları.....	34
3.4 HPLC-UV ile Fenolik Bileşen Analiz Sonucu.....	37
4 TARTIŞMA.....	41
5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER	45
KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	55

ÖZET

ANASONUN (*Pimpinella anisum* L.) ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ; UÇUCU YAĞ VE FENOLİK BİLEŞENLERİNİN AÇIĞA ÇIKARILMASI

Anason (*Pimpinella anisum* L.) dünyada eski zamanlardan bu yana geleneksel tıpta yaygın olarak tüketilmektedir. Anason tohumunun antioksidan özelliği CUPRAC (Cu^{+2} İndirgeyici Antioksidan Kapasite), FRAP (Fe^{+3} İndirgeme Antioksidan Gücü) ve DPPH• radikali temizleme aktivitesi metotlarıyla açığa çıkarılmış aynı zamanda toplam polifenol ve toplam flavonoid madde miktarları da belirlenmiştir. Sonuçlara göre toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları $1,02 \pm 0,14$ mgGAE/g numune, $0,47 \pm 0,01$ mgKuersetin/g numune şeklindedir. Antioksidan kapasiteleri ise CUPRAC için $0,08 \pm 0,00$ mmol TEAC/g numune, DPPH• için $\text{IC}_{50} = 5,82$ mg/mL ve FRAP için, $0,01 \pm 0,00$ $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ numune olarak ölçülmüştür.

Antimikrobiyal özellik için disk difüzyon ve minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) metotundan faydalanılmıştır. Anason tohumunun test mikroorganizmalarına 1000 veya 2000 $\mu\text{g/mL}$ değeriyle antibakteriyel aktivite sergilediği, maya suşlarına karşı ise 250 veya 500 $\mu\text{g/mL}$ değeriyle, özellikle de *Candida glabrata* ATCC 2001'e karşı 250 $\mu\text{g/mL}$ değeriyle antifungal etki gösterdiği görülmüştür.

Anason'dan elde edilen uçucu yağın SPME ve GC/MS cihazları ile gerçekleştirilen analizi sonucunda 33 tane bileşen tanımlanmıştır. (Z)-Anethole eteri (%45.23), pentadecanolide esteri (%26.99), 2-methyl butyric acid yağ asidi (%5.12) ve menthalactone ketonu (%3.55) bileşikleri en yüksek oranlara sahip oldukları için ana bileşenler olarak nitelendirilmiştir.

Anason'un fenolik bileşen analizi için HPLC-UV metodu kullanılmış ve bu tayin 15 tane standart ile gerçekleştirilmiştir. Anason tohumunda klorojenik asit %2,1 (11,91 ppm) ve p-kumarik asit %0,6 (3,59 ppm) miktarlarında fenolik bileşikleri bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Anason, Biyolojik aktivite, Uçucu yağ, Fenolik bileşen, SPME, GC-MS, HPLC-UV

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF ANISE (*Pimpinella anisum* L.); DISCLOSURE OF ESSENTIAL OIL AND PHENOLIC COMPONENTS

Anise (*Pimpinella anisum* L.) has been widely consumed in traditional medicine throughout the world since ancient times. The antioxidant properties of anise seed were revealed by CUPRAC (Cu^{+2} Reducing Antioxidant Capacity), FRAP (Fe^{+3} Reducing Antioxidant Power) and DPPH● radical scavenging activity methods, and total polyphenol and total flavonoid contents were also determined. According to the results, the total phenolic and flavonoid substance amounts are 1.02 ± 0.14 mgGAE/g sample, 0.47 ± 0.01 mg Quercetin/g sample. Antioxidant capacities were measured as 0.08 ± 0.00 mmol TEAC/g sample for CUPRAC, $\text{IC}_{50} = 5.82$ mg/mL for DPPH● and 0.01 ± 0.00 $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ /g sample for FRAP.

Disc diffusion and Minimum inhibition concentration (MIC) methods were used for antimicrobial properties. It was observed that anise seed exhibited antibacterial activity against test microorganisms with a value of 1000 or 2000 $\mu\text{g/mL}$, and an antifungal effect against yeast strains with a value of 250 or 500 $\mu\text{g/mL}$, especially against *Candida glabrata* ATCC 2001, with a value of 250 $\mu\text{g/mL}$.

As a result of the analysis of the essential oil obtained from anise using SPME and GC/MS devices, 33 components were identified. (Z)-Anethole ether (45.23%), pentadecanolide ester (26.99%), 2-methyl butyric acid fatty acid (5.12%) and menthalactone ketone (3.55%) compounds were described as the main components because they had the highest ratios.

HPLC-UV method was used for phenolic component analysis of anise and this determination was carried out with 15 standards. Phenolic compounds were found in anise seeds in the amount of chlorogenic acid 2.1% (11.91 ppm) and p-coumaric acid 0.6% (3.59 ppm).

Keywords: Anise, Biological activity, Essential oil, Phenolic component, SPME, GC-MS, HPLC-UV

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. 2015-2022 yılları arasında Türkiye’de üretimi yapılan anason bitkisinin ekim alanları, toplam üretim miktarları ve verimi (Anonim, 2023)	14
Tablo 2. Araştırmada Kullanılan cihazlar, marka ve modelleri.....	18
Tablo 3. Toplam fenolik madde içerik analizinin deney şartları	20
Tablo 4. Toplam flavonoid içerik analiz şartları	21
Tablo 5. CUPRAC analiz şartları	22
Tablo 6. FRAP analiz şartları	23
Tablo 7. Antioksidan aktivite sonuçları.....	32
Tablo 8. DPPH• antioksidan analiz sonuç değerleri	33
Tablo 9. <i>Pimpinella anisum</i> L.’nin antimikrobiyal aktivite sonuçları (µg/mL).....	33
Tablo 10. <i>Pimpinella anisum</i> L. uçucu yağının GC/MS’de belirlenen bileşenleri	35
Tablo 11. HPLC’de kullanılan standart fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları.....	37
Tablo 12. 280 nm’de görülen standart fenolik bileşikler ve alıkonma zamanları.....	39
Tablo 13. 315 nm’de görülen standart fenolik bileşikler ve alıkonma zamanları.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Fenolik bileşiklerin gruplandırılması.....	7
Şekil 2. Fenolik asitlerin kimyasal yapıları (Jackson, 2000)	9
Şekil 3. Faz Diyagramı (Dinçer ve ark., 2007)	13
Şekil 4. Anason (<i>Pimpinella anisum</i> L.) bitkisi ve tohumu	14
Şekil 5. Araştırmada kullanılan anason bitkisi tohumu.....	16
Şekil 6. Analizlerde kullanılacak bitki örneklerinin ekstraksiyonu	19
Şekil 7. Antioksidan aktivite deney çalışmaları	19
Şekil 8. UV/VIS spektrofotometre cihazı	20
Şekil 9. TPTZ (Tripiridiltriazin).....	23
Şekil 10. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)	24
Şekil 11. Antimikrobiyal aktivite analiz çalışmaları	24
Şekil 12. SPME ekstraksiyon ve desorpsiyon prosedürü (Anonim, 1999).....	26
Şekil 13. Analizde kullanılan GC/MS cihazı	27
Şekil 14. Ekstraksiyon ve çözücü uçurma işlemi.....	28
Şekil 15. HPLC-UV cihazı.....	28
Şekil 16. Toplam fenolik madde kalibrasyon grafiği	29
Şekil 17. Toplam flavonoid analizi kalibrasyon grafiği	30
Şekil 18. FRAP kalibrasyon grafiği	31
Şekil 19. CUPRAC kalibrasyon grafiği	31
Şekil 20. DPPH• aktivitesi sonuç grafiği	33
Şekil 21. 15 adet fenolik standartın 280 nm'deki HPLC-UV kromatogramı	38
Şekil 22. 15 adet fenolik standartın 315 nm'deki HPLC-UV kromatogramı	39
Şekil 23. Anason bitkisinin 280 nm'deki HPLC-UV kromatogramı	40
Şekil 24. Anason bitkisinin 315 nm'deki HPLC-UV kromatogramı	40

KISALTMALAR DİZİNİ

MİK	Minimum inhibe edici konsantrasyon
MHA	Mueller-Hinton agar
TAB	Tıbbi ve aromatik bitki
DMSO	Dimetil sülfoksit
RT	Alıkonma zamanı
Troloks®	6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
MHB	Mueller-Hinton broth
PDA	Patates dekstroza agar
CFU	Toplam bakteri sayımının birimi
FeSO ₄ .7H ₂ O	Demir (II) sülfat hepta hidrat
mmol	Milimol
RI	Alıkonma indeksi
dk	Dakika
g	Gram
mg	Miligram
µg	Mikrogram
mL	Mililitre
µmol	Mikromol
FRAP	Fe ⁺³ İndirgeme Gücü
CUPRAC	Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
TPTZ	Tripiridiltriazin
GAE	Gallik asit eşdeğeri
TEAC	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
IC ₅₀	Yüzde 50'lik kısım için inhibisyon konsantrasyonu
SPME	Katı faz mikroekstraksiyon yöntemi
UV/VIS	Ultraviyole ve görünür ışık
HPLC-UV	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
GC/MS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi

1 GİRİŞ

1.1 Genel Bilgiler

İnsanoğlu ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla geçmişten günümüze kadar bitkilerden çok farklı şekillerde yararlanmıştır. Yaklaşık olarak dünyada 422.000 bitki türü bulunmakta olup bunlardan yabani bitki türlerinin gıda olarak tüketilen kısmının 10.000'den fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca doğal florada kendiliğinden yetişen bu yabani bitkilerin 52.885'ini tıbbi amaçlı kullanılan tıbbi bitkiler oluşturmaktadır (Nohutçu ve ark., 2019; Bramwell, 2002).

Bitkilerden veya bitkilerin çeşitli kısımlarından elde edilen etkili maddelerin hayvan veya insanlara sebep olabilecek hastalıkların tedavisinde dahili veya harici olarak kullanılmasına yarayan bitkiler tıbbi bitki olarak adlandırılmaktadır. Tıbbi bitkiler günümüzde hastalık tedavisinin yanı sıra kozmetik, parfümeri, fitoterapi, baharat gibi alanlarda da kullanım göstermektedir (Hakverdi ve Yiğit, 2017).

Tıbbi ve aromatik bitkiler; tüm dünyada yüzyıllar boyunca çeşni, ilaç, gıda ve şifa sağlamak amacıyla kullanım sağlamaktadır. Bu sebepten dolayı çok eski zamanlardan beri kimyon, haşhaş, anason, gibi bazı bitkilerin tarımı sürdürülmektedir. Tıbbi aromatik bitkilerin kullanımı ve üretimindeki gelişmeler incelendiğinde 20. yy. başındaki teknolojik gelişmeler ve sosyo-politik olaylardan ötürü bitkisel ilaçların kullanımında azalmaya gidilmiştir. 1930-1940'lı yıllarda sentetik ilaç üretimlerinde artış olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca 20. yy. başlarında üretimi yapılan ilaçların %40'ından fazlasının bitki kaynaklı olduğu gözlemlenirken 1970'lerde yaşanan sosyo-ekonomik değişiklikler, endüstriyel alan ve sentetik ilaç üretimindeki gelişmelerden dolayı bu oranın %5'ten daha aşağı indiği tespit edilmiştir. 1990'lı yıllardan sonra tıbbi ve aromatik bitkilerde doğal ürünlere olan talebin artması ile farklı kullanım alanlarının bulunması faydalanılabilirlik oranını gün geçtikçe arttırmaktadır. Günümüzde ise tıbbi aromatik bitkilerin bir çok alanda kullanımı devam etmekte ve her geçen gün daha fazla talep gösterilmektedir (Bayram ve ark., 2010; Göktaş ve Gıdık 2019).

Ülkemizde tüm dünyada olduğu gibi birçok farklı bitki türü çok eski yıllardan beri halk arasında baharat veya çay olarak tüketilmekte olup çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkiler grubunda sekonder bileşikler; uçucu yağlar, alkaloidler, flavanoidler, glikozidler, fenoller, tanenler, reçineler ve renk maddeleri açısından zengin olan bitki türleri yer almaktadır. Bu bitkilerden farklı metotlar ile elde edilen uçucu yağlar ve bitkisel özütler antimikrobiyal etkilere sahiptir. Tüketicilerin doğal antimikrobiyal maddelere ilgisi, yapay koruyucu maddelerin sağlık üzerine olumsuz yan tesirlerinin artmış olması sebebi ile son yıllarda bitkisel orjinli maddelerin koruyucu etkileri üzerine yapılan araştırmalara ağırlık verilmiştir (Baydar, 2005; Koyuncu ve ark., 2008).

Antimikrobiyal bileşikler; canlılığı ya da mikrobiyal gelişimi minimize ederek işlem görmüş veya işlem görmemiş gıdaların raf ömrünü artırmaktadır. Doğal kaynaklı ürünlerden faydalanılarak üretilen antimikrobiyal maddelerin ve bitkisel ekstraktların gıda güvenliğini fazla miktarda arttırdığı ve gıdalarda doğal antimikrobiyal madde olarak kullanım sağlayabileceği bilimsel incelemeler ile tespit edilmiştir (Koyuncu ve ark., 2008; Kotzekidou ve ark., 2007) .

Antimikrobiyal aktivite etkinliği olan bitkiler gıda endüstrisinde tıbbi amaçlı, koruyucu madde, anti-helmintik ve anti-fungal olarak kullanırken yabancı otlara, bitki zararlılarına karşı mücadelede de kullanım sağlamaktadır. Bitkilerin antimikrobiyal bileşikleri çoğunlukla esansiyel yağ içerisinde bulunmaktadır. Bitkinin karakteristik aromasından da bu bileşikler sorumlu olup çoğunlukla bitkilerden su buharı destilasyon yöntemi ile elde edilmektedir. Antimikrobiyal aktivite; gıdanın yapısına, işlenmesine, depolama şartlarına, bitkinin kompozisyonuna, türüne, konsantrasyonuna, hedef gösterilen mikroorganizmanın yüküne ve türüne bağlıdır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2013; Sağdıç ve ark., 2002).

Antioksidan bileşikler insanlarda hastalığa sebep olacak serbest reaktif oksijen ile tepkime göstererek serbest radikallerin etkisini yok edici hale getirmektedir. Serbest radikaller, moleküler yada atomik yapılarda bir veya daha çok tek elektrona sahip çiftlenmemiş moleküllerdir (Çavdar ve ark., 1997). Sentetik antioksidanların güvenilir olup olmadığı hakkında artan endişelerden dolayı günümüzde gıda endüstrisinin birçok farklı bitkisel kaynaklardan doğal antioksidanların üretilmesi üzerinde yoğun

bir talebi oluşturmaktadır. Bu sebepten ötürü doğal antioksidan materyali olarak büyük bir potansiyeli olan tıbbi ve aromatik bitkilerin; süt, fırıncılık ürünleri ve et gibi yağ oranı yüksek gıdalarda meydana gelebilecek oksidasyonu engellemek amacıyla kullanımının gün geçtikçe arttığı gözlemlenmiştir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2013).

Fenolik bileşikler, doğal antioksidanların başlıca en önemli gruplarını oluşturmaktadır (Shahidi ve ark., 1992). Bitkilerin bütün kısımlarında bulunan fenolik bileşikler polifenolik komponentlerdir. Bunlardan en bilinen bitkisel fenolik antioksidanlar; tokoferoller, flavonoidler, kumarinler, sinamik asit türevleri ve fenolik asitlerdir. Fenolik antioksidanlar besinlerde ihtiva olan ve kolay bir şekilde oksitlenebilen maddeleri oksidasyon oluşumuna karşı engelledikleri bilinmektedir. Bu sebepten ötürü besin maddelerinin koku ve tat şeklindeki özelliklerini geliştirmek için eski zamandan beri katkı materyali şeklinde faaliyet gösteren tıbbi öneme sahip bitkilerin gün geçtikçe daha fazla önem kazandığı görülmektedir (Shahidi ve ark.,1995; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2013).

Tıbbi ve aromatik bitkilerden üretilen ve kimyasal olarak birçok bileşen içeriğine sahip olan uçucu yağlar fitoterapi ve fitokimyada önemli bir yere sahip olup içerisindeki etken maddeye göre antimikrobiyal karminatif, koloretik, sedatif, antispazmodik, diüretik gibi etki göstermektedir. Uçucu yağların bu şekilde birçok işlevsel özelliğe sahip olması sebebi ile de farmakolojik özelliklerinin incelenmesi birçok araştırma grubunun odak noktası haline gelmiştir (Miguel, 2010; Maksimovic ve ark., 2005).

Anason bitkisine ait tohumlarda %10-20 sabit yağ, %18 protein ve uçucu yağ oranı %1,5-5,0 arasında değişmektedir. Uçucu yağ içeriğinde estragole, anisaldehyde, anisic acid ve anisyl alcohol, p-cresol, β -farnacene, α -curcumene, γ -himakalene ve monoterpene olup başlıca en önemli bileşeni ise normal sıcaklıkta katı halde bulunan trans-anetol %80-95 aralığındadır (Arslan ve ark., 1999). Anasona kendine has kokuyu ve tatlımsı tadı veren trans-anetol bileşenidir. Estragole (methyl cavicol) anasona has kokuyu veren diğer bir etken maddedir (Baydar, 2016). Anason tohumunda bulunana uçucu yağın bileşimi ve miktarı anasonun kalitesini belirlemede etkili bir rol oynamaktadır (Acimovic ve ark., 2014; Ullah ve Honermeier, 2013).

Bu çalışmada edinilen bilgiler neticesinde, bilinçli tüketicilerin arzularına göre organik ürünlere olan talep artışı sebebi ile tıbbi ve aromatik bir bitki olan ülkemizde de kültür

yetiştiriciliği yapılan anason bitkisinin uçucu yağ bileşenlerini; SPME ve GS-MS yöntemleri ile fenolik bileşen içeriklerini; HPLC-UV yöntemi ile antioksidan aktivitelerini; DPPH, toplam flavonoid, FRAP, toplam polifenol ve CUPRAC metotları ile ve son olarak antimikrobiyal aktivitesi ise disk difüzyon ve MİK metodu kullanılarak belirlenmiştir.

1.2 Antioksidanlar

Antioksidan, oksidasyon reaksiyonlarına karşı koruyan, minimize eden, peroksitler ya da oksijenle meydana gelen reaksiyonları önleyen sentetik ya da doğal maddelerdir. Antioksidanlar insan vücudundaki serbest radikallerle hızlı bir şekilde tepkimeye girerek meydana gelebilecek reaksiyon sonucu oluşan oto oksidasyonu önleyen savunma sistemine sahiptir. Ayrıca yağların bozunmasını önleyen maddeler içeren antioksidanlardan, nitrojen ve oksijen gibi reaktiflerin insanlar üzerindeki olumsuz etkilerini engelleyen veya diyetel antioksidan materyal kadar büyük bir yelpazede kullanılmaktadır (Huang ve ark., 2005; Moon ve Shibamoto 2009).

Antioksidan kaynaklarının başlıcaları dört bölüme ayrılmaktadır (Seçkin, 2014; Prior ve ark., 2005). Bunlar;

1. Büyük molekül yapısına sahip olanlar; albumin, ferritin v.b.
2. Küçük moleküller yapısına sahip olanlar; askorbik asit, urik asit, karotenoidler, tokoferol, polifenoller
3. Enzimler; peroksidaz, süperoksit dismutaz, glutatyon ve katalaz
4. Bazı hormonlar; melatonin, östrojen, v.b.

Oksidasyon reaksiyonları serbest radikaller tarafından gerçekleşmektedir. Serbest radikaller, herhangi bir radikal özelliği bulunmayan bir molekül veya atomdan bir elektron alınması ile veya radikal özelliğe sahip olmayan bir molekül veya atoma e^- (elektron) eklenmesiyle meydana gelmektedir. Hücre içerisinde meydana gelen serbest radikaller, bileşikler ve hücre yapısına önemli ölçüde etkide bulunmaktadır. Bu sebepten dolayı serbest radikaller, hücrede hasara yol açmakta ve hücre ölümüne sebep vermektedir. Hücrede zarar gören proteinler, hücre membranındaki lipitler ve DNA önemli hedeflerdir (Nacz ve Shahidi, 2004; Karafakoğlu, 2004; Sertsever, 2003).

Antioksidanlar etkilerini iki şekilde göstermektedir. Bunlardan birincisi serbest radikal oluşumunu engelleyerek. Örneğin; tepkime başlatıcı reaktif türevlerini, oksijeni, katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki göstererek. İkincisi meydana gelen serbest radikallerin etkisini yok ederek, etkisiz hale getirerek. Örneğin; bastırıcı, toplayıcı, zincir kırıcı, onarıcı etki göstererek (Sertsever ve Gök, 2003).

Antioksidanlar tepkime sırasında hidrojen atomu verme özelliğine sahip kimyasal bileşenler olup etki mekanizması basit bir şekilde aşağıda özetlenmiştir (Madhavi, 1996).

Başlangıç kısmında; $ROO\bullet + AH \rightarrow ROOH + A\bullet$

Gelişme kısmında; $ROO\bullet + A\bullet \rightarrow ROOA$

Sonlanma kısmında; $A\bullet + A\bullet \rightarrow A-A$

Doğal antioksidanlar; flavonoidler, fenoller, vitamin, karotenoidler olup sebze, meyve, bitkisel çaylar, kahve, kakao ve şarap gibi birçok gıda ürünleri ve içeceğinde bulunmaktadır. Bu sebepten ötürü taze şekilde tüketim gösteren çoğu tıbbi özelliğe sahip bitkinin antioksidan özelliğine sahip olması sebebi ile tüketiminin artırılması bazı hastalıklara yakalanma ihtimalini düşüreceğinden antioksidan içeren bitkilerin önemi büyüktür. Bu bitkilerden yaygın olarak kullanılanların bazıları; anason, nane, defne, reyhan, karabiber, mantar, ılgın ve kızcık bitkileridir (Lam ve ark., 1988; Almes ve ark., 1993).

Sentetik antioksidanlar; BHT (Bütillenmiş Hidroksi Toluen), PG (Propil Gallat), TBHQ (Tersiyer Bütil Hidrokinon), BHA (Bütillenmiş Hidroksi Anisol), Troloks ve diğerleridir. Bu sentetik antioksidanlar yaygın olarak kullanılmakta olup insan sağlığı üzerinde tehlikeli olduğu yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Ayrıca vücuda alınan yüksek dozda sentetik antioksidanlar, vücuttan tekrar atılamadığında yağ dokusunda depolanmaktadır (Branen, 1975; Halliwell ve Gutteridge, 1996).

1.2.1 Antimikrobiyal Maddeler ve Özellikleri

Günümüzde ortaya çıkan enfeksiyon kaynaklı hastalıkların iyileştirilmesinde etkili olan mikroorganizmanın antibiyotiklere karşı göstermiş olduğu duyarlılık analizi

sonuçları neticesinde enfeksiyon etkenine karşı koyabilecek en uygun yöntemin antimikrobiyal ile yapıldığı görülmüştür. Tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen özütlerin antimikrobiyal etkiye sahip olması nedeni ile bakterilerin antibiyotik dirençliliğini önlemek amacıyla direkt ilaç kullanımı yerine bitkisel ürünlerin antimikrobiyal madde kullanılmaları tavsiye edilmektedir (Dağcı ve Dığrak, 2006; Toroğlu ve ark., 2006).

Antimikrobiyal maddeler; küf, bakteri ve birçok mikroplara karşı direnç gösterip gelişim göstermelerini engeller ve hastalık edici unsurlara karşı canlı metabolizmalarını korumayı devam ettirmektedirler. Antimikrobiyal maddeler, üzerinde etkili oldukları mikroorganizmanın tür ve cins oranının az ve ya çok olmasına göre dar spektrumlu ya da geniş spektrumlu şeklinde adlandırılmaktadır. Hastalık enfeksiyonuna sebep olabilecek mikroorganizmalar üzerinde etkili olup hastalık tedavisinde kullanılabilecek antimikrobiyal maddeler en dar spektrumlu olanlardır. Geniş spektrumlu olan antimikrobiyal maddeler ise hastalık etmeni olabilecek çok sayıda patojen mikroorganizmalara karşı etkili olup yaşam döngümüzü ve bağışıklık sistemimizi korumamıza yardımcı olmakta büyük bir öneme sahiptirler (Öztürk, 2009).

Mantar türleri ve bakteriler tarafından oluşan mikroorganizmalar üzerine etki eden ya da mikroorganizmaları öldüren mikrobisidal maddeler ve mikroorganizmaların gelişim faaliyetini durduran mikrobistatik maddeler, antibiyotik olarak tanımlanmaktadır. Kemoterapötik maddeler ise antibiyotiklerle yakın özelliklere sahip, kimyasal yol ile sentezlenen bütünüyle sentetik maddelerdir (Akyüz, 2007).

Antimikrobiyal maddede olması gereken en önemli özellik seçici toksisiteye sahip olmasıdır. Kemoterapi işleminde kullanılan antimikrobiyal madde çok az toksik olup düşük konsantrasyonlarda bile etkisini göstermelidir. Bu nedenle antimikrobiyal maddenin bu şekilde etki göstermesi için memeli hücrelerinden çok sayıda mikroorganizmalar seçilip etkinliğini artırmak hedef alınmaktadır. Ökaryot hücrede olmayıp prokaryot hücrede bulunan sadece bir molekül yapısını ve atom gruplarını ana hedef gösteren antibakteriyal bileşikler örnek olarak sefalosporinler, sülfonamidler büyük miktarda seçici toksisite özelliğine sahiptir. Konak hücreye virüsler inkübe

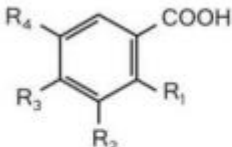
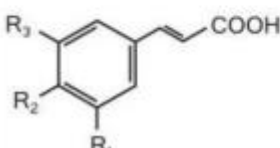
edildiklerinden konağa zarar vermeden virüsü etkilemek imkansızdır. Bu sebepten virüsler üzerine etkili ilaçların seçici toksisitesinden bahsedilmez (Akyüz, 2007).

1.3 Fenolik Bileşenler

Fenolik bileşikler, temel kaynağı bitkiler olan ve benzen halkasına bir veya birden fazla hidroksil grubu bağlı olan fonksiyonel gruba sahip sekonder metabolit bileşiklerdir. Bitkilere göre miktarları farklılık gösteren fenolik bileşikler, bitkilerde en çok bulunan sekonder metabolitler olup bitkiler bu bileşiği yoğun stres altında kendilerini korunma amaçlı üretmektedir. Ayrıca virüs, parazit gibi birçok farklı zararlılara karşı savunma mekanizması oluşturmaktadırlar. Fenolik bileşikler sebze ve meyvelerde tat ve renk verme özelliğine sahiptir (Atak ve Uslu, 2018; Bohn, 2014).

1.3.1 Fenolik Bileşiklerin Kimyasal Yapısı

Yapısında bulunan hidroksil grupları ile bir veya birden fazla aromatik halkalar ile karakterize edilmekte olan fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı, hidroksibenzoik (benzoik) ve hidroksisinnamik (sinamik) asitler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Şekil 1). Hidroksisinnamik asitler C6-C3 (fenilpropan), Hidroksibenzoik asitler ise C6-C1 (fenilmetan) yapısındadır. Benzoik asit türevlerine protokateşuik asit, vanilik asit, p-hidroksibenzoik asit, gensitik asit ve salisilik asit; hidroksisinnamik asit türevlerine kafeik asit, kumarik asit, sinapik asit ve ferulik asit örnek gösterilebilir (Yücel ve Ötleş 2001; Jackson 2000).

	Benzoik Asit	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
	p-hidroksibenzoik asit	H	H	OH	H
	protokateşuik asit	H	OH	OH	H
	vanilik asit	H	OCH ₃	OH	H
	gallik asit	H	OH	OH	OH
	şirincik asit	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	salisilik asit	OH	H	H	H
	Hidroksisinnamik Asit	R ₁	R ₂	R ₃	
	p-kumarik asit	H	OH	H	
	kafeik asit	OH	OH	H	
	ferulik asit	OCH ₃	OH	H	
	sinapik asit	OCH ₃	OH	OCH ₃	

Şekil 1. Fenolik bileşiklerin gruplandırılması

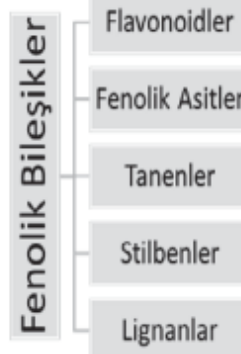
Fenolik bileşikler, hücre içerisinde 3 farklı formda bulunmaktadır (Nayak ve ark., 2015). Bunlar;

1. Serbest formda
2. Ekstrakte edilebilir-konjuge formda
3. Ekstrakte edilemeyen-bağlı formda

Serbest formda bulunan fenolikler hücrede içerisinde vakuoller içerisine hapsedilmiş konumundadır. Konjuge formdaki fenolik bileşikler yapısında bulunan hidroksil grupları (-OH) ve aromatik halkalar neticesinde düşük molekül ağırlıklı bileşenlere veya glikozitlere esterleşebilmektedir. Ekstrakte edilemeyen-bağlı formda bulunan fenolik bileşikler ise hücre duvarı yapısındaki pektin, protein, selüloz gibi yapılara ester, asetal bağları veya eter ile kovalent olarak bağlanabilmektedir. Fenolik bileşiklerin aromatik halkasında bulunan hidroksil grupları (-OH), bitkisel hücre duvarlarındaki lignine eter bağı ile; karboksil grupları (-COOH) ise karbonhidratlar ve proteine ester bağı ile bağlanabilmekte olup aynı zamanda fenolik bileşikler bitki hücresel yapılara bağlanmadan sadece fiziksel olarak makrobileşenlerin yapısında bulunabilmektedir (Saura-Calixto, 2012; Gökmen ve ark., 2009; Nayak ve ark., 2015). Geçmişten günümüze bitkisel kaynaklı birçok fenolik bileşikler tanımlanmış olup tanımlanan fenolik bileşiklere ilaveten yeni fenolik bileşikler tanımlanmaya devam etmektedir. Fenolik bileşiklere ait yapısal farklılık fenolik bileşiklerin sınıflandırılmasını zorlaştırmaktadır. Polifenollerin aktiviteleri yapısındaki kimyasal değişikliğe bağlı olup güçlü antioksidan özelliğine sahiptir. Fenolik bileşiklerin güçlü antioksidana sahip olması asidik olması ve serbest radikal tutmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca antioksidan aktivitesi aromatik halkada gruplara, bileşiğin yapısına, hidroksil gruplarının konum ve sayısına bağlıdır. Sebze ve meyveler fenolik bileşiğin temel kaynağı olup insan sağlığı açısından oldukça önemli bir konuma sahiptir. Sanayide, gıda sektöründe, tarımda fenolik bileşiklerce zengin doğal oksidasyonlar yan ürün olarak ortaya çıkarılmaktadır (Balasundram ve ark., 2006).

Fenolik bileşikler, halka yapısına ve sahip oldukları yapısal unsurlara göre isimlendirilmektedir. Bu sebepten ötürü yapısal özelliklerine göre 5 temel grupta gruplandırılır. Bunlar; flavonoidler (flavonoller veya kateşinler, flavonoller, flavonlar,

izoflavonoidler, flavononlar, antosiyaninler), fenolik asitler, tanen, lignanlar ve stilbenler (Paredes Lopez ve ark., 2010) (Şekil 2).



Şekil 2. Fenolik asitlerin kimyasal yapıları (Jackson, 2000)

Bütün bitkilerin yapısında fenolik asit bulunmakta olup özellikle sinamik asit ve benzoik asit türevleri olan vanilik, protokateşik, kafeik, p-kumarik ve ferulik gibi fenolik asitler sebze, meyve ve tahıllarda bol miktarda bulunurken genistik ve sirinjik gibi fenolik asitler ise bazı bitkilerde sınırlı miktarda bulunmaktadır (Robbins, 2003). Gallik asidin dimerizasyonu sonucunda meydana gelen ellajik asit sert kabuklu besinlerde özellikle fındık ve cevizde serbest halde bulunmaktadır (Heur ve ark., 1992).

1.4 Uçucu Yağlar ve Kullanım Alanları

Uçucu yağlar; bitkilerin meyve, yaprak, kök veya kabuk kısımlarından su veya su buharı destilasyonu ile üretilen, oda sıcaklığında sıvı olup bazı durumlarda donabilen ve kolay bir şekilde kristalleşebilen çoğunlukla renksiz veya açık sarı renkli uçucu, kuvvetli kokulu doğal bir karışımdır. Eterik veya esansiyel yağlar olarak adlandırılmaktadır (Ceylan, 1983; Tanker ve Tanker, 1990).

Dünyada baharat üretimi ve tedavi amaçlı kullanım gösteren bitkilerin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yaklaşık olarak 20.000 civarında olduğu raporlanmıştır. Günümüzde doğada var olan 300 civarı bitkilerden tahmini olarak 1/3'ü uçucu yağ asidi bulundurmaktadır.

Esansiyel yağ genellikle bitkilerin antimikrobiyal bileşiklerinde bulunmakta olup bu bileşikler bitkilerin karakteristik aromasından sorumludurlar. Çoğunlukla bitkilerden su buharı destilasyonu yöntemi ile elde edilmektedir. Antimikrobiyal aktivite; gıdanın

yapısına, işlenmesine, depolama şartlarına, bitkinin kompozisyonuna, türüne, konsantrasyonuna, hedef gösterilen mikroorganizmanın yüküne ve türüne bağlıdır. Lipitler, proteinler, pH, sıcaklık ve tuzlar fenolik maddelerin antimikrobiyal aktivitelerinde değişikliğe sebep olan faktörlerdir (Sağdıç, 2003).

Farklı bileşenleri ihtiva eden kompleks karışımlar oldukları için uçucu yağlar biyolojik etkileri yönünden de değişiklik göstermektedirler. Etki dereceleri içinde bulundurdukları etken maddeye bağlı olarak farklılık gösteren birden fazla uçucu yağın, antimikrobiyal özellik gösterdikleri kanıtlanmıştır. Günümüzde pek çok hastalığa karşı mücadelede kullanılan ilaçların içerisinde bulunan etken maddeler tıbbi bitkiler kullanılarak elde edilmektedir. Bitkilerden sentezlenen alkaloid, flavonoid, terpenoid, berberin, tanin, emetinler ve kinin gibi kimyasal maddeler enfeksiyon hastalıkların iyileştirilmesinde yaygın bir şekilde kullanım göstermektedir (Korukluoğlu ve ark., 2006; Çenet, M. ve Toroğlu, S., 2006).

Günümüzde esansiyel yağ olarakta adlandırılan uçucu yağlar;

- Gıda endüstrisinde meydana gelebilecek bozulmaları engellemek ve gıda ürünlerinin rafta kalma süresini arttırmak için gıdalar üzerinde biyokoruyucu şeklinde görev göstermektedir. Bu yağların etki dereceleri içerisinde bulunan maddelerin çeşidine ve miktarına bağlıdır.

- Sedir ve lavanta gibi bitkilerden üretilen uçucu yağlar böcek kovucuların ve bitkisel böcek ilaçlarının üretiminde kullanılmaktadır.

- Birçok farklı grup kozmetiklerinin, oda spreylерinin, boyaların, dezenfektanların üretiminde kullanılmaktadır.

- Ev deterjanı üretimlerinde, kozmetik sanayide, sabun ve parfümeride kalıcı ve hoş koku vermek amacıyla kullanılmaktadır.

- Ayrıca anasondan elde edilen uçucu yağın rakıya kendine has karakteristik kokuyu vermede ve likör sanayinde kullanımı da oldukça yaygındır (Rangahau, 2001; Bayaz, M., 2014; Gözen, 2005).

1.4.1 Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

Uçucu yağ bileşenlerini elde etmek için 1300'lü yıllarda Fransa ve İspanya'da destilasyon yöntemi geliştirilmiş olup 1550'li yıllarda ise farmakoloji gibi bir çok farklı alanların gereksinimlerine cevap vermek amacı ile yeni teknikler üretilip uygulanmaya geçilmiştir (Rangahau, 2001).

Uçucu yağ bulunduran bitkilere ait yağ oranları; bitkinin gelişme dönemine, bitkinin organlarına (çiçek, kök, tohum), iklim, çevre, gün içerisinde meydana gelen sıcaklık değişim şartlarına, topografik koşullarına, bitkinin genetik yapısı ve yağlı olma durumuna göre farklılık göstermektedir (Coelho ve ark., 2012).

Tıbbi ve aromatik değere sahip bitki orjinli ürünlerden faydalanılarak uçucu yağ açığa çıkarmak amacıyla faydalanılan metodlar genellikle şunlardır: destilasyon, ekstraksiyon, katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) yöntemleridir.

1.4.1.1 Destilasyon Yöntemi

Destilasyon, birden fazla sıvı bileşeni uçuculuk farkına veya kaynama noktalarındaki değişimlerden yararlanılarak elde edilen ayırma işlemidir. Sıvı halde bulunan kaynama noktaları birbirinden farklı olan karışımın kaynama noktası düşük olan maddeyi kaynama noktasına gelinceye kadar ısıtarak buhar haline geçirme ve oluşan buharı soğutma işlemi yaparak yoğunlaştırma sistemine dayanır. Amaç uçucu olan bir sıvı maddeyi uçucu özellik göstermeyen farklı bir materyal içerisinde uzaklaştırmaktır (Cellat, 2011).

Bu yöntem ile meydana gelen uçucu yağlar:

- Yüksek miktarda kaynama noktası düşük olan bileşikler,
- Az oranda kaynama noktası yüksek olan ve suda çözünme özelliğine sahip bileşikleri ihtiva etmektedir.

Destilasyon yöntemlerinin su destilasyonu, buhar destilasyonu ve vakum destilasyonu gibi çeşitleri bulunmaktadır (Cellat, 2011; Kılıç, 2008).

1.4.1.2 Ekstraksiyon Yöntemi

Uçucu yağ elde etmede kullanılan bir başka metot olan ekstraksiyon yöntemi modern ve geleneksel yöntemler olmak üzere iki değişik grupta incelenebilir. Süperkritik sıvı ekstraksiyonu ve mikrodalga ekstraksiyonu son yıllarda gelişim gösteren etkin ve hızlı modern yöntemler arasında bulunmaktadır. Geleneksel yöntemler arasında bulunan maserasyon işlemi ve sokslet ekstraksiyonunda ise işlem süresi uzamakta ve fazla oranlarda çevreyi kirletici çözücü unsurlar kullanılmaktadır. Etkili ekstraksiyon yöntemi için sıcaklık unsuru önemli bir etmendir. Yarı uçucu ve uçucu bileşiklerin meydana getirdiği sıcaklık değerleri sırası ile 80-100 °C ve 40-60 °C arasındadır (Kılıç, 2008).

1.4.1.3 Katı-Faz Mikroekstraksiyon (Solid Phase Microextraction-SPME)

Uçucu yağ elde edilecek bitkide örnek hazırlama, yoğunlaştırma ve ekstraksiyon aşamalarının çözücü madde bulundurmayan tek aşamada birleştirilip yorumlandırılmasına dayanır. Böylelikle bu yöntem ile uçucu yağ ayırımında kolaylıklar sağlanırken maliyet ve işlem süresinde de önemli kazançlar elde edilmiştir. SPME, GC veya GC-MS ile beraber çoğunlukla biyoloji, çevre ve gıda örneklerinde bulunan uçucu ve yarı uçucu organik bileşiklerin ekstraksiyon işlemlerinde kullanılmaktadır. Ayrıca, GC veya GC-MS ilaveten yüksek-performanslı sıvı kromatografisinde de (HPLC) kullanım göstermektedir (Kılıç, 2008).

1.4.1.4 Süperkritik Sıvı Ekstraksiyonu (Supercritical fluid extraction-SFE)

Organik çözücüler ile doğal kaynaklı ürünlere yapılan işlemler gerek sağlık gerekse çevre açısından günümüzde çokta istenmeyen bir durum haline gelmiştir. Bu sebepten ötürü çözücünün daha az kullanıldığı, ekstraksiyon süresinin minimize edildiği ve ideal ortam koşullarında yüksek sıcaklıkta çözünme kabiliyeti olan bileşiklerin ayrıştırılması ile süperkritik sıvı ekstraksiyonu (SFE) yöntemine ilgi gün geçtikçe artmaktadır (Yamani ve ark., 2008).

Bir çözücü ekstraksiyonu olan süperkritik sıvı ekstraksiyonunda (SFE) organik çözücüler yerine kullanılabilir süperkritik sıvı özelliği gösteren maddeler çözücü görevini üstlenmektedir. Şekil 3'te görüldüğü gibi bir maddenin, kritik basınç (Pc) ve

kritik sıcaklık (T_c) noktasının üzerinde bir değerde süperkritik sıvı özelliği gösterdiği görülmektedir. Süperkritik sıvı, bu noktada termofiziksel özellikleri açısından gaz ve sıvı arasındadır. Çözücü özelliğine sahip sıvı çözücüler, birçok maddeyi çözebilme kabiliyetinde olup aynı zamanda difüzyon katsayısının gazlara yakın olması sebebiyle de çözünen maddeyi daha hızlı yaymaktadır (Dinçer ve ark., 2007; Kılıç, 2008) (Şekil 3).



Şekil 3. Faz Diyagramı (Dinçer ve ark., 2007)

1.5 Anason (*Pimpinella anisum* L.)

Dünyada tarımsal üretim açısından Türkiye, varolan bitki türlerinin çeşitliliği ve iklim yapısı bakımından önemli bir yere sahiptir. Ayrıca bitki türleri arasında *Umbelliferae* (*Apiaceae*) familyasına ait türlerin ülkemizde fazla olması biyoçeşitliliğin bir göstergesidir (Aydın ve ark., 2014). Çoğunlukla ılıman iklim bölgelerinde yayılış gösteren *Umbelliferae* (*Apiaceae*) familyası dünyada yaklaşık 3000 tür ve 300 cins içeren bitkilerden oluşmaktadır (Heywood ve ark., 2007). Bunlardan Doğu Akdeniz Bölgesi, Batı Asya, Orta Doğu, Meksika, Mısır ve İspanya'da yetişen ve en eski şifalı bitkilerden olan anason (*Pimpinella anisum* L.); tek yıllık, beyaz çiçekli, boyu yaklaşık 30-50 cm, çiçekleri şemsiye biçiminde açılan, meyveleri 3-6 mm uzunlukta ve 1-3 mm genişlikte, kısa saplı, küçük yeşil-sarı tohumları olan ters armut biçiminde otsu bir bitkidir (Shojai ve Fard, 2012). Şekil 4'te anason bitkisi ve tohumu verilmiştir.



Şekil 4. Anason (*Pimpinella anisum* L.) bitkisi ve tohumu

Ülkemiz için ekonomik değere sahip olan anason bitkisi ihracı yapılan materyaller arasındadır (Doğan ve ark., 2015). 2015-2022 yılları arasında Türkiye’de üretimi yapılan anason bitkisinin ekim alanları, toplam üretim miktarları ve verimini içeren değerler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. 2015-2022 yılları arasında Türkiye’de üretimi yapılan anason bitkisinin ekim alanları, toplam üretim miktarları ve verimi (Anonim, 2023)

Yıl	Alan (Dekar)	Üretim (Ton)	Verim (kg/Dekar)
2015	138118	9050	66
2016	136552	9491	70
2017	121833	8418	69
2018	124455	8664	70
2019	239171	17589	74
2020	155317	10716	69
2021	110712	6936	63
2022	87616	5878	67

Kaynak: TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu)

Anason; eczacılık, parfüm, kozmetik ve gıda sanayisinde kullanılan önemli bir tıbbi ve aromatik bitkidir. İçerisinde bulunan uçucu yağın antioksidan, antispazmodik,

antimikrobiyal, antifungal ve insektisidal özellikleri bulunmaktadır. Anasonun hazmı kolaylaştırıcı, iştah açıcı, şişkinlik giderici özelliklerinin yanı sıra nezle tedavisinde dispeptik şikâyetlerde ve hafif balgam söktürücü olarak tıbbi alanda kullanımları mevcuttur (Tirapelli ve ark., 2007; Blumenthal, 1999). Ayrıca ülkemizde baharat ve tıbbi kullanımı haricinde çoğunlukla gıda endüstrisinde rakı üretiminde aroma verici olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde anason yaklaşık olarak 10 bin ton üretilmekte olup bu oranın 7 bin ton kadarı gıda endüstrisinden rakı üretiminde rakının aromalize edilmesinde kullanım gösterirken 3 bin ton kadarının ise dış ülkelere ihracı sağlanmaktadır (Tabanca ve ark., 2006; Samojlik ve ark., 2012).



2 MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

Araştırmada, Mardin ilinde yetiştirilen anason bitkisi tohumları Şekil 5’te görüldüğü gibi kurutulmuş halde temin edilerek incelenmeye alınmıştır (Şekil 5).



Şekil 5. Araştırmada kullanılan anason bitkisi tohumu

2.1.1 Araştırmada Kullanılan Test Mikroorganizmaları, Temini ve Saklanma Koşulları

Yapılan analizlerde yer alan ve aşağı kısımda olan fungal bakterilerin saf haldeki izolatları Amerika Birleşik Devletleri Tarım Araştırma Servisi Kültür Koleksiyonu (NRRL), Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (ATCC) ve Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ve ticari kültür depolarından getirtilmiştir. Bakteri olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Proteus vulgaris* NRRL B-123, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* NRRL B-4378, *Streptomyces griseolus* NRRL B-1062, *Pseudomonas citronellosis* NRRL B-2504, *Bacillus velezensis* NRRL B-14580, *Gordonia rubripertincta* NRRL B-3906, *Escherichia coli* ATCC 8739, maya olarak *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC 2001, *Candida krusei* ATCC 6258 izolatlarından yararlanılmıştır.

Araştırma için kullanılmış olan bütün mikroorganizmalar -85°C’de ve %15 gliserolde muhafaza edilmiştir. Analizlerde fungal ve bakteri kültür izolatlarının devamlılığı için MHA (Sigma M-9552), SDA (Sabouraud dekstroz agar) (Fluka 84088), Nutrient Agar (NA) (Merck 1.05450.0500) ile Patates Dekstroz Agar (PDA) (Merck 1.10130) besiyerlerinden faydalanılmıştır. Yine belirli zaman aralıkları fungal ve bakteri kültür izolatlarının alt kültürleri elde edilerek +4°C’de bekletilmiştir. Antibakteriyel aktivite özellikleri tespitinde besiyerlerinden ve mikrodilüsyon metotları için RPMI 1640 faydalanılmıştır.

2.1.2 Mikroorganizmaların Çoğaltılmasında Kullanılan Besiyerler

İzolat suş depolarından Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerinden bakteri izolatları, petride hazır halde bulunan agar üzerinden fungal izolatlar temin edilmiştir. Temin edilen fungal izolatlar PDA besiyerine, bakteri izolatları MHB (Mueller Hinton Broth) (Merck 1.10293) sıvı izolat materyallerine aktarım yapılarak mikroorganizma çoğaltma işlemi yapılmıştır (Özşen, 2011). Araştırmada bulunan maddelerin belirlenen bakteriler ve fungala karşı antibakteriyel özelliklerinin tespitinde Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI)’nde belirlenen metotlar esas alınmıştır. Bu esas alınana metotlardan mikrodilüsyon yöntemleri, bakteriler M100-S16, funguslar M38-A2 ve mayalar M27-A2 gibi faktörlerde değişiklikler yapılarak analizleri yapılmıştır (M38-A2, 2008; M100-S16, 2006; M27-A2, 2002). Antifungal deney analizleri için standart ilaç olarak amfoterisin B ve ketokonazol, antibakteriyel analizler için ise standart ilaç olarak kloramfenikol ve tetrasiklin kullanılmıştır.

2.1.3 Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Analizlerde bulunan bütün kimyasal maddeler analitik derecede saflıkta olup neokuproine, NaOH, etil asetat, dietil eter, metanol, etanol Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Germany) ve Merck (Darmstadt, Germany) gibi satıcılarından tedarik edilmiştir. Folin-Ciocalteu’s, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]), TPTZ (2,4,6-tri (2-pridil)-S-triazin), phenol reaktifi, Fluka Chemie GmbH (Buchs, Switzerland)’dan temin edilirken 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametil kroman-2-karboksilik asit (Trolox[®]) ise Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Germany) satıcısından temin edilmiştir. Kullanılan diğer kimyasallardan sodyum karbonat, H₂SO₄, HCl,

ferrik klorür, sodyum asetat, KCl, karbon tetraklorür ve glasial asetik asit Merck (Darmstadt, Germany) satıcısından temin edilmiştir.

2.1.4 Araştırmada Kullanılan Cihaz ve Aletler

Araştırma kapsamında kullanılan kimyasal malzemeler, makineler ve tedarik edilen satıcılar Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Araştırmada Kullanılan cihazlar, marka ve modelleri

Cihaz Adı	Marka / Model
HPLC	IKA, China
GC-MS	Shimadzu QP 2010, Japan
Evaporatör	Elite LaChrom, Hitachi, Japonya
UV-VIS Spektrofotometre	Shimadzu, Japan
Çalkalayıcı	Heidolph
Hassas Terazı	IKA, China
Karıştırıcı Su Banyosu	Nüve, ST402, Ankara, Türkiye
Vorteks Karıştırıcı	Labnet VX 100, Inc. NJ, USA
Manyetik Karıştırıcı	IKA, China
Yarı otomatik Pipet	Eppendorf
Etüv	Binder ED 53, Germany

2.1.5 Analizlerde Kullanılacak Olan Numune Çözeltisinin Hazırlanması

Mardin ilinden tedarik edilen anason (*Pimpinella anisum* L.) bitkisinin tohumları bıçaklı blender yardımıyla toz formuna getirilmiştir. Toz haline getirilen anason (*Pimpinella anisum* L.) miktarı 10,51 g olarak tartılarak ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Ekstraksiyon işlemi 24 saat boyunca metanol çözücüsü içerisinde çalkalayıcı makinasında karıştırılarak yapılmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonunda süzgeç kağıdı yardımı ile süzülerek belirli hacime ulaşınca kadar metanol eklenmiştir (Şekil 6). İşlem sonunda hazırlanan bitki ekstraktı; Toplam Flavonoid, DPPH•, CUPRAC, Toplam Polifenol ve FRAP gibi analiz metotlarından faydalanılarak antioksidan aktiviteleri tespit edilmiştir.



Şekil 6. Analizlerde kullanılacak bitki örneklerinin ekstraksiyonu

2.2 Antioksidan Analizleri

Anason (*Pimpinella anisum* L.) bitkisinin antioksidan aktivitelerini tespit etmek için toplam falvonoid ve fenolik madde tayini, CUPRAC, DPPH ve FRAP metodu gibi farklı yöntemler kullanılmış olup (Şekil 7) UV/VIS Spektrofotometre cihazı (Şekil 8) ile absorbans değişim aralıkları ölçülmüştür.



Şekil 7. Antioksidan aktivite deney çalışmaları



Şekil 8. UV/VIS spektrofotometre cihazı

Araştırma kapsamında kullanılan antioksidan aktivite içeriklerini tespit etme yöntemleri ayrı ayrı başlıklar altında açıklanmıştır.

2.2.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Toplam fenolik madde içerik miktarı Tablo 3'te belirtildiği gibi 1977 yılında yapılan araştırmalar sonucunda araştırmacıların belirlediği analiz yöntemlerinden faydalanılmıştır (Slinkard ve Singleton, 1977). Belirlenen yönteme göre örnek içerisindeki toplam çözünabilir fenolik bileşik, Folin-Ciocalteu bileşiği ile 760 nm absorbansta renkli görünümde büyük bir karmaşık kompleks oluşturmaktadır. Bu özellikten faydalanılarak gallik asit standardı ile çalışma grafiği hazırlanmış olup belirtilen grafiğe göre elde edilen sonuçlar yorumlanmıştır.

Tablo 3. Toplam fenolik madde içerik analizinin deney şartları

	Kör	Standart	Numune
Saf Su	700 µL	680 µL	680 µL
Standart (çeşitli konsantrasyonlarda)	-	20 µL	-
Numune	-	-	20 µL
0,5 N Folin Reaktifi	400 µL	400 µL	400 µL
Tüpleri karıştırıp, 3 dakikalık inkübasyondan sonra			
%10 Na ₂ CO ₃	400 µL	400 µL	400 µL
Örnekler 2 saat bekletildikten sonra 760 nm absorbans kullanılarak ölçüm yapılır.			

2.2.2 Toplam Flavonoid Madde İçerik Tayini

Örneklerin toplam flavonoid madde içerik oranları belirlenirken Zhishen ve arkadaşları tarafından kullanılan yöntem ile tespit edilmiştir (Tablo 4). Bu metota göre flavon ve flavonollerin yapısında bulunan hidroksil grupları ve keto grubunun alüminyum klorür bileşiği ile asidik ortamda reaksiyona girmeleri ile kararlı bileşik oluşmaktadır. Aynı zamanda alüminyum klorür fenolik bileşik olan flavonoidin içerdiği dihidroksil yapıları ile de kimyasal bir bileşik oluşturmaktadır.

Yapılan analizlerde standart olarak 1-0,03125 mg/mL konsantrasyonuna sahip kuersetin bileşiğinden yararlanılmıştır. Bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerlerinden faydalanılarak analizler için standart çalışma grafik eğrisi oluşturulmuştur (Zhishen ve ark., 1999).

Tablo 4. Toplam flavonoid içerik analiz şartları

	Kör	Standart	Numune
Bitki numunesi	—	—	0,5 mL
Std.	—	0,5 mL	—
Metanol	4,8 mL	4,3 mL	4,3 mL
%10 Al(NO ₃) ₃	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL
1M			
NH ₄ CH ₃ COO ⁻	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL

40 dk. bekledikten sonra 415 nm absorbansta ölçümler yapılır.

2.2.3 CUPRAC (Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Analizi

Kullanılan bu metotta (Tablo 5), Neokuproin-Nc'nin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) Cu(II) ile kamaşık bir kompleks oluşturmaktadır. Meydana gelen bu kompleks yapı Cu(II)-neokuproin (Cu(II)-Nc) absorbans olarak 450 nm'de Cu(I)- neokuproin [Cu(I)-Nc] kelatına elektron alma (indirgenme) kapasitesinden yararlanılarak antioksidan aktiviteleri ölçülmektedir (Apak ve ark., 2004).

Analiz için standart olarak 1-0,03125 mM konsantrasyona sahip Troloks® bileşiğinden faydalanılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen sonuçlar TEAC (Troloks® eşdeğeri antioksidan özellik) türünden yazılmıştır.

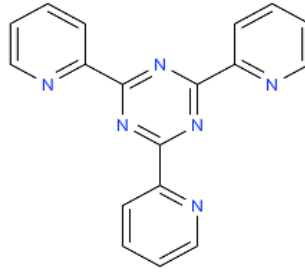
Tablo 5. CUPRAC analiz şartları

	Kör	Standart	Numune
10mM CuCl ₂	1 mL	1 mL	1 mL
7,5 mM <i>Neocuproin</i>	1 mL	1 mL	1 mL
NH ₄ CH ₃ COO ⁻ Tamponu (1M pH 7,0)	1 mL	1 mL	1 mL
Standart	-	0.2 mL	-
Numune	-	-	0.2 mL
Su	1.1 mL	0.9 mL	0.9 mL
60 dakika beklemeden sonra 450 nm absorbansta ölçümler alınır.			

2.2.4 FRAP (Fe⁺³ İndirgeme Gücü) Deneyi

FRAP yöntemi Benzie ve Strain tarafından 1996 yılında önerilen yönteme göre analiz edilmiştir (Tablo 6). Demir iyonunun tripiridiltriazin (Şekil 9) ile kompleks oluşturması demirin indirgenme temeline dayanmaktadır. Bu yönteme göre düşük pH aralığında ferrik tripiridiltriazin yapısı (Fe⁺³-TPTZ) mevcut antioksidan maddeler ile ferröz yapısına (Fe⁺²-TPTZ) indirgenmesi meydana gelir. Meydana gelen bu yeni indirgenme yapısının 593 nm’de verdiği absorban değerleri kaydedilir. Böylelikle bileşikteki elektron kaybetmenin antioksidan bileşiklerin toplam indirgeme gücüyle orantılı olduğu düşünülmektedir (Huang ve ark., 2005; Benzie ve Strain, 1996).

Anason bitkisinin tohumun metanol içindeki özütünün analiz sonucunda meydana gelen FRAP sonucu TEAC (Troloks eşdeğeri) değer olarak µmol Troloks/g olacak şekilde verilmiştir.



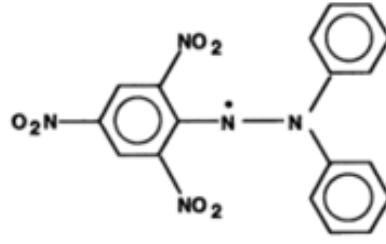
Şekil 9. TPTZ (Tripiridiltriazin)

Tablo 6. FRAP analiz şartları

	Kör	Standart	Numune
FRAP Reaktifi	3 mL	3 mL	3 mL
Numune	-	-	100 µL
Troloks (Değişen kons.)	-	100 µL	-
Destile Su	100 µL	-	-
4 dakika bekletildikten sonra 593 nm absorbans kullanılarak ölçüm yapılır.			

2.2.5 DPPH• Radikali Süpürme Etkisinin Analizi

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) (Şekil 10) hazır olarak temin edilmiş ve analizde çözücü olarak metanol konsantrasyon oranı 4 mg/100 mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Bitkiden elde edilen ekstraktların farklı konsantrasyonlarında çalışılmış olup bu örneklerin üzerine eşit hacimde olacak şekilde 750 µL miktarında DPPH• çözelti şekli ilave edilerek karanlıkta olacak şekilde ve oda sıcaklığı ortamında 1 sa bekleme bırakılmıştır. Bu süre sonucunda DPPH•'ın en yüksek absorbans değeri verdiği aralık 517 nm'de ölçümler yapılmıştır. Analiz sonucunda konsantrasyonlara karşılık gelen absorbanslar grafiği elde edilmiştir (Molyneux, 2004). Çizilen grafikten faydalanılarak %50 inhibisyon olarak adlandırılan IC₅₀ sayıları mg/mL türünden hesaplanarak verilmiştir. Bu DPPH• radikal temizleme testinde Troloks standart olarak kullanılmış olup grafikten elde edilen hesaplama sonuçlarında örnek konsantrasyon değeri ile standart olarak kullanılan troloksun değeri ne kadar birbirine yakın ise DPPH• antioksidan özelliği o kadar iyi olduğu sonucuna erişilmektedir.

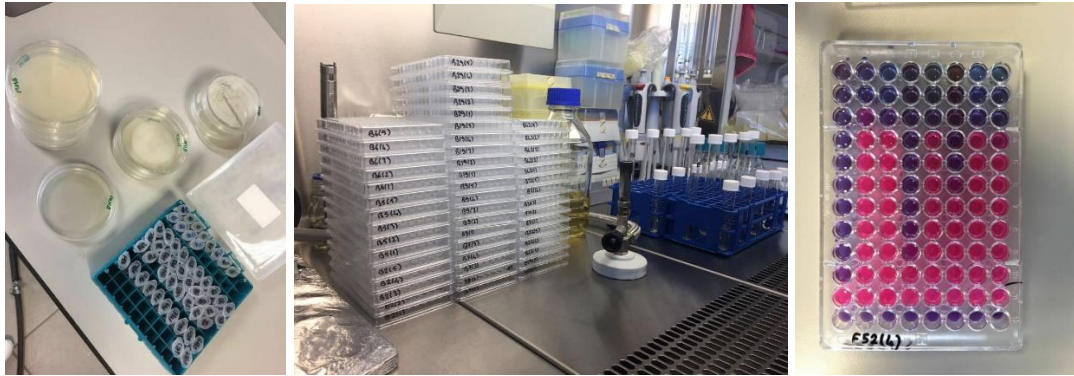


Şekil 10. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)

2.3 Antimikrobiyal Aktivite Analizi

Anason (*Pimpinella anisum* L.) tohumunun in vitro ortamında antimikrobiyal ve antifungal kapasitelerini araştırmak amacıyla Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından belirtilen sıvı mikrodilüsyon metodundan yararlanılmıştır (Amsterdam, 1996).

Antifungal maddede standart olarak olarak ketokonazol ve amfoterisin B bileşikleri kullanılmakta iken antimikrobiyal madde olarak tetrasiklin ve kloramfenikol bileşiklerinden faydalanılmıştır. Kullanılan bu standartlar Sigma firmasından hazır olarak tedarik edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite analizinde kullanılan bütün analizler iki bağımsız testte iki kez tekrarlanacak şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 11).



Şekil 11. Antimikrobiyal aktivite analiz çalışmaları

2.3.1 Bakterilerin Tespitinde Kullanılan Sıvı Mikrodilüsyon Analizi

Sıvı mikrodilüsyon analizi, CLSI, M100-S16 literatürüne göre belirlenmiştir (M100-S16, 2006). Anason (*Pimpinella anisum* L.) bitkisinin minimum inhibe edici konsantrasyonu (MİK), 96 oyuklu mikrotiter plaklardan yararlanılarak sıvı

mikrodilüsyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bakteriyel solüsyonlar, çift kuvvetli Mueller-Hinton Broth (MHB) (Merck, Almanya) içerisinde bir gece boyunca büyümüştür. Yaklaşık değeri metrik olarak 10^8 CFU 1/mL'ye (Mac Farland No: 0.5 kullanılarak) ayarlanmıştır. Test örneği %10 DMSO çözücü kullanılarak çözdürülmüş olup ve MHB içinde konsantrasyonu 15,63-4000 µg/mL olacak şekilde seyreltilmiştir. Negatif kontrol için DMSO'dan faydalanılmıştır. Daha sonra süspansiyon için iki kez 100L MHB içinde seyreltme işlemi yapılmış olup bakteriyel izolatlar ile aşılama yapılarak 37 °C'de 24 sa bekletilmiştir. MİK'leri kontrol etmek için Sigmadan alınan Resazurin çözeltisi ilave edilmiştir. MİK son değeri %100 yani tam büyüme inhibisyonu ile minimum konsantrasyon olacak şekilde verilmiştir. Analiz sonucunda elden edilen değerler Sigmadan temin edilen standart kloramfenikol ve amfoterisin B benzeri bileşiklerin değerleri ile karşılaştırılmıştır.

2.3.2 Maya Suşlarının Tespitinde Kullanılan Sıvı Mikrodilüsyon Analizi

CLSI Broth mikrodilüsyon analizi aynı zamanda M27-A2 kuralında belirtildiği şekilde 96 oyuklu mikrotiter plaklar, RPMI-1640 (Sigma, Almanya) ortamı ve $0,5-2,5 \times 10^3$ hücre/mL'de (Mac Farland 0.5) aşılama yapılmıştır. Anason bitkisinin en son konsantrasyonları 250 ile 2000 µg/mL şeklindedir. MİK değerleri 37°C'de 24 saat bekletilerek elde edilmiştir. MİK dağarlarını kontrol etmek için Resazurin solüsyonu ilave edilmiştir. MİK son değeri %100 yani tam büyüme inhibisyonu ile minimum konsantrasyon olacak şekilde verilmiştir (M27-A2, 2002).

2.4 Uçucu Yağ Bileşikleri Analizi

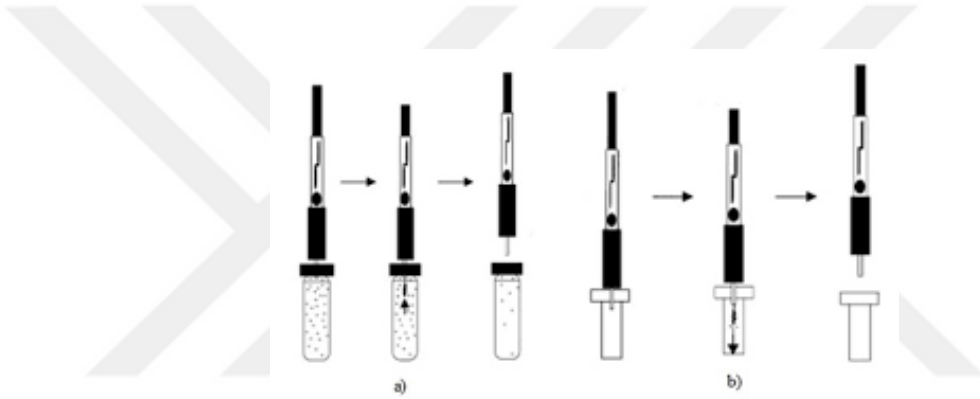
2.4.1 Katı Faz Mikroekstraksiyon Yöntemi (SPME)

Diğer metotlarla kıyasla katı faz mikro ekstraksiyonu pratik, daha ucuz, çözücü gerektirmeyen ve minimum süre gerektiren bir analiz yöntemidir. Bu sebepten ötürü uçucu yağ bileşen analizi için SPME metodu (Şekil 12) tercih edilmiştir.

Anason (*Pimpinella anisum* L.) bitki materyalinden 5g tartılarak blender yardımıyla küçük parçalar haline getirilmiştir. Sonrasında silikon-kauçuk septum kanatçıklı ağzı kapalı cam şişeye (10 mL) aktarılmıştır. Şişenin üst boşluk kısmına, katı fazlı mikro ekstraksiyon aparatı yerleştirilmiştir (Supelco, USA). Üst boşluk kısmına esansiyel

bileşikler açığa çıkması amacıyla bir DVB/Karboksen/PDMS kaplama lifi ilave edilmiştir. GC enjektöründe SPME lifleri, 5 dk süre ile 250°C’de sıcaklıkta bekletilmiştir. Ekstraksiyon, süre olarak 5 dk ve 10 dk bekletilerek 80°C sıcaklıkta manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak gerçekleştirilmiştir.

Esansiyel maddelerin özütüne sahip elyaf ardından GC enjektörüne ilave edilmiştir. 1 mL/dak akış hızı olacak şekilde taşıyıcı gaz olarak helyumdan faydalanılmıştır. Bölme modunda (1:30) 250°C sıcaklıkta enjeksiyon işlemi yapılmıştır. Analiz sonucunda bitki numunesi analiz edilmiş olup sonuçlar rapor haline getirilmiştir. Buradaki özütleme, sıcaklık ve bekleme süresi gibi deney faktörleri Renda ve ark. tarafından önerilen araştırmadaki koşullara göre yapılmıştır (Renda ve ark., 2016).

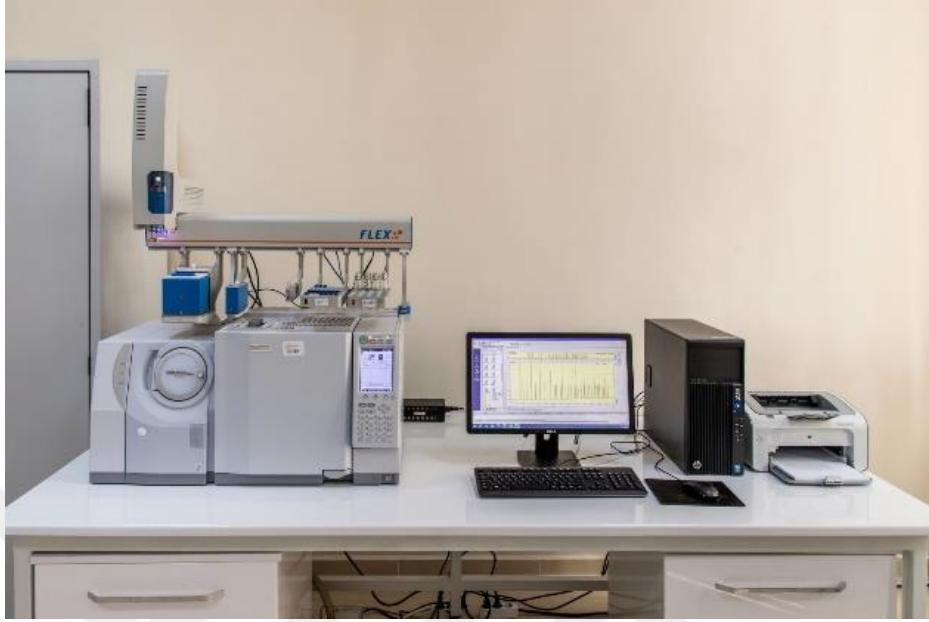


Şekil 12. SPME ekstraksiyon ve desorpsiyon prosedürü (Anonim, 1999)

2.4.2 Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS)

Analizde Shimadzu QP2010 Plus marka (Şekil 13) gaz kromatografisinden faydalanılmıştır. Bu cihazın kolonu 30m x 0.25 mm, film kalınlığı 0.25 um olan TRB-5MS kılcal kolondur. Analiz gaz kromatografisinin yine Shimadzu QP2010 Ultra marka kütle dedektörüne bağlanmasıyla gerçekleşmiştir. Bölme modu kullanılarak analiz yapılmış olup ve bölme miktarı 1:30’dur. Kullanılan fırın programının ise ilk ısıtma süresi 2 dk ve 40°C, daha sonra 3 dk ve sıcaklık 240°C’ye çıkmıştır. Son olarak ısıtma süresi ve sıcaklığı 4 dk 250°C’de örnek tutularak toplamda 55 dk süre boyunca analiz tamamlanmıştır. Enjektör sıcaklıkları ve kütle transfer hat sıcaklığı sırasıyla 250°C ve 200°C olacak şekilde ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak sabit akış değeri 1 mL/dk olan %99,999’luk helyum kullanılmıştır. Analiz elektronik darbe aralığında

(EI) yapıldı. 70 eV iyonizasyon gerilimi ile 40-400 m/z aralığı kütle elde etmek için kullanılan değerlerdir (Renda ve ark., 2016).



Şekil 13. Analizde kullanılan GC/MS cihazı

2.4.3 Analiz Sonucunda Elde Edilen Bileşenlerin Tanımlanması

C7-C30 alkan standartlarını kullanan Kovats yöntemi ile genel olarak maddelerin alıkonma indeksleri belirlenmiştir. (Kovats, 1958). Esansiyel yağların bileşenleri, FFNSC 1.3 kütüphane verilerinin (FFNSC, 2008) bileşiklerin sahip olduğu kütle spektrumları ile kıyaslama yapılarak teyit edilmiştir.

2.5 HPLC-UV İle Fenolik Bileşiklerin Analizi

Fenolik bileşen analizi için anason (*Pimpinella anisum* L.) bitkisinin ekstraktı çalkalayıcı üzerinde metanol içerisinde 24sa çalkalanarak yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilmiştir. Süre sonunda metanolik kısım süzgeç kağıdı yardımıyla süzülerek, döner buharlaştırıcı yardımıyla süzüntünün çözücüsü olan metanol uzaklaştırılmıştır. Kalan kalıntıya 10 mL pH'sı 2 olan destile su katılarak 3 defa 5'er mL sırası ile dietileter ve etilasetat çözüzüleriyle ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 14). Ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen kalıntı cam evaporatör balonuna konulup içerisinde bulunan çözücü maddeler 45°C sıcaklıktaki döner buharlaştırıcıda uçurulmuştur (Şekil 14). Daha sonra balon joje içerisindeki

ekstrakt kalıntısı 2 mL metanolle çözüldükten sonra örnek 0,45 µm filtreden süzülerek HPLC-UV (Şekil 15) ile fenolik bileşen madde tespiti yapılmıştır.



Şekil 14. Ekstraksiyon ve çözücü uçurma işlemi

HPLC-UV analizi dalga boyu 280-315 nm olacak şekilde UV-VIS dedektörle donanımlı (Agilent 1260 Infinity II) HPLC cihazında yapılmıştır. Analizler ters faz C18 kolonu (150 mm x 4.6 mm, 5µm; Fortis) alınarak ve asetik asit, su ve asetonitrille gradient program seçilerek gerçekleştirilmiştir. Cihazın A rezervuarında %2 asetik asit, B rezervuarında ise %70-30 asetonitril-saf su) bulunmaktadır. Ek olarak, numunelerin ve standartın enjeksiyon hacmi 20 µL, faz akış hızı 0,75 mL/dak, kolon sıcaklığı 30°C gibi optimum koşullar sağlanmıştır (Can ve ark., 2015).



Şekil 15. HPLC-UV cihazı

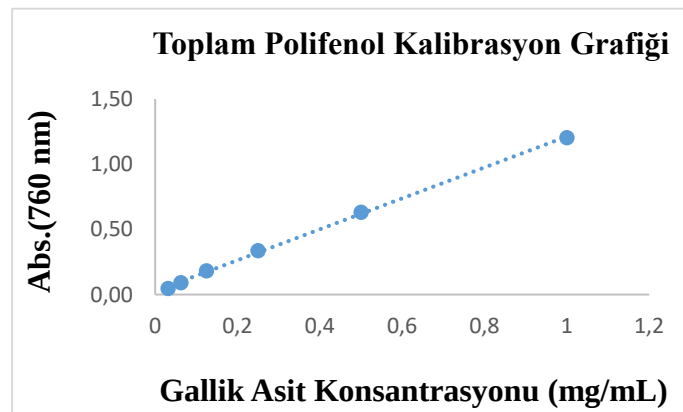
3 BULGULAR

3.1 Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Yapılan analizler sonucunda anason (*Pimpinella anisum* L.) bitkisi tohumunda antioksidan aktivite içerikleri tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite içerikleri tespiti için UV spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Analiz edilen örneklerin metanol ekstraksiyonları sonucunda hesaplanan toplam flavonoid mg Kuersetin/g numune olarak, toplam polifenol mgGAE/g olarak, CUPRAC değeri mmolTroloks/ g numune olarak, DPPH• değeri IC₅₀ mg/mL ve FRAP değeri µmolTE/g olarak hesaplanmış olup analiz sonuçları Tablo 7, Tablo 8 ve Şekil 20’de gösterilmiştir.

3.1.1 Toplam Fenolik Madde Analizi Sonucu

Toplam fenolik madde tespiti için öncelikle numunenin metanolik özütü hazırlanmıştır. Standart olarak gallik asit kullanılmıştır. Konsantrasyon değerleri x-sütununda olup 760 nm’de ölçülen absorbans sayıları ise y-sütununda yer alacak şekilde analize ait standart grafik çizilmiştir. Ortaya çıkan konsantrasyon değerleri absorbans değerleriyle standart grafikte doğru orantılı biçimde oluşan doğrunun denklemi $y=1,1865x + 0,0253$ ve $R^2=0,9991$ şeklinde olup Şekil 16’da gösterilmiştir. Çizilen bu standart çalışma grafiğinden faydalanılarak 100g numunede bulunan fenolik madde içeriği mg cinsinden gallik asit eşdeğeri olacak şekilde verilmiştir.

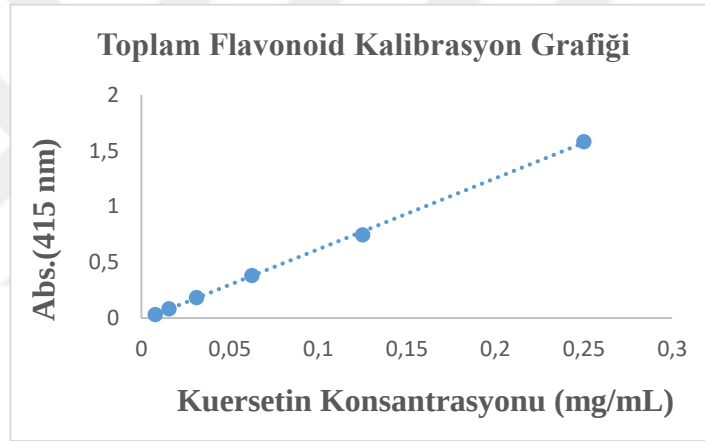


Şekil 16. Toplam fenolik madde kalibrasyon grafiği

Yapılan analiz sonucunda anason (*Pimpinella anisum* L.) bitkisi tohumunda toplam fenolik madde içeriği Tablo 7’de gösterildiği gibi $1,02 \pm 0,14$ mgGAE/g numune olarak ölçülmüştür.

3.1.2 Toplam Flavonoid Madde İçerik Analizi Sonucu

Flavonoid madde analizi için standart olarak Kuersetin bileşiği kullanılmıştır. Standart çalışma grafiğinde konsantrasyon değerleri x-ekseninde olup 415 nm’deki absorbans değerleri y-ekseninde olacak şekilde çizilmiştir. Şekil 17’de gösterildiği gibi grafikte oluşan doğrunun denklemi $y=6,3568x+0,0196$ ve $R^2=0,9994$ olarak hesaplanmıştır. Flavonoid madde içeriği sonucu mg cinsinden Kuersetin eşdeğeri olarak şekilde verilmiştir.

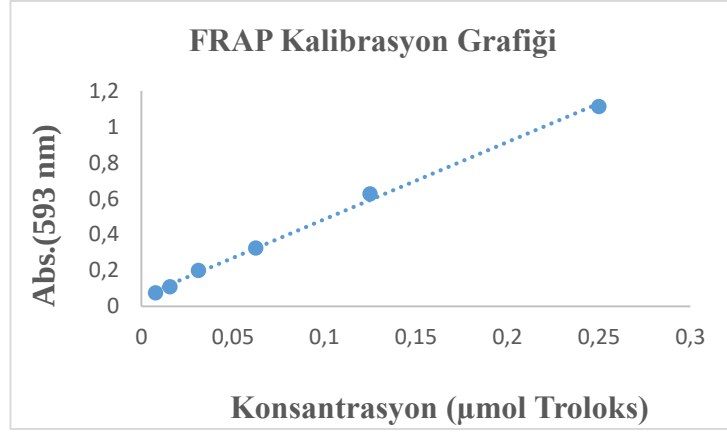


Şekil 17. Toplam flavonoid analizi kalibrasyon grafiği

Yapılan analiz sonucunda anason (*Pimpinella anisum* L.) bitkisi tohumunda toplam flavonoid madde miktarı $0,47 \pm 0,01$ mg Kuersetin/g numune olarak ölçülmüştür.

3.1.3 FRAP Analizi Sonucu

Ferric Reducing Antioxidant Power “FRAP” yönteminde Fe(III)-TPTZ yapısının indirgeme kapasitesi açığa çıkarılıp 1 mmol.L^{-1} Troloks eşdeğeri demir(III) indirgeme kapasitesi özelliğine sahip antioksidan konsantrasyon değeri belirlenmiştir. Troloksun çeşitli konsantrasyonlarından kalibrasyon eğrisi tespitinde faydalanılmıştır. Oluşturulan grafik Şekil 18’de verilmiştir.

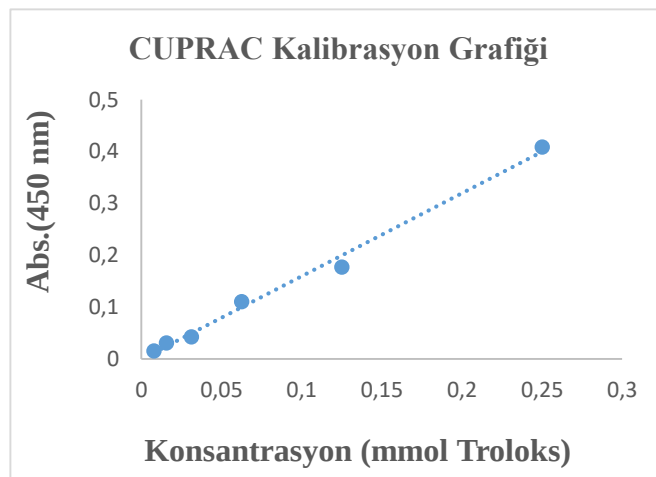


Şekil 18. FRAP kalibrasyon grafiği

Yapılan analiz sonucunda Tablo 7’de gösterildiği gibi anason (*Pimpinella anisum* L.) bitkisi tohumunda $0,01 \pm 0,00$ µmol FeSO₄.7H₂O/g numune değeri ile antioksidan aktivite göstermiştir.

3.1.4 CUPRAC Analizi Sonucu

Cu(II)-neokuproin yapısının (Cu(II)-Nc), 450 nm’de en yüksek absorbans gösteren Cu(I)- neokuproin [Cu(I)-Nc] yapısına elektron vererek indirgenme özelliğinden yararlanılarak antioksidan aktivitesi hesaplanmıştır. Troloksun çeşitli konsantrasyonlarından kalibrasyon eğrisi tespitinde faydalanılmıştır. Oluşturulan grafik Şekil 19’da verilmiştir.



Şekil 19. CUPRAC kalibrasyon grafiği

Yapılan analiz sonucunda anason (*Pimpinella anisum* L.) bitkisi tohumunda CUPRAC değeri Tablo 7’de gösterildiği gibi $0,08 \pm 0,00$ mmol TEAC/g numune değeri ile antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

3.1.5 DPPH• Analizi Sonucu

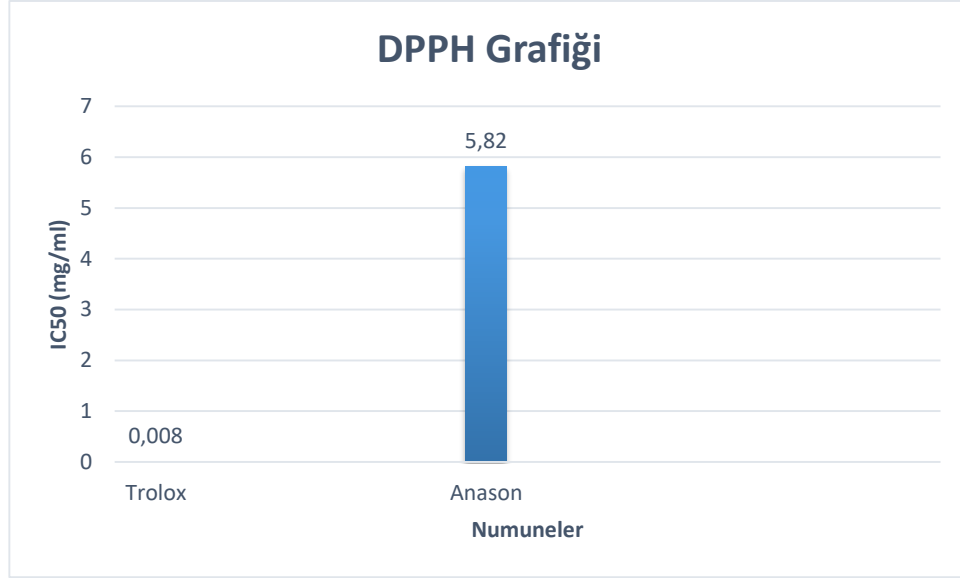
2,2-difenil-1-pikhidrazil radikali (DPPH•) radikal giderme aktivitesinde sıklıkla kullanım gösteren bir bileşik olup hazır tedarik edilmiştir. DPPH• analizi için 517 nm için ölçülen değerler y-ekseninde, artan numune konsantrasyonları ise x-ekseninde gösterilecek biçimde grafik çizilmiştir. Elde edilen bu grafikten faydalanılarak en yüksek absorbansın yarısına eşdeğer gelen örnek konsantrasyonu IC_{50} biçiminde gösterilmiştir. Antioksidan aktivite için örneğin mg/mL cinsinden değerleri bulunarak kıyaslama yapılmıştır.

DPPH• analizinde küçük IC_{50} değeri, yüksek radikal temizleme yeteneğini göstermektedir. Ne kadar küçük bir örnek kullanılırsa ve ne kadar çok örnekten radikal giderilirse, bu durum genellikle antioksidan gücünün arttığını gösterir.

Yapılan analiz sonucunda anason (*Pimpinella anisum* L.) bitkisi tohumunda DPPH• analiz sonucu Tablo 8 ve Şekil 20’de gösterildiği gibi antioksidan aktivite $IC_{50}=5,82$ mg/mL olarak tespit edilmiştir.

Tablo 7. Antioksidan aktivite sonuçları

Numune	FRAP Testi (μ mol FeSO ₄ .7H ₂ O/g numune)	CUPRAC Testi (mmol TEAC/g numune)	Toplam Polifenol Analizi (mgGAE/g numune)	Toplam Flavonoid Analizi (mg Kuersetin/g numune)
Anason	$0,01 \pm 0,00$	$0,08 \pm 0,00$	$1,02 \pm 0,14$	$0,47 \pm 0,01$



Şekil 20. DPPH• aktivitesi sonuç grafiği

Tablo 8. DPPH• antioksidan analiz sonuç değerleri

Numuneler	DPPH• Aktivite Sonucu (mg/mL)
Troloks	0,008
Anason	5,82

3.2 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Analiz için elde edilen bitki özütlerinden antioksidan aktiviteleriyle birlikte Tablo 9’da görüldüğü gibi 3 tanesi maya suşu ve 10 tane bakteri olacak şekilde toplamda 13 adet mikroorganizmaya karşı aktivite durumları incelenmiştir. Seçilen mikroorganizmalar, günümüzde pek çok bilim adamlarınca araştırma konusu bulan mikroorganizmalardır. Antimikrobiyal analizler için MİK testi CLSI’den (maya suşları için; M27-A2, fungus izolatları için; M38-A2 ve bakteri kültürleri için; M100-S16) faydalanılarak analiz edilmiştir.

Tablo 9. *Pimpinella anisum* L.’nin antimikrobiyal aktivite sonuçları (µg/mL)

Bakteri	Anason	Kloramfenikol	Tetrasiklin
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	>	0.5	0.125
<i>Proteus vulgaris</i> NRRL B-123	1000	0.5	8
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	2000	0.125	0.25

Tablo 9 *Pimpinella anisum* L.'nin antimikrobiyal aktivite sonuçları (µg/mL) (devamı)

<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	>	1	8
<i>Bacillus subtilis</i> NRRL B-4378	2000	0.125	0.125
<i>Streptomyces griseolus</i>	2000	0.125	0.125
<i>Pseudomonas citronellosis</i>	>	1	0.25
<i>Bacillus velezensis</i>	1000	4	4
<i>Gordonia rubripertincta</i>	1000	0.125	0.25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	2000	0.25	1
Maya Suşu (<i>Candida</i>)	Anason	Amfoterisin B	Ketokonazol
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	500	0.25	0.0625
<i>Candida glabrata</i> ATCC 2001	250	0.125	0.0625
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	500	0.25	0.125

Antimikrobiyal tayin sonuçlarına göre, *Pimpinella anisum* L. bitki tohum özütünün, deneyde kullanılan test bakterilerinden ziyade candida türleri üzerinde etkili olduğu yani antifungal aktivite sergilediği gözlemlenmiştir. *Candida glabrata* ATCC 2001 (Cg) ve *Candida krusei* ATCC 6258 (Ck) gibi maya suşlarına karşı 250 µg/mL konsantrasyonunda antifungal aktivite gösterirken, *Candida albicans* ATCC 90028'e karşı ise 500 µg/mL konsantrasyonunda antifungal aktivite sergilediği belirlenmiştir. Test bakterilerinin çoğuna karşı ise 1000 veya 2000 µg/mL değeriyle antibakteriyel aktivite sergilediği görülmüştür.

3.3 Uçucu Yağ Bileşiklerinin Analiz Sonuçları

Pimpinella anisum L.'dan elde edilen uçucu yağın GC/MS cihazı ile gerçekleştirilen analiz sonucunda 33 tane bileşen tanımlanmıştır. Tanımlanan bu bileşikler monoterpenler, monoterpenoidler, sesquiterpene, makrolid, aldehitler, ketonlar, alkoller, yağ asitleri, eter, esterler, hidrokarbonlar, diğer olmak üzere 12 sınıfa ayrılarak Tablo 10'da gösterilmiştir. Kimyasal bileşenler, kütüphane ve literatür verilerine incelemelerine (FFNSC, 2008) dayalı olarak formüle edilmiştir.

Tablo 10. *Pimpinella anisum* L. uçucu yağının GC/MS’de belirlenen bileşenleri

No	Bileşikler	RT (dak) (Alıkonma zamanı)	Alan %	^a RI (İndeks)
Monoterpenler				
1	Linalool	15.069	0.46	1460
2	Carvacrol	22.564	0.98	921
3	Limonene	12.094	0.28	1026
	Total		1.72	
Monoterpenoidler				
4	Isoisopulegol	17.950	0.19	1180
5	Carvone	20.456	0.34	1248
6	Eugenol	29.515	0.31	1516
7	Dihydro-(E)-carvone	49.737	0.16	2291
	Total		1.00	
Sesquiterpene				
8	Beta-chamigrene	29.304	1.04	1486
Makrolid				
9	Ethylene brassylate	33.331	0.61	1642
Aldehitler				
10	Capraldehyde	50.056	0.61	1210
11	(E)-Tridec-2-enal	50.707	0.56	2369
12	2-isopropyl-5-methyl-2-hexenal	51.400	0.23	2368
13	Tetradecanal	52.904	0.32	2355
	Total		1.72	
Ketonlar				
14	Acetoin	1.641	0.63	713
15	p- acetonylanisole	25.390	0.13	1389
16	Menthallactone	27.328	3.55	1448
	Total		4.31	
Alkoller				
17	2-ethyl hexanol	12.386	0.16	1030
18	Benzyl alcohol	12.514	0.18	1038
19	Civetone	52.339	0.28	2490
	Total		0.62	

Tablo 10 *Pimpinella anisum* L. uçucu yağının GC/MS’de belirlenen bileşenleri (devam)

Yağ Asitleri				
20	2-methyl butyric acid	6163	5.12	858
21	Valeric acid	10.550	0.15	987
22	Caproic acid	31.863	0.21	1594
23	Palmitic acid	42.161	2.28	1950
24	16-hydroxy hexadec-6-enoic acid omega lactone	45.465	1.38	2103
	Total		9.14	
Eter				
25	(Z)-Anethole	21.967	45.23	1289
Esterler				
26	Ethyl lactate	4.4460	0.28	800
27	Diethyl phthalate	32.144	1.88	1602
28	Methyl palmitate	41.308	0.38	1925
29	Pentadecanolide	46.504	26.99	2109
	Total		29.65	
Hidrokarbonlar				
30	Methyl eugenol	26.101	0.18	1410
31	Hexadecane	32.281	0.20	1606
32	Tridecane	35.194	0.12	1706
	Total		0.5	
Diğer				
33	Tanımlanamayanlar	1.119-50.266	0.12-0.74	-
	Total		4.46	
Total percentages			100	

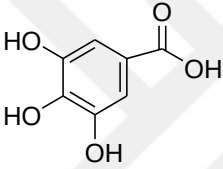
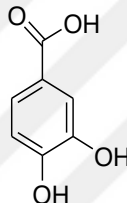
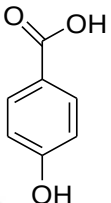
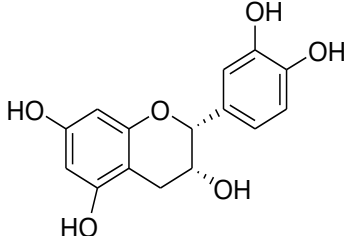
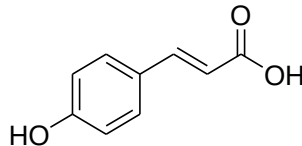
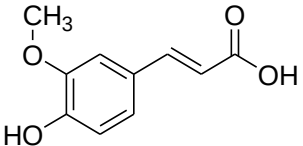
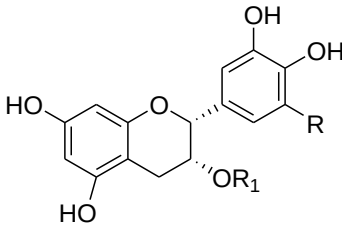
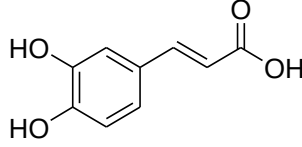
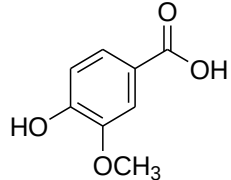
^aRI değerleri, polar olmayan TRB-5MS kolonunda, (C7-C30) alkanlarınkine göre alıkonma sürelerinden hesaplanmıştır. Kalın değerler ana bileşenleri temsil eder.

Elde edilen bulgulara göre, phenethyl alcohol bileşiği kolondan ilk çıkan bileşik olmuştur (RT=2937 dk), ancak en uzun alıkonma süresine sahip bileşiği tetracosane olmuştur (RT=52.274 dk). (Z)-Anethole eteri (%45.23), pentadecanolide esteri (%26.99), 2-methyl butyric acid yağ asidi (%5.12) ve menthalactone ketonu (%3.55) bileşikleri, en yüksek oranlara sahip olduklarından dolayı ana bileşenler olarak tanımlanmıştır. Diğer bileşenler; palmitic acid (%2.28), diethyl phthalate (%1.88), 16-hydroxy hexadec-6-enoic acid omega lactone (%1.38) ve beta-chamigrene (%1.04) şeklinde bulunmuştur. Geri kalan bileşenlerin içeriği, %1'den daha düşüktür.

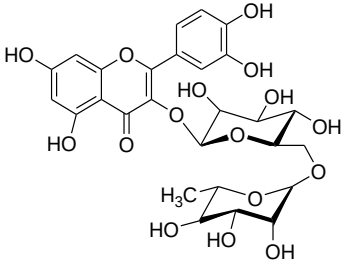
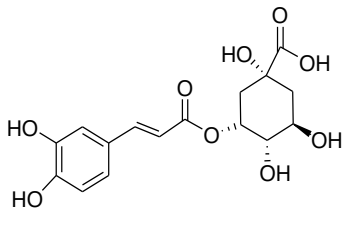
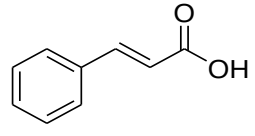
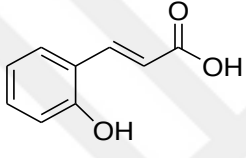
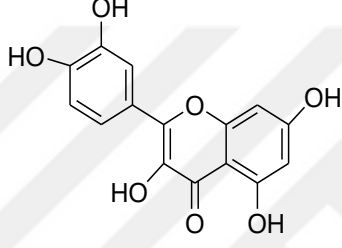
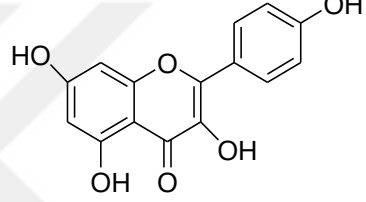
3.4 HPLC-UV ile Fenolik Bileşen Analiz Sonucu

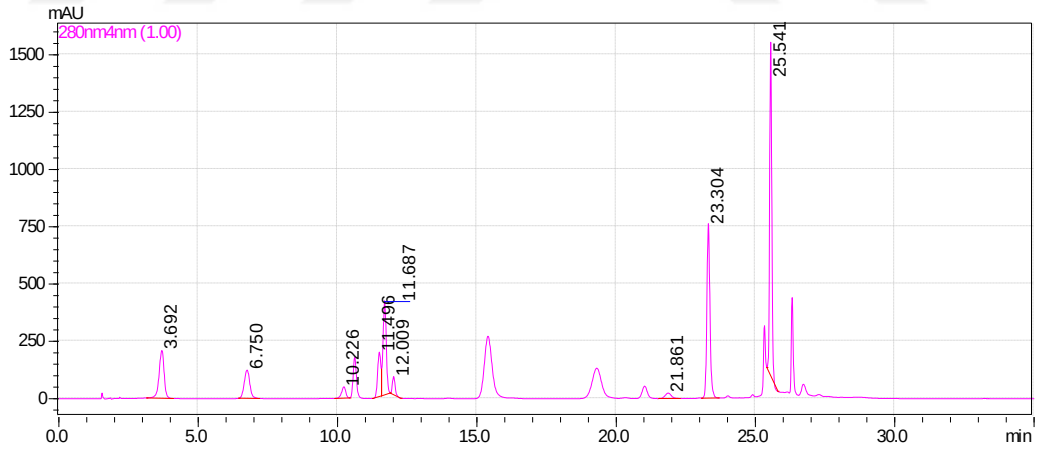
Analiz için hazırlanan numunenin metanol içinde hazırlanan özütü döner buharlaştırıcıda çözücü uzaklaştırıldıktan sonra etil asetat ve dietil eter ile ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte sonrası geriye kalan kalıntı kısmına metanol ilave edilip HPLC-UV cihazına konularak sonuçlar kaydedilmiştir. Mobil faz olarak su, asetik asit ve asetonitril kullanılmıştır. Numunenin elüsyon değeri ve kolonu terk etme zamanı Tablo 11’de gösterilen 15 tane standart fenolik maddenin elüsyon değerleri ile kıyaslanmıştır. Fenolik bileşenlerin alıkonma zamanları (Tablo 12, Tablo 13) ve standartlara ait farklı görünümdeki dalga boyundaki kromatogramlar (Şekil 21, Şekil 22) aşağıda gösterilmektedir.

Tablo 11. HPLC’de kullanılan standart fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları

		
Gallik Asit	Protokatekuik asit	<i>p</i> -OH benzoik asit
		
Epikateşin	<i>p</i> -Kumarik asit	Ferulik asit
		
Kateşin	Kafeik asit	Vanilik asit

Tablo 11 HPLC analizinde kullanılan standart fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları
(devam)

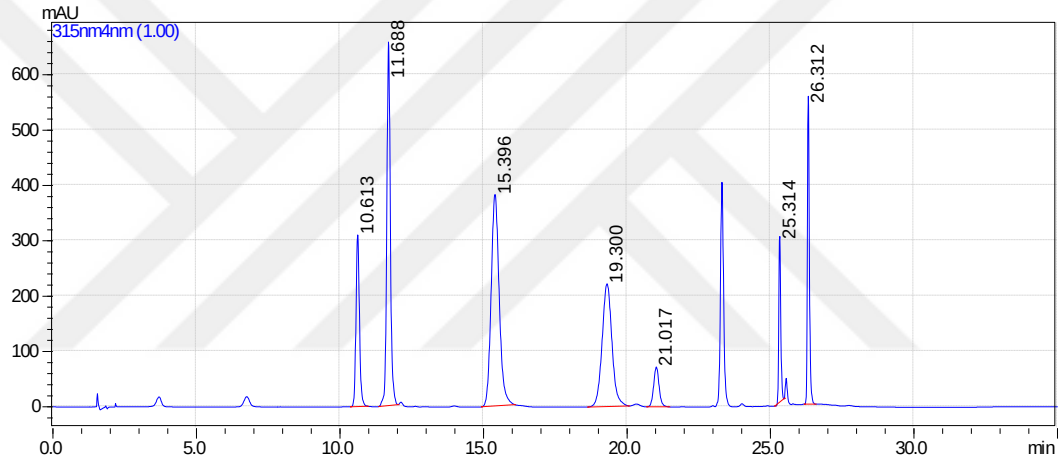
		
Rutin	Klorojenik asit	<i>t</i> -Sinamik asit
		
<i>o</i> -Kumarik asit	Kuersitin	Kaemferol



Şekil 21. 15 adet fenolik standartın 280 nm'deki HPLC-UV kromatogramı

Tablo 12. 280 nm’de görülen standart fenolik bileşikler ve alıkonma zamanları

Bileşik	RT (Alıkonma zamanı)
1. Gallik Asit	3,70
2. Protokatekuik asit	6,75
3. Kateşin	10,22
4. Vanilik asit	11,49
5. Epikatesin	12,01
6. <i>p</i> -OH benzoik asit	21,86
7. <i>o</i> -kumarik asit	23,30
8. t-sinnamik asit	25,54

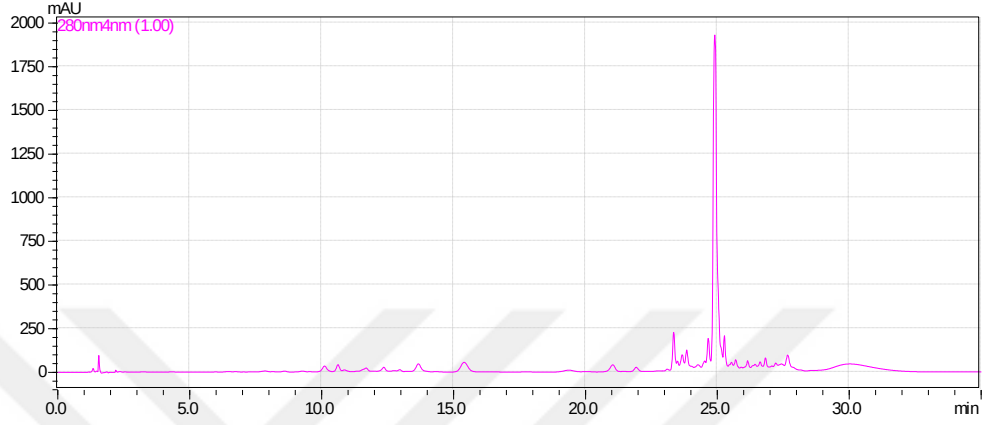


Şekil 22. 15 adet fenolik standartın 315 nm’deki HPLC-UV kromatogramı

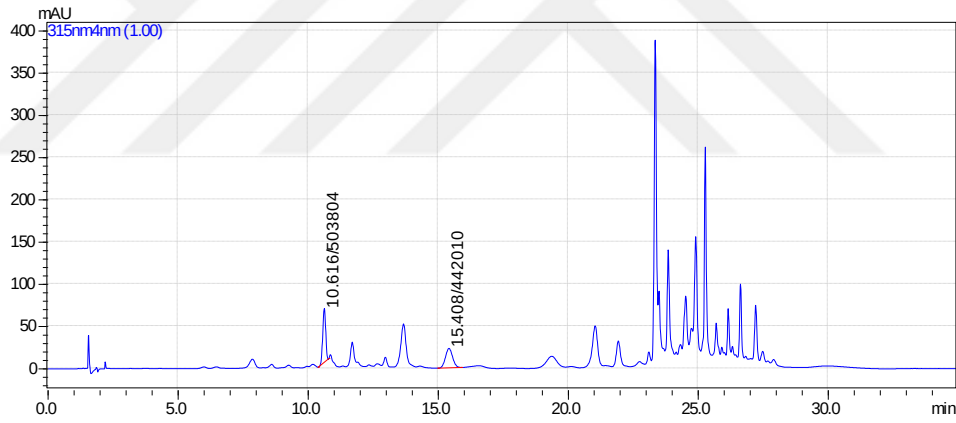
Tablo 13. 315 nm’de görülen standart fenolik bileşikler ve alıkonma zamanları

Bileşik	RT (Alıkonma zamanı)
1.Klorojenik asit	10,61
2.Kafeik asit	11,69
3. <i>p</i> -kumarik asit	15,39
4.Ferulik asit	19,30
5.Rutin	21,02
6.Kuersetin	25,31
7. Kaemferol	26,31

HPLC analizi sonucunda, Şekil 23 ve Şekil 24 incelendiğinde kullanılan 15 adet standart fenolik bileşikten anason tohumunda p-kumarik ve klorojenik asit bulunmuştur. Klorojenik asit miktarı; 11,91 ppm (%2,1); p-kumarik asit miktarı; 3,59 ppm (%0,6) olarak tespit edilmiştir.



Şekil 23. Anason bitkisinin 280 nm'deki HPLC-UV kromatogramı



Şekil 24. Anason bitkisinin 315 nm'deki HPLC-UV kromatogramı

4 TARTIŞMA

Yaklaşık olarak dünya nüfusunun %70-80'i, bitki kaynaklı geleneksel tıp uygulamalarıyla tedavi görmektedir. Ülkemizde sıkça tüketilen tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan potansiyelleri, uçucu yağları ve fenolik madde içerikleri üzerine yapılan çalışmaların sayısı oldukça kısıtlıdır. Bu sebepten ötürü, bu tez çalışmasının amacı kurutulmuş halde temin edilen anason (*Pimpinella anisum* L.) bitki tohumunun toplam fenolik ve toplam flavonoid madde içeriğinin, farklı metotlarla antioksidan özelliklerinin, uçucu yağ içeriklerinin ve fenolik kompozisyonunun belirlenmesidir.

Anason, eczacılık, parfüm ve gıda endüstrisinde kullanılan önemli bir baharat ve tıbbi bitkidir. Uçucu yağı antispazmodik, antioksidan, antimikrobiyal, insektisidal ve antifungal özelliklere sahiptir (Gülçin ve ark., 2003).

Bu çalışmada kurutulmuş halde tedarik edilen anasonun (*Pimpinella anisum* L.) antioksidan değerlerinin belirlenmesinde CUPRAC, FRAP, DPPH yöntemleri; antimikrobiyal değerlerinin belirlenmesinde Disk Difüzyon ve MİK yöntemleri; uçucu yağ bileşenleri belirlenmesinde SPME ve GS-MS yöntemleri ve fenolik bileşen içerikleri belirlenmesinde HPLC- UV yöntemi kullanılmıştır.

Karadağ tarafından yapılan bir çalışmada ülkemizde yüksek oranda tüketilen bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin (anason, çemen, adaçayı, melisa, ıhlamur, nane, reyhan, defne yaprağı, sinameki ve rezene) antioksidan potansiyelleri, toplam fenolik madde miktarları ve fenolik kompozisyonları belirlemek için yaptığı çalışmada, toplam fenolik madde içeriği en zengin tıbbi ve aromatik bitkilerin adaçayı, melisa, defne ve ıhlamur (16,89-21,12 mgGAE/g bitki), en düşük tıbbi ve aromatik bitkilerin ise rezene, anason ve çemen yaprağı (3,47-3,77 mgGAE/g bitki) olduğunu tespit etmiştir (Karadağ, 2019). Karadağ İstanbul ilinden elde ettiği anason için toplam fenolik madde içeriğini $3,51 \pm 0,48$ mgGAE/g bulmuşken, bu değer bizim çalışmamızda $1,02 \pm 0,14$ mgGAE/g değeriyle daha düşük bulunmuştur. Yine Karadağ çalışmasında antioksidan aktiviteleri CUPRAC yöntemine göre $26,12 \pm 0,73$ mg Troloks/g, FRAP yöntemine göre ise $0,66 \pm 0,06$ mg Troloks/g, olarak belirlemişken bu değerler bizde sırasıyla CUPRAC için $0,08 \pm 0,00$ mmol TEAC/g numune, FRAP için $0,01 \pm 0,00$ µmol

FeSO₄.7H₂O/g numune olarak ölçülmüştür. DPPH yöntemine göre Karadağ, antioksidan aktiviteyi 15-300 mg/mL (anason, çemen ve rezene) olarak vermişken bizim çalışmamızda bu değer 5,82 mg/mL'dir. Yani bu çalışmadaki anason bitkisi daha iyi DPPH antioksidan aktivite göstermiştir. Analizlerdeki tüm bu farklılıklar kullanılan ekstraksiyon yöntemi ve seçilen çözücünden kaynaklanabilmektedir. Bizim çalışmamızdan farklı olarak Karadağ'ın çalışmasında, ekstraksiyon yöntemi için ultrasonik su banyosu kullanılmış ve bitki ekstraksiyonları için %80 metanol-su çözücüsünden faydalanılmıştır. Karadağ aynı zamanda yaptığı çalışmada fenolik bileşikler olarak, gallik asit, protokateşuik asit, kateşin, şiringik asit, kirisin, kafeik asit, rutin, ferulik asit, mirisetin, kuersetin, kaempferol gibi 11 adet fenolik bileşiğe rastlarken, bizim çalışmamızda kullanılan 15 adet standart fenolik bileşikten sadece klorojenik asit ve p-kumarik asit fenolik bileşiklerine rastlanmıştır.

Gülçin ve arkadaşları, Erzurum ilinden elde edilen anason tohumlarında toplam fenolik madde miktarı için Folin-Ciocalteu metodu kullanılmış olup toplam polifenol içerik miktarını etanol özütlerinin 62,5 µg/mL'si için 77,5 µg gallik asit eşdeğeri olarak tespit etmişlerdir (Gülçin ve ark., 2003). Aynı yöntem kullanılarak anason tohumlarında toplam fenolik madde miktarı tayini yapan Andarwulan ve Shetty, toplam fenolik madde içeriğini 1 mL örnek ekstraktlarında 3900 µg/g gallik asit ekivalent olarak tespit etmişlerdir (Andarwulan ve Shetty, 1999). Başka bir çalışmada (Bakır, 2010) ise toplam fenolik madde 7377 µg/g gallik asit ekivalent bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise toplam fenol miktarı 1020 µg gallik asit ekivalent olarak ölçülmüştür. Fenolik materyal içeriği ve türleri besinlerde, ekstraksiyon yöntemi ve süresine, çevresel koşullara, bitkinin yetiştirilme şartlarına, su miktarına, güneşlenme süresine, genetik özelliklere, olgunluğa, gıdanın işlenmesi ve saklanması gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Bravo, 1998). Bitkilerdeki genetik çeşitlilik, enlem, sıcaklık, yağış, bakı, tür özellikleri, güneş alma açısı ve toprak şartları gibi faktörlere bağlı olarak analiz sonuçlarını etkileyebilir. Bu sebeple, aynı bitki türünün farklı coğrafi bölgelerde yetişmesi, antioksidan aktivitelerinde de farklı sonuçların ortaya çıkmasına yol açabilir. Yine Bakır tarafından yapılan çalışmada (Bakır, 2010) toplam flavonoid içeriği 23377 µg QE/gr numune iken bizim çalışmamızda bu değer daha düşük çıkarak 470 µg QE/gr numune olduğu görülmüştür.

Gülçin ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (Gülçin ve ark., 2003) ve de anason tohumunun gram negatif ve pozitif bakterilere karşı önemli ölçüde aktivite gösterdiği bulunmuştur. Yine başka bir çalışmada (Tepe ve ark., 2006), anasonun, *Pimpinella anisetum* ve *Pimpinella flabellifolia* türlerindeki uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerini sekiz mikroorganizma üzerinde test etmiş ve uçucu yağların orta derecede antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmalardan farklı olarak bakterilerden daha çok maya suşları üzerine 250-500 mg/mL değeriyle etkili olduğu, yani antifungal etkisinin daha çok olduğu görülmüştür.

Arslan ve diğerleri tarafından gerçekleştirilen çalışmada (Arslan ve ark., 2004) Türkiye'de yetişen anason tohumu popülasyonlarının uçucu yağ miktarı ve bileşimindeki değişim üzerine odaklanılmıştır. Bu çalışmada, farklı bölgelerden toplanan anason tohumu örnekleri kullanılmıştır. Elde edilen uçucu yağlardaki ana bileşen olan trans-anetol'ün, toplam aroma bileşenleri içindeki oranını %78,63 ile %95,21 arasında belirlediklerini ifade etmişlerdir. Başka yapılan bir çalışmada (Doğramacı ve Arabacı, 2015) ise Göllühisar, Fethiye, Denizli ve Çeşme anason genotiplerinde trans-anetol oranının %97,50 ile %98,49 arasında değişim gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Haşimi ve arkadaşları tarafından Diyarbakır ilinden elde edilen anason üzerine yapılan bir çalışmada (Haşimi ve ark., 2014) anason tohumlarının uçucu yağ bileşimi, antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmada, anason bitkisine ait uçucu yağ bileşenlerinden trans-anetol (%52,94), izoanetol (%13,89), karyofilen oksit (%8,55), p-anisaldehit (%1,86) ve karyofilen (%4,29) tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise anason bileşiğinin ana bileşenleri, (Z)-Anethole (%45,23), pentadecanolide (%26,99), 2-methyl butyric acid (%5,12) ve menthalactone (%3,55) bileşikler olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre bir eter olan Anethole bileşiği her iki çalışmada da benzer şekilde en yüksek oranda uçucu yağ bileşiği olarak elde edilmişlerdir ancak diğer bulunan uçucu yağ bileşenleri birbirinden farklılık göstermektedir. Araştırma sonuçlarına göre, anason tohumlarının uçucu yağ oranları ve uçucu yağ bileşikler yetiştirildikleri bölgeye bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Uçucu yağların miktarı, iklim, mevsim, coğrafi koşullar, distilasyon

yöntemleri, hasat zamanı ve depolama gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir (Evren ve Tekgüler, 2011).

Yine Haşimi ve arkadaşları (Haşimi ve ark., 2014) anason uçucu yağının mikroorganizmalar üzerinde düşük antimikrobiyal aktivite ve düşük DPPH antioksidan aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da anason bitkisinin bakteriler üzerine pek bir etkisinin olmadığı görülmüş ve orta derecede DPPH antioksidan aktiviteye sahip olduğu açığa çıkarılmıştır.

Bu çalışmamızda anason tohumunda kullanılan 15 adet standart fenolik bileşikten p-kumarik ve klorojenik asit bulunmuşken, Mısır'da anason üzerinde yapılan çalışmada (Kahaled ve ark., 2017) anason yağı ekstraksiyonu sonrasında kalan posada fenolik maddelerin tespitine dair çalışmada, sonuçlarımızdan farklı olarak gallik asit, kafeik asit, protokateşuik asit ve ferulik asit tespit edilirken klorojenik asit ve p-kumarik asit varlığına rastlanılmamıştır. Anasonda fenolik ve flavonoid madde tespiti ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılık analiz için örnek hazırlama yöntemi, bitkinin yetiştirilme koşulları gibi farklı nedenlerden kaynaklı olabilir.

Son dönemde, sentetik olmayan doğal materyallerin çok sayıda yan etkiye sahip olması, özellikle antimikrobiyal özelliklere sahip olan sentetik olmayan ilaçlara karşı organizmaların direnç geliştirmeleri gibi durumlar nedeniyle, doğal bitki kökenli ürünlerin ve bu doğal materyallere sahip şifalı tıbbi bitkilerin önemi giderek artmaktadır. Geleneksel tıp için faydalanılan bu bitki kökenli yeni antibakteriyel maddelerin potansiyel açıdan bilimsel faaliyetler çerçevesinde incelenmesi büyük bir öneme sahiptir.

Pimpinella anisum L. adlı tıbbi aromatik bitki ile ilgili yapılan araştırmalara göz atıldığında, hem antioksidan hem de antimikrobiyal aktiviteleri, ayrıca uçucu yağ ve fenolik bileşen analizlerini aynı çalışmada birleştiren hiçbir çalışmanın bulunmadığı gözlemlenmiştir. Bu bakımdan, bu tez çalışması bu konuda ilk olması açısından önemli bir yer tutmaktadır.

5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Gıda sektöründe doğal katkı maddelerinin yaygın olarak kullanılmasıyla birlikte, bitkilerde bulunan doğal antioksidanlara olan ilgi artmaktadır. Bu sebeple, doğal antioksidanların araştırılması, son dönemde önemli bir çalışma alanı haline gelmiştir. Türkiye'nin tıbbi bitki ticaretinde, baharat bitkileri ve özellikle anason, önemli bir konumda bulunmaktadır. Türkiye'de tıbbi bitki ticaretinde baharat bitkileri, özellikle de anason, önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, baharat ve tıbbi aromatik bitkilerin antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin anlaşılması hem insan sağlığı hem de gıda maddelerinin uzun süre saklama konusunda, gıda ve ilaç endüstrisine önemli katkıda bulunacaktır.

Gerçekleştirilen bu yüksek lisans tezi ile *Pimpinella anisum* L. bitkisinin hem antioksidan, antimikrobiyal kapasiteleri hem de uçucu yağ ve fenolik bileşenleri açığa çıkarılmıştır. Çalışmada Mardin'den elde edilen bitkinin bilinen metotla ekstraktı çıkarılarak antioksidan aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. *Pimpinella anisum* L. Tohumunun toplam fenolik madde miktarı $1,02 \pm 0,14$ mgGAE/g numune, toplam flavonoid madde miktarı ise $0,47 \pm 0,01$ mg Kuersetin/g numune şeklinde belirlenmiştir. FRAP metotuna göre, $0,01 \pm 0,00$ $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ numune iken CUPRAC testine göre ise $0,08 \pm 0,00$ mmol TEAC/g numune değeri ile antioksidan özellik sergilemiştir. Anaosunun DPPH● Radikal Temizleme aktivitesi ise $4,82$ mg/mL şeklinde bulunmuştur.

Bitki özütlerinden elde edilen antioksidan aktivitelerinin yanı sıra, bu özütlerin toplam on üç mikroorganizma üzerindeki aktivitesi de incelenmiştir; bunlardan on tanesi bakteri ve üç tanesi maya suşudur. *Pimpinella anisum* L. Tohum özütünün, deneyde kullanılan test bakterilerinden ziyade candida türleri üzerinde güçlü bir antifungal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Özellikle candidalardan olan, *Candida glabrata* ATCC 2001'e 250 $\mu\text{g/mL}$ değeriyle antifungal aktivite gösterdiği gözlenmiştir.

Pimpinella anisum L.'dan elde edilen uçucu yağın GC/MS cihazı ile gerçekleştirilen analiz sonucunda 33 tane bileşen tanımlanmıştır. Tanımlanan bu bileşikler monoterpenler, monoterpenoidler, sesquiterpene, makrolid, aldehitler, ketonlar,

alkoller, yağ asitleri, eter, esterler, hidrokarbonlar, diğer olmak üzere 12 sınıfta gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, phenethyl alcohol bileşiği kolondan ilk çıkan bileşik olmuştur (RT=2937 dk), ancak en uzun alıkonma süresine sahip bileşiği tetracosane olmuştur (RT=52.274 dk). (Z)-Anethole eteri (%45.23), pentadecanolide ester (%26.99), 2-methyl butyric acid yağ asidi (%5.12) ve menthalactone ketonu (%3.55) bileşikleri, en yüksek oranlara sahip olduklarından dolayı *Pimpinella anisum* L. Tohumunun ana bileşenleri olarak tanımlanmıştır.

HPLC ile 15 standart fenolik bileşik kullanılarak yapılan fenolik bileşen analiz sonucunda *Pimpinella anisum* L. tohumunda p-kumarik ve klorojenik asit bulunduğu belirlenmiştir. Klorojenik asit miktarı, 11,91 ppm (%2,1); p-kumarik asit miktarı, 3,59 ppm (%0,6) olarak bulunmuştur. Diğer 13 adet fenolik bileşiğe *Pimpinella anisum* L. tohumunda rastlanmamıştır.

Polifenol bileşiklerince zengin bir diyet, insan vücudundaki hastalıkları önleyen ve aynı zamanda serbest radikallere karşı koruyucu bir sistem sunar. Besinlerimizde bulunan bu tür maddeleri tüketmek, antioksidan savunma sistemimize de katkı sağlayacaktır. Bu sebeple, anason bitkisinin sağlığa olumlu etkileri doğrultusunda günlük diyetlere eklenmesi önerilebilir.

Bu yüksek lisans tez araştırmasında Mardin ilinden temin edilen *Pimpinella anisum* L. tohumunun fenolik ve uçucu yağ bileşenleri, biyolojik aktiviteleri ortaya konulmuştur. Başka şehirlerden elde edilen *Pimpinella anisum* L. bitki tohumlarıyla da benzer deneyler yapıp, değişik yerlerden elde edilen bitkiler için ortaya çıkan ölçüm sonuçları birbirleriyle kıyaslanabilir.

Antioksidan tayinlerinde ekstraksiyon için yalnızca çözücü olarak metanol kullanılmıştır. Etanol, su, aseton ve eter gibi farklı çözücüler de kullanılıp tayinler tekrarlanabilir. Bu şekilde farklı çözücü ekstraktlarındaki antioksidan özellikler birbiriyle kıyaslamaları yapıp, en yüksek aktivite sergileyen çözen bulunabilir.

Bu çalışmada anason bitkisi için antimikrobiyal analiz araştırması yapılmış olup bu bitki türü için aynı zamanda antienflamatuar, anti-ürez, antikanser ve anti-lipaz vb. biyolojik özelliklerinin olup olmadığı bakılabilir.

Pimpinella anisum L. bitkisinin antifungal aktivite gösterdiği saptandığından, bu bitki ileri düzey antifungal ilaç geliştirme çalışmalarında başlangıç materyali olarak kullanılabilir.

Ülkemiz, son derece zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir. Bu zenginlikten en etkin ve uygun şekilde faydalanarak, ekonomik ve bilimsel alanlarda ülkemize katkı sağlanmalıdır.

Ülkemizde doğal olarak yetişen şifa kaynağı *Pimpinella anisum* L. bitkisinin özellikleri, daha derinlemesine incelenerek ortaya çıkarılabilir. Elde edilen olumlu aktiviteler sayesinde, bu bitkinin çeşitli alanlara katkı sağlaması mümkündür.

Her ne kadar anason gibi bu bitkiler geleneksel günlük beslenmemizde kütlece az yer tutsa da, sahip oldukları biyoaktif bileşikler dolayısıyla bu bitkiler fonksiyonel gıda uygulamalarında veya doğal antioksidan olarak kullanımı açısından önemli bir potansiyel özelliğe sahiptir.

KAYNAKLAR

- Acimovic, M.G., Korac, J., Jacimovic, G., Oljaca, S., Djukanovic, L., VugaJanjatov, V., 2014. Influence of Ecological Conditions on Seeds Traits and Essential Oil Contents in Anise (*Pimpinella anisum* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(1): 232-238.
- Akyüz, E., 2007. *Polygonum bistorta* ssp. *Carneum* Bitki Ekstraktlarının Kromotografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi ve Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon, 94.
- Almes, B. M., Shigena, M. K. ve Hagen, T. M., 1993. Oxidants, antioxidant and the degenerative diseases of ageing. *Proceeding of National Academy of Sciences USA*, 90: 7915-7922.
- Amsterdam, D., 1996. Susceptibility Testing of Antimicrobials in Liquid Medium. In: Baltimore, L.V., Williams, M.D. ve Wilikins, Eds., *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4th Edition, 52-111.
- Andarwulan, N., Shetty, K., 1999. Phenolic Content in Differentiated Tissue Cultures of Untransformed and Agrobacterium-Transformed Roots of Anise (*Pimpinella anisum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1776-1780.
- Anonim, 1999. Solid phase microextraction: theory and optimization of conditions. *Bulletin 923A. Supelco, Bellefonte, Pa.*
- Anonim, 2023. Türkiye İstatistik Kurumu, Web Sitesi: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>, Erişim Tarihi: 20.12.2023
- 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.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Gümüşçü, A., 1999. Farklı Orijinli Anason (*Pimpinella anisum* L.) Populasyonlarında Verim ve Verim Özelliklerinin Araştırılması. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 8: 1-2.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Sarihan, E. O., Bayrak, A., Gümüşçü, A., 2004. Variation in Essential Oil Content and Composition in Turkish Anise (*Pimpinella anisum* L.) Populations. *Turkish Journal Agriculture and Forestry*, 28: 173- 177
- Atak E. ve Uslu M.E., 2018. Fenolik Bileşikler, Ekstraksiyon Metotları ve Analiz Yöntemleri. *Manisa Celal Bayar Üniversitesi Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi* 27(3): 39-48.

- Aydın, E., Yurum, Ç., Kevseroğlu, K., Seyis, F., 2014. Doğadan Yoğun Olarak Toplanan Pazar Payı Yüksek Olan Önemli Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Risk Durumları. II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, 23-25 Eylül, Yalova, 281-286.
- Bakır, C., 2010. Anason (*Pimpinella Anisum*) ve Rezene (*Foeniculum Vulgaris*)’de Toplam Fenol/Flavonoid Miktarları Ve Antioksidan Aktivitelerinin Metal İçeriği İle Değişiminin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Elazığ, 39.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1): 191-203.
- Bayaz, M. (2014). Esansiyel yağlar: antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri. *Academic Food Journal/Akademik Gıda*, 12(3).
- Baydar H. 2005. Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları No: 51 (ISBN975-7929-79-4), 221, Isparta.
- Baydar, H., 2016. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi (Genişletilmiş 5. Baskı). SDÜ Yayınları, Yayın No: 51, Isparta.
- Bayram E., Kırıcı S., Tansı S., Yılmaz G., Arabacı O., Kızıl S. ve Telci İ., 2010. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları. Ziraat Mühendisleri Odası 7. Teknik Kongresi.
- Benzie, I. F. F., Strain, J. J., 1996. ‘The ferric reducing ability of plasmav (FRAP) assay a measure of ‘Antioxidant power’: The FRAP assay’, *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.
- Blumenthal M., 1999. The Complete German Commission E Monographs, therapeutic guide to herbal medicines. American Botanical Council, Austin, Texas.
- Bohn, T., 2014. Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutrition Reviews*, 72(7): 429-452.
- Bramwell, D., 2002. How many plant species are there. *Plant Talk*, 28: 32-34.
- Branen, A. L., 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 52: 59-63.
- Bravo, L., 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance, *Nutrition Reviews*, 56: 317-333.
- Can, Z., Yıldız, O., Şahin, H., Turumtay, E. A., Silici, S., Kolaylı, S., 2015. An Investigation of Turkish Honeys: Their Physico-Chemical Properties, Antioxidant Capacities and Phenolic Profiles, *Food Chemistry*, 180: 133-141.

- Cellat K., 2011. Bazı Endemik Bitkilerin Uçucu Yağ Bileşenlerinin Ekstrakte Edilmesi ve İçeriklerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 73.
- Ceylan, A., 1983. Tıbbi Bitkiler-II. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No:481, Bornova İzmir.
- Coelho J. P., Cristino A. F., Matos P. G., Rauter A. P., Nobre B. P., Mendes R. L., Barroso C. G., Mainar A., Urieta C. S., Fareleira J. M. N. A., Sovová H, Palavra A. F., 2012. Extraction of Volatile Oil from Aromatic Plants with Supercritical Carbon Dioxide: Experiments and Modeling, *Molecule*, 17(9): 10550-10573.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz Ve Transplantasyon Dergisi*, 9295: 3-4.
- Çenet, M. ve Toroğlu, S., 2006. Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi için Kullanılan Metodlar. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2): 12-20.
- Dağcı E. K., Dığrak M., 2006. Bazı meyve ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri, *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8(2).
- Dinçer, S., Acaralı, N.B., Uzun, I.N., Deniz, S., 2007. A Second Option In Special Separation Operations: A Supercritical Fluid Process. *Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 25(2).
- Doğan, G., Hayta, Ş., Demirpolat, A., Bağcı, E., 2015. Doğu Anadolu’da Yetişen Bir Anason Türünün (*Pimpinella tragioides* Subsp. *Lithophila*) Uçucu Yağ Analizi. *Düzce Üniversitesi Bilim Ve Teknoloji Dergisi*, 3: 236-240.
- Doğramacı, S., Arabacı, O., 2015. Anason (*Pimpinella anisum* L.) Çeşit ve Ekotiplerinin Bazı Teknolojik Özellikleri Üzerine Organik ve İnorganik Gübre Uygulamalarının Etkisi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12(1): 41-47.
- Evren, M., Tekgüler, B., 2011. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(3):28-40.
- Faydaoğlu E., Sürücüoğlu M. S., 2013. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Kullanım Olanakları. *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2): 233-265.
- FFNSC. Gc/Ms Library Ver.1.3 2008. Flavor and fragrance natural and synthetic compounds. Shimadzu, Kyoto, Japan.
- Gökmen, V., Serpen, A., Fogliano, V., 2009. Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the ‘QUENCHER’ approach. *Trends in Food Science & Technology*, 20(6-7): 278-288.
- Göktaş Ö. ve Gıdık B., 2019. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanım Alanları. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2(1): 137-142.

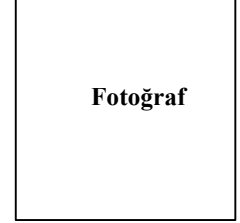
- Gözen, O. (2005). Türk Rakılarının Bazı Uçucu Bileşikleri Üzerine Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği, Adana, 93.
- Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E., Küfrevioğlu, Ö. İ., 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts, *Food Chemistry*, 83: 371-382.
- Hakverdi A. E. ve Yiğit N., 2017. Yozgat-Akdağmadeni Yöresinde Bulunan Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkiler. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 19(2); 82-87.
- Halliwell, B., Gutteridge, J., 1996. Free Radicals in Biology and Medicine (2nded), 11-21.
- Haşimi, N., Tolan, V., Kızıllı, S., Kılınç, E., 2014. Anason (*Pimpinella anisum* L.) ve Kimyon (*Cuminum cyminum* L.) Tohumlarının Uçucu Yağ Kompozisyonu ile Antimikrobiyal ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 20: 19-26.
- Heur, Y. H., Zeng, W., Stoner, G. D., Nemeth, G. A., Hilton, B., 1992. Synthesis of ellagic acid o-alkyl derivatives and isolation of ellagic acid as a tetrahexanoyl derivative from *Fragaria ananassa*, *Journal of Natural Products*, 55(10): 1402-1407.
- Heywood V. H., Brummitt R. K., Culham A. ve Seberg O., 2007. Apiaceae In: Flowering Plant Families of the World, New York, 35-38.
- Huang, D., Ou, B. ve Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.
- Jackson; R. S., 2000. Wine Science, Second Edition, Elsevier, 633.
- Karadağ, A., (2019). Türkiye'deki Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antioksidan Potansiyelleri ve Fenolik Kompozisyonları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (16): 631-637.
- Karafakoğlu, Y. S., 2004. Tütün Çalışanlarında Oksidan- Antioksidan Durum. *Kocatepe Tıp Dergisi (The Medical Journal of Kocatepe)*. 5(2): 7-10.
- Khaled, M., Ahmed, Z., Abdel-khalek, H. H., ve Mostafa, Y., 2017. Journal of Radiation Research and Applied Sciences Evaluation of Antibacterial Efficacy of Anise Wastes Against Some Multidrug Resistant Bacterial Isolates. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 10(1): 34-43.
- Kılıç, A., 2008. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10(13): 37-45.
- Korukluoğlu M., İrkin R., ve Sertel S., 2006. Salmonella ve Shigella Türlerinin Gelişmesini Engelleyen Tıbbi Bitkiler ve Esansiyel Yağlar, *Gıda Dergisi* 31(6): 319-324.

- Kotzekidou P., Giannakidis P., Boulamatsis A., 2007. Antimicrobial Activity of Some Plant Extracts and Essential Oils Against Foodborne Pathogens in Vitro and on The Fate of Inoculated Pathogens Chocolate. *Lebensm-Wiss U. Technology* in press.
- Kovats, E., 1958. Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil 1: retentionsindices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone, *Helvetica Chimica Acta*, 41: 1915-1932.
- Koyuncu, İ., Yıldırım İ., Duranoğlu S., 2008. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal Özellikleri. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 913-916.
- Lam, L. K., ve ark., 1988. The Antioxidants of Higher Plants. *Phytochemistry*. 27, 969-978.
- M100-S16, 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Sixteenth informational supplement, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [formerly NCCLS], Wayne, Pennsylvani, USA, 26, 3, 188 s.
- M27-A2, 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast approved standard, Second Edition, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [formerly NCCLS], Wayne, Pennsylvani, USA, 22, 15, 51 s.
- M38-A2, 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi, approved standard, second edition, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [formerly NCCLS], Wayne, Pennsylvani, USA, 22, 16, 51 s.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. ve Salunkhe, D.K., 1996. Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives. Markel Dekker, Newyork, 41-50.
- Maksimovic, ZA., Dordevic, S. ve Mraovic, M., 2005. Antimicrobial Activity of Chenopodium Botrys Essential Oil. *Fitoterapia*, 76: 112-114.
- Miguel, M. G., 2010. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils, *A Short Review Molecules*, 15: 9252-9287.
- Molyneux, P., 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhyrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26: 211-219.
- Moon, J.K.; Shibamoto, T. . 2009. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 1655-1666.
- Naczki, M. ve Shahidi, F. C., 2004. Extraction and Analysis of Phenolics in Food Review. *Journal of Chromatography A*, 1054: 95-111.
- Nayak, B., Liu, R.H., Tang, J., 2015. Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains-A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(7): 887-918.

- Nohutçu, L., Tunçtürk, M., Tunçtürk, R., 2019. Yabani Bitkilerin Korunması ve Sürdürülebilirlik. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24(2): 142-151.
- Özşen, Ö., 2011. İzoforon Analoglarının Sentezi, Biyotransformasyonu ve Biyolojik Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Kimya Bölümü, 62.
- Öztürk H., 2009. *Jurinea consanguinea*'nın Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 65.
- Paredes López, O., Cervantes-Ceja, M. L., Vigna-Pérez, M. ve Hernández-Pérez, T., 2010. Berries: Improving Human Health and Healthy Aging, and Promoting Quality Life - A Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65: 299-308.
- Prior, R.L., Wu, X. ve Scaich, K., 2005. Standardized Methods for the Determination Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietry Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8): 3110-3113.
- Rangahau, M. K., 2001. Essential Oils and Their Production. Crop and Food Research,
- Renda, G., Tosun, G., Yaylı, N., 2016. SPME GC/MS Analysis of Three *Ornithogalum L.* Species from Turkey. *Records of Natural Products*, 10: 497-502.
- Robbins, R. J., 2003. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10): 2866-2887.
- Sağdıç, O., (2003). Sensitivity of Four Patogenic Bacteria to Turkish Thymeand Oregano Hydrosols. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* 36: 467-473.
- Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M. ve Özçelik, S., 2002. Effects of Turkish Spice Extracts at Various Concentrations on The Growth *E. Coli* O157:H7. *Food Microbiology*, 19: 473-480.
- Samojlik, I., Mijatovic, V., Petkovic, S., Skrbic, B., Bozin, B., 2012. The Influence of Essential Oil of Aniseed (*Pimpinella anisum L.*) on Drug Effects on The Central Nervous System. *Fitoterapia*, 83: 1466-1473.
- Saura-Calixto, F., 2012. Concept and Healthrelated Properties of Nonextractable Polyphenols: The Missing Dietary Polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(45): 11195-11200.
- Seçkin, T., 2014. İşlevsel Bitki Kimyası. Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., Ankara.
- Sertsever, A. ve Gök, V., 2003. Doğal antioksidanların biyoyararlılığı, 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara, 83-98.
- Shahidi, F. ve Wanasundara, K.J., 1992. Critical Reviews in Food Science. *Nutrition* 32(1): 67.

- Shahidi, F., Pegg, R.B. ve Saleemi, Z.O., 1995. Stabilization of Meat Lipids with Ground Spices. *Journal of Food Lipids*. 2: 145-153.
- Shojaii, A., ve Fard, M., A., 2012. Review of Pharmacological Properties and Chemical Constituents of *Pimpinella anisum*. International Scholarly Research Network, 2012: 1-8.
- Slinkard, K., Singleton, V. L., 1977. Total Phenol Analyses: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28: 49-55.
- Tabanca, N., Demirci, B., Ozek, T., Kırimer, N., Baser, K.H.C., Bedir, E., Khan, I.A., Wedge, D.E., 2006. Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Analysis of Essential Oils From *Pimpinella* Species Gathered From Central And Northern Turkey. *Journal Of Chromatography A*, 1117: 194-205.
- Tanker, M., Tanker, N. 1990. Farmakognozi. Cilt 2. Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, Yayın No:65, Ankara.
- Tepe B, Akpulat A. H, Sokmen M, Daferera D, Yumrutas O, Aydın E, Polissiou M. ve Sokmen A., 2006. Screening of The Antioxidative and Antimicrobial Properties of The Essential Oil of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* From Turkey. *Food Chemistry* 97(4): 719-724.
- Tirapelli C.R., Andrade C.R., Cassano A.O., De Souza F.A., Ambrosio S.R., Costa F.B., ve Oliveria A.M., 2007. Antispasmodic and Relaxant Effects of The Hydroalcoholic Extract of *Pimpinella anisum* (*Apiaceae*) on Rat Anococcygeous Smooth Muscle. *Journal of Ethnopharmacology* 110(1): 23-29.
- Toroğlu S., Dığrak M. ve Çenet M., 2006. Baharat Olarak Tüketilen *Laurus nobilis* ve *Zingiber officinale* Roscoe Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri ve Antibiyotiklere İn-Vitro Etkilerinin Belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 1: 20-26.
- Ullah, H., Honermeier, B., 2013. Fruit Yield, Essential Oil Concentration and Composition of Three Anise Cultivars (*Pimpinella anisum* L.) in Relation to Sowing Date, Sowing Rate and Locations. *Industrial Crops and Products*, 42: 489-499.
- Yamani, Y., Khajeh, M., Ghasemi, E., Mirza, M., Javidnia, K., 2008. Comparison Of Essential Oil Compositions Of *Salvia mirzayanii* Obtained By Supercritical Carbondioxide Extraction and Hydrodistillation Methods. *Food Chemistry*, 108: 341-346.
- Yücel U., Ötles S., 2001. Şarabın Bileşimi ve Beslenmedeki Önemi. *Dünya Gıda*, 6(5): 79-82.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The Determination of Flavonoid Contents on Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radical. *Food Chemistry*, 64(4): 555-559.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : TASA, Raziye
Uyruğu :
Doğum tarihi ve yeri :
Medeni hali :
Yabancı Dili :
Telefon : -
Faks : -
e-posta :

Eğitim

<u>Derece</u>	<u>Eğitim Birimi</u>	<u>Mezuniyet Tarihi</u>
Ön Lisans		
Lisans	Selçuk Üniversitesi	2016
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi	2020

Yayınlar

.....
.....