

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

REZENE (*FOENICULUM VULGARE*) BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞ VE FENOLİK
BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ; ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emre AYDIN

Danışman
Doç. Dr. Şule CEYLAN

ARTVİN-2023

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

REZENE (*FOENICULUM VULGARE*) BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞ VE FENOLİK
BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ; ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emre AYDIN

Danışman
Doç. Dr. Şule CEYLAN

ARTVİN-2023

TEZ BEYANNEMESİ

Artvin oruh Üniversitesi Lisanüstü Eğitim Enstitüsüne Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Rezene (*Foeniculum vulgare*) bitkisinin Uçucu Yağ ve Fenolik Bileşenlerinin Belirlenmesi; Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi” başlığa sahip bu araştırmayı en baştan sonuna kadar danışman hocam Doç. Dr. şule CEYLAN‘ın gözetiminde bitirdiğimi, bitki örneklerini kendim elde ettiğimi, çalışma içerisinde bulunan deneyleri/analizleri ilgili laboratuvar ortamlarında yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

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

- Tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.
- Tezim sadece Artvin oruh niversitesi yerleşkelerinden erişime açılabilir.
- Tezimin ... ay süreyle erişime açılmasını istemiyorum. Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.

...../...../2023

Emre AYDIN

İmza

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

REZENE (*FOENICULUM VULGARE*) BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞ VE FENOLİK
BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ; ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Emre AYDIN

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : .../.../2023

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : .../.../2023

Başkan : Prof. Dr. Hüseyin PEKER

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Şule CEYLAN

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Özlem SARAL

ONAY:

Bu Yüksek Lisans tezi, Artvin Çoruh Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından 28/08/2023 tarihinde **oybirliği** ile uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../2023 tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

.../.../2023

Doç. Dr. Mustafa Çağatay KORKMAZ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Günümüzde bitkiler birçok alanda kullanıldığı gibi tedavi amaçlıda kullanılmaktadır. Bitkilerin şifa amaçlı kullanılması eski dönemlerden itibaren başlayıp modern dönemde de tedavilerde başvurulan yöntemlerden en az yan etkilere sahip tedavidir. Bu çalışmada Rezene (*Foeniculum vulgare*) bitkisinin antioksidan (FRAP, CUPRAC, DPPH yöntemleri ile), antimikrobiyal (Disc Difüzyon ve MİK Yöntemi ile), Uçucu yağ bileşenleri (SPME ve GS-MS yöntemleri) ve Fenolik bileşen içerikleri (HPLC-UV yöntemi kullanılarak) incelenmiştir.

Yüksek lisans tezimin başlığı ve konu içeriğinin belirlenmesinde, aynı zamanda tez çalışması boyunca tüm araştırmalarımda her türlü desteğini ve imkanını sunan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Şule CEYLAN'a teşekkürü borç bilirim.

Laboratuvar çalışmaları ve sonuçların değerlendirilmesi kısmında yardımlarından dolayı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Özlem SARAL, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yasemin CAMADAN ve Sayın Prof. Dr. Hüseyin PEKER hocalarıma da teşekkür ederim. Aynı zamanda antibakteriyel aktivite belirleme çalışmalarıyla katkıda bulunan Dr. Öğr. Üyesi Özge ÖZŞEN BATUR'a ve tez düzenleme kısmında yardımlarından dolayı Öğr. Gör. Kemal Vehbi İMAMOĞLU'na teşekkür ederim.

Emre AYDIN

Artvin-2023

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ BEYANNEMESİ	I
JÜRİ KABUL TUTANAĞI	II
ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
1 GİRİŞ	1
1.1 Genel Bilgiler	1
1.2 Uçucu yağlar	4
1.2.1 Uçucu Yağların Biyolojik Etkinlikleri ve Kullanım Alanları.....	5
1.2.2 Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri	6
1.2.2.1 Destilasyon Yöntem	6
1.2.2.2 Ekstraksiyon Yöntemi	6
1.2.2.3 Çok Yönlü ekstraksiyon Yöntemleri [Simultaneous destilasyon ekstraksiyon (SDE)].....	7
1.2.2.4 Mekanik Yöntem [Presleme (Pressing)]	7
1.3. Fenolik Bileşenler	7
1.3.1 Fenolik asitler.....	8
1.3.2 Flavonoidler	10
1.3.2.1 Antosiyanidinler	10
1.3.2.2 Flavonlar ve Flavonollar	10
1.3.2.3 Flavanonlar.....	11
1.3.2.4 Kateşinler	11
1.3.2.5 Proantosiyanidinler	12
1.4 Antioksidanlar	12
1.5 Antimikrobiyal Maddeler	13
1.6 Rezene (<i>Foeniculum vulgare</i>)	14
2 MATERYAL VE YÖNTEM	17

2.1 Materyal	17
2.1.1 Çalışmada Kullanılan Bitki Örneği	17
2.1.2 Araştırmada Yer Alan Test Mikroorganizmaları, Temini ve Saklanması	17
2.1.3 Mikroorganizmaların çoğaltılması adına faydalanılan besiyer materyalleri.....	18
2.1.4 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	18
2.1.5 Araştırmada Faydalanılan Cihaz ve Aletler.....	19
2.1.6 Analizler İçin Numune Çözeltilisinin Hazırlanması	19
2.2 Antioksidan Tayinleri	20
2.2.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	21
2.2.2 Toplam Flavonoid Madde İçerik Tayini	21
2.2.3 FRAP (Fe ⁺³ İndirgeme Gücü) Deneyi	22
2.2.4 CUPRAC (Cu(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Analizi	23
2.2.5 DPPH• Radikali Süpürme Etkisinin Analizi	24
2.3 Antimikrobiyal Aktivite Analizi	25
2.3.1 Bakteriler İçin Sıvı Mikrodilüsyon Testi.....	25
2.3.2 Maya Suşları İçin Sıvı Mikrodilüsyon Testi	26
2.4 Uçucu Yağ Bileşiklerinin Analizi	26
2.4.1 Katı Faz Mikroekstraksiyon Yöntemi (SPME).....	26
2.4.2 Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS)	27
2.4.3 Bileşenlerin Tanımlanması	28
2.5 HPLC-UV Yardımıyla Fenolik Bileşiklerin Analizi	28
3 BULGULAR	30
3.1 Antioksidan Aktivite Çalışmaları	30
3.1.1 Toplam Fenolik Madde Testi Sonucu.....	30
3.1.2 Toplam Flavonoid Madde İçerik Testi Sonucu	31
3.1.3 FRAP Testi Sonucu	31
3.1.4 CUPRAC Testi Sonucu	32
3.1.5 DPPH• Testi Sonucu	33
3.2 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	34
3.3 Uçucu Yağ Bileşiklerinin Analiz Sonuçları.....	35
3.4 HPLC-UV ile Fenolik Bileşen Tayini Sonucu	37
4 TARTIŞMA.....	41
5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER	46

KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	57



ÖZET

REZENE (*FOENICULUM VULGARE*) BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞ VE FENOLİK BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ; ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Rezene (*Foeniculum vulgare*) dünyada eski çağlardan beri geleneksel tıpta sıklıkla kullanılmaktadır. Ülkemizde de ekonomik değeri olan ve tarımı yapılan tıbbi ve aromatik bitkilerdendir. Bu çalışmada *Foeniculum vulgare* bitki meyvesinin antioksidan içeriği, DPPH• radikali temizleme aktivitesi, Toplam flavonoid, CUPRAC (Cu⁺² İndirgeyici Antioksidan Kapasite), Toplam Polifenol ve FRAP (Fe⁺³ İndirgeme Antioksidan Gücü) yöntemleriyle belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları 1,15±0,94 mgGAE/100g numune, 0,54±0,00 mg Kuersetin/g numune olarak ölçülmüştür. Antioksidan aktiviteleri ise FRAP için, 0,01±0,00 µmol FeSO₄.7H₂O/g numune, CUPRAC için 0,08±0,00 mmol TEAC/g numune ve DPPH• için IC₅₀=4,68 mg/mL olarak bulunmuştur.

Antimikrobiyal aktivite için ise Minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) yöntemi kullanılmıştır. *Foeniculum vulgare* bitkisinin, *Proteus vulgaris* NRRL B-123 ve *Gordonia rubripertincta* bakterilerine 2000 µg/mL değeriyle antibakteriyel aktivite sergilediği, *Candida glabrata* ATCC 2001 ve *Candida krusei* ATCC 6258 karşı ise 250 µg/mL değeriyle antifungal aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Foeniculum vulgare bitkisinin uçucu yağ bileşenleri SPME ve GC/MS teknikleri kullanılarak aydınlatılmış analizler sonucunda bitki için 34 adet bileşen tanımlanmıştır. Bu bileşenler arasında, birer ester olan Pentadecanolide (%44.29), Isobutyl angelate (%10.01), eter olan (Z)-Anethole (%5.84) ve yağ asidi olan Palmitic acid (%5.80) bileşikler arasında en yüksek oranda olduklarından *Foeniculum vulgare* bitkisinin ana bileşenleri olarak tanımlanmıştır.

Foeniculum vulgare'nin HPLC-UV yöntemi ile fenolik bileşen tayini için 15 adet standart kullanılmıştır. Analiz sonucunda *Foeniculum vulgare* bitkisinde sadece %0,7 (92 ppm) miktarında klorojenik asit fenolik bileşiğinin bulunduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Rezene, *Foeniculum vulgare*, Antioksidan, Antimikrobiyal, Uçucu yağ, SPME, GC-MS, Fenolik bileşen, HPLC-UV

SUMMARY

DETERMINATION OF ESSENTIAL OIL AND PHENOLIC COMPONENTS OF FENNEL (*FOENICULUM VULGARE*); INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES

Fennel (*Foeniculum vulgare*) has been utilized in classic medicine from old times all around the world. It is one of the medicinal and aromatic plants that have economics value and are cultivate in our territory. The antioxidant content of the *Foeniculum vulgare* plant fruit DPPH• radical scavenging activity, Total Polyphenol, CUPRAC (Cu⁺² Reducing Antioxidant Capacity), Total flavonoid and FRAP (Fe⁺³ Reducing Antioxidant Power) methods were determined in this paper. Looking at the outcomes, the total phenolic and total flavonoid substance amounts were measured as 1.15±0.94 mgGAE/100g sample and 0.54±0.00 mg Quercetin/g sample. Antioxidant activities were found as 0.01±0.00 µmol FeSO₄.7H₂O/g sample for the FRAP, 0.08±0.00 mmol TEAC/g sample for the CUPRAC, and IC₅₀=4.68 mg/mL for the DPPH• .

The minimum inhibition concentration (MIC) method was used for antimicrobial activity. *Foeniculum vulgare* plant was found to exhibit antibacterial activity against *Proteus vulgaris* NRRL B-123 and *Gordonia rubripertincta* bacteria with a value of 2000 µg/mL, and antifungal activity with a value of 250 µg/mL against *Candida glabrata* ATCC 2001 and *Candida krusei* ATCC 6258.

As a result of the clarified analysis of the essential oil components of the *Foeniculum vulgare* plant using SPME and GC/MS techniques, 34 components were identified for the plant. Among these components, Pentadecanolide (44.29%), which is an ester, Isobutyl angelate (10.01%), which is an ether (Z)-Anethole (5.84%) and Palmitic acid (5.80%), which is a fatty acid, have the highest ratio of the *Foeniculum vulgare* plant. identified as the main components.

For the phenolic component determination of *Foeniculum vulgare* by HPLC-UV method, 15 standard phenolic compounds were used. As a result of the analysis, it was determined that only 0.7% (92 ppm) chlorogenic acid phenolic compound was found in the *Foeniculum vulgare* plant.

Keywords: : Fennel, *Foeniculum vulgare*, Antioxidant, Antimicrobial, Essential oil, SPME, GC-MS, Phenolic compound, HPLC-UV

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Flavonlar ve flavonolların kimyasal formülleri (Cemeroğlu, 2004).....	11
Tablo 2. Kullanılan makine ve gereçler, marka/modelleri	19
Tablo 3. Toplam fenolik içerik analizinin deney koşulları.....	21
Tablo 4. Toplam flavonoid içerik analizinin deney koşulları.....	22
Tablo 5. FRAP analizinin deney koşulları	23
Tablo 6. CUPRAC analizinin deney koşulları	24
Tablo 7. Antioksidan aktivite sonuçları.....	33
Tablo 8. DPPH• antioksidan analiz sonuç değerleri	34
Tablo 9. <i>Foeniculum vulgare</i> 'nin antimikrobiyal aktivite sonuçları (µg/mL)	34
Tablo 10. <i>Foeniculum vulgare</i> uçucu yağının GC/MS'de belirlenen bileşenleri.....	35
Tablo 11. HPLC analizinde kullanılan standart fenoliklerinin kimyasal yapıları	37
Tablo 12. 280 nm'de görülen standart fenolikler ve alıkonma zamanları.....	39
Tablo 13. 315 nm'de görülen standart fenolikler ve alıkonma zamanları.....	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Doğada yaygın olarak bulunan fenolik asitlerin yapısı (Robbins, 2003).....	9
Şekil 2. Klorojenik asit ve ellajik asidin yapısı (Heur ve ark.,1992)	9
Şekil 3. Flavonoid bileşiklerinin kimyasal formülü (Shahidi ve Naczk, 1995).	10
Şekil 4. Flavonollar ve flavonların genel yapısı.....	10
Şekil 5. Flavanon yapısı (Cemeroğlu, 2004).....	11
Şekil 6. Kateşin bileşiklerinin molekül formülleri (Shahidi ve Naczk, 1995).	12
Şekil 7. Proantosiyanidinlerin molekül formülleri (Shahidi ve Naczk, 1995).	12
Şekil 8. Rezene (<i>Foeniculum vulgare</i>).....	15
Şekil 9. Çalışmada kullanılan rezene meyvesi.....	17
Şekil 10. Analizlere hazırlanmış bitki örneği.....	20
Şekil 11. Antioksidan aktivite deney çalışmaları	20
Şekil 12. UV/VIS spektrofotometre cihazı	20
Şekil 13. TPTZ (Tripiridiltriazin).....	23
Şekil 14. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)	24
Şekil 15. Antimikrobiyal aktivite analiz çalışmaları	25
Şekil 16. SPME ekstraksiyon ve desorpsiyon prosedürü (Anonim, 1999).....	27
Şekil 17. GC/MS cihazı	28
Şekil 18. Ekstraksiyon işlemi ve çözücüsü uçurulmuş ekstraktlar	29
Şekil 19. HPLC-UV cihazı.....	29
Şekil 20. Toplam fenolik madde kalibrasyon grafiği	30
Şekil 21. Toplam flavonoid analizi kalibrasyon grafiği	31
Şekil 22. FRAP kalibrasyon grafiği	32
Şekil 23. CUPRAC kalibrasyon grafiği	32
Şekil 24. DPPH• aktivitesi sonuç grafiği	33
Şekil 25. 15 adet fenolik standartın 280 nm'deki HPLC-UV kromatogramı	39
Şekil 26. 15 adet fenolik standartın 315 nm'deki HPLC-UV kromatogramı	39
Şekil 27. Rezene bitkisinin 280 nm'deki HPLC-UV kromatogramı	40
Şekil 28. Rezene bitkisinin 315 nm'deki HPLC-UV kromatogramı	40

KISALTMALAR DİZİNİ

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

1 GİRİŞ

1.1 Genel Bilgiler

Bitkiler, ilk çağlardan bu yana tedavi edici ve besin amaçlı olarak kullanılmaktadır. Bitkinin sadece belirli bir kısmının değil, yaprak, meyve, çiçek ve kök kısmının da çok eskiden beri hastalıkları iyileştirmek için kullanılması bitkilerin geçmişten günümüze kadar hastalık tedavilerinde ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

Bitkiler canlılarda antimikrobiyal etkisinin incelenmesinde hem eski çağlarda hem de günümüzde besin olarak tüketilmesinin yanında ilaç kaynağı olarak da kullanılmıştır. Bazı tıp çalışanları alternatif tıp olarak bitkilerin hastalık iyileştirici etkilerini görmezden gelseler de tıbbi aromatik bitkiler (TAB) gibi doğal olan ürünler insanlığın var oluşundan beri hastalık durumlarında ilk başvuru tedavi yöntemi olmuştur. Tamamlayıcı (alternatif) tıp şeklindeki tedavinin oldukça olumlu önemli etkileri olduğundan bitkiler ile ilgili çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır (Kulkarni, 2000). Tarihi kaynaklar incelendiğinde bitkilerin yemek hazırlamak ve çeşitli hastalıkları tedavi etmek amaçlı kullanıldığı gözlenmektedir (Sökmen ve Gürel, 2001).

Görüldüğü gibi hastalığı tedavi etmek ve hasta insanları eski sağlıklı haline döndürmek için şifalı tıbbi bitkiler oldukça sık kullanılmıştır. Daha sonra 19. Yüzyılda sentetik olarak üretimin başlamasıyla ilaç endüstrisi gelişme göstermiş ve eski bilinen bu geleneksel metot kullanılmaz olmuştur. Ancak geçen son 25-30 yılda modern tıbbın var olan sorunlara çözüm vermemesi, yan etkilerinin oldukça fazla olması ve mevcut ilaçlara karşı görülen mikroorganizmaların geliştirdiği direnç problemi olması nedeniyle şifalı tıbbi bitkilerden temin edilen ekstraktlarla tedavi tekrardan gündeme gelmiş ve bu tedaviye olan ilgi giderek de artmıştır (Diken, 2009).

Son zamanlarda neredeyse bütün dünyada rastgele antibiyotik tüketimi sebebiyle organizmada bulunan bakterilerin bu yanlış tutumdan dolayı kullanılan antibiyotiklere karşı direnç kazandığı bulunmuş ve bundan dolayı bakterileri öldürebilmek için yüksek dozlarda ilaç üretilmek zorunda kalınmıştır (Çelik ve ark., 2010). Yine bu ilaçların yan etkilerinden ve mevcut ilaç direncine karşı gelemediklerinden dolayı

alternatif tıp olan bitkilerle tedavi ağır basmaktadır. Son yıllarda mikroorganizmalar ve çeşitli patojenik mikroorganizmalar arasında yüksek miktarlarda antibiyotik direnci probleminin açığa çıkmasıyla birlikte, araştırmacılar özellikle tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal özelliklerini incelemeye başlamışlardır (Naz ve ark., 2007).

Dünyada bulunan 250.000 bitki çeşidinin yaklaşık 35.000 ila 70.000'i hastalığı iyileştirmek amaçlı tüketilmektedir. Günümüzde bile gelişme halinde olan ülkelerdeki bir çok insan iyileşme amaçlı tıbbi ve aromatik bitkileri şifa kaynağı olarak görmektedir (Mukerji, 1997). Hali hazırda tıbbi amaçlı tüketilen ilaçların birçoğunun bitkisel kaynaklı olduğu bilinmektedir. Şu anda eczane raflarında bulunan ilaçların büyük çoğunluğu bitkisel kökenli ilaçlardır. Tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağlar fitokimya ve fitoterapide önemli bir yer kaplar, bundan dolayı bu işle uğraşan medikal ve ilaç endüstrilerince fazlalıkla tercih edilirler. Bitki kökenli bu esansiyel uçucu yağlar kozmetik, ilaç ve diğer endüstrilerde de sık bir şekilde kullanılmaktadır (Miguel, 2010).

Bitkilerin metabolizması vasıtasıyla ikincil metabolitler olarak üretilen çeşitli nicelik ve nitelikte birçok fenolik bileşenin bitkinin kendisine zararlı olan şeylerden korumada rol aldığı söylenmektedir (Saldamlı, 2007). Fenolik bileşikler oldukça önemli bir bileşik grubudur. Bu bileşikler meyve ve sebzelerde oldukça az miktarda vardır ve bitki kökenli gıdaların renk ve tadını etkileyen önemli bileşiklerdir. Fenolik maddelerin yapısında bakıldığında bir aromatik halkaya sahiptir ve bu halka üzerinde -OH grubu vardır, bu gruplar da bir veya daha fazla sayıda bulunmaktadır (Shahidi ve Nacz, 1995). Doğal antioksidan maddelerin en önemli kısmını fenolik bileşenler meydana getirirler. Bu bileşenler bitkilerin bütün kısımlarında bulunan polifenolik bileşiklerdir. En bilinen bitki fenolik antioksidan grupları kumarinler, fenolik asitler, tokoferoller, sinamik asit türevleri ve flavonoidler'dir. Bu fenolik bileşenlerin antioksidan özelliğe sahip olması besinlerin tat ve koku özelliklerini çoğaltmak amacıyla uzun zamandır ek katkı maddesi gibi tüketilen baharat ve tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımını ve önemini arttırmıştır (Merken ve ark., 2001; Shahidi ve Nacz, 1995; Silva ve ark., 2000; Harborne ve Williams, 1999; Bilaloğlu ve Harmandar, 1999). Doğal fenolik içerik bakımından zengin sebze ve meyvelerin canlı vücudunu zararlı serbest radikallere karşı savunduğu bilinmektedir. Bu alanda yapılan çalışmalar sebze ve meyvelerde doğal olarak var olan askorbik asit (C vitamini), glutatyon

karotenoidler, fenolik asitler, alfa-tokoferol (E vitamini) ve flavonoidler gibi fenolik maddelerin bu tür korumayı daha çok arttırdığını göstermiştir (Halvorsen, 2002).

Sanayi devriminden sonra hızlı sanayileşme meydana gelmiş ve yaşanan hızlı sanayileşme sonucu doğa olumsuz etkilenmiştir. Yer altı ve yer üstündeki doğal kaynakların temizliği gitmeye başlamış en önemlisi de atmosfere yayılan gazlar yüzüne ozon tabakası incelmeye başlamıştır. Güneş ışınlarından yayılan zararlı ışınlar ozon tabakasında tahribata yol açmaktadır. Ayrıca kimya endüstrisinin gelişmesiyle de çeşitli petrokimya, insektisit, solvent ve herbisit vb. gibi kimyasal maddeler üretilmiş ve bu tür kimyasallar birçok alanda kullanılmaya başlanmıştır. Üretilen bu kimyasal içerikli ilaçlar canlılarda bağışıklık sistemine ve vücut hücrelerine kötü etki ederek kalp hastalığı, kanser gelişimi ve hızlı yaşlanma gibi hastalıkların çoğalmasına sebep olmuştur. Bu tür olumsuzluklar insanları yeni yan etkileri az alternatif olabilecek iyileştirici metotlar bulmaya yöneltmiştir. Bu amaçla hastalıkları iyileştirmek için tıbbi ve aromatik olan şifali bitkilere ve doğal antioksidan maddelere odaklanılmıştır (Demo ve ark., 1998). Antioksidan bileşikler hastalığa neden olan serbest reaktif oksijen çeşitleri ile reaksiyona girerek serbest radikalleri etkisiz yani zararsız hale getirir. Serbest radikaller, molekül veya atomik kimyasal yapılarında bir veya daha fazla ortaklanmamış elektrona sahip bileşiklerdir (Çavdar ve ark., 1997). Serbest radikallerin organizmada sebep olduğu yıkıcı oksidasyon tepkimelerine karşı gelen organik yapılara antioksidan madde denilmektedir. Diyabet, kanser ve yaşlanma gibi çözülmesi zor problemlere sebep olan serbest radikal reaksiyonlarının yıkıcı etkisini ancak doğal antioksidan gruplarının kullanılmasıyla önleyebiliriz (Halliwell, 1992).

Son zamanlarda insanlar giderek organik ve doğal olan ürünlere yönelmektedir bundan dolayı da antioksidan özellik gösteren uçucu yağlara olan ilgi ve alaka da sürekli olarak artmaktadır. Şifalı tıbbi ve aromatik bitkiler ve bu bitkilerden üretilen uçucu yağlardan eski çağlardan bugüne kadar özellikle şifa ve iyileştirici amaçlı gıda üretilen endüstrilerde aroma verici ve koruyucu madde olarak faydalanılmaktadır. Teknolojinin sürekli değişmesi ve gelişmesiyle kullanımı çoğalan doğal olmayan gıda katkı maddelerinin sağlık açısından çok fazla yan tesirinin olduğu bilimsel olarak kanıtlanmıştır. Aynı zamanda virüs, bakteri gibi mikroorganizmaların mantarlara karşı kullanılan antifungallara ve sentez yoluyla üretilen antibiyotiklere karşı dirençli hale gelip güçlenmesi halk arasında ilaç olarak kullanılan bu önemli şifalı aromatik

bitkilerin ve bunlardan üretilen esansiyel yağlar ile ekstraktlarının kullanımını tekrar ön plana çıkarmıştır. Bu tür bileşiklerin özellikle insanların hayatını direk etkileyecek tıp, organik tarım ve gıda gibi çalışma alanlarında kullanılmasının yaygınlaştırması ve geliştirmesine yönelik araştırmaları hızlandırmıştır. Uçucu yağ bileşiklerin anti-özellikleri (fungal, mikrobiyal, alerjenik, biyotik, mutajenik) için yapılan çalışmalar çoğu zaman olumlu sonuçlanmaktadır. Bundan dolayı uçucu yağ ve ekstraktlarının kullanımı etkili ve alternatif bir iyileştirme yolu olarak görülmektedir. Uçucu yağ ve özütlerinin birçoğunun mutajenik etkiye sahip olmaması, bu uçucu bileşiklerin çoğu sentetik yan etkisi çok olan katkı maddelerine potansiyel alternatif bir madde olabileceğini kanıtlamaktadır (Bayaz, 2014).

Bu bilgiler ışığında bu çalışmadaki amaç; halk arasında şifalı olarak tanınan aromatik, tıbbi bir bitki olan Rezene (*Foeniculum vulgare*) bitkisinin antioksidan içeriklerini (DPPH, toplam flavonoid, FRAP, toplam polifenol ve CUPRAC metotları ile), antimikrobiyal aktivitesini (Disc Difüzyon ve MİK metodu ile), Uçucu yağ bileşenlerini (SPME ve GS-MS yöntemleri) ve Fenolik bileşen içeriklerini (HPLC-UV yöntemi kullanılarak) belirlemektir.

1.2 Uçucu yağlar

Esansiyel yağlar aromatik ve şifalı bitkilerden açığa çıkan doğal ve güçlü kokulara sahip kompleks maddelerdir. (Bakkali ve ark., 2008; Mimica-Dukiš ve ark., 2010). Uçucu yağlar, aromatik yağlar ve eterik yağlar gibi değişik adlarla bilinen bu uçucu bileşikler, bitkiyi oluşturan ana yapı elemanlarından biridir (Çelik ve Çelik, 2007). Bu yağlar bitkilerin tüm yapılarından açığa çıkarılan oda şartlarında çoğu zaman açık sarı renkli veya renksiz, keskin kokuya sahip, uçucu ve kolay kristalleşebilen doğal bileşiklerdir. Bu uçucu yağlar su ile karışma yapmadığı için yağlar sınıflandırılmasına dahil olsa da gerçekte var olan sabit yağlardan oldukça farklıdır (Biçer ve ark., 2003). Bu yağların yapısı yağ asidi trigliserid yapılarında olmayıp etanol-su içerisinde çözünebiliyor olmaları da onları sabit yağların yapısından ayırmaktadır (Ceylan, 1987).

Uçucu yağların kimyasal yapı olarak en büyüğünü terpenler sınıfı oluşturur. Ayrıca aldehitlerde, nitrojen ve kükürt içeren bileşiklerde, esterlerde, fenollerde ve alkollerde

miktarı küçük olsa da bulunur. Terpenlerin oksidasyonu ile oluşan oksijenli yapılar tat ve kokuya sahiptir aynı zamanda terapötik özelliklere de sahiptir (Linskens ve Jackson, 1997).

Uçucu yağlar sudan hafif yapılara sahip olduklarından suyla karışma özellikleri yoktur sadece su içerisinde yüzerler. Bu bileşiklerin optik olarak aktiflikleri vardır ve kırılma indisleri oldukça yüksektir. Kullanılmış olan süzgeç kağıdında leke bırakmazlar. Zamanla oksitlenme yapmaması için uzun süre depolama yapılmak isteniyorsa ağzı kapalı durumda olan bir şişe içerisinde saklamak daha uygun olacaktır.

1.2.1 Uçucu Yağların Biyolojik Etkinlikleri ve Kullanım Alanları

Büyük eski uygarlıklarda uçucu yağlar fazla miktarda kullanılmıştır. Aromaterapi alternatif bir tıp dalında yer alır ve bu tedavi şekli son zamanlarda insanlar tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra orantılı olarak uçucu yağların kullanımı da artmıştır. Esansiyel yağlar yani uçucu yağlar çoğunlukla terapötik amaçlı rahatlatıcı banyolar ve masaj yaptırılarda kullanılır. Ayrıca kozmetikte, ev deterjanı üretimlerinde, parfümeride ve gıda endüstrisinde de yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Özellikle lavanta ve sedir gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağlar böcek uzaklaştırıcı özelliklerinden dolayı da tercih edilmektedir. Uçucu yağlar elde etmek için ilk geliştirilen yöntem damıtma yöntemleridir daha sonraki zamanlarda farmakoloji gibi metotlar da kullanılmaya başlanmıştır (Rangahau, 2001).

Uçucu yağlar antimikrobiyal özelliğe de sahiptir ve aktivitenin yapısında bulundurduğu ketonlar, alkoller, terpenler ve fenoller gibi organik kimyasal gruplardan ileri geldiği literatür verilerinde bildirilmiştir (Tyagi ve Malik 2011).

Uçucu yağların suyu sevmeyen özellikleri sebebiyle bakteriyel hücre zarlarında toplandığı ve geçirgenliğin yükselmesine sebep olduğu görülmüştür (Sikkema ve ark., 1995). Hücre ölümünün ve nihai hücre yapısının bozulması bakteriyel enzimlerdeki değişikliklere ve hücreyi bırakıp giden hücre dışı maddelere bağlı olduğu söylenmiştir (Bajpai ve ark. 2013).

Uçucu yağların tüm bu sayılan özellikleri dışında insektisidal, antitoksijenik, antiparazitik, antienflamatuvar, antifungal, antibakteriyel ve antiviral gibi biyolojik özellikleri de vardır (Bayaz, 2014).

1.2.2 Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

Bu başlık altında çözücü ekstraksiyonu ve su destilasyonu gibi klasik metotlarla, katı-faz mikroekstraksiyonu ve mikrodalga ekstraksiyonu gibi daha yeni metotlardan bahsedilmiş, avantaj ve dezavantajları söylenmiştir. Uçucu yağ elde etme metotları aşağıdaki gibi 4 ana başlıkta özetlenmiştir.

- Destilasyon metodu
- Ekstraksiyon metodu
- Çok yönlü özütleme metotları [Simultaneous destilasyon ekstraksiyon (SDE)]
- Mekanik metot [Presleme (Pressing)]

1.2.2.1 Destilasyon Yöntem

Destilasyon yöntemi, sıvı bileşenlerin uçuculuk özelliklerine ve farklı kaynama sıcaklıklarına göre birbirinden ayırma işlemidir. Sıvı haldeki olan karışımın kaynama noktası sıcaklığına ulaşıncaya kadar ısıtılması, daha sonra soğutucu yardımıyla soğutulan buharın yoğunlaştırılması ve kaynama noktası sıcaklığı daha alçak olan maddelerin buhar haline geçmesi sistemine dayanır. Su destilasyonu, buhar destilasyonu ve vakum destilasyonu gibi çeşitleri vardır (Cellat, 2011).

1.2.2.2 Ekstraksiyon Yöntemi

Ekstraksiyon yöntemi geleneksel ve yeni metotlar olmak üzere iki ana gruba ayrılabilir. Maserasyon ve sokselet ekstraksiyonu geleneksel yöntemlerdendir. Doğayı kirletici çözücüler kullanılır ve reaksiyon süreleri çok uzundur. Buna karşı yeni metotlardan biri olan mikrodalga ekstraksiyonu ve süperkritik sıvı ekstraksiyonu son zamanlarda geliştirilmiş daha doğa koruyucu, daha hızlı ve daha etkili bir metottur. Katı-faz mikroekstraksiyon, süper kritik sıvı, mikrodalga, çözücü ve sıkıştırılmış çözücü ekstraksiyonu gibi türleri bulunmaktadır (Moyler, 1993).

1.2.2.3 Çok Yönlü ekstraksiyon Yöntemleri [Simultaneous destilasyon ekstraksiyon (SDE)]

Çok yönlü ekstraksiyon metotunu etkileyen en önemli faktör kullanılan çözücü türüdür. Sudan daha hafif veya sudan daha ağır olan çeşitli yoğunluğa sahip çözücülerle deneyler yapılmış, en iyi çözücünün diklorometan olduğu belirlenmiştir. Diğer önemli faktör ise kullanılan polar çözücülerin geri kazanımını yükseltmek amaçlı örneğe eklenen tuzdur. Yine ekstraksiyon süresi de önemli bir faktördür. Bu işlemde en fazla verim çoğunlukla 30-45 civarındadır. İşlem dakikalr içinde yani kısa sürede gerçekleşir ama süreç tamamlanması çoğunlukla 1-2 saat zaman dilimini bulur (Chaintreau, 2001.).

1.2.2.4 Mekanik Yöntem [Presleme (Pressing)]

Portakal ve limon gibi bazı turunçgillerin kabuk kısmında bulunan uçucu bileşenler, destilasyon metodu sırasında bozunmaktadır. Böyle olmaması için buna benzer meyvelerde destilasyon yapmak yerine meyvelerin kabuk kısmı bez olan bir torbaya yerleştirilip soğuk hidrolik preslerde bastırılarak uçucu yağ eldesi yapılabilmektedir (Ceylan, 1983).

1.3. Fenolik Bileşenler

Genellikle bitkilerde bulunan fenolik bileşikler oldukça önemli bileşiklerdir. Son 30 yılda ayrıntılı bir şekilde çalışılmış ve yapıları daha iyi anlaşılmıştır. Kimyasal yapılarında benzen halkası içerirler. Fenolik bileşenin en basit formu hidroksibenzendir ve hidroksisinnamik asit (kafeik, p-kumarik ve ferulik asit vb.), hidroksibenzoik asit (4-hidroksibenzoik, kinik ve gallik asit, vb.), ve flavonoidler en önemli fenolik bileşiklerdendir (Cemeroğlu ve Acar, 1986).

Geçmişten günümüze kadar binlerce fenolik maddenin kimyasal yapısı bilinmektedir (Kafkas ve ark., 2006). Bugüne kadar açığa çıkarılan fenolik maddelerin miktarı 8.000'den çoktur. Bitkiler yapılarında ortalama 20-60.000 tane gen bulunmaktadır ve var olan genlerin yüzde onbeş-yirmi'sinin bitkilerde var olan sekonder metabolitlerin üretiminde yer aldığı söylenmektedir. İkincil metabolitlerin %20'si fenolik maddelerden oluştuğundan bitkilerde ortalama ortalama fenolik madde olduğu düşünülmektedir (Tsao, 2010; Pereira ve ark., 2009).

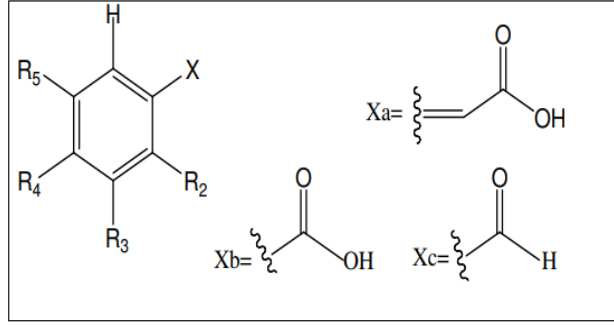
Fenolik maddeler meyve ve sebzelerde az oranlarda yer almasına rağmen bitkilerin renk tatlarını oluşturmada çok önemli rol oynayan bileşiklerden biridir. Fenolik bileşenler aromatik halkaya sahiptir ve üzerinde bir veya daha fazla hidroksil (-OH) fonksiyonel gruba sahip yapılardır. Fenolik bileşiğim en basit formu daha önce de bahsedildiği gibi bir hidroksi grubu içeren benzendir, yani diğer ismiyle fenol bileşiğidir (Shahidi ve Nacz, 1995; Cemeroğlu ve Acar, 1986).

Yapılan bilimsel araştırmalar fenolik maddeler açısından zengin olan gıdaların antioksidan özelliğe sahip olduğu, bundan dolayı da insan sağlığına zararlı serbest radikallerin oluşmasını engellediğini göstermektedir. Fenolik maddelerin sahip olduğu antioksidan aktiviteleri onların kimyasal yapılarına bağlı olarak değişmektedir (Halliwell, 2000). Yapısında bulunan hidroksil grubunun bulunduğu konum da antioksidan özellik için önemlidir. 3'-OH ve 4'-OH fonksiyonel gruplara sahip olan fenolik bileşenlerin daha fazla antioksidan özelliğe sahip olduğu bulunmuştur (Lien ve ark., 1999). Fosfolipazlar, fosfodiesterazlar, protein kinaz C, siklooksijenazlar ve lipoksijenazlar gibi enzim yapıları iltihaplanmaya dahil olan ve endotel hücrelerin aktivitesinde rol oynar. Yaygın fenolik maddelerden biri olan flavonoidler, bu enzim yapılarını inhibe ederek vücuda katkıda bulunur (Tripoli ve ark., 2007). Fenolik maddeler flavonoidler ve fenolik asitler olacak şekilde iki grupta incelenir.

1.3.1 Fenolik asitler

Aromatik karbonik asitler olarak da bilinen fenolik asitler, fenolik maddelerin alt grubunda yer alır ve bitkilerde fenil-propanoid metabolizmasından oluşur (Anklam, 1998). Flavonoidlerin metabolizması en az iki fenol alt birimine sahipken, tanenlerin metabolizması ise üç veya daha fazla fenol alt birimine sahiptir (Robbins, 2003).

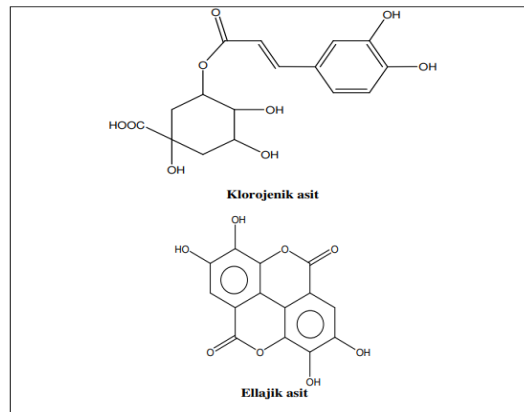
Fenol bileşiklerinin bir karboksil fonksiyonel grubuna sahip olanlarına fenolik asit adı verilir. Fenolik asitlerin üç farklı karbon çerçeve yapısı vardır. Şekil 1'de görüldüğü gibi bu formlar: sinnamik asit (Xa), benzoik asit (Xb) ve aldehit analogu (Xc) şeklindedir. Bu formlara bakıldığında temel yapı hepsinde aynı olsa da aromatik halkaya bağlı -OH gruplarının konumu ve sayısı değişerek bileşikler farklılaşmıştır (Robbins, 2003).



Şekil 1. Doğada yaygın olarak bulunan fenolik asitlerin yapısı (Robbins, 2003)

Bütün bitkiler fenolik asit içerir. Özellikle benzoik asit ve sinamik asit türevleri olan protokateşik, vanilik, kafeik, ferulik ve p-kumarik gibi fenolik asitler tahıllar, sebzeler ve meyveler gibi besinlerde bol miktarda rastlanmaktadır. Sirinjik ve genistik gibi fenolik asitler ise sınırlı bazı bitkilerde veya besinlerde yer almaktadır (Robbins, 2003). Kafeik asit ve kuinik asidin esteri olan klorojenik asit doğal bir fenolik madde olup yapısında üç tane –OH grubu içerir (Şekil 2) (Anonim, 2005). Gallik asidin ikizleşmesi yani dimerizasyonu sonucunda oluşan ellajik asit ise, ceviz, fındık gibi sert kabuğu olan yiyeceklerde, meyvelerde ve bitkilerde ya serbest halde bulunur ya da fenolik maddelerle bir arada bulunmaktadır (Şekil 2) (Heur ve ark., 1992).

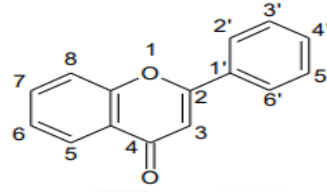
Besinleri oluşturan renkler, kaliteleri ve antioksidan özellikleri yapılarındaki fenolik asitler ile ilişkilidir. Bundan dolayı fenolik asitlerin serbest radikalleri yok ederek antioksidan özellik göstermesi ve sağlığa faydalarının bilinmesiyle bu bileşiklere olan ilgi artmış ve araştırmacıların dikkatini çekmiştir (Robbins, 2003).



Şekil 2. Klorojenik asit ve ellajik asidin yapısı (Heur ve ark.,1992)

1.3.2 Flavonoidler

Flavonoidlerin genel yapısında propan zinciri ile birbirine bağlı ve 15 adet karbon atomunu içeren iki tane fenil halkasından oluşan difenilpropan vardır (C6-C3-C6). Flavonoidler flavan türevleri olarak bilinirler ve kimyasal kompleks formülü Şekil 3'de gösterilmiştir. Besinlerde polifenol olarak en fazla flavonoidler görülmektedir (Saldamlı, 2007).



Şekil 3. Flavonoid bileşiklerinin kimyasal formülü (Shahidi ve Naczki, 1995).

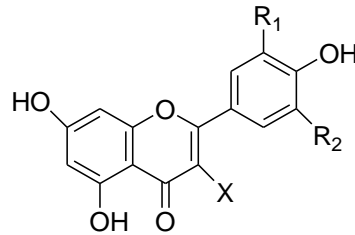
Flavanonlar, proantosiyandinler, flavonlar ve flavonoller, antosiyandinler ve kateşinler olmak üzere genel olarak flavonoidler 5 alt sınıfa ayrılır.

1.3.2.1 Antosiyandinler

Bu grup doğada serbest bir şekilde değil, antosiyandinler diye adlandırılan glikozitler ve şekerler halinde bulunurlar. Antosiyandinler, sebze ve meyvelerin mor, kırmızı, pembe gibi değişik renklerde olmasına neden olan ve suda çözünebilen bileşiklerdir (Cemeroğlu, 2004).

1.3.2.2 Flavonlar ve Flavonoller

Aromatik (-OH) ve (H) fonksiyonel grupları orta halkada üçüncü karbona bağlanmıştır (Şekil 4) (Tablo 1). Antosiyandinler gibi bunlar da şekerler ve glikozitler formunda bulunurlar (Saldamlı, 2007).



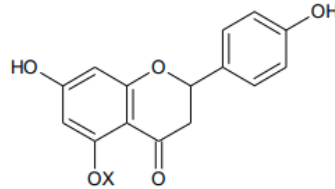
Şekil 4. Flavonoller ve flavonların genel yapısı

Tablo 1. Flavonlar ve flavonolların kimyasal formülleri (Cemeroğlu, 2004).

Flavonollar	R ₁	R ₂	Flavonlar	R ₁	R ₂
X=OH			X=H		
Kamferol	H	H	Apigenin	H	H
Kuersitin	OH	H	Luteolin	OH	H
Mirisetin	OH	OH	Krisoeriol	OCH ₃	H
İsoramnetin	OCH ₃	H	Trisin	OCH ₃	OCH ₃

1.3.2.3 Flavanonlar

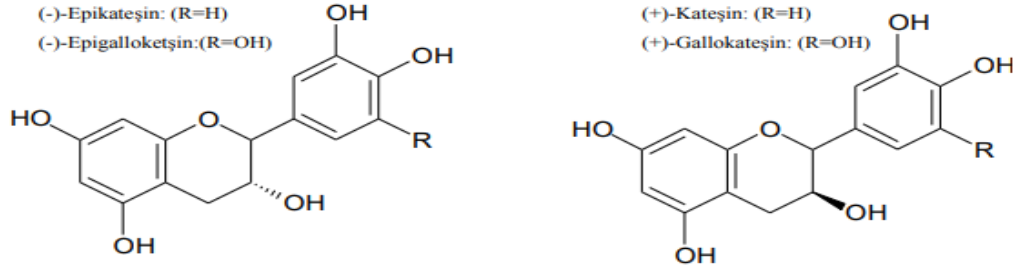
Flavononlar Şekil 5’de de görüldüğü gibi halkaların ortasında ayrıca bir çift bağa sahip değildir. Flavonon glikozitleri çoğunlukla turuncgil meyvelerinde bulunmaktadır. Örneğin greyfurt trunçgilinde meyvedeki acımsı tadı sağlayan yapıdaki flavanon glikozit bileşiğidir (Cemeroğlu, 2004; Saldamlı, 2007).



Şekil 5. Flavanon yapısı (Cemeroğlu, 2004).

1.3.2.4 Kateşinler

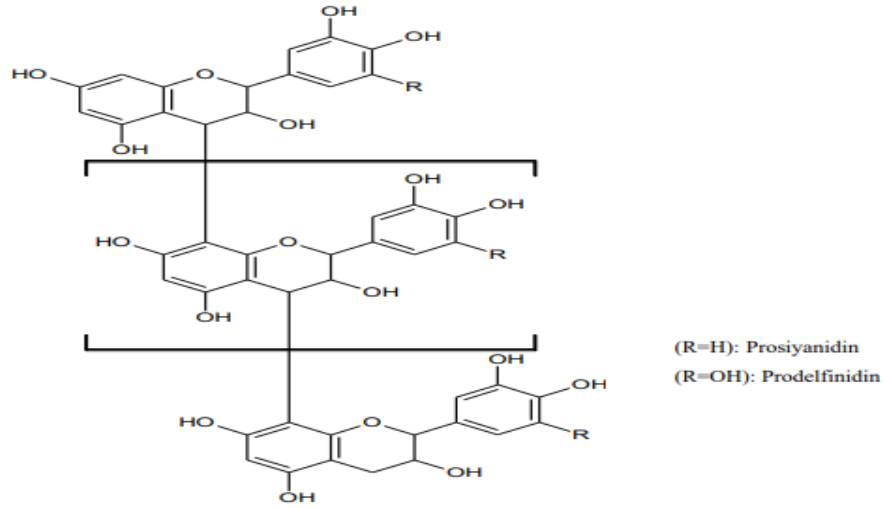
Kateşinlerin yapısına bakıldığında hidroksil grubu karbon atomlarından üçüncü karbona bağlıdır. Şekil 6’da da gösterildiği gibi kimyasal yapıları flavon-3-ol şeklindedir (Shahidi ve Naczki, 1995). Besinlerde çoğunlukla bulunan flavonoidi çeşitli reaksiyonlar sonucu oluşturur. Örneğin oksijenle kolayca enzimatik ve kimyasal olarak tepkimeleri sonucu proantosiyandinler oluşur (Saldamlı, 2007).



Şekil 6. Kateşin bileşiklerinin molekül formülleri (Shahidi ve Naczk, 1995).

1.3.2.5 Proantosiyanidinler

Proantosiyanidinler, epikateşinler, kateşinler ve bu komplekslerin gallat esterlerinden meydana gelen polimerik yapıdaki maddelerdir. Eğer yalnızca kateşin ve epikateşin kombinasyonu oluşmuşsa prosiyanidin şeklinde isimlendirilir (Şekil 7). Bir gallokateşin/kateşin birleşimi ile meydana gelen bileşik ise prodelfinidin olarak bilinir. (Shahidi ve Naczk, 1995). Bitkisel besinlerde çoğunlukla proantosiyanidinler yer almaktadır.



Şekil 7. Proantosiyanidinlerin molekül formülleri (Shahidi ve Naczk, 1995).

1.4 Antioksidanlar

Reaktif serbest oksijen çeşitleri ve bu bileşiklerin sebep olduğu zararı önlemek, detoksifikasyonu gerçekleştirmek ve bloke etmek amacıyla organizmada var olan savunma sistemlerine 'antioksidanlar' ya da 'antioksidan savunma sistemleri' adı

verilmektedir (Şener ve Yeğın Berrak, 2009). Antioksidanlar, serbest radikallerle çok hızlı tepkimeye girerek vücuda zarar veren peroksidasyonun/otooksidasyon tepkimelerinin hızını yavaşlatan bileşiklerdir. Yani antioksidan yapıların görevi aşırı serbest biçimde bulunan radikalleri nötr hale getirmek, sağlıklı hücreleri zehirli etkilerden önlemek ve sağlığını korumaya yardımcı olmaktır (Dündar ve Aslan, 1999; Pham-Huy ve ark., 2008).

Antioksidanlar sayesinde kanser oluşumu ve vücudumuzdaki hücre anormallikleri azalır, daha sağlıklı olabileceğimiz bir yaşam tarzı ile yaşam şansımız artar diyebiliriz. Dünyada birçok çeşitli maddenin antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Bunların çoğu bitkilerden yani doğadan vücuda alınırken bazıları da vücudun kendisi tarafınca bir savunma mekanizması olarak kendiliğinden meydana gelir. Bu şekilde vücudumuzun serbest radikallere karşı ürettiği antioksidan olarak adlandırılan enzimler SOD (süperoksit dismutaz), peroksidaz, glutatyon ve katalaz'dır (Seçkin, 2014).

Antioksidan yapıların serbest radikallerle etkileşimi dört değişik yöntemle olmaktadır;

1. (Scavenging) Süpürme özelliği: Mikro bileşikler ve antioksidan madde olarak adlandırılan yapılar ve oksidanların zayıflamasına neden olarak yeni bir bileşiğe dönüştürür ve yeni oluşan bu bileşik zararsızdır.
2. Söndürme etkisi (Quenching): Mannitol, vitaminler, favanoidler ve timetazidinler içeren antioksidan moleküllerden oksidanlara hidrojen aktarılarak zararsız hale gelmesini sağlar.
3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Ağır mineraller, serüloplazmin ve hemoglobin gibi bileşikler oksidanları kendine bağlayarak zararsız hale getirir.
4. Onarma Etkisi (Repair): Antioksidanlar, oksidanlara değen, hasar gören molekülleri onarırlar (Harşıt, 2015; Gökpınar ve ark., 2006).

1.5 Antimikrobiyal Maddeler

Bakterilerden kaynaklanan enfeksiyonlar en etkili ve uygun olan antimikrobiyal bileşikler ile tedavi edilir. İlaç endüstrisinde hastalıkları iyileştirmek amaçlı meydana getirilen tıbbi ürünlerin büyük çoğunluğunu bitki kaynaklı tıbbi ürünler ve bitkiler

oluşturmaktadır (Dağcı ve Dığrak, 2006). Şifalı ve tıbbi aromatik etkiye sahip bitkilerden temin edilen özütlerin antibakteriyel özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Bundan dolayı mikroorganizmalarda antibiyotik direnci problemini engellemek amacıyla bitkilerden elde edilen bitki kökenli ürünlerin antimikrobiyal madde olarak sentetik ilaçların yerine ya da ilaçlara yardım edecek şekilde kullanılma fikri desteklenmektedir (Toroğlu ve ark., 2006).

Birçok araştırma sonucunda çoğu bitki ekstarktlarının antibakteriyel etkiye sahip oldukları bildirilmiştir (Esen, 2008). Antimikrobiyal ajanlar mikroorganizmaların gelişimini önleyerek, bakterilerin hastalık edici özelliklerine karşı organizma vücudunu korurlar.

Antibakteriyel maddeler etkinlik sağlayabildikleri bakteri cins-tür rakamının fazla veya az miktarda olma durumuna bağlı olarak dar ya da geniş alanlı (spektrumlu) olacak şekilde iki farklı olarak adlandırılır. Bakterilerin sebep olduğu bizi hasta eden enfeksiyonlara en etkili iyileştirme dar spektrumlu antibakteriyel bileşiklerle yapılır. Fazla sayıda mikroorganizmanın aynı anda bizi hasta ettiği enfeksiyonlarda ise dar spektrumlu değil de geniş spektrumlu antibakteriyel bileşikler kullanılır. Geniş spektruma sahip antibakteriyel ajanlar yaşam dengemizi korumamıza fayda sağlayan canlı vücudunun doğal olan bağışıklık sistemi için oldukça büyük öneme sahiptir (Öztürk, 2009).

1.6 Rezene (*Foeniculum vulgare*)

Foeniculum vulgare, Apiaceae (Umbelliferae) ailesine ait bir bitki türüdür. Bu familya kendine ait aroması ve esansiyel yağı ile bilinmektedir. Bu bitki ülkemizde fazla miktarda tarımı yapılan ve ekonomik olarak önemi olan şifalı tıbbi ve aromatik bitkiler arasında bulunmaktadır. Dünyada ve ülkemizde ticari olarak fazla öneme sahip olan bu rezene bitkisinin acı rezene (*Foeniculum vulgare* subsp. *vulgare* var. *vulgare*) ve tatlı rezene (*Foeniculum vulgare* subsp. *vulgare* var. *dulce*) olarak iki farklı çeşidi vardır (Baydar, 2016).

Yaklaşık olarak bir buçuk ya da iki metre uzunluğa sahip, uzun ömürlü, geniş kümeler meydana getiren, ot şeklinde olan bir bitkidir. Yaprakları hem saplı hem de tüysüz şekildedir. Bitkinin gövdesi ise dik olarak, içleri boş silindir gibi ve tüsüzdür.

Üzerindeki çiçekler uzun sapa sahip ve bileşik şemsiyeye benzer durumundadırlar. Meyveleri silindire benzer, yeşilimsi ve tüysüz esmer renktedir. Tohumları yağ ve protein olarak oldukça zengin bir besin dokuya sahiptir. Sıklıkla kurak ve kayalık olan mekanlarda büyür, haziran ve temmuz aylarına geldiğinde çiçek verir, iyileştirici etkisi ve şifası fazlasıyla yüksektir. Rezene bitkilerinin yeşil renk gövdeleri ve sarı olan çiçekleri bulunmaktadır. Orta Doğu ve Avrupa gibi çoğu bölgeye özgü bir bitkidir. Ilıman ve tropik iklimi olan bölgelerde yetiştirilebilmektedir. Ülkemizde ise daha çok Ege ve Akdeniz bölgelerinde bulunur. Rezenede, karakteristik bir anason kokusu vardır ve oldukça aromatik bir bitkidir. Çorbalarda, salatalarda, konulur ve bunun yanında bitkisel çayı yapılarak da içilir (Baydar, 2016; Baytop, 1984; Santayana ve ark., 2007; Carvalho, 2005).



Şekil 8. Rezene (*Foeniculum vulgare*)

Rezene bitkisi çok fazla besin ve halk arasında ilaç olarak tüketilmektedir. Mesala, genç sürgün hali, çiçeklenme gövdeleri, olgun hale gelmiş salkımları, yumrular, tohumlar ile yaprakları sıklıkla ev yapımı ilaçların içinde bulunur ve en başta sindirim olmak üzere değişik huzursuzlukların iyileştirilmesinde faydalı olarak düşünülür (Santayana ve ark., 2007; Carvalho, 2005).

Rezene, aynı zamanda sindirim sistemimizi uyarması ile gıdaların sindirilebilirliğini artırarak hazmımızı kolaylaştırmaya yardımcı olmaktadır. Rahatlatıcı etkisinden dolayı küçük bebeklerin ve çocukların gaz ağrıların yok edilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Solunum yoluna ait hastalıklarının iyileştirilmesinde de çoğunlukla rezene bitkisinden faydalanılmaktadır. Böbrek taşlarını tedavi eder, idrar söktürmede faydalıdır, mide huzursuzlukları, şeker rahatsızlıkları, kronikleşmiş öksürük vakalarına ve bronşit iyileştirilmesine de iyi gelmektedir. Bunlarla birlikte annelerin var olan sütlerini de arttırdığı söylenmektedir (Esquivel-Ferrino ve ark., 2012; Carvalho, 2005; Novais ve ark., 2004). Bunların yanı sıra rezene bitkisinin meyve

kısımlarından açığa çıkarılan esansiyel yağın antioksidan ve antibakteriyel özellikleri ile birlikte alternatif tıp alanında birçok yararı olduğu tespit edilmiştir (Gende ve ark., 2009).

Tatlı (*F. vulgare var. dulce*) ve acı (*F. vulgare var. dulce*) kaba) olacak şekilde iki grup rezene ticareti yapılır. Besin ve ilaç endüstrisinde yer alan rezene tohumları esansiyel yağlar, vitaminler, fenolik bileşikler ve mineraller açısından oldukça zengindir. Rezenenin tohum kısımları flavonoidler, seskiterpenler, tanenler, fenilpropan, kumarinler, saponinler yağ asitleri (%20, çoğunlukla petroselinik asit), glikozitler, monoterenler, uçucu yağlar (%3) ve triterpenler içerir (Rather ve ark., 2016; He ve Huang, 2011; Balbino ve ark., 2021; Khammassi ve ark., 2018; Weiping ve Baokang, 2011; Akhtar ve ark., 2020).

Acı tür olan rezene bitkisine ait meyveler uçucu yağı, tatlı tür rezene uçucu yağına göre daha çok fenkol ve α -pinen içerirken, buna karşın daha az östrojen ve transanetol bileşiklerine sahiptir (Saini ve ark., 2014). Esansiyel yağın ana maddeleri limonen, östrojen, fenkon ve transanetol bileşikleridir ve bunların bitki içerisindeki oranları rezenenin nerede yetiştiğine, ve iklim şartlarına göre değişir. Rezenenin sahip olduğu antifungal, antibakteriyel ve antioksidan gibi biyolojik aktiviteleri yalnızca rezenede bulunan bu ana bileşenlere bağlı değildir. Bitkinin sahip olduğu diğer ferulik asit, kafeik asit, klorojenik asit, apigenin, 1,5-dikaffeoilkinik asit, rutin, quercetin ve p-kumarik asit gibi maddeler de biyolojik aktiviteden sorumludur (Salami ve ark., 2017; Kalleli ve ark., 2019). Rezene bitkisinde en fazla miktarda bulunan Transanetol (%81,63-%87,85) organizmada östrojenik madde görevinde bir bileşik olarak bilinir (Senatore ve ark., 2013).

2 MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

2.1.1 Çalışmada Kullanılan Bitki Örneği

Bu çalışmada, Mardin ilinde yetişen Rezene (*Foeniculum vulgare*), bitkisi incelenmiştir. Bitkini toprak üstü kısmı (meyve) kullanılmıştır. Bitki kurumuş halde aktardan hazır olarak satın alınmıştır (Şekil 9).



Şekil 9. Çalışmada kullanılan rezene meyvesi

2.1.2 Araştırmada Yer Alan Test Mikroorganizmaları, Temini ve Saklanması

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 getirilmiştir. 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.

Getirilen kültür izolatları, +4°C'de saklanmıştır. Belirli aralıklarla alt kültürleri saflıklarının kontrolü için yapılmıştır. Kullanılan bütün mikroorganizmalar -85°C'de ve %15 gliserolde saklanmıştır. Çalışılacak fungal ve bakteri kültür izolatların devamlılığı devam etmesi için MHA (Sigma M-9552), PDA (Patates dekstroz agar) (Merck 1.10130), SDA (Sabouraud dekstroz agar) (Fluka 84088) ile Nutrient agar (NA) (Merck 1.05450.0500) besi ortamlarından yararlanılmıştır. Ve bunların düzenli zamanlarda alt kültürleri elde edilerek +4°C'de saklanmıştır. Antibakteriyel aktivite belirleme deneylerinde mikrodilüsyon metotları için RPMI 1640 ve besiyerlerinden faydalanılmıştır.

2.1.3 Mikroorganizmaların çoğaltılması adına faydalanılan besiyer materyalleri

İzolat suş depolarından temin edilen fungal izolatlar ilk başta daha önceden taze olarak hazırlanmış yatık şeklinde olan agar, bakteri izolatları ise Mueller hinton agar (MHA) içinde temin edilmiştir. Ardından bu şekilde elde edilen fungal izolatlar PDA olana, bakteri izolatları ise MHB (Mueller hinton broth) (Merck 1.10293) sıvı izolat materyallerine alınarak çoğaltma işlemi gerçekleştirilmiştir (Özşen, 2011). Deneyde bulunan maddelerin belirlenen fungal ve bakterilere karşı antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesinde Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından söylenen belirli metotlar temel alınmıştır. Bu metotlardan mikrodilüsyon yöntemleri, funguslar M38-A2, bakteriler M100-S16 ve mayalar M27-A2 gibi esaslarda bir takım değişiklikler yapılarak deneyler yapılmıştır (M38-A2, 2008; M100-S16, 2006; M27-A2, 2002). Antifungal deney çalışmaları için standart ilaç olarak ketokonazol ve amfoterisin B kullanılırken, antibakteriyel deneyler için standart ilaç olarak tetrasiklin ve kloramfenikol'dan yararlanılmıştır.

2.1.4 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde yer alan bütün kimyasal yapılar analitik derecede saflıktadır. NaOH, neokuproine, etil asetat, metanol, dietil eter, etanol Merck (Darmstadt, Germany) ve Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Germany) gibi satıcılarından temin edilmiştir. Folin-Ciocalteu's, phenol reaktifi, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]), TPTZ (2,4,6-tri (2-pridil)-S-triazin) yapıları Fluka Chemie GmbH (Buchs, Switzerland)'dan elde edilirken, 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametil kroman-2-karboksilik

asit (Trolox[®]) kimyasalı ise Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Germany) satıcısından satın alınmıştır. Yine diğer kullanılan kimyasallardan H₂SO₄, HCl, ferrik klorür, KCl, sodyum asetat, sodyum karbonat, karbon tetraklorür ve glisial asetik asit Merck (Darmstadt, Germany) firmasından hazır olarak satın alınmıştır.

2.1.5 Araştırmada Faydalanılan Cihaz ve Aletler

Yapılan bu yüksek lisans tez çalışmasının tamamlanması için kullanılan kimyasal aletler, makineler ve temin edildikleri satıcılar Tablo 2 üzerinde gösterilmektedir.

Tablo 2. Kullanılan makine ve gereçler, marka/modelleri

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

2.1.6 Analizler İçin Numune Çözeltilisinin Hazırlanması

Mardin'den temin edilen *Foeniculum vulgare* bitki meyve kısmı bıçaklı blender yardımıyla toz formuna getirilmiştir. Toz formuna gelen *Foeniculum vulgare* miktarı 10.17 g olarak tartılarak ardından ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Özütleme işlemi metanol çözücüsü içinde bir gün (24 saat) süresince çalkalayıcıda karıştırma yapılarak yapılmıştır. Ekstraksiyon süresi bitiminde basit süzgeç kâğıdı ile süzölmüş ve belirli hacime gelinceye kadar metanol ile ilave edilmiştir (Şekil 10). Daha sonra bu şekilde hazırlanan bu bitki ekstraktı için, DPPH•, Toplam Flavonoid, CUPRAC, FRAP ve Toplam Polifenol gibi çeşitli metotlardan yararlanılarak antioksidan içerik belirleme deneyleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 10. Analizlere hazırlanmış bitki örneği

2.2 Antioksidan Tayinleri

Foeniculum vulgare bitki meyvesinin antioksidan içerik özelliklerini belirlemek için toplam falvonoid ve fenolik madde tayini, CUPRAC, FRAP ve DPPH yöntemi gibi çeşitli yöntemler kullanılarak antioksidan aktivite deney çalışmaları yapılmış (Şekil 11) ve UV/VIS Spektrofotometre cihazı (Şekil 12) ile absorbans değişimleri ölçülerek antioksidan içerikleri belirlenmiştir.



Şekil 11. Antioksidan aktivite deney çalışmaları



Şekil 12. UV/VIS spektrofotometre cihazı

Bu yüksek lisans tez kapsamında faydalanılan antioksidan aktivite belirleme metotları aşağı kısımda ayrı ayrı açıklanmıştır.

2.2.1 Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

1977 yılında araştırmacıların söylemiş olduğu metottan yararlanılarak toplam fenolik içerik miktarı deneyi yapılmıştır (Slinkard ve Singleton, 1977) (Tablo 3). Bu metota göre örnek içindeki toplam çözünebilir fenolik bileşik, 760 nm absorbansta Folin-Ciocalteu bileşiği ile renkli büyük bir karmaşık kompleks oluşturur. Bu prensipten faydalanılarak gallik asit standardı kullanılarak çalışma grafiği hazırlanmış ve bu grafiğe göre sonuçlar yorumlanmıştır.

Tablo 3. Toplam fenolik içerik analizinin deney koşulları

	Kör	Standart	Numune
Saf Su	0,7 mL	-	-
Standart (çeşitli konsantrasyonlarda)	-	0,68 mL	-
Numune	-	-	0,68 mL
0,2 N Folin Reaktifi	0,4 mL	0,4 mL	0,4 mL
Tüpleri karıştırıp, 3 dakikalık inkübasyondan sonra			
%10 Na ₂ CO ₃	0,4 mL	0,4 mL	0,4 mL
2 saat beklemeden sonra 760 nm absorbans kullanılarak ölçüm yapılır.			

2.2.2 Toplam Flavonoid Madde İçerik Tayini

Zhishen ve arkadaşları tarafından önerilen metot kullanılarak bitkinin toplam flavonoid madde içeriği belirlenmiştir (Tablo 4). Bu metota göre flavonollerin ve flavonların içerdiği olduğu C-3 ya da C-5 pozisyonunda bulunan –OH (hidroksil) grupları ve C-4 keto grubunun AlCl₃ bileşiği ile asit ortamında kararlı yapılar oluşturur.

Buna ilaveten AlCl₃ aynı zamanda flavonoid fenoliklerinin içerdiği halkalardan A- ya da B- olanlarıyla orto konumunda bulunan dihidroksil bileşikleriyle de karmaşık bir kimyasal yapı meydana getirir.

Yapılan deneyde standart olarak 1-0,03125 mg/mL konsantrasyonuna sahip kuersetin bileşiğinden faydalanılmıştır. Bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans

sayılarından yararlanılarak deney için standart çalışma grafik eğrisi yapılmıştır (Zhishen ve ark., 1999).

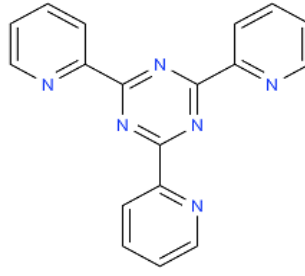
Tablo 4. Toplam flavonoid içerik analizinin deney koşulları

	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 FRAP (Fe⁺³ İndirgeme Gücü) Deneyi

Benzie ve Strain tarafından 1996 yılında önerilen metota göre FRAP yöntemi deney şartları gerçekleştirilmiştir (Tablo 5). Demir iyonunun tripiridiltriazin (Şekil 13) ile kompleks yapma demirin indirgenme esasına dayanır. Yani bu metota göre düşük pH değerinde ferrik tripiridiltriazin yapısı (Fe⁺³-TPTZ) var olan antioksidan maddeler vasıtasıyla ferröz yapısına (Fe⁺²-TPTZ) indirgenmesi gerçekleşir. Oluşan bu yeni indirgenme yapısının 593 nm’ de verdiği absorbans kaydedilir. Bu şekilde bileşikteki elektron kaybetmenin antioksidan bileşiklerin toplam indirgeme gücüyle orantılı olduğu düşünülür. Bu uygulamanın dezavantajı yöntem okside olan bir substrata sahip olmadığından antioksidan maddelerin koruyucu aktiviteleri için bilgi sağlanamaz (Huang ve ark., 2005; Benzie ve Strain, 1996). Bitkinin metanol içindeki özütünün deney bitiminde açığa çıkan FRAP sonucu TEAC (Troluks eşdeğeri) değer olarak µmol Troluks /g numune olacak şekilde verilmiştir.



Şekil 13. TPTZ (Tripiridiltriazin)

Tablo 5. FRAP analizinin deney koşulları

	Reaktif Tanık Tüpü	Numune Renk Tanık Tüpü (Metanol)	Numune Renk Tanık Tüpü (Su)	Standart	Numune
FRAP Reaktifi	3 mL	-	-	3 Ml	3 mL
Numune	-	100 µL	100 µL	-	100 µL
Troloks (Değişen kons.)	-	-	-	100 µL	-
Destile Su	0,1 mL	-	3 mL	-	-

4 dakika bekledikten sonra 593 nm absorbansta ölçümler yapılır.

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

Bir araştırmacı olan Apak ve arkadaşlarının önerdiği bu metotta (Tablo 6), Neokuproin-Nc'nin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) Cu(II) ile kamaşık bir kompleks oluşturur. Oluşan 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 faydalanılarak antioksidan özellik ölçülmektedir (Apak ve ark., 2004). Bu deney için standart olarak 1-0,03125 mM konsantrasyona sahip Troloks® bileşiğinden yararlanılmıştır. Deney sonucunda açığa çıkan sonuçlar TEAC (Troloks® eşdeğeri antioksidan özellik) türünden yazılmıştır.

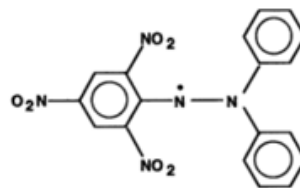
Tablo 6. CUPRAC analizinin deney koşulları

	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 yapılır.

2.2.5 DPPH• Radikali Süpürme Etkisinin Analizi

DPPH• kimyasalı (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) hazır bir şekilde temin edilmiş ve bu deneyde çözücü olarak kullanılan metanol içinde konsantrasyon 4 mg/100 mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Bitkiden açığa çıkarılan ekstraktların değişen konsantrasyonlarında çalışıldı ve bu örneklerin üzerine eşit hacimde olacak şekilde 750 µL DPPH• çözeltisi ilave edilip oda sıcaklığında ve karanlıkta 60 dakika beklemeye bırakıldı. Bu süre tamamlandığında DPPH•'in en yüksek absorbanstaki olduğu 517 nm'de ölçümler yapıldı. Kör numune numunenin çözüldüğü metanol ve DPPH• çözeltisinde hazırlandı. Daha sonra konsantrasyonlara karşı elde edilen absorbanstalar grafiği çizildi (Molyneux, 2004). Çizilen grafik yardımıyla % 50 inhibisyon olarak adlandırılan IC₅₀ sayıları mg/mL türünden hesaplanarak verildi. Bu DPPH• radikal temizleme testinde Troloks standart olarak kullanılmıştır. Bu grafikten elde edilen hesaplama sonuçlarında örnek konsantrasyon değeri ile standart olarak kullanılan troloksun değeri ne kadar birbirine yakın ise DPPH• antioksidan özelliği o kadar iyidir denilmektedir.

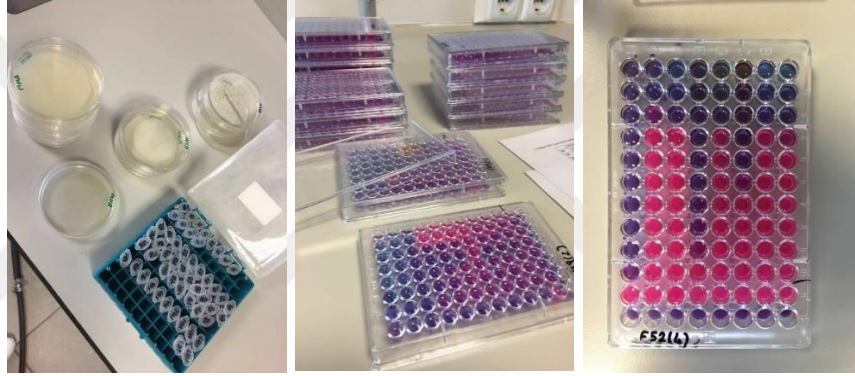


Şekil 14. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

2.3 Antimikrobiyal Aktivite Analizi

Foeniculum vulgare bitki meyve kısmının in vitro ortamında antifungal ve antimikrobiyal kapasitelerini incelemek amacıyla Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından söylenilen sıvı mikrodilüsyon yönteminden faydalanılmıştır (Amsterdam, 1996).

Standart olarak antifungal madde olarak amfoterisin B ve ketokonazol bileşikler iken antimikrobiyal madde olarak kloramfenikol ve tetrasiklin bileşiklerinden yararlanıldı. Faydalanılan bu standartlar Sigma satıcısından hazır olarak temin edildi. Bu antimikrobiyal aktivite analiz çalışmalarında kullanılan tüm deneyler iki bağımsız testte iki kez tekrarlanacak şekilde tayin gerçekleştirildi (Şekil 15).



Şekil 15. Antimikrobiyal aktivite analiz çalışmaları

2.3.1 Bakteriler İçin Sıvı Mikrodilüsyon Testi

Sıvı mikrodilüsyon deneyi, CLSI, M100-S16 literatürüne göre yapılmıştır (M100-S16, 2006). *Foeniculum vulgare* bitkisinin minimum inhibe edici konsantrasyonu (MİK), 96 oyuklu mikrotiter plaklardan faydalanılarak sıvı mikrodilüsyon metodu ile tayin yapıldı. bakteriyel solüsyonlar, çift kuvvetli Mueller-Hinton suyu (MHB) (Merck, Almanya) içerisinde tüm gece süresince büyümüştür; turbido yardımıyla metrik olarak değeri yaklaşık 10^8 CFU 1/mL'ye (Mac Farland No: 0.5 kullanılarak) sabitlenmiştir. Test örneği çözücü olan %10 DMSO'da çözüldü ve MHB içinde konsantrasyonu 15.63-4000 μ g/mL olacak şekilde seyreltildi. Negatif kontrol için DMSO'dan yararlanılmıştır. Daha sonra süspansiyon için iki defa 100 L MHB içinde seyreltme işlemi yapıldı, bakteriyel izolatlarla aşılama yapılarak 37 °C'de bir gün (24 saat) bekletildi. MİK'leri kontrol etmek için Sigmadan alınan Resazurin çözeltisi ilave

edildi. MİK son değeri %100 yani tam büyüme inhibisyonu ile minimum konsantrasyon olacak şekilde verildi. Yapılan bu antimikrobiyal deneylerden elden edilen değerler Sigmadan satın alınan standart amfoterisin B ve kloramfenikol benzeri bileşiklerin değerleri ile karşılaştırıldı.

2.3.2 Maya Suşları İçin Sıvı Mikrodilüsyon Testi

CLSI Broth mikrodilüsyon deneyi aynı zamanda M27-A2 kuralında söylendiği gibi 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 yapıldı. Rezene bitkisinin en son konsantrasyonları 15.63 ile 4000 µg/mL şeklindedir. MİK değerleri 37 °C'de bir gün (24 saat) bekletilerek elde edildi. MİKleri kontrol etmek için Resazurin solüsyonu ilave edildi. MİK son değeri %100 yani tam büyüme inhibisyonu ile minimum konsantrasyon olacak şekilde verildi (M27-A2, 2002).

2.4 Uçucu Yağ Bileşiklerinin Analizi

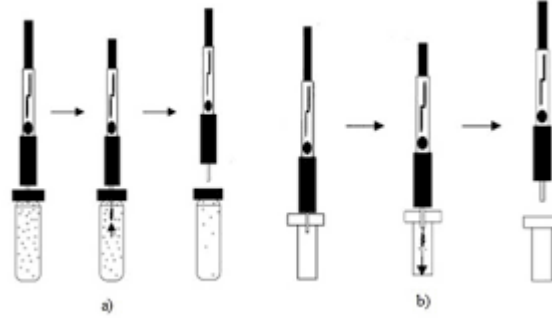
2.4.1 Katı Faz Mikroekstraksiyon Yöntemi (SPME)

Diğer metotlarla karşılaştırdığımız zaman katı faz mikro ekstraksiyon daha ucuz, pratik, çözücü gerektirmeyen ve daha az süre gerektiren bir tayin metotudur. Bu yüzden bu yüksek lisans tez çalışmasında uçucu bileşen analizi için SPME metodu kullanılmıştır.

Foeniculum vulgare bitki materyali rezene (5g) blendır yardımıyla küçük parçalara ayrıldı ve silikon-kauçuk septum kanatçıklı ağız kapalı bir cam şişeye (10 mL) ilave edildikten sonra üst boşluk kısmı, katı fazlı mikro ekstraksiyon aparatına konuldu (Supelco, USA). Üst boşluk kısmına bir DVB/Karboksen/PDMS kaplama lifi ilave edildi ve esansiyel bileşikler açığa çıkması amacıyla kullanıldı. SPME lifleri, GC enjektöründe 5 dakika süre ile 250 °C'de sıcaklığa konuldu. Ekstraksiyon, süre olarak 5 dakika ve 10 dakikalık bekleme (inkübasyon) kullanılarak 80 °C sıcaklıkta manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak gerçekleştirildi.

Esansiyel maddelerin özütüne sahip elyaf ardından GC enjektörüne ilave edildi. 1 mL/dak akış hızı olacak şekilde taşıyıcı gaz olarak helyumdan yararlanıldı. Bölme

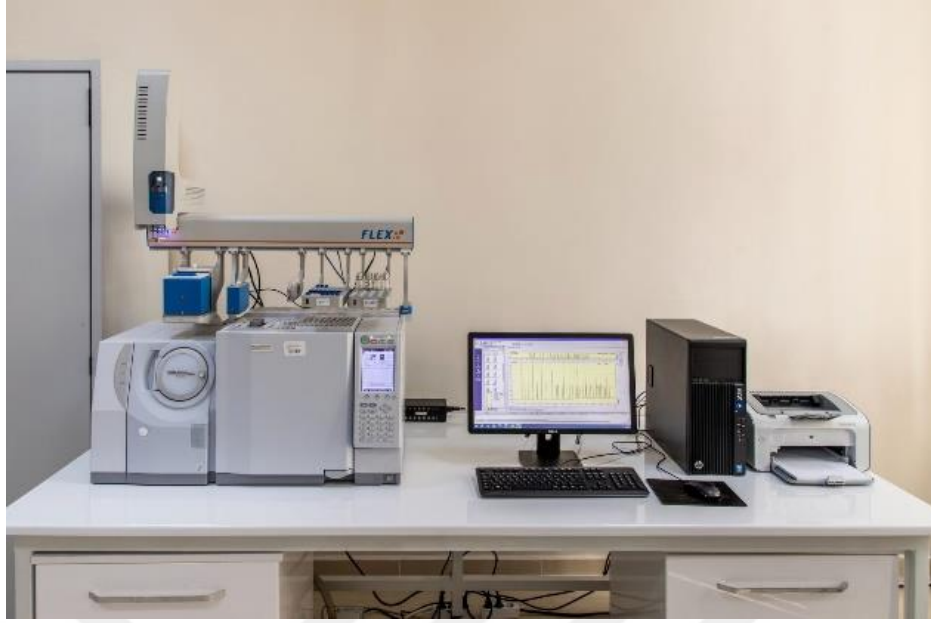
modunda (1:30) 250 °C sıcaklıkta enjeksiyon işlemi yapıldı. Deney sonunda bitki numunesi tayin edildi ve sonuç rapor haline getirildi. Buradaki bekleme süresi, özütlenme ve sıcaklık gibi deney faktörleri Renda ve ark. tarafından önerilen araştırmadaki şartlara göre yapıldı (Renda et al., 2016).



Şekil 16. SPME ekstraksiyon ve desorpsiyon prosedürü (Anonim, 1999)

2.4.2 Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC/MS)

Bu analiz için Shimadzu QP2010 Plus marka gaz kromatografisi kullanılmıştır. Bu cihazın kolonu TRB-5MS kılcal kolon (30m x 0.25 mm, film kalınlığı, 0.25 um)'dur. Shimadzu QP2010 Plus gaz kromatografisi, bir Shimadzu QP2010 Ultra kütle seçici detektörüne bağlanmış olarak analiz gerçekleştirilmiştir. Bölme modu kullanılarak tayin yapılmış ve bölme miktarı 1:30 şeklindedir. Kullanılan fırın programı ise ilk ısıtma süresi 2 dakika ve 40°C, daha sonra 3 dakikada sıcaklık 240°C'ye çıkmıştır. Son ısıtmada ise 4 dakika 250°C'de örnek tutularak toplam 55 dakika süresinde analiz tamamlanmıştır. Kütle transfer hat ve enjektör sıcaklıkları sırasıyla 200 °C ve 250 °C olacak şekilde ayar yapılmıştır. Cihazda taşıyıcı gaz olarak sabit akış değeri 1 mL/dakika 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 17. GC/MS cihazı

2.4.3 Bileşenlerin Tanımlanması

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

2.5 HPLC-UV Yardımıyla Fenolik Bileşiklerin Analizi

Bu fenolik bileşen tayini için *Foeniculum vulgare* bitkisinin ekstraktı metanol içerisinde çalkalayıcı üzerinde bir gün (24 saat) karıştırılarak yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edildi. Süre bitiminden sonra metanolik kısım basit süzgeç kağıdı ile süzülerek, süzüntünün çözücüsü olan metanol döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı ve kalan kalıntıya 10 mL pH'ı 2 olan destile su katıldı. Ardından 3'er kez, hacim olarak 5'er mL kullanılarak sırasıyla dietileter ve etilasetat çözücüleriyle ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi (Şekil 18). Ekstraksiyon işlemi bittikten sonra elde edilen kalıntı cam olan evaporatör balonuna konuldu ve çözücülerini 45 °C sıcaklıktaki döner buharlaştırıcıda uçuruldu (Şekil 18). Bu işlemden sonra balon içerisindeki ekstrakt kalıntısı 2 mL metanolla çözüldükten sonra örnek 0,45 µm filtreden süzülüp HPLC-UV ile fenolik bileşen madde tayinleri gerçekleştirildi.



Şekil 18. Ekstraksiyon işlemi ve çözücüsü uçurulmuş ekstraktlar

HPLC-UV tayini dalga boyu 280-315 nm olarak şekilde UV-VIS dedektör ile donanımlı (Elite LaChrom Hitachi, Japonya) HPLC cihazında gerçekleştirilmiştir. Tayinler ters faz C₁₈ kolonu (150 mm x 4,6 mm, 5µm; Fortis) alınarak ve su, asetik asit ve asetonitrille gradient program seçilerek yapılmıştır.

Gradient program içeriği cihazın A rezervuar kısmında asetik asit (%2), B rezervuar kısmında ise asetonitril–saf su (%70-30) bulunmaktadır. Bunların yanında standart ve numunelerin enjeksiyon için hacmi 20 µL'ye ayarlanmış, kolon fırınında 30 °C kolon sıcaklığı, 0.75 mL.dk⁻¹ mobil faz akış hızı olacak şekilde optimum şartlar sağlanılmıştır (Can ve ark., 2015).



Şekil 19. HPLC-UV cihazı

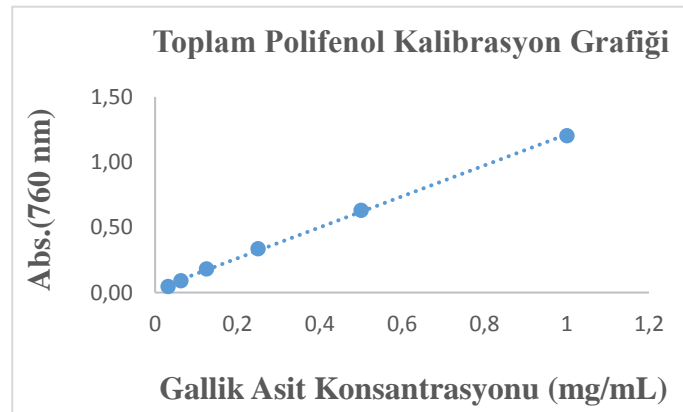
3 BULGULAR

3.1 Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Bu yüksek lisans tez araştırmasında *Foeniculum vulgare* bitki meyvesi için yapılan tayinler sonucunda antioksidan aktivite içerikleri belirlenmiştir. Bu testler için UV spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Örneklerin metanol ekstraksiyonları sonucunda hesaplanan toplam polifenol mgGAE/100g olarak, toplam flavonoid mg Kuersetin/g numune olarak, CUPRAC değeri mmolTroloks/ g numune olarak, FRAP değeri µmolTE/g olarak ve DPPH• değeri IC₅₀ mg/mL olarak hesaplanmış ve sonuçları Tablo 7, Tablo 8 ve Şekil 24’de verilmiştir.

3.1.1 Toplam Fenolik Madde Testi Sonucu

İlk başta analiz için numunenin metanolik özütü hazırlanmıştır. Toplam fenolik içerik miktarı tayininde gallik asit standart olarak kullanılmıştır. Konsantrasyon değerleri x-sütununda iken 760 nm’de ölçülen absorbans sayıları ise y-sütununda olacak biçimde deney için bir standart grafik çizilmiştir. Ortaya çıkan absorbans değerleri standart grafikte konsantrasyon değerleriyle doğru orantılı şekilde ele geçen doğrunun denklemi $y = 1,1865x + 0,0253$ ve R² değeri 0,9991 şeklindedir (Şekil 20). Çizilen bu standart çalışma grafiğinden yararlanılarak 100 g numunenin içindeki fenolik madde içeriği mg türünden gallik asit eşdeğeri olacak şekilde yazıldı.

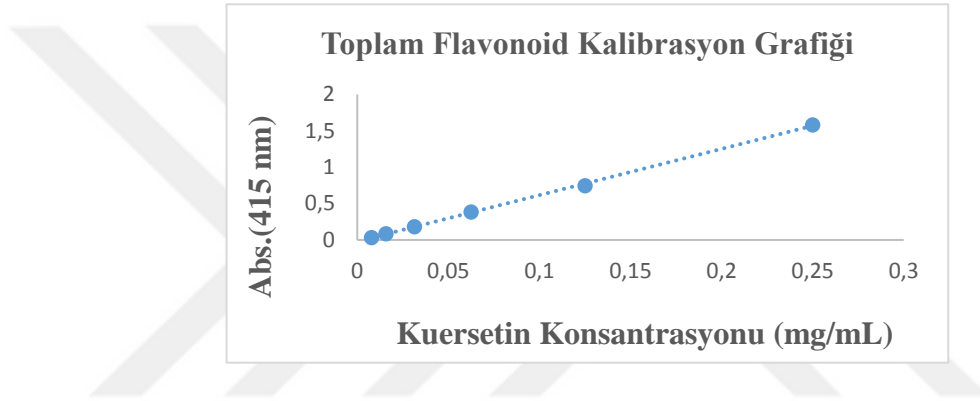


Şekil 20. Toplam fenolik madde kalibrasyon grafiği

Yapılan toplam fenolik madde analizi sonucu Tablo 7’de görüldüğü gibi *Foeniculum vulgare* bitkisi için $1,15 \pm 0,94$ mgGAE/100g numune olarak ölçülmüştür.

3.1.2 Toplam Flavonoid Madde İçerik Testi Sonucu

Flavonoid madde tayini için Kuersetin standart bileşiği kullanılmış ve konsantrasyon değerleri x-ekseninde ve 415 nm’deki absorbans değerleri y-ekseninde olacak şekilde bir standart çalışma grafiği çizilmiştir. Grafikten elde edilen doğrunun denklemi $y = 6,3568x + 0,0196$ ve R^2 değeri 0,9994 olarak hesaplandı (Şekil 21). Flavonoid madde içeriği mg cinsinden Kuersetin eşdeğeri olarak belirlendi.

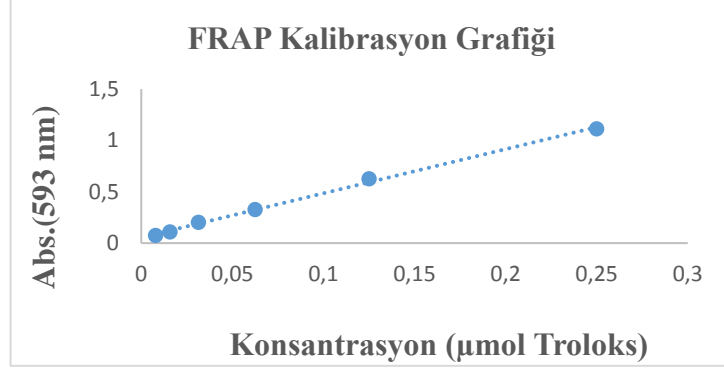


Şekil 21. Toplam flavonoid analizi kalibrasyon grafiği

Grafikten elde edilen sonuca göre *Foeniculum vulgare* bitkisinin toplam flavonoid madde miktarı $0,54 \pm 0,00$ mg Kuersetin/g numune olarak bulunmuştur.

3.1.3 FRAP Testi Sonucu

Ferric Reducing Antioxidant Power “FRAP” metodu olarak bilinen bu metotta Fe(III)-TPTZ yapısının indirgeme kapasitesi açığa çıkarıldı ve bu metot ile 1 mmol.L^{-1} Troloks eşdeğeri demir(III) indirgeme kapasitesine sahip antioksidan konsantrasyon değeri bulundu. Kalibrasyon eğrisi için troloksun çeşitli konsantrasyonlarından yararlanıldı ve bu şekilde oluşan grafik aşağıdadır (Şekil 22).

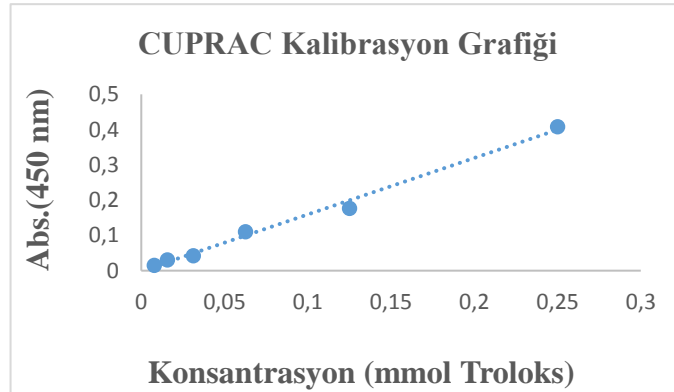


Şekil 22. FRAP kalibrasyon grafiği

Tablo 7’de görüldüğü gibi FRAP testi sonucuna göre *Foeniculum vulgare* bitkisi $0,01\pm 0,00$ µmol FeSO₄.7H₂O/g numune değeri ile antioksidan aktivite göstermiştir.

3.1.4 CUPRAC Testi 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 faydalanılarak antioksidan özellik hesaplandı. Kalibrasyon eğrisi için troloksun çeşitli konsantrasyonlarından yararlanıldı ve bu şekilde oluşan çalışma grafiği aşağıda verilmiştir (Şekil 23).



Şekil 23. CUPRAC kalibrasyon grafiği

Tablo 7’de de görüldüğü gibi CUPRAC testi sonucuna göre *Foeniculum vulgare* bitkisinin $0,08\pm 0,00$ mmol TEAC/g numune değeri ile antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur.

3.1.5 DPPH• Testi Sonucu

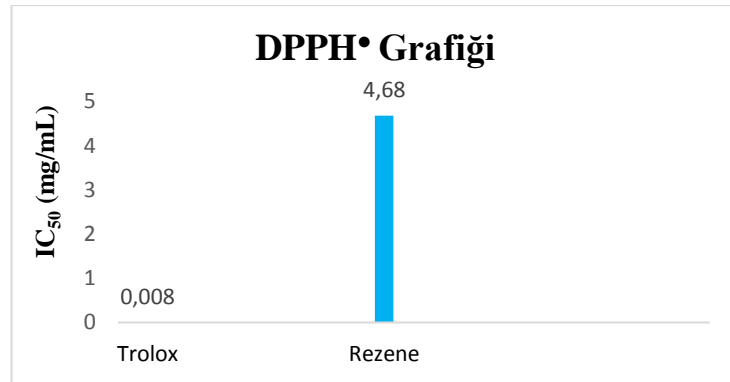
DPPH• (2,2-difenil-1-pikhidrazil radikali) ticari olarak hazır temin edilmiş olup, radikal temizleme aktivitesinde sıklıkla kullanılan bir bileşiktir. DPPH• testi için 517 nm için ölçülen değerler y-ekseninde, artan numune konsantrasyonları da x-ekseninde olacak şekilde grafik çizildi. Çizilen bu grafikten yararlanılarak en yüksek absorbanın yarısına denk gelen örnek konsantrasyonu IC₅₀ şeklinde gösterildi. Antioksidan aktivite için örneğin mg/mL türünden değerleri bulunarak karşılaştırma yapılmıştır.

DPPH• tayininde küçük IC₅₀ değeri, yüksek radikal temizleme yeteneğine denk gelmektedir. Yani ne kadar küçük örnek kullanarak ne kadar çok örnekten radikal giderilebiliyorsa, bu durum örneğin antioksidan gücünün o kadar çok olduğunu göstermektedir.

DPPH• testi sonucu Şekil 24 ve Tablo 8'deki gibidir ve bu bitkinin DPPH• testi sonucuna bakıldığında *Foeniculum vulgare* bitkisi için antioksidan aktivite IC₅₀=4,68 mg/mL olarak ölçülmüştür.

Tablo 7. Antioksidan aktivite sonuçları

Numune	Frap Testi (µmol FeSO ₄ .7H ₂ O/g numune)	Cuprac Testi mmol (TEAC/g numune)	Toplam Polifenol Analizi (mgGAE/100g numune)	Toplam Flavonoid Analizi (mg Kuersetin/g num.)
Rezene	0,01±0,00	0,08±0,00	1,15±0,94	0,54±0,00



Şekil 24. DPPH• aktivitesi sonuç grafiği

Tablo 8. DPPH• antioksidan analiz sonuç değerleri

Numuneler	DPPH• Aktivite Sonucu (mg/mL)
Troloks	0,008
Rezene	4,68

3.2 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Elde edilen bitki özütlerinden antioksidan içerikleriyle birlikte, on tanesi bakteri ve üç tanesi maya suşu olacak şekilde toplam on üç adet mikroorganizmaya karşı aktivite durumlarına da bakılmıştır (Tablo 9). Bu çalışmada, antimikrobiyal içerik tayin deneylerinde, mühim bitki ile insan izolatları olarak kullanılan, biyofilm açığa çıkaran ve günümüz incelemelerinde de pek fazla bilim adamlarınca araştırma konusu bulan mikroorganizmalar seçilmiştir. Antimikrobiyal tayinler için MİK testi CLSI'dan (maya suşları için; M27-A2, fungus izolatları için; M38-A2 ve bakteri kültürleri için; M100-S16) yararlanılarak uygulanmıştır.

Tablo 9. *Foeniculum vulgare*'nin antimikrobiyal aktivite sonuçları (µg/mL)

Bakteri	Rezene	Kloramfenikol	Tetrasiklin
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	0.5	0.125
<i>Proteus vulgaris</i> NRRL B-123	2000	0.5	8
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	-	0.125	0.25
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	-	1	8
<i>Bacillus subtilis</i> NRRL B-4378	-	0.125	0.125
<i>Streptomyces griseolus</i>	-	0.125	0.125
<i>Pseudomonas citronellosis</i>	-	1	0.25
<i>Bacillus velezensis</i>	-	4	4
<i>Gordonia rubripertincta</i>	2000	0.125	0.25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	-	0.25	1
<i>Candida</i>	Rezene	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	250	0.25	0.125

Antimikrobiyal tayin sonuçları incelendiğinde, *Foeniculum vulgare* bitki özütünün deneyde yer alan test bakterilerinden candidalar üzerine iyi aktiviteye gösterdiğini

yani antifungal özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Maya suşlarından olan, Cg (*Candida glabrata* ATCC 2001) ve Ck'ya (*Candida krusei* ATCC 6258) 250 µg/mL değeriyle antifungal aktivite gösterirken *Candida albicans* ATCC 90028'e karşı 500 µg/mL değeriyle antifungal aktivite gösterdiği bulunmuştur. Test bakterileri içerisinde de sadece *Proteus vulgaris* NRRL B-123 ve *Gordonia rubripertincta* bakterilerine 2000 µg/mL değeriyle antibakteriyel aktivite sergilediği görülmüş ancak diğer test mikroorganizmalarına karşı herhangi bir aktivite sergilediği gözlenmemiştir.

3.3 Uçucu Yağ Bileşiklerinin Analiz Sonuçları

Mardin ilinde yetişen *Foeniculum vulgare*'den çıkarılan esansiyel yağın GC/MS tayiniyle 34 tane bileşen tanımlanmıştır. Bu tanımlanan bileşikler monoterpen, izotiyosiyanat, aldehitler, alkoller, yağ asitleri, eter, esterler, hidrokarbonlar olmak üzere sekiz sınıfa ayrılarak Tablo 10'da gösterilmiştir. Kimyasal bileşenler, literatür verilerine ve kütüphane araştırmasına (FFNSC, 2008) dayalı olarak formüle edilmiştir.

Tablo 10. *Foeniculum vulgare* uçucu yağının GC/MS'de belirlenen bileşenleri

No	Bileşikler	RT (dak) (Alıkonma zamanı)	Alan %	^a RI (İndeks)
Monoterpen				
1	Limonene	12.094	0.28	1026
İzotiyosiyanat				
2	Phenylethyl isothiocyanate	5.944	0.25	851
Aldehitler				
3	Capronaldehyde	3.790	0.63	765
4	2,4-dimethyl benzaldehyde	7.492	0.72	902
5	Pelargonaldehyde	15.152	0.30	1106
6	Dec-2(E)-enal	19.067	3.97	1189
7	Trans, trans-2,4-undecadial	20.752	0.91	1256
8	Deca-2(E), 4(E)-dial	21.817	2.43	1285
9	Cis-8-undecenal	23.885	3.78	1331
10	2-methyl undecanal	40.819	1.25	1910
	Total		13.99	
Alkoller				
11	Phenethyl alcohol	2.937	0.27	720

Tablo 10 (devam)

12	2-ethyl hexanol	12.232	0.44	1030
		Total	0.71	
	Yağ Asitleri			
13	Capric acid	24.497	0.23	1363
14	Caproic acid	31.937	1.71	1594
15	Palmitic acid	42.217	5.80	1950
16	16-hydroxy hexadec-6-enoic acid	49.820	0.68	2103
		Total	8.42	
	Eter			
17	(Z)-Anethole	21.962	5.84	1289
	Esterler			
18	Isopropyl 2-methylbutyrate	14.752	0.29	1096
19	Methyl caprate	26.730	1.38	1429
20	Methyl non-3-enoate	28.797	0.46	1403
21	Delta-undecalactone	33.357	3.74	1643
22	Endo-fenchyl acetate	34.387	0.33	1678
23	Isobutyl angelate	50.153	10.01	1682
24	Methyl palmitate	41.330	0.54	1925
25	Pentadecanolide	46.626	44.29	2109
		Total	61.04	
	Hidrokarbonlar			
26	Hendecane	23.615	1.41	1337
27	Hexadecane	32.291	0.73	1606
28	10-β(H)-Cadina-1(6),4-diene	34.867	0.28	1694
29	Heptadecane	35.223	0.42	1707
30	Docosane	35.392	1.14	1713
31	Octadecane	38.006	0.34	1807
32	Nonadecane	40.654	0.36	1906
33	Pentacosane	47.917	1.12	1977
34	Tetracosane	52.274	0.62	2410
		Total	6.42	
	Diğer			
35	Tanımlanamayanlar	4.527-52.925	0.26-0.77	-
		Total	3.05	
	Total percentages		100	

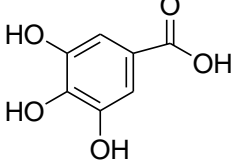
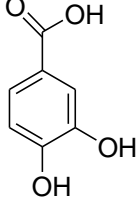
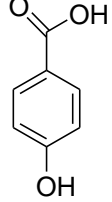
^aRI değerleri, polar olmayan TRB-5MS kolonunda, (C7-C30) alkanlarınkine göre alıkonma sürelerinden hesaplanmıştır. Kalın değerler ana bileşenleri temsil eder.

Elde edilen sonuçlara göre, kolondan ilk çıkan phenethyl alcohol bileşiği iken (RT=2937 dk), tetracosane bileşiği kolonda en uzun süre tutulmuştur (RT=52.274 dk). Birer ester olan Pentadecanolide (%44.29), Isobutyl angelate (%10.01), eter olan (Z)-Anethole (%5.84) ve yağ asidi olan Palmitic acid (%5.80) bileşikler arasında en yüksek oranda olduklarından ana bileşenler olarak tanımlanmıştır. Diğer bileşenler; dec-2(E)-enal (%3.97), cis-8-undecenal (%3.78), delta-undecalactone (%3.74), deca-(2E)-dienal, (%3.74), 2-methyl undecanal (%1.25), Caprolic acid (%1.71), Methyl caprate (%1.38), Hendecane (%1.41), Docosane (%1.14) ve Pentacosane (%1.12) şeklinde bulunmuştur. Bileşenlerin geri kalanı ise içerik olarak % 1'den azdır.

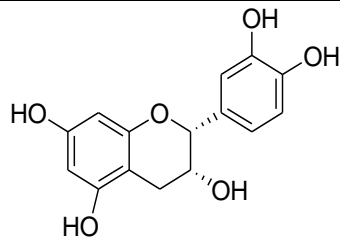
3.4 HPLC-UV ile Fenolik Bileşen Tayini Sonucu

Örneğin metanol içinde hazırlanan özütü döner buharlaştırıcıda çözücüsü uzaklaştırıldıktan sonra öncelikle etil asetat ve dietil eter ile ekstrakte edildi daha sonra geriye kalan kalıntı kısmına metanol ilave edildi ve HPLC-UV cihazına konuldu. Cihazda mobil faz olarak su, asetik asit ve asetonitril kullanıldı. Örneğin kolonu terk etme zamanı yani elüsyon değeri ile Tablo 11'de gösterilen 15 tane standart fenolik maddenin elüsyon değerleri karşılaştırıldı. Standartlara ait değişik dalga boyundaki kromatogramlar (Şekil 25, Şekil 26) ve fenolik bileşenlerin alıkonma zamanları (Tablo 12, Tablo 13) aşağıda verilmektedir.

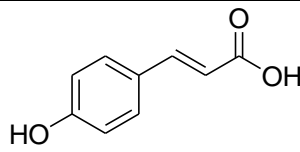
Tablo 11. HPLC analizinde kullanılan standart fenoliklerinin kimyasal yapıları

		
Gallik Asit	Protokatekuikasid	<i>p</i> -OH benzoik asit

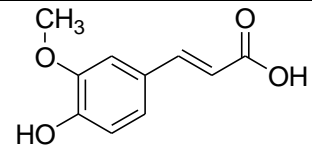
Tablo 11 (devam)



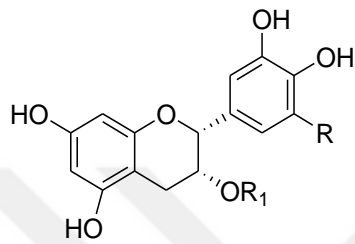
Epikateşin



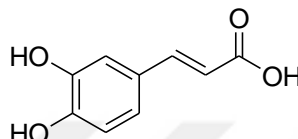
p-Kumarik asit



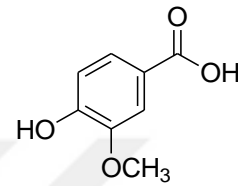
Ferulik asit



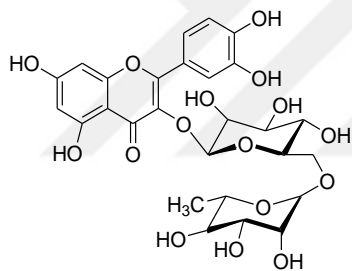
Kateşin



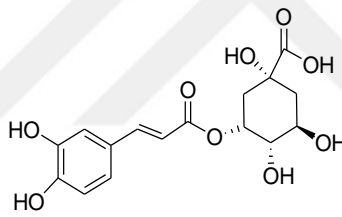
Kafeik asit



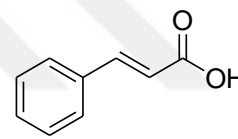
Vanilik asit



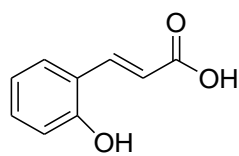
Rutin



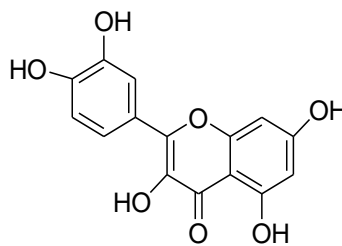
Klorojenik asit



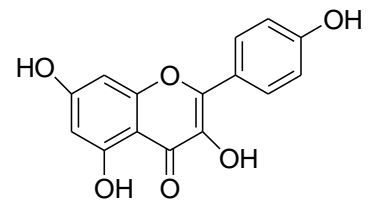
t-Sinnamik asit



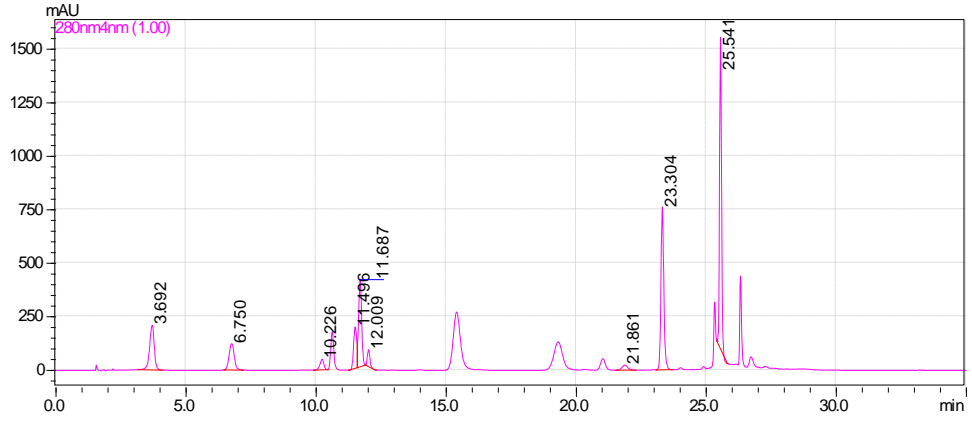
o-Kumarik asit



Kuersitin



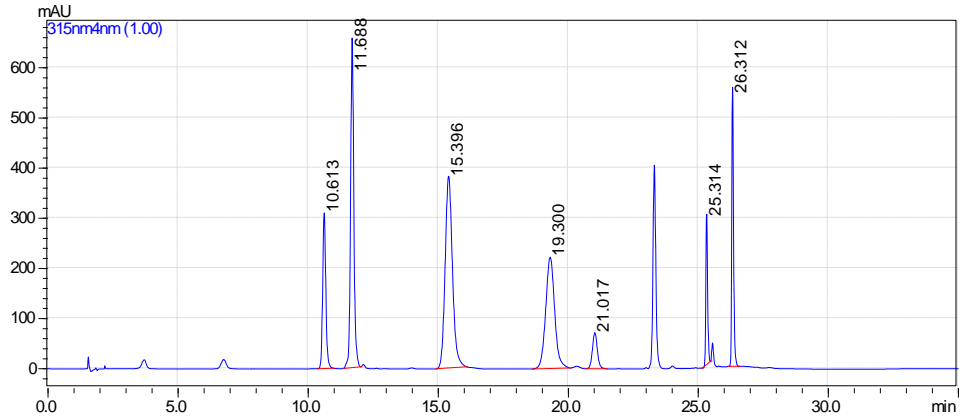
Kaemferol



Şekil 25. 15 adet fenolik standartın 280 nm'deki HPLC-UV kromatogramı

Tablo 12. 280 nm'de görülen standart fenolikler 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. <i>t</i> -sinnamik asit	25,54

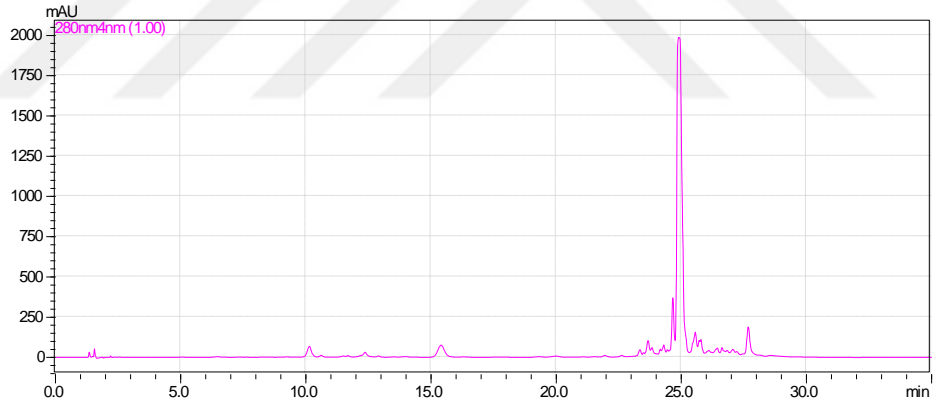


Şekil 26. 15 adet fenolik standartın 315 nm'deki HPLC-UV kromatogramı

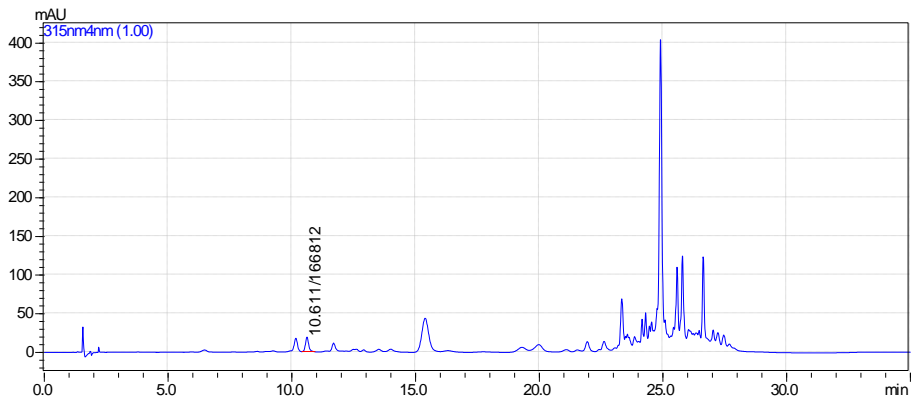
Tablo 13. 315 nm’de görülen standart fenolikler ve alıkonma zamanları

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

Yapılan HPLC analizi sonucunda, Şekil 27 ve Şekil 28’ye bakıldığında, kullanılan 15 adet standart fenolik bileşikten, rezene bitkisinde sadece klorojenik asit fenolünün bulunduğu tespit edilmiştir. Klorojenik asit miktarı 3,92 ppm olarak ölçülmüş yani %0,7 miktarında olduğu bulunmuştur. Diğer 14 adet fenolik bileşiğe ise rezene bitkisinde rastlanmamıştır.



Şekil 27. Rezene bitkisinin 280 nm’deki HPLC-UV kromatogramı



Şekil 28. Rezene bitkisinin 315 nm’deki HPLC-UV kromatogramı

4 TARTIŞMA

Ülkemizde rezene olarak tanınan *Foeniculum vulgare* bitkisi, sahip olduğu etken bileşenlerden dolayı eski çağlardan beri tıbbi amaçlı olarak tüketilmektedir. Rezene, çok eski zamanlardan bu yana Çin, Orta Avrupa ve Akdeniz’de besin ve ilaç amaçlı yararlanılan bir bitki türüdür. Çok lezzetli bir yiyecek olarak tüketilmesinin yanında sağlığımız için de oldukça önemi bulunmaktadır. Yapısında biyolojik olarak aktif polifenolik bileşenlerden, kumarin, seskiterpen, fenkon, östragol ve Trans-anetol gibi bileşikler içerir (He ve Huang, 2011).

Bu yapılan araştırmada, Mardin ilinden alınan *Foeniculum vulgare* bitkisinin toprak üst kısmı, yani meyvesinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi, uçucu yağ ve fenolik bileşenleri çeşitli birden fazla metotlar kullanılarak açığa çıkarıldı.

Çalışmanın ilk kısmında *Foeniculum vulgare*’nin metanol ekstraktları hazırlandı ve bu özütün DPPH• radikalini giderme aktivitesi ve indirgeme kapasitesi (FRAP, CUPRAC) gibi üç değişik yöntemle antioksidan aktiviteleri detaylı olarak olarak incelendi. Bitkilerde pek değişik antioksidan materyaller yer alır ve bunların hepsini ayrı ayrı açığa çıkarmak kolay değildir. Bundan ötürü ayrı ayrı özütün antioksidan kapasitesini incelemek adına çeşitli değişik testlerden yararlanmak daha açıklayıcı olduğu ön görülmektedir (Zalibera ve ark., 2008; Huang ve ark., 2005). Daha önceki var olan incelemelerde flavonoid ve fenolik materyal miktarıyla antioksidan özelliğin birbirleriyle orantılı olduğu bulunmuş ve fenol içeren materyallerin çoğunun antioksidan yani radikal giderici özelliğe sahip olduğu (Turkoğlu ve ark., 2007, Mohd-esa ve ark., 2010) düşünülmüştür. Bu sebeplerden ötürü bu çalışmada *Foeniculum vulgare*’nin flavonoid ve fenolik madde miktarları da tayin edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada Şırnak ilinde yetişen *Foeniculum vulgare* bitkisinin yine meyve kısmı çalışılmış ve toplam fenolik madde miktarı, 6.45 ± 0.20 mgGAE/100g numune, toplam flavonoid miktarı ise 0.52 ± 0.02 mg Kuersetin/g numune bulunmuştur (Ceylan ve ark., 2019). Bizim çalışmamızda ise bu değerler toplam fenolik madde için $1,15 \pm 0,94$ mgGAE/100g numune, toplam flavonoid için ise $0,54 \pm 0,00$ mg Kuersetin/g

numune şeklinde tanımlanmıştır. Şırnak ilindeki *Foeniculum vulgare*'nin toplam fenolik madde miktarı, Mardin ilinde yetişen bitkinin toplam fenolik miktarından daha çokken, toplam flavonoid miktarı ise bizim bulduğumuz değerden daha az olduğu görülmüştür. Yine aynı çalışmada (Ceylan ve ark., 2019) antioksidan aktivite CUPRAC yöntemine göre 0.32 ± 0.02 mmol TEAC/g numune, FRAP yöntemine göre ise 0.36 ± 0.02 $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ numune olarak belirlenmiş. Bizim çalışmada ise bu değerler CUPRAC için, $0,08 \pm 0,00$ mmol TEAC/g numune iken FRAP için $0,01 \pm 0,00$ $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ numune olarak tespit edilmiş. Yani CUPRAC ve FRAP yöntemine göre Şırnak ilinde yetişen *Foeniculum vulgare* bitki meyvesinin antioksidan aktivitesinin bizim çalışmamızdakinden daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Karadağ tarafında yapılan bir çalışmada (Karadağ, 2019), İstanbul'da aktardan hazır alınan *Foeniculum vulgare* bitki yaprağının antioksidan aktivitesine bakılmış, toplam fenolik madde miktarı 3.77 ± 0.54 mgGAE/100g numune olarak bulunmuştur. Bu değer *Foeniculum vulgare* yaprağının bizim çalışmamızdaki bitki meyvesinden ($1,15 \pm 0,94$ mgGAE/100g numune) daha yüksek fenolik madde içerdiğini göstermektedir. Yine aynı çalışmada bitki yaprağının antioksidan aktivitesi (Karadağ, 2019), CUPRAC yöntemine göre 105.16 ± 2.40 mg Troloks/g, FRAP yöntemine göre 1.61 ± 0.07 mg Troloks/g, DPPH yöntemine göre ise 54.31 ± 2.88 mg/mL olarak ölçülmüştür. Bu değerler bizim çalışmamızdaki sonuçlar ile kıyaslandığında CUPRAC ve FRAP yöntemi için *Foeniculum vulgare* bitki yaprağının meyvesine göre daha iyi antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlenmişken DPPH• testine göre ise tam tersi gözlenerek meyvesinin yaprağından daha iyi radikal temizleme aktivitesi olduğu görülmüştür. Yani bu çalışmada elde edilen $IC_{50} = 4,68$ mg/mL değeriyle Mardin ilinde yetişen *Foeniculum vulgare* meyvesi, İstanbul ilindeki *Foeniculum vulgare*'nin yaprağından çok daha iyi DPPH• radikal temizleme aktivitesi göstermiştir.

Besinlerdeki fenolik materyal içeriği ve çeşitleri ekstraksiyon yöntemi ve süresine, çevresel koşullara, bitkinin yetiştirilme şartlarına, su miktarına, güneşlenme süresine, genetik özelliklerine, olgunluğuna, gıdanın işlenmesi ve saklanması gibi koşullara göre değişkenlik gösterebilmektedir (Bravo, 1998). Bitkilerde bulunan bu tür genetik çeşitlilikler, enlem, sıcaklık, yağmur, bakı, tür özellikleri, güneşi alma açısı ve toprak şartları analiz sonuçlarını etkileyebilir. Bundan dolayı aynı bitki türünün farklı yerlerde

yetişmesi antioksidan aktivitelerinin de birbirinden farklı sonuçlarla karşımıza çıkmasına neden olabilmektedir.

Çalışmanın diğer kısmında ise hazırlanan metanol ekstraktları için antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapıldı. Ceylan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmadaki (Ceylan ve ark., 2019) sonuçlara benzer şekilde *Foeniculum vulgare* meyvesinin bakterilerden çok maya suşları yani Candidalar üzerine daha iyi aktivite gösterdiği bulunmuştur. şırnak ilinde yetişen *Foeniculum vulgare* meyvesi test için kullanılan bakterilerin hepsine 250-1000 µg/mL aralığında aktivite gösterirken bu çalışmada kullanılan Mardinden elde edilen *Foeniculum vulgare*, test bakterileri içerisinden de sadece *Proteus vulgaris* NRRL B-123 ve *Gordonia rubripertincta* bakterilerine 2000 µg/mL değerleriyle antibakteriyel aktivite sergilediği görülmüştür. Ancak diğer test mikroorganizmalarına karşı herhangi bir aktivite sergilediği gözlenmemiştir. Diğer taraftan yine aynı çalışmadaki (Ceylan ve ark., 2019) sonuçlara göre maya izolatlarından *Candida albicans* (ATCC 90028)'e karşı 62,5 µg/mL, *Candida glabrata* (ATCC 2001) ve *Candida krusei* (ATCC 6258)'e karşı 15.6 µg/mL değerleriyle antigungal aktivite gösterirken, bu çalışmada ise aynı maya suşları olan *Candida albicans* ATCC 90028'e karşı 500 µg/mL, *Candida glabrata* ATCC 2001 ve *Candida krusei* ATCC 6258 karşı 250 µg/mL değerleriyle antifungal aktivite göstermiştir. Yani şırnak ilinde yetişen *Foeniculum vulgare*'nin Mardin ilinde yetişene göre daha iyi hem antibakteriyel hem de antifungal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir.

AbduRahim ve arkadaşlarının yaptığı bir makalede (AbduRahim ve ark., 2017) *Foeniculum vulgare* meyvesinden elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesine bakılmış yine bu çalışmadaki sonuçlara benzer şekilde rezene bitkisi bakterilerden (0.781-25 µl/ml MİK değer) çok maya suşları üzerine daha iyi aktivite göstermiştir (<0.0625-0.125 µl/ml MİK değer).

Son zamanlarda, doğal üretilmeyen sentetik materyallerin çok fazla yan tesirlere sahip olması, bilhassa antimikrobiyal olarak tüketilen doğal olmayan sentetik ilaçlara karşı organizmaların dirençli hale gelmeleri gibi durumlardan dolayı doğal bitki kökenli ürünlerin ve bu doğal materyallere sahip şıfalı tıbbi bitkilerin önemi gün geçtikçe artmaktadır. Geleneksel tıp için yararlanılan bu bitki kökenli yeni antimikrobiyal maddelerin ana kaynağı olabileceği potansiyeli ile bilimsel açıdan incelenmesi

fazlasıyla önemlidir. Kalıntı sorununa sebep olmamaları ve doğal olmalarından kaynaklı bitkilerin, organik besin yetiştirilmesinde mühim bir antibakteriyal olarak düşünüleceği ön görülmektedir.

Çalışmanın bir diğer kısmında ise *Foeniculum vulgare* meyvesinin esansiyel yağı GC-MS ile incelenmiş ve 34 adet bileşen tanımlanmıştır. Bu bileşenler arasında birer ester olan Pentadecanolide (%44.29), Isobutyl angelate (%10.01), eter olan (Z)-Anethole (%5.84) ve yağ asidi olan Palmitic acid (%5.80) bileşikler arasında en yüksek oranda olduklarından ana bileşenler olarak tanımlanmıştır. 2006 yılında yapılan bir çalışmada (Kan ve ark., 2006) *Foeniculum vulgare* bitkisinin ana bileşenleri trans-anetol (%60.6-87.0), anisaldehit (%6.1-21.3), estragol (%3.2-11.7), α -fenkon (%0.7-3.2), limonen (%0.3-2.5) aralıklarında tanımlanmıştır. Sonuçlara bakıldığında Anethole bileşiğinin her iki çalışmada da ana bileşen olarak tanımlandığı görülmektedir. Diğer taraftan bir monoterpen olan limonen bizim çalışmamızda tanımlanmış fakat alanı küçük olduğundan (%0.28) ana bileşen olarak düşünülmemiştir. Rezene uçucu yağının kimyasal bileşimlerindeki bu tür farklılıklar, bölgelerin çeşitli (iklimsel, mevsimsel, coğrafi) koşulları ve bitkilerin genetik yapısıyla ilişkilendirilebilir (Anwar, 2009).

Başka bir uçucu yağ analizi çalışmasında (Karayel, 2019) *Foeniculum vulgare* için ana bileşenler olarak trans-anethole (%85,82), limonene (%5,94), p-allylanisole (%4,26), fenchone (%1,20) bileşiklerinin olduğunu bulmuşlardır. Yine bu çalışmada da Anethole bileşiği ana bileşen olarak tespit edilmiştir. Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada (Doğan, 2020), trans-anethole (%81.63±3.79-92.64±1.90), estragol (%2.97±0.10), limonene (%2.05±1.32), L- fenkon (%0.61± 0.09) ana bileşenler olarak tespit edilmiştir.

Çalışmanın son kısmında ise HPLC-UV ile fenolik bileşen analizi yapılmış kullanılan 15 adet standarttan *Foeniculum vulgare* bitkisinde sadece klorojenik asit fenoliğinin bulunduğu tespit edilmiştir. Klorojenik asit miktarı 3,92 ppm olarak ölçülmüş yani %0,7 miktarında olduğu bulunmuştur. Diğer 14 adet fenolik bileşiğe ise rezene bitkisinde rastlanmamıştır. 2019 yılında yapılan çalışmada da (Karadağ, 2019) Klorojenik asit 17.73±1.7 değeriyle miktar olarak en fazla fenolik bileşen olarak bulunmuştur. Aynı zamanda bizim çalışmamızdan farklı olarak da *Foeniculum vulgare* bitkisinde asitlerden, p-Kumarik, Protokate şük, Ferulik, Kafeik, p-OH benzoik asit

ve Kuersitin gibi fenolik bileşenler de tespit edilmiştir. Yine yapılan başka çalışmada da (Krizman ve ark., 2007) Klorojenik asit, en fazla fenolik bileşenlerden biri olarak bildirilmiştir. Yani bizim çalışmalarımızla literatür verileri uyum içerisindedir.

Foeniculum vulgare tıbbi aromatik bitkisiyle ilgili yapılan araştırmalara bakıldığında, hem antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri, hem de uçucu yağ ve fenolik bileşen analizleri aynı anda tek çalışmada toplayan hiç bir çalışma bulunmamaktadır. Bu açıdan bu tez araştırması bu konuda ilk olması açısından önemlidir.



5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Günümüzde doğal ürünlere olan ilgi ve alaka günden güne artmaktadır. Özellikle çok fazla tüketimi olan bitki çayları gibi biyolojik aktivite özelliği fazla olan materyaller yaşlanma ve yaşlanmanın bozucu etkilerine sebebiyet veren serbest radikallerin aktivitesini azaltmaktadır. Bunun yanı sıra da bu tür ek besinler birçok hastalığı koruduğu ve tedavi ettiği için halk arasında sıklıkla kullanılmaktadır.

Yapılan bu yüksek lisans tezi ile *Foeniculum vulgare* bitkisinin hem antioksidan, antimikrobiyal özellikleri hem de uçucu yağ ve fenolik bileşenleri belirlenmiştir. Çalışmada Mardin ilinden temin edilen, bitkinin belirlenen yöntemle ekstraktı hazırlanarak antioksidan aktivite tayinleri yapılmıştır. *Foeniculum vulgare* bitkisinin toplam fenolik madde miktarı $1,15 \pm 0,94$ mgGAE /100g numune, toplam flavonoid madde miktarı ise $0,54 \pm 0,00$ mg Kuersetin/g numune olarak bulunmuştur. Fe^{3+} elektron alma antioksidan yetenek (FRAP) $0,01 \pm 0,00$ μ mol $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ /g numune iken CUPRAC testine göre ise $0,08 \pm 0,00$ mmol TEAC/g numune değeri ile antioksidan aktivite göstermiştir. Bitkinin DPPH• Radikal Temizleme aktivitesi ise 4,68 mg/mL olarak ölçülmüştür.

Elde edilen bitki özütlerinden antioksidan içeriklerinin yanı sıra, on tanesi bakteri ve üç tanesi maya suşu olacak şekilde toplam onüç adet mikroorganizmaya karşı aktivite durumlarını da bakılmış, *Foeniculum vulgare* bitki özütünün deneyde yer alan test bakterilerinden candidalar üzerine iyi aktiviteye gösterdiğini yani antifungal özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Özellikle maya suşlarından olan, Cg (*Candida glabrata* ATCC 2001) ve Ck'ya (*Candida krusei* ATCC 6258) 250 μ g/mL değeriyle antifungal aktivite gösterdiği gözlenmiştir.

Foeniculum vulgare bitkisinden açığa çıkan esansiyel yağın GC/MS analiziyle 34 tane bileşik tanımlanmıştır. Bu tanımlanan bileşikler; monoterpen, izotiyosiyanat, aldehitler, alkoller, yağ asitleri, eter, esterler ve hidrokarbonlar olmak üzere sekiz sınıfa ayrılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, kolondan ilk çıkan phenethyl alcohol bileşiği iken (RT=2937 dk), tetracosane bileşiği kolonda en uzun süre tutulmuştur (RT=52.274 dk). GC/MS'de belirlenen bileşenler arasında birer ester olan Pentadecanolide

(%44.29), Isobutyl angelate (%10.01), eter olan (Z)-Anethole (%5.84) ve yağ asidi olan Palmitic acid (%5.80) bileşikleri en yüksek oranda olduklarından *Foeniculum vulgare* bitkisinin ana bileşenleri olarak tanımlanmıştır.

HPLC ile 15 standart fenolik bileşik kullanılarak yapılan fenolik bileşen analiz sonucunda *foeniculum vulgare* bitkisinde sadece klorojenik asit fenolığının bulunduğu tespit edilmiştir. Klorojenik asit miktarı 3,92 ppm olarak ölçülmüş yani %0,7 miktarında olduğu bulunmuştur. Diğer 14 adet fenolik bileşiğe *foeniculum vulgare* bitkisinde rastlanmamıştır.

Polifenol bileşiklerinin zengin olduğu bir diyet, insan vücudundaki hastalıkları önleyen, serbest radikallere karşı da vücudumuzu koruyan bir sistemdir. Besinlerimizde bu tür maddeleri içeren besinler tüketmek antioksidan savunma sistemimize de fayda sağlayacaktır. Bu nedenle *foeniculum vulgare* bitkisinin sağlığa olumlu yararları doğrultusunda günlük diyetlere eklenebileceği önerilebilir.

Bu tez çalışmasında Mardin ilinde yetişen *foeniculum vulgare* bitkisinin biyolojik aktiviteleri, uçucu yağ ve fenolik bileşenleri açığa çıkarılmıştır. Başka şehirlerde büyüyen *Foeniculum vulgare* bitkileriyle de benzer tayinler gerçekleştirilip, farklı şehirlerde büyüyen bitkiler için açığa çıkan neticelerle karşılaştırma yapılabilir. Aynı zamanda bu çalışmada *foeniculum vulgare* bitkisinin tohumu analiz edilmiştir. *Foeniculum vulgare* bitkisinin soğan ve yaprak kısmı için de aynı analizler yapıp örnekler arasındaki analiz sonuçları kıyaslanabilir.

Antioksidan analizler için bu çalışmada ekstrakt hazırlamada kullanılan çözücü tek metanoldür. Eter, aseton, etanol ve su gibi değişik çözücülerde de ekstraktlar hazırlanarak tayinler tekrar yapılabilir. Böylece bu tayini yapılan bitkinin değişik çözücü ekstraktlarındaki antioksidan içeriklerinin birbiriyle karşılaştırmaları gerçekleştirilip, en güzel aktivite sergileyen çözgen seçilebilir.

Bu araştırmada bitkinin sadece antibakteriyel aktivite çalışması yapılmıştır, bu bitki için aynı zamanda antikanser, anti-ürez, anti-lipaz, antienflamatuar vb. biyolojik aktivitelerinin olup olmadığı araştırılabilir.

Antifungal aktivite gösterdiği bulunan *foeniculum vulgare* bitkisi, antifungal ilaçların yapısında yer alması için daha ileri ilaç geliştirme çalışmalarında başlangıç materyali olarak kullanılabilir.

Ülkemiz oldukça zengin bir bitki ailesine sahiptir. Bu zenginlikten en verimli ve uygun olacak şekilde yararlanılıp, ülkemize ekonomi ve bilim kısımlarında fayda sağlamalıdır. Bu nedenle ziraat, eczacılık ve gıda gibi birçok yerde şifalı tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımına ve araştırmalar yürütülmesine ihtiyaç vardır. Ülkemizde kendiliğinden yetişen şifa deposu olan bu *foeniculum vulgare* bitkisinin daha ileri incelemeleri gerçekleştirilerek özellikleri açığa çıkarılabilir ve elde edilen güzel aktiviteler ile çoğu alana katkı sağlanabilir.

KAYNAKLAR

- AbduRahim, S. A., Elamin, B. E. K., Bashir, A. A. A., Almagboul, A. Z., 2017. In vitro test of antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* mill.(Fennel) essential oil, *In Vitro*, 3(4).
- Akhtar, A., Deshmukh, A. A., Bhonsle, A. V., Kshirsagar, P. M., Kolekar, M. A., 2008. In vitro antibacterial activity of *Pimpinella anisum* fruit extracts against some pathogenic bacteria. *Veterinary World*, 1(9): 272-274.
- Amsterdam, D., 1996. Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media, in: V. Lorian (Ed.), *Antibiotics in Laboratory Medicine* (4th ed.). Baltimore: Williams & Wilkins.
- Anklam, E., 1998. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey, *Food Chemistry*, 63(4): 549-562.
- Anonim, 1999. Solid phase microextraction: theory and optimization of conditions. Bulletin 923A. Supelco, Bellefonte, Pa.
- Anonim, 2005. Great vista chemicals 2005. <http://www.great-vista-chemicals.com/herb-extracts/chlorogenic-acid/2005> (23 Haziran 2023).
- Anwar, F., Hussain, A. I., Sherazi, S. T. H., Bhangar, M. I., 2009. Changes in composition and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruit at different stages of maturity. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 15: 187–202.
- 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.
- Bajpai, V. K., Sharma, A., Baek, K. H., 2013. Antibacterial mode of action of *Cudrania tricuspidata* fruit essential oil, affecting membrane permeability and surface characteristics of food-borne pathogens, *Food Control*, 32(2): 582-590.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils-a review, *Food and Chemical Toxicology*, 46(2): 46-475.
- Balbino, S., Repajic, M., Obranovic, M., Medved, A. M., Tonkovic, P., Dragovic Uzelac, V., 2021. Characterization of lipid fraction of apiaceae family seed spices: impact of species and extraction method, *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 25: 100326.

- Bayaz, M., 2014. Esansiyel yağlar: antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri, *Akademik Gıda*, 12(3): 45-53.
- Baydar, H., 2016. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi (Genişletilmiş 5. Baskı). Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No: 51 (ISBN: 975-7929-79-4).
- Baytop, T., 1984. Türkiyede Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- 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.
- Bıçer, A., Özkan, G., Ergen, A., 2003. Lavanta bitkisi çiçeklerinden süperkritik CO₂ ile uçucu yağların ekstraksiyonuna basıncın etkisi. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 16(4): 717-723.
- Bilaloğlu, G. V., Harmandar, M., 1999. Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık Ltd. Şti., İstanbul, 336-343 s.
- Bravo, L., 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance, *Nutrition Reviews*, 56: 317-333.
- Can, Z., Yıldız, O., Sahin, 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.
- Carvalho, A. M., 2005. Plantas, Tradición y Saber Popular Enun Territorio del Nordeste de Portugal, Etnobotánica del Parque Natural de Montesinho, PhD. Thesis, Universidad Autónoma de Madrid.
- Cellat, K., 2011. Bazı endemik bitkilerin uçucu yağ bileşenlerinin ekstrakte edilmesi ve içeriklerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi 73, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Adana.
- Cemeroğlu, B., Acar, J., 1986. Meyve ve sebze işleme teknolojisi. Gıda teknolojisi derneği yayınları, No: 6, Ankara, 508 s.
- Cemeroğlu, B., 2004. Meyve ve sebze işleme teknolojisi 1. Cilt. Gıda teknolojisi derneği yayınları, No: 35, Ankara, 77-88 s.
- Ceylan, A., 1983. Tıbbi Bitkiler-II. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını, No:481, Bornova-İzmir.
- Ceylan, A., 1987. Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yağ İçerenler), 1. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, Türkiye.
- Ceylan, Ş., Yazar, R., Camadan, Y., Saral, Ö., Özşen, Ö., 2019. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants grown in Şırnak region of Turkey. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 12(2): 628-638.

- Chaintreau, A., 2001. Simultaneous distillation-extraction, birth to maturity-review. *Flavour and Fragrance Journal*, 16: 136-148.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, *Türk nefroloji diyaliz ve transplantasyon dergisi*, 9295: 3-4.
- Çelik, E., Çelik, G. Y., 2007. Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2): 1-6.
- Çelik, A., Herken, E. N., Arslan, İ., Özel, M. Z., Mercan, N., 2010. Screening of the constituents, antimicrobial and antioxidant activity of endemic *Origanum hypericifolium* O. Schwatz & P.H. Daviz” *Natural Product Research*, 24: 1568-1577
- Dağcı, E. K., Dığrak, M., 2006. Bazı meyve ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8(2): 1-7.
- Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P., Boskou, D., 1998. Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves, *Food Research International*, 31(5): 351-354.
- Diken, M. E., 2009. Bazı şifalı bitkilerin antioksidan içerikleri, Yüksek Lisans Tezi. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
- Doğan, H., 2020. Bazı anason (*Pimpinella anisum* L.) ve tatlı rezene (*Foeniculum vulgare* Mill. var. dulce) populasyonlarının uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi, *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(3): 2235-2241.
- Dündar, Y., Aslan, R., 1999. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller, antioksidanlar, *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, 2(2): 134-142.
- Esen, M., 2008. *Verbascum pinetorum* (Boiss.) O. Kuntze bitki ekstraktının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Esquivel-Ferrino, P. C., Favela-Hernández, J. M. J., Garza- González, E., Waksman, N., Ríos, M. Y., Camacho-Corona, M. R., 2012. Antimycobacterial activity of constituents from *Foeniculum vulgare* var. dulce grown in Mexico, *Molecules*, 17: 8471-8482.
- FFNSC. Gc/Ms Library Ver.1.3 2008. Flavor and fragrance natural and synthetic compounds. Shimadzu, Kyoto, Japan.
- Gende, L. B., Maggi, M. D., Fritz, R., Eguaras, M. J., Bailac, P. N., Ponzi, M. I., 2009. Antimicrobial activity of *Pimpinella anisum* and *Foeniculum vulgare* essential oils against *Paenibacillus* larvae, *Journal Essential Oil Research*, 21: 91-93.

- Gökpınar, S., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal antioksidanlar, *Su Ürünleri Dergisi*, 23: 85-89.
- Halliwell, S. 1992. Teaching English in the Primary Classroom, Harlow Longman.
- Halliwell, B., 2000. Antioxidant activity and other biological effects of flavonoids. Wake up to flavonoids, in International Congress and Symposium Series 226, The Royal Society of Medicine Press Limited, Rice-Evans, Editor. 13-23.
- Halvorsen B. L., Holte K., Myhrstad M. C. W., Barigmo I., Hvattum E., Remberg S. F., 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants, *The Journal of Nutrition*, 132(3): 461-471.
- Harborne J. B., Williams, C. A., 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481-504.
- Harşit, B., 2015. Doğukaradeniz Bölgesi'nde halk arasında tıbbi amaçla kullanılan bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Artvin Çoruh Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Endüstrisi Mühendisliği Ana bilim dalı, Artvin.
- He, W., Huang, B., 2011. A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(16): 3595-3600.
- 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.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.
- Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Kargı, S., Cabaroğlu, T., 2006. Bazı üzümü meyvelerde toplam fenol ve antosiyanin içerikleri, II. Ulusal Üzümü Meyveler Sempozyumu, 14-16 Eylül, Tokat, 309-312 s.
- Kalleli, F., Bettaieb Rebey, I., Wannas, W. A., Boughalleb, F., Hammami, M., Saidani Tounsi, M., Hamdi, M., 2019. Chemical composition and antioxidant potential of essential oil and methanol extract from Tunisian and French fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds. *Journal of Food Biochemistry*, 43(8): 1-14.
- Kan, Y., Kartal, M., Aslan, S., Yıldırım, N., 2006. Farklı koşullarda yetiştirilen rezene meyvelerinin uçucu yağ bileşenleri, *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 35(2): 95-101.
- Karadağ, A., 2019. Türkiye'deki bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan potansiyelleri ve fenolik kompozisyonları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 16: 631-637.

- Karayel, H. B., 2019. Kütahya-Gediz koşullarında yetiştirilen rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) bitkisinin uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi, *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 16: 131-135.
- Khammassi, M., Loupassaki, S., Tazarki, H., Mezni, F., Slama, A., Tlili, N., Zaouali, Y., Mighri, H., Jamoussi, B., Khaldi, A., 2018. Variation in essential oil composition and biological activities of *Foeniculum vulgare* Mill., populations growing widely in Tunisia. *Journal of Biochemistry*, 42(3): e12532.
- Kovats, E., 1958. Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. Teil 1: retentionsindices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone, *Helvetica Chimica Acta*, 41: 1915-1932.
- Krizman, M., Baričević, D., Prošek, M., 2007. Determination of phenolic compounds in fennel by HPLC and HPLC–MS using a monolithic reversed-phase column, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 43(2): 481-485.
- Kulkarni, A. A., 2000. Mikropropagation and secondary metabolite study in taxus spp. and Withania somnifera (l) dunal, DSc Thesis, National Chemical Laboratory, Pune.
- Lien, E. J., Ren, S. J., Bui, H. U. H., Wang, R. B., 1999. Quantitative structureactivity relationship analysis of phenolic antioxidants, *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 285-94.
- Linskens, H. F., Jackson, J. F., 1997. Modern methods of plant analysis, Vol. 19: Plant Volatile Analysis, Springer, Germany.
- Merken, H. M., Merken, C. D., Beecher, G. R., 2001. Kinetics method for the quantitation of anthocyanins, flavonol and flavones in food, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2727-2732.
- Miguel, M. G., 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils, *A Short Review Molecules*, 15: 9252-9287.
- Mimica-Dukiš, N., Bugarin, D., Grboviš, S., Mitiš-Šulafiš, D., Vukoviš-Gačiš, B., Orčiš, D., Jovin, E., Couladisü M., 2010. Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents, *Molecules*, 15: 2759-2770.
- Mohd-esa, N., Hern, F. S., Ismail, A., Yee, C. L., 2010. Antioxidant activity different part of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds, *Food Chemistry*, 122: 1055-1060.
- 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.
- Moyler, D. A., 1993. Extraction of essential oils with carbon dioxide. *Flavour and Fragrance*, 8: 235- 247

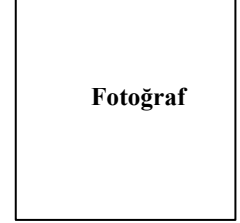
- Mukerji, A. K. 1997. Importance of non-wood products (nwfp) and strategies for sustainable development, proceedings of the XI. World forestry congress, 3, Antalya,
- M27-A2, 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast approved standard, Second Edition, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [formerly NCCLS], Wayne, Pennsylvania, 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, Pennsylvania, USA, 22, 16, 51 s.
- M100-S16, 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Sixteenth informational supplement, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [formerly NCCLS], Wayne, Pennsylvania, USA, 26, 3, 188 s.
- Naz, S., Ahmad, S., Rasool, S. A., Siddiqi, R., Sayeed, S. A., 2007. In vitro antibacterial activity of the extracts derived from Terminalia Catappa, *Research Journal of Microbiology*, 2(2): 180- 184.
- Novais, M., Santos, I., Mendes, S., Pinto-Gomes, C., 2004. Studies on pharmaceutical ethnobotany in arrabida natural park (Portugal), *Journal of Ethnopharmacology*, 93(2-3): 183-195.
- Öztürk H., 2009. *Jurinea consanguinea* 'nın antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Özşen, Ö., 2011. İzoforon analoglarının sentezi, biyotransformasyonu ve biyolojik etkileri, Yüksek Lisans tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Kimya Bölümü, 62 s.
- Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., Andrade, P. B., 2009. Phenolics from chemistry to biology, *Molecules*, 14(6): 2202-2211
- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C., 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health, *International Journal of Biomedical Science*, 4(2): 89-96.
- Rangahau, M. K., 2001. Essential oils and their production. Crop and Food Research, Nr. 39, October. Rowe, J.W., 1989. Natural Products of Woody Plants Vol.2, Springer, Germany.
- Rather, M. A., Dar, B. A., Sofi, S. N., Bhat, B. A., Qurishi, M. A., 2016. *Foeniculum vulgare*: a comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety, *Arabian Journal of Chemistry*, 9(2):1574-1583.
- 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.

- Saini, N., Singh, G. K., Nagori, B. P., 2014. Physicochemical characterization and spasmolytic activity of essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Linn.) from Rajasthan. *International Journal of Pharmacotherapy*, 4(2): 97-103.
- Salami, M., Rahimmalek, M., Ehtemam, M. H., 2017. Comprehensive research on essential oil and phenolic variation in different *Foeniculum vulgare* populations during transition from vegetative to reproductive stage. *Chemistry and Biodiversity*, 14: 600246.
- Saldamlı, İ., 2007. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 463-492 s.
- Santayana, M. P., Tardío, J., Blanco, E., Carvalho, A., Lastra, J., San Miguel, E., Morales, R., 2007. Traditional knowledge of wild edible plants used in the northwest of the Iberian Peninsula (Spain and Portugal): a comparative study, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3(1): 1-11.
- Seçkin, T., 2014. İşlevsel Bitki Kimyası. Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., Ankara.
- Senatore, F., Oliviero, F., Scandolera, E., Tagliatela-Scafati, O., Roscigno, G., Zaccardelli, M., De Falco, E., 2013. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of anethole-rich oil from leaves of selected varieties of fennel [*Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *azoricum* (Mill.) Thell], *Fitoterapia*, 90: 214-219.
- Shahidi, F., Naczk, M., 1995. Food Phenolics Sources, Chemistry, Effects, Applications, Technomic Publishing Companies Inc., 851 New Holland Avenue, Box 3535, Lancaster, Pennsylvania, 17604, USA, 199-225, 331p.
- Sikkema, J., de Bont, J. A., Poolman, B., 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons, *Microbiological reviews*, 59(2): 201-222.
- Silva, F. A. M., Borges, F., Guimaraes, C., Lima, J. L. F. C., Matos, C., Reis, S., 2000. Phenolic acids and derivatives; studies on the relationship among structure, radical scavenging activity and physicochemical parameters, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 2122-2126.
- Slinkard, K., Singleton, V. L., 1977. Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods, *American Journal of Enology and Viticulture*, 28: 49-55.
- Sökmen, A., Gürel, E., 2001. Sekonder metabolit üretimi. Bitki Biyoteknolojisi 1: Bitki Doku Kültürleri 211-267 (Ed.M. Babaoğlu, E. Gürel, S. Özcan). Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya.
- Şener, G., Yeğen Berrak, Ç., 2009. İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, 22: 5-13.
- Toroğlu, S., Dığrak, M., Çenet, M., 2006. Baharat olarak tüketilen *Laurus nobilis* Linn ve *Zingiber officinale* Roscoe bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri

ve antibiyotiklere in-vitro etkilerinin belirlenmesi, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(1): 20-26.

- Tripoli, E., Guardia, M. L., Giammanco, S., Majo, D. D., Giammanco, M., 2007. Citrus flavonoids: molecular structure, biological activity and nutritional properties, A review. *Food Chemistry*, 104:466-479.
- Tsao, R., 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12): 1231-1246.
- Turkoglu, A., Duru, M. E., Mercan, N., Kıvrak, İ., Gezer, K., 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, *Food Chemistry*, 101: 267-273.
- Tyagi, A. K., Malik, A., 2011. Antimicrobial potential and chemical composition of Eucalyptus globulus oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chemistry*, 126(1): 228-235.
- Weiping, H., Baokang, H., 2011. A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice, *Foeniculum vulgare*, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(16): 3595-3600.
- Zalibera, M., Stasko, A., Sleboğova, A., Jancovicova, V., Cermakova, T., Brezova, V., 2008. Antioxidant and radical-scavenging activities of slovak honeys an electron paramagnetic resonance study, *Food Chemistry*, 110: 512-521.
- 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 : AYDIN, Emre
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	Artvin Çoruh Üniv /Orman End. Müh.	08.06.2015
Yüksek Lisans	Artvin Çoruh Üniv /Orman End. Müh.

Yayımlar

.....
.....