

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hankezi KAYIMU

**HAMBELES (*Myrtus communis* L.) MEYVESİNİN BİYOAKTİF
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA-2017

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HAMBELES (*Myrtus communis* L.) MEYVESİNİN BİYOAKTİF
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hankezi KAYIMU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 19.04.2017 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. M. Ümit ÜNAL
DANIŞMAN

.....
Prof.Dr. Serkan SELLİ
ÜYE

.....
Yrd. Doç. Dr.Aysun ŞENER
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2016-6849**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAMBELES (*Myrtus communis* L.) MEYVESİNİN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hankezi KAYIMU

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. M. Ümit ÜNAL
Yıl: 2017. Sayfa: 74
Jüri : Prof. Dr. M. Ümit ÜNAL
: Prof. Dr. Serkan SELLİ
: Yrd. Doç.Dr. Aysun ŞENER

Bu çalışmada hambeles (*Myrtus communis* L.) meyvesinin toplam fenol, toplam flavonoid ve toplam antioksidan miktarı, diyabette anahtar konumda olan α -glikozidaz ve α -amilaz üzerine inhibisyon etkisi ve antimikrobiyel aktivitesi gibi biyoaktif özellikleri incelenmiştir. Su, metanol, etil asetat ve hekzan kullanılarak elde edilen özütlerin toplam fenol miktarı gallik asite eşdeğer olarak 5.1-45.2 mg/g arasında değişirken, toplam flavonoid miktarı kateşine eşdeğer olarak 2.3-11.6 mg/g arasında değişiklik göstermiştir. En yüksek toplam fenolik madde ve toplam flavonoid sulu özütte bulunmuştur.

Meyve özütlerinin antioksidan kapasiteleri, serbest radikal giderici yöntemine göre (DPPH) EC₅₀: 0.52-16.49 mg/mL arasında değişirken, indirgeme gücü kapasitesi yönteminde (FRAP) ise 39.5-173.2 mmol/L arasında değişmiştir. En güçlü antioksidan etki sulu özütte gözlenmiştir. α -glikozidaz inhibisyonu IC₅₀ cinsinden 0.7-44.7 μ g/mL arasında farklılık gösterirken, α -amilaz inhibisyonu ise IC₅₀: 8.7-44.92 μ g/mL arasında değişmiştir. α -glikozidazı inhibe etmede sulu özüt en etkili (0.7 μ g/mL) iken, α -amilaz inhibisyonunda metanollü özüt en etkili (8.7 μ g/mL) olmuştur.

Hambeles meyve özütlerinden sadece metanollü özüt antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Metanollü özütün disk difüzyon yönteminde oluşan zon çapı 15.5 mm (*Escherichia coli*) ve 12.5 mm (*Staphylococcus aureus*) olmuştur. Minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) yönteminde MİK değeri her 2 bakteri için 9.58 mg/mL olmuştur.

Anahtar kelimeler: Hambeles (*Myrtus communis* L.) meyvesi, toplam fenol, flavonoid, antioksidan aktivite, α -glikozidaz ve α -amilaz inhibisyonu, antimikrobiyel aktivite

ABSTRACT

MSc THESIS

INVESTIGATION ON THE BIOACTIVE PROPERTIES OF MYRTLE (*Myrtus communis* L.) BERRY

Hankezi KAYIMU

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

Supervisor : Prof. Dr. M.Ümit ÜNAL
Year: 2016. Pages:74
Juries : Prof. Dr. M. Ümit ÜNAL
: Prof. Dr. Serkan SELLİ
: Asst. Prof. Aysun ŞENER

The bioactive properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) in terms of total phenol, flavonoid content, antioxidant, inhibitory effect on diabetes-relevant enzymes, α -glycosidase and α -amylase, and antimicrobial activity were examined in this study. Four different solvents (water, methanol, ethyl acetat and hexane) were used in the extraction of bioactive compounds. The total polyphenol content of the berry extracts varied from 5.1 to 45.2 mg gallic acid equivalents/g with respect to the solvents used, while the total flavonoid content ranged between 2.3 to 11.6 mg/g in catechin equivalents. The highest total phenolics and flavonoid were found in aqueous extract.

In the determination of antioxidant activity, the free radical scavenging effect (DPPH) of berry extracts ranged from EC₅₀: 0.52 to 16.49 mg/mL, while the reducing power capacity (FRAP) of berry extracts varied from 39.5 to 173.2 mmol trolox equivalents/L. The antioxidant effect of aqueous extract was found to be the most potent in both antioxidant assays. α -glucosidase inhibition varied among extracts, from IC₅₀: 0.7 to 44.7 μ g/mL, while the α -amylase inhibition ranged from IC₅₀: 8.7 to 44.92 μ g/mL. The aqueous extract was the most effective in α -glucosidase inhibition, whereas methanolic extract was the strongest inhibitor against α -amylase.

Of the myrtle berry extracts, only methanolic extract showed antimicrobial activity. The zone diameter of the methanolic extract formed in disc diffusion method was 15.5 mm for *Escherichia coli* and 12.5 mm for *Staphylococcus aureus*. The minimum inhibitory concentration (MIC) value was 9.58 mg / mL for both bacteria.

Keywords: Myrtle (*Myrtus communis* L.) berry, total phenol, flavonoid, antioxidant activity, α -glucosidase and α -amylase inhibition, antimicrobial activity

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Son araştırmalar düzenli olarak meyve, sebze ve tahıl tüketimi ile kardiyovasküler hastalıklar, kanser, tip 2 diyabet, katarakt ve yaşa bağlı fonksiyonel düşüş gibi kronik hastalıkların oluşma riskinin azalması arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Meyve ve sebzeler mikro besin elementleri, vitaminler, diyet lifi, folat, potasyum, karotenoidler ve diğer fenolik fitokimyasallarca zengindir.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nın araştırmasına göre dünya nüfusunun % 70-80'i birincil sağlık bakımının bir parçası olarak geleneksel (ağırlıklı olarak bitkisel) tıptan faydalanmaktadır. 1983-1994 yılları arasında kanser ve bulaşıcı ve iltihaplı hastalıklar için geliştirilen yeni ilaçların % 60-75'inin temeli doğal bileşiklere dayalıdır. Buna rağmen, dünyadaki 250000 bitki türünün sentezlediği fitokimyasalların büyük çoğunluğu halen araştırılmamıştır. Bu nedenle, bitkisel ürünler gibi doğal kaynakların çok geniş kimyasal çeşitliliğinin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

Meyveler, sebzeler ve tam tahılların sağlık açısından faydalı özellikleri, fitokimyasal bileşiklere atfedilmektedir. Fitokimyasallar, meyve, sebze, tıbbi ve aromatik bitkilerin yaprak çiçek ve kökleri, bakliyat ve tahıl gibi bitkisel ürünlerde hastalıklara karşı savunma sisteminin bir parçası olarak var olan, bitkilere renk, aroma ve zararlılara karşı doğal koruma gibi özellikler veren, biyolojik aktivite gösteren, besleyici özelliği olmayan ikincil metabolitlerdir.

Araştırmalar, meyve ve sebzelerde bulunan fitokimyasalların antioksidan olarak serbest radikalleri temizleme dâhil olmak üzere tamamlayıcı ve örtüşen etki mekanizmalarına sahip olduklarını göstermiştir. Bunun dışında, hücre çoğalması, hücre farklılığı, onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerdeki gen ekspresyonunun düzenlenmesi; hücre döngüsünün durmasının indüklenmesi ve apoptozu; detoksifikasyon, oksidasyon ve indirgeme enzim aktivitelerinin modülasyonu;

bağıışıklık sisteminin uyarılması; hormon metabolizmasının düzenlenmesi; antibakteriyel ve antiviral etkileri olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada Adana'dan toplanan, Akdeniz florasının karakteristik bir temsilcisi olarak tedavide, yiyecek ve baharat olarak kullanılmakta olan hambeles (*Myrtus communis* L.) meyve örnekleri kurutulduktan sonra 4 farklı çözgenle (su, metanol, etil asetat ve hekzan) elde edilen özütlerin toplam fenol ve toplam flavonoid madde miktarı, toplam antioksidan aktivitesi, diyabette anahtar konumda olan α -amilaz, α -glukozidaz enzimler üzerine inhibe etkisi ve antimikrobiyel aktivitesi incilenmiştir.

Hambeles meyve özütlerinin toplam fenolik madde miktar analizi Folin-Ciocalteu reaktifı kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan çözgenlere göre meyve özütlerinin toplam fenolik madde miktarı, 5.1-45.2 mg GAE/g arasında değişirken, flavonoid miktarı 2.3-11.6 mg KE/g arasında değişkenlik göstermiştir.

Meyve özütlerinin toplam antioksidan miktarına bakıldığında, DPPH yöntemine göre serbest radikal giderici etkisi en yüksek olanı suyla elde edilen özütte (EC_{50} : 0.52 mg/mL), en düşük aktivite ise etil asetat ile elde edilen özüt (EC_{50} : 16.49 mg/mL) elde edilmiştir. FRAP yönteminde indirgeme gücü kapasitesi en yüksek olan sulu özüt (173.2 ± 0.46 mmol/L), en düşük olanı ise etil asetat ile elde edilen özüt (39.5 ± 0.61 mmol/L) olmuştur.

Enzim inhibisyonu çalışmalarında, kullanılan çözgen farkına göre, α -glukozidaz inhibisyonu IC_{50} cinsinden 0.7-44.7 μ g/mL arasında farklılık gösterirken, α -amilaz inhibisyonu 8.7-3.44.92 μ g/mL arasında değişmiştir.

Meyve özütlerinin antimikrobiyel aktivitesine bakıldığında, sadece metanol ile elde edilen özüt test edilen bakterilerin (*E. coli*, *S. aureus*) gelişmesini inhibe edebilmiştir. Disk difüzyon yönteminde oluşturulan zon çapı 15.5 ± 0.70 mm (*E. coli*) ve 12.5 ± 0.70 mm (*S. aureus*) olmuştur. Minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) yönteminde MİK değeri her 2 bakteri için 9.58 mg/mL olmuştur.

TEŞEKKÜR

Öğrenimim süresince yol gösteren, destekleyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli danışman hocam Prof. Dr. M. Ümit ÜNAL'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çok yoğun olmasına rağmen her zaman destekleriyle çalışmalarında yol gösteren, karşılaştığım sorunları çözmede yardımlarını eksik etmeyen değerli Yrd. Doç. Dr. Aysun ŞENER'e çok teşekkür ederim.

Jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren değerli hocam Prof. Dr. Serkan SELLİ'ye, örnek kurutma işlemlerinde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Sadık DİNÇER'e, antimikrobiyel çalışmalarında yardımcı olan Ar. Gör. Gözde KONURAY'a;

Gıda Mühendisliği bölümündeki hocalarıma, yüksek lisans ve doktora yapan arkadaşlarıma, maddi destek sağlayan Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne;

Bütün öğrenim hayatım boyunca ve tez aşamam sırasında ilgi, sabır ve manevi desteklerinden dolayı sevgili annem, babam ve aileme;

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
2.1. Fitokimyasallar ve sağlık üzerindeki etkileri	7
2.2. Hambeles Bitkisi	9
2.3. Fitokimyasalların diyabet hastalığı üzerine etkisi	13
2.4. Fitokimyasalların antioksidan etkisi.....	17
2.5. Fitokimyasalların antimikrobiyel etkileri.....	19
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1. Materyal	23
3.1.1. Hambeles meyvesi	23
3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Mikroorganizmalar	23
3.1.3. Araç ve Gereçler	23
3.2. Metot	26
3.2.1. Bitki Özütlерinin Hazırlanması	26
3.2.2. Toplam Fenol Tayini.....	28
3.2.3. Toplam Flavonoid Tayini.....	28
3.2.4. Pankreatik α -amilaz İnhibisyonunun Belirlenmesi	28
3.2.5. α -glukozidaz İnhibisyonunun Belirlenmesi	29
3.2.6. Antimikrobiyel Aktivitenin Belirlenmesi.....	30

3.2.6.1. Tek Koloni Eldesi	30
3.2.6.2. Disk Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyel Aktivitenin Belirlenmesi	30
3.2.6.3. Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon (MİK) Yöntemi ile Antimikrobiyel Aktivitenin Belirlenmesi.....	31
3.2.7. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	31
3.2.7.1. DPPH (Serbest Radikal Giderim) Yöntemi ile Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi	31
3.2.7.2. FRAP (İndirgeme Gücü Kapasitesi) Yöntemi ile Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi	32
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	33
4.1. Hambeles meyve özütlerinin toplam fenol, toplam flavonoid ve toplam antioksidan değerleri	34
4.2. Hambeles meyve özütlerinin α -glukozidaz üzerine inhibisyon etkisi.....	38
4.4. Hambeles meyvesi özütlerinin antimikrobiyel aktivitesi	45
4.4.1. Disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesi..	45
4.4.2. Minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) yöntemi ile antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesi	48
5. SONUÇLAR	51
KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	67
EKLER	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 4.1. Hambeles meyve özütlerinin farklı çözümlerle verimi (%) (a/a).....	33
Çizelge 4.2. Hambeles meyve özütlerinin toplam fenol, flavonoid ve antioksidan miktarı sonuçları	34
Çizelge 4.3. Hambeles meyve özütlerinin DPPH % inhibisyonu EC ₅₀ değerleri.....	36
Çizelge 4.4. Hambeles meyve özütlerinin α -glukozidaz üzerine inhibe etkisi.....	40
Çizelge 4.5. Hambeles meyve özütlerinin α -amilaz üzerine inhibisyon etkisi	44
Çizelge 4.6. Hambeles meyve özütlerinin disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyel analiz sonuçları	46
Çizelge 4.7. Hambeles meyve özütlerinin MİK sonuçları.....	48



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1.	Dondurarak kurutma işleminde kullanılan liyofilizatör	24
Şekil 3.2.	Çalışmada kullanılan santrifüj cihazı.....	24
Şekil 3.3.	Analizde kullanılan rotary vakum evaporatör.....	25
Şekil 3.4.	Analizde kullanılan UV-VIS spektrofotometre	25
Şekil 4.1.	DPPH radikalinin antioksidan madde ile reaksiyonu.....	35
Şekil 4.2.	α -glukozidazın 4-Nitrofenil α -D-glukopiranosid ile tayini.....	38
Şekil 4.3.	α -amilaz aktivitesinin 3,5-dinitrosalisilik asit (DNS) reaktifi ile tayini	43



SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
dk	: Dakika
mm	: Millimetre
kg	: Kilogram
g	: Gram
mg	: Milligram
µg	: Mikrogram
L	: Litre
mL	: Mililitre
µL	: Mikrogram
M	: Molar
mmol	: Milimolar
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
a/a	: Ağırlık/Ağırlık
MİK	: Minimum inhibe edici konsantrasyon
dL	: Desilitre
GAE	: Gallik asite eşdeğer
KE	: Kateşine eşdeğer
TE	: Trolox'a eşdeğer
nm	: nanometre
U	: Ünite
h/h	: hacim/hacim
IC ₅₀	: Enzim aktivitesini % 50 inhibe etmek için gereken özüt miktarı
EC ₅₀	: DPPH radikal konsantrasyonunu % 50 azaltmak için gereken özüt miktarı



1. GİRİŞ

Epidemiolojik araştırmalar, düzenli meyve, sebze ve tahıl tüketimi ile kardiyovasküler hastalıklar, kanser, tip 2 diyabet, katarakt ve yaşa bağlı fonksiyonel düşüş gibi kronik hastalıkların oluşma riskinin azalması arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Meyve ve sebzeler mikro besin elementleri, vitaminler, diyet lifi, folat, potasyum, karotenoidler ve diğer fenolik fitokimyasallarca zengindir. Optimum sağlık için günde 5 porsiyon (her bir porsiyon en az 80 gram) meyve ve sebze tüketimi tavsiye edilmektedir. Tüketicilerin, bazı hastalıkların riskini azaltan fonksiyonel özelliklere sahip meyve ve sebzeleri de içeren sağlıklı diyetlere ilgisi giderek artmaktadır. Son yıllarda meyve ve sebzelerden biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu, izolasyonu ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır (Ares ve ark, 2013; Costa ve ark, 2012; Coşkun, 2005; Nile ve Park, 2014; Sarkar ve ark, 2015).

Dünya Sağlık  rg t (WHO)’n n araştırmasına göre dünya nüfusunun % 70-80’i birinci basamak sağlık bakımının bir parçası olarak geleneksel (ağırlıklı olarak bitkisel) tıptan faydalanmaktadır (Hooper ve Cassidy, 2006). 1983-1994 yılları arasında kanser ve bulaşıcı ve iltihaplı hastalıklar için geliştirilen yeni ilaçların % 60-75’inin temeli doğal bileşiklere dayalıdır. Buna rağmen, dünyadaki 250000 bitki türünün sentezlediği fitokimyasalların büyük çoğunluğu halen araştırılmamıştır. Bu nedenle, bitkisel ürünler gibi doğal kaynakların çok geniş kimyasal çeşitliliğinin araştırılması büyük önem taşımaktadır (Dey ve ark, 2008). Besinlerin tedavi edici yeteneklerinin olabileceği kavramı yeni olmayıp, günümüzden yaklaşık 2500 yıl önce tıbbın babası sayılan Hipokrat “*Besinler ilacınız, ilacınız besininiz olsun*” demiştir (Coşkun, 2005).

Meyveler, sebzeler ve tam tahılların sağlık açısından faydalı özellikleri, fitokimyasal bileşiklere atfedilmektedir (Acosta-Estrada ve ark, 2014). Fitokimyasallar, bitkilere renk, aroma ve zararlılara karşı doğal koruma gibi özellikler veren, biyolojik aktivite gösteren, besleyici özelliği olmayan ikincil

metabolitlerdir. Bu bileşiklerin sınıflandırılması halen tartışma konusu olsa da üç ana grup altında toplanabilirler:

- Fenolik bileşikler
- Glikozinolatlar
- Karotenoidler

Fitokimyasallar meyve, sebze, tıbbi ve aromatik bitkilerin yaprak çiçek ve kökleri, bakliyat ve tahıl gibi bitkisel ürünlerde hastalıklara karşı savunma sisteminin bir parçası olarak var olan doğal kimyasallardır (Vasanthi ve ark, 2012). Bu terim, antioksidanların da dâhil olduğu biyolojik öneme sahip olan kimyasal grupları isimlendirmek için kullanılmakta olup, temel besin maddesi olmayan karotenoid, flavonoid, fenol ve doğal indigoitleri içeren fitokimyasallardan ibaret fonksiyonel bileşikler kapsamaktadır (Beutner ve ark, 2001).

Bugüne kadar yapılan araştırmalar, meyve ve sebzelerde bulunan fitokimyasalların antioksidan aktivite ve serbest radikalleri temizleme dâhil olmak üzere tamamlayıcı ve örtüşen etki mekanizmalarına sahip olduklarını göstermiştir. Hücre çoğalması, hücre farklılığı, onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerdeki gen ekspresyonunun düzenlenmesi; hücre döngüsünün durmasının indüklenmesi ve apoptozu; detoksifikasyon, oksidasyon ve indirgeme enzim aktivitelerinin modülasyonu; bağışıklık sisteminin uyarılması; hormon metabolizmasının düzenlenmesi; antibakteriyel ve antiviral etkileri olduğunu göstermiştir (Sun ve ark, 2002; Chu ve ark, 2002).

Monofenoller, hidroksisinnamik asit grubu flavonoidler ve bunların glikozitleri, fitoesterojenler ve tanenler olmak üzere binlerce fenolik bileşik belirlenmiştir. Bitkilerin renk, tat ve kokusuna katkısı olan flavonoidler bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır. Fitoesterojenler, zayıf esterojen aktivitesi gösteren difenolik bileşiklerdir. Örneğin, genisten ve daidzin glikozidleri daha çok soya

ürünlerinde bulunurlar. Glikozinolatlar daha çok lahanagillerde bulunurlar ve keskin koku verirler. Karotenoidler, çok sayıda kırmızı ve sarı renkteki bileşiklerden oluşurlar ve bitkilerde bulunan karotene kimyasal olarak akrabadırlar. Meyve ve sebzelerde, β -karoten, likopen ve lutein başta olmak üzere yaklaşık 500 adet karotenoid saptanmıştır. (Johnson, 2003).

Bu bileşiklerin insanlarda absorbe edilip metabolize edildiğine ve *in vitro* olarak biyolojik aktivite gösterdiğine dair bulgular olup, potansiyel etki mekanizmaları şu şekilde sıralanabilir (Hooper ve Cassidy, 2006):

- Dolaşımdaki düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyesinde düşüş
- Artan antioksidan aktivite (potansiyel olarak LDL'in oksidasyonunu önleyerek aterosklerotik plak oluşumunu artırma potansiyellerini düşürme)
- Trombotik potansiyeli azaltma
- Tümör gelişimini azaltma
- Östrojen benzeri aktivite (kemik ve meme sağlığı ve menapoz semptomlarına olan etkileri de dâhil)
- İltihap önleyici antienflamatuvar etkiler

Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri (ROT) ya insan vücudundaki normal elzem metabolik prosesler ya da X-ışınları, ozon, sigara içme, hava kirleticileri ve endüstriyel kimyasallar gibi dış nedenler sonucu oluşur. ROT, DNA, proteinler ve lipitler gibi biyolojik moleküllerle reaksiyona girer ve yapısal ve fonksiyonel zarara neden olur. Oksidatif zarar kanser oluşumu, yaşlanma prosesi ve bazı yaşlanma ile bağlantılı dejeneratif hastalıklarla bağlantılıdır. Fitokimyasalların çoğunun sağlığı geliştirici etkilerinin, başka etki modları olsa da, daha çok antioksidan aktivitelerine bağlanmaktadır. Fitokimyasallar detoksifiye edici enzimlerin modülasyonu, oksidatif ajanların süpürülmesi, bağışıklık sisteminin uyarılması, hücre yayılması ve apoptosisinde gen ifadesinin

düzenlenmesi, hormon metabolizması, antibakteriyel ve antiviral etkiler de dâhil tamamlayıcı ve örtüşen etki mekanizmalarına sahip olabilir. Meyve ve sebzeler, reaktif oksijen türlerine karşı serbest radikal ve radikal olmayan süpürücü kapasiteye sahip önemli miktarlarda fitokimyasallar içerirler. Hücre dokularına toksik etki gösterdikleri belirlenen reaktif oksijen türleri proteinlere, membran lipidlerine ve DNA'ya oksidatif hasarlara yol açarlar, enzimatik yolları inhibe ederler ve gen mutasyonunu indüklerler. Bu proseslerin diyabet, bazı kanser türleri, kardiyovasküler ve dejeneratif hastalıklar gibi bazı kronik insan hastalıklarının altında yatan neden olduğuna inanılmaktadır (Yücecan, 2009; Reddy, 2009).

Bitkilerin antioksidan etkinliği esas olarak uçucu bitki yağlarındaki aktif bileşikler ve bunların içinde mevcut olan fenolik fraksiyonlarından kaynaklanmaktadır. Flavonoidler, fenolik asitler ve tanen gibi fenolik bileşikler bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin antioksidan, antitümör, antimütajen gibi fizyolojik fonksiyonlarının insan sağlığına fayda sağlayıcı potansiyeli dikkat çekmektedir (Govindarajan ve ark, 2005). Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi onların indirgeyici ajan, hidrojen bağışlayıcı, singlet oksijen söndürücü ve metal şelatlama gibi redoks özelliklerine atfedilmektedir (Li ve ark, 2006).

Diyabet Mellitus (DM), kandaki glikoz miktarının artması ile karakterize edilen en yaygın metabolik bozukluklardan biridir. Dünya çapındaki en yaygın sağlık sorunlarından biri haline gelmiştir ve bu hastalığın yaygınlığı hızlı artmakla beraber mikrovasküler (retinopati, nöropati ve nefropati) ve makrovasküler (kalp krizi, inme ve periferik vasküler hastalık) gibi komplikasyonlara yol açmaktadır (Umar ve ark, 2010).

Yemekte bulunan karbonhidratları parçalayarak, onların ince bağırsakça emilip kan plazmasına geçmesinde önemli rol oynayan α -amilaz ve α -glikozidaz enzimlerinin inhibisyonu kan şekerinin yemek sonrası artışını önemli ölçüde azaltabilir. Günümüzde diyabetin önlenmesi ve tedavisinde fizyolojik etkileri modüle eden bitki temelli ilaçlar ve fonksiyonel gıdalara olan ilgi artmaktadır.

Bitkiler dünyası yan etkileri çok az veya hiç olmayan doğal etkili oral hipoglisemik ajanların araştırılması için geniş bir alandır. 1200'den fazla bitki türü, iddia edilen hipoglisemik etkinlikleri nedeniyle kullanılmakta olduğu kaydedilmiştir. Bu nedenle, bitki kaynaklarından doğal α -glikozidaz ve α -amilaz inhibitörleri, hiperglisemi kontrolünde ilgi çekici bir öneri vermektedir (Tundis ve ark, 2010).

Hambeles (*Myrtus communis* L.) Akdeniz florasının karakteristik bir temsilcisidir. Çekici görünümü ve aromatik özelliğinin yanı sıra eski zamanlardan beri tedavide, yiyecek ve baharat olarak kullanılmaktadır. Hambeles, yaprakları ve meyvelerinin organik bileşikler ve besin maddelerince benzersiz bileşimi nedeniyle sadece diyet ilavesi değil aynı zamanda essansiyel yağ eldesinde de önem taşımaktadır (Mulas ve Cani, 1999).

Hambeles fitokimyasal bileşikler bakımından zengindir, başlıca fitokimyasallar flavonoidler ve antosiyanin türleri, tanen ve fenolik asitler ve diğer birçok çeşitli fenolik bileşiklere sahiptir. Hambelesin çeşitli bölgeleri bugüne kadar tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır. Eski Mısır tıbbi metinlerinde hambelesin idrar bozuklukları, ağrı, mide ekşimesi, bacaklarda sertlik, öksürük, şişme ve göğsünden mukus kaldırma gibi hastalıklarda bir çare olarak kullanıldığı hakkında zengin kaynaklar bulunmaktadır. Hindistan'da özellikle epilepsi, serebral enfeksiyonların tedavisinde faydalı olduğu anlaşılmaktadır. Hambeles akne (normalde uçucu yağ kullanılır), yaralar, diş eti enfeksiyonları ve hemoroid tedavisinde kullanılmaktadır. Yaprakları taze veya kurutulmuş halde kullanılır. Bitkiden elde edilen uçucu yağı antiseptiktir. Bu madde myrtol içerir, bu gingivitis için bir çare olarak kullanılır. Yağ yerel uygulamada romatizma tedavisinde kullanılır (Özkan ve Güray, 2009)

Türk halk hekimliğinde, hambelesin yaprakları, meyveleri ve elde edilen uçucu yağı çeşitli amaçlar için kullanılmıştır: yaprakları hipertansiyon, basur, soğuk algınlığı, kalp hastalıkları, üretral bozuklukları, ishal, iç hastalıkları, romatizmal ağrı, ekstremitelerde ödem, kan şekerini düşürücü, böbrek taşlarını düşürücü, iştah açıcı, saç restoratörü, yara iyileştirici ve hemostatik olarak kullanılmıştır. Buhar distilasyonu ile yapraklarından hazırlanan uçucu yağı da

genel olarak kan şekerini düşürücü olarak kullanılmıştır. Meyve geleneksel olarak öksürük ve zatürre, mide rahatsızlıkları, böbrek problemleri, susuzluk, kusma, saç bakımı, ishal ve hemoroid için kullanılmaktadır. Kökü de hemoroid tedavisinde kullanılmaktadır (Tuzlacı, 2006; Baytop, 1999; Ertuğ, 2004).

Bu çalışmanın amacı farklı çözenler kullanarak hambeles (*Myrtus communis* L.) meyvesinden elde edilen özütlerinin;

- i. Toplam fenol ve flavonoid içeriğini,
- ii. Antioksidan kapasitelerini,
- iii. Tip 2 diyabette anahtar konumunda olan α -amilaz ve α -glikozidaz enzimlerini inhibe etme potansiyellerini ve
- iv. Antimikrobiyel kapasitelerini belirlemektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Fitokimyasallar ve sağlık üzerindeki etkileri

Fitokimyasal (İngilizce phytochemical) sözcüğündeki “fito-”(“phyto-”) Yunanca bitki anlamına gelen fito (“phyto”) kelimesinden gelmiştir. Bitkilerde, meyve, sebze, tahıl ve diğer bitki gıdalarında bulunan, başlıca kronik hastalıkların riskini azaltmakla ilgisi olan ve besin maddesi olmayan biyoaktif bitki bileşikleri olarak tanımlanır (Liu, 2003).

Fenolikler, bitkilerde önemli rol oynayan fitokimyasal maddelerin en büyük gruplarından biri olarak bitkilerde üreme ve büyümede temel işlevler sağlayan bitkilerdeki ikincil metabolizman ürünleridir. Ayrıca, patojenlere, parazitlere ve predatörlere karşı savunma mekanizmaları olarak rol oynarlar ve bitkilerin rengine katkıda bulunurlar. Bitkilerdeki rollerine ek olarak, diyetteki fenolik bileşiklerin kronik hastalık riskini azaltma gibi sağlık yararları da vardır (Chu ve ark, 2002).

Flavonoidler, meyveler, sebzeler ve diğer bitki gıdalarında bulunan ve büyük kronik hastalıkların riskini azaltmakla bağlantılı olan antioksidan aktiviteye sahip bir fenolik bileşiği olarak antialerjik, antiinflamatuvar, antiviral, antiproliferatif ve antimutajenik özelliklere sahip oldukları uzun zamandır bilinmektedir (Middleton ve Kandaswami, 1994). 4000'den fazla farklı flavonoid tespit edilmiştir. Flavonoidler arasında flavonlar, izoflavonlar, flavanonlar, antosiyaninler, flavanlar ve proantosiyanidinler bulunur. Flavonoidler, doğada glikosile edilmiş veya esterleştirilmiş formlardaki eşlenikler olarak bulunur, ancak özellikle gıda işlemenin etkileri sonucunda aglikon olarak ortaya çıkabilir (Prior, 2000).

Glikoz metabolizmasındaki bozulma, hipergliseminin başlangıcı ve daha sonra diyabet mellitus ile fizyolojik dengesizliğe yol açar. Çalışmalar, vücudun çeşitli fizyolojik parametrelerinin diyabetik koşullarda değişime uğradığını göstermiştir. Diyabet uzun vadeli olarak, gözleri etkileyen ve körlüğe neden olan

retinopati, böbrek fonksiyonlarının değiştirildiğinden veya bozulduğundan kaynaklanan nefropati, uzuv kesilmesi, ayak ülseri ve otonom bozukluğu riskleri ile ilişkili olan nöropati gibi komplikasyonların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Birçok çalışmada fitokimyasalların antidiyabetik etkileri vurgulanmıştır (Rizvi ve ark, 2005).

Fitokimyasallar, glikozun bağırsak tarafından emilimini ya da glikozun periferik dokular tarafından alınmasını engelleme, insülin salgılanmasını artırma ve/veya karbonhidratların parçalanmasında anahtar konumda olan α -amilaz, α -glikozidaz enzimlerinin çalışmasını inhibe etme gibi farklı mekanizma yollarıyla kan şekerinin düzenlenmesinde katkıda bulunduğu çok sayıdaki çalışmalarda tespit edilmiştir (Pandey ve ark, 2009; Rizvi ve Zaid, 2005; Matsui ve ark, 2001).

Diasetile antosiyaninlerin 10 mg/kg diyet dozunda hipoglisemik etkileri glikoz kaynağı olarak maltoz kullanıldığında gözlemlenirken, sükroz veya glikoz ile gözlemlenmemiştir. Bu, antosiyaninlerin hipoglisemik etkilerin bağırsak mukozasındaki α -glikozidazın inhibisyonuna bağlı olduğunu düşünülmüştür (Matsui ve ark, 2001). Sıçanlarda α -amilaz ve sükrazın kateşin tarafından yaklaşık 50 mg/kg diyet veya daha yüksek bir dozda inhibisyonu da gözlemlenmiştir (Pandey ve ark, 2009).

Jong-Sang ve ark (2000) 22 flavonoid çeşidinin α -amilaz ve α -glikozidaz enzimlerini inhibe etme özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında 9 çeşit flavonid α -glikozidazı, 15 çeşit flavonoid α -amilazı inhibe ettiğini, bunların arasında luteolinin α -glikozidazı inhibe etme kabiliyeti antidiyabetik ilaç akarboza kıyasla daha yüksek olduğunu bulmuştur. Nair ve ark (2013) tarçın, ekmek ağacı meyvesi, hint biberi ve jak meyvesinin metanol özütlelerinin α -amilaz ve α -glikozidaz enzimlerine olan etkisini araştıran çalışmasında tüm özütlelerin α -amilaz ve α -glikozidaz enzimleri inibihe ettiğini, jak meyvesinin hem α -amilaz ve α -glikozidaz enzimlerine karşı inhibe etme özelliği en yüksek olduğunu, dolayısıyla bitkilerin kan şekerini düşürme tedavisinde kullanma potansiyeli olduğunu öne sürmüştür.

Tarih boyunca, hambeles çiçeğin çekici görünümü, yenilebilir meyvesi, hoş kokusu ve tıbbi kullanımı gibi özellikleri nedeniyle insanlarca beğenilen bir bitki olmuştur (Özkan ve Güray, 2009).

2.2. Hambeles Bitkisi

Hambeles (*Myrtus communis* L.) Myrtaceae ailesine ait, ılıman tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişen, yaprak dökmeyen, yaklaşık 1-5 m yüksekliğe kadar yetişen bir çalıdır. Türkiye, Yunanistan, İtalya, Cezayir, Tunus, Fas gibi Akdeniz bölgeleri ve Ortadoğu ülkeleri dâhil bölgelerde yabani ve kültüre alınmış olarak bulunmaktadır. Türkiye'de, hambeles Akdeniz bölgesinde doğal çam ormanları, nehir yataklarında ve özellikle Toros Dağlarının deniz seviyesinden 500-600 metre yüksekliğindeki alanlarında bulunmaktadır. Beyaz renkli yıldız gibi çiçekler Haziran ayından Eylül ayına kadar görünür. Kasım ayı civarında olgunlaşan meyve sarımsı beyaz veya lacivert renktlerde olmaktadır. Çiçekler, böcekler tarafından tozlaşır. Tohumları, hambelesle beslenen kuşlar ve memelilerce doğada yayılır (Traveset ve ark, 2001; Aronne ve Micco, 2004).

Hambelesin yenilebilir kısımları meyve ve çiçekleridir. Meyvesi çiğ veya olgunlaştıktan sonra yenir, hoş kokusu ve lezzetinden dolayı özellikle Orta Doğu'da kurutulduktan sonra aromatik besin katkı maddesi olarak kullanılır. Ayrıca, asitli içki ve şarap yapımında da kullanılır. İtalya'da çiçek tomurcukları da yenir. Çiçeklerinin tatlı lezzeti nedeniyle salatalarda kullanılır (Aleksic ve Knezevic, 2014).

Hambeles tıbbi bitki olarak ilaç reçetesinde şöyle yer almıştır: «Burkulma tedavisinde bir tabak içinde hambeles ve susam yapraklarını birbirine karıştırarak yapılmış merhem incitilen yerin güçlendirilmesi için kullanılır»; «hambeles infüzyonu yanıklara iyi gelir. Şurubu da yapılır, ama ayva ile beraber içilmediği sürece öksürüğe karşı ya da ishal kesmede işe yaramaz. Hambeles tohumlarından iksir yapılır» (Elgood, 1962).

Hambelesin başka bir ilginç kullanımı Buldan'da kaydedilmiştir: kurutulmuş yaprakları toz şekline getirildikten sonra tuz ile karıştırılır. Yeni doğan bebek birkaç günlük olduğunda bu karışım çıplak vücuda uygulanır ve bebek yarım saat sonra yıkanır. Diğer alanlarda kötü kokusunu önlemek için benzer uygulama sadece tuzu ile yapılır. Onun tomurcukları ve meyveleri Anadolu'da eski çağlardan beri baharat olarak kullanılmıştır. Yaprakları ve çiçeklerinden alınan kokulu distile suyu meyve sularına hoş koku vermek için kullanılır (Yeşilada ve ark, 1995; Özkan ve Güray, 2009)

6. yüzyılda Amidalı (Diyarbakır) Bizans hekimi Aetios afyon ana bileşiği olan "kan tükürme" hapının hambeles içerdiğini kaydetmiştir. Dioscorides'in (Tarsus doğumlu Yunan farmakolog ve botanikçi) nefes yolu hastalıklarının tedavisinde, zehirli örümcekler, akrelerin ve bir çok başka böceklerin sokmasında, pişirilmiş meyvesinden elde edilen suyun şarap ile karıştırılarak bağırsak iltihabı tedavisi reçetesinde yer almıştır (Baumann 1993; Riddle, 1994).

Hambelese Çince "香 桃木" denir ve "香" hoş koku anlamına gelir. Bu bitkiden elde edilen yağın mutfakta farklı amaçlarla kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca, kabuğu, yaprakları ve çiçeklerinden elde edilen uçucu yağı kozmetik soslar, parfümeri, sabun ve cilt bakım ürünlerinde kullanılmaktadır (Dogan, 1978). Hambeles 16.yüzyıldaki losyon "Meleğin Suyu"nun ana maddesi olmuştur ve "eau d'ange" olarak bilinen parfüm hambeles çiçeklerinden elde edilmiştir (Jamoussi ve ark, 2005).

Meyvesi buruk olduğu için baharat olarak biber yerine kullanılabilir. Zengin tanen içeriğinden dolayı tanenlerin kullanıldığı tüm alanlarda yaygın olarak kullanılır (Aydın ve Özcan, 2007). Hambelesin meyve ve yaprakları Anadolu'da çeşitli alanlarda dokuma halı ve kilimleri boyamada kullanılır, meyvesi karakteristik koyu kahverengi bir renk verir (Doğan ve ark, 2003).

Hambeles meyvelerin likör yapımı için kullanılması Sardinya'da (İtalya'ya ait bir ada) çok popüler bir uygulamadır. Üretilen iki çeşit ürün şunlardır:

meyvesinin maserasyonu ile Mirto Rosso, yaprakların maserasyonu ile Mirto Bianco üretilir. Şu anda, Sardinya’da hambeles likörünün üretimi yılda 3 milyondan fazla şişeye ulaşmıştır ve Sardinya’nın yurt dışına ihraç eden en tipik ürünlerinden biri haline gelmiştir (Tuberoso ve ark, 2008). Hambeles likörü şeker ve deiyonize su ilave edildikten sonra sulu etanol içinde 40 gün bitki malzemesinin maserasyon ile elde edilen alkollü bir içecektir. Ekstraksiyon işlemi ürünün nihai kalitesi için büyük önem taşımaktadır. Hambelesin hem meyvesi hem de yaprakları likör yapılmasında kullanılmasına rağmen Anadolu’da içecek için uygulanması yoktur (Jamoussi ve ark, 2005).

Şu ana kadar, hambeles ile ilgili çalışmaların çoğu uçucu fraksiyonlarına, yaprakları ve meyvelerindeki fenolik bileşikler üzerine odaklanmıştır. Yaprığı tanenler, kuarsetin, kateşin ve mirisetin türevleri gibi flavonoidler ve uçucu yağlar içerir. Meyvesi çoğunlukla uçucu yağlar, tanenler, şekerler, flavonoidler, sitrik ve malik asit gibi organik asitlerden oluşur (Keven-Karademir ve Avunduk, 2015).

Wannes ve ark (2010) çiçeklenme döneminde Tunus’tan toplanan hambelesin kimyasal bileşimi, yaprağı, çiçeği ve kökünden hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağ ve bu parçalarının metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Hambeles yaprağı ve çiçeğinden elde edilen uçucu yağın bileşeni yüksek oranlarda monoterpen hidrokarbon sınıfının ana bileşiği olan alfa-pinen içerdiği ile karakterize edilmiştir. Kökü büyük oranda 1,8-sineol nedeniyle oksijenli monoterpenlerce zengindir. Toplam fenol içeriği HPLC ile analiz edilmiştir. Bitkinin farklı bölgelerinin toplam fenol içeriği değişkenlik göstermiştir. Yaprığı ve çiçeğinde ana fenolik bileşeni hidroliz olabilen tanenler (gallotanenler) kökünde ise yüksek kateşin nedeniyle flavonoid sınıfının üstünlüğü ile karakterize edilmiştir.

Keven-Karademir ve Avunduk (2015) Türkiye’nin farklı bölgelerinden toplanan hambeles meyvesinin antioksidan ve antimikrobiyel aktivitesini incelemiştir. MeOH ekstraksiyon metodunun n-hekzan, CH₂Cl₂ yöntemlerine göre daha verimli olduğu bildirilmiştir. Hambeles meyvesinden elde edilen

özütlerin antimikrobiyel aktivitesi bazı patojen bakteriler, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* karşı disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Antimikrobiyel test sonuçları inhibisyon zonların 7 ile 16 mm arasında olduğunu göstermiştir. *S. aureus* tüm hambeles çeşitlerinin tüm konsantrasyonlarında en duyarlı olduğunu ve *P. aeruginosa* Yeşil Belde hambeles örneğinin tüm konsantrasyonlarına en dirençli olduğunu bulmuşlardır.

Olgun hambelesin hasat döneminin kısıtlılığı dikkate alındığında likör üretiminde tüm yıl boyunca hammadde temini için güçlü bir depolama sistemine ihtiyaç vardır. Belli depolama süresinde hidroalkolik özütler ne değişikliklere uğrayacağını belirtmek için 1 yıl süresince fenolik bileşenlerin değişimi analiz edilmiştir. Hambeles meyvesi özütlerin HPLC analizi meyvesinde 8 antosiyanlar, bunların arasında delfinidin-3-*o*-glikozit, petunidin-3-*o*-glikozit ve malvidin-3-*o*-glikozitlerin ana bileşikler olduğunu ve 6 flavonoidler, ve bunlar arasında mirisetin-3-*o*-galaktozit, mirisetin-3-*o*-ramnozit, kuersetin-3-*o*-glikozit ve mirisetinlerin ana bileşiği olduğunu ortaya koymuş. Örnekler 1 yıl boyunca karanlıkta saklanmış ve her ayda 1 mL örnek alınmış ve nitrojen altında kurutulduktan sonra dondurulmuş ve depolanmıştır. Antosiyanların stabilitesi çok düşük ve sadece ilk 3 ay boyunca konsantrasyonlarında büyük bir değişim görülmemiş ve 6 ay geçtikten sonra başlangıç konsantrasyonun yarısı kalmıştır (Montoro ve ark, 2006).

Flavonoidler daha stabildir ama zaman geçince konsantrasyonunda düşme görülmüştür. Hambeles likör özütlerin kullanılması 3 ayı geçmemesini önerilmiştir ve veri analizi taze veya liyofilize meyve maserasyonu özütlerin daha güvenilir olduğu kanıtlanmıştır. Örneklerin antioksidan aktivitesi TEAC denemesi ile ölçülmüştür. Serbest radikal süpürücü yeteneğinde 2-3 ay içinde artma görülmüştür ama 3 ay geçtikten sonra azalma görülmeye başlamıştır (Montoro ve ark, 2006).

2.3. Fitokimyasalların diyabet hastalığı üzerine etkisi

Tip 2 diyabet tüm dünyada artış göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre tip 2 diyabet kan glikozunu düzenleyen insülin hormonuna dirençten veya insülin yetersizliğinden kaynaklanır. Erken aşamalarındaki diyabetin tedavisinde kullanılan terapötik yaklaşım sindirim sisteminde karbonhidratları hidrolize eden α -amilaz ve α -glikozidazı inhibe ederek yemek sonrası hiperglisemiye azaltmaktır. Bu enzimlerin inhibisyonuyla glikoz absorpsiyon hızı azalır ve yemek sonrası plazma glikoz seviyesi düşer (Tundis ve ark, 2007).

Diyetimizdeki nişastanın hidrolizi kandaki glikozun ana kaynağıdır ve nişastanın parçalanması ve bağırsaktan absorpsiyonunda α -amilaz ve α -glikozidaz enzimleri anahtar konumdadır. Bu enzimlerin inhibe edilmesi sonucu karışık karbonhidrat içeren bir diyetin ardından yemek sonrası kan glikoz seviyesindeki artışta önemli ölçüde azalma meydana geleceğine inanılmaktadır. Bu nedenle, bu yaklaşım tip II diyabetle bağlantılı hipergliseminin tedavisinde önemli bir strateji olabilir. İnsan α -amilazı pankreas ve tükürük bezlerinde sentezlenir ve nişasta ve glikojenin sindiriminde rol oynar. Bir kalsiyum metallo enzimi olan α -amilaz, nişasta, amiloz, amilopektin ve glikojen ve çeşitli maltodekstrinlerdeki α -1,4 glikozidik bağlarını parçalar ve daha kısa zincir uzunluğuna sahip oligosakkarit oluşturur. Diğer amilolitik enzimler de nişastanın parçalanmasına katkıda bulunurlar. Ancak, α -amilazın bu prosesi başlatması ön koşuldur (Lordan ve ark, 2013).

Bağırsak hücrelerinin yüzey membran fırça sınırında bulunan ikinci bir enzim α -glikozidaz, karbonhidrat sindiriminin son basamağını gerçekleştirir. Bu enzim, kompleks karbonhidratlar ve disakkaritleri, absorbe edilebilir monosakkaritlere hidrolize eder. Dolayısıyla, bu hidrolitik enzimlerin inhibitörlerle inhibe edilemesi bağırsaktan kan damarlarına glikoz akışını bastırır ve yemek sonrası hiperglisemiye azaltır (Lordan ve ark, 2013; Silva ve ark, 2014).

Akarboz, miglitol ve vogliboz α -amilaz ve α -glikozidaz aktivitesini inhibe etmede kullanılan antidiyabetik ilaçlardır. Pek çok hastada glikoz kan seviyelerinin

yükselmesini önlemede etkin olmasına rağmen, bu ilaçların sürekli kullanımının, karaciğer toksisitesi ve gastrointestinal semptomlar gibi istenemeyen yan etkileri vardır. Akarboz kan dolaşımına çok fazla absorbe olmaz ve etkileri bağırsakla sınırlı kalır. İnce ve kalın bağırsakta, akarviozin-glikoz ve glikoza dönüştürülür. Bu bileşiklerin fermantasyonu ishal ve gaz oluşumu gibi rahatsızlıklara neden olur. Bu nedenle, yan etkisi ve istenmeyen ikincil etkileri olmayan doğal α -amilaz ve α -glikozidaz inhibitörlerine gereksinim vardır. Bitki özütleri, daha düşük maliyetleri ve gastrointestinal yan etkilerin görülme sıklığının daha az olmasından dolayı daha kabul edilebilir amilaz inhibitörleri olabilirler. Bunlar arasında flavonoidler, fenolikler, tanenler, terpenler ve sinamik asit türevleri sayılabilir (Lordan ve ark, 2013; Silva ve ark, 2014).

Bitkiler, kaynakları sınırlı olan ve modern tedaviye erişimi düşük olan gelişmekte olan ülkelerde şeker hastalığının tedavisinde önemli bir rol oynamaya devam etmektedir. Endüstriyel açıdan gelişmiş ülkelerde şeker hastalığını tedavi edici olarak kullanılan bitkisel ilaçlara olan talebin artması insülin ve oral hipoglisemik ilaçların yan etkilerden kaynaklanmaktadır (Ali ve ark, 2006).

Marles ve Farnsworth (1994) kan glikozunu düşürücü etki gösteren bitkisel kaynaklı 200'den fazla saf bileşik olduğunu, diyabet semptomları tedavisinde etnofarmakolojik veya deneysel olarak 1200'den fazla bitki türünün kullanıldığını belirtmiştir. Subramoniam (2016) diyabet mellitus hastalığını iyileştirme potansiyel olan 800'den fazla bitki türünü tespit etmişlerdir.

Hayvanlarla yapılan çalışmalarda, Sprague–Dawley sıçanlarında fenol bileşiklerince zengin yeşil ve siyah çay katkılarının yemek sonrası kan glikoz konsantrasyonlarını azalttığı ortaya konmuştur. Meyve ve sebze tüketiminin tip 2 diyabet hasta grubunda oksidatif stres markörlerinin iltihaplanmasını azalttığı bildirilmiştir (Wootton-Beard ve Ryan, 2011). Doku kültürü yöntemiyle geliştirilen polifenolce zengin Rugers Scarlet marulunda (*Lactuca sativa* L.) üç ana bileşiğin yüksek seviyelerde biriktiği saptanmıştır. Bunlar, klorojenik asit, siyanidin malonil-glioizid ve kuarsetindir. Günlük 100 veya 300 mg/kg oranında farelere

verilen Rutgers Scarlet marulu diyetinin insülin hassasiyetini iyileştirdiği saptanmıştır (Cheng ve ark, 2014).

Mojica ve ark (2015) Meksika ve Brezilya’da yetiştirilen 15 farklı fasulye türünün antosiyanin ve diğer renksiz bileşiklerini inceledikleri çalışmada, α -amilaz ve α -glikozidaz enzimlerini en etkin inhibe eden özütlerin pinto ve siyah türlerin tohum kabuğu özütleri olduğunu bildirmişlerdir. Sarkar ve ark (2015) Bartlett ve Starkrimson armut türlerinin kabuk ve meyve etinden elde ettikleri özütlerin α -amilaz ve α -glikozidaz aktivitesine etkisini inceledikleri araştırmada, her iki türden elde edilen kabuk ve meyve özütlerinin bahsedilen enzimleri yüksek derecede inhibe ettiklerini bildirmişlerdir. α -amilazı inhibe etme derecesi bakımından her iki türün sulu meyve eti özütlerinin etanolik meyve eti özütleri ve kabuk özütlerinden daha yüksek inhibe edici aktivite gösterdiği saptanmıştır. Kam ve ark (2013) nar çiçeği, kabuğu ve suyundan metanol, etil asetat ve su ile elde ettikleri özütlerin pankreatik α -amilaz ve α -glikozidazı değişen derecelerde inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Normoglisemik ve Alloksan diyabetik tavşanlarda hambeles yağındaki antioksidan enzimin aktivitelerinin etkileri Sepici-Dincel (2007) tarafından incelenmiştir. Tavşanların kan glikoz düzeyi 180-270 mg/dL’ye ulaşana kadar alloksan tavşanların kulak damarına enjekte edilmiştir. Hambeles yağı 21 gün ağızdan oral olarak verilmiş ve tavşanların kanı alınıp test edilmiştir. Diyabet hayvanlarda glikoz konsantrasyonu önemli ölçüde düşmesinin yanı sıra, trigliserid düzeyinde de azalma gözlenmiştir. Kan glikoz miktarı değişme verileri hambeles yağının hipoglisemik aktivitesi esas olarak glikolizi, glikojenezisi artırma, glikojenolizi azaltma ve böylece glikozun bağırsak tarafından emilmesinin azaltılmasına dayandığı ileri sürülmüştür. Hambeles yağının, ağızdan oral olarak verilen glikozdan dolayı artan kan şeker seviyesinin düşmesinde ve alloksanca indüklenmiş diyabetik tavşanlar üzerinde α -glikozidaz inhibitörü olarak hipoglisemik etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır.

Ağızdan verilen glikoz tolerans testinde hambeles yağının 50 mg/kg dozu 60 dakikada kan glikoz miktarını kontrol grubuna kıyasla büyük ölçüde düşürdüğü gözlenmiştir. Hambeles yağının serum insülin konsantrasyonları üzerindeki etkilerine göre hambeles yağı normoglisemik hayvanlarda serum insülin konsantrasyonlarında % 34.9-36.6 artış olduğunu, Alloksan-diyabetik tavşanlarda ise tamamen etkisiz oldu bulunmuştur. Bu diyabetik hayvanlarda gliseminin azalması insülin salgılanmasının uyarılması ile bir ilişkisi olmadığını göstermiş. Hambeles özütlerinin antidiyabetik etkisi birden fazla mekanizma ile yani alfa-glikozidazın tersinir olarak inhibisyonu, glikokinazın yüksek aktivitesinden kaynaklanan glikoliz oranının artması, glikojenezis prosesine dayanan örnek uygulandıktan sonra karaciğerde glikojenin artması gibi mekanizmalar ile bağlantılı olabileceği öne sürülmüştür (Sepici ve ark, 2004).

Malekpour ve ark (2012) Hambeles özütleri ile tedavi edilen alloksan-diyabetik sıçanların kan şekeri ve histopatolojik değişiklikleri araştırılmıştır. 3 gruba ayrılan sıçanların iki grubuna diyabeti indüklemek için 120 mg/kg % 10 alloksan tetrahidrat enjekte edilmiş ve sıçanların kanı serum glikoz düzeyini ölçmek için alınmıştır. Diyabetik gruplardan birine hambeles özütü (300 mg/kg) dozda verilmiş, diğer grup tedavisiz bırakılmıştır. Normal farelere (grup 1. kontrol) kıyasla, grup 2 ve 3'teki diyabetik sıçanların serum glikoz seviyesi aloksan verildikten sonra tüm aralıklarda yüksek olduğu bulunmuştur. Hambeles özütü 300 mg/kg vücut ağırlığı 3. günden itibaren serum glikozu normal değerlere indirmeye eğilim göstermiştir. Normal sıçanlar serum glikoz konsantrasyonu önemli bir değişiklik göstermemiştir. Tedavi edilen hayvanlarda pankreas doku kesitleri hiperkromik çekirdeklerinde, B hücrelerinin rejenerasyonunda ve pankreatik adacıkların boyutunda artış görülmüştür. Hambelesin hipoglisemik etkisinin esas olarak karbonhidratların bağırsaklardaki taşıma mekanizmasını etkilemeye dayandığını, özellikle ince bağırsaktan sallanan α -glikozidazı inhibe ederek glikozun bağırsaktaki emilimini azalttığını ve kompleks karbonhidratlardan glikozun serbest bırakılmasını geciktirdiğini ileri sürmüşlerdir.

2.4. Fitokimyasalların antioksidan etkisi

İnsanlardaki ve diğer organizmalardaki hücreler sürekli olarak çeşitli oksitleyici ajanlara maruz kalırlar, bu oksitleyici ajanların bazıları yaşam için gereklidir. Bu maddeler hava, gıda ve suda mevcut olabilirler veya hücrelerde metabolik aktivite ile üretilirler. En önemlisi optimum fizyolojik koşulları sürdürebilmek için oksidanlar ile antioksidanlar arasında bir denge sağlamaktır. Oksitleyicilerin aşırı üretilmesi, özellikle kronik bakteriyel, viral ve parazitik enfeksiyonlarda oksidatif stres yaratan bir dengesizliğe yol açabilir. Oksidatif stres, lipitler, proteinler ve DNA gibi büyük biyomoleküllerde oksidatif hasara yol açarak kanser ve kalp-damar hastalıklarının artma riskini artırır (Ames ve Gold, 1991; Liu ve Hotchkiss, 1995). Serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif stresin önlenmesi veya yavaşlatılması için yeterli miktarda antioksidan tüketilmelidir (Sun ve ark, 2002).

Antioksidan bileşiklerin diyetle alımı sağlık için çok önemlidir. Günümüzde doğal olarak alınan antioksidanların gıda, kozmetik ve farmasötik ürünlerde sentetik antioksidanların yerine kullanılmasına olan ilgi büyük giderek artmaktadır. İşlenmiş gıdalarda yaygın olarak kullanılan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillatlı hidroksianisol (BHA) gibi bazı sentetik antioksidanların olmasına rağmen, bu bileşiklerin kansere yol açıcı yan etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Botterweck ve ark, 2000).

Son zamanlarda meyvelerden ve sebzelerdeki fitokimyasal ekstraktların güçlü antioksidan ve antiproliferatif etkileri olduğunu, meyve ve sebzelerdeki fitokimyasal bileşimlerin, bu gıdaların güçlü antioksidan ve antikanser aktivitesine sahip olmasının nedeni olduğu öne sürülmüştür. Ayrıca hücresel sistemleri oksidatif hasardan korumaya yardımcı olabildiğini ve kronik hastalık riskini düşürebilme potansiyeli olduğunu ileri sürmüşler. Meyve ve sebzelerin güçlü antioksidan ve anti kanser aktiviteleri fitokimyasalların sinerjik etkilerinden kaynaklanmaktadır (Adom ve ark, 2002). 1 g kabuğu olan elmadaki fitokimyasalların toplam antioksidan aktivitesi, 83.3 mol C vitamini ile eşdeğerdir;

başka bir deyişle, 100 g elmanın antioksidan değeri 1500 mg C vitamini ile eşdeğerdir. Meyve ve sebzelerde fitokimyasallar bileşimi onların güçlü antioksidan etkisinden sorumludur. Elma özleri ayrıca, in vitro olarak tümör hücresi büyümesini inhibe eden biyoaktif bileşikler içerir (Eberhardt ve ark, 2000).

Bitkilerde bulunan polifenoller, elektron veya hidrojen atomlarının bağı, serbest radikalleri süpürme, metalik iyonların kenetlenmesi, UV ışığını emme, serbest radikallerin ve antiproliferatif ajanların üretiminde rol oynayan enzimlerin inhibe etme gibi koruyucu rol oynamakta olduğu kanıtlanmıştır (Kennedy ve Wightman, 2011).

Serbest radikaller, yakın çevredeki biyomoleküllerden elektronları tuzaklayan yarı kararlı kimyasal türlerdir. Antioksidan bileşikler farklı etki mekanizmalarına sahiptir ve bazı antioksidan polifenoller sadece reaktif oksijen türleri süpürmekle kalmayıp aynı zamanda demirli iyonlar (Fe^{2+}) gibi türler için geçiş metali kenetleme aktivitesine sahiptirler (Obrenovich ve ark, 2011).

Messaoud ve Boussaid (2011) Tunus'ta yetişen beyaz ve lacivert hambeles meyvesinin esansiyel yağı, yağ asitleri, fenolik bileşenleri ve antioksidan aktivitesini inceleyen çalışmalarında toplam fenol, flavonoid ve antosiyanin içeriğinin lacivert hambeles meyvesinde daha yüksek olduğunu gözlemlemiştir.

Tuberoso ve ark (2013) oda sıcaklığında etanol ile 4.5 gün maserasyon yöntemi ile elde edilen hambeles meyvesi likörün antioksidan ve vazodilatör özelliklerinin fenolik içeriği ile olan ilişkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, hambeles likörün toplam fenol içeriği yüksek olduğunu (1741 ± 150 mg GAE/L) gösterdiğini ve FRAP, ABTS ve DPPH analiz sonuçları toplam fenol içeriği ile doğrusal orantılı olduğunu ortaya koymuşlardır.

Farklı polaritede çözücüler (su, etanol ve etil asetat) kullanılarak hambeles meyvesinden özütler elde edilmiş ve antioksidan kapasiteleri DPPH ve FRAP yöntemleri ile belirlenmiştir. Etanol ve su özütleri en yüksek ekstrakt verimliliği göstermiş olsa da fenolik bileşik içeriği en yüksek olan etanol ve etil asetat özütlerinin aynı zamanda en yüksek antiradikal ve antioksidan aktiviteleri

gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar bu özütlerin toplam fenol miktarı ile antiradikal veya antioksidan aktivite arasında önemli bir bağlantı olduğunu ortaya koymuştur (Tuberoso ve ark, 2010).

2.5. Fitokimyasalların antimikrobiyel etkileri

Bulaşıcı hastalıklar, erken ölümlerin başta gelen nedenlerinin biridir ve her gün yaklaşık 50000 kişinin hayatını kaybetmesine sebep olmaktadır. Genellikle bakteriler terapötik olarak kullanılan ilaçlara karşı direnç kazanma ve bu direnci iletme gibi genetik özelliğine sahiptir. Farmakoloji endüstrisi son 30 yılda yeni antibiyotikler üretmiş olsa da, mikroorganizmaların bu ilaçlara karşı direncin artması bulaşıcı hastalıkların tedavisinde büyük bir klinik problem yaratmıştır (Cohen,1992; Singh, 1992; Mulligan ve ark, 1993; Davies, 1994). İlaçlara dirençli bakteri ve fungal patojenler, bağışıklık sistemi baskılanmış, AIDS ve kanserli hastalardaki bulaşıcı hastalıkların tedavisini daha da karmaşık hale getirmiştir (Rinaldi, 1991; Diamond, 1991).

Ayrıca antibiyotikler bazen konukta aşırı duyarlılık, yararlı olan bağırsak ve mukozal mikroorganizmaların tükenmesi, bağışıklık baskılanması ve alerjik reaksiyonları gibi olumsuz etkiler ile ilişkilendirilmiştir (Idsoe ve ark, 1968). Bu nedenle bulaşıcı hastalıkların tedavisinde bitkiler de dâhil olmak üzere diğer kaynaklardan yeni antimikrobiyel maddeler aramaya zorunluk duyulmuştur. Şifalı bitkiler terapötik özelliklere sahip çeşitli bileşikler üretirler. Bu bileşenler konak hücrelere karşı hiç veya çok az toksisiteye sahip olup, patojenlerin büyümesini inhibe edebilme veya öldürebilme özellikleri nedeniyle yeni antimikrobiyel ilaçlar geliştirilmesinde, antibakteriyel ve antifungal kemoterapötik ajanların elde edilmesinde zengin bir kaynak olarak görülmüştür (Ahmad ve ark, 1998; Ahmad ve Beg, 2001).

Antik çağlardan beri insanlar yaygın enfeksiyon hastalıkları tedavisinde bitkiler kullanılmaktadır ve bu geleneksel ilaçların bazıları halen çeşitli hastalıkların tedavisinde yer almaktadır. Örneğin İdrar yolu enfeksiyonları

tedavisinde ayı biberi (*Arctostaphylos uva-ursi*) ve kızılıçık suyu (*Vaccinium macrocarpon*) fitoterapinin farklı el kitaplarında bildirilirken, limon balsamı (*Melissa officinalis*), sarımsak (*Allium sativum*) ve çay ağacı (*Melaleuca alternifolia*) geniş spektrumlu antimikrobiyel ajanlar olarak tanımlanmaktadır (Heinrich ve ark, 2012). Bitki özlerine kıyasla onların uçucu yağları genellikle solunum sistemi enfeksiyonu, idrar yolu enfeksiyonu, mide-bağırsak sistemi enfeksiyonu, safra sistemi enfeksiyonu ve cilt enfeksiyonuna neden olan patolojilerin tedavisinde daha çok kullanılmıştır. Örneğin çay ağacından (*Melaleuca alternifolia*) elde edilen uçucu yağ akne ve diğer cilt enfeksiyon sorunları tedavisinde terapötik ilaç olarak yaygın kullanılmıştır (Vanaclocha ve Cañigüeral, 2003).

Mikrobiyel direnç sorunu gittikçe büyümekte ve bu nedenle gelecekte antimikrobiyel ilaçların kullanımı ile ilgili belirsizlik sürmektedir. Bu nedenle, çözüm olarak antibiyotik ilaçları kontrollü kullanma, direncin genetik mekanizmalarını daha iyi anlama amaçlanan araştırma çalışmalarını ve sentetik veya doğal yeni ilaçlar geliştirme çalışmalarını sürdürmek gibi önlemler alınmalıdır. Son hedef hastaya uygun ve etkili antimikrobik ilaçlar sunmaktır (Nascimento ve ark, 2000).

Son yıllarda, bu verimliliği kanıtlamak için çeşitli ülkelerde çeşitli çalışmalar yürütülmüştür. Bitkinin ikincil metabolizmasında sentezlenen bileşikler, örneğin uçucu yağların bir parçası olan fenolik bileşiklerin olası pro-oksidan etkisi faydalı etkileri için potansiyel bir mekanizmadır. Örneğin, (-)-epigallokateşin 3-gallatı oksijeni düşürerek hidrojen peroksit üretir, böylece apoptozu teşvik eder ve bakterilere karşı sitotoksik aktivite gösterir (Nakagawa ve ark, 2004).

Hammer ve ark (1999) agar dilüsyon yöntemiyle 52 çeşit bitkinin özütleri ve esansiyel yağlarının 9 bakteri ve 1 mayaya karşı antimikrobiyel aktivitesini belirlemek için yaptıkları çalışmada limon, kekik ve defne esansiyel yağlarının $\leq 2.0\%$ (h/h) konsantrasyonlarında tüm organizmaları inhibe ettiğini, 6 çeşit bitki yağının ise en yüksek konsantrasyonda bile herhangi bir mikroorganizmaya karşı

etkisinin olmadığını, geri kalan yağlar ve özütlerin farklı konsantrasyonlarda mikroorganizmalara karşı değişik aktiviteler gösterdiğini bildirmişlerdir.

Portekiz gastronomisinde sıkça kullanılan çeşitli aromatik bitkilerden (kekik, keklikotu, biberiye, yer minesi, fesleğen, bahçe nanesi, yarpuz ve nane) ekstrakte edilen uçucu yağların 7 çeşit gram pozitif bakteri ve 3 çeşit gram negatif bakteriye olan antimikrobiyel aktivitesi agar difüzyon yöntemi ile in vitro olarak incelenmiştir. *S. aureus*'un incelenen esansiyel yağlara en duyarlı olduğu, *P. aeruginosa*'nın ise genel olarak en az duyarlılık gösterdiği gözlemlenmiştir. Değerlendirilen sekiz uçucu yağ arasında, kekik, keklikotu ve yaprurun en yüksek derecede antimikrobiyel aktivite gösterdiğini, fesleğen ve nane yağı en düşük antimikrobiyel aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Kekik yağının, düşük konsantrasyonda bile antimikrobiyel aktivite gösterdiğini, dolayısıyla gıdadan kaynaklanan hastalıklara ve gıda bozulmasının çeşitli nedensel etkenlerine karşı gıda ürünlerinde doğal koruyucu potansiyelinin olduğu ileri sürülmüştür (Silva ve ark, 2013).

Ahmad ve ark (2014) disk difüzyon yöntemi ile 5 çeşit yemeklik mantarın (*Pleurotus ostreatus*, *Morchella esculenta*, *P. ostreatus* (Siyah), *P. ostreatus* (Sarı) ve *Pleurotus sajor- caju*) 5 çeşit gram negatif, 3 çeşit gram pozitif bakteri ve bir mantara (*Candida albicans*) karşı antimikrobiyel aktivitesini incelemişlerdir. Antimikrobiyel tarama sonucunda *P.ostreatus*'un etanol ekstraktının *E. coli* haricinde test edilen tüm mikroorganizmalara karşı etkili olduğu, mantar (*Candida albicans*) ve *A. tumefaciens*'e karşı maksimum inhibisyon zon çapının 13 mm olduğu gözlemlenmiştir. *P. sajor-caju* mantarının, *B. subtilis*, *B. atrophaeus* ve *K. Pneumonia* bakterilerine karşı en yüksek düzeyde etkili (12.5 mm) olduğu, *P. ostreatus* (Sarı) mantarının ise, *P. aeruginosa* (21.83 mm), *B. atrophaeus* (20 mm) ve *C. albicans*'a (21 mm) karşı en yüksek düzeyde etkili olduğu bildirilmiştir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Hambeles meyvesi

Hambeles kültür meyvesi 2015 yılında hasat zamanında Adana'dan temin edilmiş ve -25 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan kimyasallar ve enzimler Sigma (Sigma Chemical Company, MO, USA) ve Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) firmalarından temin edilmiştir. Kullanılan enzimler (α -glikozidaz ve α -amilaz) Sigma'dan (Sigma Chemical Company, MO, ABD) satın alınmıştır. Kullanılan bakteriler *E. coli* ve *S. aureus* Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarından temin edilmiştir. Antimikrobiyel aktivite tayininde (BIOANALYSE®) antimikrobiyel duyarlılık testi diskleri kullanılmıştır.

3.1.3. Araç ve Gereçler

Hambeles meyvesini dondurarak kurutma işlemlerinde “CHRIST ALPHA 2-4 LD (ABD)” marka liyofilizatör (Şekil 3.1), karıştırma işlemlerinde “Waring Commercial Blender”, santrifüj işlemleri için “KUBOTA 7780 (Japonya)” marka santrifüj (Şekil 3.2) kullanılmıştır. Meyve özütlerini elde etme işlemlerinde “BUCHI Rotavapor® R-100 (İsviçre)” marka evaporatör (Şekil 3.3) kullanılmıştır. Toplam fenol ve toplam flavonoid içeriklerinin belirlenmesi, toplam antioksidan ve enzim aktiviteleri ölçümlerinde SHIMADZU UV-1700 (Japonya) spektrofotometresi (Şekil 3.4); pH ölçümlerinde cam elektrotlu “Thermo Orion” marka pH-metre, enzim inhibe aktivite işlemlerinde kullanılmak üzere “THERMO SCIENTIFIC 2864 WATER BATH (ABD)” su banyosu; antimikrobiyel aktivite ölçüsü işlemlerinde besi yeri ve cam malzemelerin sterilizasyonu için “HIRAYAMA HA-3MIV (Japonya)” marka otoklav; steril kabin olarak “Legrand”

steril kabin; inkübasyonu işlemlerinde “MMM MEDCENTER INCUCELL 111 (Almanya)” inkübatörü kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Dondurarak kurutma işleminde kullanılan liyofilizatör



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan Santrifüj cihazı



Şekil 3.3. Analizde kullanılan rotary vakum evaporatör



Şekil 3.4. Analizde kullanılan UV-VIS spektrofotometre

3.2. Metot**3.2.1. Bitki Özütlerinin Hazırlanması**

Hambeles meyve özütleri Kam ve arkadaşlarının (2013) kullandığı yöntemi modifiye ederek hazırlanmıştır. Meyve örnekleri liyofilizatörde kurutulduktan sonra toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen örneklerden 15 g alınarak üzerine 200 mL çözen (su, metanol, etil asetat ve hekzan) eklenerek ultrasonik su banyosunda 30°C’de 45 dk bekletilmiştir ve 3500 g’de 10 dk santrifüj edilmiştir. Berrak kısım ayrıldıktan sonra katı kısımlar üzerine 30 mL çözücü ilave edilmiştir ve bu işlem 2 kez tekrarlanmıştır. Elde edilen berrak kısımlar birleştirildikten sonra vakum evaporatörde kurutulmuştur ve kalan kısım 15 mL saf su ile çözündürülerek meyve özütleri elde edilmiştir.

Meyveleri liyofilizatörde kuruturarak toz haline getirme



Toz örnek (15 g) + Çözücü (200 mL)
(su, metanol, etil asetat, hekzan)



Blenderde karıştırma



Ultrasonik su banyosu 30°C, 45 dk



Santrifüj 3500 G, 10 dk



Berrak kısmını alma

Tortu + 30 mL çözücü (su, metanol, etil asetat, hekzan)



Ultrasonik su banyosu 30°C, 45 dk



Santrifüj 3500 G, 10 dk



Berrak kısmı bir önceki aşamadaki berrak kısım ile birleştirme



Rotary vakum evaporatörde çözücüleri uçurma



Kalan kısma 15 mL saf su ekleyerek çözündürme

3.2.2. Toplam Fenol Tayini

Hambeles meyvesi özütlerinin toplam fenolik madde miktarı spektrofotometrik olarak Folin-Ciocalteu kolorometrik metoduna göre yapılmıştır (Apostolou ve ark, 2013). Hambeles meyve özütlerinden 1'er mL alınıp üzerinde 60 mL saf su eklenmiş, karıştırıldıktan sonra üzerine 5 mL Folin-Ciocalteu hazır reaktifi konulmuş ve iyice karıştırılmıştır. Sonra 7.5 dk içerisinde % 20'lik sodyum karbonat çözeltisinden 15 mL ilave edilmiştir ve iyice karıştırılmıştır, sonra çözeltilerin hacmi 100 mL'ye tamamlanmıştır. Çözeltiler 20°C'de karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra çözeltilerin absorbensları UV Spektrofotometresi'nde 750 nm'de okunmuştur. Toplam fenol miktarları gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır. Analizler 3 paralel yapılarak ortalaması alınmıştır.

3.2.3. Toplam Flavonoid Tayini

Meyve özütlerinin flavonoid içeriği Wannes ve ark (2010)'nın metodu modifiye edilerek belirlenmiştir. Hambeles meyve özütlerinden 1'er mL alındıktan sonra üzerine 5 mL saf su eklenmiştir. İyice karıştırıldıktan sonra üzerine % 5'lik 0.3 mL sodyum nitrit eklenmiştir ve vorteksle iyice karıştırılmıştır. 5 dk bekletildikten sonra üzerine % 10'lük 0.6 mL alüminyum klorür ilave edilmiştir ve karıştırılmıştır, ardından 5 dk bekletilmiştir. Süre bittikten sonra 2 mL 1 M'lik sodyum hidroksit çözeltisi eklenmiş ve hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra çözeltilerin absorbensları UV Spektrofotometresi'nde 510 nm'de okunarak toplam flavonoid miktarları kateşinle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg kateşine eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır. Analizler 3 paralel yapılarak ortalaması alınmıştır.

3.2.4. Pankreatik α -amilaz İnhibisyonunun Belirlenmesi

Pankreatik α -amilaz inhibisyonunun belirlenmesi amacıyla 0.006 M sodyum klorür içeren 0.1 M, pH 6.9 fosfat tamponunda hazırlanmış 6 ünite/mL'lik

40 µL α-amilaz cam tüplere alınıp üzerine aynı tampondan 560 µL eklenmiştir. Sonra üzerine 100 µL meyve özütlerinden ilave edilmiştir ve iyice karıştırılıp su banyosunda 37°C'de 20 dk bekletilmiştir. Süre sonunda yine aynı tamponda hazırlanmış 1 mL % 1'lik nişasta çözeltisinden 300 µL ilave edildikten sonra yine su banyosunda 37°C'de 20 dk bekletilmiştir. Daha sonra tüplere dinitrosalisilik asit (DNS) çözeltisinden 750 µL eklenmiş ve 5 dk kaynar suda bekletilmiştir. Tüpler soğutulduktan hemen sonra üzerine 6 mL saf su eklenerek absorbansları UV spektrofotometrede köre karşı 540 nm'de okunmuştur. Kör aynı reaksiyon karışımında enzim yerine enzimin çözündürüldüğü tampon eklenerek hazırlanmıştır. Analizler 3 paralel yapılarak ortalaması alınmıştır.

1 ünite enzim aktivitesi dakikada 1 mmol maltoz oluşturan enzim miktarı olarak tanımlanmış ve % inhibisyon değeri $[(A_o - A_i)/A_o] \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır (Shobana ve ark, 2009).

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \left(\frac{A_o - A_i}{A_o} \right) * 100$$

A_o = inhibitörsüz enzim aktivitesi

A_i = inhibitör varlığında enzim aktivitesi

3.2.5. α-glikozidaz İnhibisyonunun Belirlenmesi

50 µL 2 U/mL α-glikozidaz ve 1.15 mL 0.1 M pH 6.8 fosfat tamponu ile karıştırılmıştır. Karışım üzerine 50 µL meyve özütleri eklenerek su banyosunda 37°C'de 10 dk bekletilmiştir. Bekleme süresi ardından karışım üzerine 5 mmol 50 µL substrat (p-nitrofenil-α-D-glikopranozid) eklendikten sonra 37°C'lik su banyosunda 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda 2 mL 0.2 M sodyum karbonat ve 4.7 mL saf su eklenerek reaksiyon durdurulmuştur ve spektrofotometrede 405 nm'de köre karşı absorbans ölçümü yapılmıştır. Kör aynı reaksiyon karışımında enzim yerine enzimin çözündürüldüğü tampon eklenerek hazırlanmıştır. Analizler 3 paralel yapılarak ortalama değeri alınmıştır.

1 ünite enzim aktivitesi dakikada 1 µM p-nitrofenol oluşturan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır ve % inhibisyon değeri $[(A_o - A_i)/A_o] \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır (Shobana ve ark, 2009).

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \left(\frac{A_o - A_i}{A_o} \right) * 100$$

A_o = inhibitörsüz enzim aktivitesi

A_i = inhibitör varlığında enzim aktivitesi

3.2.6. Antimikrobiyel Aktivitenin Belirlenmesi

3.2.6.1. Tek Koloni Eldesi

Mikroorganizmalar dilüsyon sıvısında çözündürüldükten sonra 10^{-4} 'e kadar seyreltme yapılmıştır ve bu 10^{-4} 'lük seyreltmeden 0.1 mL alınarak nutrient agar besiyerine yayma ekim yapılmıştır.

3.2.6.2. Disk Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyel Aktivitenin Belirlenmesi

Bu amaçla, tek koloni düşürme yöntemi ile elde edilen mikroorganizmalardan birer koloni alınarak, 5 mL Nutrient Broth besiyerine eklenmiştir ve mikroorganizma süspansiyonları 37°C 'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında mikroorganizma süspansiyonları 10 kat seyreltilerek 2 saat 37°C 'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübe edildikten sonra mikroorganizma süspansiyonlarından 100 µL alınarak daha önceden hazırlanan Nutrient Agar petri kutularına yayma ekim yapılmıştır. Daha sonra 1 cm çapındaki diskler petri kutularına her bir petri için 3 adet olacak şekilde yerleştirilmiştir ve diskler 30 µL meyve özütleri emdirilmiştir. Ardından petriler 37°C 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır ve inkübasyon sonrasında disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları mm cinsinden ölçülmüştür (Fernández-Agulló ve ark, 2013).

3.2.6.3. Minimum İnhibe Edici Konsantrasyon (MİK) Yöntemi ile Antimikrobiyel Aktivitenin Belirlenmesi

MİK değerleri, seri seyreltme yöntemine göre değişen konsantrasyonlarda meyve özütleri kullanılarak belirtilmiştir. Bu amaçla özütlerden 1'er mL alınıp 10 mL Nutrient Broth besiyerine eklenmiştir ve aynı besiyeriyle seri seyreltme yapılmıştır. Daha sonra bu karışımlar üzerine 10^6 hücre/mL oranında mikroorganizma içeren 50 µL kültür sıvısı eklenmiştir ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üremenin görülmediği tüplerden 1 mL örnek alınarak dilüsyon sıvısıyla 10^{-6} 'ya kadar seri seyreltme yapılmış ve Nutrient Agar petri kutularına yayma ekim yapılarak MİK değeri saptanmıştır (Fernández-Agulló ve ark, 2013).

3.2.7. Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

3.2.7.1. DPPH (Serbest Radikal Giderim) Yöntemi ile Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Hambeles meyve özütlerinin serbest radikal giderim aktiviteleri 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla 150 µL meyve özütleri üzerine metanolla hazırlanan % 0.005'lik DPPH çözeltisinden 2.85 mL ilave edilip karıştırılmıştır ve karanlıkta oda sıcaklığında 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 515 nm'de köre karşı absorbans ölçümü yapılmıştır. Kontrol aynı reaksiyon karışımında bitki özüt yerine metanol kullanılarak hazırlanmıştır. Antioksidan sonucu trolox ile çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg Trolox'a eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır (Ismail ve ark, 2010).

Yukarıda bahsedilen DPPH yöntemiyle meyve özütlerinin antioksidan miktarı DPPH radikalinin konsantrasyonunu % 50 oranında azaltmak için gerekli özüt konsantrasyonu cinsinde de hesaplanmıştır. (Tailor ve Goyal, 2014).

$$\text{DPPH serbest radikal giderme aktivitesi (\%)} = \left(\frac{A_o - A_i}{A_o} \right) * 100$$

A_o = kontrol absorbansı

A_i = Örnek absorbansı

3.2.7.2. FRAP (İndirgeme Gücü Kapasitesi) Yöntemi ile Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Meyve özütlerinin indirgeme gücü kapasitesi, özütlerin Fe^{3+} - Fe^{2+} dönüşümüne olan etkisine göre saptanmıştır. 25 mL 300 mM'lik asetat tamponu, 2.5 mL TPTZ (2,4,6-tripridil-s-triazin) (40 mmol HCl içerisinde hazırlanmış 10 mmol TPTZ) ve 2.5 mL 20 mmol'lik $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ karıştırılarak 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra bu karışımdan 2.85 mL alınarak 150 µL meyve özütleri ile karıştırılmıştır ve oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 593 nm'de köre karşı absorbans ölçümü yapılmıştır. Kör aynı reaksiyon karışımında bitki özüt yerine saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Sonuçlar trolox ile çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg Trolox'a eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır (Zhang ve ark, 2013).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Hambeles meyvesinin biyoaktif özelliklerinin araştırılmasında meyve örneklerinin kurutulması ve çözgenlerle özüt eldesi önemlidir. Kurutulan hambeles meyve örnekleri farklı çözgenler ile muamele edilmiştir ve sonunda çözgenler rotary evaporatör ve liyofilizatör ile ortamdan uzaklaştırılmıştır. Meyve özüt verimi Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Hambeles meyve özütlerinin farklı çözgenlerle verimi (%) (a/a)

Çözgen	Verim*
Metanol	77.31
Su	51.74
Etil asetat	11.38
Hekzan	7.86

* a/a: Çözgen ile elde edilen özütün ağırlığı/liyofilizatörden elde edilen meyve ağırlığı (g).

Özüt verimleri, fitokimyasal maddelerin kimyasal yapısı, kullanılan özütleme yöntemi, örnek partikül boyutu, kullanılan çözgen ve karışan maddelerin varlığından etkilenir (Stalikas, 2007). Çizelgeden görüldüğü gibi en yüksek verim metanol ile elde edilmiş ve onu su takip etmiştir. Etil asetat ve hekzan verimi diğer çözgenlere kıyasla düşük kalmıştır.

4.1. Hambeles meyve özütlerinin toplam fenol, toplam flavonoid ve toplam antioksidan değerleri

Toplam fenolik madde, toplam flavonoid ve toplam antioksidan aktivitesi sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Sonuçlar, açığa çıkan toplam fenolik madde miktarının kullanılan çözümlerin polaritesine bağlı olarak değiştiğini göstermiştir. Kullanılan çözümlerin polarite sırası su>metanol>etil asetat>hekzandır. Kullanılan çözüme göre, toplam fenolik madde miktarı 5.1-45.2 mg/g kuru madde arasında, toplam flavonoid miktarı ise 2.3-11.6 mg/g kuru madde arasında değişmiştir. Antioksidan aktivite değeri DPPH yönteminde 2.27-242.09 mmol/L arasında, FRAP yönteminde ise 39.5-173.2 mmol/L arasında değişkenlik göstermiştir. En yüksek toplam fenol, flavonoid ve antioksidan aktivite değerleri su (polaritesi en yüksek olan) ile elde edilen özütte görülmüştür. Apolar bir çözümlen olan hekzanla elde edilen özütlerde toplam fenol, toplam flavonoid ve toplam antioksidan aktivitesi saptanmamıştır. Hekzanın hambeles meyve özütü elde etmede etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Özüt eldesinde metanol en verimli olmasına rağmen en yüksek toplam fenol su ile elde edilen meyve özütünde bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Hambeles meyve özütlerinin toplam fenol, flavonoid ve antioksidan miktarı sonuçları (3 paralel ortalaması)

Özüt	Toplam Fenol* (mg GAE/g)	Flavonoid** (mg KE/g)	Antioksidan aktivitesi*** (mmol TE/L)	
			FRAP	DPPH
Su	45.2±0.13	11.6±1.86	173.2±0.46	232.09±3.22
Metanol	27.5±0.25	4.4±0.28	151.0±0.40	140.09±0.45
Etil asetat	5.1±0.02	2.3±0.03	39.5±0.61	2.27±0.03
Hekzan	-	-	-	-

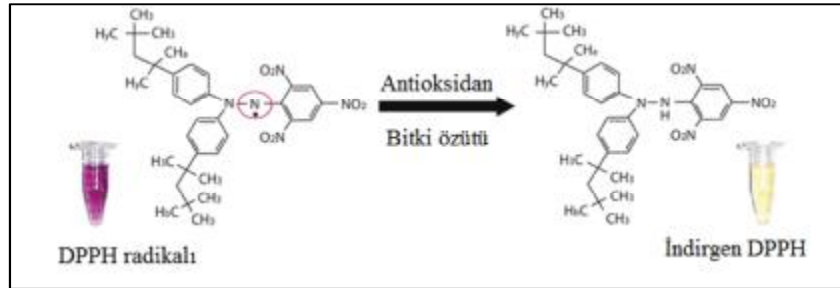
*Toplam fenol sonuçları gallik asite eşdeğer (GAE) olarak verilmiştir.

**Flavonoid sonuçları kateşine eşdeğer (KE) olarak verilmiştir.

***Antioksidan sonuçları Trolox’a eşdeğer (TE) olarak verilmiştir.

Çizelge 4.2’de verilen sonuçlara göre, meyve özütlerinin toplam fenol miktarı sırayla, su > metanol > etil asetat olduğu, toplam flavonoid ve toplam antioksidan miktarının da aynı sırayı takip ettiği görülmektedir. Toplam fenolik madde miktarı daha yüksek olan meyve özütünün toplam flavonoid ve toplam antioksidan miktarının da yüksek olduğu, başka bir deyişle, özütlerin toplam fenolik madde miktarı ile toplam flavonoid ve toplam antioksidan miktarının orantılı olduğu tespit edilmiştir.

Hambeles meyve örneklerinin DPPH antioksidan aktivitesi sonuçları EC_{50} (DPPH radikal konsantrasyonunu % 50 azaltmak için gereken özüt konsantrasyonu) cinsinden de verilir. DPPH (1,1-dinitrofenil-2-pikril hidrazil) ticari olarak elde edilen stabil bir organik azot radikaldir. Molekülde bir serbest elektron iyonunun yer değiştirmesi menekşe rengin oluşmasına neden olur. DPPH yöntemi, DPPH çözeltisi hidrojen atomu verebilen madde (antioksidan) ile karıştırıldığı zaman DPPH radikalinin indirgenmesine ve çözeltinin başlangıçtaki koyu menekşe olan rengin kaybolmasına dayanır (Şekil 4.1) (Mishra ve ark, 2012).



Şekil 4.1. DPPH radikalının antioksidan madde ile reaksiyonu

Çizelge 4.3’te hambeles meyve özütlerinin DPPH EC_{50} sonuçları verilmiştir. EC_{50} değerinin düşük olması antioksidan kapasitenin yüksek olduğunu gösterir. Buna göre, en yüksek antioksidan aktiviteye sahip özüt, su kullanılarak elde edilen özüt olmuştur.

Çizelge 4.3 Hambeles meyve özütlerinin DPPH % inhibisyonu EC₅₀ değerleri

Özüt	Özüt miktarı (mg/mL)	İnhibisyon (%)	EC ₅₀ * (mg/mL)
Su	1.72	89.68 ± 0.13	0.52
	1.29	75.42 ± 0.17	
	1.15	71.39 ± 0.32	
	1.03	67.44 ± 0.49	
	0.94	63.32 ± 0.55	
Metanol	2.90	75.34 ± 0.69	1.76
	2.32	67.68 ± 1.37	
	1.93	54.50 ± 1.05	
	1.66	45.38 ± 0.99	
	1.45	42.43 ± 3.06	
Etil asetat	34.14	89.36 ± 0.30	16.49
	22.76	71.42 ± 3.48	
	18.97	58.11 ± 2.56	
	17.07	49.94 ± 1.46	
	14.23	43.27 ± 0.78	
	11.38	35.28 ± 2.24	

*EC₅₀: Başlangıç DPPH konsantrasyonunu % 50 azaltmak için gereken örnek konsantrasyonu.

Hambeles meyvesinin toplam fenol ve antioksidan miktarı ile ilgili bir çalışmada, hambeles meyve özütleri su, etanol ve etil asetat çözgenleri ile 6 haftalık maserasyona bırakılarak elde edilmiştir. Özütlerin toplam fenol, antioksidan miktarı DPPH ve FRAP yöntemi ile ölçülmüştür. Analiz sonuçlarına göre toplam fenol miktarı en yüksek olan özüt etanol ile elde edilen özüt (4.57 g/L), sonra etil asetat (2.12 g/L) ve su (0.52 g/L) olmuştur. Antioksidan sonuçları, FRAP yönteminde etanol (84.7 mmol/L), etil asetat (40.7 mmol/L) ve su (7.6 mmol/L) iken, DPPH yönteminde etanol (41.4 mmol/L), etil asetat (17.7 mmol/L)

ve su (3.7 mmol/L) olmuştur. Analizler sonucunda, hambeles meyve özütlerinin antioksidan miktarları ve toplam fenolik madde miktarının doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir (Tuberoso ve ark, 2010).

Toplam fenol ve antioksidan ile ilgili başka bir çalışmada, Tunus'tan toplanan hambeles meyvesinin farklı çeşitlerinden (beyaz ve lacivert) elde edilen esansiyel yağların toplam fenol, flavonoid ve antioksidan (DPPH ve FRAP) miktarı incelenmiştir (Messaoud ve Boussaid, 2011). Toplam fenol miktarı meyve çeşidine göre farklılık göstermiştir. Lacivert meyveden elde edilen yağın toplam fenol miktarı (63.2±3.5 mg GAE/g), flavonoid miktarı (25.6±1.7 mg RE/g; RE: rutin eşdeğeri), antioksidan DPPH IC₅₀ değeri (2.1±0.1 mg/mL) ve antioksidan FRAP değeri (2.7±0.3 mmol Fe²⁺/g) olarak beyaz meyveden elde edilen yağa kıyasla daha yüksek miktarda fenol madde ve antioksidan içerdiği bildirilmiştir.

Bir başka çalışmada, Serce ve ark (2010) Hatay'dan farklı zamanlarda hasat edilen hambeles meyvelerinin Folin-Ciocalteu reaktifi ile toplam fenol miktarını, DPPH ve β-karoten-linoleik asit yöntemi ile antioksidan aktivitesini incelemiştir. Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş hambeles meyve örneklerinin metanol ile 60°C'de 6 saat Soxhlet aleti kullanılarak meyve özütü elde edilmiştir. Toplam fenol miktarı 44.41-88.56 mg GAE/g kuru madde arasında değişmiştir. DPPH antioksidan sonuçları 2.34-8.24 µg/ml arasında farklılık göstermiştir. Çalışma sonuçlarından toplam fenol miktarı yüksek olan meyve örneğinin antioksidan aktivitesinin de yüksek olduğu bulunmuştur ve meyvelerin antioksidan kabiliyeti içinde bulunan toplam fenol miktarı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

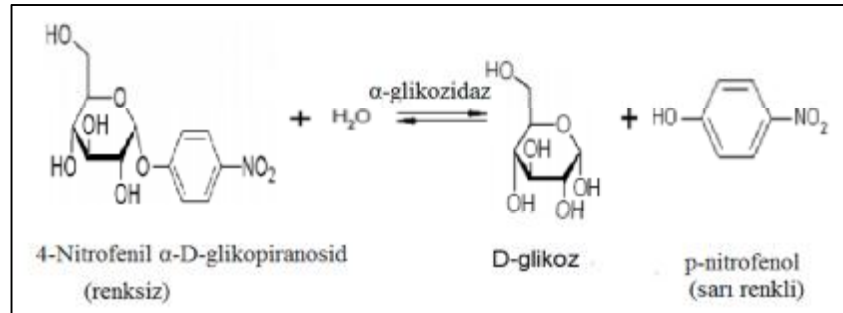
Toplam fenol ile ilgili yapılan bir araştırmada Türkiye'nin Muğla ili Marmaris ilçesinin 3 farklı bölgesinden (Bozburun, Çetibeli ve Yeşil Belde) toplanan hambeles meyveleri kurutulmuş, öğütülmüş ve farklı çözümler (n-hekzan, CH₂Cl₂ ve MeOH) kullanılarak meyve özütleri elde edilmiştir. Elde edilen özütlerin antioksidan aktivitesi DPPH yöntemiyle ölçülmüştür ve kuersetin DPPH sonucuyla kıyaslanmıştır. Metanol özüt verimine kıyasla n-hekzan ve CH₂Cl₂ verimi çok düşük olduğu için sadece metanollü özütlerin antioksidan aktivitesi

incelenmiştir. Analiz sonuçlarına göre DPPH antioksidan sonuçları 1.22 mg/mL (Bozburun), 1.22 mg/mL (Çetibeli), 1.24 mg/mL (Yeşil Belde) olmuştur. Hambeles metanol meyve özütlerin antioksidan aktivitesi kuarsetine (0.007 mg/mL) kıyasla çok düşük olsa da antioksidan olarak stabil DPPH radikalının rengini menekşe renginden sarı renge dönüştürebilmiştir (Keven-karademir ve Avunduk, 2015).

Bu çalışmada elde edilen toplam fenol, flavonoid ve antioksidan miktarı, Tuberso ve ark (2010)'nın yapmış oldukları çalışmadan farklı, Messaoud ve Boussaid (2011), Serce ve ark (2010)'nın yapmış oldukları çalışmalarda elde edilen toplam fenol miktarı ve DPPH antioksidan miktarına yakın, DPPH antioksidan sonuçları ise Keven-karademir ve Avunduk (2015) sonuçlarına benzer olarak tespit edilmiştir.

4.2. Hambeles meyve özütlerinin α -glükozidaz üzerine inhibisyon etkisi

Hambeles meyve özütlerinin α -glükozidaz üzerine inhibe edici etkisi substrat olarak 4-Nitrofenil α -D-glükopiranosid kullanılarak yapılmıştır. Şekil 4.2'de görüldüğü gibi, α -glükozidaz aktivitesinin belirlenmesinde, 4-nitrofenil- α -D-glükopiranosid substratının α -glükosidaz enziminin katalize edilerek oluşturduğu *p*-nitrofenolün kolorimetrik olarak belirlenmesi esas alınır (Li ve ark, 2005).



Şekil 4.2. α -glükozidazın 4-nitrofenil α -D-glükopiranosid ile tayini

Hambeles meyve özütlerinin α -glukozidaz üzerine inhibe edici etkileri Çizelge 4.4'te verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü gibi meyve özütlerinin α -glukozidaz üzerine inhibisyon kabiliyeti kullanılan çözgenlere göre farklılık göstermiştir. Ayrıca, özüt dozajına orantılı olarak, özütlerin enzim üzerine inhibe edici etkisi de artmıştır. Enzimi yarı yarıya inhibe etmek için gereken inhibitör miktarı olan IC_{50} değerleri de Çizelge 4.3'te verilmiştir. Bu değerlerin düşük olması inhibitörün etkinliğini gösterir. Buna göre en düşük IC_{50} değeri 0.7 $\mu\text{g/mL}$ ile su özütü olmuş, en yüksek IC_{50} değeri ise 44.7 $\mu\text{g/mL}$ ile etilasetat özütünde gözlenmiştir. Hekzanla elde edilen özüt α -glukozidazı inhibe edememiştir. Farklı çözgenler kullanılarak elde edilen hambeles meyve özütlerinin α -glukozidazı inhibe etme etkilerinin toplam fenol ile orantılı olduğu, yani toplam fenol miktarı yüksek olan özütün inhibisyon kabiliyetinin de yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.4. Hambeles meyve özütlerinin α -glukozidaz üzerine inhibe etkisi

Özüt	Özüt miktarı ($\mu\text{g/mL}$)	İnhibisyon (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Su	0.45	0.2 ± 1.3	0.7
	0.51	7.8 ± 2.0	
	0.59	31.2 ± 3.4	
	0.71	53.0 ± 3.6	
	0.89	78.0 ± 1.5	
	1.19	94.0 ± 3.1	
Metanol	1.54	0.0 ± 0.9	2.06
	1.68	10.2 ± 1.8	
	1.85	40.8 ± 0.5	
	2.06	51.1 ± 4.9	
	2.31	71.2 ± 2.9	
	2.64	87.8 ± 0.7	
Etil asetat	34.95	0.3 ± 0.8	44.7
	38.83	23.2 ± 6	
	43.69	53.0 ± 9.4	
	49.93	77.0 ± 2.4	
	58.25	90.4 ± 4.4	

α -glukozidaz inhibisyonu ile ilgili bir çalışmada, Önal ve ark (2005) 3 çeşit α -glukozidaz inhibitörü (glimepirid, glizlazid ve akarboz) ve hambeles dâhil olmak üzere 4 çeşit bitkinin sulu özütünün 3 farklı kaynaktan (maya, tavşan karaciğeri ve tavşan bağırsağı) elde edilen α -glukozidaz üzerine inhibisyon etkisini incelemişlerdir. Hambeles bitkisi özütü maya kaynaklı enzime karşı IC_{50} : 38 $\mu\text{g/mL}$, tavşan bağırsağı kaynaklı enzime karşı IC_{50} : 310 $\mu\text{g/mL}$ inhibisyon etkisi göstermiştir. Ayrıca, hambeles özütünün çalışılan inhibitörlere ve diğer bitki özütlerine kıyasla daha etkili olduğu bulunmuştur.

Aynı çalışmada, hambeles özütünün inhibe etme özelliğinin toplam fenol içeriği ile bağlantılı olup olmadığını ortaya koymak için silika jel kolonla hambeles özütü aktif fraksiyonları elde edilmiş ve elde edilen tüm fraksiyonların hem toplam fenol madde tayini hem de enzim üzerine inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Analiz sonucu, enzim üzerine inhibisyon etkisi en yüksek olan fraksiyonun fenol içeriğinin de yüksek olduğunu, dolayısıyla bitki özütünün inhibisyon etkisinin toplam fenol bileşeni ile bağlantılı olduğunu ortaya koymuştur.

α -glukozidaz inhibisyonu ile ilgili bir başka çalışmada, Subramanian ve ark (2008) Hindistan'da bulunan acı kralı olarak adlandırılan yeşil Chirayta (*Andrographis paniculata*) bitkisi yapraklarını % 20'lik etanol ile muamele ederek özütünü elde etmişler ve α -glukozidaz, α -amilaz üzerine inhibisyon etkisini incelemişlerdir. Referans inhibitör olarak akarboz ve andrografolid kullanmışlardır. Analiz sonucuna göre, yeşil Chirayta özütünün α -glukozidaz üzerine inhibisyon potansiyelinin IC_{50} : 17.2 ± 0.15 mg/ml değerle akarboz (IC_{50} : 6.2 ± 0.33 mg/ml) ve andrografolide (IC_{50} : 11.0 ± 0.28 mg/mL) kıyasla düşük olduğu bulunmuştur.

Bir başka çalışmada, dağ biberi yaprağı, anason murtu ve limon murtu bitkileri asitlendirilmiş metanol kullanılarak fenol bileşiklerince zengin fraksiyonu elde edilmiştir (Sakulnarmrat ve Konzack, 2012). Bitki özütlerinin toplam fenol, flavonoid miktarı ve α -glukozidaz, pankreatik lipaz, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) üzerine inhibisyon etkisi incelenmiştir. Toplam fenol miktarı en yüksek olan (911.9 ± 57.8 mg/g) dağ biberi yaprağının α -glukozidaza karşı inhibisyon etkisinin diğer bitkilere kıyasla düşük olduğunu (IC_{50} : 830 μ g/mL), toplam fenol miktarı en düşük (660.5 ± 58.8 mg/g) olan limon murtunun α -glukozidaza karşı inhibe edici etkisinin (IC_{50} : 130 μ g/mL) en yüksek olduğu bildirilmiştir. Bitkilerin enzim inhibisyonu etkisinin saptanan toplam fenol içeriği ile bağlantılı olmaması elde edilen aktif fenolik fraksiyonlarda bulunan proteinlerle kompleks oluşturmamasından kaynaklandığını belirtilmiştir.

Matsui ve ark (2014) doğal olarak bulunan gıdalar (yeşil çay, oolong çayı, satsuma mandarini, tavuk özü) ve fermentasyon veya enzimatik hidroliz yoluyla

elde edilen protein türevlerinin (balık sosu, yoğurt ve sardalya balığından elde edilen proteaz hidrolizati) diyabete karşı etkisi olup olmadığını ortaya koyabilmek için α -glukozidaz üzerine inhibisyon etkisini incelemişlerdir. Analiz sonuçlarına göre, yeşil çay, oolong çayı ve sardalya balığından elde edilen proteaz hidrolizati güçlü inhibe edici aktivite (11.1 mg/mL, 11.3 mg/mL, 48.7 mg/mL) göstermiştir. Tavuk özütü (IC_{50} : 471.4 mg/mL), yoğurt (IC_{50} : 519.8 mg/mL), balık sosunun (IC_{50} : 1742 mg/mL) α -glukozidaza karşı inhibisyon etkisi düşük olduğu bildirilmiştir.

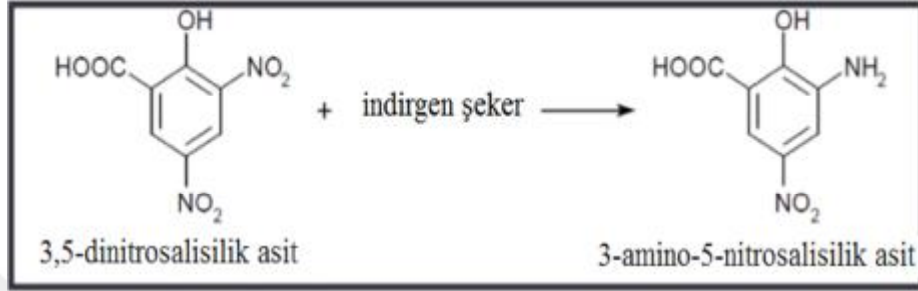
Sepici ve ark (2004) hambeles yağının, normal ve alloksan-diyabetik tavşanlarda hipoglisemik etkisini, normal ve alloksan-diyabetik tavşanların serum insülin konsantrasyonları üzerindeki etkilerini *in vivo* olarak araştırmışlardır. Alloksan-diyabetik tavşanların kan şekeri değerinin, 50 mg/kg dozda hambeles yağı verildikten sonraki dördüncü saatte önemli ölçüde ve ilerideki günlerde ise % 51'e indiği saptanmıştır. 10-20 mg/kg arasındaki dozlarda hambeles yağı tamamen etkisiz olmuş, 100 mg/kg'lık doz ise inhibisyon etkisini arttırmamıştır. Analiz sonuçları, kan glukoz düzeyindeki azalmanın ince bağırsak yüzey membran fırça sınırlarında bulunan α -glukozidazın geri dönüşümlü inhibisyonuna bağlı olabileceğini ortaya koymuştur.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar verilen önceki çalışmaların sonuçları ile kıyaslandığında, hambeles meyve özütlerinin α -glukozidaz üzerindeki inhibisyon etkilerinin daha yüksek olduğunu, dolayısıyla güçlü inhibitör olduğunu ortaya koymuştur.

4.3. Hambeles meyve özütlerinin α -amilaz üzerine inhibisyon etkisi

Hambeles meyve özütlerinin α -amilaz üzerine inhibe edici etkisi dinitrosalisilik asit renk reaktifi ile kolorimetrik olarak spektrofotometrede araştırılmıştır. Deneyin prensibi, 3,5-dinitrosalisilik asit (DNS) nişastanın α -amilaz ezimi tarafından parçalanmasıyla oluşan indirgen şeker ile reaksiyona girerek 3-amino-5-nitrosalisilik asite dönüştürülür ve reaksiyon öncesindeki sarı olan renk turuncu-kırmızı rengine dönüşür. İndirgeme sonucunda oluşan bileşik 540 nm dalga

boyundaki ışığı absorbe eder. Oluşan renk yoğunluğu ortamdaki indirgen şeker konsantrasyonu ile orantılıdır (Şekil 4.3) (Bendelow, 1963).



Şekil 4.3. α -amilaz aktivitesinin 3,5-dinitrosalisilik asit (DNS) reaktifi ile tayini

Özütlerin α -amilaz üzerindeki etkileri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü gibi meyve özütlerinin α -amilaz üzerine inhibisyon etkisi kullanılan çözgenlere ve konsantrasyona bağlı olarak değişmiştir. İnhibe edici etki özüt konsantrasyonuna paralel olarak artmıştır.

α -amilazın % 50'sinin inhibe edilmesi için sulu özütten 44.92 $\mu\text{g/mL}$ gerekirken, metanollü özütten 8.7 $\mu\text{g/mL}$ gerektiği bulunmuştur. α -amilazın % 93.4'ünün inhibisyonu için metanollü özütten 19.36 $\mu\text{g/mL}$ gerekirken, aynı miktardaki sulu özüt α -amilazı % 33 oranında inhibe etmiştir. α -amilazın % 84'nü inhibe etmek için sulu özütten 298.30 $\mu\text{g/mL}$ gerekmiştir. En yüksek inhibisyon etkisi metanol özütünde gözlenmiştir. Etil asetat ve hekzan özütlerinin herhangi bir inhibe edici etkisi gözlenmemiştir. Ayrıca, özütlerin α -amilaz üzerine inhibe edici etkisi ile özütlerin toplam fenol içeriği arasında bir ilişki gözlenmemiştir.

Çizelge 4.5. Hambeles meyve özütlerinin α -amilaz üzerine inhibisyon etkisi

Özüt	Özüt miktarı ($\mu\text{g/mL}$)	İnhibisyon (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
Su	14.92	23.5 $\pm$ 1.0	44.92
	18.64	32.5 $\pm$ 1.4	
	24.86	37.3 $\pm$ 1.6	
	74.58	64.3 $\pm$ 0.6	
	149.15	79.9 $\pm$ 1.3	
	298.30	84 $\pm$ 1.1	
Metanol	3.87	0.0 $\pm$ 1.1	8.7
	4.84	15.2 $\pm$ 1.4	
	6.45	27.6 $\pm$ 10.8	
	7.74	38.4 $\pm$ 2.3	
	9.68	62.3 $\pm$ 3.3	
	12.91	81.6 $\pm$ 4.6	
	19.36	93.9 $\pm$ 2.1	

α -amilaz inhibisyonu ile ilgili bir çalışmada, Lekshmi ve ark (2012) zerdeçal (*Curcuma longa* L.) kökünün esansiyel yağını elde ederek diyabette anahtar konumda olan α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri üzerine inhibisyon etkisini akarboz (referans inhibitör) ile karşılaştırarak incelemişlerdir. Zerdeçal esansiyel yağı kurutulmuş ve kurutulmamış zerdeçal kökünden Clevenger cihazı ile elde edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, kurutulmuş zerdeçal kökünden elde edilen yağın 34.3 $\pm$ 6.2 $\mu\text{g/mL}$ IC₅₀ değeri ile kurutulmadan elde edilen yağ (IC₅₀: 64.7 $\pm$ 5.9 $\mu\text{g/mL}$) ve akarboza (IC₅₀: 296.3 $\pm$ 12.7 $\mu\text{g/mL}$) kıyasla α -amilaza karşı inhibisyon etkisi daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

α -amilaz inhibisyonu üzerinde yapılan bir başka çalışmada, Nair ve ark (2013) ekmek ağacı meyvesi, tarçın, betel biberi ve jak meyvesinden metanol kullanılarak elde edilen özütlerin hipergisemiye karşı etkisini araştırmışlardır.

Analiz sonucuna göre, bitki özütleri kullanılan dozajla orantılı olarak α -amilazı inhibe etmişlerdir. α -amilazın % 50'ni inhibe etmede, jak meyvesi 70.58 ± 9.66 $\mu\text{g/mL}$ ile en yüksek, sonra betel biberi 84.63 ± 13.09 $\mu\text{g/mL}$, ekmek ağacı meyvesi 118.88 ± 11.14 $\mu\text{g/mL}$, en az inhibe eden ise tarçın 130.55 ± 10.5 $\mu\text{g/mL}$ olmuştur.

Yapılan bir başka çalışmada, mülhiye (*Corchorus olitorius*) yaprağının polifenolce zengin özütü elde edilerek diyabette anahtar konumda olan enzimlere olan inhibisyon etkisi Oboh ve ark (2012) tarafından çalışılmıştır. Yaprak özütleri önce Soxhlet cihazında metanol ile elde edildikten sonra kalıntı kısmı 4 M'lik NaOH, HCl ve etil asetat kullanılarak bağlı polifenol özütü elde edilmiştir. Özütlerin fenolik madde miktarı, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri üzerine inhibisyon etkisi incelenmiştir. Analiz sonuçlarına göre, bağlı polifenol özütünün toplam fenol miktarı (450.0 ± 3.0 mg/100 g) serbest polifenol özütünün fenolik miktarına (389.3 ± 2.5 mg/100 g) kıyasla yüksek olmasına rağmen, α -amilaza olan inhibisyon etkisi (IC_{50} : 54.8 ± 1.9 $\mu\text{g/mL}$) serbest polifenol özütünden (IC_{50} : 26.8 ± 3.0 $\mu\text{g/mL}$) düşük olmuştur.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Lekshmi ve ark (2012) ve Oboh ve ark (2012)'nin yapmış oldukları çalışma sonuçlarına yakın, Nair ve ark (2013)'nin yapmış oldukları çalışma sonuçlarına kıyasla α -amilaz üzerine inhibisyon etkisi daha düşük olmuştur.

4.4. Hambeles meyvesi özütlerinin antimikrobiyel aktivitesi

4.4.1. Disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesi

Disk difüzyon yöntemi antimikrobiyel aktivitesin belirlenmesinde en yaygın kullanılan yöntemlerin biridir (Huys ve ark, 2002). *E. coli* ve *S. aureus* inokule edilmiş katı besiyeri üzerine konulan 10 mm çapındaki disklerle meyve özütleri emdirilmiştir. Sonra 37°C'de 24 saat üremeye bırakılmış ve oluşan zon çapları ölçülerek sonuçlar Çizelge 4.6'te verilmiştir. Hambeles meyve özütleri antimikrobiyel aktivite sonuçlarının karşılaştırılarak değerlendirilmesinde kontrol olarak antimikrobiyel duyarlılık testi diskleri (BIOANALYSE®) kullanılmış ve

aynı miktarda bakteri inokule edilmiş petri kutularına yerleştirilerek aynı koşulda inkübe edilmiştir.

Çizelge 4.6'dan görüldüğü gibi, hambeles meyve özütlerinden sadece metanol ile edilen özüt *E. Coli* (15.5 ± 0.70 mm) ve *S. aureus*'a karşı (12.5 ± 0.70 mm) antimikrobiyel aktivite göstermiştir. Su, etil asetat ve hekzan ile elde edilen özütlerin *E. coli* ve *S. aureus*'un gelişmesini önleyici etkisi olmamıştır. Kontrol olarak kullanılan ampisilin *E. coli*'ye karşı 9.7 ± 0.58 mm, *S. aureus*'a karşı 8.3 ± 0.58 mm zon oluşturmuştur. Görüleceği gibi metanol ile elde edilen özütün çalışılan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel etkisi kontrole (ampisilin) göre daha yüksektir.

Çizelge 4.6. Hambeles meyve özütlerinin disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyel analiz sonuçları

Özüt	<i>E. coli</i> (mm)*	<i>S. aureus</i> (mm)*
Su	-	-
Metanol	15.5 ± 0.70	12.5 ± 0.70
Etil asetat	-	-
Hekzan	-	-
Ampisilin	9.7 ± 0.58	8.3 ± 0.58

*sonuçlar 3 paralel ortalamasıdır. Sonuçlardan kullanılan disk çapı çıkarılarak hesaplanmıştır.

Hambeles meyvesinin antimikrobiyel etkisi ile ilgili bir çalışmada, Keven-Karademir ve ark (2015) Türkiye'nin farklı bölgelerinden (Bozburun, Çetibeli ve Yeşil Belde) toplanan hambeles meyvesini MeOH, CH_2Cl_2 ve n-hekzan ile muamele ederek özütünü elde etmişlerdir. Disk difüzyon yöntemiyle farklı konsantrasyonlardaki (% 1-% 10) özüt kullanarak bazı patojen bakteriler, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginos*'a karşı antimikrobiyel aktivitesini araştırmışlardır. Test sonuçlarına göre, Bozburun bölgesinden toplanan hambeles meyvesinin CH_2Cl_2 'lü özütü *S. aureus*'a karşı en

büyük zon çapı (14 mm) oluşturduğu, *E. coli*'ye karşı en büyük zonu (10 mm) n-hekzan ile elde edilen özütün oluşturduğu bulunmuştur. Çetibeli bölgesinden toplanan hambeles meyvesinin n-hekzan ile elde edilen özütü hem *S. aureus*'a karşı (14 mm) hem de *E. coli*'ye karşı (10 mm) en büyük zonu oluşturduğu bulunmuştur. Yeşil Belde bölgesinden toplanan hambeles meyvesinin CH_2Cl_2 'lü özütü *S. aureus*'a karşı en büyük zon çapı (16 mm) oluşturduğu, metanollü ve n-hekzanlı özütün *E. coli*'ye karşı aynı zon çapı (7 mm) oluşturduğu bulunmuştur.

Djenane ve ark (2011) Clevenger cihazını kullanarak mavi okaliptüs (*Eucalyptus globulus*), hambeles (*Myrtus communis* L.) ve sater (*Satureja hortensis* L.) yapraklarının esansiyel yağın elde ederek disk difüzyon yöntemi ile esansiyel yağların inek etinde bulunan gıda kaynaklı patojenler, *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyel aktivitesini araştırmışlardır. İstatistiksel sonuçlara göre, hambeles yağının test edilen bakterilere karşı antimikrobiyel aktivitesi *E. globulus* ve *S. hortensis* yağlarına kıyasla düşük olsa da, *S. aureus*'a karşı 14.80 mm (çok hassas) ve *E. coli* 'ye karşı 10.70 mm (duyarlı) zon oluşturarak kullanılan bakterilerin gelişmesini engellediği gözlemlenmiştir. Sonuçlar, gram-pozitif *S. aureus*, gram-negatif, *E. coli*'ye kıyasla esansiyel yağlara karşı daha duyarlı olduğunu göstermiştir. Genel olarak, esansiyel yağların antibakteriyel aktivitesi çoğunlukla fenoller, aldehytler ve alkollerin varlığına dayanmaktadır (Olasupo ve ark, 2003).

Bir başka çalışmada, Amensour ve ark (2010) metanol, etanol ve etil asetat kullanarak hambeles meyvesi ve yaprağı özütünü elde etmişler ve *E. coli* K12, *S. aureus*'un 3 farklı suşu (*S. aureus* MBLA, *S. aureus* CECT 976, *S. aureus* CECT 794) dâhil olmak üzere toplam 13 çeşit gıda kaynaklı patojenik ve bozulmaya neden olan bakteriler üzerine antinikrobiyel aktivitesini disk difüzyon yöntemiyle araştırmışlardır. Analiz sonuçlarına göre, hambeles meyvesi ve yaprağının tüm özütleri *E. coli* K12'ni inhibe edememiştir. Yaprığın metnollü özütü (zon çapı 12-50 mm), meyvenin etanollü özütü (zon çapı 14-37 mm) en güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir. Genellikle yaprak özütlerinin meyve özütlerine kıyasla daha

kuvvetli antibakteriyel aktiviteyi ($P < 0.05$) gösterdiği belirlenmiştir. İnhibisyon zon çapı 12-50 mm (yaprak) ve 11-37 mm (meyve) aralığında değişmiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar önceki çalışmalarla kıyaslandığında, çalışmamızdaki hambeles meyve özütünün *S. aureus*'un gelişimi üzerine inhibe etkisi Keven-Karademir ve ark (2015) ve Djenane ve ark (2011) sonuçlarına yakın, *E. coli* üzerine inhibe etkisi Keven-Karademir ve ark (2015) ve Djenane ve ark (2011) sonuçlarından yüksek olmuştur. Amensour ve ark (2010) sonuçlarına kıyasla çalışmamızda *S. aureus*'un gelişimi üzerine inhibe etkisi düşük, *E. coli* üzerine inhibe etkisi yüksek olmuştur.

4.4.2. Minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) yöntemi ile antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesi

Antimikrobiyel aktivite gösteren ajanların mikroorganizmaların gelişmesini inhibe ettiği en düşük konsantrasyona MİK değeri denir (Mann ve Markham, 1998). MİK değeri Nutrient Broth besiyeriyle seri seyreltme yapılarak belirlenmiştir. Bu çalışmada disk difüzyon yönteminde sonuç veren metanol özütünün MİK değeri belirlenmiştir. 10 mL Nutrient Broth besiyeri içeren tüpe 1 mL metanol özütü ilave edilmiş ve sonra seri seyreltme yapılarak hazırlanan 8 farklı konsantrasyondaki tüpler üzerine aynı miktarda ($50 \mu\text{L}$) 10^6 hücre/mL oranında *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri içeren kültür sıvısı eklenerek inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'de verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü gibi, metanollü özüt 9.58 mg/mL konsantrasyonda test edilen bakterilerin gelişimini inhibe ettiği bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Hambeles meyve özütlerinin MİK sonuçları

Özüt	<i>E. coli</i> (mg/mL)	<i>S. aureus</i> (mg/mL)
Metanol	9.58	9.58

Hambeles antimikrobiyel aktivitesi ile ilgili bir çalışmada Mansouri ve ark (2001) hambeles yaprağının önce metanollü özütünü, sonra elde edilen özütün bir kısmını dietil eter ve atil asetat ile farklı derecelerde muamele ederek 6 farklı fraksiyon özütünü elde etmiş ve tüm özütlerin *E. coli* ve *S. aureus* dahil olmak üzere 10 çeşit Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerine disk difüzyon ve minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) yöntemi ile antibakteriyel etkisini incelemiştir. MİK analiz sonuçlarına göre, özütlerin *S. aureus* üzerine MİK değeri 0.025-2 mg/mL arasında değişirken *E. coli* üzerine MİK değerinin 0.1-2 mg/mL arasında değiştiği bulunmuştur.

Hambeles antimikrobiyel aktivitesi ile ilgili bir başka çalışmada, Al-Anbori ve ark (2008) hambeles yaprağının etanol özütünün insan tükürüğünden alınan *Mutans streptococci* üzerine antibakteriyel etkisini minimum inhibe edici konsantrasyonu (MİK) yöntemiyle incelemişler ve referans antibakteriyel ilaç Klorheksidin ile karşılaştırmışlardır. Analiz sonuçlarına bakıldığında, hambeles yaprak etanollü özütünün MİK değerinin (106.6 µg/mL) referans ilaç Klorheksidina (3.3 µg/mL) kıyasla antibakteriyel etkisinin daha zayıf olduğu bildirilmiştir.

Bir başka çalışmada, Bonjar (2004) İran'da alternatif tıpta kullanılan, hambeles çekirdeği de dâhil 50 çeşit bitkinin metanollü özütünü elde ederek *E. coli* ve *S. aureus* dâhil 10 çeşit bakteri üzerine antimikrobiyel aktivitesini incelemiştir. Çalışmasında bitki özütlerini seri seyreltme yaparak agar disk difüzyon yöntemiyle özütlerin minimum inhibe edici konsantrasyonunu (zon çapı oluşturamadığı konsantrasyonu MİK değeri olarak) belirtmiştir. Analiz sonuçlarına göre, hambeles çekirdek özütünün *E. coli* üzerine inhibe etkisinin olmadığı, *S. aureus*'a karşı diğer bitki türlerine kıyasla düşük konsantrasyonda (0.31 mg/mL) bile zon oluşturduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen MİK değerleri yukarıda belirtilen araştırmalarda elde edilenlerden daha yüksektir.



5. SONUÇLAR

Bu araştırmada, hambeles meyve örnekleri kurutulduktan sonra 4 çeşit çözügen (su, metanol, etil asetat ve hekzan) ile muamele edilerek meyve özütleri elde edilmiştir. Elde edilen özütlerin toplam fenolik ve toplam flavonoid madde miktarı, serbest radikal giderici gücü (DPPH) ve indirgeme gücü kapasitesi (FRAP) metotlarıyla antioksidan kapasitesi, diyabette önemli rol oynayan α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri üzerine inhibisyon etkisi ve disk difüzyon ve minimum inhibe edici konsantrasyon yöntemleriyle *E. coli* ve *S. aureus* üzerine antimikrobiyel aktiviteleri araştırılmıştır.

Çalışmadan elde edilen bulgulara göre;

- ▼ Meyve özütü eldisinde metanol en verimli (% 77.31), sonra sırayla su (% 52.74), etil asetat (% 11.38) ve en az verimli olan hekzan (% 7.86) olmuştur.
- ▼ Özütler arasında su ile elde edilen özüt 45.2 mg GAE/g değeri ile en yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahiptir. Metanol en verimli olmasına rağmen metanollü özütün toplam fenolik madde miktarının sulu özüte kıyasla daha düşük (27.5 mg GAE/g) olduğu saptanmış ve bunları etil asetatlı özüt (5.1 mg GAE/g) takip etmiştir. Hekzanlı özütte toplam fenolik madde tespit edilememiştir. Meyve özütlerinin toplam flavonoid madde miktarı toplam fenol miktarı ile orantılı olmuş ve sıralama şu şekilde gerçekleşmiştir: su özütü (11.6 mg KE/g) > metanol özütü (4.4 mg KE/g) > etil asetat (2.3 mg KE/g) özütü.
- ▼ Meyve özütlerinin antioksidan analiz sonuçları DPPH yöntemine göre serbest radikal giderici etkisi en yüksek olanı suyle elde edilen özüt (EC₅₀: 0.52 mg/mL) iken, en düşük aktiviteyi etil asetat ile elde edilen özüt (EC₅₀: 16.49 mg/mL) göstermiştir. FRAP yönteminde indirgeme gücü kapasitesi en yüksek olan su özütü (173.2 mmol/L) iken, en düşük olanı etil asetat ile

elde edilen özüt (39.5 mmol/L) olmuştur. Hekzan ile elde edilen özütün antioksidan aktivitesi saptanamamıştır.

- ▼ Özütlerin α -glukozidaz üzerindeki inhibe edici etkileri kullanılan çözügene ve konsantrasyona bağlı olarak değişkenlik göstermiştir. Özütlerin IC_{50} değerleri 0.7-44.7 μ g/mL arasında değişmiştir. Özütlerin inhibisyon dereceleri şu sırayla gerçekleşmiştir: su özütü (IC_{50} : 0.7 μ g/mL) > metanol özütü (IC_{50} : 2.06) > etilasetat özütü (IC_{50} : 44.7 μ g/mL). Hekzan ile elde edilen özütün inhibe edici etkisi saptanamamıştır.
- ▼ Farklı çözügenler kullanılarak elde edilen özütlerin α -amilazı inhibe etme dereceleri çözügene ve özüt konsantrasyonuna bağlı olarak değişkenlik göstermiştir. Özütlerin IC_{50} değerleri 8.7-44.92 μ g/mL arasında değişmiştir. Özütlerin inhibisyon etkisi toplam fenolik madde miktarı ile orantılı olmayıp, metanollü özütün α -glukozidaz üzerine inhibisyon etkisinin en yüksek (8.7 μ g/mL) olduğu, sulu özütün inhibisyon etkisi nispeten düşük olduğu (44.92 μ g/mL) bulunmuştur. Etil asetat ve hekzan ile elde edilen özütün α -amilaz üzerine inhibisyon etkisi saptanamamıştır.
- ▼ Meyve özütlerinin antimikrobiyel aktivitesine bakıldığında, sadece metanol ile elde edilen özüt test edilen bakterilerin (*E. coli*, *S. aureus*) gelişimini inhibe edebilmiştir. Disk difüzyon yönteminde oluşturulan zon çapı 15.5 mm (*E. coli*), 12.5 mm (*S. aureus*) olmuştur. Minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) yönteminde MİK değeri her 2 bakteri için 9.58 mg/mL olmuştur.

KAYNAKLAR

- Acosta-Estrada, B. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldívar, S. O., 2014. Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152:46-55.
- Adom, K. K., Liu, R. H., 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21):6182-6187.
- Ahmad, I., Beg, A. Z., 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(2):113-123.
- Ahmad, I., Mehmood, Z., Mohammad, F., 1998. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 62(2):183-193.
- Ahmad, N., Mahmood, F., Khalil, S. A., Zamir, R., Fazal, H., Abbasi, B. H., 2014. Antioxidant activity via DPPH, gram-positive and gram-negative antimicrobial potential in edible mushrooms. *Toxicology and Industrial Health*, 30(9):826-834.
- Al-Anburi, D. K., Al-Nimer, M. S., Al-Weheb, A. M., 2008. Antibacterial activity of ethanolic extract of *Myrtus communis* L. leaves against salivary Mutans streptococci. *Saudi Dental Journal*, 20(3):82-87.
- Aleksic, V., Knezevic, P., 2014. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological research*, 169(4):240-254.
- Ali, H., Houghton, P. J., Soumyanath, A., 2006. α -Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(3):449-455.
- Amensour, M., Bouhdid, S., Fernandez-Lopez, J., Idaomar, M., Senhaji, N. S., Abrini, J., 2010. Antibacterial activity of extracts of *Myrtus communis* against food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Properties*, 13(6):1215-1224.

- Ames, B. N., Gold, L. S., 1991. Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 250(1):3-16.
- Apostolou, A., Stagos, D., Galitsiou, E., Spyrou, A., Haroutounian, S., Portesis, N., Kouretas, D., 2013. Assessment of polyphenolic content, antioxidant activity, protection against ROS-induced DNA damage and anticancer activity of *Vitis vinifera* stem extracts. *Food and Chemical Toxicology*, 61:60-68.
- Ares, G., Jaeger, S.R., Bava, C.M., Chheang, S.L., Jin, D., Gimenez, A., Varela, P., 2013. CATA questions for sensory product characterization: Raising awareness of biases. *Food Quality and Preference*, 30(2):114-127.
- Aronne, G., De Micco, V., 2004. Hypocotyl features of *Myrtus communis* (Myrtaceae): a many-sided strategy for possible enhancement of seedling establishment in the Mediterranean environment. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 145(2):195-202.
- Aydın, C., Özcan, M. M., 2007. Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey. *Journal of Food Engineering*, 79(2):453-458.
- Baumann, H., 1993. *The Greek Plant World: In Myth, Art and Literature*, Timber Press, Portland, Oregon, United States.
- Baytop, T., 1999. Therapy with medicinal plants in Turkey. 243.
- Bendelow, V. M., 1963. Modified procedure for the determination of diastatic activity and α -amylase activity. *Journal of the Institute of Brewing*, 69(6): 467-472.
- Beutner, S., Bloedorn, B., Frixel, S., Hernández Blanco, I., Hoffmann, T., Martin, H. D., Schulke, I., 2001. Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of β -carotene in antioxidant functions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(6):559-568.

- Bonjar, G. S., 2004. Antibacterial screening of plants used in Iranian folkloric medicine. *Fitoterapia*, 75(2):231-235.
- Botterweck, A. A. M., Verhagen, H., Goldbohm, R. A., Kleijnans, J., Van den Brandt, P. A., 2000. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study. *Food and Chemical Toxicology*, 38(7):599-605.
- Cheng, D.M., Pogrebnyak, N., Kuhn, P., Krueger, C.G., Johnson, W.D., Raskin, I., 2014. Development and Phytochemical Characterization of High Polyphenol Red Lettuce with Anti-Diabetic Properties. *Plos One*, 9(3):e91571.
- Chu, Y. F., Sun, J. I. E., Wu, X., Liu, R. H., 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (23):6910-6916.
- Cohen, M. L., 1992. Epidemiology of drug resistance: implications for a post-antimicrobial era. *Science(Washington)*, 257 (5073): 1050-1055.
- Costa, R. M., Oliveira, A. P., Magalhães, A. S., Pereira, J. A., Carvalho, M., Valentão, P., Silva, B. M., 2012. Targeted metabolites and biological activities of *Cydonia oblonga* Miller leaves. *Food Research International*, 46(2):496-504.
- Coşkun, T., 2005. Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 48(1): 61-84.
- Davies, J., 1994. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science*, 264(5157): 375-383.
- Dey, D., Lee, C. J., Ohba, M., Gutstein, A., Slomka, P. J., Cheng, V., Thomson, L. E., 2008. Image quality and artifacts in coronary CT angiography with dual-source CT: initial clinical experience. *Journal of cardiovascular computed tomography*, 2(2): 105-114.

- Diamond, R. D., 1991. The growing problem of mycoses in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Review of Infectious Diseases*, 13(3): 480-486.
- Djenane, D., Yangüela, J., Amrouche, T., Boubrit, S., Boussad, N., Roncalés, P., 2011. Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. *Revista de Agaroquímica y Tecnología de Alimentos*, 17(6):505-515.
- Dogan, A., 1978. Investigations *Myrtus communis* L., plant's volatile oil yield, their physical-chemical properties and their compositions, Turkish: Ankara University.
- Doğan, Y., Başlar, S., Mert, H. H., Ay, G., 2003. Plants used as natural dye sources in Turkey. *Economic Botany*, 57(4):442-453.
- E Obrenovich, M., Li, Y., Parvathaneni, K., B Yendluri, B., H Palacios, H., Leszek, J., Aliev, G., 2011. Antioxidants in health, disease and aging. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*: 10(2):192-207.
- Eberhardt, M. V., Lee, C. Y., Liu, R. H., 2000. Nutrition: Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405(6789):903-904.
- Elgood, C., 1962. Tibb-ul-Nabbi or Medicine of the Prophet. *Osiris*, 14:33-192.
- Ertuğ, F., 2004. Bodrum yöresinde halk tıbbında yararlanılan bitkiler, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısında sunulmuş bildiri, Eskişehir.
- Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freire, M. S., Valentao, P., Andrade, P. B., González-Álvarez, J., Pereira, J. A., 2013. Influence of Solvent on the Antioxidant and Antimicrobial Properties of Walnut (*Juglans regia* L.) Green Husk Extracts. *Industrial Crops and Products*, 42: 126-132.
- Govindarajan, R., Vijayakumar, M., Pushpangadan, P., 2005. Antioxidant approach to disease management and the role of 'Rasayana'herbs of Ayurveda. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(2):65-178.

- Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86(6):985-990.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E. M., 2012. *Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy*. Elsevier Health Sciences.
- Hooper, L., Cassidy, A., 2006. A review of the health care potential of bioactive compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(12):1805-1813.
- Huys, G., D'haene, K., Swings, J., 2002. Influence of the culture medium on antibiotic susceptibility testing of food-associated lactic acid bacteria with the agar overlay disc diffusion method. *Letters in Applied Microbiology*, 34(6):402-406.
- Idsoe, O., Guthe, T., Willcox, R. R., De Weck, A. L., 1968. Nature and extent of penicillin side-reactions, with particular reference to fatalities from anaphylactic shock. *Bulletin of the World Health Organization*, 38(2):159.
- Ismail, H. I., Chan, K. W., Mariod, A. A., Ismail, M., 2010. Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (*Cucumis melo*) methanolic extracts. *Food Chemistry*, 119(2):643-647.
- Jamoussi, B., Romdhane, M., Abderraba, A., Hassine, B. B., Gadri, A. E., 2005. Effect of harvest time on the yield and composition of Tunisian myrtle oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(3):274-277.
- Johnson, I., Williamson, G., 2003. Phytochemicals and cancer: an overview. *Phytochemical Functional Foods*, 18.
- Jong-Sang, K. I. M., Chong-Suk, K. W. O. N., Son, K. H., 2000. Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64(11):2458-2461.

- Kam, A., Li, K. M., Razmovski-Naumovski, V., Nammi, S., Shi, J., Chan, K., Li, G. Q., 2013. A Comparative Study on the Inhibitory Effects of Different Parts and Chemical Constituents of Pomegranate on α -Amylase and α -Glucosidase. *Phytotherapy Research*, 27(11): 1614-1620.
- Kennedy, D. O., Wightman, E. L., 2011. Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 2(1):32-50.
- Keven-Karademir, F., Avunduk, S., 2015. Antibacterial and antioxidant activity of *Myrtus communis* L. growing wild in Marmaris. *GIDA/The Journal of Food*, 40(4).
- Lekshmi, P. C., Arimboor, R., Raghu, K. G., Menon, A. N., 2012. Turmerin, the antioxidant protein from turmeric (*Curcuma longa*) exhibits antihyperglycaemic effects. *Natural Product Research*, 26(17):1654-1658.
- Li, B.B., Smith, B., Hossain, M.M., 2006. Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48(2): 189-196.
- Li, Y., Wen, S., Kota, B. P., Peng, G., Li, G. Q., Yamahara, J., Roufogalis, B. D., 2005. Punica granatum flower extract, a potent α -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(2):239-244.
- Liu, R. H., 2003. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(3):517S-520S.
- Liu, R. H., Hotchkiss, J. H., 1995. Potential genotoxicity of chronically elevated nitric oxide: a review. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 339(2):73-89.

- Lordan, S., Smyth, T.J., Soler-Vila, A., Stanton, C., Ross, R.P., 2013. The α -amylase and α -glucosidase Inhibitory Effects of Irish Seaweed Extracts, *Food Chemistry*, 141(3): 2170-2176.
- Malekpour, A., Dehghani, S., Zahedi, S., Eskandari, F., 2012. Effects of the hydro-ethanol extract of *Myrtus communis* L. On blood glucose level and histopathological changes in alloxan-induced diabetic rats. *Middle-East Journal of Science and Research*, 12(4):517-22.
- Mann, C. M., Markham, J. L., 1998. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, 84(4):538-544.
- Mansouri, S., Foroumadi, A., Ghaneie, T., Najari, A. G., 2001. Antibacterial activity of the crude extracts and fractionated constituents of *Myrtus communis*. *Pharmaceutical Biology*, 39(5): 399-401.
- Marles, R. J., Farnsworth, N. R., 1995. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2(2):137-189.
- Matsui, T., Ueda, T., Oki, T., Sugita, K., Terahara, N., Matsumoto, K., 2001. α -Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 2. α -Glucosidase inhibition by isolated acylated anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4): 1952-1956.
- Messaoud, C., Boussaid, M., 2011. *Myrtus communis* berry color morphs: a comparative analysis of essential oils, fatty acids, phenolic compounds, and antioxidant activities. *Chemistry & Biodiversity*, 8(2):300-310.
- Middleton Jr, E., Kandaswami, C., 1994. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. *The flavonoids*. London: Chapman and Hall.
- Mishra, K., Ojha, H., Chaudhury, N. K., 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130(4): 1036-1043.

- Mojica, L., Meyer, A., Berhow, M.A., Mejía, E.G., 2015. Bean Cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) Have Similar High Antioxidant Capacity, in Vitro Inhibition of α -amylase and α -glucosidase While Diverse Phenolic Composition and Concentration. *Food Research International*, 69:38-48.
- Montoro, P., Tuberoso, C. I., Piacente, S., Perrone, A., De Feo, V., Cabras, P., Pizza, C., 2006. Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5):1614-1619.
- Mulas, M., Cani, M. R., 1999. Germplasm evaluation of spontaneous myrtle (*Myrtus communis* L.) for cultivar selection and crop development. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 6(3):31-49.
- Mulligan, M. E., Murry-Leisure, K. A., Ribner, B. S., Standiford, H. C., John, J. F., Karvick, J. A., Yu, V. L., 1993. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: a consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. *American Journal of Medicine*, 94:313-328.
- Nair, S. S., Kavrekar, V., Mishra, A., 2013. In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *European Journal of Experimental Biology*, 3(1):128-132.
- Nakagawa, H., Hasumi, K., Woo, J. T., Nagai, K., Wachi, M., 2004. Generation of hydrogen peroxide primarily contributes to the induction of Fe(II)-dependent apoptosis in Jurkat cells by (-)-epigallocatechin gallate. *Carcinogenesis*, 25:1567–1574.
- Nascimento, G. G., Locatelli, J., Freitas, P. C., Silva, G. L., 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(4): 247-256.
- Nile, S.H., Park, S.W., 2014. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30(2): 134-144.

- Oboh, G., Ademiluyi, A. O., Akinyemi, A. J., Henle, T., Saliu, J. A., Schwarzenbolz, U., 2012. Inhibitory effect of polyphenol-rich extracts of jute leaf (*Corchorus olitorius*) on key enzyme linked to type 2 diabetes (α -amylase and α -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting) in vitro. *Journal of Functional Foods*, 4(2):450-458.
- Olasupo, N. A., Fitzgerald, D. J., Gasson, M. J., Narbad, A., 2003. Activity of natural antimicrobial compounds against *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Letters in Applied Microbiology*, 37(6):448-451.
- Önal, S., Timur, S., Okutucu, B., Zihnioğlu, F., 2005. Inhibition of α -glucosidase by aqueous extracts of some potent antidiabetic medicinal herbs. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 35(1): 29-36.
- Özkan, A. M. G., GÜRAY, Ç. G., 2009. A mediterranean: *Myrtus communis* L.(myrtle). *Plants and Culture: Seeds of the Cultural Heritage of Europe*, Morel JP, Mercuri AM (eds.). Edipuglia: Bari, 159-168.
- Pandey, K. B., Rizvi, S. I., 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5): 270-278.
- Prior, R. L., Cao, G., 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *HortScience*, 35(4):588-592.
- R Vasanthi, H., ShriShriMal, N., K Das, D., 2012. Phytochemicals from plants to combat cardiovascular disease. *Current Medicinal Chemistry*, 19(14):2242-2251.
- Reddy, P. P., Rao, R. R., Shashidhar, J., Sastry, B. S., Rao, J. M., Babu, K. S., 2009. Phytochemical investigation of labdane diterpenes from the rhizomes of *Hedychium spicatum* and their cytotoxic activity. *Bioorganic & medicinal chemistry Letters*, 19(21):6078-6081.
- Riddle, J. M., 1994. *Contraception and Abortion from the Ancient World to the Renaissance*. Harvard University Press.

- Rinaldi, M. G., 1991. Problems in the diagnosis of invasive fungal diseases. *Review of Infectious Diseases*, 13(3):493-495.
- Rizvi, S. I., Zaid, M. A., 2005. Impairment of sodium pump and Na/H exchanger in erythrocytes from non-insulin dependent diabetes mellitus patients: effect of tea catechins. *Clinica Chimica Acta*, 354(1):59-67.
- Rizvi, S. I., Zaid, M. A., Anis, R., Mishra, N., 2005. Protective role of tea catechins against oxidation-induced damage of type 2 diabetic erythrocytes. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 32(1-2):70-75.
- Sakulnarmrat, K., Konczak, I., 2012. Composition of native Australian herbs polyphenolic-rich fractions and in vitro inhibitory activities against key enzymes relevant to metabolic syndrome. *Food Chemistry*, 134(2):1011-1019.
- Sarkar, D., Ankolekar, C., Pinto, M., Shetty, K., 2015. Dietary functional benefits of Bartlett and Starkrimson pears for potential management of hyperglycemia, hypertension and ulcer bacteria *Helicobacter pylori* while supporting beneficial probiotic bacterial response. *Food Research International*, 69:80-90.
- Sepici, A., Gürbüz, I., Çevik, C., Yesilada, E., 2004. Hypoglycaemic effects of myrtle oil in normal and alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(2):311-318.
- Sepici-Dincel, A., Açıkgöz, Ş., Çevik, C., Sengelen, M., Yeşilada, E., 2007. Effects of in vivo antioxidant enzyme activities of myrtle oil in normoglycaemic and alloxan diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 110(3):498-503.
- Serce, S., Ercisli, S., Sengul, M., Gunduz, K., Orhan, E., 2010. Antioxidant activities and fatty acid composition of wild grown myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits. *Pharmacognosy Magazine*, 6(21):9.

- Shobana, S., Sreerama, Y. N., Malleshi, N. G., 2009. Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics: Mode of inhibition of α -glucosidase and pancreatic amylase. *Food Chemistry*, 115(4):1268-1273.
- Silva, N., Alves, S., Gonçalves, A., Amaral, J. S., Poeta, P., 2013. Antimicrobial activity of essential oils from mediterranean aromatic plants against several foodborne and spoilage bacteria. *Food Science and Technology International*, 19(6):503-510.
- Silva, S. M., Koehnlein, E. A., Bracht, A., Castoldi, R., De Moraes, G. R., Baesso, M. L., Peralta, R. M., 2014. Inhibition of salivary and pancreatic α -amylases by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. *Food Research International*, 56: 1-8.
- Singh, M., Chaudhry, M. A., Yadava, J. N. S., Sanyal, S. C., 1992. The spectrum of antibiotic resistance in human and veterinary isolates of *Escherichia coli* collected from 1984–86 in Northern India. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 29(2):159-168.
- Stalikas, C. D., 2007. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30(18): 3268-3295.
- Subramanian, R., Asmawi, M. Z., Sadikun, A., 2008. In vitro alpha-glucosidase and alpha-amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Acta Biochimica Polonica*, 55(2):391-398.
- Subramoniam, A., 2016. Plants with anti-diabetes mellitus properties. CRC Press.
- Sun, J., Chu, Y. F., Wu, X., Liu, R. H., 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25):7449-7454.
- Tailor, C. S., Goyal, A., 2014. Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method of *Ageratum conyzoides* Linn. leaves. *American Journal of Ethnomedicine*, 1(4):244-249.

- Traveset, A., Riera, N., Mas, R. E., 2001. Ecology of fruit-colour polymorphism in *Myrtus communis* and differential effects of birds and mammals on seed germination and seedling growth. *Journal of Ecology*, 89(5):749-760.
- Tuberoso, C. I. G., Boban, M., Bifulco, E., Budimir, D., Pirisi, F. M., 2013. Antioxidant capacity and vasodilatory properties of Mediterranean food: the case of Cannonau wine, myrtle berries liqueur and strawberry-tree honey. *Food Chemistry*, 140(4):686-691.
- Tuberoso, C. I. G., Rosa, A., Bifulco, E., Melis, M. P., Atzeri, A., Pirisi, F. M., Dessì, M. A., 2010. Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts. *Food Chemistry*, 123(4):1242-1251.
- Tuberoso, C. I., Barra, A., Cabras, P., 2008. Effect of different technological processes on the chemical composition of myrtle (*Myrtus communis* L.) alcoholic extracts. *European Food Research and Technology*, 226(4):801-808.
- Tundis, R., Loizzo, M. R., Menichini, F., 2010. Natural products as α -amylase and α -glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 10(4):315-331.
- Tundis, R., Loizzo, M. R., Statti, G. A., Menichini, F., 2007. Inhibitory effects on the digestive enzyme α -amylase of three *Salsola* species (Chenopodiaceae) in vitro. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62(6): 473-475.
- Tuzlacı, E., 2006. Şifa niyetine: Türkiye'nin bitkisel halk ilaçları. İstanbul, (Alfa Yayınları, No. 1702).
- Umar, A., Ahmed, Q. U., Muhammad, B. Y., Dogarai, B. B. S., Soad, S. Z. B. M., 2010. Anti-hyperglycemic activity of the leaves of *Tetracera scandens* Linn. Merr.(Dilleniaceae) in alloxan induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(1):140-145.

- Vanaclocha, B., Cañigüeral, S., 2003. Fitoterapia: Vademecum de Prescripción. 4th ed. Masson, editor. Barcelona, pp. 354–355.
- Wannes, W. A., Mhamdi, B., Sriti, J., Jemia, M. B., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Marzouk, B., 2010. Antioxidant Activities Of The Essential Oils And Methanol Extracts From Myrtle (*Myrtus Communis* Var. *Italica* L.) Leaf, Stem And Flower. Food And Chemical Toxicology, 48(5):1362-1370.
- Wootton-Beard, P. C., Ryan, L., 2011. Improving public health? : The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. Food Research International, 44(10):3135-3148.
- Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T., Takaishi, Y., 1995. Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. Journal of Ethnopharmacology, 46(3):133-152.
- Yücecan, S., 2009. Phytochemicals & Age-Related Diseases. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, 29(5):46.
- Zhang, R., Zeng, Q., Deng, Y., Zhang, M., Wei, Z., Zhang, Y., Tang, X., 2013. Phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pulp of different cultivars cultivated in Southern China. Food Chemistry, 136(3):1169-1176.



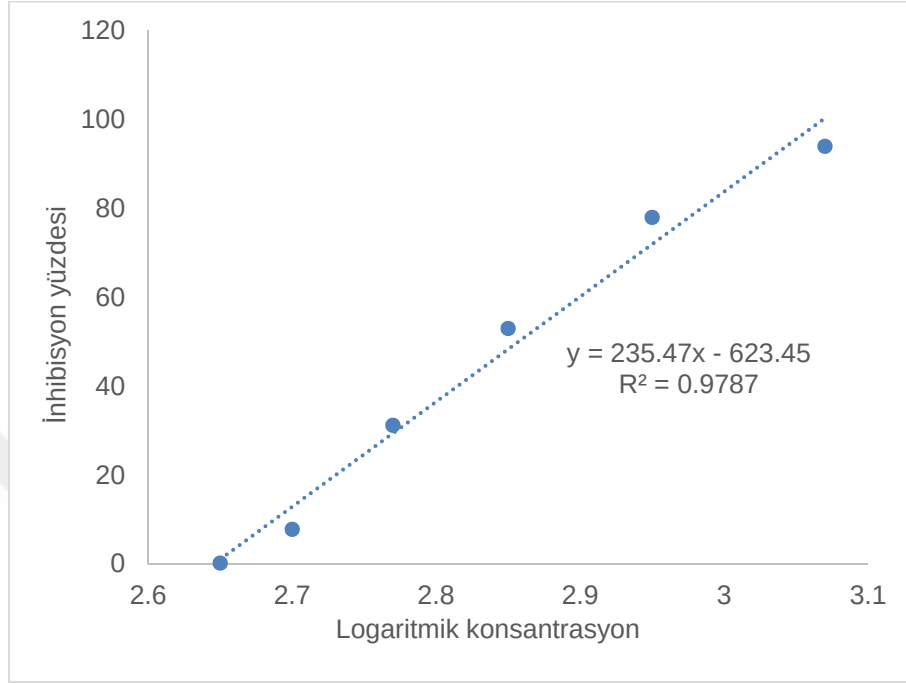
ÖZGEÇMİŞ

Çin Halk Cumhuriyeti, Uygur Özerk Bölgesi'nde doğdu ve büyüdü. İlkokul, ortaokul ve liseyi Kaşgar'da okudu. 2006-2008 yılında Pekin Posta ve Telekomünikasyon Üniversitesi'nde (Çin) Çince dil eğitimi gördü. 2008-2012 yılında Nankin Eğitim Üniversitesi'nde (Çin) lisans eğitimi gördü. 2012-2013 yılında Çukurova Üniversitesi Yabancı Diller Yüksek Okulu'nda Türkçe dil eğitimi gördü. 2013 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı ve 2017 yılında mezun oldu.

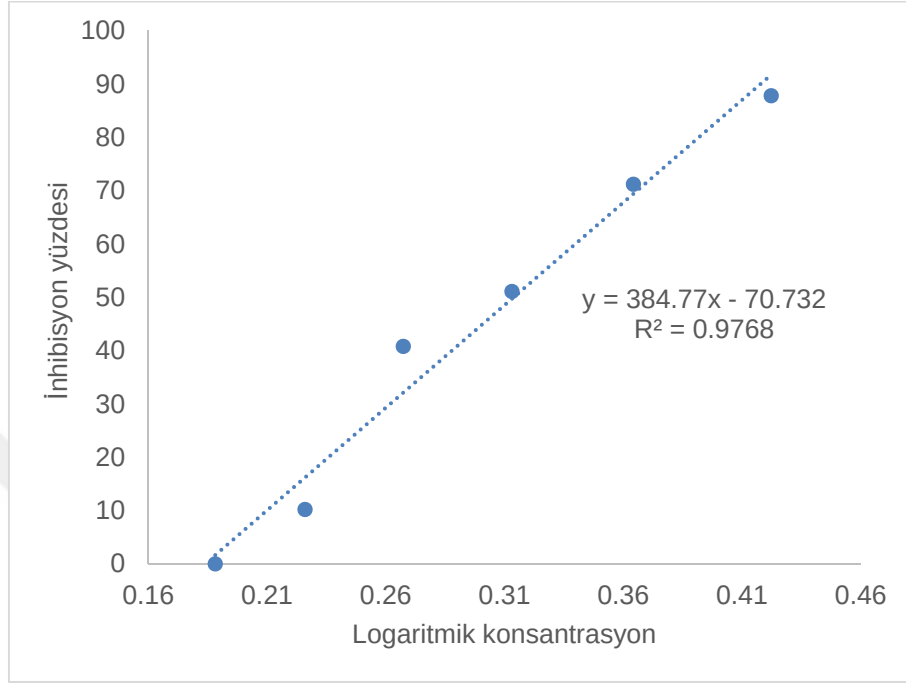


EKLER

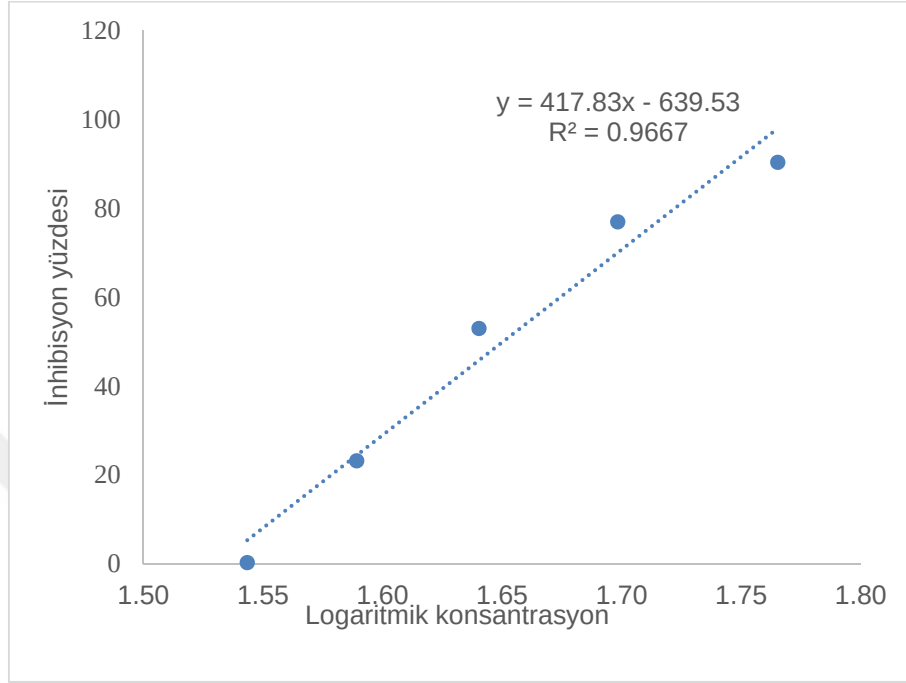




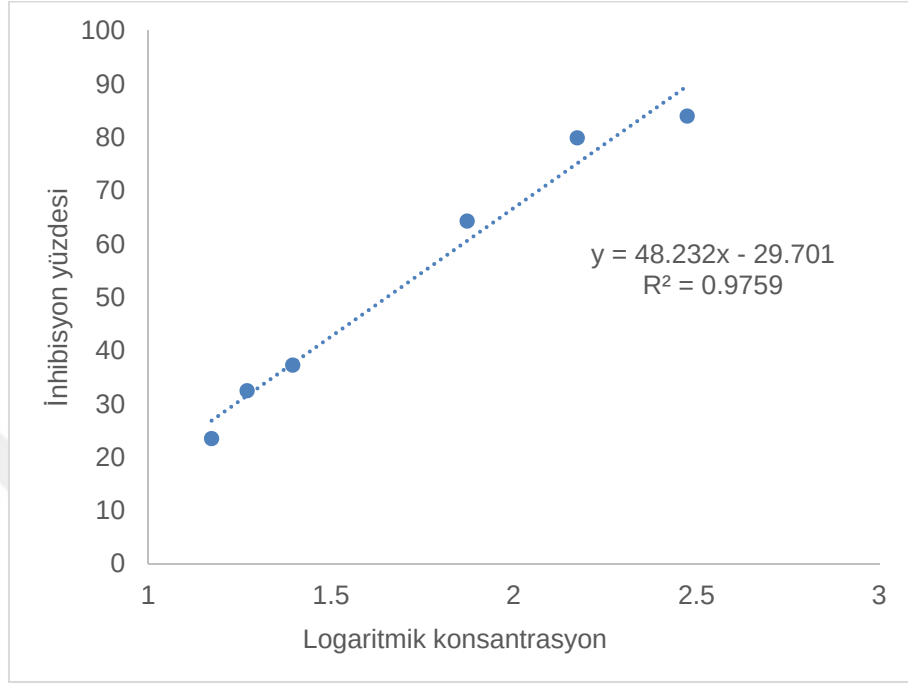
Ek. Şekil 1. Su ile elde edilen hambeles meyve özütünün α -glikozidaz üzerine inhibe etkisi



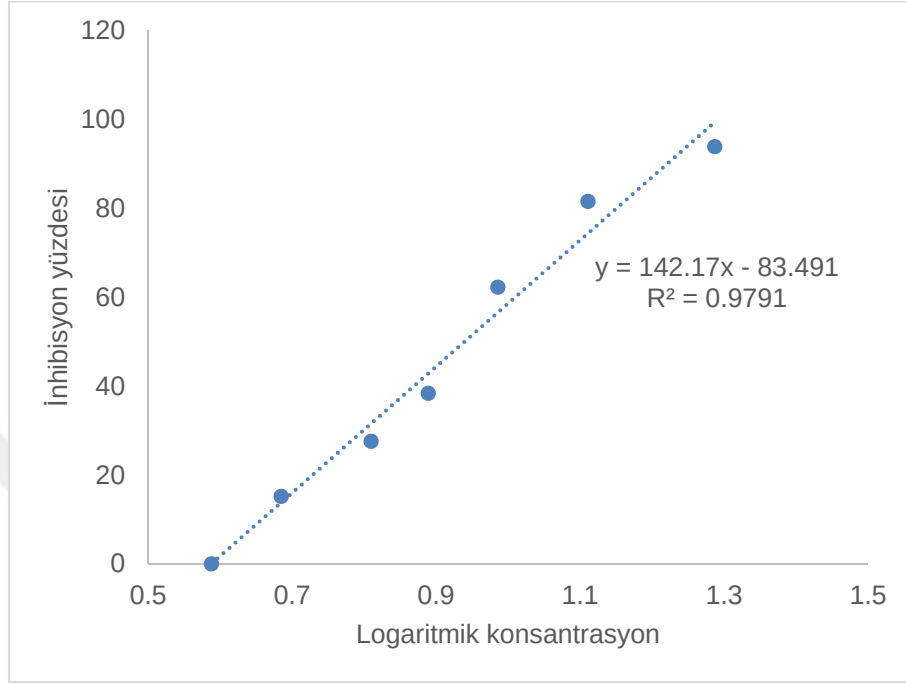
Ek. Şekil 2. Metanol ile elde edilen hambeles meyve özütünün α -glukozidaz üzerine inhibe etkisi



Ek. Şekil 3. Etil asetat ile elde edilen hambeles meyve özütünün α -glukozidaz üzerine inhibe etkisi



Ek. Şekil 4. Su ile elde edilen hambeles meyve özütünün α -amilaz üzerine inhibe etkisi



Ek. Şekil 5. Metanol ile elde edilen hambeles meyve özütünün α -amilaz üzerine inhibe etkisi