

T.C.
SİİRT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Hyacinthella siirtensis ENDEMİK BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞLARININ
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

İdris YOLBAŞ
(203124001)

Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim TEĞİN

Şubat-2023
SİİRT

TEZ KABUL VE ONAYI

İdris YOLBAŞ tarafından hazırlanan “*Hyacinthella Siirtensis* Endemik Bitkisinin Uçucu Yağlarının Biyolojik Aktiviteleri ve Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 02/02/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Ömer YAVUZ

Danışman

Prof. Dr. İbrahim TEĞİN

Üye

Prof. Dr. Abdulkadir LEVENT

Üye

Prof. Dr. Cafer SAKA

Üye

Doç. Dr. Mehmet FİDAN

İmza

.....

.....

.....

.....

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Doç. Dr. Harun BEKTAŞ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖN SÖZ

Bitkiler hayvansal gıdalarla beraber insanların besin ihtiyaçlarını gidermenin yanında ilaç sanayi başta olmak üzere kozmetik, kimya ve gıda sektörü gibi birçok sektörde de kullanılmaktadır.

İnsanlığın varoluşundan beri insanlar şifalı bitkileri hastalıkların tedavisinde kullanmışlardır. Bu hastalıkların tedavisinde kullanılan şifalı bitkilerden elde edilen ilaçlar nesilden nesile aktararak günümüze kadar gelmiş ve ilaç sanayisinin gelişimine öncülük etmiştir. Bilim insanları bitkilerden elde edilen doğal bileşiklerin ilaç araştırmalarında kullanımıyla ilgili çok sayıda araştırmalar yapmaktadır.

Gıda sektöründe gıdaların tat koku ve rengini değiştirmek için çoğu fenolik bileşik olan antioksidanlar kullanılmaktadır. Doğal yollarla elde edilen antioksidanlar pahalı olduğundan bu gıdalarda kullanılan antioksidanların çoğunluğu genellikle yapay olarak elde edilen sentetik antioksidanlardır. Yapılan bilimsel çalışmalar bu yapay antioksidanların sağlık açısından zararlı toksik etkilerinin olduğunu ortaya koymuş ve bundan dolayı zararlı olabilecek antioksidanların kullanımına sınırlamalar getirilmiştir. Yapay sentetik antioksidanların sağlık açısından zararlarının ortaya çıkmasından sonra günümüzde hızla doğal antioksidanlara bir yönelim olmakta ve bununla ilişkili olarak da antioksidan kaynağı olan bitkilerle ilgili yapılan çalışmalar artmaktadır.

İlaç sektörü başta olmak üzere kozmetik, kimya ve gıda sektörü gibi birçok sektörün gelişimi insanların tecrübe ederek bize aktardıkları bilgi birikimlerine dayanmaktadır. Bu sektörlerde kullanılan bitkiler üzerine daha yeterince araştırma yapılmamıştır. Bitkiler üzerine yapılacak çalışmalar bu sektörlerin daha da ilerlemesine katkıda bulunacaktır.

Bu tez çalışmamda beni yönlendiren ve büyük bir hoşgörü ve fedakârlıkla bana yardımcı olan değerli hocam Prof. Dr. İbrahim TEĞİN'e, bitki örneklerinin temini ve teşhisinde bana yardımcı olan Doç. Dr. Mehmet FİDAN, Doç. Dr. Erdal YABALAK ve laboratuvar çalışmalarında desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Bülent HALLAÇ'a ve diğer emeği geçen herkese teşekkür eder, saygılar sunarım.

İdris YOLBAŞ
SİİRT-2023

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖN SÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler.....	2
1.1.1. Endemik bitkiler.....	2
1.1.2. Uçucu yağlar	4
1.1.3. Radikaller.....	5
1.1.4. Fenolik bileşikler	7
1.1.4.1. Flavonoidler	8
1.1.4.2. Fenolik asitler.....	9
1.1.5. Bitkilerin fenolik madde içeriği	10
1.1.6. Antimikrobiyal aktivite	10
1.1.6.1. Kullanılan mikroorganizmalar	10
1.1.6.1.1. <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	10
1.1.6.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i>)	11
1.1.6.2. Delik agar difüzyon yöntemi.....	11
1.1.7. Toplam fenolik madde miktarı	12
1.1.7.1. Folin-ciocalteau reaktifi (FCR) yöntemi ile toplam fenolik bileşik tayini.....	12
1.1.8. Antioksidan maddeler	12
1.1.8.1. Antioksidanların sınıflandırması.....	14
1.1.9. Antibakteriyel aktivite	15
1.1.10. Nem tayini.....	15
1.1.11. Kül tayini	16
1.1.12. Yağ tayini.....	16
1.1.13. Renk tayini	16
1.1.14. pH tayini	16
1.1.15. Antioksidan tayin yöntemi.....	17
1.1.15.1. DPPH Serbest radikal giderim yöntemi	17
1.1.15.2. FRAP Demir iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini	17
1.1.16. Mineral ve eser element içeriği.....	18
1.1.16.1. İndüktif eşleşmiş plazma - optik emisyon spektrometrisi (ICP-OES)	18
1.1.16.2. İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektroskopisi (ICP-MS)	19

1.1.17. Ekstraksiyon yöntemleri	19
1.1.17.1. Soxhlet ekstraksiyon yöntemi	19
1.1.17.2. Maserasyon yöntemi	20
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	22
3. MATERYAL VE METOT	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. Bitki materyali	33
3.1.2. Bitki numunesinin hazırlanması.....	33
3.1.2.1. Soxhlet ekstraksiyonu için örnek hazırlama.....	33
3.1.2.2. Maserasyon ekstraksiyon yöntemi.....	34
3.1.2.3. ICP-OES için örnek hazırlama.....	35
3.1.2.3.1. Yaş yakma yöntemiyle çözünürleştirme	35
3.1.2.3.2. Mikrodalga çözünürleştirme yöntemi	36
3.1.2.4. ICP-MS için örnek hazırlama.....	37
3.1.2.4.1. Yaş yakma yöntemiyle çözünürleştirme	37
3.1.2.4.2. Mikrodalga çözünürleştirme yöntemi	37
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar	38
3.1.3.1. Kullanılan kimyasallar	39
3.1.3.2. Kullanılan cihazlar	39
3.2. Metot	40
3.2.1. Antioksidan tayini	40
3.2.1.1. DPPH yöntemi	40
3.2.1.1.1. DPPH yönteminde kullanılan çözeltilerin hazırlanması	40
3.2.1.1.2. DPPH Deneyinin yapılması	41
3.2.1.2. FRAP yöntemi	42
3.2.1.2.1. FRAP yönteminde kullanılan çözeltilerin hazırlanması	42
3.2.1.2.2. FRAP deneyinin yapılması	42
3.2.2. Toplam fenolik maddelerin tayini.....	43
3.2.3. Toplam flavonoid madde miktarı tayini.....	44
3.2.4. Mineral madde tayini	46
3.2.5. Fenolik madde içeriği	49
3.2.5.1. GC-MS yöntemi.....	49
3.2.5.2. UHPLC-MS yöntemi	49
3.1.1. Antimikrobiyal aktivite analizi	54
3.1.2. Nem tayini.....	55
3.1.3. Kül tayini	55
3.1.4. Yağ tayini.....	56
3.1.5. Renk tayini	56
3.1.6. Oksidasyon redüksiyon (OR) potansiyel analizi.....	58
3.1.7. Kuru madde tayini.....	58
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	59
4.1. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları ve Değerlendirilmesi	59
4.1.1. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi sonuçları ve değerlendirmesi.....	59

4.1.2. FRAP demir iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini sonuçları ve değerlendirmesi.....	60
4.2. Toplam Fenolik Madde Tayini (Folin-Ciocalteu Yöntemi)	61
4.3. Toplam Flavonoid Bileşik Miktarı Tayin Sonuçları ve Değerlendirmesi	63
4.4. ICP-OES Analiz Sonuçları ve Değerlendirmesi.....	64
4.5. ICP-MS Analiz Sonuçları ve Değerlendirmesi.....	66
4.6. LC-MS/MS Analiz Sonuçları ve Değerlendirmesi.....	68
4.7. GC-MS Analiz Sonuçları ve Değerlendirmesi	71
4.8. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları ve Değerlendirmesi	79
4.8.1. <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i>) antibakteriyel aktivite sonuçları ve değerlendirmesi.....	79
4.8.2. <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) antibakteriyel aktivite sonuçları ve değerlendirmesi...	82
4.9. Nem Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi	83
4.10. Kül Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi	84
4.11. Yağ Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi.....	84
4.12. Renk Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi.....	85
4.13. pH Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi	88
4.14. Oksidasyon Redüksiyon (OR) Potansiyel Analizi Sonuçları ve Değerlendirmesi.....	89
4.15. Kuru Madde Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi	90
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	91
6. KAYNAKLAR	93
ÖZGEÇMİŞ	104

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Mikrodalga çalışma koşulları.....	37
Tablo 3.2. Mikrodalga çalışma koşulları.....	38
Tablo 3.3. ICP-OES Analiz koşulları.....	46
Tablo 3.4. ICP-OES Kalibrasyon bilgileri	47
Tablo 3.5. ICP-MS analiz koşulları.....	48
Tablo 3.6. LC-MS/MS cihazı analitik yöntem validasyon parametreleri	52
Tablo 4.1. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi % inhibisyon analiz sonuçları	59
Tablo 4.2. FRAP analiz sonuçları	60
Tablo 4.3. Toplam fenolik madde analiz sonuçları.....	62
Tablo 4.4. Toplam flavonoid madde miktarı analiz sonuçları	63
Tablo 4.5. <i>H. Siirtensis</i> bitkisinin ICP-OES element analiz sonuçları.....	65
Tablo 4.6. <i>H. siirtensis</i> bitkisinin ICP-MS element analiz sonuçları.....	67
Tablo 4.7. <i>H. siirtensis</i> bitkisinin metanol ekstraktının madde miktarı analiz sonuçları.....	69
Tablo 4.8. Asetonitril ekstraktının GC-MS/MS analiz sonuçları.....	74
Tablo 4.9. Etanol ekstraktının GC-MS/MS analiz sonuçları	74
Tablo 4.10. Aseton ekstraktının GC-MS/MS analiz sonuçları	75
Tablo 4.11. Metanol ekstraktının GC-MS/MS analiz sonuçları	77
Tablo 4.12. Tetrahidrofuran ekstraktının GC-MS/MS analiz sonuçları	78
Tablo 4.13. <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i>) antibakteriyel aktivite sonuçları	81
Tablo 4.14. <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) antibakteriyel aktivite sonuçları	83
Tablo 4.15. Nem miktarı ve yüzdesel oranı	84
Tablo 4.16. Soxhlet ekstraksiyon sonucu elde edilen yağ miktarları.....	85
Tablo 4.17. Renk tayini sonuçları	87
Tablo 4.18. <i>H. siirtensis</i> bitkisi ekstraktının renk analizinin belirlenmesi.....	88
Tablo 4.19. pH ölçüm sonuçları	89
Tablo 4.20. Oksidasyon Redüksiyon (OR) potansiyel analizi sonuçları	90
Tablo 4.21. Kuru madde miktarı ve yüzdesel oranı	90

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. <i>Hyacinthella siirtensis</i> genel görüntüsü	4
Şekil 1.2. Serbest radikallerin hücresel hedefleri	7
Şekil 1.3. DPPH molekülünün antioksidan madde ile reaksiyonu	17
Şekil 1.4. Soxhlet ekstraksiyon düzeneği	20
Şekil 1.5. Maserasyon ekstraksiyon düzeneği	21
Şekil 3.1. Döner buharlaştırıcı	34
Şekil 3.2. Yaş yakma yöntemiyle çözünürleştirme işlemi.....	36
Şekil 3.3. Antioksidan testleri için kullanılan numune tüpleri	40
Şekil 3.4. UV Spektrofotometre	41
Şekil 3.5. FRAP Standart Regresyon Eğrisi	43
Şekil 3.6. Gallik asit standart regresyon eğrisi	44
Şekil 3.7. Rutin standart regresyon eğrisi	45
Şekil 3.8. 53 Fenolik bileşiğin UHPLC-ESI-MS/MS metodu ile geliştirilen standart kromatogramı (1: Quinic acid, 2: Fumaric acid, 3: Aconitic acid, 4: Gallic acid, 5: Epigallocatechin, 6: Protocatechuic acid, 7: Catechin, 8: Gentisic acid, 9: Chlorogenic acid).....	51
Şekil 3.9. Antimikrobiyal aktivite ölçümü için kullanılan petri kutuları.....	55
Şekil 3.10. Renk ölçüm cihazı	56
Şekil 3.11. pH ölçüm cihazı.....	57
Şekil 4.1. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi % inhibisyon değerleri.....	60
Şekil 4.2. FRAP analizi sonucu elde edilen değerler	61
Şekil 4.3. Toplam fenolik madde miktarı analiz grafiği	62
Şekil 4.4. Toplam flavonoid madde miktarı grafiği	64
Şekil 4.5. <i>H. siirtensis</i> bitkisinin metanol ekstraktının LC-MS/MS kromatogramı	68
Şekil 4.6. Asetonitril ekstraktının GC-MS/MS kromatogramı.....	74
Şekil 4.7. Etanol ekstraktının GC-MS/MS kromatogramı	75
Şekil 4.8. Aseton ekstraktının GC-MS/MS kromatogramı.....	77
Şekil 4.9. Metanol ekstraktının GC-MS/MS kromatogramı.....	78
Şekil 4.10. Tetrahidrofuran ekstraktının GC-MS/MS kromatogramı.....	79
Şekil 4.11. Aseton çözelti ekstraktının <i>S. Aureus</i> bakterisine karşı oluşturduğu zone...	82

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

<u>Kısaltma</u>	<u>Açıklama</u>
AES	: Atomik (optik) emisyon spektroskopisi
DPPH	: 1-1- Difenil 2. picryhelnozil
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i> (Gram negatif bakteri)
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power
GC-MS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
HPLC	: Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
ICP	: İndüksiyonla birleşmiş plazma
ICP-OES	: İndüktif olarak eşleşmiş optik emisyon spektrometresi
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Gram pozitif bakteri)

<u>Kısaltma</u>	<u>Açıklama</u>
G	: Gram
L	: Litre
µL	: Mikrolitre
Mg	: Milligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mmol	: Milimol
nm	: Nanometre
ppb	: Milyarda bir
° C	: Santigrat derece
%	: Yüzde

ÖZET

DOKTORA TEZİ

***Hyacinthella siirtensis* ENDEMİK BİTKİSİNİN UÇUCU YAĞLARININ BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

İdris YOLBAŞ

**Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı**

Danışman : Prof. Dr. İbrahim TEĞİN

2023, 103 + XI Sayfa

Türkiye sınırları içerisinde Orta Fırat ve Dicle Bölgelerinde yayılış gösteren *Hyacinthella siirtensis* B. Mathev bitkisi biyolojik, kimyasal ve fizikokimyasal özellikleri açısından incelenmiştir. *H. siirtensis* bitkisinin soxhlet ve maserasyon ekstraksiyon yöntemi kullanılarak toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı, antioksidan aktivitesi, kimyasal bileşimi, metal içeriği, antibakteriyel aktivitesi ve fizikokimyasal özellikleri tespit edilmiştir. Farklı çözücülerle ekstraksiyonlar yapılarak elde edilen ekstraktlar GC MS ile analiz edilmiştir. GC-MS analizi sonucunda soxhlet yöntemiyle elde edilen ekstraktlardan en fazla bileşik tespiti 51 bileşik ile aseton ekstraktından, metanol ekstraktının LC-MS/MS analizi sonucunda ise 19 farklı fenolik bileşik tespit edilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarları, Folin-Ciocalteu Reaktif (FCR) yöntemi ile antioksidan aktiviteleri FRAP ve DPPH yöntemleriyle tespit edilmiş ve toplam flavonoid miktarları bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarının en yüksek değeri 95,87 mg/mL galik asit eş değeri ile %80'lik metanol ekstraktından, toplam flavonoid bileşik miktarı ise 564,63 mg/mL rutin eş değeri ile saf su ekstraktından elde edilmiştir. Antioksidan aktivitesi ise DPPH serbest radikal süpürme aktivitelerinin en yüksek inhibisyon değeri %68,72 değeri ile %80'lik aseton ekstraktından, FRAP yöntemiyle yapılan antioksidan kapasite analizlerinde en yüksek değerin 1,91 ug/mL FeSO₄ eş değeri ile %80'lik metanol ekstraktına ait olduğu görülmüştür.

H. siirtensis bitki ekstraktının birçok çözelti konsantrasyonunda gram-negatif bir yapıya sahip *E. Coli* bakterisine karşı etkili olduğu ve gram-pozitif yapıya sahip *S. aureus* bakterisine karşı yok denecek kadar az antibakteriyel etki gösterdiği gözlenmiştir. ICP-OES cihazıyla yapılan metal analizi sonucunda en fazla 5,33±0,00 g/kg ile mikrodalga numunesinde kalsiyum elementi, ICP-MS analiz sonucunda ise en fazla 15,65±0,49 g/kg ile mikrodalga numunesinde kalsiyum elementi tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Hyacinthella siirtensis*, DPPH, GC-MS, LC/MS/MS, ICP-MS

ABSTRACT

I

Ph.D THESIS
DETERMINATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES AND
PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF ESSENTIAL OILS OF *Hyacinthella*
***siirtensis* ENDEMIC PLANT**

İdris YOLBAŞ

The Graduate School of Natural and Applied Science of Siirt University
The Degree of Master of Science / Doctor of Philosophy
In Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. İbrahim TEĞİN

2023, 103 + XI Pages

The Hyacinthella siirtensis B. Mathev plant, which is spreaded in the Middle Euphrates and Tigris Sections within the borders of Turkey, was examined in terms of its biological, chemical and physicochemical properties. The total amount of phenolic and flavonoid substances, antioxidant activity, chemical composition, metal content, antibacterial activity and physicochemical properties of the *H. siirtensis* plant were determined by using the soxhlet and maceration extraction method. Extracts obtained by extractions with different solvents were analyzed by GC MS. As a result of GC-MS analysis, the highest number of compounds were determined from these solution extracts obtained by the soxhlet method. 51 compounds were determined from the acetone extract, and 19 different phenolic compounds were determined as a result of the LC-MS/MS analysis of the methanol extract.

Total phenolic substance amounts were determined by Folin-Ciocalteau Reagent (FCR) method and antioxidant activities were determined by FRAP and DPPH methods, and total flavonoid amounts were found. The highest value of total phenolic substance content was obtained from 80% methanol extract with 95.87 mg/mL gallic acid equivalent, and the total flavonoid compound amount was obtained from pure water extract with 564.63 mg/mL routine equivalent. Antioxidant activity was determined by DPPH free radical scavenging activities with the highest % inhibition value of 68.72 % and 80% acetone extract, in the antioxidant capacity analyzes performed by FRAP method, the highest value was 1.91 ug/mL FeSO₄ equivalent. It was found to belong to 80% methanol extract.

It was observed that *H. siirtensis* plant extract is effective against gram-negative *E. coli* bacteria in many solution concentrations and has little or no antibacterial effect against gram-positive *S. aureus* bacteria. As a result of the metal analysis performed with the ICP-OES device, calcium element was detected in the microwave sample with a maximum of 5.33±0.00 g/kg, and in the result of the ICP-MS analysis, calcium element was detected in the microwave sample with a maximum of 15.65±0.49 g/kg.

Keywords: *Hyacinthella siirtensis*, DPPH, GC-MS, LC/MS/MS, ICP-MS

1. GİRİŞ

Bitkilerin sağlık açısından faydalı etkileri bitkilerin içerdikleri fenolik bileşiklere ve antioksidan aktivitelerine bağlıdır. Bu fenolik bileşikler ve antioksidanlar serbest radikalleri temizleme ve metalleri şelatlama özelliklerine sahiptirler. Patojenlere karşı hücre savunmasına katkıda bulunurlar (Meot-Duros ve Magné, 2009).

Dünyanın varoluşundan beri insanlar tarafından şifalı bitkilerden elde edilen ilaçlar nesilden nesile aktararak günümüze kadar gelmiştir (Kirtikar ve Basu, 1935).

Günümüzde de ilaç araştırmalarında bitkilerden elde edilen doğal bitki moleküllerinin kullanımıyla ilgili çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır (Dev, 2010).

Doğal antioksidanlar pahalı olduğundan sentetik antioksidanlar daha çok kullanılmaya başlanmıştır. Ancak sentetik antioksidanlarla ilgili yapılan çalışmalar sentetik antioksidanların toksik etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur. Bundan dolayı sağlık açısından zararlı olabilecek sentetik antioksidanlara kısıtlamalar getirilmiştir. Bundan dolayı doğal antioksidanlara yönelim olmuş ve bol miktarda doğal antioksidan içeren bitkilerle ilgili çalışmalar artmıştır (Aksoy ve ark., 2013).

Biyolojik sistemde primer ve sekonder bileşikler olmak üzere bileşikler iki ana gruba ayrılır. Primer bileşikler; aminoasitler ve karbonhidratlar gibi kimyasal bileşiklerdir. Bunlar hücrenin gelişimi ve büyümesi için gerekli olan yağ ve proteinlerdir. Sekonder bileşikler ise antioksidanlardır. Bunlar bitkilerin çevresel ve diğer zararlı etkilere karşı hayatta kalmasına yardımcı olan patojenleri uzaklaştıran maddelerdir (Ay ve ark., 2020).

İnsanlar sebze, meyve ve bitkileri içerdikleri doğal oksidanları oksidatif hasarlara hücrelere zarar veren serbest radikallere karşı kullanmışlardır (Ay ve ark., 2020).

Gıdalarda bulunan antioksidanların çoğu fenol bileşiklerdir. Gıdaların renk değişimlerini önleme, kötü koku ve tatlarını değiştirmek için antioksidanlar eklenebiliyor. Bu eklenen antioksidanların büyük çoğunluğu genellikle sentetiktir (Ay ve ark., 2020).

Doğal fenolik bileşikler çeşitli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak bitkilerden ekstre edilmektedir Bunun için soxhlet veya maserasyon gibi ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır (Benmerzoug ve ark., 2020).

Bitkiler genellikle çay halinde içilerek veya kurutularak yemeklerde baharat

şeklinde kullanılır.

Uçucu yağlar genellikle çeşitli aromatik bitkilerden elde edilmektedir (Elhida ve ark., 2019).

Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar farklı bileşikler içeren kompleks karışımlardır. Bu karışımlar fenolden üretilmiş aromatik ve alifatik bileşikler, ketonlar, alkol, aldehytler ve terpenoidler içerirler (Kamila ve ark., 2018).

Modern tıp ve ilaç sektörünün gelişimi günümüze kadar gelen insanların sağlık birikimine dayanmaktadır. İlaç yapımında kullanılan bitkiler üzerine daha yeterince araştırma yapılmamıştır. Bitkilerden doğal kimyasalların ayrılması ve bunların ilaç sektöründe kullanılması sağlık sektörünün gelişimine büyük katkı sağlayacaktır (Nastić ve ark., 2018).

İlaç yapımında kullanılan sentetik bileşiklerle ilgili endişeler bitkisel ürünlerin tedavi amaçlı kullanımını dünya genelinde artırmaktadır (Özcan, 2021).

Mineral elementler canlılar için hayati öneme sahiptirler. Canlı yapısının temel maddeleri olan protein ve enzimler mineral içerirler. Bundan dolayı canlıları zararlı etkilere karşı koruyan antioksidanlar için vücuda ihtiyaç kadar mineral alımı çok önemlidir (Nuapia ve ark., 2018).

Antimikrobiyaller patolojiyi engelleyen ve onları yok eden maddelerdir. Bunlar bakteri veya mantardır. Antimikrobiyaller arasında bulunan antibiyotiklerin son zamanlarda kullanımı artmaktadır. Aşırı ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı bu mikropların ilaca karşı direncini artırmakta ve ilacın etkisini azaltmaktadır. Bu sağlık açısından büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Romulo ve ark., 2018; Silva ve ark., 2018).

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Endemik bitkiler

Endemik bitkiler dünya üzerinde yalnızca belirli alanlarında yaşayan türlerdir. Bu bitki türlerinin bulunduğu duruma endemizm denmektedir. Bitki türlerinden oluşan bitki formasyonu bitki türlerinin bulunduğu bölge şartlarına bağlı olarak farklı özellikler gösterirler. Endemik bitkiler çok hassas bitkilerdir. Sadece kendilerine uygun şartlar sağlayan bölgelerde yaşayabilirler, bunun dışındaki şartlara karşı hassas olup uyum sağlayamaz ve varlıklarını sürdüremezler. Endemiklik bölge şartlarına bağlıdır, bu bölge şartları o alanın topografik şartlarına ve jeolojik yaşına, o alanın izolasyonuna ve

süresine bağlıdır (Erinc, 1978; Avcı, 2005).

Avrupa florası toplamda yaklaşık 12000 türden meydana gelmektedir. Bu türlerin bulunduğu bölge alan olarak Türkiye'nin yaklaşık 15 katı bir büyüklüğe sahiptir. Türkiye florasının farklı bir özelliği çeşitli sayıdaki türlerin yanında çok sayıda endemik türde içermesidir. Avrupa'daki toplam endemik tür sayısı 2750 iken Türkiye'deki endemik tür sayısı 3778'dir (Erik ve Tarıkahya Hacıoğlu, 2004).

Türkiye'de çok sayıda endemik ve endemik olmayan bitki yetişmektedir. Bu bitkiler kendilerine zarar verecek çok sayıda dış etkiye maruz kalmaktadırlar. Bitkilere zarar veren bu dış etkilere bazıları çevre kirliliği, aşırı otlatma, sanayileşme, kentleşme, turizm, bitkilerin evlerde kullanılması veya ihracat amaçlı satılması, yangınlar, tarım alanlarının genişletilmesi, ağaçlandırma ve tuzlu alanların ıslahı gibi etkenlerdir (Ekim ve ark., 2000).

Türkiye farklı coğrafik yapısı ve iklim koşullarıyla çok farklı ve zengin bir bitki örtüsüne sahiptir. Bu bitkilerden aromatik olanlar yerel halk tarafında sağlık amaçlı kullanılmaktadır. Ancak bitkinin hangi bölümünün hangi hastalığa iyi geldiği bilgisi zayıftır. Bunun için bu şifa amaçlı kullanılan bitkilerle ilgili bilimsel araştırmalar yapılmalı zararlı etkileri olan sentetik maddeler yerine bu bitkilerden elde edilen doğal maddeler kullanılmalıdır (Özcan, 2020).

1.1.1.1. *Hyacinthella siirtensis* B. Mathev bitkisi

Endemik bir bitki olan genel yayılışı ülkemizin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde ve tür yapısında Siirt ve Erzurum ilçesi ile Şırnak bölgesi aralığında bulunan çok yıllık bir bitki olan *Hyacinthella siirtensis* bitkisi, yumarta görünümüne sahip küçük soğanlı bir bitkidir. *Hyacinthella siirtensis* bitkisi genellikle 830 mm-1700 mm sahip yükselti aralıklarında yetişmektedir. Bahar aylarında çiçek açan *Hyacinthella siirtensis* bitkisi genellikle kayalık alanlarda, meşelikler, kalker yapıları sahip kayalıklar arasında yeşermektedirler. *Hyacinthella siirtensis* bitkisi genellikle iki üç yapraklıdır. Bu bitkinin soğanı zarımsı bir yapıya sahip olup renk yapısı da pembe-krem renk yapısındadır. *Hyacinthella siirtensis* bitkisinin dış yaprakları iç yapraklarına göre belirgin bir şekilde büyük olup, yaprak şeklide uzun oval bir yapıya sahiptir. *Hyacinthella siirtensis* bitkisinin çiçeğinin şeklide sapsız başak şeklinde olup mavi renge sahiptir.



Şekil 1.1. *Hyacinthella siirtensis* genel görüntüsü

1.1.2. Uçucu yağlar

Uçucu yağlar, güçlü kokulu, renk olarak genellikle renksiz veya açık sarı renkli olan, oda koşullarında hal olarak sıvı olan, sebze, meyve ve bitkilerin genellikle yaprak, çekirdek, kök ve kabuk gibi kısımlarından elde edilen, kolay kristalleşebilen maddelerdir. Uçucu yağlar genellikle güzel kokulu olduklarından eterik yağ veya esans da denilmektedir (Ceylan, 1997).

Çeşitli aromatik bitkilerden farklı yöntemlerle elde edilen esansiyel yağlar doğal koruyucu özellikleri, büyük terapötik kapasiteleri ve faydaları nedeniyle her geçen gün daha fazla ilgi görmekte birçok bilimsel araştırmaya konu olmakta ve endüstride daha çok kullanılmaya başlanmaktadır. Lezzetleri, tatları ve güzel kokulu bu aromatik bitkilerden elde edilen bu esansiyel yağlar ve içerikleri gıda, ilaç ve kozmetik sektöründe oldukça kullanılmaktadır (Elizaquível ve ark., 2013).

Son zamanlarda ülkemizde ve dünyada alternatif tıbbı olan talep, alternatif tıpta

kullanılan bitkilerin içerdikleri uçucu yağlara olan ilgiyi ve tüketimi artırmıştır. Örneğin eterik yağlar banyolarda rahatlama amaçlı ve bu terapilerde yapılan masajlarda kullanılmaktadır. Bu uçucu yağların yiyecek ve içecek sektöründen, güzellik sektörüne, sağlık amaçlı tıp sektöründen, temizlik sektörüne kadar bu ürünler birçok alanda kullanılmaktadır. İlaç sektöründe de tadı veya kokusu güzel olmayan ilaçların tat ve kokularını güzelleştirme amaçlı da kullanılmaktadır. Lavanta ve sedirden elde edilen bazı uçucu yağlarda zararlı böcekleri kovucu amaçla da kullanılmaktadır (Kılıç, 2008).

Ekstraksiyon sonucu elde edilen yağlar konsantrasyonu yüksek maddeler olduğundan ağırlıkça hafif uçucu madde özelliklerine sahiptirler. Üretim teknikleri genellikle basit bir özelliğe sahip olan bu yağlar, hafif ve konsantre olduğundan uzak mesafelere taşınmaları kolaydır (Tanker, 1976; Ceylan, 1997).

Uçucu yağ özellikleri yüksek olan bitki türleri Türkiye'de fazladır. Ancak yağ üretim amaçlı sadece gülün büyük üretim alanları mevcuttur. Gül haricinde yüksek üretim alanı olan bitkiler bulunmamaktadır. Uçucu yağ bakımından zengin bitki türlerine sahip ülkemizde ancak bu bitkilerin sadece bir bölümünden uçucu yağlar elde edilip üretime kazandırılmaktadır (Tanker, 1976; Ceylan, 1997).

Yapılarındaki kimyasal bileşiklere göre uçucu yağlar azot ve kükürt taşıyan uçucu yağlar, terpenik uçucu yağlar, düz zincirli hidrokarbonlar içeren uçucu yağlar ve aromatik uçucu yağlar olmak üzere dört gruba ayrılmaktadırlar.

Uçucu yağ olarak adlandırılan esansiyel yağlarda kimyasal yapı ve içeriklerine göre farklı gruplara ayrılmaktadır. Bitkilerin yapısında bulunan esansiyel yağ yapılarının büyük bir kısmı terpenlerden meydana gelmektedir. Esansiyel yağların yapılarının çoğunluğunu oluşturan terpenlerin yanında azot, alkol kükürt, aldehit, ester ve fenol bileşikleri gibi yapılardan meydana gelmektedir (Cellat, 2011).

1.1.3. Radikaller

Serbest radikaller ve onun bir türü olan reaktif oksijen türleri çok kararsız bir yapıya sahiptirler. Bu kararsız moleküller DNA, lipitler, karbonhidratlar ve proteinler gibi farklı organik substratlarla tepkimeye girerler. Oksidatif stres, aşırı serbest radikalleri meydana getirmektedir. Bu serbest radikallerde kanser benzeri birçok hastalıklara sebebiyet vermektedirler (Aruoma, 1998).

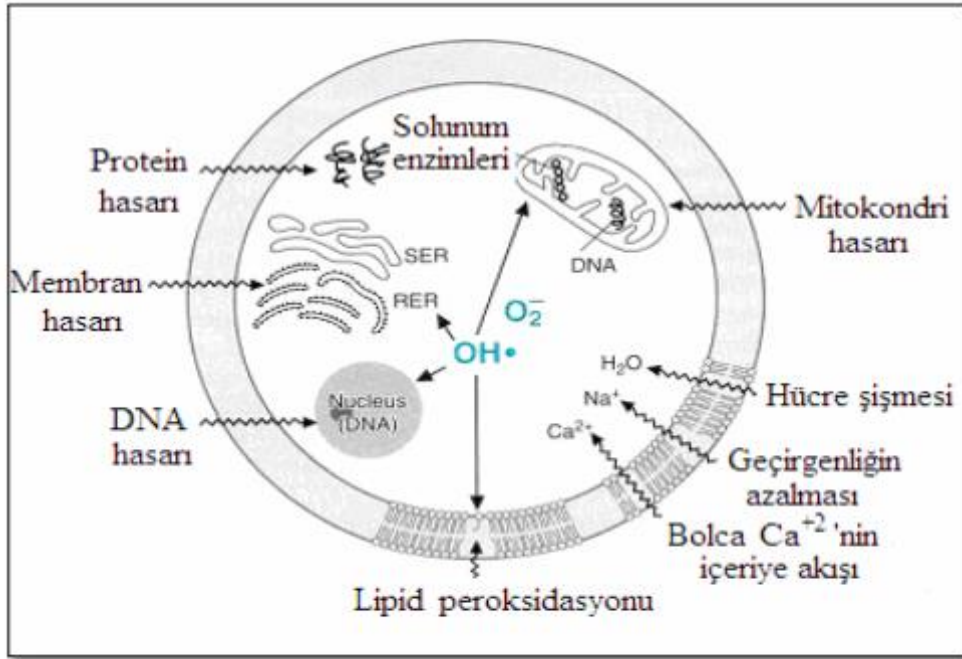
Atom ya da bileşik şeklinde bulunabilen serbest radikallerin son elektron

yörüngelerinde ortaklanmamış elektron çifti bulunmaktadır. Diğer bir ifadeyle sık elektron dizilişine sahip, tek sayıda elektron bulunduran atom veya moleküllerdir. Bu serbest radikaller kararlı hale geçmek istediklerinden dolayı yüksek bir reaksiyona girme isteğine sahiptirler. Kısa ömürlü ve düşük bir aktivasyon enerjisine sahip olan serbest radikaller küçük molekülü olup reaksiyona girme isteklerinden dolayı ömürleri oldukça kısadır. Küçük moleküller yapıya sahip olduklarından hücre zarından kolaylıkla geçebilmektedirler (Zengin ve Aktumsek, 2014).

Canlıların hayatlarını sürdürebilmeleri için gerekli olan molekül veya atomlardan biri olan serbest radikaller, metabolizmada kullanılan enerji üretimi ve elektron transferi olaylarının gerçekleşmesinde önemli bir rol almaktadırlar. Serbest radikaller vücut için bu faydalı yapılarının yanında eğer gerçekleştirdikleri zincir tepkimesi kontrol dışı olursa canlı sağlığını olumsuz etkileyecek şekilde hücrelerde büyük tahribatlara yol açabilirler. Yapılan çalışmalar göstermiş ki serbest radikallerin hücredeki tahribatları sonucu en fazla dejeneratif hastalıklar ve erken yaşlanmalar meydana gelmektedir. Ayrıca serbest radikallerin damar tıkanıklığı, sıtma ve kanser gibi çeşitli hastalıkların meydana gelmesinde de etkisinin olduğu bilinmektedir (Lehninger ve ark., 2005; Gülçin ve ark., 2007).

Bütün maddeler kararlı yapıda olmak isterler. Serbest radikaller, son yörüngesinde ortaklanmamış elektron çifti bulunduran molekül ve atomlar kararlı yapıya geçmek için kararlı bir yapıya sahip moleküllerle tepkimeye girerek kimyasal bir reaksiyon oluştururlar (Fang ve ark., 2002).

Serbest radikallerin en büyük kaynağı canlı organizmalarında yaşamı için hayati öneme sahip olan azot ve oksijendir. Azot ve oksijen içerikli serbest radikaller canlı organizmada fizyolojik seviyede bulunduğu faydalı yararlar sağlarlar, bu seviye patolojik bir mertebeye ulaştığında canlı organizma için zarar verici sonuçlar ortaya çıkar ve erken yaşlanma, diyabet, alzheimer, kalp-damar rahatsızlıkları, katarakt ve kanser gibi hastalıklara yol açarlar (Kumar, 2011).



Şekil 1.2. Serbest radikallerin hücresel hedefleri (Burnaz, 2007)

Küçük moleküllü bir yapıya sahip olan serbest radikaller, kararlı yapıya geçme isteğinden dolayı kısa ömürlü ve aktivasyon enerjileri düşüktür. Serbet radikallerin molleküllerinin küçük bir yapıya sahip olması hücre zarından rahatlıkla geçmesine imkân sağlıyor (Jensen, 2003).

1.1.4. Fenolik bileşikler

Polifenol bileşikler ikincil metabolitler olarak adlandırılmaktadırlar. Bu bileşikler bitki yaşamının birçok işlevsel yönü için çok önem arz etmektedirler. Dokularda destekleyici ve koruyucu rolleri olan bu bileşikler, bitkilerin zararlı etkilere karşı savunmasında hayati önem taşımaktadırlar. Ayrıca bu polifenol bileşiklerin sinyalleme özellikleri sayesinde bitkiler ve bitkiler arasında etkileşimi de sağlamaktadırlar (Balasundram ve ark., 2006).

Polifenol bileşikler farklı özelliklere sahip 8000'den fazla çeşide sahiptirler. Polifenoller kimyasal yapılarına göre de 10 farklı gruba ayrılmaktadırlar. Çoğu doğada monosakkaritlerle ve polisakkaritlerle ilişkili olan fenol bileşiklerin glikozitler, metil esterler veya esterler gibi fonksiyonel türevleri vardır (Balasundram ve ark., 2006).

Fenolik bileşikler, sekonder bileşiklerin ana gruplarından biri olarak bitkilerin polenleşme, renk oluşumunu etkileyen ve bitkileri patojenlere ve radyasyon yayan

ultraviyole ışınlarına karşı koruma sağlayan bileşiklerdir. Ayrıca bitkilerin tat ve renk gibi duyu organlarımız vasıtasıyla algıladığımız duysal özelliklerindeki bu bileşikler etkilemektedirler. Fenolik bileşikler polimerik, oligomerik ve monomerik gibi gruplar şeklinde isimlendirilmektedir. Bu gruplandırma ve isimlendirmeler, fenolik bileşiğin içerdiği hidroksil grubuna, benzen halkası sayısına ve fonksiyonel grup içeriğine göre farklılaşmaktadır (Martinez, 2007).

Antioksidan içeriğe sahip bileşikler içeren fenolik bileşiklerin en doğal sınıflarından biridir. Bunlar bir veya daha fazla aromatik halkadan oluşan, bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren moleküllerdir. Kimyasal olarak polifenoller fenolik asit benzeri birkaç gruba ayrılmaktadırlar. Polifenoller bitkilerde, sebzelerde, çayda, kahvede, baklalarda ve diğer içecek ile gıdalarda bulunurlar (Manach ve ark., 2004).

Fenolik bileşikler veya diğer adıyla polifenoller benzen halkasına en az bir hidroksil iyonunun bağlanmasıyla oluşan bileşiklerdir. Bitkilerin içeriğinde en fazla bulunan bileşikler fenol bileşiklerdir. Fenol bileşikler fitokimyasal bileşiklerinde geniş ve önemli bir kısmını oluşturmaktadırlar. Fenol bileşiklerin bir bölümü sebze ve meyvelere lezzetini veren tat ve çeşitli renklerde görüntü sağlayan renkler vermektedirler. Sebze ve meyvelerin kilogramında yaklaşık 1 ile 3 miligram arası fenol bileşikler bulunmaktadır (Ayhancı, 2019).

Polifenoller yapılarına göre flavonoidler ve fenolik asitler olarak iki ana gruba ayrılmaktadır.

1.1.4.1. Flavonoidler

Bitkilerin polifenol içeriklerinin en fazla olan grubu flavonoidlerdir. Flavonoidler doğada doğal halde bulunan fenolik bileşiklerin yarısından fazlası olan 8000 fenolik bileşik türünü içermektedirler. Flavonoidler düşük molekül ağırlıklı, yapısında 15 karbon elementi bulunduran difenilpropan ($C_6-C_3-C_6$) yapısına sahip propan zincirinin 2 fenil halkasını birbirine bağlamasıyla meydana gelen bileşiklerdir (Balasundram ve ark., 2006).

Bitkilerde bulunan flavonoidler, küçük molekül ağırlığına sahip olup insan sağlığı açısından çok faydalı olan doğal bileşiklerdir (So ve ark., 1997; Sghaier ve ark., 2011).

Flavonoidler, polifenollerin aşağı yukarı %60'ını oluştururlar. Bu zamana kadar

tanımlanan flavonoid bileşik sayısı 4000'in üzerindedir. Flavonoid bileşiklerin en sık bulunan türleri flavonlar ve flavonol bileşiklerdir. Çıplak gözle görülebilen, en bilinen flavonoid bileşikler renkli olan antosiyaninlerdir. Meyve ve sebzelere mavi, menekşe, kırmızı, mor, turuncu gibi renkleri veren pigmentleri meydana getirirler. Bu özelliklerinden dolayı bir flavonoid türü olan antosiyaninler doğal renklendirici olarak gıda maddelerinde kullanılmaktadırlar (Ayhancı, 2019).

Flavonoidlerde moleküler yapılarına göre; flavonoller, flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar, antosiyanidinler ve flavanoller olmak üzere 6 sınıfa ayrılmaktadırlar.

1.1.4.2.Fenolik asitler

Fenolik asitler, serbest veya bağlı halde bitkilerin yapısında bulunan besin değeri yüksek olan fenollerin ortalama üçte birine denk gelmektedirler. Genellikle bağlı halde bulunan fenolik asitler asetal, eter veya ester gibi organik yapıya sahip zincirler aracılığıyla çeşitli bitki içeriklerine bağlanmış olabilirler. Farklı ekstraksiyon şartlarına ve bozunma duyarlılıklarına karşı fenolik asitlerin yapılarına bağlı olarak fenolik asitler değişen etkiler gösterirler. Fenolik asitlerde yapılarına göre iki farklı gruba ayrılmaktadırlar. Bu gruplar hidroksisinnamik asit ve hidroksibenzoik asit olmak üzere iki fenolik asit grubu vardır. Yapılarındaki metoksi ve hidroksi grup sayısı ve bağlanma şekillerine göre hidroksibenzoik asitlerde farklı gruplara ayrılabilirler. (Ignat ve ark., 2011)

Fenolik asitler, antioksidan özellikleri sayesinde kanserojen maddelerin oluşumlarını engellemektedirler. Gıdaların hazırlanması ve gastrointestinal sistemlerde bulunan fenolik asit türü maddeler kanserojen maddelere karşı etkindirler. Bu etkinin en büyük sebebi fenolik asit bileşiklerinin antioksidan aktivitelerinin yüksekliğinden kaynaklanmaktadır. Fenolik asit içerikleri zengin olan, sebze, meyve ve bitkiler antiviral ve antimikrobiyal etkiye de sahiptirler. Fenolik asitlerin yanında polifenoller de antimikrobiyal etkinin kaynaklarından. (Acar ve Gökmen, 2005)

Fenolik asitlerin önemli bir grubu olan hidroksibenzoik asitlerinin önemli türleri olan şiringik asit, gallik asit, vanilik asit, p-hidroksibenzoik asit ve protokateşuik asit gibi üyeleri çoğunlukla C₆-C₃ yapısına sahiptirler. (Ignat ve ark., 2011)

1.1.5. Bitkilerin fenolik madde içeriği

Fenolik yönden zengin olan bitkilerin genellikle antioksidan kapasiteleri de yüksek olmaktadır. *H. siirtensis* ekstraktlarının fenolik madde içerikleri GC-MS ve UHPLC cihazları yardımıyla bulunmuştur.

1.1.6. Antimikrobiyal aktivite

Mikrobiyal organizmaları engelleyen ve onları yok eden maddelerdir. Bunlar bakteri veya mantarlardır. Antibakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin son zamanlarda kullanımı artmaktadır. Aşırı ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı bu mikropların ilaca karşı direncini artırmakta ve ilacın etkisini azaltmaktadır. Bu durum sağlık açısından büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Romulo ve ark., 2018; Silva ve ark., 2018).

Antimikrobiyaller sentetik ve doğal kimyasal maddelerden oluşup mikroorganizmaların üremesini durduran veya öldüren yapıya sahiptirler. Antimikrobiyallerin mikroorganizmalar üzerine etkisi üreme sistemlerini durdurucu veya engelleyici şekilde olabilir. Sidal maddeler organizmaları öldüren maddelerdir. Sidal maddeler öldürdüğü organizmanın cinsini işaret eden ön ek alırlar. Örneğin fungusları öldüren sidaller fungusidal maddeler, bakterileri öldüren sidaller bakteriyosidal maddeler olarak adlandırılmaktadırlar. Statik maddeler ise organizmanın yalnızca üreme sistemini durdurmaktadırlar, organizmayı yok etmemektedirler. Statik maddelerde, sidal maddeler gibi etki ettikleri organizmaların ön ekini alırlar. Bakterilere etki edenler bakteriyostatik, funguslara etki edenler fungistatik maddeler olarak adlandırılmaktadırlar (Madigan ve ark., 2006).

1.1.6.1. Kullanılan mikroorganizmalar

Test amaçlı *Esheria coli bakteri türü* ve *Staphylococcus aureus* bakteri türü kullanılmıştır.

1.1.6.1.1. *Esheria coli* (*E. coli*)

Esheria coli bakteri türü 1885 yılında Theodor Escherich tarafından tanımlanmıştır. Theodor Escherich tarafından tanımlanan ve canlılarda üriner

metabolizma siteminde enfeksiyonun en çok görülen sebeplerinden olan *Escherichia coli* bakteri türü insanların ve hayvanların gastroental sistem florasında bulunmaktadır (Uçar ve ark., 2015).

Anaerob ve gram-negatif bir özelliğe sahip olan *Escherichia coli* bakteri türü Enterobacteriaceae familyasına aittir. Gastrointestinal sistem ve özellikle de insan bağırsaklarında yaşayan bu bakteri türü, üriner sistem rahatsızlıklarının yanında neonatal menenjit, bakteriyel enfeksiyon ve gastroenterite gibi hastalıklara yol açmaktadır (Altuner, 2008).

1.1.6.1.2. *Staphylococcus aureus* (S. aureus)

Ağaç kökü şeklinde yapısal bir görüntüsü olan *Staphylococcus aureus* bakteri türü *Staphylococcaceae* familyasına aittir. İnsan vücuduna girdiği zaman mukoza ve deride koloni oluşturarak hastalıklara sebebiyet verebilen *Staphylococcus aureus* bakterisi gram-pozitif bir bakteri türüdür. *Staphylococcus aureus* bakteri türü apse, haşlanmış deri sendromu, deri enfeksiyonları, yanık, cilt kabarıklığı, çıban, impetigo, selülit, gibi hastalıkların yanında daha ciddi olan septemi menenjit toksik şok sendromu, pnömoni ve osteomiyelit gibi hastalıklara da sebebiyet verebilmektedirler (Altuner, 2008).

1.1.6.2. Delik agar difüzyon yöntemi

Delik agar difüzyon yöntemi hem kolay uygulanabilir olması hem de ekonomik bir yöntem olduğundan antibakteriyel aktivite testi olarak en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntemde disk üzerine katı besiyeri eklenir. Disk üzerine eklenmiş besiyerinin üzerinde yuvarlak bir kuyucuk açılır. Bu açılan kuyucuğun içerisine antibakteriyel madde örneği doldurulur. Bu antibakteriyel maddenin etkisiyle kuyucuğun etrafında bir inhibisyon zonu oluşur. Bu zonun büyüklüğü antibakteriyal maddenin difüzyon katsayısı, antibakteriyel maddenin miktarı ve maddenin toplam etkisiyle orantılı bir şekilde değişmektedir. Maddenin antibakteriyel etkisiyle oluşan zon çapları maddenin antibakteriyel aktivitesini belirlemektedir. Bu yöntem benzer şekilde patojenlerin antibiyotik hassasiyetini belirleme amaçlı da kullanılmaktadır (Madigan ve ark., 2006; Şahin, 2006).

1.1.7. Toplam fenolik madde miktarı

Toplam fenolik madde miktarının ölçümü için Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) yöntemi kullanılmıştır.

1.1.7.1. Folin-ciocalteu reaktifi (FCR) yöntemi ile toplam fenolik bileşik tayini

Folin-Ciocalteu Reaktifi Yöntemi (FCR) çeşitli olumsuzluklara rağmen toplam fenol bileşik miktarlarının belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemdir.

Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) yöntemi ile toplam fenolik bileşik tayini yapılmaktadır. FCR olarak adlandırılan bu yöntemde indirgeyici bir özelliğe sahip fenolik bileşiklerden molipdenyuma elektron geçişi mantığına dayanmaktadır. 750-765 nm aralığında spektrofotometrik olarak ölçülebilen bu yöntemde mavi renkli kompleks meydana gelmektedir. Bu yöntemde gallik asit standart çözelti olarak kullanılmaktadır. Elde edilen sonuçlar gallik asidin eş değeri olarak bulunmaktadır (Albayrak ve ark., 2010).

1.1.8. Antioksidan maddeler

Antioksidan maddeler canlı sağlığı için zararlı etkiler meydana getiren serbest radikallere karşı bağışıklık sistemiyle beraber canlıların sağlığını korur, iltihaplanma, anemi, astım gibi hastalıklara karşı korur ve yaşlanmayı geciktirirler (Makari ve ark., 2008).

Antioksidanlar, düşük konsantrasyonda bulunan herhangi bir madde olarak tanımlanabilmektedir. Oksitlenmiş substrat, substratın oksidasyonunu inhibe eder veya kuvvetli bir şekilde geciktirmektedirler (Halliwell ve Gutteridge, 2015).

Antioksidanlar, moleküller yapılarında bulunan ortaklanmamış elektron bulunan bundan dolayı çok kararsız olan ve sağlık için tehdit oluşturan serbest radikallere karşı vücut savunmasında önemli bir yere sahiptirler. Serbest radikal gibi organizmaya zarar verici yapılara karşı organizmayı koruyan antioksidanlar, hücreyi bu zarar verici yapılara karşı korumakta, yaşlanmayı geciktirmekte ve hastalıklara karşı korumaktadır. Antioksidanların bu yararlarından dolayı büyük bir doğal antioksidan kaynağı olan bitkilerin antioksidan aktivitelerinin ölçümü önemlidir. Her geçen gün antioksidanlar üzerine yapılan çalışmalar artmaktadır (Albayrak ve ark., 2010; Yabalak ve Gizir,

2017).

Serbest radikaller, oksidasyona sebep olmaktadır. Sebze, meyve ve bitkilerde bolca bulunan antioksidanlar serbest radikallerin bu zararlı etkilerini yavaşlatmakta veya durdurmaktadırlar. Canlı organizmalarında veya tüketilen gıdalarda bulunan karbonhidratların, nükleik asitlerin, proteinlerin ve lipitlerin serbest radikallerce oksidasyonu neticesinde canlı sağlığına zarar verici, hastalık yapıcı zararlı bileşenler meydana getirmektedirler. Canlı organizmasında meydana gelen canlı organizmasına zarar verici bu sürece oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır (Halliwell, 2007).

Aşırı serbest radikal üretme anlamına gelen oksidatif stres birçok hastalığın sebebidir. Bunun yanında patojenlerin ve bozuklukların meydana gelmesinde etkin olduğunu gösteren birçok bilimsel çalışma mevcuttur. Bu hastalık yapıcı ve insan sağlığına zarar verici serbest radikalleri etkisiz hale getiren antioksidanların önemi giderek artmakta, antioksidanlarla ilgili bilim insanlarının çalışmaları artmaktadır (Zhao ve ark., 2006; Halliwell, 2007).

Antioksidanlar serbet radikallere, oksidanlara karşı organizmayı 4 farklı yöntemle korumaktadırlar. Bu yöntemlerin birincisi E vitamini ve hemoglobin tarafından yapılan ve zincir koparma etkisi olarak adlandırılan oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen yöntemdir. İkinci yöntem ise oksidanların yapılarını bozarak güçlü olmayan bir molekül haline dönüştürerek zayıflatan temizleme etkidir. Üçüncü yöntem oksidanların organizma içerisinde oluşturdukları tahribatı onarma şeklinde meydana gelen onarma etkisidir. Dördüncü ve son yöntem ise çoğunlukla flavonoidler tarafından yapılan hidrojen göndererek oksidanları etkisiz hale getirme yöntemi olan baskılama yöntemidir (Meral ve ark., 2012).

Canlılar kendilerini serbest radikal gibi toksik madde içeren tehditlere karşı korumak amacıyla savunma sistemleri geliştirmektedirler. Serbest radikal gibi toksik madde içeren ve sağlık için büyük tehdit oluşturan bu zararlılara karşı en büyük savunma sistemi antioksidanlardır. Antioksidanlar hücre yapısını bozucu serbest radikallerle reaksiyona girerek onları etkisizleştirmektedirler. Serbest radikaller zincir reaksiyonlarıyla diyabet, kanser, kalp hastalıkları gibi birçok hastalığa sebebiyet vermektedir. Antioksidan moleküller bu serbest radikallerin hastalıklara sebebiyet veren zincir reaksiyonlarını etkisizleştirerek yok etmekte veya etkisini azaltmaktadırlar (Kahkonen ve ark., 1999; Nagai ve ark., 2005).

1.1.8.1. Antioksidanların sınıflandırması

Antioksidan maddeler endojen ve eksojen antioksidan maddeler olmak üzere iki ayrı gruba ayrılmaktadırlar.

1.1.8.1.1. Endojen antioksidanlar

Endojen antioksidanlar vücut tarafından üretilen antioksidanlardır. Endojen antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olmak üzere iki ayrı gruba ayrılmaktadırlar. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) enzimleri vücut tarafından üretilip enzimatik antioksidanlardır. Koenzim Q10, glutatyon, transferrin ürik asit, bilirubin, albumin, melatonin, selenyum, seruloplazmin, α -lipoik asit enzimleride aynı şekilde vücut tarafından üretilip nonenzimatik antioksidanlara örneklerdir.

Endojen antioksidan maddeler, üreik asit türü küçük moleküller, metal bağlayıcı olan transferrin ve ferritin gibi proteinler, katalaz ve peroksidaz gibi peroksit uzaklaştırıcı enzimler, glutatyon gibi maddelerdir. Bu antioksidanların bir türü olan endojenlerin hepsi metabolizmayı reaktif türlerin zararlı etkilerine karşı korumaktadırlar (Bursal, 2009).

1.1.8.1.2. Eksojen antioksidanlar

Vücuda dışardan alınan eksojen antioksidanlar; gıda, vitamin, ilaç gibi antioksidan maddelerdir. Vitaminlere A vitamini (retinol), C vitamini (Askorbik asit), E vitamini (Alfa-tokoferol) şeklinde örnekler verilebilir (Harold, 2006).

Eksojen antioksidanlar bitki, sebze ve meyve gibi gıdaların yapısında bulunan doğal antioksidanlar ve laboratuvar şartlarında oluşturulan sentetik antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar.

Antioksidan maddeler organizmayı zararlı etkilere karşı korumaktadır. Vücut içi savunma sistemi kuvvetlendiren endojen antioksidanların organizmadaki savunma sistemlerini güçlendirmek için takviye amaçlı dışardan antioksidan maddeler alınmalıdır. Dışardan alınan bu antioksidan maddeler, eksojen savunma sistemi olarak ifade edilmektedir (Halliwell, 1991).

1.1.9. Antibakteriyel aktivite

20. Yüzyıl'da antibiyotikler keşfedilmiştir. Antibiyotiklerin keşfine kadar dünyadaki ölümlerin büyük bir kısmı enfeksiyon hastalıklarından kaynaklanmaktaydı. Antibiyotiklerin keşfiyle beraber bu enfeksiyonlardan kaynaklı ölüm sayılarında büyük bir azalma meydana gelmiştir. Günümüzde mikroorganizmalar antibiyotiklere karşı direnç kazanmaya başlamıştır. Bu direncin en büyük sebebi çok sayıda antibiyotik ilaçlarının tüketilmesinden kaynaklanmaktadır. Hatta antibiyotik ilaçlara karşı mikroorganizmaların dirençlerinin giderek artacağı ve bu mikroorganizma kaynaklı enfeksiyon hastalıklarının insanlığın sonunu getireceği öne sürülmektedir. Bu nedenle mikroorganizmalara karşı yeni ve alternatif antibiyotik ilaçları geliştirilmelidir. Bundan dolayı son dönemlerde doğal kaynaklardan özellikle de bitkilerden elde edilecek antimikrobiyal özelliğe sahip enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılabilecek doğal bileşikler üzerine çalışmalar hızlanmakta ve sayıca her gün artmaktadır. Bu antimikrobiyal özellik taşıyan doğal bileşiklerin antibiyotiklere alternatif olabileceği düşünülmektedir (Ayhancı, 2019).

1.1.10. Nem tayini

Toz haline getirilmiş bitki numunesini kurutma amaçlı kullanılacak kurutma kapları 2 saat boyunca 105 °C'de etüvde kurutulduktan sonra nem kapmaması için oda sıcaklığında desikatörde soğutulmaktadır. Bu kurutma işleminde sonra numune kapları hassas teraziyle tartılarak içerisine daha önce hassas teraziyle tartılmış bitki numunesinden konularak sabit tartıma gelmesi için 8 saat boyunca 105 °C'de etüvde kurutulmaktadır. Bu kurutma işleminden sonra numune, hassas teraziyle tartıldıktan sonra başlangıç miktarıyla arasındaki fark bitki numunesinin nem miktarını vermektedir.

Toz haline getirilmiş bitki numunelerinin nem içerik miktarı nem içeriklerini otomatik belirleyen nem ölçüm cihazlarıyla belirlenmektedir. Bulunan nemin yüzde miktarı da toz haline getirilmiş kuru bitki numunesine göre belirlenmektedir.

1.1.11. Kül tayini

Kül tayini için toz haline getirilmiş bitki numuneleri tartılarak kül fırınında beyaz kül elde edilinceye kadar yakılmaktadır. Yakıldıktan sonra da kalan beyaz kül tartılarak beyaz kül miktarı bulunmaktadır. Tartılan beyaz kül miktarının yüzdece miktarı da başlangıçta tartılarak kül fırınına alınan toplam toz haline getirilmiş bitki numunesinin ağırlığına göre bulunmaktadır.

1.1.12. Yağ tayini

Toz haline getirilmiş bitki numunelerinin toplam yağ miktarları ekstraksiyon yöntemlerine göre bulunmaktadır. Toz haline getirilmiş bitki numuneleri tartılarak ekstre edilmektedir. Ekstraksiyon sonucunda ekstraksiyonda kullanılan çözücü uzaklaştırılmaktadır. Ekstraksiyon sonucunda elde edilen yağ ekstraktı desikatörde soğutulularak tartılmaktadır. Yapılan tartım sonucunda yağ miktarı tayin edilmektedir. Ayrıca yağ miktarının yüzdece oranı başlangıçta tartılan toz haline getirilen bitki numunesine göre belirlenmektedir.

1.1.13. Renk tayini

Toz haline getirilmiş bitkilerinin ekstraksiyonu sonucu elde edilmiş bitki ekstraktının rengi renk tayin cihazı kullanılarak belirlenmektedir. Bitki ekstraktının renk tepitinde kullanılan renk tayin cihazının kalibrasyonu saf su ile yapılmakta, renk tespiti yapılacak bitki ekstraktının elde edilmiş numuneleri de cihazın küvetine yerleştirilip bitki ekstraktının L^* , a^* ve b^* renk değerleri ayrı ayrı bütün ekstraksiyon yöntemleri için bulunmaktadır.

1.1.14. pH tayini

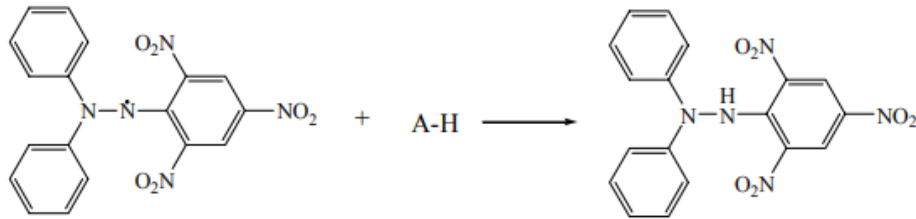
Toz haline getirilmiş bitki numunelerinden belli bir miktar alınarak su içerisine konup uzun bir süre bekletilerek karıştırılmaktadır. Karıştırılan çözeltinin pH'sı oda sıcaklığında pH metre ile ölçülmektedir.

1.1.15. Antioksidan tayin yöntemi

1.1.15.1. DPPH Serbest radikal giderim yöntemi

DPPH yöntemi antioksidanların serbest radikal giderme aktivitelerini belirleyen en önemli ve en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Bu serbest radikal giderme aktivitelerini gidermede kullanılan DPPH yönteminin en avantajlı yönlerinden bazıları sonuçlarının hızlı ve çabuk olması, yüksek güvenilirlikli, düşük maliyetli olması, kolay uygulanabilir olmasıdır. Aynı şekilde spektrometre ile çok sayıda ölçüm kısa sürede yapılabilir (Fukumoto ve Mazza, 2000).

DPPH yönteminin dezavantajlarından bazıları antioksidan özelliğe sahip oldukları halde sterik engelden dolayı antioksidan maddeyle reaksiyona girmemesi veya cevap verme süresinin gecikmesi, antioksidan reaksiyon grafiğiyle DPPH arasında meydana gelen reaksiyon kinetiğinin DPPH derişimi ile doğrusal bir değişkenlik göstermemesi ve bazı antioksidan türleriyle, örneğin eugenol ile geri dönüşümlü reaksiyon vermesi (Huang ve ark., 2005).

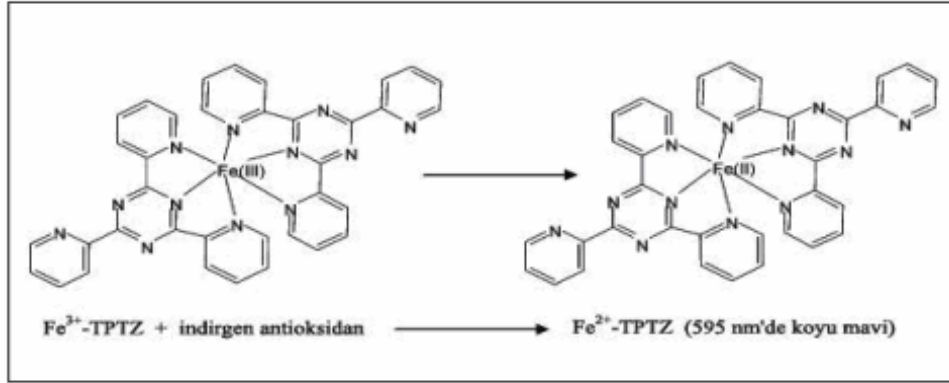


Şekil 1.3. DPPH molekülünün antioksidan madde ile reaksiyonu (Blois, 1958)

1.1.15.2. FRAP Demir iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini

FRAP (Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan gücü) Metodu Fe^{+3} iyonunun indirgeme gücünden yararlanılarak Benzie ve Strain tarafından plazmanın antioksidan kapasitesini ölçmek için geliştirilmiştir. FRAP (Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü) metoduna göre düşük pH ortamında indirgen özelliğe sahip antioksidan sayesinde demir (III) tripridiltiazin kompleksini demir (II) tripridiltiazin kompleksine indirgemektedir. Yoğun mavi renk şeklinde bir görüntüye sahip bu oluşan demir (II) tripridiltiazin kompleksi absorbans olarak 593 nm'de maksimum absorbans kapasitesine sahiptir. 3,6 gibi düşük pH'larda demirin indirgenmesi sonucu demirli

tripridiltiazin kompleksinin meydana gelmesini sağlamaktadır (Benzie ve Strain, 1996).



Şekil 1.4. Demir (III)'ün indirgenme reaksiyonu (Aydın, 2016)

1.1.16. Mineral ve eser element içeriği

1.1.16.1. İndüktif eşleşmiş plazma - optik emisyon spektrometrisi (ICP-OES)

ICP-OES (indüktif olarak bağlı plazma-optik emisyon spektrometrisi), düşük konsantrasyonları (aralık: ppb = milyar başına kısım = $\mu\text{g} / \text{L}$) ve çok düşük element konsantrasyonlarını (aralık: ppt = trilyonda parça = ng / L). Atomik elementler, iyonize oldukları bir plazma kaynağından geçer.

İndüktif eşleşmiş (çiftleşmiş) plazma-optik emisyon spektrometresi (ICP– OES), büyük derişimlerdeki katyon ve bu derişimlere yakın elektron içeren plazmada, iyon ve atomların uyarılması ile bu iyon ve atomlardan yayılan ışınların emisyon şiddetinin cihazın bünyesinde bulunan dedektör yardımıyla analizi yapılmak istenen analitlerin numune içerisindeki miktarı ile eşleştirilmesi prensibine göre çalışır. İndüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (ICP– OES), organik çözücü ve suda çözünebilen analitlerin hem kalitatif hem de kantitatif analizlerinde kullanılır. ICP (İndüktif olarak eşleşmiş plazma) cihazı yardımıyla tüm metalik elementlerin analizi yapılabilinmekte (Gündüz, 2007).

İndüktif olarak bağlı plazma-optik emisyon spektrometrisi (ICP-OES), atomik absorpsiyon spektroskopisine (AAS) göre analizlerde daha geniş bir çalışma alanına sahiptir. Konsantrasyonları farklı ve çok düşük olan, birlikte bulunan birden fazla elementini aynı anda analiz etme özelliğine sahiptir. Bunun yanında refrakter

elementlerin analizlerinde de daha doğru sonuçlar vermesi gibi özelliklerinden dolayı ICP-OES cihazı metal analizlerinde öne çıkmaktadır (Gündüz, 2007).

1.1.16.2. İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektroskopisi (ICP-MS)

ICP-MS (indüktif olarak bağlı plazma-kütle spektrometrisi), düşük konsantrasyonları (aralık: ppb = milyar başına kısım = $\mu\text{g} / \text{L}$) ve çok düşük element konsantrasyonlarını (aralık: ppt = trilyonda parça = ng / L). Atomik elementler, iyonize oldukları bir plazma kaynağından geçer. Daha sonra bu iyonlar kütlelerine göre sıralanır. ICP-MS tekniğinin AAS (Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi) veya ICP-OES (indüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi) üzerindeki avantajları şunlardır:

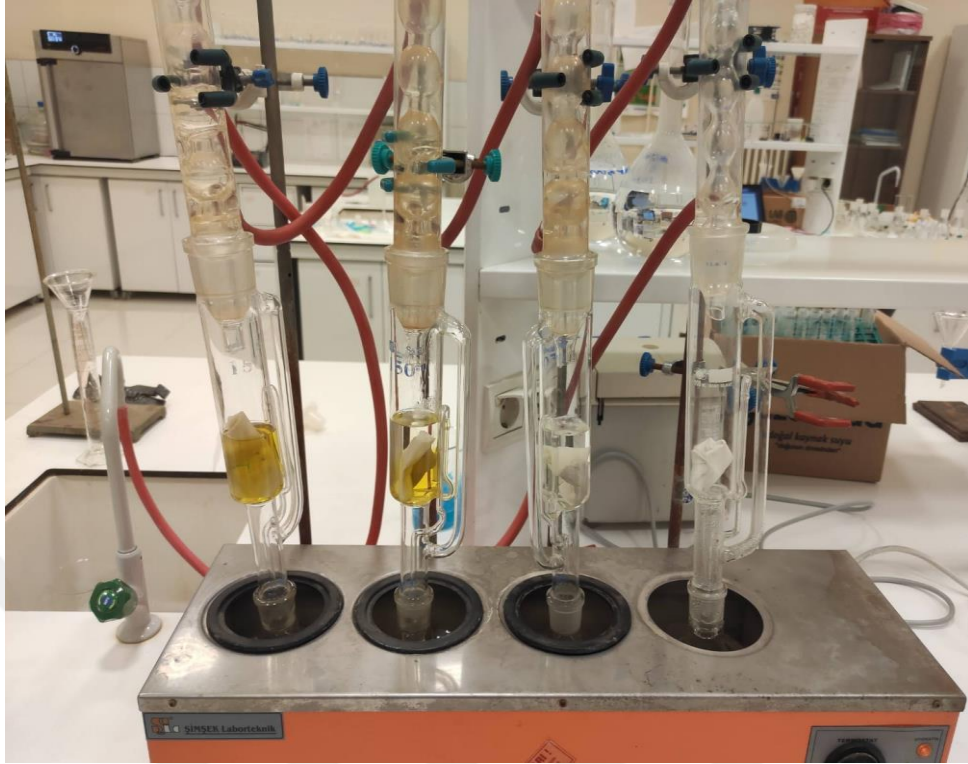
İzotop özelliğe sahip elementlerin izotop bileşimini tesbit etme özelliği, son derece düşük konsantrasyondaki numune örneklerini algılama sınırlarının yükseklikleri ve geniş bir doğrusal aralığa sahip olmalarıdır.

1.1.17. Ekstraksiyon yöntemleri

Esansiyel yağlar farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilmektedirler. Esansiyel yağ verimini artırmak için uygun şartlarda uygun yöntemleri seçmek lazım. Bitkilerin esansiyel yağ verimi bitkilerin bozunma hassasiyetine, bitkilerin toplanma zamanına, miktarına, depolama ve kurutma koşullarına, bitkilerin içerdiği uçucu yağların hassasiyetlerine, öğütme ve parçalama şartlarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedirler (Cellat, 2011).

1.1.17.1. Soxhlet ekstraksiyon yöntemi

19 yüzyılın sonlarında keşfedilen soxhlet yöntemi ismini aldığı Franz Von Soxhlet tarafından bulunmuş ve geliştirilmiştir. Keşfedildiği günden günümüze kadar uzun yıllardır geniş çapta kullanılmaktadır. Soxhlet yöntemi kullanılırken bu yöntemle ekstre edilecek bitki için farklı uygun bir sıcaklık ve çözücü belirlenmelidir. Kullanılan çözücü ve sıcaklıklar bitki ekstraktığı önemli ölçüde etkilemektedir (Wang ve Weller, 2006; De Castro ve Priego-Capote, 2010).



Şekil 1.4. Soxhlet ekstraksiyon düzeneği

1.1.17.2. Maserasyon yöntemi

Maserasyon ekstraksiyon yönteminde, kurutulmuş ve öğütücüde toz haline getirilmiş bitki numuneleri kapalı bir kap içerisinde çözücü ile beraber alınır. Bu numuneler inkübatörde istenilen zaman aralığı ve sıcaklıkta bekletilir. Bu işlemlerin devamında filtrasyon yöntemi uygulanır ve maserasyon yöntemiyle yapılan ekstraksiyon bitirilmiş olur. Bu yöntemde kullanılacak çözücünün etkisini ve maddeyle etkileşimini artırma dolayısıyla maserasyon yönteminin etkinliğini artırma amaçlı numunenin bulunduğu kaba çalkalama işlemi uygulanır. Maserasyon yönteminde ekstraksiyon çalkalamalı inkübatörde istenilen en uygun sıcaklık uygulanarak ekstrakt elde edilir (Handa, 2008).



Şekil 1.5. Maserasyon ekstraksiyon düzeneği

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Muthuraj ve ark. (2015) çalışmalarında bitkilerin antibakteriyal aktivitesi ve kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi amaçlanmış olup GC-MS analizi sonucu bitkide 47 bileşen izole edilmiştir. Tıbbi öneme sahip geniş bir yelpazede bileşikler tanımlanmıştır.

Ergüt (2015) çalışmasında meyve sularında kullanılan limon ve portakalların atık posalarındaki fenolik maddelerin süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemiyle eldesi amaçlanmaktadır. Soxhlet yöntemi kullanılarak ekstraksiyonu etkileyen çözücü, süre, basınç ve sıcaklık gibi etmenlerin ekstraksiyona etkisi incelenmiştir. Limon için en iyi ekstraksiyon verimi çözücü olarak etanol kullanıldığında 100 bar basınçta ve 50 °C'de ulaşılmıştır. Portakal için en iyi ekstraksiyon verimi ise aynı şekilde çözücü olarak etanol kullanıldığında ise 200 bar basınç ve 40 °C sıcaklıkta ulaşıldığı görülmektedir.

Alaca (2018) çalışmasında Van ilinde bulunan 10 farklı yabancı bitkilerin gıda kalite özellikleri ile antioksidan aktiviteleri ve fenolik madde özellikleri incelenmiştir. Bu bitkilerin kuru gıda, yağ, protein ve pH aralıkları bulunmuştur. En yüksek antioksidan ve fenolik madde miktarlarının *evelik* bitkisinde olduğu tespit edilmiştir. Bu bitkilerden şiringik asit sadece kişnişte tesbit edilmiştir. Araştırma sonucunda bu gıdaları iyi bir antioksidan kaynağı olduğu ve fenolik madde açısından da elverişli olduğu görülmüştür.

İbrahim (2020) çalışmasında *Verbascum pseudoholotrichum* Hub-Mor. (*V. pseudoholotrichum*) *Scrophulariaceae* familyasına ait bitki Türkiye'de ender bulunan türlerden olup bitkiyle ilgili ICP-MS kullanılarak 24 çeşit element analizi yapıldı. Soxhlet Ekstraksiyon yöntemi kullanılarak ekstre edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile bulunmuştur. Antioksidan aktivitesi DPPH radikal süpürme aktivite analizi yöntemiyle bulundu. GC-MS analizi ile 38 çeşit fenolik madde tespit edildi. Antimikrobiyal aktivitesi spektrometrik mikrodilüsyon yöntemiyle tespit edildi ve *E. coli*'ye karşı dayanıklılık göstermediği görülmüştür.

Qayyum ve ark. (2016) çalışmalarında *Heliotropium strigosum* bitkisi birçok rahatsızlık için geleneksel ilaçlarda kullanılmaktadır. Bu çalışmada ham metanol ekstraktının kloroform, etil asetat, n-hegzan ve su gibi çözücüler kullanılarak elde edilen bitki ektrat numunelerinde bulunan antioksidan, antidiyabetik aktiviteleri DPPH yöntemi, amilaz önleme deneyleri ve fenolik çeşitleri ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ile belirlenmiştir. *Heliotropium strigosum* bitkisinin ilaç

endüstrisinde potansiyel araştırmalar için araştırılabileceği önemli fenolik profillere ve güçlü biyolojik aktivitelere sahip olduğu tespit edilmiştir.

Gopalakrishnan ve ark. (2015) bu çalışmada tıbbi açıdan önemli olan ve *Rubaceae* familyasına ait *Mussaenda frondosa* bitkisinin yaprakları geleneksel olarak ülser, astım, idrar sökücü, sarılık ve cüzam gibi hastalıkların tedavisinde kullanıldığı belirtilmiş. *Mussaenda frondosa* bitkisinin etanoik özü GC-MS ile analiz edildiğinde yirmi kimyasal bileşiğin varlığı tespit edilmiştir.

Cellat (2011) alışmasında çeşitli endemik bitki yapraklarından uçucu yağlar elde etmek için subkritik su ekstraksiyonu ve su destilasyonu gibi yöntemler kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan su destilasyonu ve subkritik ekstraksiyonu yöntemleri kıyaslandığında subkritik su ekstraksiyon yönteminin daha verimli bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.

Agüero ve ark. (2011) alışmalarında tıbbi bir bitki olan *Larrea nitida* bitkisinin kimyasal ve botanik yapısıyla ilgili HPLC-ESI-MS/MS ve GC-MS cihazları kullanılarak analizler yapılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucu bu bitkinin insan sağlığı için yararlı bileşikler içerdiği tespit edilmiştir.

Aksoy ve ark. (2013) alışmalarında 1983 yılında keşfedilen nesli tükenme tehlikesiyle karşı karşıya olan *Thermopsis turcica* bitkisinin toplam fenolik yapısı, toplam antioksidan yapısı ve serbest radikal temizleme aktivitesi incelenmiştir. Bitki ekstraksiyonunda metanol ve aseton ekstraktı kullanılmıştır. Metanol ve aseton ekstraktının radikal temizleme etkisinin olduğu ve bu etkinin bitkinin fenol bileşiğiyle ilişkili olduğu tesbit edilmiştir. Metanol ekstraktının radikal temizleme ve antioksidan etkisinin aseton ekstraktından daha fazla olduğu görölmüştür. *T. Turcic* bitkisinin antioksidan kapasitesiyle doğal bir antioksidan olduğu sonucuna da varılmıştır.

Fauzi ve ark. (2017) alışmalarında Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS)'in bitkilerin biyoaktif doğal bileşiklerinin analizinde kullanım teknikleri üzerinde durulmuştur. GC-MS yönteminin bitkilerin analizinde en çok kullanılan yöntem olduğu ve özellikle esterlerin yağ analizleriyle çevredeki organik kirletici analizlerinin bu yöntemle yapıldığı belirtilmiştir.

Pirbalouti ve ark. (2013) alışmalarında kullandıkları İran'da bulunan endemik bir tür olan *S. khuzestanica* bitkisi halk arasında analjezik ve antiseptik olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada bitkinin farklı ekotiplerinin carvacrol ve uçucu yağlarının

antibakteriyel aktiviteleri araştırılmış olup bu çalışma da en yüksek aktiviteye Mangreh-II ekotipinin sahip olduğunu göstermiştir.

Hossain ve ark. (2011) çalışmalarında bir endemik bitki türü olan *Merremia borneensis* bitkisinin farklı çözücü türleriyle ekstresi sonucu elde edilen uçucu yağların toplam antioksidan ve toplam fenol içerikleriyle ilgili bir araştırma yapılmış. En yüksek değerlere sulu etanol özütü çözeltilerinde rastlanmıştır. Ayrıca kloroform özütünde flavonoidler açısından zengin olduğu gözlenmiştir. Toplam antioksidan ve toplam fenol açısından da pozitif sonuçlar elde edilmiştir.

Güzey (2017) çalışmasında endemik bir bitki olan Afyonkarahisar yöresindeki *Sideritis akmanii* türünün mineral yapısı, toplam antioksidan, toplam fenolik madde ve radikal giderme özelliği araştırılmıştır. Bitki ekstresinde aseton ve metanol çözücülerini kullanılmıştır. Fenolik madde miktarlarının metanol ekstresinde daha fazla olduğu, radikal giderici etkilerin birbirilerine yakın olduğu görülmüştür. Bu çalışmada bulunan fenol madde miktarları ve antioksidan kapasiteleri bu bitkinin antioksidatif çalışmalarda kullanılabileceği gösterilmiştir.

Tekin (2017) çalışmasında *Phytolacca americana* L. çeşitli bölümlerini kullanarak elde ettiği uçucu yağlar ve kloroform kullanılarak elde edilen ekstraktın kimyasal içeriklerini Gaz kromatografisi- Kütle Spektrometresi cihazını kullanarak analiz edilerek 82 bitki bileşeninin yapısı tespit edilmiştir.

Aumeeruddy-Elalfi ve ark. (2016) çalışmalarında endemik şifalı bitkilerden elde edilen 19 uçucu yağın tirozinaz inhibe edici aktivitesinin kinetikleri incelenmiştir. Bu çalışmada bu şifalı bitkilerin kuvvetli anti-tirozinaz olduğu ve bu bitkilerin ilaç, kozmetik ve gıda sektöründe kullanılabileceğini göstermiştir.

Benmezoug ve ark. (2020) çalışmalarında Cezayir'de bulunan *Ephedra alata*, *Genista saharae*, *Ononis angustissima* endemik şifalı bitki türlerini incelemişler. Subkritik ekstraksiyon yöntemiyle farklı zaman, sıcaklık ve basınç şartlarında ekstre edilen bitkilerin polifenollerinin miktarlarını bulmuşlar. Fenol verimlerinin çok iyi ve verimli olduğu görülmüştür.

Yapıcı (2018) çalışmasında endemik bir bitki olan *Tanacetum erzincanense* bitkisinin etil asetat ve metanol çözücülerini kullanılarak ekstrakte edilmesiyle CUPRAK, ABTS, FRAP metodları kullanılarak vitro antioksidan özellikleri incelenmiş. Toplam fenolik miktarları Folin-Ciocaltea yöntemi flavonoid miktarlarında alüminyum nitrat

kolorimetrik metoduyla belirlenmiştir. Çalışma sonucunda bitkinin antioksidan seviyesinin normların altında olduğu fenolik madde içeriğinin de orta seviyede olduğu belirtilmiştir.

Capuzzo ve ark. (2013) Süper kritik sıvı ekstaksiyon yöntemiyle bitki koku ve tatlarıyla ilgili araştırmalar yapılmıştır. Bu ekstraksiyon yöntemine her geçen gün ilginin arttığı belirtilmektedir. Günümüzde çay ve kahvenin kafeinsizleştirmesinde kullanıldığına dikkat çekilmiş ve diğer geleneksel ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırılmıştır.

Casuga ve ark. (2016) Filipinler’de bulunan bir endemik bitki olan *Broussonetia luzonica* bitkisinin yapraklarından metanol, n-hegzan ve etil asetat kullanılarak elde edilen özütlerin kimyasal bileşik içerikleri GC-MS cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda bitkinin kimyasal bileşik içeriğinin zengin olduğu ve ileride biyolojik ve farmakolojik çalışmalarda kullanılabileceği belirtilmiştir.

Cvetanović ve ark. (2018) çalışmalarında papatya çiçeğine farklı basınçlarda kritik altı su yöntemi kullanılarak elde edilen özütün biyolojik ve kimyasal içerikleri üzerine etkileri incelenmiştir. 30, 40, 45, 60, 90 barda beş farklı basınç altında ekstraksiyon yapılmıştır. Fenolik bileşikler için 45 barın üzerindeki basınçların kullanımlarının gereksiz olduğu ve 10 ve 90 basınçlarında daha iyi biyoaktiviteler sergilediği gözlenmiştir.

Dalar ve ark. (2012) çalışmalarında Doğu Anadolu Bölgesinde bulunan halk arasında şifa amaçlı kullanılan 4 farklı endemik bitkinin fenolik bileşikleri ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Bu bitkilerin yaprak ve çiçeklerinin yüksek fenol bileşik içeriği ve antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirtilmiştir.

Duarte-Almeida ve ark. (2011) çalışmalarında 3 şeker kamışı çeşidinin antioksidan aktivitesi fenolik bileşimi incelenmiştir. Şeker çeşitlerinin fenolik bileşikleri arasında farklılıklar tesbit edilmiştir. Antioksidan aktivitelerinin de Trlox çözeltisine benzer olduğu belirtilmiştir.

Elhidar ve ark. (2019) Fas bölgesine ait bir endemik bitki olan *Senecio anteuphorbium* ile ilgili çalışmalarında bu bitkiden elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesini, kimyasal bileşimini ve sinerjik etkilerini araştırmışlar. Çalışmada çoklu ilaçlara karşı dirençli patojenlerin gelişmesi yeni antimikrobiyallerin gelişimini zorlaştırıp üretim maliyetini arttırdığı belirtilmektedir. Bu amaçla *Senecio*

anteuphorbium bitkisiyle ilgili bu araştırma yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda bulaşıcı hastalıklarla ilgili umut verici sonuçlar elde edilmiştir.

Fernandes de Oliveira ve ark. (2012) Malvaceae bitkisinin 4 ayrı türünün antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik bileşik miktarı üzerine yapılan çalışmada toplam fenolik maddeyle antioksidan aktivite arasında genel olarak güçlü bir uyum olduğu belirtilmiştir. Ayrıca en iyi toplam fenolik bileşik miktarıyla antioksidan etkinin etil asetat çözümüyle elde edilen ekstraksiyon sonucunda elde edildiği ifade edilmektedir.

Fernández ve ark. (2016) çalışmalarında eski madden atığı olan topraklarla üstündeki bitkilerin iyileştirme kapasiteleriyle ilişkili araştırma yapılmıştır. Burada 118 bitkiyle toprağı iyileştirme arasındaki ilişki bitki örnekleriyle toprak numunelerinin ICP-MS cihazı kullanılarak Pb, Zn, As ve Hg metal analizleri yapılmış aralarındaki ilişki incelenmiştir.

Fierascu ve ark. (2021) çalışmalarında sentetik ilaçlara alternatif tedaviler için ilaçlarda kullanılmak üzere farklı tıbbi ve aromatik bitkilerden doğal bileşikler elde edilmiştir. Bu çalışmada yenilikçi uygulamaların geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

Ceran (2018) bu çalışmasında Türkiye 'nin farklı yörelerinde edilen fındıkların zar ve küspelerinde bulunan antioksidan etkileri ve fenolik madde miktarlarını incelenmiştir. Bu çalışmada en yüksek protein ve yağ oranlarının Giresun yöresi fındıklarında olduğu antioksidan aktivitenin ise en yüksek Giresun-Akçakoca yöresine ait olduğu bulunmuştur. Karbonhidrat oranının fındık zarında daha fazla olduğu ve aynı şekilde toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitenin de zarda daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Herzi ve ark. (2013) çalışmalarında *Tetraclinis articulata* yaprakları 3 farklı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak ekstre edilerek antioksidan aktivite, verim ve kimyasal bileşimleri bulunmuştur. Burada kimyasal bileşikler GS-FİD ve GC-MS yöntemleriyle, antioksidan aktiviteleride ABST ve DPPH yöntemleri kullanılarak bulunmuştur. Bu çalışmada en iyi sonuçlar süper kritik akışkan ekstraksiyon yönteminde bulunmuştur.

Emire Uygun (2020) yaptığı çalışmada endemik bir bitki olan halk arasında şifalı bitki olarak kullanılan *Origanum munzurense* bitkisinin farklı şartlarda farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak bu endemik bitkinin antioksidan aktivitesi

kimyasal bileşimi, toplam fenolik bileşimi ve metal içeriğiyle ilgili geniş kapsamlı bir çalışma yapılmıştır. Çalışma sonucunda bitkiden elde edilen uçucu yağın yüksek bir antibakteriyel bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan genotosisite analizinde bitkinin G2 hücreleri üzerinde genetik hasarlara yol açmadığı gözlemlenmiştir.

Tartıcı (2020) çalışmalarında brokoli ile farklı ekstraksiyon yöntemleri farklı değişkenler kullanılarak en verimli ekstraksiyon şartları belirlenmiştir. Kullanılan üç farklı ekstraksiyon içerisinde en verimli olanın bulunan değerlerle mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi olduğu sonucuna varılmıştır.

Huyut ve ark. (2017) çalışmalarında sentetik antioksidanların zararları nedeniyle yeni doğal antioksidanların gıda ve içecekleri kullanabilirlikleri üzerine araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada kullanılan doğal antioksidanlar referans antioksidanlarla karşılaştırıldığında bu çalışmada kullanılan doğal yeni antioksidan bileşiklerin yiyecek ve ilaçları koruma amaçlı kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Torun (2019) çalışmasında farklı yörelerdeki sumak bitkisinin farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen özütün antioksidan özelliği ve toplam fenolik madde içeriğiyle ilgili bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada en yüksek toplam fenolik madde içeriğine etanol ekstraktı kullanılarak elde edilen Silifke sumağında ulaşılmıştır. HPLC cihazı kullanılarak tüm örneklerde en çok bulunan asit çeşitleri gallik asit ve klorojenik asit olmuştur. Ayrıca en yüksek fenolik asit etanol ekstraktı kullanılan Aydın yöresindeki üründen elde edildiği görülmüştür.

Chalchat ve ark. (2010) çalışmalarında turşu otu ve mersin otundan çeşitli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen esansiyel yağların analizi GC-MS ile yapılmıştır. Analiz sonucunda bu bitkilerin çeşitli bileşikler içerdiği tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin derişimlerinin uygulanan ekstraksiyon yöntemine göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

Jugreet ve ark. (2020) çalışmalarında Mauritius'tan 9 endemik şifalı bitkinin antibiyotik aktiviteleri üzerinde araştırma yapılmıştır. Bu endemik bitkilerin 8 bakteriye karşı antibakteriyel etkileri test edilmiştir. Testler sonucunda bu endemik bitkilerin çeşitli derecelerde antibakteriyel etkiye sahip oldukları görülmüştür.

Kamila ve ark. (2017) çalışmalarında Doğu Hindista'a ait olan bir endemik bitki olan *H. gaitii*'den elde edilen esansiyel yağların kimyasal bileşimi GC-MS cihazı

kullanılarak bulundu. Analiz sonucunda kırk bileşiğin varlığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde 3 farklı yöntem kullanılarak bu endemik bitkinin antioksidan kapasiteleri tespit edilmiştir.

Khanam ve ark. (2012) çalışmalarında 8 yapraklı sebzenin antioksidan kapasiteleri ve fenolik madde içerikleri analiz edilmiştir. Fenolik bileşikler içerisinde en fazla miktarda salisilik asite rastlanmıştır. Toplam antioksidan kapasiteleri ABST ve DPPH yöntemleri kullanılarak bulunmuştur. Bu iki yöntemle bulunan sonuçlar arasında büyük farklılıklar olduğu belirtilmiştir.

Khatun ve ark. (2012) çalışmalarında Elâzığ'ın Madden ilçesinde 2005-2010 yılları arasında bulunan ve geleneksel tıpta kullanılan 19 familyaya ait toplam 55 endemik ve 1 nadir bitki tespit edilmiştir.

Ayhancu (2019) çalışmasında Türkiye'de endemik türleri bulunan Kermes Meşesi, Sütleg n, Kayışkiran, Karayemiş bitkilerinin antioksidan ve antimikrobiyal etkinlikleriyle fenolik içerikleri incelenmiştir. Çalışma sonunda Kermes meşesinin elde edilen özütlerinin antimikrobiyal etkinliğinin olduğu ayrıca incelenen bitkilerin tamamının yüksek fenolik madde içeriğine ve antioksidan etkiye sahip olduğu belirtilmiştir.

Fuente ve ark. (2009) İspanya'da bulunan önemli madden bölgelerinden biri olan Rio Tinto florasındaki bitkilerin metal biriktirme analizleri yapılmıştır. Bu florada bulunan 97 bitkinin bitki toprak ilişkisi biyolojik adsorpsiyon katsayısı kullanılarak yapılmıştır. Element analizleri ICP-MS ile yapılmıştır.

Vahdani ve ark. (2011) İran'da bulunan şifalı 5 endemik üzerine yapılan çalışmalarında bu bitkilerin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi ve kimyasal bileşik içerikleri GC-MS cihazı kullanılarak incelenmiştir. Her bir bitki için en çok bulunan kimyasal bileşikler *Cymbopogon olivieri*: piperiton (%67,79); *Haplophyllum tuberculatum*: borneol (%25,73); *Salvia macrosiphon*: piperiton (%33,16); *Teucrium polium*: limonen (%37,70) ve *Artemisia sieberi*: piperiton (%34,05) şeklindedir. En iyi antimikrobiyal aktivite de *Salvia macrosiphon* bitkisinde olduğu tespit edilmiştir.

Tomsone ve ark. (2012) çalışmalarında yaban turpu köklerinden farklı ekstraksiyon yöntemleri ve farklı çözücüler kullanılarak fenolik bileşikler için en uygun ekstraksiyon yöntemi belirlenmek istenmektedir. En iyi çözücünün etanol olduğu

belirtilmiştir.

López ve ark. (2010) çalışmalarında *Stypocaulon scoparium* yosunlarını farklı çözeltilerle ekstre edilerek antioksidan aktiviteleri fenolik içerikleri belirlenmiştir. Çözücü ekstresi olarak metanol ve etanol kullanılmıştır. RP-HPLC cihazıyla yapılan analiz sonucunda 14 fenolik bileşik tespit edilmiştir.

Aksoy (2019) çalışmasında *Mentha longifolia* (L.) L. (Pünk) ve *Pinus pinea* L. (Fıstıkçamı) bitkilerinden su buharı destilasyon yöntemiyle elde edilen esansiyel yağlarının antimikrobiyal etkileri ve GC-MS cihazı kullanılarak fenolik madde içerikleri analiz edilmiştir.

Mladenova ve ark. (2021) çalışmalarında Bulgaristan'da bulunan endemik bir tür olan *Betonica bulgarica* bitkisinden elde edilen uçucu yağlar GC-MS cihazı kullanılarak fenolik madde içerikleri ve ICP-MS cihazı kullanılarak eser element analizleri yapılmıştır. Ana bileşik içerikleri olarak β -karyofilen (%17,4), germacren D (%9,9) olan hidrokarbonlar ve β -burbonen (%6,7). Manganez (177,2 $\mu\text{g} / \text{g}$) ve stronsyum (156,8 $\mu\text{g} / \text{g}$) belirlenmiştir.

Nasté (2018) çalışmalarında Sırp şifalı bitkilerini subkritik su ekstraksiyon yöntemini kullanarak elde ettikleri özütlerin antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik değerleri tespit edilmiştir. Subkritik su ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen özütlerin daha etkili olduğu belirtilmiştir.

Özcan (2020) çalışmalarında Türkiye'de bulunan endemik bir bitki olan *Doronicum macrolepis* bitkisinin farklı bölümleri kullanılarak etanol, etil asetat ve metanol çözücülerini kullanarak elde edilen özütlerinin antimikrobiyal, antioksidan ve enzim inhibisyonu araştırılmıştır. Bu çalışmada enzim inhibisyonu antioksidan ve antimikrobiyal seviyelerinin endüstriyel uygulamalar için umut edici seviyelerde olduğu belirtilmiştir.

Palacios ve ark. (2011) çalışmalarında 8 çeşit yenilebilir mantarın fenolik bileşiklerinin antioksidan seviyeleri araştırılmıştır. *C.cibarius* mantarının lipit oksijene karşı en etkili mantar türü olduğu belirtilmiştir. *A. bisporus* mantar türünde en düşük antioksidan aktiviteye sahip tür olduğu belirtilmiştir.

Aydınlık (2012) çalışmasında Niğde yöresine ait 50 adet pekmez örneğinin fenolik madde içeriğini araştırmıştır. HPLC cihazıyla yapılan analizde fenolik içerikler en yüksek miktarda kateşin, en düşük miktarda p-kumarik asit olarak bulunmuştur. pH

ve HMF değerleri Türk Gıda Kodeksi normlarına uygun olarak bulunmuştur.

Phukan ve ark. (2017) alışmalarında yalnızca Padumoni Parkı'nda bulunan clusiaceae familyasına ait endemik bir bitki olan *Kayea assamica* bitkisinin metanol çözücüsü kullanılarak yapılan ekstresi sonucu elde edilen özütün GC-MS cihazıyla yapılan analizinde otuz farklı bileşiği içeren kardiyak glikozitlerin varlığı tespit edilmiştir.

Wangchuk ve ark. (2013) alışmalarında *Pleurospermum amabile* şıfalı bitkisinin toprak üstü kısımlarında clevenger cihazı kullanılarak elde edilen uçucu yağları GC-MR ve NMR cihazı ile yapılan analizlerinde 52 doğal bileşiğin varlığı tespit edilmiştir.

Prabu ve ark. (2018) alışmalarında *Cordia diffusa* yapraklarının metanol ve petrol eteri zcleriyle yapılan ekstrelerinin HPLC cihazı ile analizi yapılmaktadır. Sonuç olarak bu bitki yaprağının ilaç ve gıda endstirisinde potansiyel bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir olduğunu göstermiştir.

Righi ve ark. (2011) alışmalarında Kırmızı propolis örneğinin metanol, kloroform ve etil alkol kullanılarak elde edilen esansiyel yağları GC-MS ve HPLC cihazları ile analiz edilmiş antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Analiz sonucunda ana bileşiğin 3,4,2,3-tetrahidrokskalkon olduğu belirtilmiştir.

Saeidi ve ark. (2014) alışmalarında İran'da endemik bir tıbbi bitki olan *Achillea kellalensis* bitkisiyle ilgili uçucu yağ içeriği ve bileşimi ile ilgili araştırma yapılmış. Uçucu yağ su damıtma yöntemiyle belirlenmiştir. Bitkinin kimyasal bileşiği GC-MS cihazı ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda yirmi altı bileşiğin varlığı tespit edilmiştir.

Kal (2019) alışmasında Yozgat ve Amasya yörelerinden getirilen çörek otu soxhlet ve clevenger yöntemleriyle ekstre edilerek elde edilen esansiyel yağlar GC-MS cihazı ile analiz edilerek bileşik içerikleri belirlenmiştir. Clevenger ekstraksiyonu sonucu FTIR ve GC-MS için ortak olan oleik asittir. Soxhlet ekstraksiyonu ortak olan yağ asitleri metil elaidat, lineoik asit, oleoik asit, stearik asit, miristik asit, palmitik asit ve erusik asittir.

Senhaji ve ark. (2019) alışmalarında Fas'ta bulunan bir endemik bitki türü olan *Anabasis* bitkisinin biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Bitki ekstraktları soxhlet ve soğuk maserasyon yöntemleri kullanılarak elde edilmiştir. Bu çalışmada fenolik bileşiklerin bitkinin antioksidan aktivitesine baskın katkı sağladığı belirtilmiştir.

Shah ve ark. (2011) çalışmalarında *Merremia borneensis* bitkisinin antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Bitkinin yaprakları sulu etanol, etil asetat, butanol, hegzan ve kloroform ile ekstrakte edilmiştir. Flavonoid içeriği Willet yöntemiyle belirtilmiştir. Ekstrelerin flavonoid içerikleri Quercetin eş değeri en fazla sulu etanolde bulunmuştur.

Fakir ve ark. (2015) çalışmalarında Türkiye 'nin Denizli ilinde bulunan endemik bir bitki olan *Origanum hypericifolium* bitkisinin uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri ve biyoaktif özellikleri incelenmiştir. Bu çalışmada bitkinin antimikrobiyal ve biyoaktif potansiyeli güçlü olduğu ilaç ve gıda sektöründe kullanılabilir olduğu ve bu yüzden bitki üretiminin geliştirilmesi gerektiği belirtilmiştir.

Delikkaya (2020) çalışmasında bahçe ve park gibi peyzaj amaçlı kullanılan atlas sediri, arizona servisi, himalaya sediri, mavi ladin, lawson yalancı servisi, japon sediri himalaya çamının ekstreleri sonucu elde edilen esansiyel yağlarının kimyasal bileşimlerinin analizi amaçlanmıştır.

Krimat ve ark. (2015) çalışmalarında Cezayir'de bulunan endemik bir tıbbi bitki olan *Salvia chudaei* bitkisine toprak üstü kısımlarının toplam fenolik içerikleri, antimikrobiyal, antioksidan sitotoksik aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmada dietil eter çözücü ekstresinin daha güçlü antioksidan aktivite sergilediği belirtilmiştir. Antimikrobiyal aktivite de dokuz bakteriye karşı incelenmiş ve sadece iki bakteri inhibe edilmiştir.

Şeker ve ark. (2020) çalışmalarında sardunyanın yaprak, çiçek ve kök kısımlarındaki antimikrobiyal analizleri ve fenolik özellikleri araştırılmıştır. Bitki 6 bakteriye karşı test edilmiştir.

Kasun (2017) çalışmasında Tunceli ilinde yetişen alıç ve kuşburnu meyvesinin toplam fenolik madde miktarları ve içerikleri, antioksidan etkileri, fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Kuşburnunun alıç meyvesine göre hem toplam fenolik madde miktarı hem de antioksidan aktivite olarak daha yüksek değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir.

Batıbay (2017) çalışmasında şifa amaçlı kullanılan sekiz adaçayı türünün dal, çiçek, yaprak ve kök kısımları ekstre edilerek toplam fenolik içerikleri ve antioksidan özellikleri gibi biyolojik ve kimyasal yönleri incelenmiştir. Fenolik içerik ve antioksidan potansiyel bakımından tüm ekstrelerin zengin olduğu ve yüksek rozmarinik

asit içerdığı belirtilmiştir.

Terpinc ve ark. (2012) çalışmalarında *Camelina sativa* bitkisinin metanolik ekstraktının antioksidan fenolik içerikleri araştırılmıştır. *Camelina* kekinin en iyi indirgenme gücüne ve radikal süpürme aktivitesine sahip olduğu belirtilmiştir. *Camelina* yağı ise en yüksek demir şelatlama kapasitesine sahip olduğu sergilenmiştir.

Tiveron ve ark. (2012) çalışmalarında Brezilya sebzelerinin fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. En yüksek antioksidan aktiviteye sahip sebzenin marul olduğu belirtilmiştir.

Çapuroğlu (2013) çalışmasında Niğde ilinde bulunan *Sideritis phlomoides* ve *Allota macrodonta* bitkilerinin antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Maserasyon yöntemiyle farklı çözücüler kullanılarak farklı sıcaklık ve farklı sürelerde ekstre edilmiştir. En yüksek antimikrobiyal etki 40 °C'deki etanol ekstratında görülmüştür. En hassas mikro organizma *Proteus mirabilis* 235 suşu en dirençlisi ise *Candida albicans* ATTC 26231 olduğu tespit edilmiştir.

Zellagui ve ark. (2012) çalışmalarında *Ferula vesceritensis* endemik bitkisinden elde edilen uçucu yağların antibakteriyel aktivitesi ve kimyasal bileşimi araştırılmıştır. GC-MS analizi sonucu 23 fenolik bileşik tespit edilmiştir. En yüksek miktardaki ana bileşen 5,9-tetradecadiyne (%24,72) olduğu görülmüştür. Aynı şekilde bitkinin güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğunda tespit edilmiştir.

Zengin ve ark. (2014) çalışmalarında *Asphodeline anatolica* bitkisinin farklı bölümlerinin çeşitli çözücü ekstraktlarının antioksidan etkisi ve fitokimyasal içeriği incelenmiştir. Çalışmada aseton çözücüsü ile ekstre edilen kök ve tohumdan elde edilen özütlerin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ve bunun fenol içerikleriyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. *A. anatolica* bitkisinin gıda içinde doğal bir antioksidan kaynağı olduğu sonucuna varılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Deneyde kullanılan *H. siirtensis* bitki örnekleri 2021 yılının Nisan ayında Siirt yöresinde toplanmıştır. *H. siirtensis* bitkisinin tanımlanması Siirt Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mehmet Fidan tarafından yapılmıştır. *H. siirtensis* bitkisi Siirt Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi bitki araştırma laboratuvarında kayıt altına alınmıştır. Toplanan bitki örnekleri gölgede oda koşullarında kurutulduktan sonra öğütücü ile toz haline getirilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

3.1.2. Bitki numunesinin hazırlanması

H. siirtensis endemik bitkisinin uçucu yağ ekstraktlarının ayrılması için soxhlet ve maserasyon ekstraksiyon yöntemi olmak üzere iki farklı ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Bu ekstraksiyon yöntemleri için *H. siirtensis* bitki örnekleri kullanılmıştır. Ayrıca bitkinin yapısında bulunan element analizi için ICP-OES ve ICP-MS cihazları kullanılmıştır. Aynı şekilde bitkinin içerisinde bulunan fenol bileşiklerin tespiti içinde GC-MS ve LC/MS/MS cihazları kullanılmıştır.

3.1.2.1. Soxhlet ekstraksiyonu için örnek hazırlama

Toz haline getirilmiş *H. siirtensis* bitkisindeki toplam yağ içeriğinin tespiti için soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. *H. siirtensis* bitkisinden 4'er gram hassas teraziyle tartılarak 8 adet numune hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler ekstre edilmek üzere soxhlet ekstraksiyon düzeneğine yerleştirilmiştir. Çözücü olarak saf su eklenerek %80'lik aseton, etanol, metanol, hegzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su kullanılarak hazırlanan 200 mL'lik organik çözeltiler cam balona alınarak ekstraksiyon aletinin haznesine yerleştirililerek 12 saat boyunca ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar evaporatörde çözücünün %80'inden fazlası buharlaşınca kadar çözelti buharlaştırılmıştır (Emire, 2020). Ekstraksiyon sonucunda elde edilen uçucu yağ çözeltileri eşit olacak şekilde iki ayrı deney tüpüne alınmıştır. Tüplere alınan bu çözelti numunelerinden bir tanesi olduğu gibi element analizi ve fenolik

içeriklerinin analizlerinde kullanılmak üzere 4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. Diğer tüp numuneleri de saf su ile 10 mL'ye tamamlanarak antimikrobiyal testlerinde ve diğer fiziksel özelliklerin tesbitinde kullanılmak üzere 4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.



Şekil 3.1. Döner buharlaştırıcı

3.1.2.2. Maserasyon ekstraksiyon yöntemi

Bitki numunesinden 3'er gram tartılarak 4 ayrı numune hazırlandı. Hazırlanan numuneler kapaklı tüplere alınarak üzerlerine %80'lik etanol, metanol ve aseton çözeltilerinden 24 mL alınarak üzerine 6 mL saf su eklenerek 30 mL'lik çözelti ve %100'lük 30 mL saf su çözgeni hazırlanarak ilave edildi. Üzerlerine çözgen ilave edilerek hazırlanan bu örneklerin bulunduğu tüplerin kapakları iyice kapatılarak oda sıcaklığında 12 saat boyunca çalkalayıcıda bırakıldı. 12 saat sonunda iyice çalkalanarak yumuşayan bitki numuneleri kaba süzgeç kâğıdıyla filtrelenerek süzüldü. Süzülen numunelerin çözgenleri evaporatörde uçuruldu. Evaporatörde buharlaştırıldıktan sonra aseton kullanılan numune için 150 mg'lık, su için 170 mg'lık, metanol için 1270 mg'lık, etanol için 1,21 g'lık bir bitki özütü kütlesi elde edildi. Kalan bitki özütleri kendi çözgenleriyle iyice karıştırılarak aseton için %80'lik 7,5 mL'lik kendi çözgeni ilave edilerek 20,000 ppm, su için, 8,5 mL saf su eklenerek 20,000 ppm'lik, metanol için %80'lik 31,75 mL'lik metanol eklenerek 40,000 ppm'lik, etanol için ise % 80'lik 30,25 mL'lik etanol eklenerek 40,000 ppm'lik stok çözelti hazırlandı.

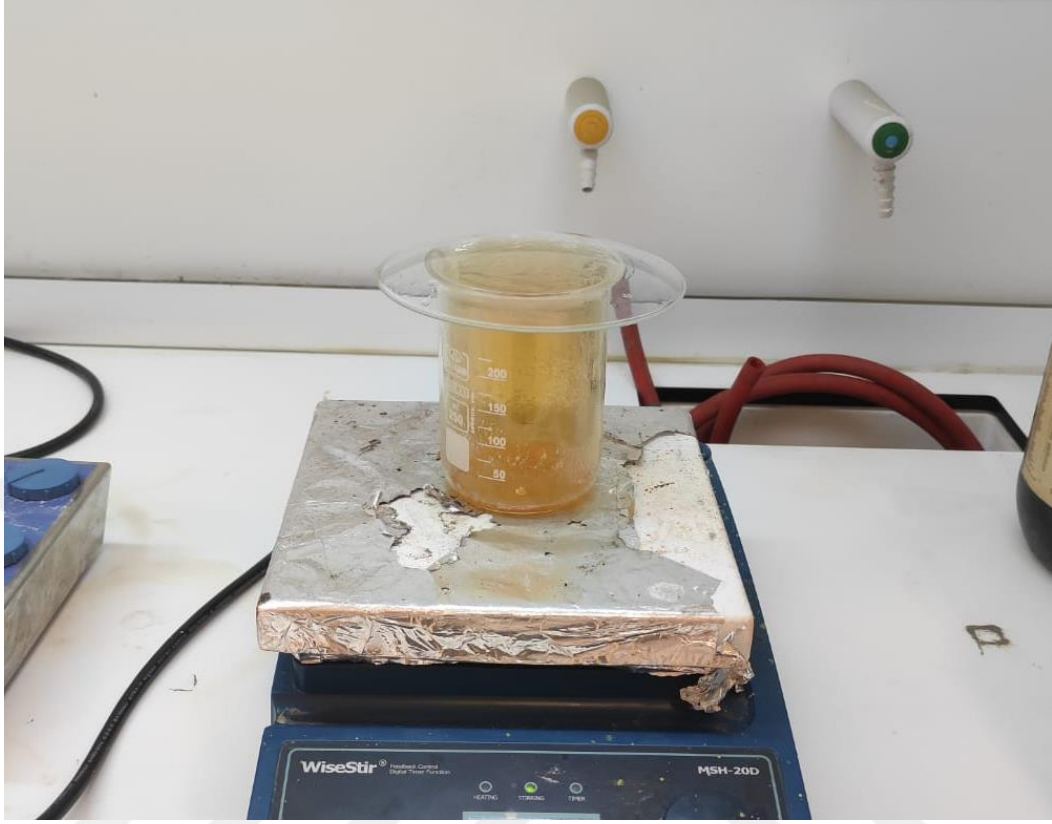
Hazırlanan stok çözelti DPPH, FRAG, toplam fenolit ve toplam flavonit yöntemlerinde kullanılmak üzere 1000 ppm'lik çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerin kullanılıncaya kadar bozulmaması için +4 °C'de bozdolabında saklandı.

3.1.2.3. ICP-OES için örnek hazırlama

ICP-OES analizi için yaş yakma yöntemi ve mikrodalga yöntemiyle numuneler çözünürleştirilerek analize uygun hale getirilecektir.

3.1.2.3.1. Yaş yakma yöntemiyle çözünürleştirme

H. Siirtensis bitki örneklerinin element analizlerinin ICP-OES ile yapılması için yaş yakma yöntemi kullanılmıştır. Yaş yakma yönteminden önce bitki numunesi sabit tartıma getirilceye kadar etüvde ısıtılarak kurutulduktan sonra hassas teraziyle 1 g tartıldı. Tartılan bitki numunesi 250 mL'lik boş bir erlene doldurularak üzerine önceden hazırlanan derişik %65'lik nitrik asit ve %70'lik perklorik asit karışımından önce 3 mL perklorit asit çözeltisinden dökülerek iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında üzeri saat camıyla kapatılarak 10 dakika dinlenmeye bırakılmıştır. Daha sonra 9 mL HNO₃ asit çözeltisi de ilave edilerek çeker ocakta üzeri saat camıyla kapatılarak yarım saat daha çeker ocakta bekletildikten sonra numune 60-80 °C aralığındaki düşük sıcaklıkta üzeri saat camıyla kapatılmış şekilde çeker ocakta sıcak plaka üzerinde 2 saat boyunca ısıtılmıştır. Daha sonra sıcaklık kademeli olarak 150-200-250 °C'ye yükseltilmiştir. Kademeli yükseltilen bu sıcaklığa rağmen ilave edilen Nitrik Asidin hepsi buharlaştığı halde numunenin rengi açık sarıya dönmediğinden çözeltinin üzerine 5 mL daha nitrik asit ilave edilerek ısıtmaya devam edilmiştir. Bu ısıtma işlemi sırasında çözeltinin rengi açık sarıya döndükten ve perklorik asidin beyaz dumanı numune kabının içerisini kapladıktan sonra yarım saat daha 150-200 °C'de ısıtılarak numune çözeltisi yakılmaya devam edilmiştir. Yakma işlemine çözelti numunesinin hacmi yaklaşık 1 mL oluncaya kadar devam edilmiştir. Çözelti numunesinin hacmi yaklaşık 1 mL olduktan sonra oda sıcaklığında bekletilerek ultra saf suyla iyice yıkanarak 25 mL'lik cam jojeye alınmış ve çözelti ultra saf suyla numune çözeltisinin hacmi 25 mL'ye tamamlanmıştır. Saf suyla 25 mL'ye tamamlanan numune çözeltisi silisyumun çökmesi için 1 gece bekletildikten sonra berrak kısım analizlerde kullanmak üzere şırınga ucu filtre ile (0,45 µm) süzülerek numune analize hazır hale getirilmiştir.



Şekil 3.2. Yaş yakma yöntemiyle çözünürleştirme işlemi

3.1.2.3.2. Mikrodalga çözünürleştirme yöntemi

Mikrodalga çözünürleştirme yöntemi için mikrodalga fırın olarak BERGHOF marka speedwave MWS-2 model mikrodalga fırın kullanılmıştır. Mikrodalga fırında kullanılmak üzere 230 °C sıcaklığa ve 40 bar basınca dayanıklı 100 mL hacim kapasiteli politetrafloroetilen (PTFE) kaplar kullanılmıştır. Bu kaba *H. siirtensis* bitki numunesinden nem içermeyecek şekilde 0,5 g numune tartılarak konulduktan sonra üzerine asit olarak 4 mL %65'lik HNO_3 ve 5 mL %30'lik H_2O_2 asit çözelti karışımından 9 mL ilave edilerek mikrodalga fırında Tablo 3.1. sıcaklık-güç-zaman çizelgesine göre çözünürleştirilmiştir. Bu çözünürleştirme sonrası elde edilen çözelti soğutulup süzülerek analize hazırlama amaçlı 25 mL'ye tamamlanmıştır.

Tablo 3.1. Mikrodalga çalışma koşulları

Step	1	2	3	4
T [°C]	145	180	100	
Power* [%]	75	90	40	
Time [min]	5	10	10	

3.1.2.4. ICP-MS için örnek hazırlama

ICP-MS analizi için yaş yakma yöntemi ve mikrodalga yöntemiyle numuneler çözünürleştirilerek analize uygun hale getirilmiştir.

3.1.2.4.1. Yaş yakma yöntemiyle çözünürleştirme

H. siirtensis bitki örneklerinin element analizlerinin ICP-MS ile yapılması için yaş yakma yöntemi kullanılmıştır. Yaş yakma yönteminden önce bitki numunesi sabit tartıma getirilceye kadar etüvde ısıtılarak kurutulduktan sonra hasas teraziye 1,068 g tartıldı. Tartılan bitki numunesi 250 mL'lik boş bir erlene doldurularak üzerine derişik $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ karışımından önce 2 mL H_2O_2 asit çözeltisinden dökülerek iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında üzeri saat camıyla kapatılarak 10 dakika dinlenmeye bırakılmıştır. Daha sonra 5 mL HNO_3 asit çözeltisi de ilave edilerek çeker ocakta 30 °C'de yarım saat ısıtıldıktan sonra 5 mL daha HNO_3 asit çözeltisi daha ilave edilerek 150-200 °C aralığında ısıtmaya devam edilerek numunenin rengi açılıp beraklaşınca kadar çeker ocakta sıcak plaka üzerinde ısıtılmıştır. Numunenin rengi açılıp berraklaşınca da çözelti oda sıcaklığında soğutulmaya bırakılmıştır. Soğuyan bu çözelti 0,45 µL filtre yardımıyla süzöldükten sonra ultra saf suyla numune çözeltisinin hacmi 25 mL'ye tamamlanarak numune analize hazır hale getirilmiştir.

3.1.2.4.2. Mikrodalga çözünürleştirme yöntemi

Mikrodalga çözünürleştirme yöntemi için mikrodalga fırın (CEM Mars Xpress, Matthews, NC, USA) kullanılmıştır. Mikrodalga fırında kullanılmak üzere *H. siirtensis* bitki numuneleri kurutma amaçlı 24 saat boyunca 75 °C sıcaklıkta etüvde bekletilmiştir. Kurutulan bitki numunelerinden 0,5014 g tartılarak üzerine %65'lik HNO_3 ilave edilerek teflon tüplere yerleştirilerek mikrodalga fırında çözünürleştirildi. Mikrodalga fırında çözünürleştirilen numuneler 15 mL'lik polipropilen tüplere alınarak hacmi 14

mL' ye tamamlanıncaya kadar ultra saf su eklenmiştir.

Tablo 3.2. Mikrodalga çalışma koşulları

Max. Power	600 W
Power	100%
Ramp Time	10 min
Pressure	350 psi
Temperature	200 °C
Hold Time	10 min

3.1.2.5. UHPLC için örnek hazırlama

Toz haline getirilmiş *H. siirtensis* bitkisinden sıvı kromatografi analizinde kullanılmak üzere yağ ekstraktı elde etmek için Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. *H. siirtensis* bitkisinden 10 gram hassas teraziyle tartılarak numune hazırlanmıştır. Hazırlanan bu bitki numunesi ekstre edilmek üzere soxhlet ekstraksiyon düzeneğine yerleştirilmiştir. Çözücü olarak saf su eklenerek %80'lik metanol kullanılarak hazırlanan 160 mL'lik organik çözelti cam balona alınarak ekstraksiyon aletinin haznesine yerleştirililerek 12 saat boyunca ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar evaporatörde çözücünün %80'inden fazlası buharlaşınca kadar çözelti buharlatılmıştır (Emire, 2020). Ekstraksiyon sonucunda elde edilen uçucu yağ çözeltisi deney tüpüne alınmıştır. Tüpe alınan bu çözelti numunesi UHPLC cihazı ile fenolik içeriklerinin analizlerinde kullanılmak üzere 4 °C de buzdolabında saklanmıştır.

3.1.2.6. GS-MS için örnek hazırlama

Soxhlet ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen su dışındaki yedi ekstraktan 1,5 mL alınarak analiz için tüplere kondu. Su ekstraktından ise 50 mikrolitre alınarak üzerine 1,4 mL metanol ilave edilerek aynı şekilde tüpe konarak ekstraktlar GS-MS cihazıyla yapılacak analiz için hazır hale getirildi (Yabalak ve ark., 2022).

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar

H. Siirtensis bitkisinin antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde içeriği, toplam flavonoid içeriği, antibakteriyel aktivite, Kimyasal içerik ve element analizlerinin yanı sıra çok sayıda fizikokimyasal özelliğin tesbit ve analizleri için çok

miktarda kimyasal madde ve çok sayıda cihaz kullanılmıştır.

3.1.3.1. Kullanılan kimyasallar

Hidrojen peroksit (H_2O_2), Susuz sodyum karbonat (Na_2CO_3), metanol (CH_3OH), etanol (C_2H_5OH), folin reaktifi (Fenol'un Folin-Ciocalteu reaktifi), nitrik asit (HNO_3), asetonitril (CH_3CN), nitrik asit (HNO_3), hekzan (C_6H_{14}), susuz sodyum karbonat (Na_2CO_3), aseton (C_3H_6O) Merck Firmasından alınmıştır.

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit), Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8 tetrametilkroman-2-karboksilik asit), susuz amonyum asetat ($CH_3CO_2NH_4$), karvakrol (2-Metil-5-(propan-2-il) fenol), kloroform ($CHCl_3$), tetrahidrofuran (1,4 Epoksibütan Oksasiklopentan) Sigma-Aldrich alınmıştır.

Ultra saf su GFLmarka 2108 model cihazdan sağlanmıştır.

3.1.3.2. Kullanılan cihazlar

H. siirtensis bitkisinin antioksidan kapasiteleri (DPPH ve FRAP yöntemi) ve toplam flavonoid bileşik içerikleri, toplam madde içeriklerinin (Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) Yöntemi) tesbiti için Shimadzu marka UV mini 1240 model UV-VİS spektrofotometre cihazı kullandı. Element Analizleri için ICP-MS (İndüksiyonla birleşmiş plazma kütle spektrometrisi) Agilent marka 7500 CE model cihaz kullanılmıştır. pH ve OR ölçümleri için Mettler Toledo marka cihaz kullanıldı. Renk ölçümü pencolorart renk tayin cihazı kullanılarak yapıldı. Kuru madde tayini için Hanna marka refractometer HI96801 model cihaz kullanıldı. Hem mikrop üretme hem de numune kurutma amaçlı POL-EKD aparatura marka cihaz kullanıldı. Ekstrakt numunelerini buharlaştırma amaçlı Rotary marka RE 100B model döner buharlaştırıcı kullanıldı. Eksre edilecek numunelerini sürekli karıştırmak için çalkalayıcı olarak Lab. companion marka SI-600 model kullanıldı. Kimyasal bileşimi ve fenolik içerikleri için Agilent marka 7890A model GC-MS (Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi) cihazı kullanıldı. Hassas çözelti hazırlama amaçlı brand marka ayarlanabilir mikropipet kullanıldı. Çözelti numunelerini ısıtma ve karıştırma amaçlı Misung Scientific marka MS-300HS model cihaz kullanıldı. Hassas tartımlar için Denver marka TP-214 model terazi kullanıldı. Perkin Elmer ICP-OES Optima 2100 DV. cihazı ile element analizi için numune hazırlamada BERGHOF speedwave MWS-2 model mikrodalga fırın

kullanıldı. Ultra saf su için GFL marka 2108 model cihaz kullanıldı.

3.2. Metot

3.2.1. Antioksidan tayini

Antioksidan tayin yöntemi için iki yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemlerden birincisi DPPH Serbest Radikal Giderim Yöntemi ikinci yöntem ise FRAP yöntemidir.



Şekil 3.3. Antioksidan testleri için kullanılan numune tüpleri

3.2.1.1. DPPH yöntemi

3.2.1.1.1. DPPH yönteminde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

0,01 mM DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisinin hazırlanması için hassas teraziyle 0,0394 g DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) maddesinden tartılarak üzerine metil alkol ilave edilerek karıştırılmaktadır. Çözelti yeterince karıştırıldıktan sonra üzerine metil alkol ilave edilerek hacmi 100 mL'ye tamamlanarak çözelti hazırlanmıştır.

3.2.1.1.2. DPPH Deneyinin yapılması

Metanol, etanol, aseton ve su ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktlardan elde edilen 1000 ppm'lik çözeltiler kullanılarak her numuneye ait 1000 ppm, 500 ppm ve 250 ppm'lik 3 ayrı çözeltileri hazırlandı. Kontrol içinse herbir çözen ayrı ayrı kullanıldı. Hazırlanan farklı konsantrasyondaki örneklerin üzerine 2mL DPPH radikali ilave edilerek hazırlanan örnekler 30 dakika boyunca karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra oluşan örneklerin renkleri spektrofotometrede 517 nm dalga boyuna ayarlanarak ölçüldü (Villaño ve ark., 2007).

Yüzde inhibisyon olarak adlandırılan serbest radikal giderim aktivitesi aşağıdaki formülasyona göre ölçülmektedir.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(A_K - A_1)}{A_K} * 100$$

A_K : Kontrol

A_1 : Numune absorbansı

% inhibisyon: DPPH aktivitesi



Şekil 3.4. UV Spektrofotometre

3.2.1.2. FRAP yöntemi

3.2.1.2.1. FRAP yönteminde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

10 mM TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazin): 40 M'lik HCl çözeltisinde 10 mL alınarak üzerine 31,9 mg TPTZ tartılarak ilave edilerek hazırlandı.

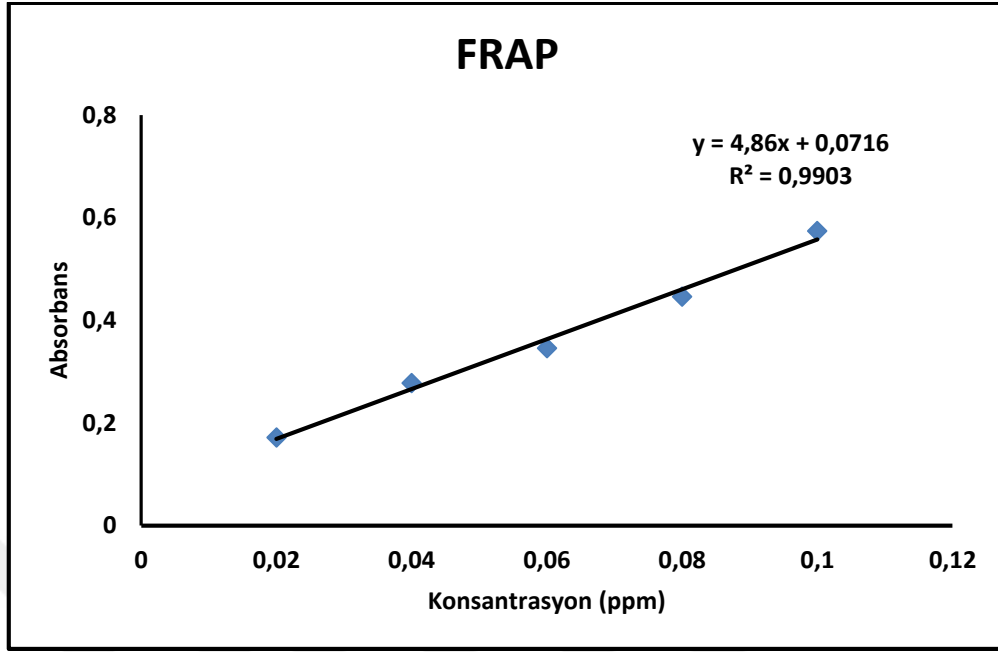
20 mM demir (III) klorür çözeltisi: 541 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tartılarak saf suyla 50 mL'ye tamamlanmasıyla hazırlandı.

Buffer Asit (300 mM, pH 3,6): 1,6mL Asetik asit üzerine 0,31 gr NaOOC_2H_3 hasas terazi ile tartılarak ilave edilerek saf suyla 100 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

FRAP solüsyonu: 20 mL Buffer Asit +20 mL Demir (III) klorür + 2 mL TPTZ çözeltisi karıştırılarak 50 mL'lik FRAP solüsyonu hazırlanmıştır.

3.2.1.2.2. FRAP deneyinin yapılması

FRAP Yöntemi kullanılarak *H. siirtensis* bitkisinden elde edilen ekstraktların serbet radikal giderme aktiviteleri ölçülmüştür. FRAP yöntemi kullanılarak antioksidan aktivite seviyelerinin belirlenmesi için Benzie ve Strain'nin (1996) kullandıkları yöntem kullanılmıştır (Benzie ve Strain, 1996). FRAP analizi için maserasyon ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak aseton, etanol, metanol ve su çözücülerinden elde edilen ekstratları kullanılarak daha önce hazırlanan 1000 ppm'lik konsantrasyonundaki numunelerinden ve kontrol amaçlı %80'lik çözücülerinden 0,1 mL alındı. Üzerlerine 0,3 mL saf su ve 2 mL FRAP sülosyonundan ilave edilerek iyice karıştırıldı. İyice karıştırılan çözelti inkübasyon için 2 saat boyunca karanlık ortama bırakıldı. İnkübasyondan sonra çözeltilerinin spektrometre ile 593 nm dalga boyunda absorbansları ölçüldü.



Şekil 3.5. FRAP Standart Regresyon Eğrisi

3.2.2. Toplam fenolik maddelerin tayini

Toplam fenolik madde tayini için Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) Yöntemi kullanılarak *H. Siirtensis* bitkisinin maserasyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarındaki toplam fenolik maddelerin tayini yapılmıştır.

3.2.2.1. FCR yönteminde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Folin-Ciocalteu reaktifi: Hazır olarak alındı.

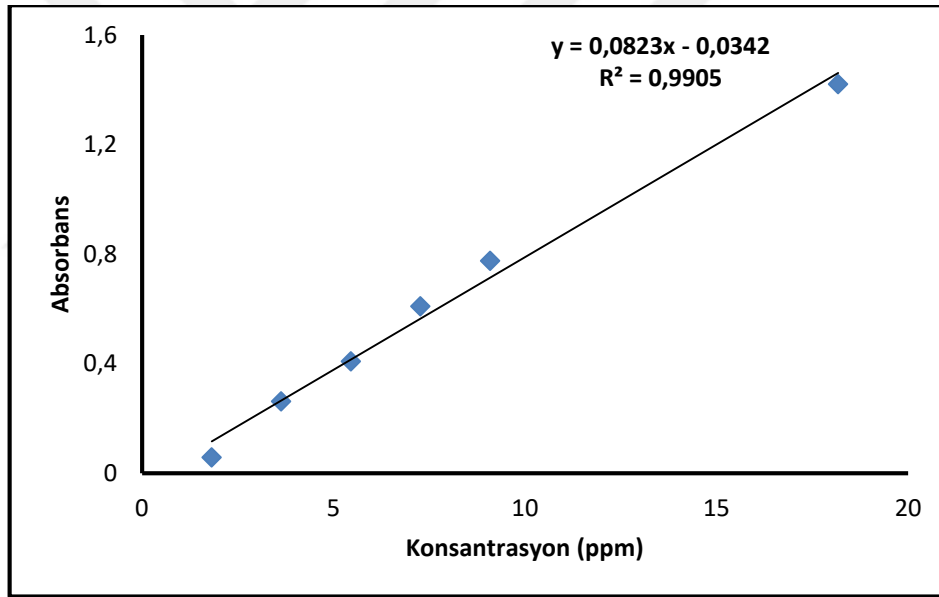
% 7'lik Na_2CO_3 çözeltisi: Bir miktar saf suya 7 g Na_2CO_3 eklenerek iyice karıştırıldıktan sonra saf su ile toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

3.2.2.2. Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) yöntemi ile toplam fenolik bileşik tayini

FCR (Folin-Ciocalteu Reaktifi) yöntemi kullanılarak *H. siirtensis* bitkisinden elde edilen ekstraktların toplam fenolik içerikleri ölçülmüştür. FCR (Folin-Ciocalteu Reaktifi) yöntemi belirlenmesi için Slinkard ve Singleton kullandıkları yöntemden yararlanılmıştır (Slinkard ve Singleton, 1977). FCR analizi için maserasyon ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak aseton, etanol, metanol ve su çözücülerinden elde

elde edilen ekstratları kullanılarak daha önce hazırlanan 1000 ppm'lik konsantrasyondaki numunelerinden ve kontrol amaçlı %80'lik çözücülerinden 0,2 mL alındı. Üzerine 1 mL FCR reaktifi stok çözeltisinden ilave edilerek iyice karıştırılarak inkübe olması için 6 dakika karanlıkta bekletildi. Bu inkübe edilmiş çözelti üzerine daha önce hazırlanmış olan %7'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 1 mL ilave edilerek iyice karıştırılarak çözelti iyici homojenize edildi. Daha sonra bu çözelti absorbansı (A_o) 517 nm dalga boyuna UV spektrofotometre ile ölçüldü.

Bu yöntem bu bitkinin elde edilmiş bütün ekstraktlarına uygulanmıştır. Standart olarak 0,01-0,2 mg/mL konsantrasyonda gallik asit çözeltisi kullanılan galik asit kalibrasyon eğrisi yardımıyla bütün bu ekstraktların derişimleri mg GAE/mL ekstrakt olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.6. Gallik asit standart regresyon eğrisi

3.2.3. Toplam flavonoid madde miktarı tayini

3.2.3.1. Toplam flavonoid madde miktarı tayininde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

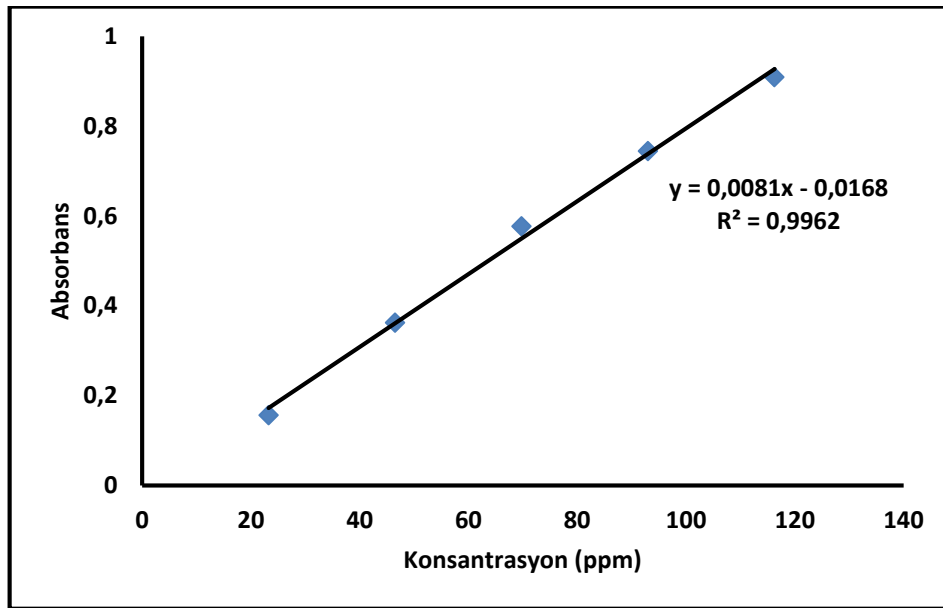
%10'luk AlCl₃ Çözeltisi: 2,5 g AlCl₃ tartılıp üzerine saf su eklenerek iyice karıştırılarak 25 mL'ye tamamlandı.

%5'lik Sodyum Nitrit Çözeltisi: 1,25 g NaNO₂ tartılarak üzerine saf su eklenerek iyice karıştırıldıktan sonra 25 mL'ye tamamlandı.

1M NaOH Çözeltisi: 4 g sodyum hidroksit hassas teraziyle tartıldıktan sonra saf suyla iyice çalkalandıktan sonra 100 mL'ye tamamlandı.

3.2.3.2. Toplam flavonoid bileşik miktarı tayini deneyinin yapılması

Total flavonoid içerik aluminyum klorit kolorimetrik yöntemi kullanıldı (Zhishen ve ark., 1999; Zou ve ark., 2004). Bu yöntemle *H. siirtensis* bitkisinden elde edilen ekstraktların toplam flavonoid içerikleri ölçülmüştür. Toplam flavonoid miktarı tayini için maserasyon ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak aseton, etanol, metanol ve su çözücülerinden elde edilen ekstratları kullanılarak daha önce hazırlanan 1000 ppm'lik konsantrasyondaki numunelerinden ve kontrol amaçlı %80'lik çözücülerinden 0,25 mL alındı. Üzerine 1,25 mL saf su ilave edildi. Saf su ilavesinin akabinde 0,075 mL %5'lik sodyum nitrit ilave edildikten sonra iyice karıştırılarak inkübe olması için 6 dakika karanlıkta bekletildi. Bu inkübe edilmiş çözelti üzerine daha önce hazırlanmış olan %10'luk $AlCl_3$ çözeltisinden 0,5 mL ve 1M'lik NaOH ilave edilerek iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında karanlık odada 30 dakika daha inkübasyona bırakıldı. Daha sonra inkübasyona bırakılan bu çözelti absorbansı 510 nm dalga boyuna UV spektrofotometre ile ölçüldü.



Şekil 3.7. Rutin standart regresyon eğrisi

3.2.4. Mineral madde tayini

H. siirtensis bitkisinin içerdiği elementlerin analizi için Perkin Elmer ICP-OES Optima 2100 DV. cihazı ile 7700x model ICP-MS (Agilent Corporation, USA) cihazları kullanılarak element analizi yapılmıştır.

3.2.4.1. ICP-OES yöntemi

H. siirtensis bitkisinin içerdiği elementlerin analizi için Perkin Elmer ICP-OES Optima 2100 DV. cihazı kullanılarak aşağıdaki koşullarda element analizi yapılmıştır.

Tablo 3.3. ICP-OES Analiz koşulları

ICP-OES Metot Parametreleri			
Spectrometer	Spectral	Purge Gas Flow	Normal
Spectrometer	Read Parameters	Time (sec)	Auto
Spectrometer	Read Parameters	Delay Time (sec)	10
Spectrometer	Read Parameters	Replicate	3
Plasma	Plasma	Source Equilibration Delay (sec)	15
Plasma	Plasma	Plasma Conditions	Same For All Elements
Plasma	Plasma	Plasma Aerosol Type	Wet
Plasma	Plasma	Nebuliser Start-up	Instant
Plasma		Plasma (L/min)	15
Plasma		Aux (L/min)	0.2
Plasma		Nebuliser (L/min)	0,80
Plasma		Power	1300
Plasma		View Dist.	15,0
Plasma		Plasma View	Axial
Peristaltic Pump	Pump Parameters	Sample Flow Rate (mL/min)	1,50
Peristaltic Pump	Pump Parameters	Flush Time (sec)	20
Standards		Ppm	23 Element için 0,25; 0,5; 1; 2,5 Zn için 1; 2,5; 5

Tablo 3.4. ICP-OES Kalibrasyon bilgileri

Analyte	Stds.	Equation	Intercept	Slope	Curvature	Corr. Coef.
B 249,677	5	Lin, Calc Int	11313,5	364200	0,00000	0,9997
Ba 233,527	5	Lin, Calc Int	19686,6	1023000	0,00000	0,9996
Bi 223,061	5	Lin, Calc Int	354,1	24240	0,00000	0,9998
Ca 317,933	5	Lin, Calc Int	68914,6	684100	0,00000	0,9975
Cd 228,802	5	Lin, Calc Int	11884,4	610100	0,00000	0,9995
Co 228,616	5	Lin, Calc Int	9343,5	341600	0,00000	0,9992
Cr 267,716	5	Lin, Calc Int	13461,6	556600	0,00000	0,9993
Cu 327,393	5	Lin, Calc Int	9398,9	820700	0,00000	0,9999
Fe 238,204	5	Lin, Calc Int	24751,1	732100	0,00000	0,9993
K 766,490	5	Lin, Calc Int	-61387,8	1396000	0,00000	0,9990
Li 670,784	4	Lin, Calc Int	-1187024,2	59940000	0,00000	0,9989
Mg 285,213	5	Lin, Calc Int	-24,1	1079000	0,00000	0,9990
Mn 257,610	5	Lin, Calc Int	115739,1	5267000	0,00000	0,9997
Na 589,592	5	Lin, Calc Int	-173431,1	4186000	0,00000	0,9991
Ni 231,604	5	Lin, Calc Int	6109,7	238200	0,00000	0,9996
Pb 220,353	5	Lin, Calc Int	1110,4	31570	0,00000	0,9993
Sr 407,771	4	Lin, Calc Int	46824,5	82260000	0,00000	0,9999
Tl 190,801	5	Lin, Calc Int	170,3	6350	0,00000	0,9997
As 193,696	5	Lin, Calc Int	233,5	8285	0,00000	0,9996
Ce 413,764	5	Lin, Calc Int	8824,9	467400	0,00000	0,9998
Sb 206,836	5	Lin, Calc Int	264,4	11960	0,00000	0,9998
Se 196,026	5	Lin, Calc Int	154,9	6402	0,00000	0,9997
Zn 206,200	3	Lin, Calc Int	-19530,3	191200	0,00000	0,9991

3.2.4.1. ICP-MS yöntemi

H. siirtensis bitkisinin içerdiği elementlerin analizi için 7700x model ICP-MS (Agilent Corporation, USA) cihazı kullanılarak aşağıdaki koşullarda element analizi yapılmıştır.

Tablo 3.5. ICP-MS analiz koşulları (Arıca ve ark., 2018)

ICP-MS Metot Parametreleri				
Ar Gas Pressure	540 kPa			
Forward power	1300 W			
Reflected power	7 W			
Cooling water flow rate (RF/WC/IF)	2,0 L/min			
Interface/Backing pressure (IF/BK)	252 Pa			
Analyzer Pressure in no gas mode	1,32 x 10 ⁻⁴ Pa			
RF Power	1550 W			
Sampling Depth	8,0 mm			
Omega Lens	7,3 V			
S/C Temp	2 °C			
Scanning mode	Peak hopping			
Isotopes	²⁰⁶ Pb, ²⁰⁷ Pb, ²⁰⁸ Pb			
Internal Standard	²⁰⁹ Bi			
Nebulizer	Meinhard™			
Spray chamber	Cyclonic			
Sampler and skimmer cones	Copper			
Shield torch	Platinum			
Autosampler	ASX-500 Series			
Bottle 1	Fresh double deionized water			
Bottle 2	Fresh 1% (v/v) HNO ₃			
Bottle 3	Tuning solution (1 µg/L ⁷ Li, ⁸⁹ Y, ²⁰⁵ Tl, and ¹⁶⁰ Ce in 2% HNO ₃)			
Water of chiller temperature	14 °C			
Low Matris Mode	<0,1%			
Nebulizer Peristaltic Pump Operation				
		Time (sec)	Speed (rps)	
Pre-Run	Sample Uptake	60	0,3	
	Stabilizing	25	0,1	
Post-Run	Probe Rinse	25	0,3	
	Rinse	25	0,1	
Ar gas flow rates (L/min)				
Plasma	16			
Auxiliary	1,0			
Nebulizer	1,0			
Sensitivity Values				
Mass	Count (cps)	RSD %	Background (cps)	W 10% (amu)
7	4566	3,812	3,7	0,741
89	17610	3,257	4,3	0,778
205	9098	4,153	20,2	0,834

3.2.5. Fenolik madde içeriği

H. siirtensis bitki örneklerinin soxhlet ekstraksiyon yöntemiyle hazırlanan ekstraktları GC-MS ve LC-MS/MS cihazları yardımıyla iki farklı yöntemle bulunmuştur.

3.2.5.1. GC-MS yöntemi

Gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS) yardımıyla *H. siirtensis* bitkisinin soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 8 ayrı çözücüsü (aseton, etanol, metanol, hegzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının kimyasal içerikleri belirlenmiştir. Burada 0,45 µm'lik şırıngalar yardımıyla filtre edilen ekstraktlar analiz için 1,5 mL'lik viallere alınmıştır. Bitki ekstraktlarının analizi için kullanılan GC-MS cihazının parametreleri olarak taşıyıcı gaz olarak helyum gazı kullanılıp 21,21 psi. basınç altında 1,75 mL/dak akış hızında ve Split (20:1) enjeksiyon modunda kolon olarak HP5-MS (30m x 0,25 mm x 0,25 µm) kapiler kolon kullanılmıştır.

Numune analizleri belirli bir sıcaklık programı çerçevesinde yapılmış olup ilkin 50 °C sıcaklıkla analizlere başlanmıştır. Devamında 100 °C'ye ulaşınca kadar dakikada sıcaklık 4 °C'er artacak şekilde bu sıcaklıkta 5 dakika bekletilmiştir. Devamında aynı şekilde 200 °C'ye ulaşınca kadar sıcaklık 4 °C'er artacak şekilde bu sıcaklıkta 10 dakika bekletilmiştir. En sonun da da 300 °C'ye ulaşınca kadar sıcaklık 4 °C'er artacak şekilde bu sıcaklıkta 5 dakika bekletilmiştir.

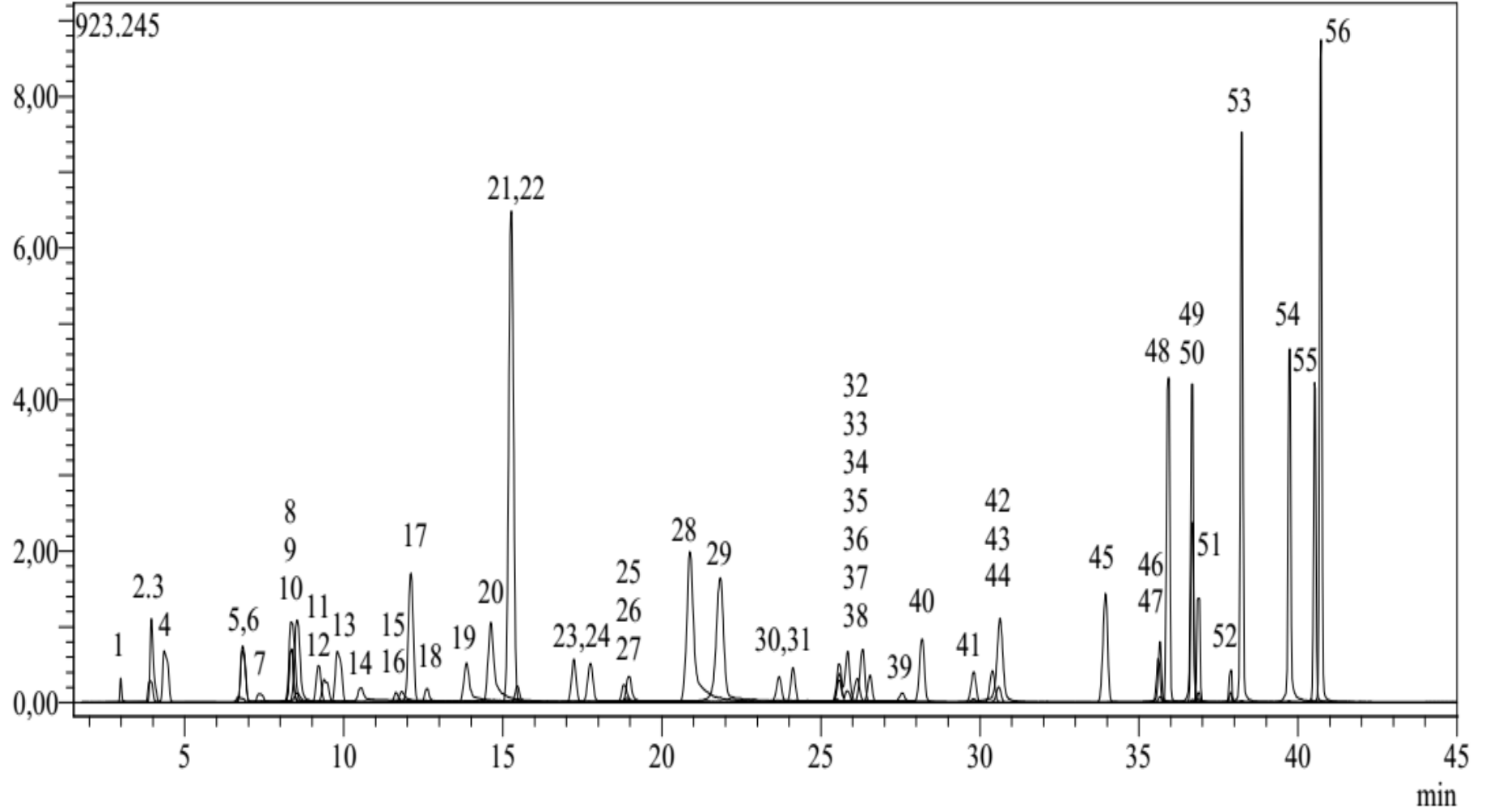
C₇-C₄₀ Alkan karışımı kullanılarak analiz sonunda elde edilecek bileşiklerin Kováts indeksi bu karışıma göre hesaplanmıştır. Ayrıca analiz sonucunda elde edilecek bileşikleri tanımlamak için veri tabanı olarak Wiley Registry 9th/NIST2011 (W9N11.L) veri tabanı kullanılmıştır (Yabalak ve Gizir, 2017; Yabalak ve ark., 2022).

3.2.5.2. UHPLC-MS yöntemi

53 fitokimyasalın kantitatif değerdendirmesini gerçekleştirmek için bir tandem kütle spektrometresi ile birleştirilmiş bir Shimadzu-Nexera model ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi (UHPLC) kullanıldı (Yılmaz, 2020). Ters fazlı UHPLC, bir otomatik örnekleyici (SIL-30AC modeli), bir kolon fırını (CTO-10ASvp

modeli), ikili pompalar (LC-30AD modeli) ve bir gaz giderici (DGU-20A3R modeli) ile kullanıldı. 53 fitokimyasal için optimum ayırma sağlamak ve baskılama etkilerinin üstesinden gelmek için kromatografik koşullar optimize edildi. Agilent Poroshell 120 EC-C18 model (150 mm×2,1 mm, 2,7 µm) ve RP-C18 Inertsil ODS-4 (100 mm×2,1 mm, 2µm) gibi farklı kolonlar, asetonitril ve metanol gibi farklı mobil fazlar (B), amonyum format, formik asit, amonyum asetat ve asetik asit gibi farklı mobil faz katkı maddeleri, 25°C, 30°C, 35°C ve 40°C gibi farklı kolon sıcaklıkları denenmiş ve optimum şartlara kadar uygulanmıştır. Sonuç olarak, kromatografik ayırma, ters fazlı bir Agilent Poroshell 120 EC-C18 model (150 mm x 2,1 mm, 2,7 µm) analitik kolon üzerinde gerçekleştirildi. Kolon sıcaklığı 40°C'ye ayarlandı. Elüsyon gradyanı, elüent A (su + 5 mM amonyum format + %0,1 formik asit) ve elüsyon B'den (metanol + 5 mM amonyum format + %0.1 formik asit) oluşturuldu. %20-100 B (0-25 dakika), % 100 B (25-35 dakika), %20 B (35-45 dakika) gradyan elüsyon profili kullanıldı. Ayrıca solvent akış hızı ve enjeksiyon hacmi sırasıyla 0,5 mL/dak ve 5 µL olarak ayarlandı. Kütle spektrometrik algılama hem negatif hem de pozitif iyonizasyon modlarında çalışan bir elektrosprey iyonizasyon (ESI) kaynağı ile donatılmış bir Shimadzu LCMS-8040 model tandem kütle spektrometresi kullanılarak gerçekleştirildi. LC-ESI-MS/MS verileri, LabSolutions yazılımı (Shimadzu) tarafından alındı ve işlendi. Fitokimyasalların miktarının belirlenmesi için MRM (çoklu reaksiyon izleme) modu kullanıldı. MRM yöntemi, fitokimyasal bileşikleri seçici olarak saptamak ve ölçmek için, belirtilen öncü fitokimyasaldan parçaya iyon geçişlerinin taranmasına dayalı olarak optimize edilmiştir. Çarpışma enerjileri (CE), optimum fitokimyasal parçalanma ve istenen ürün iyonlarının maksimum iletimini oluşturmak için optimize edilmiştir (Boğa ve ark., 2016b; Ceylan ve ark., 2016; Bouhafsoun ve ark., 2018; Yener ve ark., 2018; Zengin ve ark., 2018 Uysal ve ark., 2019 Yılmaz, 2020; Bakir ve ark., 2020; Bursal ve ark., 2021).

Kütle spektrometresi ise şu parametreler kullanılmıştır. Kurutma gazı (N₂) sıcaklığı; 15 L/dk olarak, DL sıcaklığı; 250 °C, nebulizer gaz (N₂) akışı; 3 L/dk, ara yüz (interface) sıcaklığı; 350 °C, heat block sıcaklığı; 400 °C, DL sıcaklığı; 250 °C olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.8. 53 Fenolik bileşiğin UHPLC-ESI-MS/MS metodu ile geliştirilen standart kromatogramı (1: Quinic acid, 2: Fumaric acid, 3: Aconitic acid, 4: Gallic acid, 5: Epigallocatechin, 6: Protocatechuic acid, 7: Catechin, 8: Gentisic acid, 9: Chlorogenic acid)

Tablo 3.6. LC-MS/MS cihazı analitik yöntem validasyon parametreleri

No	Analytes	RT ^a	M.I. (m/z) ^b	F.I. (m/z) ^c	Ion. Mode	Equation	r^{2d}	RSD% ^e		Linearity Range (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^f	Recovery (%)		U ^g	Gr. No ⁱ
								Interday	Intraday			Interday	Intraday		
1	Quinic acid	3,0	190,8	93,0	Neg	$y=-0,0129989+2,97989 \times$	0,996	0,69	0,51	0,1-5	25,7/33,3	1,0011	1,0083	0,0372	1
2	Fumaric aid	3,9	115,2	40,9	Neg	$y=-0,0817862+1,03467 \times$	0,995	1,05	1,02	1-50	135,7/167,9	0,9963	1,0016	0,0091	1
3	Aconitic acid	4,0	172,8	129,0	Neg	$y=-0,7014530+32,9994 \times$	0,971	2,07	0,93	0,1-5	16,4/31,4	0,9968	1,0068	0,0247	1
4	Gallic acid	4,4	168,8	79,0	Neg	$y=0,0547697+20,8152 \times$	0,999	1,60	0,81	0,1-5	13,2/17,0	1,0010	0,9947	0,0112	1
5	Epigallocatechin	6,7	304,8	219,0	Neg	$y=-0,00494986+0,0483704 \times$	0,998	1,22	0,73	1-50	237,5/265,9	0,9969	1,0040	0,0184	3
6	Protocatechuic acid	6,8	152,8	108,0	Neg	$y=0,211373+12,8622 \times$	0,957	1,43	0,76	0,1-5	21,9/38,6	0,9972	1,0055	0,0350	1
7	Catechin	7,4	288,8	203,1	Neg	$y=-0,00370053+0,431369 \times$	0,999	2,14	1,08	0,2-10	55,0/78,0	1,0024	1,0045	0,0221	3
8	Gentisic acid	8,3	152,8	109,0	Neg	$y=-0,0238983+12,1494 \times$	0,997	1,81	1,22	0,1-5	18,5/28,2	0,9963	1,0077	0,0167	1
9	Chlorogenic acid	8,4	353,0	85,0	Neg	$y=0,289983+36,3926 \times$	0,995	2,15	1,52	0,1-5	13,1/17,6	1,0000	1,0023	0,0213	1
10	Protocatechuic aldehyde	8,5	137,2	92,0	Neg	$y=0,257085+25,4657 \times$	0,996	2,08	0,57	0,1-5	15,4/22,2	1,0002	0,9988	0,0396	1
11	Tannic acid	9,2	182,8	78,0	Neg	$y=0,0126307+26,9263 \times$	0,999	2,40	1,16	0,05-2,5	15,3/22,7	0,9970	0,9950	0,0190	1
12	Epigallocatechin gallate	9,4	457,0	305,1	Neg	$y=-0,0380744+1,61233 \times$	0,999	1,30	0,63	0,2-10	610/86,0	0,9981	1,0079	0,0147	3
13	1,5-dicaffeoylquinic acid	9,8	515,0	191,0	Neg	$y=-0,0164044+16,6535 \times$	0,999	2,42	1,48	0,1-5	5,8/9,4	0,9983	0,9997	0,0306	1
14	4-OH Benzoic acid	10,5	137,2	65,0	Neg	$y=-0,0240747+5,06492 \times$	0,999	1,24	0,97	0,2-10	68,4/88,1	1,0032	1,0068	0,0237	1
15	Epicatechin	11,6	289,0	203,0	Neg	$y=-0,0172078+0,0833424 \times$	0,996	1,47	0,62	1-50	139,6/161,6	1,0013	1,0012	0,0221	3
16	Vanilic acid	11,8	166,8	108,0	Neg	$y=-0,0480183+0,779564 \times$	0,999	1,92	0,76	1-50	141,9/164,9	1,0022	0,9998	0,0145	1
17	Caffeic acid	12,1	179,0	134,0	Neg	$y=0,120319+95,4610 \times$	0,999	1,11	1,25	0,05-2,5	7,7/9,5	1,0015	1,0042	0,0152	1
18	Syringic acid	12,6	196,8	166,9	Neg	$y=-0,0458599+0,663948 \times$	0,998	1,18	1,09	1-50	82,3/104,5	1,0006	1,0072	0,0129	1
19	Vanillin	13,9	153,1	125,0	Poz	$y=0,00185898+20,7382 \times$	0,996	1,10	0,85	0,1-5	24,5/30,4	1,0009	0,9967	0,0122	1
20	Syringic aldehyde	14,6	181,0	151,1	Neg	$y=-0,0128684+7,90153 \times$	0,999	2,51	0,77	0,4-20	19,7/28,0	1,0001	0,9964	0,0215	1
21	Daidzin	15,2	417,1	199,0	Poz	$y=9,45747+152,338 \times$	0,996	2,25	1,32	0,05-2,5	7,0/9,5	0,9955	1,0017	0,0202	2
22	Epicatechin gallate	15,5	441,0	289,0	Neg	$y=-0,0142216+1,06768 \times$	0,997	1,63	1,28	0,1-5	19,5/28,5	0,9984	0,9946	0,0229	3
23	Piceid	17,2	391,0	135/106,9	Poz	$y=0,00772525+25,4181 \times$	0,999	1,94	1,16	0,05-2,5	13,8/17,8	1,0042	0,9979	0,0199	1
24	<i>p</i> -Coumaric acid	17,8	163,0	93,0	Neg	$y=0,0249034+18,5180 \times$	0,999	1,92	1,43	0,1-5	25,9/34,9	1,0049	1,0001	0,0194	1
25	Ferulic acid-D3-IS ^b	18,8	196,2	152,1	Neg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	0,0170	1
26	Ferulic acid	18,8	192,8	149,0	Neg	$y=-0,0735254+1,4476 \times$	0,999	1,44	0,53	1-50	11,8/15,6	0,9951	0,9976	0,0181	1
27	Sinapic acid	18,9	222,8	193,0	Neg	$y=-0,0929932+0,836324 \times$	0,999	1,45	0,52	0,2-10	65,2/82,3	1,0031	1,0037	0,0317	1
28	Coumarin	20,9	146,9	103,1	Poz	$y=0,0633397+136,508 \times$	0,999	2,11	1,54	0,05-2,5	214,2/247,3	0,9950	0,9958	0,0383	1

^aR.T.: Retention time, ^bMI (m/z): Molecular ions of the standard analytes (m/z ratio), ^cFI (m/z): Fragment ions ^dr²: Coefficient of determination, ^eRSD: Relative standard deviation, ^fLOD/LOQ (µg/L): Limit of detection/quantification, ^gU (%): percent relative uncertainty at 95% confidence level ($k = 2$), ^hIS: Internal standard, ⁱGr. No: Represents grouping of internal standards, these numbers indicate which IS stands for which phenolic compound.

Tablo 3.4. LC-MS/MS cihazı analitik yöntem validasyon parametreleri (Devamı)

No	Analytes	RT ^a	M.I. (m/z) ^b	F.I. (m/z) ^c	Ion. mode	Equation	r ^{2d}	RSD% ^e Interday	Intraday	Linearity Range (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) ^f	Recovery (%)		U ^g	Gr. No
29	Salicylic acid	21,8	137,2	65,0	Neg	y=0,239287+153,659 ×	0,999	1,48	1,18	0,05-2,5	6,0/8,3	0,9950	0,9998	0,0158	1
30	Cynaroside	23,7	447,0	284,0	Neg	y=0,280246+6,13360 ×	0,997	1,56	1,12	0,05-2,5	12,1/16,0	1,0072	1,0002	0,0366	2
31	Miquelianin	24,1	477,0	150,9	Neg	y=-0,00991585+5,50334 ×	0,999	1,31	0,95	0,1-5	10,6/14,7	0,9934	0,9965	0,0220	2
32	Rutin-D3-IS ^h	25,5	612,2	304,1	Neg	N,A,	N,A,	N,A,	N,A,	N,A,	N,A,	N,A,	N,A,	N,A,	2
33	Rutin	25,6	608,9	301,0	Neg	y=-0,0771907+2,89868 ×	0,999	1,38	1,09	0,1-5	15,7/22,7	0,9977	1,0033	0,0247	2
34	isoquercitrin	25,6	463,0	271,0	Neg	y=-0,111120+4,10546 ×	0,998	2,13	0,78	0,1-5	8,7/13,5	1,0057	0,9963	0,0220	2
35	Hesperidin	25,8	611,2	449,0	Poz	y=0,139055+13,2785 ×	0,999	1,84	1,35	0,1-5	19,0/26,0	0,9967	1,0043	0,0335	2
36	o-Coumaric acid	26,1	162,8	93,0	Neg	y=0,00837193+11,2147 ×	0,999	2,11	1,46	0,1-5	31,8/40,4	1,0044	0,9986	0,0147	1
37	Genistin	26,3	431,0	239,0	Neg	y=1,65808+7,57459 ×	0,991	2,01	1,28	0,1-5	14,9/21,7	1,0062	1,0047	0,0083	2
38	Rosmarinic acid	26,6	359,0	197,0	Neg	y=-0,0117238+8,04377 ×	0,999	1,24	0,86	0,1-5	16,2/21,2	1,0056	1,0002	0,0130	1
39	Ellagic acid	27,6	301,0	284,0	Neg	y=0,00877034+0,663741 ×	0,999	1,57	1,23	0,4-20	56,9/71,0	1,0005	1,0048	0,0364	1
40	Cosmosiin	28,2	431,0	269,0	Neg	y=-0,708662+8,62498 ×	0,998	1,65	1,30	0,1-5	6,3/9,2	0,9940	0,9973	0,0083	2
41	Quercitrin	29,8	447,0	301,0	Neg	y=-0,00153274+3,20368 ×	0,999	2,24	1,16	0,1-5	4,8/6,4	0,9960	0,9978	0,0268	2
42	Astragalin	30,4	447,0	255,0	Neg	y=0,00825333+3,51189 ×	0,999	2,08	1,72	0,1-5	6,6/8,2	0,9968	0,9957	0,0114	2
43	Nicotiflorin	30,6	592,9	255,0/284,0	Neg	y=0,00499333+2,62351 ×	0,999	1,48	1,23	0,05-2,5	11,9/16,7	0,9954	1,0044	0,0108	2
44	Fisetin	30,6	285,0	163,0	Neg	y=0,0365705+8,09472 ×	0,999	1,75	1,19	0,1-5	10,1/12,7	0,9980	1,0042	0,0231	3
45	Daidzein	34,0	253,0	223,0	Neg	y=-0,0329252+6,23004 ×	0,999	2,18	1,73	0,1-5	9,8/11,6	0,9926	0,9963	0,0370	3
46	Quercetin-D3-IS ^h	35,6	304,0	275,9	Neg	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	3
47	Quercetin	35,7	301,0	272,9	Neg	y=+0,00597342+3,39417 ×	0,999	1,89	1,38	0,1-5	15,5/19,0	0,9967	0,9971	0,0175	3
48	Naringenin	35,9	270,9	119,0	Neg	y=-0,00393403+14,6424 ×	0,999	2,34	1,69	0,1-5	2,6/3,9	1,0062	1,0020	0,0392	3
49	Hesperetin	36,7	301,0	136,0/286,0	Neg	y=+0,0442350+6,07160 ×	0,999	2,47	2,13	0,1-5	7,1/9,1	0,9998	0,9963	0,0321	3
50	Luteolin	36,7	284,8	151,0/175,0	Neg	y=-0,0541723+30,7422 ×	0,999	1,67	1,28	0,05-2,5	2,6/4,1	0,9952	1,0029	0,0313	3
51	Genistein	36,9	269,0	135,0	Neg	y=-0,00507501+12,1933 ×	0,999	1,48	1,19	0,05-2,5	3,7/5,3	1,0069	1,0012	0,0337	3
52	Kaempferol	37,9	285,0	239,0	Neg	y=-0,00459557+3,13754 ×	0,999	1,49	1,26	0,05-2,5	10,2/15,4	0,9992	0,9990	0,0212	3
53	Apigenin	38,2	268,8	151,0/149,0	Neg	y=0,119018+34,8730 ×	0,998	1,17	0,96	0,05-2,5	1,3/2,0	0,9985	1,0003	0,0178	3
54	Amentoflavone	39,7	537,0	417,0	Neg	y=0,727280+33,3658 ×	0,992	1,35	1,12	0,05-2,5	2,8/5,1	0,9991	1,0044	0,0340	3
55	Chrysin	40,5	252,8	145,0/119,0	Neg	y=-0,0777300+18,8873 ×	0,999	1,46	1,21	0,05-2,5	1,5/2,8	0,9922	1,0050	0,0323	3
56	Acacetin	40,7	283,0	239,0	Neg	y=-0,559818+163,062 ×	0,997	1,67	1,28	0,02-1	1,5/2,5	0,9949	1,0011	0,0363	3

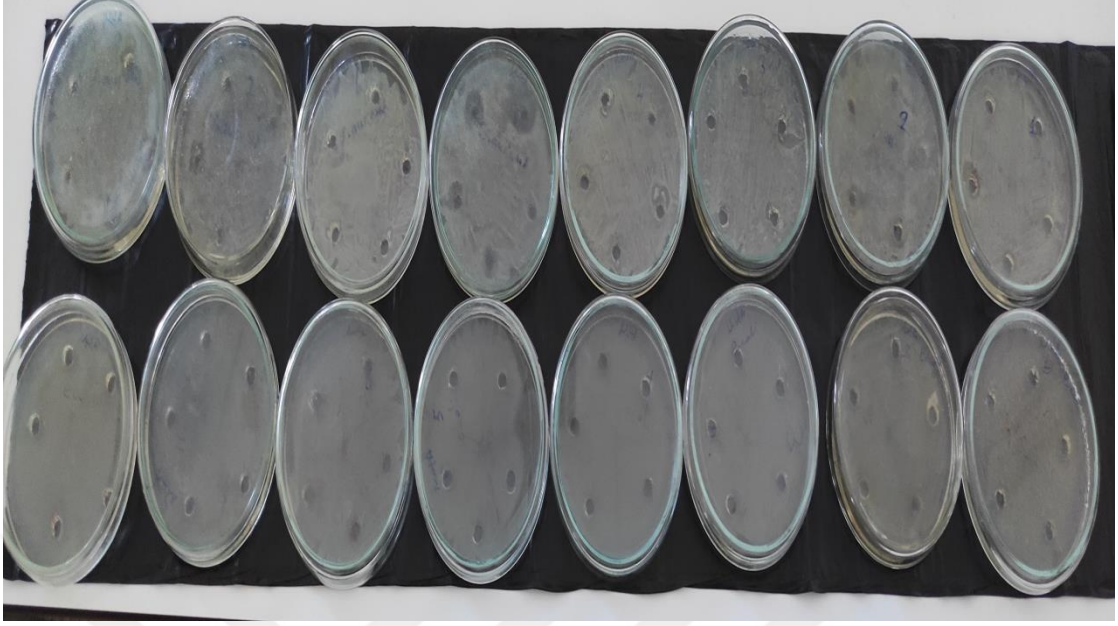
^aR.T.: Retention time, ^bMI (m/z): Molecular ions of the standard analytes (m/z ratio), ^cFI (m/z): Fragment ions ^dr²: Coefficient of determination, ^eRSD: Relative standard deviation, ^fLOD/LOQ (µg/L): Limit of detection/quantification, ^gU (%): percent relative uncertainty at 95% confidence level (k = 2), ^hIS: Internal standard, ⁱGr. No: Represents grouping of internal standards, these numbers indicate which IS stands for which phenolic compound.

3.1.1. Antimikrobiyal aktivite analizi

H. siirtensis bitkisinin antimikrobial aktiviteleri için değişik bakterilerden faydalanılmıştır. Antibakteriyel aktivite analizleri için standart suşlardan *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) örnekleri test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Bu alışmamızda soxhlet ekstraksiyon yöntemiyle *H. siirtensis* bitki örneklerinden elde edilen ekstraktların antibakteriyel aktivite analizleri delik agar difüzyon yöntemi kullanılarak ölçölmüştür.

3.1.1.1. Delik agar diffüzyon yöntemi

Delik agar diffüzyon yöntemi kullanma amaçlı daha önce soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak hazırlanan çözeltiden 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 seyreltme oranlarında dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bu yöntemde *S. aureus* ve *E. coli* mikroorganizma testleriyle aşılanmış agarlı besiyerleri üzerine eşit aralıkta 5 adet delik açılarak bu delikler *H. siirtensis* bitki ekstresinden elde edilerek hazırlanmış farklı konsantrasyondaki AMM (Antimikrobiyal madde) dilüsyonlarıyla ile taşmamasına dikkat edilerek doldurulmuştur. Kontrol deliğiyse sterilize edilmiş saf suyla doldurulmuştur. AMM dilüsyonlarının taşmaması ve diffüzyone olması için delikler AMM dilüsyonuyla doldurulduktan sonra etüve alınmadan önce yaklaşık 10 dakika bekletildi. Daha sonra etüve alınacak petri kutularındaki AMM dilüsyonlarının taşmaması için yere paralel ve düz olacak şekilde etüve taşınmıştır. AMM dilüsyonlarını içeren petri kutuları etüvde 33 °C'de 24 saat boyunca bekletilerek inkübasyonları sağlandı. Antimikrobiyal aktiviteyi tespit etme amaçlı inkübasyon sonunda petri kutularındaki deliklerin etrafında oluşan inhibisyon zonları incelenerek gerekli ölçömler yapılmıştır.



Şekil 3.9. Antimikrobiyal aktivite ölçümü için kullanılan petri kutuları.

3.1.2. Nem tayini

H. siirtensis bitki numunesini kurutma amaçlı kullanılacak kurutma kapları 2 saat boyunca 105 °C'de etüvde kurutulduktan sonra nem kapmaması için oda sıcaklığında desikatörde soğutulmuştur. Bu kurutma işleminde sonra numune kapları hassas teraziyle tartılarak içerisine daha önce hassas teraziyle tartılmış 1 g bitki numunesinden konularak sabit tartıma gelmesi için 8 saat boyunca 105 °C'de etüvde kurutulmuştur. Bu kurutma işleminden sonra numune hassas teraziyle tartıldıktan sonra başlangıç miktarıyla arasındaki fark *H. siirtensis* bitki numunesinin nem miktarını vermektedir.

3.1.3. Kül tayini

Kül tayini için toz haline getirilmiş *H. siirtensis* bitki numuneleri tartılarak kül fırınında beyaz kül elde edilinceye kadar 525 °C'de 5 saat boyunca yakılarak kül haline getirildi. Yakıldıktan sonra da kalan beyaz kül hassas terazide tartılarak beyaz kül ağırlık miktarı ölçüldü. Tartılan beyaz kül miktarının yüzde miktarı başlangıçta tartılarak kül fırınına alınan toplam toz haline getirilmiş bitki numunesinin ağırlığına göre oranlanarak yüzdesel ölçümü yapıldı.

3.1.4. Yağ tayini

Toz haline getirilmiş bitki numunelerinin toplam yağ miktarları ekstraksiyon yöntemlerine göre bulunmaktadır. Toz haline getirilmiş *H. siirtensis* bitki numuneleri tartılarak 4 'er gramları farklı çözücülerle soxhlet yöntemiyle ve 3'er gramları da farklı çözücüler kullanılarak maserasyon yöntemiyle ekstre edildi. Ekstraksiyon sonucunda ekstraksiyonda kullanılan çözücüler döner buharlaştırıcı vasıtasıyla buharlaştırıldı. Ekstraksiyon sonucunda elde edilen yağ ekstraktı desikatörde soğutularak hassas teraziyle tartıldı. Yapılan tartım sonucunda yağ miktarı tayin edildi. Ayrıca yağ miktarının yüzdece oranı başlangıçta tartılan toz haline getirilen bitki numunesine göre belirlendi.

3.1.5. Renk tayini

Toz haline getirilmiş *H. siirtensis* bitki örneklerinin soxhlet ekstraksiyonu sonucu elde edilmiş bitki ekstraktının 10 mL'lik çözeltilerinin rengi pencolorart renk tayin cihazı kullanılarak ölçüldü. Bitki ekstarktının renk tespitinde kullanılan renk tayin cihazının kalibrasyonu saf su ile yapıldı. Renk tespiti yapılacak bitki ekstraktının elde edilmiş numuneleri de cihazın küvetine yerleştirililip bitki ekstraktının L*, a* ve b* renk değerleri ayrı ayrı soxhlet ekstraksiyon yönteminin bütün çözücülerini için ölçüldü.



Şekil 3.10. Renk ölçüm cihazı

Toz haline getirilmiş *H. siirtensis* bitki numunelerinden 4'er gram alınarak soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 8 farklı çözücü (%80'lik aseton, etanol, metanol, hegzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su) ile ekstre edildi. Bu ekstreden elde edilen 10 mL'lik çözelti ekstratlarının pH'ları oda sıcaklığında Mettler Toledo marka pH metre ile ölçüldü.



Şekil 3.11. pH ölçüm cihazı

3.1.6. Oksidasyon redüksiyon (OR) potansiyel analizi

Toz haline getirilmiş *H. siirtensis* bitki numunelerinden 4'er gram alınarak soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 8 farklı çözücü (%80'lik aseton, etanol, metanol, hegzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su) ile ekstre edildi. Bu ekstre edilerek elde edilen 10 mL'lik çözelti ekstratlarının Oksidasyon Redüksiyon (OR) potansiyel analizi oda sıcaklığında Mettler Toledo marka pH metre ile ölçüldü. Bitki numune ekstrakt çözeltilerinin oksijen etkilerini azaltmamak için tüp içerisinden çıkartılmadan ölçümleri yapılmıştır.

3.1.7. Kuru madde tayini

H. siirtensis bitki numunesini kurutma amaçlı kullanılacak kurutma kapları 2 saat boyunca 105 °C'de etüvde kurutulduktan sonra nem kapmaması için oda sıcaklığında desikatörde soğutulmuştur. Bu kurutma işleminde sonra numune kapları hassas teraziyle tartılarak içerisine daha önce hassas teraziyle tartılmış 1 g bitki numunesinden konularak sabit tartıma gelmesi için 8 saat boyunca 105 °C'de etüvde kurutulmuştur. Bu kurutma işleminden sonra numune hassas teraziyle tartılarak *H. siirtensis* bitki numunesinin kuru madde miktarı ölçülmüştür.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları ve Değerlendirilmesi

DPPH ve FRAP yöntemleri kullanılarak *H. Siirtensis* bitkisinin maserasyon yöntemi kullanılarak elde edilen ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri ölçülmüştür.

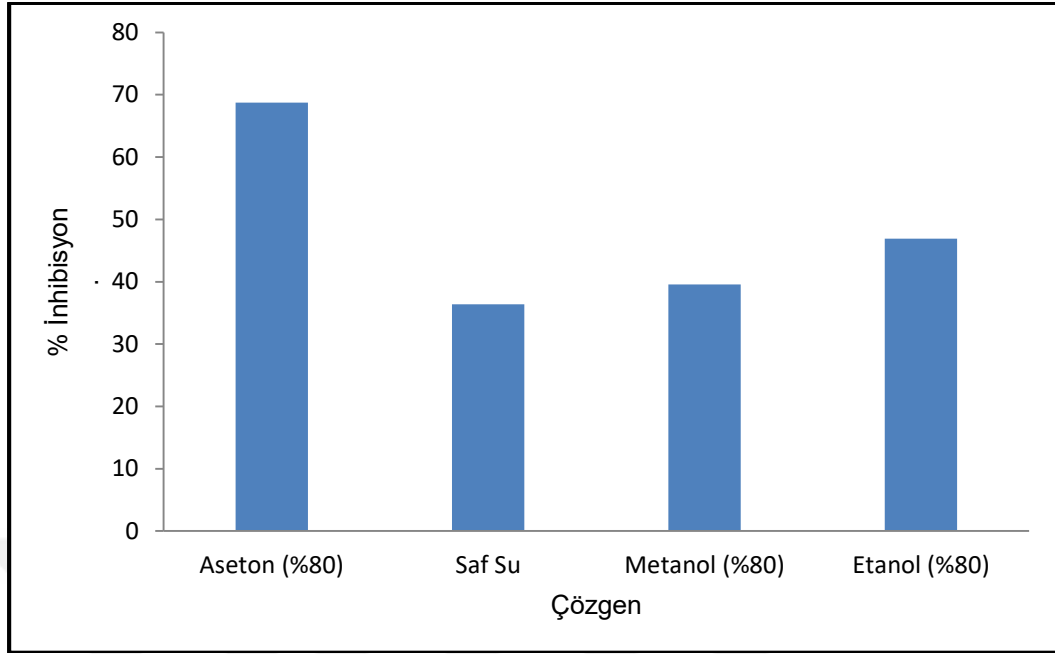
4.1.1. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi sonuçları ve değerlendirilmesi

H. siirtensis bitkisinin maserasyon yöntemiyle aseton, etanol, metanol ve su çözücülerinden elde edilen ekstraktlarının DPPH serbest radikal süpürme tayinleri yapılmıştır. *H. siirtensis* bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal süpürme aktivitelerinin Galik asit eş değerlerinin en yüksek % inhibisyon değeri 68,72 ile %80'lik aseton ekstraktından elde edilmiş olup en düşük değeri de 36,36 ile saf su ekstraktından elde edilmiştir. Balos (2021) çalışmasında *H. siirtensis* bitkisinin DPPH serbest radikal süpürme değerlerinin IC₅₀ değerleri 35 ppm, 75 ppm ve 110 ppm'de gösterdikleri yüzde inhibisyon değerleri soğan kısmında sırasıyla, %17,25±0,78, %24,46±0,82 ve %30,41±0,23; yaprak kısmında %32,93±1,72, %50,41±0,56 ve %73,72±2,84; çiçek kısmında %27,20±0,64, %39,02±1,54 ve %54,97±1,19'dir.

Aydın (2016) çalışmasında *H. lineata* bitkisinin DPPH serbest radikal süpürme değerleri ölçülmüş olup en yüksek değere 1 mg/mL konsantride (% 91,5) değeriyle toprak üstü metanol ekstraktında, en düşük değere 0,2 mg/mL (% 10,86) ile aseton ekstraktında ölçülmüştür. Bizim çalışmamızda ise 68,72 ile en yüksek değere aseton ekstraktıyla, en düşük değere ise 36,36 ile saf su ekstraktında ölçülmüştür.

Tablo 4.1. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi % inhibisyon analiz sonuçları

Numune	% inhibisyon
% 80 Aseton	68,72
Saf Su	36,36
% 80 Metanol	39,58
% 80 Etanol	46,93



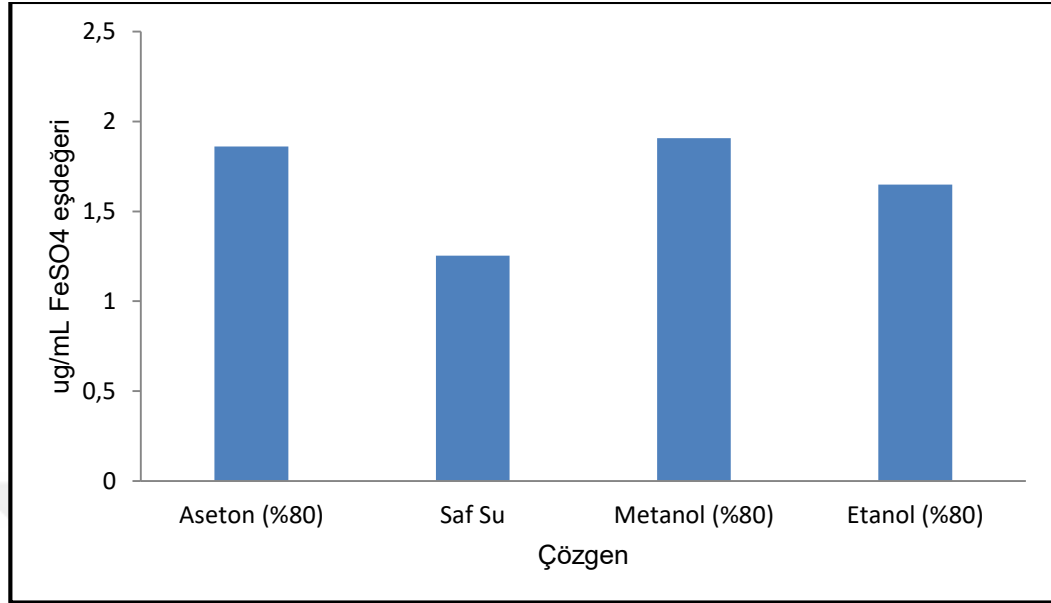
Şekil 4.1. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi % inhibisyon değerleri

4.1.2. FRAP demir iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini sonuçları ve değerlendirmesi

H. siirtensis bitki ekstraktlarının antioksidan kapasite analizleri için FRAP yöntemi kullanılmıştır. *H. siirtensis* bitkisinin maserasyon yöntemiyle aseton, etanol, metanol ve su çözücülerinden elde edilen ekstraktlarının antioksidan kapasite tayinleri bu yöntemle yapılmıştır. *H. siirtensis* bitki ekstraktlarının FARAP yöntemiyle yapılan antioksidan kapasite analizlerinde en yüksek değer 1,91 $\mu\text{g FeSO}_4/\text{mL}$ ekstrakt ile %80'lik metanol ekstraktına en düşük değerinde 1,25 $\mu\text{g FeSO}_4/\text{mL}$ ekstrakt saf su ekstraktına ait olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.2. FRAP analiz sonuçları

Numune	Çözgen	$\mu\text{g/mL FeSO}_4$ eşdeğeri
% 80 Aseton		1,86
Saf Su		1,25
% 80 Metanol		1,91
% 80 Etanol		1,65



Şekil 4.2. FRAP analizi sonucu elde edilen değerler

4.2. Toplam Fenolik Madde Tayini (Folin-Ciocalteu Yöntemi)

Toplam fenolik madde tayini için FCR Folin-Ciocalteu Reaktifi Yöntemi kullanılarak *H. siirtensis* bitkisinin maserasyon yöntemiyle aseton, etanol, metanol ve su çözücülerinden elde edilen ekstraktlarındaki toplam fenolik maddelerin tayini yapılmıştır. *H. siirtensis* bitkisinin toplam fenolik madde miktarının en yüksek değeri 95,87 mg/mL Galik asit eş değeri ile %80'lik metanol ekstraktından elde edilmiş olup en düşük değeride 8,27 mg/mL Galik asit eş değeri ile saf su ekstraktından elde edilmiştir.

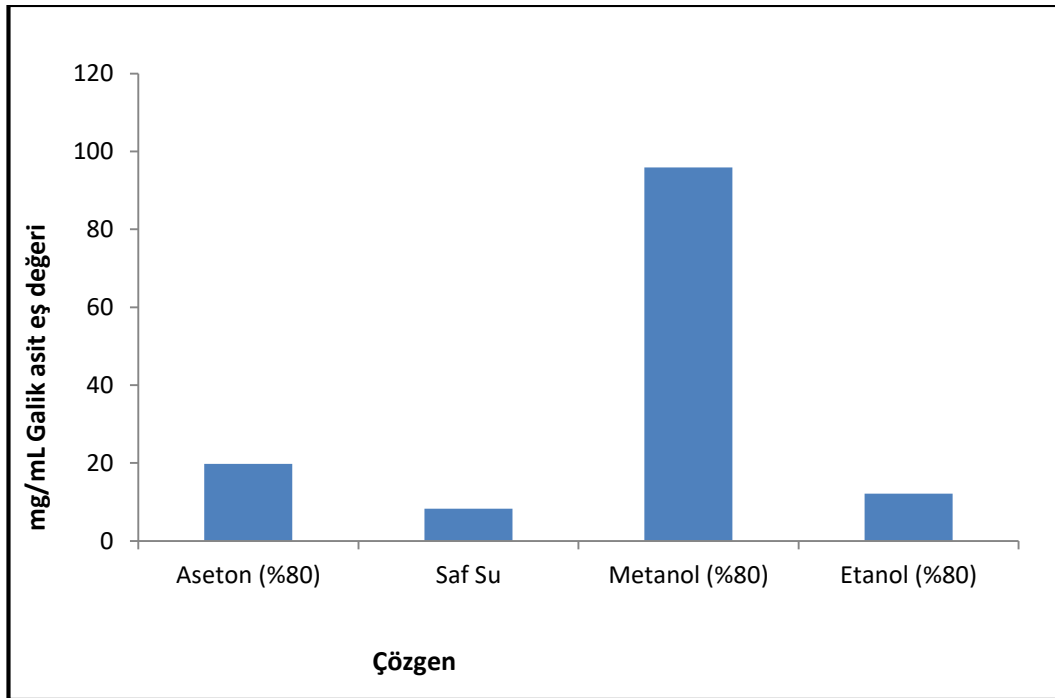
Aydın (2016) çalışmasında *Hyacinthella lineata* bitkisinin etanol, metanol ve aseton kullanılarak yapılan ekstraktlarının toplam fenolik madde tayinini yapmıştır. Bitkinin toprak altı kısımlarının etanol çözelti ekstraktı miktarını $8,7 \pm 3,23$ mg/mL Galik asit eş değeri, metanol çözelti ekstraktında $4,5 \pm 2,024$ mg/mL Galik asit eş değeri, aseton çözelti ekstraktında $2,9 \pm 1,42$ mg/mL Galik asit eş değeri sonuçlarını elde etmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımlarının etanol çözelti ekstraktı miktarını $6,8 \pm 3,26$ mg/mL Galik asit eş değeri, metanol çözelti ekstraktında $6,6 \pm 3,027$ mg/mL Galik asit eş değeri, aseton çözelti ekstraktında $3,76 \pm 1,027$ mg/mL Galik asit eş değeri sonuçlarını elde etmiştir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz toplam fenolik madde miktarının su çözelti ekstrakt değerlerinin bu çalışmaya yakın olduğu diğer çözelti ekstrakt değerlerinin çok

daha yüksek olduğu görülmüştür.

Balos (2021) çalışmasında *H. siirtensis* bitki numunesinin soxhlet yöntemi ve etanol çözeltisi kullanılarak elde edilen ekstraktın toplam fenolik madde miktarı $64,76 \pm 0,24$ mg/L ile $90,86 \pm 0,63$ mg/L arasında değerler aldığı görülmektedir (Balos, 2021). Bizim çalışmamızda dör farklı çözücü kullanılarak elde edilen toplam fenolik madde miktarları 8,27 mg/L ile 95,87 mg/L arasında değişmektedir. En yüksek değerinde maserasyon yöntemiyle % 80 aseton çözeltisi kullanılan ekstraktan 95,87 mg/L ile elde edildiği görülmek ve bu değer Balos (2021) çalışmasında elde edilen tüm fenolik madde miktarlarından daha yüksek değerdedir.

Tablo 4.3. Toplam fenolik madde analiz sonuçları

Numune	mg/mL Galik asit eş değeri
% 80 Aseton	19,74
Saf Su	8,27
% 80 Metanol	95,87
% 80 Etanol	12,15



Şekil 4.3. Toplam fenolik madde miktarı analiz grafiği

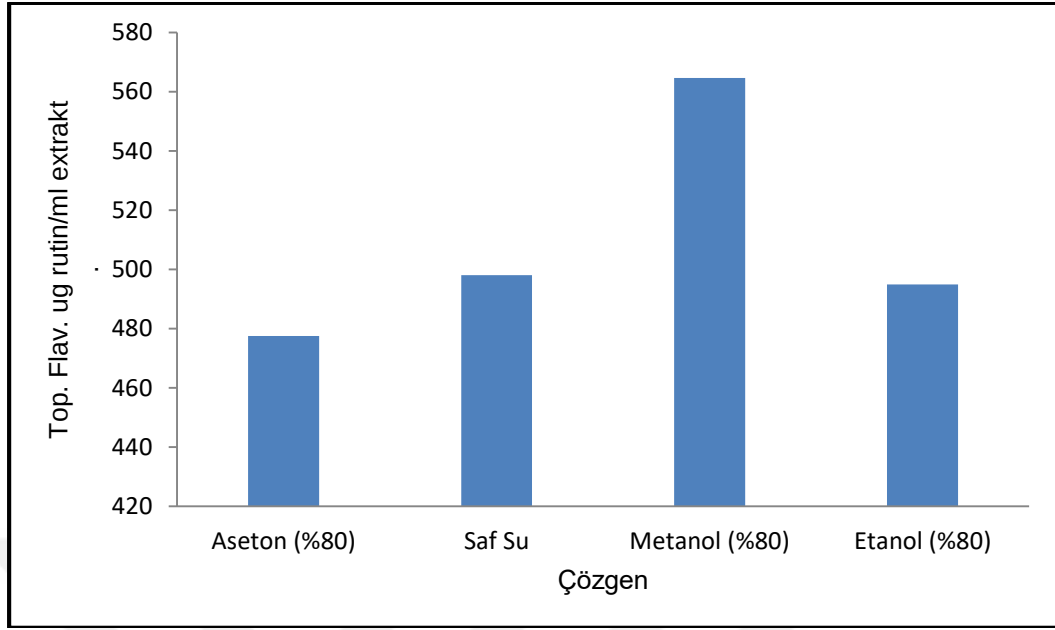
4.3. Toplam Flavonoid Bileşik Miktarı Tayin Sonuçları ve Değerlendirmesi

H. siirtensis bitkisinin maserasyon yöntemiyle aseton, etanol, metanol ve su çözücülerinden elde edilen ekstraktlarındaki toplam flavonoid bileşik miktarı tayini yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda *H. siirtensis* bitkisinin en yüksek toplam flavonoid bileşik miktarının 564,63 mg rutin/mL ekstrakt ile saf su ekstraktından elde edildiği, en miktarının ise 477,56 mg rutin/mL ekstrakt ile %80'lik aseton ekstraktından elde edildiği görülmektedir.

Balos (2021) çalışmasında *H. siirtensis* bitki numunesinin soxhlet yöntemi ve etanol çözeltisi kullanılarak elde edilen ekstraktın toplam flavonoid madde miktarı $132,83 \pm 3,15$ mg/L ile $189,27 \pm 3,57$ mg/L arasında değerler aldığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda dör farklı çözücü kullanılarak elde edilen toplam fenolik madde miktarları 477,56 mg/L ile 564,63 mg/L arasında değişmektedir. Çalışmamızda dört farklı çözücü kullanılarak maserasyon yöntemi kullanılarak elde edilen ekstraktın toplam flovanoid madde miktarlarının Balos (2021) çalışmasında elde edilen toplam flavonoid madde miktarından çok daha fazla olmaktadır.

Tablo 4.4. Toplam flavonoid madde miktarı analiz sonuçları

Numune	mg/ml Rutin eş değeri
Aseton (% 80)	477,56
Saf Su	498,09
Metanol (% 80)	564,63
Etanol (% 80)	494,87



Şekil 4.4. Toplam flavonoid madde miktarı grafiği

4.4. ICP-OES Analiz Sonuçları ve Değerlendirmesi

H. siirtensis bitkisinin element analizleri yaş yakma ve mikrodalga yöntemleri kullanılarak çözünürleştirilen bitki numunelerinin analizi Perkin Elmer ICP-OES Optima 2100 DV marka ICP-OES cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. Bu analiz yönteminde 23 (As, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Tl, Zn) element analizi yapılmış olup 17 (B, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sb, Sr, Zn) elementin bitki numunesindeki miktarları tespit edilmiştir.

Bitki numunesinde mg/kg cinsinden miktar olarak en fazla $5329 \pm 1,60$ mg/kg ile mikrodalga numunesinde kalsiyum elementi tespit edilmiş olup bunu sırasıyla $3214 \pm 28,90$ mg/kg ile mikrodalga numunesinde potasyum, $2327,32 \pm 10,50$ mg/kg ile yaş yakma numunesinde magnezyum ve $2232,23 \pm 87,06$ mg/kg ile yaş yakma numunesinde yine kalsiyum elementi tespit edilmiştir.

Tablo 4.5. *H. Siirtensis* bitkisinin ICP-OES element analiz sonuçları

	As	B	Ba	Bi	Ca	Cd	Ce	Co
	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
Mikrodalga Numunesi	T.E.	4,37±0,05	177,30±1,47	T.E.	5329±1,60	T.E.	T.E.	0,265±0,01
Yaş Yakma Numunesi	T.E.	8,736±0,38	179,28±2,02	T.E.	2232,23±87,06	T.E.	T.E.	0,30±0,02
	Cr	Cu	Fe	K	Li	Mg	Mn	Na
	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
Mikrodalga Numunesi	1,93±0,01	6,96±2,51	420,70±4,10	3214±28,90	0,74±0,01	2091±3,30	35,99±0,26	190,70±0,91
Yaş Yakma Numunesi	2,514±0,07	2,51±0,31	496,10±55,50	919,21±45,30	1,740±0,06	2327,32±10,50	45,40±2,31	115,502±
	Ni	Pb	Sb	Se	Sr	Tl	Zn	
	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	
Mikrodalga Numunesi	2,18±0,00	T.E.	0,04±0,12	T.E.	31,04±0,17	T.E.	13,08±0,55	
Yaş Yakma Numunesi	3,08±0,34	0,22±0,08	T.E.	T.E.	3,37±0,11	T.E.	13,38±0,21	

T.E.= Tespit Edilmedi

4.5. ICP-MS Analiz Sonuçları ve Değerlendirmesi

H. siirtensis bitkisinin element analizleri yaş yakma ve mikrodalga yöntemleri kullanılarak çözünürleştirilen bitki numunelerinin analizi 7700x model ICP-MS (Agilent Corporation, USA) cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. Bu analiz yönteminde 21 (Be, Na, Mg, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Hg, Mo, Cd, Sb, Tl, Pb) element analizi yapılmış olup 21 elementinde bitki numunesindeki miktarları tespit edilmiştir.

Bitki numunesinde mg/kg cinsinden miktar olarak en fazla $15649,95 \pm 485,14$ mg/kg ile mikrodalga numunesinde kalsiyum elementi tespit edilmiş olup bunu sırasıyla $6770,02 \pm 142,17$ mg/kg ile mikrodalga numunesinde potasyum, $4958,57 \pm 29,75$ mg/kg ile yaş yakma numunesinde demir ve $2669,99 \pm 42,72$ mg/kg ile mikrodalga numunesinde magnezyum elementi tespit edilmiştir. Uygun (2020) çalışmasında *O. Munzurensis* bitkisinin ICP-MS cihazıyla element analizi yapılmıştır. En yüksek değerlerin kalsiyum (161,57 ppm) ve potasyum (128,10 ppm) element değerleri ölçülmüşken en düşük element değerleri vanadyum (0,01 ppm) ve kobalt (0,01 ppm) için gözlemlenmiştir. Ancak kalay, arsenik ve selenyum element değerleri tespit sınırının altında kalmıştır.

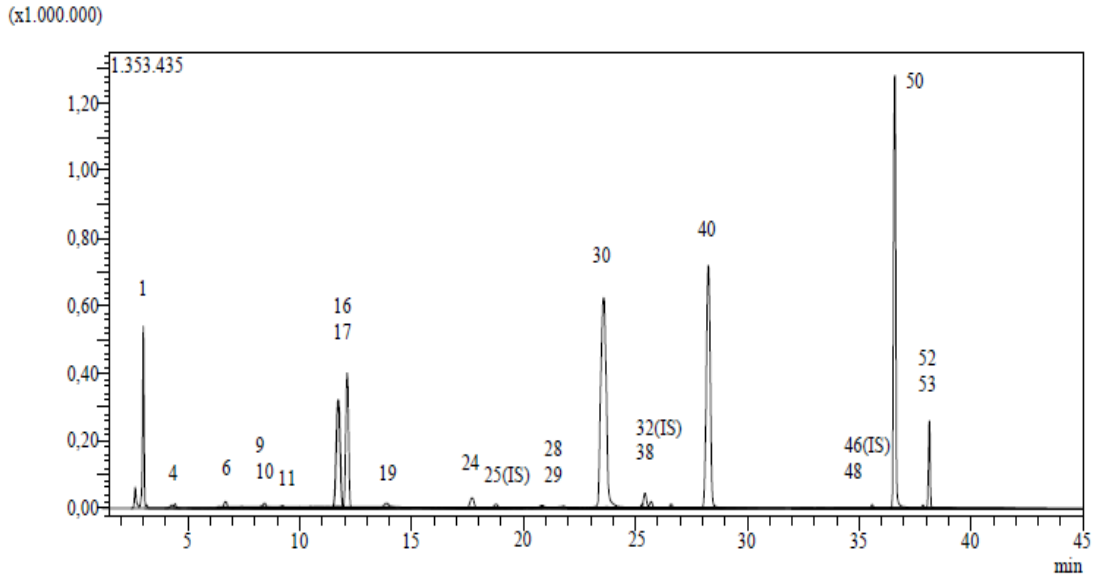
Tablo 4.6. *H. siirtensis* bitkisinin ICP-MS element analiz sonuçları

	Be	Na	Mg	K	Ca	V	Cr
	(µg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
Mikrodalga Numunesi	14,00±0,90	1,75±0,91	2669,99±42,72	6770,02±142,17	15649,95±485,14	1,91±0,007	2,99±0,08
Yaş Yakma Numunesi	5,40±0,20	5,75±0,17	63,59±3,50	235,90±14,62	559,51±18,46	0,57±0,001	0,59±0,03
	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As
	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
Mikrodalga Numunesi	41,87±0,41	782,55±9,39	0,28±0,00	2,88±0,04	1,95±0,03	16,89±0,08	0,31±0,01
Yaş Yakma Numunesi	30,01±0,24	4958,57±29,75	0,17±0,01	1,75±0,009	4,72±0,051	20,19±0,24	3,80±0,09
	Se	Hg	Mo	Cd	Sb	Tl	Pb
	(mg/kg)	(µg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(µg/kg)	(µg/kg)	(mg/kg)
Mikrodalga Numunesi	0,10±0,013	0,60±0,00	0,69±0,01	0,03±0,00	2±0,00	3,00±0,00	0,18±0,02
Yaş Yakma Numunesi	0,09±0,01	2,00±0,00	0,55±0,01	1,14±0,02	13±0,20	2,00±0,10	0,58±0,01

4.6. LC-MS/MS Analiz Sonuçları ve Değerlendirmesi

H. Siirtensis bitkisinin soxhlet yöntemiyle metanol çözeltisi kullanılarak elde edilen ekstrakt çözeltisi LC-MS/MS cihazı yardımıyla analizleri yapılmıştır. *H. siirtensis* ekstraktının yapılacak kalitatif ve kantitatif analizi için Yılmaz (2020) tarafından geliştirilen ve validasyon çalışması yapılan ve 53 adet fitokimyasal madde standartını içeren geniş kapsamlı bir medot kullanılmıştır.

H. siirtensis bitki ekstraktının bileşenleri bu yöntem kullanılarak LC-MS/MS cihazıyla yapılan analiz sonuçları Şekil 4.5.'teki gibi tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. *H. siirtensis* bitkisinin metanol ekstraktının LC-MS/MS kromatogramı

H. siirtensis bitki örneklerinin metanol ekstraktında Quinic acid, Gallic acid, Protocatechuic acid, Chlorogenic acid, Protocatechuic aldehide, Tannic acid, Vanilic acid, Caffeic acid, Vanillin, p-Coumaric acid, Coumarin, Salicylic acid, Cyranoside, Rosmarinic acid, Cosmosiin, Naringenin, Luteolin, Kaempferol ve Apigenin olmak üzere 19 bileşik tespit edilmiştir.

Çalışmamızda metanol çözücüsü kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktında miktarlarına göre bileşikler sırasıyla Cyranoside, Cosmosiin ve Quinic acid asit şeklinde devam etmekte olup 19 ayrı bileşik tespit edilmiştir. Balos (2021) çalışmasında etanol çözücüsü kullanılarak *H. siirtensis* bitkisinden elde edilen ekstrakta LC-MS/MS analiz sonucunda en fazla bulunan bileşikler luteolin, fumarik asit, Kafeik asit şeklinde

sıralanmakta olup ayrı ayrı yumru, çiçek ve gövde kısımlarında sadece 5 adet bileşik tespit edilmiştir. Aydın (2016) çalışmasında *H. lineata* bitki ekstaraktının HPLC analiz sonucunda yüksek oranda bulunan gallik asit, sinamik asit, ferulik asit ve benzoik asitle beraber 9 ayrı bileşik tespit edilmiştir.

H. siirtensis bitki örneklerinin metanol ekstraktının analizleri sonucu elde edilen bileşiklerin mikrarı μg analit/g ekstrakt cinsinden büyükten küçüğe doğru Cyranoside 28,415 μg analit/g, Cosmosiin 22,687 μg analit/g, Quinic acid 7,07 μg analit/g, Luteolin 3,756 μg analit/g, Caffaic acid 2,772 μg analit/g, Vanilic acid 2,175 μg analit/g, Protocatechuic acid 0,659 μg analit/g, Vanillin 0,44 μg analit/g, Apigenin 0,431 μg analit/g, p-Coumaric acid 0,411 μg analit/g, Protocatechuic aldehyde 0,266 μg analit/g, Kaempferol 0,177, Tannic acid 0,05 μg analit/g, Coumarin 0,048 μg analit/g, Rosmarinic acid 0,039 μg analit/g, Chlorogenic acid 0,035 μg analit/g, Salicylic acid 0,022 μg analit/g, Gallic acid 0,018 μg analit/g, Naringenin 0,011 μg analit/g şeklinde sıralanmaktadır.

Tablo 4.7. *H. siirtensis* bitkisinin metanol ekstraktının madde miktarı analiz sonuçları

No	Bileşikler	(μg analit/g ekstrakt)	
		Ortalama	Sd
1	Quinic acid	7,07	0,003
2	Fumaric aid	N.D.	N.D.
3	Aconitic acid	N.D.	N.D.
4	Gallic acid	0,018	0,000
5	Epigallocatechin	N.D.	N.D.
6	Protocatechuic acid	0,659	0,000
7	Catechin	N.D.	N.D.
8	Gentisic acid	N.D.	N.D.
9	Chlorogenic acid	0,035	0,000
10	Protocatechuic aldehyde	0,266	0,000
11	Tannic acid	0,05	0,000
12	Epigallocatechin gallate	N.D.	N.D.
13	1,5-dicaffeoylquinic acid	N.D.	N.D.
14	4-OH Benzoic acid	N.D.	N.D.
15	Epicatechin	N.D.	N.D.
16	Vanilic acid	2,175	0,000
17	Caffeic acid	2,772	0,000
18	Syringic acid	N.D.	N.D.
19	Vanillin	0,440	0,000
20	Syringic aldehyde	N.D.	N.D.

21	Daidzin	N.D.	N.D.
22	Epicatechin gallate	N.D.	N.D.
23	Piceid	N.D.	N.D.
24	p-Coumaric acid	0,411	0,000
25	Ferulic acid-D3-IS	N.A.	N.A.
26	Ferulic acid	N.D.	N.A.
27	Sinapic acid	N.D.	N.A.
28	Coumarin	0,048	0,000
29	Salicylic acid	0,022	0,000
30	Cyranoside	28,415	0,010
31	Miquelianin	N.D.	N.D.
32	Rutin-D3-IS	N.A.	N.D.
33	Rutin	N.D.	N.D.
34	Isoquercitrin	N.D.	N.D.
35	Hesperidin	N.D.	N.D.
36	O-Coumaric acid	N.D.	N.D.
37	Genistin	N.D.	N.D.
38	Rosmarinic acid	0,039	0,000
39	Ellagic acid	N.D.	N.D.
40	Cosmosiin	22,687	0,002
41	Quercitrin	N.D.	N.D.
42	Astragalin	N.D.	N.D.
43	Nicotiflorin	N.D.	N.D.
44	Fisetin	N.D.	N.D.
45	Daidzein	N.D.	N.D.
46	Quercetin-D3-IS	N.A.	N.D.
47	Quercetin	N.D.	N.D.
48	Naringenin	0,011	0,000
49	Hesperetin	N.D.	N.D.
50	Luteolin	3,756	0,001
51	Genistein	N.D.	N.D.
52	Kaempferol	0,177	0,000
53	Apigenin	0,431	0,000
54	Amentoflavone	N.D.	N.D.
55	Chrysin	N.D.	N.D.
56	Acacetin	N.D.	N.D.

N.D.: Not Detected N.A.: Not Applicable, IS: Internal Standard

Uysal ve ark. (2019) *Potentilla* türlerinin kök ekstraktları bileşik içerikleriyle ilgili çalışmalar yapmışlardır. Bizim çalışmamızda Uysal ve ark. (2019) çalışmalarında tespit edilemeyen Caffeic acid, Salicylic acid, Rosmarinic acid, Vanillin, Apigenin, Luteolin ve Kaempferol bileşikleri de tespit edilmiştir.

Ertaş ve ark. (2015) alışmalarında LC-MS / MS tarafından incelenen 27 bileşik arasında, rosmarinic acidin metanol ekstraktında en bol bulunan bileşik olduğunu bulmuşlardır. Bouhafoun ark. (2018) alışmalarında ana bileşenin kinik asid olduğu görülmektedir. Çalışmamızda ise en fazla bulunan bileşiğin Cyranoside bileşiği olduğu tespit edilmiştir.

Yener ve ark. (2018) *Euphorbia* türleri üzerine yaptıkları çalışmada LC–MS/MS sonuçlarına göre bu türler kinik asit, malik asit ve tannik asit, rutin, hesperidin ve hiperosid bakımından zengin olduğu sonucuna varmışlar. Bizim yaptığımız çalışmada da *H. siirtensis* bitkisinin sırasıyla Cyranoside, Cosmosein ve Quinic acid, Luteolin, Caffeic acid, Vanilic acid bakımından zengin olduğu görülmüştür.

Bursal ve ark. (2021) alışmalarında *Inula discoidea*'nın fitokimyasal analizlerinde 9 bileşik tespit ederken bizim çalışmamızda 19 bileşik tespit edilmiştir. (Bursal et al., 2021) Bizim bu çalışmamızla Ceylana ve ark. (2016) *Cytisopsis dorycnifolia* ve *Ebenus hirsuta* bitki içerikleriyle, Zengin ve ark. (2018) *S. dichotoma* bitki bileşik analiz çalışmaları sayıca bu anlamda paralelik arz etmektedir. Boğa ve ark. (2016a) alışmalarında  *Centaurea* türünün fitokimyasal bileşik analizlerinde 22-25 arası bileşik tespit etmişler.

4.7. GC-MS Analiz Sonuçları ve Değerlendirmesi

Gaz kromatografi-ktle spektrometresi (GC-MS) yardımıyla *H. siirtensis* bitkisinin soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 8 ayrı çözücüsü (aseton, etanol, metanol, hegzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının kimyasal içerikleri belirlenmiştir. Kovats indeksinin veya diğer ismiyle retansiyon indeksinin kullanım amacı GC cihazının analiz basıncı, kullanılan gaz ve kolon uzunluğu gibi koşullarından etkilenmemek için etkin bir şekilde kullanılan bir yöntemdir (Kovats, 1958; Yabalak, 2018). 1958 yılında Kovats tarafından bulunan ve kendi adıyla Kovats indeksi olarak adlandırılarak kullanılan bu eşitlik Van Den Dool ve Kratz tarafından daha da geliştirildi. Van Den Dool ve Kratz tarafından geliştirilen bu eşitlik GC-MS cihazıyla analiz edilen bileşiklerinin tutulma sürelerinin, C7-C40 doygun alkan karışımının tutulma süresiyle karşılaştırılması mantığına dayanmaktadır (Kovats, 1958; Vand Den Dool ve Kratz, 1963; Yabalak, 2018).

$$AI=100X\left[n+\frac{t_{r(x)}-t_{r(n)}}{t_{r(N)}-t_{r(n)}}\right]$$

AI : Alıkonma indeksi,

$t_{r(x)}$: Bileşiğin alıkonma süresi,

$t_{r(n)}$: Bileşikten önceki alkanın alıkonma süresi,

$t_{r(N)}$: Bileşikten sonraki alkanın alıkonma süresi

n : Alkandaki karbon atom sayısı

Yukarıdaki Kováts indeksleri hesaplama denklemi kullanılarak *H. siirtensis* bitki ekstraktların Alıkonma İndeksleri (AI) çoğu bulunarak “NIST Chemistry WebBook” kullanılarak Literatürdeki Alıkonma İndeksleri (LAI) ile karşılaştırılmıştır. (Linstorm, 1998) *H. siirtensis* bitkisinin soxhlet ekstraksiyonları sonucu elde edilen ekstraktlarından elde edilen bileşiklerin Kováts indeksleri hesaplama yöntemi kullanılarak elde edilen ve ilerde yapılacak çalışmalarda referans görevinde görebilecek olan Alıkonma indeksleri (AI) incelendiğinde Literatürdeki Alıkonma İndeksleri (LA) ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

GC-MS/MS analizi sonucunda asetonitril ekstratından 3 ayrı bileşik, etanol ekstratından 4 ayrı bileşik, aseton ekstratından 51 ayrı bileşik, metanol ekstratından 9 ayrı bileşik, tetrahidrofuran ekstratından 5 ayrı bileşik elde edilmiş olup diğer çözelti ekstraktlarından ise tespit değerlerinin altında olduğundan herhangi bir bileşik tespit edilememiştir. Soxhlet yöntemiyle elde edilen bu çözelti ekstraktlarından en fazla bileşik tespiti 51 bileşik ile aseton çözeltisi kullanılarak elde edilen çözeltiden elde edilmiştir.

İbrahim (2020) çalışmasında *Verbascum pseudoholotrichum* Hub.-Mor. (*V. pseudoholotrichum*) bitki ekstraktlarının GC-MS analiz sonuçlarında metanol ekstraktında 26, etanol ekstraktında 27, su ekstraktında ise 13 bileşik tespit edilmiştir.

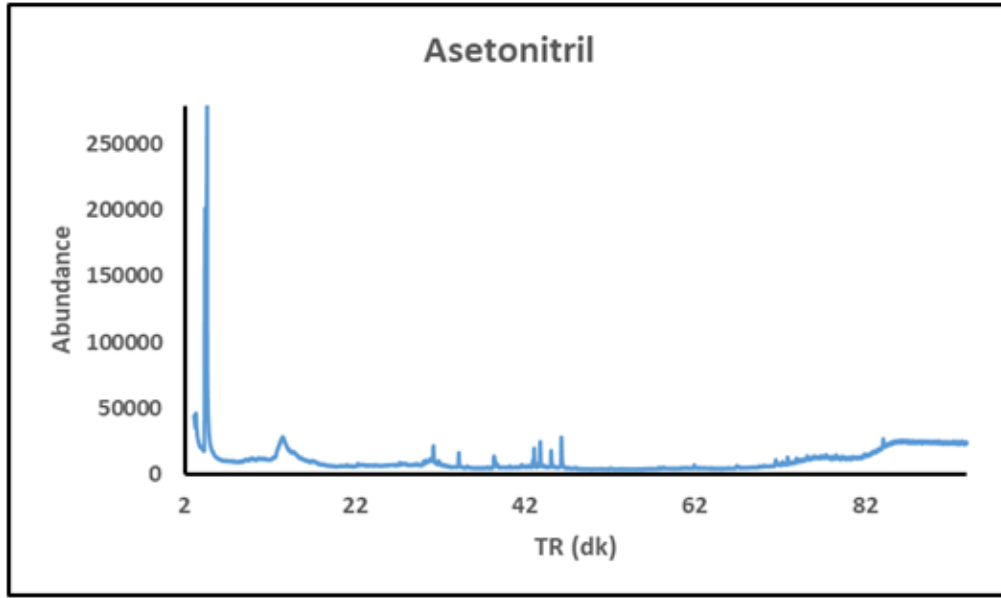
Emire Uygun (2020) çalışmasında *Origanum munzurense* bitki ekstraktlarının GC-MS analiz sonuçlarında metanol ekstraktlarında 13 bileşik, diklorometan

eksraktlarında 10 bileşik, tetrahidrofuran eksraktlarında 24 bileşik, asetonitril eksraktlarında 18 bileşik, etanol eksraktlarında 15 bileşik, kloroform eksraktlarında 15 bileşik, n-heksan ekstraktlarında 17 bileşik bulunmuştur.

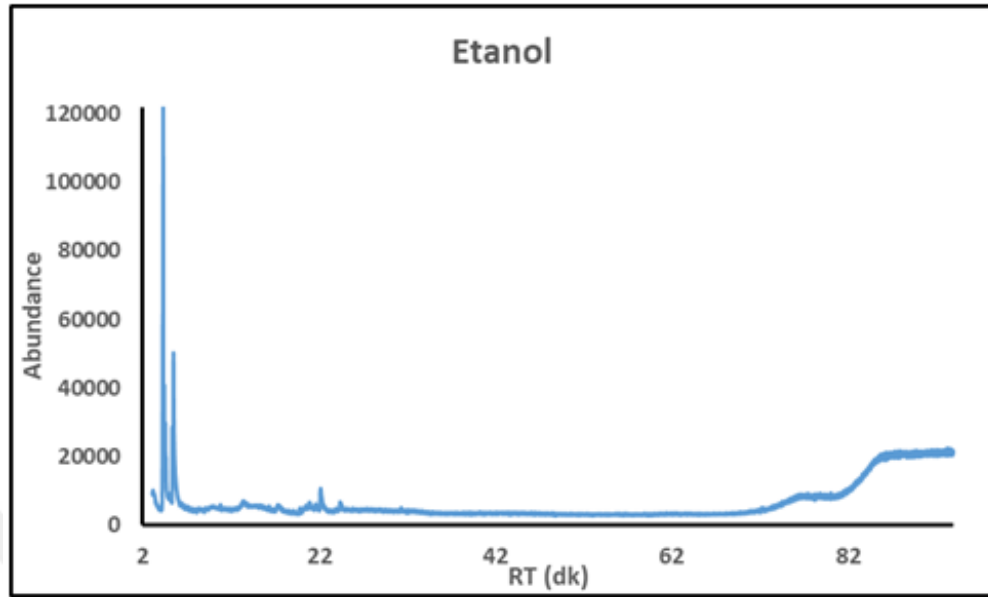
GC-MS/MS analizi sonucunda Aseton ekstratında 2,3-Butanediol, 2-Pentadecanone, 1,2-Benzenedicarboxylic acid bileşikleri, etanol ekstratında Acetic acid, 3-Hydroxy-2-butanone, 2,3-Butylene glycol, Dimethylethylene glycol h4-Penten-2-one hegzanol ekstratından, Toluene, 1,3-Dioxolane, 3-Penten-2-one, 2,3-Butanediol, Ethanol, 2-Pentanone, Coniine, 4-Piperidinone, (S)-3-Ethyl-2-cyclohexen-1-ol, Cyclohexanol, alpha.-Dodecene, 2-Tetradecene, Dodecane, Eicosane, 2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, Nonadecane, Octadecane, Phenol, Docosane, 1-Hexadecene, Sulfurous acid, Pentadecane, Hexadecane, Nonadecane, Heneicosane, 5-Octadecene, Hexatriacontane, 2-Ethyl-1-dodecanol, Benzoic acid, 1,2-Benzenedicarboxylic acid, Tetracosane, Dotriacontane, 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5), Hexacosane, Phthalic acid, Trichloroacetic acid, 10-Methylnonadecane, 1-Octadecanol, Tritetracontane, Pentafluoropropionic acid, Tetratetracontane, Heneicosyl heptafluorobutyrate, Nonahexacontanoic acid, Hexatriacontane, 1-Dodecanol, Sulfurous acid, Oxalic acid, 13-Docosenamide, Adamantane metanol ekstratında Hydrazine, Acetic acid, Hydroxyacetone, Dimethylethylene glycol, 2,3-Butylene glycol, 4H-Pyran-4-one, L-Glutamic-2-d acid, 5-Hydroxymethylfurfural, 1,5 - anhydro - arabino – furanose Tetra Hidro Furan ekstratında ise 2,3-Butanediol, 2(3H)-Furanone, 2,6-di(t-butyl)-4-hydroxy-4-methyl, 1-Methyl-5-t-butyluracil, O-Ethyl-O'-(trimethyl)silyl methyl bileşikleri tespit edilmiştir.

Tablo 4.8. Asetonitril ekstraktının GC-MS/MS analiz sonuçları

No	Bileşikler Çözücüler	Asetonitril		
		RT (dk)	Alan (%)	Kalite (%)
1	2,3-Butanediol	4.628	55.30	90
2	2-Pentadecanone	43.10	3.45	70
3	1,2-Benzenedicarboxylic acid	43.82	3.01	90

**Şekil 4.6.** Asetonitril ekstraktının GC-MS/MS kromatogramı**Tablo 4.9.** Etanol ekstraktının GC-MS/MS analiz sonuçları

No	Bileşikler Çözücüler	Etanol		
		RT (dk)	Alan (%)	Kalite (%)
1	Acetic acid	4,31	39,69	91
2	3-Hydroxy-2-butanone	4,56	13,60	59
3	2,3-Butylene glycol	5,35	766	78
4	Dimethylethylene glycol	5,48	28,49	91

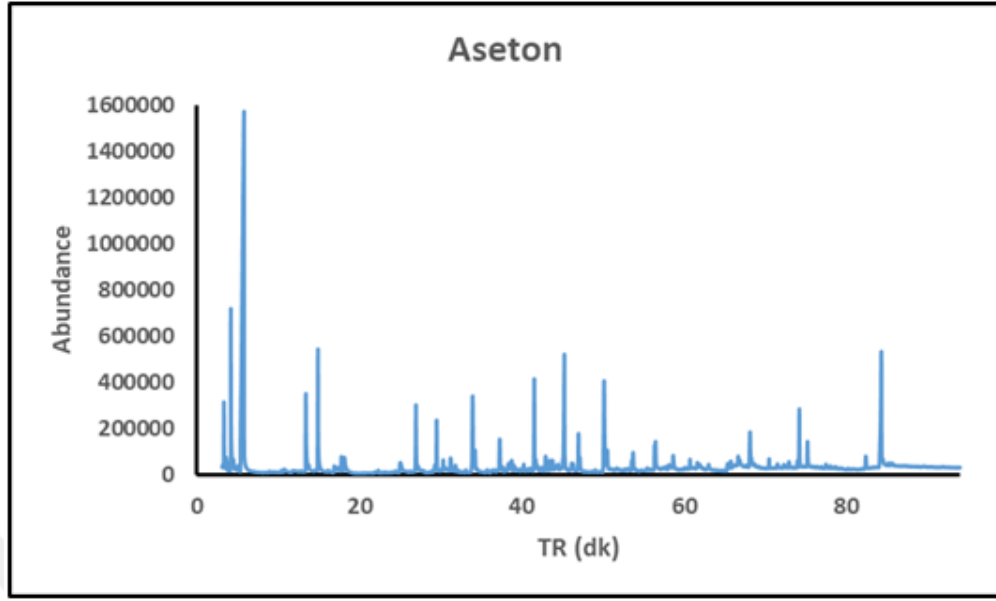


Şekil 4.7. Etanol ekstraktının GC-MS/MS kromatogramı

Tablo 4.10. Aseton ekstraktının GC-MS/MS analiz sonuçları

No	Bileşikler Çözücüler	Aseton		
		RT (dk)	Alan (%)	Kalite (%)
1	4-Penten-2-one	3,34	1,13	64
2	Toluene	3,61	0,25	93
3	1,3-Dioxolane	4,11	0,16	90
4	3-Penten-2-one	4,19	3,45	91
5	2,3-Butanediol	4,51	0,44	72
6	Ethanol	5,07	0,21	53
7	2-Pentanone	5,80	34,00	72
8	Coniine	13,4	2,69	59
9	4-Piperidinone	14,92	3,66	95
10	(S)-3-Ethyl-2-cyclohexen-1-ol	16,92	0,39	59
11	Cyclohexanol	17,31	0,55	38
12	alpha.-Dodecene	17,81	0,71	94
13	2-Tetradecene	26,99	2,20	97
14	Dodecane	27,26	0,16	90
15	Eicosane	29,31	0,27	58
16	2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione	29,54	1,35	99
17	Nonadecane	30,18	0,10	83
18	Octadecane	30,35	0,31	86
20	Phenol	31,25	0,75	96

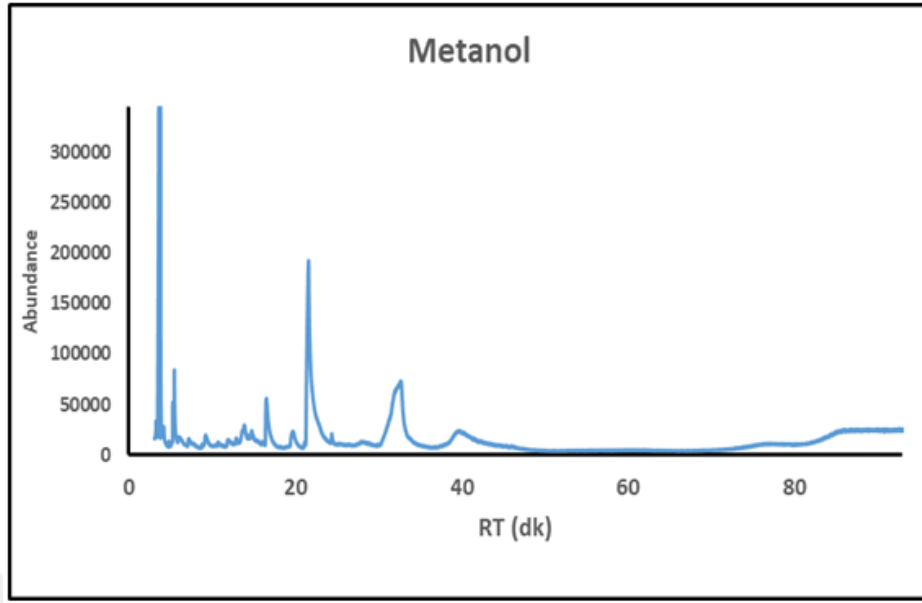
21	Docosane	31,87	0,25	74
22	1-Hexadecene	33,97	3,03	94
23	Sulfurous acid	34,26	0,85	80
24	Pentadecane	37,66	0,27	95
25	Hexadecane	38,65	0,25	68
26	Nonadecane	38,78	0,40	91
27	Heneicosane	39,09	0,35	87
28	5-Octadecene	41,56	2,83	99
29	Hexatriacontane	41,74	0,35	87
30	2-Ethyl-1-dodecanol	41,90	0,35	80
31	Benzoic acid	43,52	0,40	58
32	1,2-Benzenedicarboxylic acid	43,81	0,40	87
33	Tetracosane	44,23	0,18	90
34	Dotriacontane	44,49	0,27	81
35	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro (4,5)	45,27	4,65	99
36	Hexacosane	46,18	0,36	87
37	Phthalic acid	46,32	0,41	80
38	Trichloroacetic acid	47,01	1,18	94
39	10-Methylnonadecane	47,18	0,60	91
40	1-Octadecanol	50,17	4,60	95
41	Tritetracontane	50,56	0,83	91
42	Pentafluoropropionic acid	53,57	0,33	91
43	Tetratetracontane	56,38	0,64	91
44	Heneicosyl heptafluorobutyrate	56,49	1,01	81
45	Nonahexacontanoic acid	58,18	0,36	53
46	Hexatriacontane	60,74	0,22	91
47	1-Dodecanol	61,64	0,23	64
48	Sulfurous acid	63,04	0,37	87
49	Oxalic acid	65,77	0,26	90
50	13-Docosenamide	68,13	1,92	93
51	Adamantane	71,52	0,24	52



Şekil 4.8. Aseton ekstraktının GC-MS/MS kromatogramı

Tablo 4.11. Metanol ekstraktının GC-MS/MS analiz sonuçları

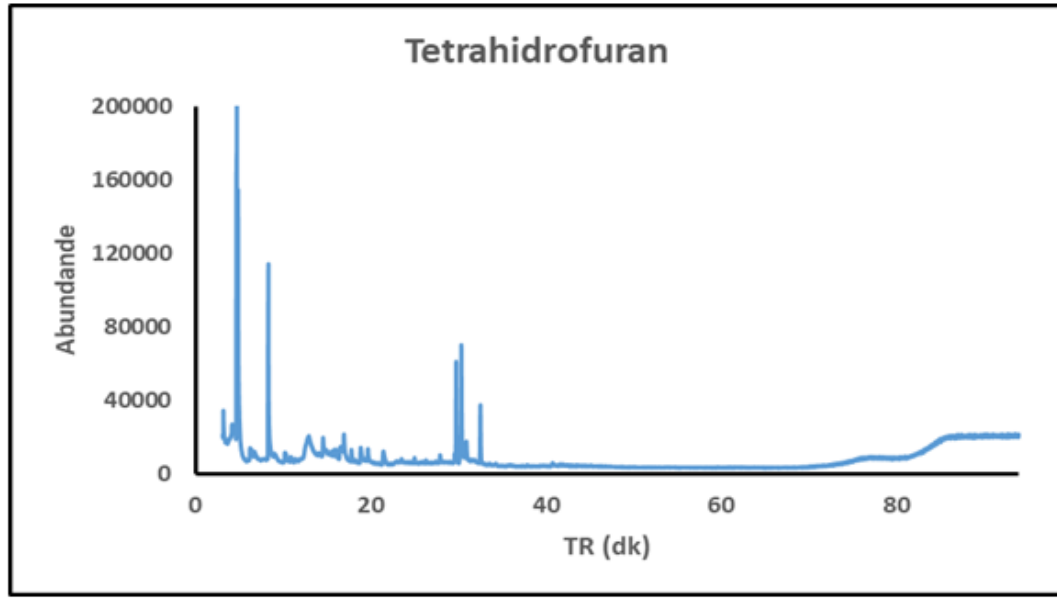
No	Bileşikler Çözücüler	Metanol		
		RT (dk)	Alan (%)	Kalite (%)
1	Hydrazine	3,29	0,50	64
2	Acetic acid	3,61	9,18	91
3	Hydroxyacetone	3,83	3,13	72
4	Dimethylethylene glycol	5,30	1,00	86
5	2,3-Butylene glycol	5,49	2,25	90
6	4H-Pyran-4-one	16,55	5,38	94
7	L-Glutamic-2-d acid	19,73	1,86	50
8	5-Hydroxymethylfurfural	21,62	37,86	94
9	1,5 - anhydro - arabino - furanose	32,74	35,63	53



Şekil 4.9. Metanol ekstraktının GC-MS/MS kromatogramı

Tablo 4.12. Tetrahidrofuran ekstraktının GC-MS/MS analiz sonuçları

No	Bileşikler Çözücüler	Tetrahidrofuran		
		RT (dk)	Alan (%)	Kalite (%)
1	2,3-Butanediol	4,87	21,90	87
2	2(3H)-Furanone	8,33	18,32	91
3	2,6-di(t-butyl)-4-hydroxy-4-methyl	29,77	6,70	99
4	1-Methyl-5-t-butyluracil	30,36	10,84	90
5	O-Ethyl-O'-(trimethyl)silyl methyl	32,54	5,20	72



Şekil 4.10. Tetrahidrofuran ekstraktının GC-MS/MS kromatogramı

4.8. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları ve Değerlendirmesi

Bu çalışmamızda soxhlet ekstraksiyon yönteminde aseton, etanol, metanol, hegzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su çözücülerini kullanılarak elde edilen ekstraktların hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitelerini ölçmek için standart suşlardan *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) örnekleri test mikroorganizmaları olarak kullanılarak 2 farklı bakteri üzerindeki antibakteriyel aktiviteleri ölçülmüştür. Elde edilen ekstraktların 37 °C'de etüvdeki 24 saatlik inkübasyon sonucu oluşan inhibisyon zonu bulguları tablo 4.13 ve tablo 4.14'te belirtilmiştir. Tablolardan da görüleceği üzere *H. siirtensis* bitki ekstraktının birçok çözelti konsantrasyonunda gram negatif bir yapıya sahip *E. Coli* bakterisine karşı etkili olduğu ve gram-pozitif yapıya sahi *S. aureus* bakterisine karşı yok denecek kadar az antibakteriyel etki gösterdiği gözlenmektedir.

4.8.1. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) antibakteriyel aktivite sonuçları ve değerlendirilmesi

Bu çalışmamızda delik agar difüzyon yöntemi kullanarak gram negatif bir yapıya sahip *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) antibakteriyel testleri kullanılarak *H. siirtensis* bitkisinin soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 8 ayrı çözücüsü (aseton, etanol, metanol, hegzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su)

kullanılarak elde edilen ekstraktlarının inhibisyon zone çapları belirlenmiştir. *H. siirtensis* bitkisinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) antibakteriyel testine karşı en yüksek antibakteriyel aktiviteyi aseton çözeltisinin kullanılması sonucu elde edilen ekstraktın 1/1 konsantrasyonunda oluşan 23*20*22*19 mm'lik zonuyla gözlenmiştir. Bunları tetrahidrofuran zetli ekstraktının 1/1 konsantrasyonunda oluşan 14*13*14*14 mm'lik büyüklüğündeki zonu, etanol çözelti ekstraktının 1/1 konsantrasyonunda 13*11*15*12 mm'lik büyüklüğündeki zonu, aseto nitril çözelti ekstraktının 1/1 konsantrasyonunda 11*12*12*11 mm'lik büyüklüğündeki zonu ve metanol çözelti ekstraktının 1/1 delsyonunun 10*11*10*10 mm'lik büyüklüğündeki zonları takip etmektedir. *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) bakterisine etanol çözelti ekstraktının sadece 1/1 ve 1/2 konsantrasyonları etki etmekte diğerk seyretlik konsantrasyonları etki etmemektedir. Metanol zelti ekstraktı sadece 1/1 konsantrasyonunda etki etmekte diğerk konsantrasyonlarda etki etmemektedir. Hekzan zelti ekstraksiyonunun hiçbir çözelti ekstraktı etki etmemektedir. Su zelti ekstraktının hiçbir konsantrasyonu etki etmemektedir. Aseton zelti ekstraktı 1/1,1/2 ve 1/4 konsantresinde etki etmekte diğerk konsantrasyonda çok az etki etmemektedir. Kloroform zelti ekstraksiyonu hiçbir konsantrasyonda etki etmemektedir. Asetonitril zelti ekstraktı sadece 1/1 konsantrasyonunda etki etmekte, diğerk konsantrasyonlarda etki etmemektedir. Tetrahidrofuran zelti ekstraktı 1/1,1/2,1/4 konsantrelerinde etki etmekte diğerk konsantrasyonda etki etmemektedir. *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) bakterisine en fazla yaklaşık 1/8 konsantrasyonu çok az olmak üzere yaklaşık 4 konsantrasyonda aseton ve tetrahidrofuran çözelti ekstraktı 3 konsantrasyonda etki göstermektedir. Metanol, su, hegzan ve kloroform çözelti ekstraktları da hemen hemen hiçbir konsantrasyonda etki göstermemektedirler.

Tablo 4.13. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) antibakteriyel aktivite sonuçları

Ekstrakt çözeltisinin Adı	Çözelti konsantrasyonları	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)
Etanol çözeltisi ekstraktı	1/1	13*11*15*12 mm
	½	10*11*10*11 mm
	¼	Negatif
	1/8	Negatif
Metanol çözeltisi ekstraktı	1/1	10*11*10*10 mm
	½	Negatif
	¼	Negatif
	1/8	Negatif
Hegzan çözeltisi ekstraktı	1/1	Negatif
	½	Negatif
	¼	Negatif
	1/8	Negatif
Su çözeltisi ekstraktı	1/1	Negatif
	½	Negatif
	¼	Negatif
	1/8	Negatif
Aseton çözeltisi ekstraktı	1/1	23*20*22*19 mm
	½	17*15*16*16 mm
	¼	12*13*10*12 mm
	1/8	Yok denecek kadar az
Kloroform çözeltisi ekstraktı	1/1	Negatif
	½	Negatif
	¼	Negatif
	1/8	Negatif
Aseto Nitril çözeltisi ekstraktı	1/1	11*12*12*11 mm
	½	Negatif
	¼	Negatif
	1/8	Negatif
Tetra Hidro Furan çözeltisi ekstraktı	1/1	14*13*14*14 mm
	½	13*13*12*13 mm
	¼	11*11*12*12 mm
	1/8	Negatif



Şekil 4.11. Aseton çözelti ekstraktının *S. Aureus* bakterisine karşı oluşturduğu zone

4.8.2. *Escherichia coli* (*E. coli*) antibakteriyel aktivite sonuçları ve değerlendirmesi

Bu çalışmamızda delik agar difüzyon yöntemi kullanarak gram pozitif bir yapıya sahip *Escherichia coli* (ATCC 25922) antibakteriyel testleri kullanılarak *H. siirtensis* bitkisinin soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 8 ayrı çözücüsü (aseton, etanol, metanol, hegzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının inhibisyon zone çapları belirlenmiştir. *H. siirtensis* bitkisinin *Escherichia coli* (ATCC 25922) antibakteriyel testine karşı en yüksek antibakteriyel aktiviteyi su çözeltisinin kullanılması sonucu elde edilen ekstraktın 1/1 konsantrasyonunda yok denecek kadar oluşan zonuyla gözlenmiştir. Diğer çözelti ekstraktlarının hiçbir konsantrasyonunda *Escherichia coli* (ATCC 25922) bakterisine karşı bir zone görülmemiştir.

Tablo 4.14. *Escherichia coli* (*E. coli*) antibakteriyel aktivite sonuçları

<i>Ekstrakt çözeltisinin Adı</i>	<i>Çözelti konsantrasyonları</i>	<i>Escherichia coli (ATCC 25922)</i>
Etanol çözeltisi ekstraktı	1/1	Negatif
	1/2	Negatif
	1/4	Negatif
	1/8	Negatif
Metanol çözeltisi ekstraktı	1/1	Negatif
	1/2	Negatif
	1/4	Negatif
	1/8	Negatif
Hegzan çözeltisi ekstraktı	1/1	Negatif
	1/2	Negatif
	1/4	Negatif
	1/8	Negatif
Su çözeltisi ekstraktı	1/1	Yok denecek kadar az
	1/2	Negatif
	1/4	Negatif
	1/8	Negatif
Aseton çözeltisi ekstraktı	1/1	Negatif
	1/2	Negatif
	1/4	Negatif
	1/8	Negatif
Kloroform çözeltisi ekstraktı	1/1	Negatif
	1/2	Negatif
	1/4	Negatif
	1/8	Negatif
Asetonitril çözeltisi ekstraktı	1/1	Negatif
	1/2	Negatif
	1/4	Negatif
	1/8	Negatif
Tetrahidrofuran çözeltisi ekstraktı	1/1	Negatif
	1/2	Negatif
	1/4	Negatif
	1/8	Negatif

4.9. Nem Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi

H. siirtensis bitki numunesini kurutma amaçlı kullanılacak kurutma kapları 2 saat boyunca 105 °C'de kurutulduktan sonra nem kapmaması için oda sıcaklığında desikatörde soğutulmuştur. Bu kurutma işleminde sonra numune kapları hassas teraziyle tartılarak içerisine daha önce hassas teraziyle tartılmış 1 gr bitki numunesinden konularak sabit tartıma gelmesi için 8 saat boyunca 105 °C'de etüvde kurutulmuştur. Bu kurutma işleminden sonra numune hassas teraziyle tartılarak *H. siirtensis* bitki numunesinin kuru madde miktarı 0,922 g olarak ölçülmüş ve nem buharı uçucu olduğundan aradaki farktan 0,078 g nem olduğu tesbit edilmiştir. Yüzde olarak hesaplandığında ise nem miktarının yüzdesel oranı %7,8 olarak ölçülmüştür.

Tablo 4.15. Nem miktarı ve yüzdesel oranı

Başlangıçtaki Madde miktarı (g)	Kurutmadan Sonraki Madde miktarı (g)	Nem Miktarı (g)	Nem Yüzdesi
1 g	0,922 g	0,078 g	% 7,8

4.10. Kül Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi

525 °C'de 5 saat boyunca kül fırınında yakılan toz haline getirilmiş 0,6192 g *H. siirtensis* bitkisinin yanma sonucu beyaz kül haline gelmiş numunesi hassas teraziyle tartılması sonucu beyaz kül miktarının 0,0151 g olduğu görüldü. Tartılan 0,0151 g beyaz kül miktarının yüzdece miktarı başlangıçta tartılarak kül fırınına alınan toplam toz haline getirilmiş 0,6192 g'lık bitki numunesinin ağırlığına göre yüzdesel oranının yüzde 2,439 olduğu görüldü.

4.11. Yağ Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi

H.siiertensis bitkisinin soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 8 ayrı çözücüsü (aseton, etanol, metanol, hegzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su) kullanılarak elde edilen yağ ekstraktlarının miktarı ölçüldüğünde en yüksek yağ ekstrakt değerinin 1,0812 g ile metanol çözeltisi kullanılarak elde edilen ekstrakta ait olduğu, 0,6428 g ile etanol çözeltisi kullanılarak elde edilen yağ ekstraktının bunu takip ettiği en düşük yağ ekstrakt değerinin ise 0,2115 g ile su çözelti ekstrakta kullanılarak elde edilen ekstrakt olduğu görülmektedir.

Tablo 4.16. Soxhlet ekstraksiyon sonucu elde edilen yağ miktarları

Soxhlet Eksrat Miktarı	
Ekstrakt çözeltilisinin Adı	Miktar (g)
Etanol çözeltilisi ekstraktı	0,6428
Metanol çözeltilisi ekstraktı	1,0812
Hegzan çözeltilisi ekstraktı	0,3442
Su çözeltilisi ekstraktı	0,2115
Aseton çözeltilisi ekstraktı	0,3279
Kloroform çözeltilisi ekstraktı	0,2237
Asetonitril çözeltilisi ekstraktı	0,4416
Tetrahidrofuran çözeltilisi ekstraktı	0,2780

4.12. Renk Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi

H. siirtensis bitkisinin soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 8 ayrı çözücüsü (aseton, etanol, metanol, hegzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su) kullanılarak elde edilen 10 ml'lik çözelti ekstraktlarının renk ölçümü yapıldığında renk ölçümünün L değeri için en yüksek değer 15,49 ile kloroform çözeltisi kullanılarak elde edilen ekstrakt çözeltisinde ölçüldüğü ve bunu 9,83'lük ölçüm ile asetonitril çözelti ve hegzan çözelti ekstraktlarının takip ettiği görülmektedir. En düşük renk ölçüm L değerinin ise 6,41 ile metanol çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktında ölçüldüğü bunu 6,41 ile su çözeltisinin kullanılması sonucu elde edilen çözelti ekstraktında ölçüldüğü görülmektedir.

Renk ölçümünün a değeri içinse en yüksek ölçüm değerinin 0,15 ile hegzan çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktında ölçüldüğü bunu -0,11 ile su çözücüsü kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktında ölçüldüğü görülmektedir. En düşük değerin ise -0,47 ile etanol çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktının ölçülmesiyle elde edildiği bunu -0,44 ile kloroform çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktında ölçüldüğü görülmektedir.

Renk ölçümünün b değeri için değer olarak en yüksek ölçümün 2,40 ile kloroform çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktında ölçüldüğü bunu 2,24 ile etanol çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktında ölçüldüğü görülmektedir. En düşük ölçüm değerlerinin ise 0,31 ile hegzan çözeltisinin kullanılması sonucu elde edilen çözelti ekstraktının ölçülmesi sonucu elde edildiği bunu 0,88 ile aseton çözeltisi

kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktının kullanımı sonucu elde edildiği görülmektedir.

Renk ölçümünün hu açısı değerinin derce açısı için değer olarak en yüksek ölçümün 64,18 ile hegzan çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktında ölçüldüğü bunu -77,88 ile metanol çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstaktında ölçüldüğü görülmektedir. En düşük ölçüm değerlerinin ise -83,11 ile su çözeltinin kullanılması sonucu elde edilen çözelti ekstraktının ölçülmesi sonucu elde edildiği bunu -82,23 ile aseton çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktının kullanımı sonucu elde edildiği görülmektedir.

Renk ölçümünün hu açısı değerinin radyal açısı için değer olarak en yüksek ölçümün 1,12 ile hegzan çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktında ölçüldüğü bunu -1,36 ile etanol ve metanol çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstaktında ölçüldüğü görülmektedir. En düşük ölçüm değerlerinin ise -1,45 ile su çözeltinin kullanılması sonucu elde edilen çözelti ekstraktının ölçülmesi sonucu elde edildiği bunu -1.44 ile aseton çözeltisi kullanılarak elde edilen çözelti ekstraktının kullanımı sonucu elde edildiği görülmektedir.

Tablo 4.17. Renk tayini sonuçları

<i>Ekstrakt çözeltilisinin Adı</i>	<i>Kontrol sayısı</i>	<i>L</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
Etanol çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	9,43	-0,41	2,11
	2. Ölçüm	8,20	-0,27	2,24
	3. Ölçüm	6,21	-0,73	2,37
	Ortalama	7,95	-0,47	2,24
Metanol çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	6,28	-0,45	1,59
	2. Ölçüm	6,15	-0,30	1,63
	3. Ölçüm	6,79	-0,30	1,67
	Ortalama	6,41	-0,35	1,63
Hegzan çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	10,05	0,39	-0,23
	2. Ölçüm	10,16	0,04	0,21
	3. Ölçüm	9,28	0,02	0,95
	Ortalama	9,83	0,15	0,31
Su çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	7,51	-0,04	0,76
	2. Ölçüm	6,82	-0,06	1,01
	3. Ölçüm	5,70	-0,22	0,95
	Ortalama	6,68	-0,11	0,91
Aseton çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	8,35	-0,20	0,91
	2. Ölçüm	9,43	-0,16	0,80
	3. Ölçüm	8,75	-0,01	0,94
	Ortalama	8,84	-0,12	0,88
Kloroform çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	15,62	-0,34	2,28
	2. Ölçüm	15,24	-0,60	2,51
	3. Ölçüm	15,61	-0,37	2,40
	Ortalama	15,49	-0,44	2,40
Asetonitril çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	10,14	-0,24	1,57
	2. Ölçüm	10,10	-0,41	1,51
	3. Ölçüm	9,26	-0,18	1,41
	Ortalama	9,83	-0,28	1,50
Tetrahidrofuran çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	9,04	-0,36	1,37
	2. Ölçüm	10,14	-0,24	1,57
	3. Ölçüm	9,96	-0,25	1,59
	Ortalama	9,71	-0,28	1,51

Tablo 4.18. *H. siirtensis* bitkisi ekstraktının renk analizinin belirlenmesi

<i>Ekstrakt çözeltisinin Adı</i>	L	a	b	Kroma	H açısı ($\arctan(b/a)$)	
					Radyal	Derce
Etanol ekstraktı	7,95	-0,47	2,24	2,62	-1,36	-78,15
Metanol ekstraktı	6,41	-0,35	1,63	1,39	-1,36	-77,88
Hegzan ekstraktı	9,83	0,15	0,31	0,06	1,12	64,18
Su ekstraktı	6,68	-0,11	0,91	0,42	-1,45	-83,11
Aseton ekstraktı	8,84	-0,12	0,88	0,39	-1,44	-82,23
Kloroform ekstraktı	15,49	-0,44	2,40	2,98	-1,39	-79,61
Asetonitril ekstraktı	9,83	-0,28	1,50	1,16	-1,39	-79,43
Tetrahidrofuran ekstraktı	9,71	-0,28	1,51	1,18	-1,39	-79,49

* renk değerlerinden kroma= $(a^2+b^2)^{1/2}$ formülüyle, h açısı değeri $h=\arctan(b/a)$ eşitliğiyle hesaplanmıştır. L: koyuluk/açıklık(0-100); a: (-)yeşillik/(+)kırmızılık; b: (-)mavilik/ (+)sarı olarak bilinmektedir.

4.13. pH Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi

H. siirtensis bitkisinin soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 8 ayrı çözücüsü (aseton, etanol, metanol, hekzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının 10 mL'lik çözeltilerinin pH değerleri ölçüldüğünde 6,34 ile en yüksek pH değerinin hegzan ekstrakt çözeltinde ölçülmüştür. En düşük pH değeri de 2,27 ile su ekstra çözeltisinde ölçülmüştür. 2,27-6,34 aralığında pH değerlerine sahip olan çözelti ekstraktların hepsinin asidik değere sahip olduğu görülmektedir.

Tablo 4.19. pH ölçüm sonuçları

pH ÖLÇÜMÜ		
Ekstrakt çözeltisinin Adı	Kontrol sayısı	pH
Etanol çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	4,42
	2. Ölçüm	4,40
	3. Ölçüm	4,39
	Ortalama	4,40
	Std sapma	±0,015
Metanol çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	4,92
	2. Ölçüm	4,95
	3. Ölçüm	4,93
	Ortalama	4,93
	Std sapma	±0,015
Hekzan çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	6,34
	2. Ölçüm	6,31
	3. Ölçüm	6,36
	Ortalama	6,34
	Std sapma	±0,025
Su çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	2,26
	2. Ölçüm	2,30
	3. Ölçüm	2,25
	Ortalama	2,27
	Std sapma	±0,026
Aseton çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	5,24
	2. Ölçüm	5,21
	3. Ölçüm	5,27
	Ortalama	5,24
	Std sapma	±0,030
Kloroform çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	4,98
	2. Ölçüm	5,02
	3. Ölçüm	4,96
	Ortalama	4,99
	Std sapma	±0,030
Asetonitril çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	4,20
	2. Ölçüm	4,24
	3. Ölçüm	4,19
	Ortalama	4,21
	Std sapma	±0,026
Tetrahidrofuran çözeltisi ekstraktı	1. Ölçüm	3,33
	2. Ölçüm	3,30
	3. Ölçüm	3,32
	Ortalama	3,32
	Std sapma	±0,015

4.14. Oksidasyon Redüksiyon (OR) Potansiyel Analizi Sonuçları ve Değerlendirmesi

H. siirtensis bitkisinin soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 8 ayrı çözücüsü (aseton, etanol, metanol, hekzan, kloroform, asetonitril, tetrahidrofuran ve su) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının 10 mL 'lik çözeltilerinin oksidasyon redüksiyon (OR) potansiyel değerleri ölçüldüğünde 272,9 ile en yüksek OR değerinin hegzan

ekstrakt çözeltinde ölçülmüştür. En düşük OR değeri de 64,2 ile metanol ekstrakt çözeltisinde ölçülmüştür. Çözelti ekstraktların OR değerlerinin 64,2-272,9 aralığındaki değerlere sahip olduğu görülmektedir.

Tablo 4.20. Oksidasyon Redüksiyon (OR) potansiyel analizi sonuçları

Ekstrakt çözeltisinin Adı	OR
Etanol çözeltisi ekstraktı	162,2
Metanol çözeltisi ekstraktı	137,1
Hekzan çözeltisi ekstraktı	64,2
Su çözeltisi ekstraktı	272,9
Aseton çözeltisi ekstraktı	120,8
Kloroform çözeltisi ekstraktı	134,5
Asetonitril çözeltisi ekstraktı	173,6
Tetrahidrofuran çözeltisi ekstraktı	218,4

4.15. Kuru Madde Tayini Sonuçları ve Değerlendirmesi

H. siirtensis bitki numunesini kurutma amaçlı kullanılacak kurutma kapları 2 saat boyunca 105 °C'de kurutulduktan sonra nem kapmaması için oda sıcaklığında desikatörde soğutulmuştur. Bu kurutma işleminde sonra numune kapları hassas teraziyle tartılarak içerisine daha önce hassas teraziyle tartılmış 1 g bitki numunesinden konularak sabit tartıma gelmesi için 8 saat boyunca 105 °C'de etüvde kurutulmuştur. Bu kurutma işleminden sonra numune hassas teraziyle tartılarak *H. siirtensis* bitki numunesinin kuru madde miktarı 0,922 g olarak ölçülmüştür. Yüzde olarak hesaplandığında ise kuru madde miktarının yüzdesel oranı %92,2 olarak ölçülmüştür.

Tablo 4.21. Kuru madde miktarı ve yüzdesel oranı

Başlangıçtaki Madde miktarı (g)	Kurutma işleminden Sonraki Madde miktarı (g)	Kuru Madde Yüzdesi
1 g	0,922 g	% 92,2

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Siirt yöresine has endemik bir bitki olan *H. siirtensis* bitkisi bu araştırma için Siirt ilinde toplanmıştır. *H. siirtensis* bitkisinin ekstraktları soxhlet ve maserasyon olmak üzere iki farklı ekstraksiyon yöntemi uygulanarak elde edilmiştir. *H. siirtensis* bitkisinin ve elde edilen ekstraktlarının DPPH ve FRAP yöntemleri kullanılarak antioksidan kapasiteleri, FCR yöntemiyle toplam fenolik madde içerikleri, toplam flavonoid madde miktarları, ICP-OES ve ICP-MS cihazı kullanılarak element analizleri, LC-MS/MS ve GC-MS cihazları kullanılarak fenolik madde içerikleri, *S. aureus* ve *E. coli* bakterileri kullanılarak antimikrobiyal aktivite analizleri yapılmış ve diğer fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir.

H. siirtensis bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal süpürme aktivitelerinin en yüksek % inhibisyon değeri 68,72 ile %80'lik aseton ekstraktından elde edilmiş olup en düşük değeri de 36,36 ile saf su ekstraktından elde edilmiştir. *H. siirtensis* bitki ekstraktlarının FRAP yöntemiyle yapılan antioksidan kapasite analizlerinde en yüksek değerin 1,91 ug/mL FeSO₄ eşdeğeri ile %80'lik metanol ekstraktına en düşük değerinde 1,25 ug/mL FeSO₄ eşdeğeri ile saf su ekstraktına ait olduğu tespit edilmiştir. DPPH ve FRAP yöntemiyle elde edilen *H. siirtensis* bitkisinin antioksidan aktivitelerinin yüksek ve birbirilerine yakın olduğu görülmektedir.

H. siirtensis bitkisinin toplam fenolik madde miktarının en yüksek değeri 95,87 mg/mL Galik asit eş değeri ile %80'lik metanol ekstraktından elde edilmiş olup en düşük değeri de 8,27 mg/mL Galik asit eş değeri ile saf su ekstraktından elde edilmiştir. *H. siirtensis* bitkisinin toplam fenolik madde miktarı bakımından zengin olduğu ama ekstraktlar arasında fark olduğu görülmektedir.

H. siirtensis bitkisinin en yüksek toplam flavonoid bileşik miktarının 564,63 mg/mL rutin eş değeri ile saf su ekstraktından elde edildiği, en miktarının ise 477,56 mg/mL rutin eş değeri ile %80'lik aseton ekstraktından elde edildiği görülmektedir. *H. siirtensis* bitkisinin toplam flavonoid bileşik miktarını bakımından zengin olduğu ve ekstrakt sonuçlarının birbirlerine yakın olduğu görülmektedir.

ICP-OES analiz sonucu *H. siirtensis* bitki numunesinde mg/kg cinsinden miktar olarak en fazla 5329±1,60 mg/kg ile mikrodalga numunesinde kalsiyum elementi tespit edilmiş olup bunu sırasıyla 3214±28,90 mg/kg ile mikrodalga numunesinde potasyum, 2327,32±10,50 mg/kg ile yaş yakma numunesinde magnezyum ve 2232,23±87,06

mg/kg ile yaş yakma numunesinde yine kalsiyum elementi tespit edilmiştir.

ICP-MS analiz sonucu *H. siirtensis* bitki numunesinde mg/kg cinsinden miktar olarak en fazla $15649,95 \pm 485,14$ mg/kg ile mikrodalga numunesinde kalsiyum elementi tespit edilmiş olup bunu sırasıyla $6770,02 \pm 142,17$ mg/kg ile mikrodalga numunesinde potasyum, $4958,57 \pm 29,75$ mg/kg ile yaş yakma numunesinde demir ve $2669,99 \pm 42,72$ mg/kg ile mikrodalga numunesinde magnezyum elementi tespit edilmiştir.

H. siirtensis bitki numunesinin örneklerinin metanol ekstraktının LC-MS/MS cihazıyla yapılan analiz sonucunda Quinic acid, Gallic acid, Protocatechuic acid, Chlorogenic acid, Protocatechuic aldehyde, Tannic acid, Vanilic acid, Caffeic acid, Vanillin, p-Coumaric acid, Coumarin, Salicylic acid, Cyranoside, Rosmarinic acid, Cosmoisin, Naringenin, Luteolin, Kaempferol ve Apigenin olmak üzere 19 bileşik tespit edilmiştir. En fazla içeren bileşikler sırasıyla Cyranoside, Cosmoisin ve Quinic acid asit şeklinde sıralanmıştır. *H. siirtensis* bitki ekstraktlarının GC-MS cihazıyla yapılan analiz sonucunda en fazla bileşik 51 bileşik ile aseton çözelti ekstraktının analizinde elde edilmiştir. GC-MS ve LC-MS/MS cihazlarıyla yapılan analiz sonuçları *H. siirtensis* bitkisinin zengin bir bileşik içeriğine sahip olduğunu göstermekte ve birçok alanda kullanılabilecek bileşik içeriğine sahip olduğunu göstermektedir.

H. siirtensis bitkisinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) antibakteriyel testine karşı en yüksek antibakteriyel aktiviteyi aseton çözeltisinin kullanılması sonucu elde edilen ekstraktın 1/1 konsantrasyonunda oluşan $23 \times 20 \times 22 \times 19$ mm'lik zonuyla gözlenmiştir. *H. siirtensis* bitkisinin *Escherichia coli* (ATCC 25922) antibakteriyel testine karşı en yüksek antibakteriyel aktiviteyi su çözeltisinin kullanılması sonucu elde edilen ekstraktın 1/1 konsantrasyonunda yok denecek kadar oluşan zonuyla gözlenmiştir. *H. siirtensis* bitkisinin özellikle gram negatif bir yapıya sahip *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) gibi bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesinin yüksek olduğu antibakteriyel testlerinden anlaşılmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Acar, J., Gökmen, V., 2005. Gıda Kimyası, Editör: Saldamlı, İ., *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*, Ankara, 463-496.
- Agüero, M.B., Svetaz, L., Sánchez, M., Luna, L., Lima, B., López, M.L., Zacchino, S., Palermo, J., Wunderlin, D., Feresin, G.E., 2011. Argentinean Andean propolis associated with the medicinal plant *Larrea nitida* Cav.(Zygophyllaceae). HPLC-MS and GC-MS characterization and antifungal activity, *Food and Chemical Toxicology*, 49 (9), 1970-1978.
- Aksoy, D., 2019. *Pinus pinea* L. ve *Mentha longifolia* L.'den Elde Edilen Uçucu Yağların GC-MS Analizi Ve Antimikrobiyal Aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, *Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kastamonu, 4-5.
- Aksoy, L., Kolay, E., Ağılönü, Y., Aslan, Z., Kargıoğlu, M., 2013. Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20, 235-239.
- Alaca, K., 2018. Van ili ve civarında gıda amaçlı tüketilen bazı yabancı bitkilerin fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, *Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Van,
- Albayrak, S., Sağdıç, O., Aksoy, A., 2010. Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26, 401-409.
- Altuner, E.M., 2008. Bazı Karayosunu Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi, Ankara, 27.
- Arica, E., Yuksel, B., Yener, I., Dolak, I., Gok, E., Yilmaz, E., 2018. ICP-MS determination of lead levels in autopsy liver samples: An application in forensic medicine, *At Spectrosc*, 39, 62-66.
- Arslan Burnaz, N., 2007. *Viburnum opulus* ve *V. orientale* bitki ekstraktlarının kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri, Yüksek Lisan Tezi, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Trabzon,
- Aruoma, O.I., 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 75, 199-212.
- Aumeeruddy-Elalfi, Z., Gurib-Fakim, A., Mahomoodally, M.F., 2016. Kinetic studies of tyrosinase inhibitory activity of 19 essential oils extracted from endemic and exotic medicinal plants, *South African Journal of Botany*, 103, 89-94.
- Avci, M., 2005. Diversity and endemism in Turkey's vegetation, *Journal Of Geography-Cografya Dergisi*, 13, 27-55.
- Ay, E., Gezen, E.S., Hüseyinoğlu, R., 2020. Comparison of total phenolic contents and antioxidant activities of different parts of the endemic plant *Geranium ibericum* subsp. *jubatum*, *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10, 378-385.

- Aydın, Ç., 2016. Bazı geofit ekstraktlarının farklı biyolojik aktivitelerinin araştırılması, Doktora Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli, 16.
- Aydınlık, Z., 2012. Niğde ilinde üretilen üzüm pekmezi örneklerinin fenolik madde içeriğinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde.
- Ayhancı, T., 2019. Bazı Endemik Bitkilerin Antimikrobiyal Ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir,
- Bakir, D., Akdeniz, M., Ertas, A., Yilmaz, M.A., Yener, I., Firat, M., Kolak, U., 2020. A GC-MS method validation for quantitative investigation of some chemical markers in *Salvia hypargeia* Fisch. & C.A. Mey. of Turkey: Enzyme inhibitory potential of ferruginol, *Journal of Food Biochemistry*, 44 (9), 13350.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food chemistry*, 99, 191-203.
- Balos, M.M., 2021. Mardin ili geofit florası ile etnobotanik özellikleri ve bazı taksonlar üzerinde fitokimyasal araştırmalar, Doktora Tezi, *Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Şanlıurfa, 296-302.
- Batıbay, H., 2017. Bazı *Salvia* (adaçayı) türlerinin biyolojik ve kimyasal yönden incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Diyarbakır,
- Benmerzoug, A., Švarc-Gajić, J., Nastić, N., Guettaf, S., Harzallah, D., 2020. Subcritical water extraction of polyphenols from endemic Algerian plants with medicinal properties, *Acta Periodica Technologica*, 51, 191-206.
- Benzie, I.F., Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181, 1199-1200.
- Boğa, M., Alkan, H., Ertaş, A., Oral, E.V., Yılmaz, M.A., Yeşil, Y., Gören, A.C., Temel, H., Kolak, U., 2016a. Phytochemical profile and some biological activities of three *Centaurea* species from Turkey, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15, 1865-1875.
- Boğa, M., Ertaş, A., Yılmaz, M.A., Kızıl, M., Çeken, B., Haşimi, N., Özden, T.Y., Demirci, S., Yener, İ., Deveci, Ö., 2016b. UHPLC-ESI-MS/MS and GC-MS analyses on phenolic, fatty acid and essential oil of *Verbascum pinetorum* with antioxidant, anticholinesterase, antimicrobial and DNA damage protection effects, *Iran J. Pharm. Res.*, 15, 393-405.
- Bouhafsoun, A., Yilmaz, M.A., Boukeloua, A., Temel, H., Harche, M.K., 2018. Simultaneous quantification of phenolic acids and flavonoids in *Chamaerops humilis* L. using LC-ESI-MS/MS, *Food Sci. Technol*, 38, 242-247.
- Bursal, E., 2009. Kivi meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin belirlenmesi, karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması ve

- karakterizasyonu, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 6-12.
- Bursal, E., Yılmaz, M.A., İzol, E., Türkan, F., Atalar, M.N., Murahari, M., Aras, A., Ahmad, M., 2021. Enzyme inhibitory function and phytochemical profile of *Inula discoidea* using in vitro and in silico methods, *Biophysical Chemistry*, 277, 106629.
- Capuzzo, A., Maffei, M.E., Occhipinti, A., 2013. Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances, *Molecules*, 18, 7194-7238.
- Casuga, F.P., Castillo, A.L., Corpuz, M.J.-A.T., 2016. GC-MS analysis of bioactive compounds present in different extracts of an endemic plant *Broussonetia luzonica* (Blanco) (Moraceae) leaves, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6, 957-961.
- Cellat, K., 2011. Bazı endemik bitkilerin uçucu yağ bileşenlerinin ekstrakte edilmesi ve içeriklerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana, 10-27.
- Ceran, D.G., 2018. Türkiye’de Üretilen farklı fındık çeşitlerinin fındık zarı ve fındık küspesinin bileşimi, fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Mersin,
- Ceylan, A., 1997. Tıbbi Bitkiler (Uçucu Yağ Bitkileri), 2, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını*, İzmir, Türkiye 481.
- Ceylan, R., Katanić, J., Zengin, G., Matic, S., Aktumsek, A., Boroja, T., Stanić, S., Mihailović, V., Guler, G.O., Boga, M., Yılmaz, M.A., 2016. Chemical and biological fingerprints of two Fabaceae species (*Cytisopsis dorycnifolia* and *Ebenus hirsuta*): Are they novel sources of natural agents for pharmaceutical and food formulations?, *Industrial Crops and Products*, 84, 254-262.
- Chalchat, J.-C., Figueredo, G., Özcan, M.M., Ünver, A., 2010. Effect of hydrodistillation and microwave distillation extraction methods on chemical compositions of essential oil of pickling herb and myrtle plants, *South-Western Journal of Horticulture Biology and Environment*, 1, 133-141.
- Çopuroğlu, Ö., 2013. Niğde yöresindeki bazı endemik bitki türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri, Yüksek Lisan Tezi, *Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde,
- Cvetanović, A., Švarc-Gajić, J., Zeković, Z., Gašić, U., Tešić, Ž., Zengin, G., Mašković, P., Mahomoodally, M.F., Djurović, S., 2018. Subcritical water extraction as a cutting edge technology for the extraction of bioactive compounds from chamomile: Influence of pressure on chemical composition and bioactivity of extracts, *Food chemistry*, 266, 389-396.
- Dalar, A., Konczak, I., 2012. Botanicals from Eastern Anatolia Region of Turkey: Antioxidant capacity and phenolic constituents of endemic herbal medicines, *Journal of herbal medicine*, 2, 126-135.
- De Castro, M.L., Priego-Capote, F., 2010. Soxhlet extraction: Past and present panacea, *Journal of chromatography A*, 1217, 2383-2389.

- De la Fuente, V., Rufo, L., Rodríguez, N., Amils, R., Zuluaga, J., 2010. Metal Accumulation Screening of the Río Tinto Flora (Huelva, Spain), *Biol. Trace Elem. Res.*, 134, 318-341.
- Delikkaya, M., 2020. Yüksek Peyzaj Değerine Sahip Bazı Gymnosperm Taksonlarının Uçucu Yağlarının Gc-Ms Analizi, Yüksek Lisan Tezi, *Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kastamonu, 4-6
- Dev, S., 2010. Impact of natural products in modern drug development, *Indian Journal of Experimental Biology*, 48 (03), 191-198.
- Duarte-Almeida, J.M., Salatino, A., Genovese, M.I., Lajolo, F.M., 2011. Phenolic composition and antioxidant activity of culms and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), *Products. Food Chemistry*, 125, 660-664.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytac, Z., Adigüzel, N., 2000. Türkiye bitkileri kırmızı kitabı: (eğrelti ve tohumlu bitkiler): (Pteridophyta and Spermatophyta = Red data book of Turkish plants), *Türkiye Tabiatını Koruma Derneği*, Ankara, 1-246.
- Elhidar, N., Nafis, A., Kasrati, A., Goehler, A., Bohnert, J.A., Abbad, A., Hassani, L., Mezrioui, N.-E., 2019. Chemical composition, antimicrobial activities and synergistic effects of essential oil from *Senecio anteuphorbium*, a Moroccan endemic plant, *Industrial crops and products*, 130, 310-315.
- Elizaquível, P., Azizkhani, M., Sánchez, G., Aznar, R., 2013. Evaluation of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil activity against *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* by propidium monoazide quantitative PCR in vegetables, *Food Control*, 34, 770-776.
- Emire, Z., 2020. Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak endemik *origanum munzurense* kit tan & sorger (Lamiaceae) bitkisinin toplam fenolik madde, antioksidan aktivite, kimyasal bileşim ve metal içeriğinin belirlenmesi, Doktora Tezi, *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Mersin, 24-46.
- Ergüt, M., 2015. Portakal ve limon posasındaki fenolik maddelerin süperkritik akışkan ekstraksiyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Mersin,
- Erik, S., Tarıkahya Hacıoğlu, B., 2004. Türkiye florasi üzerine, *İnsan Bilimleri İçin Kaynak Araştırmaları Dergisi*, 9, 139-163.
- Erinc, S., 1978. Changes in the physical environment in Turkey since the end of the last glacial, *The Environmental History of the Near and Middle East since the last ice age*, 87-110.
- Ertas, A., Boga, M., Yilmaz, M.A., Yesil, Y., Tel, G., Temel, H., Hasimi, N., Gazioglu, I., Ozturk, M., Ugurlu, P., 2015. A detailed study on the chemical and biological profiles of essential oil and methanol extract of *Thymus nummularius* (Anzer tea): Rosmarinic acid, *Industrial Crops and Products*, 67, 336-345.
- Fakir, H., Us, A.A., Sagdic, M., Tornuk, F., 2015. Essential oil composition, antimicrobial and bioactive properties of *Origanum hypericifolium*, an endemic plant species grown in Turkey, *Research Journal of Biotechnology*, 10, 102-108.

- Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G., 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition, *Nutrition*, 18, 872-879.
- Fauzi, A., Hameed, I., Jawad, M., 2017. A Review: Uses of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique for analysis of bioactive natural compounds of some plants, *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, 9 (1), 81-85.
- Fernandes de Oliveira, A., Sousa Pinheiro, L., Souto Pereira, C., Neves Matias, W., Albuquerque Gomes, R., Souza Chaves, O., Vanderlei de Souza, M., Nóbrega de Almeida, R., Simões de Assis, T., 2012. Total Phenolic content and antioxidant activity of some malvaceae family species, *Antioxidants* 1, 33-43.
- Fernández, S., Poschenrieder, C., Marcenò, C., Gallego, J.R., Jiménez-Gámez, D., Bueno, A., Afif, E., 2017. Phytoremediation capability of native plant species living on Pb-Zn and Hg-As mining wastes in the Cantabrian range, north of Spain, *Journal of Geochemical Exploration* 174, 10-20.
- Fierascu, R.C., Fierascu, I., Baroi, A.M., Ortan, A., 2021. Selected aspects related to medicinal and aromatic plants as alternative sources of bioactive compounds, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 1521.
- Finnigan, R., Hoyt, D., Smith, D., 1979. Spcecial Report: Priority Pollutants. II-Cost effective analysis, *Environmental Science & Technology*, 13, 534-542.
- Friedli, F., 1981. Fused silica capillary GC/MS coupling: A new, innovative approach, *Journal of High Resolution Chromatography*, 4, 495-499.
- Fukumoto, L.R., Mazza, G., 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds, *Journal of agricultural and food chemistry*, 48, 3597-3604.
- Gülçin, İ., Elmastaş, M., Aboul-Enein, H.Y., 2007. Determination of antioxidant and radical scavenging activity of Basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) assayed by different methodologies, *Phytotherapy Research*, 21 (4), 354-361.
- Gündüz, T., 2007. İnstrümental Analiz, *Gazi Kitabevi*, Ankara, 1357.
- Güzey, İ., 2017. Afyon Endemiği *Sideritis Akmanii* Türünün Serbest Radikal Giderici, Toplam Fenolik Madde Miktarı, Total Antioksidan ve Oksidan Statüsü İle Mineral Madde İçeriğinin İncelenmesi, Yüksek Lisan Tezi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Afyon,
- Halliwell, B., 2007. Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health?, *Cardiovascular research*, 73, 341-347.
- Halliwell, B., 1991. Drug antioxidant effects, *Drugs*, 42, 569-605.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 2015. Free radicals in biology and medicine, *Oxford university press*, USA, 1-823.
- Handa, S.S., 2008. An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants, *Extraction technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, 1, 21-40.
- Harold, V., 2006. Panglossi Antioxidants: New Research, *Nova Science Publishers*, New York, 1-160.

- Herzi, N., Bouajila, J., Camy, S., Romdhane, M., Condoret, J.-S., 2013. Comparison of different methods for extraction from *Tetralinis articulata*: Yield, chemical composition and antioxidant activity, *Food Chemistry*, 141, 3537-3545.
- Hossain, M.A., Shah, M.D., 2015. A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis*, *Arabian Journal of Chemistry*, 8, 66-71.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Huyut, Z., Beydemir, Ş., Gülçin, İ., 2017. Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds, *Biochemistry research international*, 2017, 1-10.
- İbrahim, F., 2020. *Verbascum Pseudoholotrichum* Hub. - Mor. Endemik Bitkisinin Toplam Fenolik Madde, Antioksidan Aktivite, Kimyasal Bileşimi Ve Metal İçeriğinin Belirlenmesi, Yüksek Lisan Tezi, *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Mersin, 1-30.
- Ignat, I., Volf, I., Popa, V.I., 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables, *Food chemistry*, 126, 1821–1835.
- Jensen, S.J.K., 2003. Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure*;, *Journal of Molecular Structure*, 666, 387-392.
- Jugreet, B.S., Mahomoodally, M.F., 2020. Essential oils from 9 exotic and endemic medicinal plants from Mauritius shows in vitro antibacterial and antibiotic potentiating activities, *South African Journal of Botany*, 132, 355-362.
- Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds, *Journal of agricultural and food chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kal, S., 2019. Gc-MS İle Çörek Otu (*Nigella Sativa*) Yağının İçeriğinin Analizi, Yüksek Lisan Tezi, *İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Malatya,
- Kamila, P.K., Ray, A., Jena, S., Mohapatra, P.K., Panda, P.C., 2018. Chemical composition and antioxidant activities of the essential oil of *Hypericum gaitii* Haines—an endemic species of Eastern India, *Natural Product Research*, 32, 739-742.
- Kasun, Ş., 2017. Tunceli Yöresinde Yetişen Kuşburnu (*Rosa canina*) ve Alıç (*Crataegus orientalis*) Yabani Meyvelerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı, Fenolik Kompozisyonu, Antioksidan Kapasitesi ile Bazı Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tunceli,
- Khanam, U.K.S., Oba, S., Yanase, E., Murakami, Y., 2012. Phenolic acids, flavonoids and total antioxidant capacity of selected leafy vegetables, *Journal of Functional Foods*, 4, 979-987.
- Khatun, S., Parlak, K.U., Polat, R., Cakilcioglu, U., 2012. The endemic and rare plants of Maden (Elazığ) and their uses in traditional medicine, *Journal of Herbal Medicine*, 2, 68-75.

- Kirtikar, K.R., Basu, B.D., 1935. Indian medical plants, *J. Pharm. Res.*, 2, 785-788.
- Kılıç, A., 2008. Uçucu yağ elde etme yöntemleri, *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10, 37-45.
- Kovats, E., 1958. Gas chromatographic characterization of organic compounds. I. Retention indexes of aliphatic halides, alcohols, aldehydes, and ketones. *Helvetica Chimica Acta*, 41, 1915.
- Krimat, S., Dob, T., Toumi, M., Kesouri, A., Noasri, A., 2015. Assessment of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of *Salvia chudaei* Batt. et Trab. endemic medicinal plant from Algeria, *J Mater Environ Sci*, 6, 70-80.
- Kumar, S., 2011. Free radicals and antioxidants: human and food system, *Adv. Appl. Sci. Res.*, 2, 129-135.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M.M., 2005. Lehninger principles of biochemistry, *W.H. Freeman*, New York, 1-841.
- Linstrom, P., 1998. NIST chemistry webbook, NIST standard reference database number 69, *J. Phys. Chem. Ref. Data, Monograph*, 9, 1-1951.
- López, A., Rico, M., Rivero, A., de Tangil, M.S., 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts, *Food Chemistry*, 125, 1104-1109.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Brock, T.D., Madigan, M.T., 2006. Brock biology of microorganisms, *Prentice Hall*, Upper Saddle River, NJ, 1-1079.
- Makari, H.K., Haraprasad, N., Patil, H.S., Ravikumar, S., 2008. In vitro antioxidant activity of the hexane and methanolic extracts of *Cordia wallichii* and *Celastrus paniculata*, *The internet J. Aesthetic and Antiaging medicine*, 1, 1-10.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-747.
- Martinez, J.L., 2007. Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds, *CRC Press*, Boca Raton, 1-424.
- Meot-Duros, L., Magné, C., 2009. Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum* L. leaves, *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 37-41.
- Meral, R., Doğan, İ.S., Kanberoğlu, G.S., 2012. Fonksiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar, *Journal of the Institute of Science and Technology*, 2, 45-50.
- Mladenova, T., Stoyanov, P., Todorov, K., Davcheva, D., Kirova, G., Deneva, T., Gyuzeleva, D., Mladenov, R., Bivolarska, A., 2021. Phytochemical and biological traits of endemic *betonica bulgarica* (Lamiaceae), *Separations*, 8 (2), 11.
- Nagai, T., Myoda, T., Nagashima, T., 2005. Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense* L., *Food chemistry*, 91 (3), 389-394.
- Nastić, N., Švarc-Gajić, J., Delerue-Matos, C., Barroso, M.F., Soares, C., Moreira, M.M., Morais, S., Mašković, P., Srček, V.G., Slivac, I., 2018. Subcritical water

- extraction as an environmentally-friendly technique to recover bioactive compounds from traditional Serbian medicinal plants, *Industrial Crops and Products*, 111, 579-589.
- Nuapia, Y., Chimuka, L., Cukrowska, E., 2018. Assessment of heavy metals in raw food samples from open markets in two African cities, *Chemosphere*, 196, 339-346.
- Özcan, K., 2021. Determination of biological activity of *Carduus lanuginosus*: an endemic plant in Turkey, *International Journal of Environmental Health Research*, 31, 45-53.
- Özcan, K., 2020. Antibacterial, antioxidant and enzyme inhibition activity capacities of *Doronicum macrolepis* (FREYN&SINT): An endemic plant from Turkey, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28, 95-100.
- Palacios, I., Lozano, M., Moro, C., D'Arrigo, M., Rostagno, M.A., Martínez, J.A., García-Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A., 2011. Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in Edible mushrooms, *Food Chemistry*, 128, 674-678.
- Phukan, H., Bora, C.R., Mitra, P.K., 2017. Phytochemical screening and GC-MS analysis of methanolic leaf extract of an endemic plant *Kayea assamica*, *IOSR J. Pharm. Biol. Sci*, 15, 7-16.
- Pirbalouti, A.G., Moalem, E., 2013. Variation in antibacterial activity of different ecotypes of *Satureja khuzestanica* Jamzad, as an Iranian endemic plant, *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 12 (4), 623-629.
- Prabu, K., Rajasekaran, A., Bharathi, D., Ramalakshmi, S., 2019. Anti-oxidant activity, phytochemical screening and HPLC profile of rare endemic *Cordia diffusa*, *Journal of King Saud University-Science*, 31, 724-727.
- Qayyum, A., Sarfraz, R.A., Ashraf, A., Adil, S., 2016. Phenolic composition and biological (anti diabetic and antioxidant) activities of different solvent extracts of an endemic plant (*Heliotropium strigosum*), *Journal of the Chilean chemical society*, 61, 2828-2831.
- Righi, A.A., Alves, T.R., Negri, G., Marques, L.M., Breyer, H., Salatino, A., 2011. Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 2363-2370.
- Romulo, A., Zuhud, E.A., Rondevaldova, J., Kokoska, L., 2018. Screening of in vitro antimicrobial activity of plants used in traditional Indonesian medicine, *Pharmaceutical Biology*, 56, 287-293.
- Ryhage, R., 1964. Use of a Mass Spectrometer as a Detector and analyzer for effluent emerging from high temperature gas liquid chromatography columns, *Analytical Chemistry*, 36, 759-764.
- Saeidi, K., Shirmaridi, H.A., Reza Bastan, M., 2016. Essential oil content and composition of *Achillea kellalensis* boiss, an endemic plant in Iran, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19, 516-518.

- Senhaji, S., Lamchouri, F., Toufik, H., 2020. Phytochemical content, antibacterial and antioxidant potential of endemic plant *Anabasis aretioides* coss. & moq.(Chenopodiaceae), *BioMed Research International*, 16.
- Sghaier, M.B., Skandrani, I., Nasr, N., Franca, M.-G.D., Chekir-Ghedira, L., Ghedira, K., 2011. Flavonoids and sesquiterpenes from *Tecurium ramosissimum* promote antiproliferation of human cancer cells and enhance antioxidant activity: A structure-activity relationship study, *Environmental toxicology and pharmacology*, 32, 336-348.
- Shah, M.D., Hossain, M.A., 2014. Total flavonoids content and biochemical screening of the leaves of tropical endemic medicinal plant *Merremia borneensis*, *Arabian Journal of Chemistry*, 7, 1034-1038.
- Silva, V., Igrejas, G., Falco, V., Santos, T.P., Torres, C., Oliveira, A.M., Pereira, J.E., Amaral, J.S., Poeta, P., 2018. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products, *Food Control*, 92, 516-522.
- Slinkard, K., Singleton, V.L., 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods, *American journal of enology and viticulture*, 28, 49-55.
- So, F.V., Guthrie, N., Chambers, A.F., Carroll, K.K., 1997. Inhibition of proliferation of estrogen receptor-positive MCF-7 human breast cancer cells by flavonoids in the presence and absence of excess estrogen, *Cancer letters*, 112, 127-133.
- Şahin, E., 2006. Bitkisel Kaynaklı Antimikrobiyallerin Gıda Kaynaklı Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul,
- Şeker, M.E., Ay, E., Karaçelik, A.A., Hüseyinoğlu, R., Efe, D., 2021. First determination of some phenolic compounds and antimicrobial activities of *Geranium ibericum* subsp. jubatum: A plant endemic to Turkey, *Turkish Journal of Chemistry*, 45, 60-70.
- Tanker, M., 1976. Farmakognozi Cilt II., *Reman Matbaası*, İstanbul, 1-760.
- Tartıcı, R., 2020. Brokoliden (*Brassica oleracea* L. var. italica) fenolik madde ekstraksiyonu yöntem ve koşullarının optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde,
- Tekin, M., 2018. *Phytolacca americana* L. bitkisinin meyve, yaprak ve gövde kısımlarının esansiyel yağ ve çözücü ekstraktının GC/MS analizi, Yüksek Lisans Tezi, *Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Giresun,
- Terpinc, P., Polak, T., Makuc, D., Ulrih, N.P., Abramovič, H., 2012. The occurrence and characterisation of phenolic compounds in *Camelina sativa* seed, cake and oil, *Food Chemistry*, 131, 580-589.
- Tiveron, A.P., Melo, P.S., Bergamaschi, K.B., Vieira, T.M.F.S., Regitano-d'Arce, M.A.B., Alencar, S.M., 2012. Antioxidant Activity of Brazilian Vegetables and Its Relation with Phenolic Composition, *Integrative Journal of Medical Sciences*, 13, 8943-8957.
- Tomsone, L., Kruma, Z., Galoburda, R., 2012. Comparison of different solvents and extraction methods for isolation of phenolic compounds from horseradish roots

- (*Armoracia rusticana*), *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 64, 903-908.
- Torun, L., 2019. Sumak bitkisi fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Aydın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul,
- Uçar, G., Yörük, N.G., Güner, A., 2015. Escherichia coli infections, *Türkiye Klinikleri Journals Food Hygiene Technology*, 1, 22-29.
- Uysal, S., Zengin, G., Mahomoodally, M.F., Yilmaz, M.A., Aktumsek, A., 2019. Chemical profile, antioxidant properties and enzyme inhibitory effects of the root extracts of selected *Potentilla* species, *South African Journal of Botany, Special Issue on Enzyme Inhibitors of natural origin*, 120, 124-128.
- Vadivel, E., Gopalakrishnan, S., 2011. GC-MS analysis of some bioactive constituents of *Mussaenda frondosa* Linn, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2, 313-320.
- Vahdani, M., Faridi, P., Zarshenas, M.M., Javadpour, S., Abolhassanzadeh, Z., Moradi, N., Bakzadeh, Z., Karmostaji, A., Mohagheghzadeh, A., Ghasemi, Y., 2011. Major Compounds and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Five Iranian Endemic Medicinal Plants, *Pharmacognosy Journal*, 3, 48-53.
- Vand Den Dool, H., Kratz, D.J.A., 1963. Generalization of the retention index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography, *J Chromatogr*, 11, 463-467.
- Villaño, D., Fernández-Pachón, M.S., Moyá, M.L., Troncoso, A.M., García-Parrilla, M.C., 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical, *Talanta*, 71, 230-235.
- Wang, L., Weller, C.L., 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends in Food Science & Technology*, 17, 300-312.
- Wangchuk, P., Keller, P.A., Pyne, S.G., Taweechotipatr, M., Kamchonwongpaisan, S., 2013. GC/GC-MS analysis, isolation and identification of bioactive essential oil components from the Bhutanese medicinal plant, *Pleurospermum amabile*, *Natural Product Communications*, 8, 1305-1308.
- Yabalak, E., 2018. Radical scavenging activity and chemical composition of methanolic extract from *Arum dioscoridis* Sm. var. *dioscoridis* and determination of its mineral and trace elements, *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 5, 205-218.
- Yabalak, E. and Gizir, A.M., 2017. Evaluation of Total Polyphenol Content, Antioxidant Activity and Chemical Composition of Methanolic Extract from *Allium Kharputense* Freyn et. Sint. and Determination of Mineral and Trace Elements, *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry* 4, 691-708.
- Yabalak, E., Ibrahim, F., Eliuz, E.A.E., Everest, A., Gizir, A.M., 2022. Evaluation of chemical composition, trace element content, antioxidant and antimicrobial activities of *Verbascum pseudoholotrichum*, *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 156, 313-322.

- Yapıcı, İ., 2018. Tanacetum erzincanense endemik bitkisinin farklı ekstraktlarının in vitro antioksidan ve sitotoksik özelliklerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzincan,
- Yener, İ., Ölmez, Ö.T., Ertas, A., Yilmaz, M.A., Firat, M., Kandemir, S.İ., Öztürk, M., Kolak, U., Temel, H., 2018. A detailed study on chemical and biological profile of nine Euphorbia species from Turkey with chemometric approach: Remarkable cytotoxicity of *E. fistulosa* and promising tannic acid content of *E. eriophora*, *Industrial Crops and Products*, 123, 442-453.
- Yılmaz, M.A., 2020. Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC-MS/MS method validation, *Industrial Crops and Products*, 149, 112347.
- Zellagui, A., Gherraf, N., Rhouati, S., 2012. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Ferula vesceritensis* Coss et Dur. leaves, endemic in Algeria, *Organic and medicinal chemistry letters*, 2, 1-4.
- Zengin, G., Aktumsek, A., 2014. Investigation of antioxidant potentials of solvent extracts from different anatomical parts of *Asphodeline anatolica* E. Tuzlaci: An endemic plant to Turkey, *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11, 481-488.
- Zengin, G., Mahomoodally, M.F., Aktumsek, A., Ceylan, R., Uysal, S., Mocan, A., Yilmaz, M.A., Picot-Allain, C.M.N., Ćirić, A., Glamočlija, J., Soković, M., 2018. Functional constituents of six wild edible Silene species: A focus on their phytochemical profiles and bioactive properties, *Food Bioscience*, 23, 75-82.
- Zhao, G.R., Xiang, Z.J., Ye, T.X., Yuan, Y.J., Guo, Z.X., 2006. Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*, *Food Chemistry*, 99, 767-774.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food chemistry*, 64, 555-559.
- Zengin, G., Mahomoodally, M.F., Aktumsek, A., Ceylan, R., Uysal, S., Mocan, A., Yilmaz, M.A., Picot-Allain, C.M.N., Ćirić, A., Glamočlija, J., Soković, M., 2018. Functional constituents of six wild edible Silene species: A focus on their phytochemical profiles and bioactive properties, *Food Bioscience*, 23, 75-82.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food chemistry*, 64, 555-559.
- Zou, Y., Lu, Y., Wei, D., 2004. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 5032-5039.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İdris YOLBAŞ

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Siirt Lisesi - SİİRT	1996
Üniversite	: Yüzüncü Yıl Üniversitesi - VAN	2000
Yüksek Lisans	: Siirt Üniversitesi - SİİRT	2018
Doktora	: Siirt Üniversitesi - SİİRT	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
22	MEB	Öğretmen

UZMANLIK ALANI Kimya Öğretmeni

YABANCI DİLLER İngilizce

YAYINLAR

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

1. İbrahim Tegin, İdris YOLBAŞ, M. Şirin Batur ve Orhan ACAR, Siirt ve Çevresinde Bulunan Kaplıca Sularında Element Konsantrasyonları ve Gross Alfa ve Gross Beta Aktivitelerinin Belirlenmesi, XIV. Ulusal Spektroskopi Kongresi 29-31 Mayıs 2015, Elazığ, Poster bildiri, P 62. (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır)

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI indeksine giren dergilerde yayınlanan makaleler)

1. İbrahim Teğın, İdris Yolbaş, Orhan Acar, Assessment of gross alpha and beta activity levels and element concentrations in spa waters from Siirt and Şırnak, Turkey, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Volume 311, Issue 1, January 2017, pp 109-119. (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır)