

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***TCHIHATCHEWIA ISATIDEA* BOISS'İN BESİNSEL
İÇERİĞİ, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTESİ**

Mürşide Gizem BİRCAN

Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ

KASIM-2017

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***TCHIHATCHEWIA ISATIDEA* BOISS' İN BESİNSEL İÇERİĞİ, ANTİOKSİDAN VE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Mürşide Gizem BİRCAN
(142110102)**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 14.11.2017

Tezin Savunulduğu Tarih : 30.11.2017

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ (F.Ü)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Şemsettin CİVELEK (F.Ü)
Yrd. Doç. Dr. Pınar ERECEVİT (M.Ü)

KASIM-2017

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini paylaşarak ve bana destek olan Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ'a, Gaziantep Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ'a, Doktora Öğrencisi Şule İNCİ'ye, Yüksek Lisans çalışmamın FF.16.44 no'lu proje ile mali desteğini sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne (FÜBAP) ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme teşekkür ederim.

Mürşide Gizem BİRCAN
ELAĞIĞ – 2017

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET.....	V
SUMMARY	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Besin Öğeleri.....	2
1.2. Reaktif Oksijen Türleri ve Serbest Radikaller	3
1.2.2. Hidrojen Peroksit.....	4
1.2.3. Hidroksil Radikali	4
1.3. Oksidatif Stres	5
1.4. Serbest radikallerin organizmadaki yapılar üzerine etkileri.....	5
1.5. Antioksidanlar	6
1.6. DNA Koruyucu Aktivite	7
1.7. Antimikrobiyal Aktivite	8
1.8. Literatür Özeti	8
2. MATERYAL VE METOT	11
2.1. Çalışma Alanı, Bitki Numunelerinin Eldesi, Muhafaza Edimesi ve Teşhisi İle İlgili Çalışmalar.....	11
2.2. <i>T. isatidea</i> 'nin Besinsel İçeriğinin Tespiti İle İlgili Deneysel Çalışmalar	13
2.2.1. Kuru Madde Analiz Yöntemi	13
2.2.2. Ham Kül Analiz Yöntemi	13
2.2.3. Ham Selüloz	14
2.2.4. Ham Yağ Analiz Yöntemi.....	14
2.2.5. Organik madde	15
2.2.6. Karbohidrat miktarının belirlenmesi	15
2.2.7. Ham Protein Analiz Yöntemi	15
2.2.8. Enerji miktarının (kkal) belirlenmesi	16

2.2.9.	<i>T. isatidea</i> 'nin Element İçeriğinin Belirlenmesi ile İlgili Çalışmalar	17
2.3.	<i>T. isatidea</i> 'nin A ve E Vitamin İçeriğinin Belirlenmesi İle İlgili Çalışmalar	17
2.4.	<i>T. isatidea</i> 'nin Antioksidan Aktivitesi ile İlgili Çalışmalar	18
2.4.1.	Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi	18
2.4.2.	MDA Miktar Tayini	18
2.4.3.	Total Antioksidan Seviyesinin (TAS) Belirlenmesi.....	18
2.4.4.	Total Oksidan Seviyesinin (TOS) Belirlenmesi.....	19
2.5.	<i>T. isatidea</i> 'nin DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi İle İlgili Çalışmalar.....	20
2.6.	<i>T. isatidea</i> 'nin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi İle İlgili Çalışmalar.....	21
2.6.1.	Ekstraktların Hazırlanması	21
2.6.2.	Çalışmalarda Kullanılan Test Mikroorganizmaları.....	21
2.6.3.	Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması ve Aşılama.....	22
3.	BULGULAR	23
3.1.	<i>T. isatidea</i> 'nin Besinsel İçeriği.....	23
3.2.	<i>T. isatidea</i> 'nin Element İçeriği.....	23
3.3.	<i>T. isatidea</i> 'nin Vitamin İçeriği	24
3.4.	<i>T. isatidea</i> 'nin DPPH Serbest Radikalini Giderme Aktivitesi	24
3.5.	<i>T. isatidea</i> 'nin Toplam Antioksidan (TAS) ve Toplam Oksidan Seviyesi (TOS).....	25
3.6.	<i>T. isatidea</i> 'nin DNA Koruyucu Aktivitesi	26
3.7.	<i>T. isatidea</i> 'nin Antimikrobiyal Aktivitesi	27
4.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	28
	ÖNERİLER.....	32
	KAYNAKÇA	33
	ÖZGEÇMİŞ	43

ÖZET

***TCHIHATCHEWIA ISATIDEA* BOISS'İN BESİNSEL İÇERİĞİ, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİ**

Tchihatchewia isatidea Boiss (Brassicaceae) halk arasında allı gelin, boya ve gelin çiçeği olarak bilinmektedir. Çiçek kısımları boyar madde, kökleri yara iyileştirici ve çiçekli dalları ise öksürük tedavisinde kullanılmaktadır.

Bu çalışmada; *T. isatidea*'nın besinsel (ham protein, ham kül, ham yağ, ham selüloz, karbonhidrat, nem, kuru madde, enerji, element ve vitamin) ve tıbbi etkilerinin (antioksidan, antimikrobiyal ve DNA koruyucu etkisi) belirlenmesi amaçlanmıştır.

T. isatidea'da %91.60 kuru madde, %14.40 ham kül, %29.02 ham selüloz, %1.80 ham yağ, %20.60 ham protein, %63.21 karbonhidrat, %77.20 organik madde, 351.62 kcal enerji, 2.82 mg/g A vitamini, 22.95 mg/g E vitamini, 133.56 nmol/g MDA, 42.5 mg/kg K, 260 mg/kg Na, 102.4 mg/kg Ca, 1.59 mg/kg Fe, 1.160 mg/kg Zn, 0.121 mg/kg Cu, 7.49 mg/kg Mn ve 2.16 mg/kg Pb saptanmıştır.

T. isatidea'nın total antioksidan düzeyi 3.91 µmol/L, total oksidan seviyesi ise 6.96 µmol/L olarak bulunmuştur. Bitki ekstraktının DPHH radikal temizleme aktivitesi 10 µL'de %11.68, 25 µL'de %30.80, 50 µL'de %68.20 ve 100 µL'de %82.34 bulunmuştur. UV ve H₂O₂ varlığında ise scDNA'yı koruduğu tespit edilmiştir. Ayrıca; bitkinin çiçek özütü patojen mikroorganizmaların gelişimini farklı oranlarda (8-13 mm çap) engellediği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *T. isatidea*, boya çiçeği, besinsel içerik, antioksidant aktivite, antimikrobiyal etki

SUMMARY

NUTRITIVE VALUE, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF *TCHIHATCHEWIA ISATIDEA* BOISS

Tchihatchewia isatidea Boiss (Brassicaceae) is known among the public as reddish bride, paint and bridal flower. Flower parts are used for staining, roots for wound healing, and flowering branches for treatment of cough.

In this study, it is aimed to determine the nutritional (crude protein, crude ash, crude oil, crude cellulose, carbohydrate, moisture, dry matter, energy, element and vitamin) and medical effects (antioxidant, antimicrobial and DNA protective effect) of *T. isatidea*.

T. isatidea had 91.60% dry matter, 14.40% crude ash, 29.02% crude cellulose, 1.80% crude fat, 20.60% crude protein, 63.21% carbohydrate, 77.20% organic matter, 351.62 kcal energy, 2.82 mg/g vitamin A, 22.95 mg/g vitamin E, 133.56 nmol/g MDA, 42.5 mg/kg of K, 260 mg/kg of Na, 102.4 mg/kg of Ca, 1.59 mg/kg of Fe, 1.160 mg/kg of Zn, 0.121 mg/kg of Cu, 7.49 mg/kg of Mn and 2.16 mg/kg of Pb.

The total antioxidant level of *T. isatidea* was 3.91 $\mu\text{mol/L}$ and the total oxidant level was 6.96 $\mu\text{mol/L}$. The DPPH radical scavenging activity of the plant extract was 11.68% at 10 μL , 30.80% at 25 μL , 68.20% at 50 μL and 82.34% at 100 μL . In the presence of UV and H_2O_2 it was found to protect scDNA. Also, it has been determined that the plant's flower extract inhibits the development of pathogenic microorganisms at different rates (8-13 mm diam.).

Key Words: *T. isatidea*, paint flower, nutritional content, antioxidant activity, antimicrobial effect

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Çalışma alanı	11
Şekil 2.2. <i>T. isatidea</i> 'nın doğal yaşam alanındaki görüntüleri	12
Şekil 2.3. Teşhisi yapılan <i>T. isatidea</i> 'nın kök gövde ve çiçek kısımları.	12
Şekil 3.1. <i>T. isatidea</i> 'nın DPPH Giderme Aktivitesi.	25
Şekil 3.2. <i>T. isatidea</i> 'nın DNA Koruma Aktivitesini Gösteren Jel Görüntüsü.	26



TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Rell Assay Diagnostic Kit Referans Değerleri.....	20
Tablo 3.1. <i>T. isatidea</i> 'nın Besinsel İçeriği	23
Tablo 3.2. <i>T. isatidea</i> 'nın Element İçeriği.....	24
Tablo 3.3. <i>T. isatidea</i> 'nın A vitamini ve E vitamini içeriği.	24
Tablo 3.4. <i>T. isatidea</i> 'nın DPPH Giderme Aktivitesi (%).	25
Tablo 3.5. <i>T. isatidea</i> 'nın MDA, TAS ve TOS değerleri.	25
Tablo 3.6. <i>T. isatidea</i> 'nın Antimikrobiyal Aktivitesi	27

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

ATP	: Adenozin trifosfat
CoA	: Koenzim A
DNA	: Deoksiribonükeik asit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
g	: Gram
MDA	: Malondialdehit
MEB	: Malt ekstrakt buyyon
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
µL	: Mikrolitre
µmol	: Mikromol
nmol	: Nanomol
pH	: Hidrojenin Gücü (Power of Hydrogen)
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per minute)
SDS-PAGE	: Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi
SOD	: Süperoksit dismütaz
TAS	: Total antioksidan statü
TBA	: 2- tiobarbiturik asit
TOS	: Total oksidan statü
UV	: Ultra viyole
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Bitkiler yüzyıllardır gıda, boya, süs bitkisi ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Tıbbi bitkiler ve onların kullanımları ile ilgili en eski bilgiler; Çin, Mısır ve Yunan tarihlerinden gelmekte olup, Anadolu’da da Hititler döneminde bazı drogların üretilip ihraç edildiği bilinmektedir (Başer, 1998).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya’da insanların yaklaşık %50’sinin alternatif destekleyici tedavi metotlarından birini kullandıkları ve bu metotlardan en çok kullanılanın bitkisel ilaçlar olduğu belirtilmiştir. Çin’de kullanılan ilaçların yaklaşık %50’sini bitkisel ilaçların oluşturduğu ve ekonomik açıdan fakir olan ülkelerde ise halkın geleneksel tedavi metotlarını kullandığı ifade edilmiştir (WHO, 2000). Japonya’da doktorların %60-70’i, hastalarına bitkisel ilaçları tavsiye ettiği bildirilmektedir. WHO, modern tıbbı destek olacak şekilde, gelişmekte olan ülkelerin geleneksel tedavi yöntemlerinin kullanımının yaygınlaşması ve standardizasyonu için “2001-2005 yılı Geleneksel Tıp Stratejileri” programının başlatıldığı görülmektedir (WHO 2003).

Günümüzde yeryüzünde bulunan bitki türü sayısının 250.000-500.000 arasında olduğu kabul edilmektedir. WHO verilerine göre; dünya nüfusunun %80’i, Afrika nüfusunun ise %95’i tıbbi bitkilere dayalı tedavi yöntemlerinden yararlanmaktadır. Bu amaçla yararlanılan tıbbi bitki türünün 70.000 kadar olduğu tahmin edilmektedir. Bu bitki türlerinin yaklaşık 21.000 kadarı ilaç sanayinde kullanılmaktadır (Başaran, 2012).

Tedavi yöntemlerinde bitki bütün halinde kullanılabildiği gibi kök, gövde, meyve, çiçek, dal ve yapraklarının iyileştirici etkisinden ayrı ayrı faydalanılabilmektedir (Tuzlacı, vd., 2010). Tıbbi ve tedavi edici özellikleri sağlayan etkenlerin temelini bitki yapısında bulunan ve metabolizma sonucunda oluşturulan primer ve sekonder metabolitler oluşturmaktadır (Aydın, vd., 2017; Şen, 2011). Meyve, sebze ve tıbbi bitkilerde bulunan sekonder metabolitler; endojen savunma sistemini uyarma özelliği veya reaktif türe doğrudan bağlanabilme yeteneği ile somatik hücre hasarlarını ve hastalık yayılımını baskılayabilme yeteneğine sahiptirler (Yasodomma, vd., 2013). Antimikrobiyal ve antioksidan aktivite çalışmalarından elde edilen olumlu sonuçların, yeni antimikrobiyal ajan ve doğal antioksidan madde geliştirme çalışmaları için bitkilerin yeni ve zengin birer araştırma kaynağı olarak görülmelerine neden olmaktadır (Esen, 2008).

Tüm dünyada olduğu gibi, Ülkemizde de yabani bitkilerin ve özellikle endemik bitkilerin; besin, gıda ve tıbbi amaçla kullanışı oldukça yaygın olup, tıbbi olarak kullanılan bitki sayısının yaklaşık 600 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Alpınar, vd., 1997; Baytop, 1999).

Ülkemizde tıbbi amaçla kullanılan bitkilerden biri olan *T. isatidea*, Brassicaceae familyasına ait olup halk arasında allı gelin, boya çiçeği ve gelin çiçeği olarak adlandırılmaktadır (Baytop, 1984; Çakılcıoğlu, vd., 2011; Gülbağ, 2014). Bu türe ait ilk örneğin Erzincan'dan toplandığı ve Boissier tarafından bu adla yayımlandığı bildirilmiştir (Birişik, vd., 2013; Boissier, 1867-1988).

Ülkemizde; Erzincan, Erzurum, Elazığ, Giresun, Gümüşhane, Sivas, Tunceli ve Kars bölgelerinde yayılış gösteren *T. isatidea*, paleoendemik bir tür olup erozyona açık ve hareketli topraklarda yetiştiği görülmektedir (Davis, 1965; Kaya, vd., 2005).

T. isatidea ülkemizde boyar madde ve tedavi edici olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1984; Çakılcıoğlu, vd., 2011). *T. isatide*'nin glutatyon, A, E, C, B vitamin kompleksleri, β -karoten miktarlarının araştırılması dışında (Birişik, vd., 2013), genellikle çimlenme, in vitro çoğaltım ve ıslah çalışmaları üzerine yapılmıştır (Aslay, vd., 2013; Uranbey, vd., 2008).

Bu çalışmada; *T. isatidea*'nin besinsel (kuru madde, ham kül, ham yağ, ham protein, karbonhidrat, organik madde, vitamin ve element) içeriğinin belirlenmesinin yanı sıra, serbest radikale karşı indirgeyici etkisi (DPPH), total antioksidan ve oksidan seviyeleri, DNA hasarını azaltıcı etkisi ile antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Besin Öğeleri

Bitkiler, dengeli beslenmenin vazgeçilmez birer paçası olan protein, karbonhidrat, yağ, vitamin, mineral madde ve lif kaynağı olarak sağlığı koruyan, renk-lezzet çeşitlilikleri ile diyetlerin çekiciliğini arttıran besin öğeleridir. Gıdalarda bulunan proteinin insan vücudundaki fonksiyonu doğrudan protein temin etmektir. Ancak vücut kendine özgü proteini yapabilmek için gıdaların protein yapısındaki amino asitleri kullanır. Organizmada büyüme ve gelişme sırasında hücre yapımında, dokuların onarımında görev alır. Enzimler, hormonlar ve antikorlar protein yapılıdır. Proteinlerin enerji verici olarak kullanılmasının yanı sıra organizmada düzenleyicilik görevleri vardır. Proteinler hücre içi ve hücre dışı sıvılarda oluşan pH değişikliklerini dengeler.

Karbonhidratlar; insan beslenmesinde temel enerji kaynağı olan ve karbon, hidrojen, oksijenden oluşan bileşiklerdir. Protein ve yağlarda bileşik oluşturarak hücre zarının ve bitkilerde hücre duvarının yapısına katılır. Nükleik asitlerin ve ATP' nin yapısına katılır.

Gıda olarak yenilen tüm bitki ve hayvan dokuları lipit içerir. Yağ asitleri, beyin ve sinir hücreleri hariç tüm hücrelerin mitokondrilerinde beta oksidasyonu ile enerji sağlarlar. Bunlar mitokondriye spesifik açıl karnitin türevleri olarak girerler. Doymuş kısa, orta ve uzun zincirli yağ asitleri farklı dehidrogenazlar tarafından birinci adım beta oksidasyona maruz kalırlar. Sonuçta, enerji elde edilen trikarboksilik asit döngüsüne ya da diğer metabolik yollara giren asetil CoA molekülleri elde edilir.

Vitaminler, organik bileşiklerdir ve bu sebeple tahrip olabilirler, okside olabilirler, parçalanabilirler. Enerji vermezler ancak enerji üretimi için ve sağlık için gerekli reaksiyonlarda görevli enzimlerin yapısına girerler. Gıdadaki miktarları farklıdır: Gıdalar ile miligram veya mikrogram düzeyinde almak yeterlidir Vücut tarafından sentezlenemezler, gıdalar ile dışarıdan alınırlar.

Elementler, bütün organik polimerlerin yapı taşlarıdır. Eksiklerinde pek çok rahatsızlıklara yol açmaktadırlar (El, 2016).

1.2. Reaktif Oksijen Türleri ve Serbest Radikaller

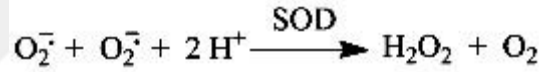
Reaktif oksijen türleri (ROS), bitkilerde endojen olarak kloroplastlardaki fotosentez reaksiyonlarında, plastit ve peroksizomlarda, mitokondrilerdeki sitrik asit döngüsünde NADPH oksidaz, hücre duvarı peroksidazları ve amino oksidazlar gibi enzimlerin etkisiyle oluşan en yoğun serbest radikallerdir (Büyük, vd., 2012). Bunlar çeşitli dış etkenlere bağlı olarak veya metabolik süreçte açığa çıkan yarılanma süresi çok kısa moleküllerdir. Bu moleküller dış orbitallerinde ortaklanmamış elektron ihtiva ederler (Barber, vd., 1994; Burton, vd., 2011; Valko, vd., 2007).

Moleküler oksijen, son yörüngesinde çiftleşmemiş iki elektron ihtiva eden radikal bir molekül olup her iki atomun dengede olduğu durumunda reaktif bir özellik göstermez. Oksijen, serbest radikallerle ve radikal olmayan maddelerle kolayca reaksiyona girer ve bu durum reaksiyonun daha yavaş ilerlemesine sebep olurken nihayetinde suya kadar indirgenir. Mitokondriyal elektron transport zinciri tarafından gerçekleştirilen bu süreçte, %1-2 oranında moleküler oksijen kaçacağı meydana gelir. Bu oksijenin redüksiyonu ile süperoksit radikali ($\bullet\text{O}_2^-$), hidrojen peroksid (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\text{OH}^\bullet$) gibi reaktif

ürünler açığa çıkar. Bu reaktif ürünler oksijenin toksik etkisini meydana getirmektedir (Bast, vd., 1991; Valko, vd., 2007).

1.2.1. Süperoksit Radikali

Aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron ile indirgenmesi sonucu, serbest süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\bullet-}$) meydana gelir (Brunori, vd., 1984). Süperoksit, hidrojen peroksidin kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olması açısından önem arz etmektedir (McCord, 1993). Süperoksit radikali, yüksek katalitik etkiye sahip süperoksit dismutaz (SOD) enziminin etkisiyle dismutasyona girerek konsantrasyonu azalır ve hidrojen peroksit'e dönüştürülür (Paravicini, vd., 2008). SOD tarafından katalizlenen bu reaksiyon dismutasyon tepkimesi olarak adlandırılır (Jeong, vd., 2009).



1.2.2. Hidrojen Peroksit

Bir serbest radikal olmadığı halde ROS içine giren hidrojen peroksit süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere yıkılabilir (Haber-Weiss) demir ile katalizlenen fenton reaksiyonunu gerçekleştirir (Reiter, 1998).



(Haber-Weiss Reaksiyonu)



(Fenton Reaksiyonu)

1.2.3. Hidroksil Radikali

ROS içerisinde çevresindeki herhangi bir biyomolekül ile tepkimeye girerek ciddi hasarlara neden olabilen en reaktif karakterli radikal hidroksil radikali (Halliwell, vd.,

2015; Karbownik, vd., 2000). Yüksek reaktif yapısından dolayı protein, karbonhidrat, lipit ve DNA gibi hücrenin makro moleküllerinde hidroksil radikalleri oluşabilmektedir. Örneğin membran lipidlerini ele alırsak; peroksil radikali, lipit hidroperoksitler gibi radikaller oluşabilmektedir (Halliwell, vd., 2015).

1.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidan sistem lehine bozulması, lipid peroksidasyonu ve serbest radikal/reaktif oksijen ürünlerinin açığa çıkması sonucu organizmada hücrel hasar oluşumudur. Oksidatif strese karşı organizmanın savunma mekanizmaları (antioksidan mekanizmalar) yetersiz kalırsa, hücrelerde oksidatif hasar gelişerek fonksiyonlar önemli oranda aksar (Yılmaz, 2010).

Oksidatif stres, reaktif oksijen ve azot türlerinin oluşmasıyla görülmeye başlamaktadır. Bir atom ya da molekülün olası bir başka alıcıya elektron vermesi oksidasyon olarak tanımlanmakta olup lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerin oksidasyona uğraması sonucunda canlı organizma için zarar teşkil edebilecek oksidasyon ürünleri açığa çıkabilmektedir (Aruoma, 1997; Papas, 1996).

1.4. Serbest radikallerin organizmadaki yapılar üzerine etkileri

- ❖ Proteinler: Serbest radikaller protein yapıları üzerinde birtakım deformasyonlar meydana getirirler. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme oranları aminoasit dizilimine ve serbest radikalın toksik etkisine göre farklılık göstermektedir. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler (Erden, 1992; Erden ve Mor, 1984; Mitchell, vd., 1987; Özsahin, vd., 2012).
- ❖ Nükleik Asitler ve DNA: Radyasyonla hücre içinde enerji depolanması sonucu iyonlar, serbest radikaller ve aktif moleküller meydana gelir. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Metabolizmanın normal işleyiş esnasında hiperoksia veya hava kirliliği gibi çeşitli ekolojik faktörlere bağlı olarak oluşan serbest radikallerin

meydana getirdiği hücre ölümleri ve mutasyonlara DNA'nın katıldığı ileri sürülmektedir (Blakely, vd., 1990; Mason, vd., 1990).

- ❖ Membran Lipidleri: Membran kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon oluştururlar. Lipid peroksidasyonu organizmada oluşan kuvvetli yükseltgen bir radikalın membran yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirindeki metilen gruplarından bir H atomu uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalın O_2^- radikali ile OH^- radikali olduğu kabul edilmektedir (Maede, vd., 1989; Piretti, vd., 1987).

Serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden bir H atomunun uzaklaştırılması sonucu, zincir radikal niteliğini kazanmaktadır. Böylece oluşan lipid radikali (L^*) dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Özellikle molekül içi çift bağ aktarılmasıyla dien konjugatları ve daha sonra lipid radikalının moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikali meydana gelir. Bu lipid peroksit radikalleri, zar yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileride açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlerine ($LOOH$) dönüşmektedir. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek yürümektedir (Baird, vd., 1980; Vaca, vd., 1988).

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona erer. Bu bileşiklerden biri olan malondialdehit (MDA) miktarı, tiobarbitirik asit (TBA) testiyle ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır (Baird, vd., 1980; Vaca, vd., 1988).

- ❖ Karbohidratlar: Serbest radikallerin karbohidratlar üzerine önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, O_2^- ve H_2O_2 'i meydana getirirler. Monosakkaritlerin otooksidasyonunun, protein çapraz bağlanmalarına yol açarak agerega olmalarına sebep olduğu gibi bazal membran kalınlaşmasına ve sonuçta katarakt, mikroanjiyopati gelişimine de sebep oldukları ileri sürülmektedir (Tekkes, 2006).

1.5. Antioksidanlar

Gıdalardaki antioksidanlar “yağlar gibi kolaylıkla okside olabilen materyallerin oksidasyonunu önleyebilen veya geciktirebilen küçük miktardaki maddeler” olarak

tanımlanmıştır. Lipidlerin yanı sıra protein, DNA ve karbonhidrat gibi okside olabilen diğer tüm bileşikleri de içeren diğer bir tanım “okside olabilen substratlara kıyasla düşük konsantrasyonlarda bulunan ve substratların oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddeler” şeklindedir (Becker, vd., 2004; İşbilir, 2008).

Organizmada oksidan moleküllerin meydana getirdiği hasara karşı bir takım koruyucu mekanizmalar bulunmakta olup oksidan düzeyi ile antioksidan sistem arasında denge söz konusudur. Eğer oksidanların düzeyi yükselir ve antioksidanlar yetersiz kalırsa bu denge bozulur ve oksidan molekülleri hücrenin birçok bileşenini (protein, lipid, karbohidrat, nükleik asit, enzimler) etkileyerek hücre hasarına yol açarlar (Cross, vd., 1987; Southorn, vd., 1988). Antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu sınırlama, tetikleyen biyokimyasal reaksiyonları kırma, oluşan serbest radikalleri ortadan kaldırma, hasarlı molekülleri tamir ve temizleme gibi fonksiyonlara sahiptir (Nakazawa, vd., 1996; Yalçın, 1998; Yu, 1994).

Canlılarda mevcut mekanizmalar sonucu oluşan serbest radikaller, çoğu zaman lipid oksidasyonuna ve buna bağlı olarak da hücre ölümlerine neden olmaktadır. Antioksidanlar, oksidasyonun çeşitli aşamalarında yukarıda özetlenen mekanizmaların devreye girmesinde etkili olan maddelerdir. Sentetik olarak üretilbildiği gibi doğal kaynaklardan da elde edilebilirler. Bu tür maddeler, oluşan serbest radikalleri ya doğrudan temizleyerek ya da elektron veya hidrojen aktarımı yaparak etkisiz hale getirir (Acar, 2006).

1.6. DNA Koruyucu Aktivite

Stratosfer tabakasının tahrip olmasıyla dünyaya ulaşan UV ışınların canlılar üzerinde olumsuz etkiler oluşturduğu bilinmektedir. Antioksidanlar ayrıca UV ışınlarının zararlı etkilerine karşı koruma sağlamaktadırlar (Tepe, vd., 2011). Ancak UV ışınlarına yüksek seviyede maruz kalma hücresel antioksidanların miktarında azalmaya ve sonuçta reaktif oksijen türlerinin neden olduğu UV-kaynaklı oksidatif DNA hasarına yol açabilmektedir. UV ışınların yanı sıra serbest radikaller de DNA hasarına yol açabilmektedir (Gutteridge, 1984; Tepe, vd., 2011).

Serbest radikaller DNA'yı etkileyerek nükleik asit modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine bağlı olarak hücrede mutasyona yol açarlar (Cooke, vd., 2003; Evans, vd., 2004). DNA'da oksidatif hasar yapan başlıca etkenler; iyonize radyasyon, yüksek oksijen konsantrasyonu, otooksidasyona uğrayan kimyasallar (dihidroksifumarat,

dopamin, L-DOPA, noradrenalin, adrenalin), ksantin oksidaz ve substratları ve TNF- α 'dır (Burçak, vd., 2004).

DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içerdiğinden, çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. Meydana gelebilecek Haber Weiss ve Fenton reaksiyonları hidroksil radikallerini oluşturmaktadır. Hidroksil radikalleri DNA'daki heterosiklik bazlarla ve deoksiriboz fosfatlarla reaksiyon verirler. Reaksiyon sonucu, DNA bazlarını modifiye eder ve riboz-fosfat zincirinin kırılmasına yol açar.

1.7. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite; mikroorganizmaların çoğalmalarının durdurulmasını veya öldürülmesini sağlayacak özelliklerin mevcut olması ile ortaya çıkmaktadır. Bitkiler, kendilerini mikrobiyal enfeksiyonlardan korumak için antimikrobiyal bileşikler üretmektedirler. Bitkilerde bulunan antimikrobiyal maddeler fenolikler, terpenoidler ve esansiyel yağlar, alkaloidler, lektinler ve polipeptitler, poliasetilenlerdir. Bu nedenle bitkiler ve bitkisel ürünler mikroorganizmalara karşı aktivite çalışmalarında kullanılmaktadır (Cowan, 1999).

1.8. Literatür Özeti

Ülkemizde Giresun, Gümüşhane, Sivas, Tunceli, Elazığ, Erzurum, Erzincan ve Kars bölgelerinde yayılış gösteren *T. isatidea*, Ülkemiz için endemik bir türdür.

Sivas ve Divriği çevrelerinde doğal olarak yetişen *T. isatidae*'nin, çiçeklerinin doğal boya maddesi olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Baytop, 1994).

Ovacık-Tunceli çevresinde *T. isatidea* ve *Hesperis schischkinii* Tzvelev (muş akşam yıldızı) kök kısımları, *Pistacia atlantica* Desf. (sakız) reçinesi ile karıştırılarak hazırlanan özütün yara tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir (Tuzlacı, vd., 2010).

Doğu Anadolu Bölgesinde *T. isatidea* kökü dövülerek yara ilacı olarak kullanıldığı tespit edilmiştir (Altundag, vd., 2011).

Maden-Elazığ çevresinde, *T. isatidea*'nin çiçek ve kök kısımlarının öksürük giderici olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Çakılcıoğlu, vd., 2011).

T. isatidea'ye en yakın tür olan *Fibigia eriocarpa* Boiss (Süleyman otu)'nun yaprak ve gövdesi kısımlarının soğuk algınlığına karşı tedavi edici olarak kullanıldığı gözlenmiştir (Güneş, vd., 2017).

Boya çiçeği bitkisinin (*Neotchihatchewia isatidea* = Syn: *T. isatidea* Boiss.) yaprak ve çiçeklerinde indirgenmiş glutatyon, yükseltgenmiş glutatyon, A vitamini, E vitamini, β -karoten, C vitamini ile B1, B2, B3, B6 ve B9 vitamini farklı miktarlarda belirlenmiştir (Birişik, vd., 2013).

Flueggea suffruticosa (Pall) Bail.'da %7.5 ham protein, %42.7 ham lif, %52.0 kuru madde, 1.85 Mcal g^{-1} enerji tespit edilmiştir (Arzani, vd., 2006).

Diplotaxis virgata (Cav.) ve *D. eruroides* (L.) (Brassicaceae) izorhamnetin-3-O- α -L-glukopiranozid ve ramnetin-3,3'-di-O- β -D-glikopiranozid ihtiva ettikleri tespit edilmiştir. Ayrıca; bitki özütlerinin etkin bir radikal temizleme kabiliyeti gösterdiği (16-40 $\mu\text{g/mL}$ DPPH, 17-44 $\mu\text{g/mL}$ ABTS) ve bitki ekstraktların bazı G (+) ve G (-) bakterinin gelişmelerini belirgin oranlarda inhibe ettiği tespit edilmiştir (Salah, vd., 2015).

Eruca sativa Mill. (roka) ve *Brassica oleracea* L. var. *sabauda* (lahana) (Brassicaceae) özütlerinin; in vitro koşullarda *B. cereus*, *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* karşı değişen düzeylerde antimikrobiyal ve anti-proliferatif etki gösterdiği ifade edilmiştir (Ombra, vd., 2017).

Aurinia sinuata (L.) Griseb'de tespit edilen uçucu bileşenlerin bazı Gram (+), Gram (-) ve mantar türlerinin gelişimini değişen düzeylerde etkilediği (MIC 0.008 ile 0.115 mg/mL) belirtilmiştir (Blažević, vd., 2010).

Brassicaceae familyasına ait yenen bazı bitki türlerinin glikozinat düzeyleri bakımından oldukça zengin olduğu ve apigenin, luteolin, kaempferol mirisetin, kuersetin, sanidin, delfinidin, pelargonidin, total polifenol ve β -karoten düzeylerinin ise değiştiği ve bu bileşenlerin crohn hastalığının semptomları üzerine etkili olduğu ifade edilmiştir (Campbell, vd., 2012).

Brassicaceae familyası bitki türlerinde tespit edilen glikozinolatların; antioksidan, antimikrobiyal, antikanserojen aktiviteleri ile kimyasal savunmada da görev alan önemli bileşiklerden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca; glikosinolatların bozunma ürünleri arasında yer alan izotiyosiyanatların; bakteri ve fungal patojenlere, nematodlara, böceklerle ve yabancı otlara karşı geniş spektrumlu biyolojik etkinliğe sahip oldukları bildirmişlerdir (Lazzeri, vd., 1993; Delaquis, vd., 1995; Donkin, vd., 1995; Brown, vd., 1997; Manici, vd., 1997; Ono, vd., 1998; Pedras, vd., 1998; Peterson, vd., 1998; Rosa, vd., 1999; Lin, vd., 2000;

Manici, vd., 2000; Vaca, vd., 1988; Wittstock, vd., 2003; Zasada, vd., 2004; Yemiş, vd., 2007; Akan, vd., 2013; Al-Gendy, vd., 2010; Anonim, 2013; Blažević, vd., 2010; Kjør, 1960; Radulović, vd., 2012; Tookey, vd., 1980). Ayrıca; glukosinolatları içeren sebzelerin tüketilmesi ile özellikle parçalanma ürünü olan izotiyosiyanatlar sayesinde; akciğer, pankreas, kolon, rektum, deri, tiroit, prostat ve mide kanserine yakalanma riski arasında güçlü ters bir ilişki olduğunu ortaya koyulmuştur (Yemiş, vd., 2007).

T. isatidea'nın, Türkiye'de nesli tükenmekte olan ve gelecekte tamamen yok olma tehdidi altında bulunan bir tür olduğu ve bu nedenle, bu türün ticari üretim ve germplazmanın korunması için in vitro çoğaltılması sağlanmıştır (Gümüşçü, vd., 2013).

T. isatidea'nın besinsel, tıbbi-tedavi edici ve boyar madde özelliklerinin yanı sıra, süs bitkisi olarak önemi vurgulanmış ve kültür koşullarında 1 yılda elde edilmiştir (Aslay, vd., 2013). Allı Gelin bitkisinin çeşitli ıslahı ve süs bitkileri sektörüne kazandırılması ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (Gülbağ, 2014).

Alyssoides utriculata L.'da; glukosinolat, uçucu bileşenleri ve astilkolinesterazın inhibitör aktivitesi tespit edilmiştir (Blazevic, vd., 2013).

Lobularia libyca (Viv.) türünde; glukozinolat, glukobiberazin, glukoiiberin ve glukoeüsein ve uçucu bileşen (terpenler ve yağ asitleri) miktarlarının değiştiği ifade edilmiştir. Tohum hidrolazının; *C. albicans* ve *P. aeruginosa* gelişimini inhibe ettiği (MIC 64 ve 82 g/mL) ve kolorektal, hepatik ve göğüs kanseri hücre çizgilerine karşı in vitro belirgin selektif sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir (IC₅₀ 0.31, 2.25 ve 37 g/mL) (Al-Gendy, Amal A, vd., 2016).

Birçok Brassicaceae familyasına ait türlerde savunma genleri ve çeşitli peptidlerin (AMPs) izole edildiği ve bu bileşenlerin fitopatogenik funguslara ve in vitro vakalarda antibakteriyel faaliyetler karşı önleyici etkinliğe sahip oldukları belirtilmiştir (Kaewklom, vd., 2016). *Farsetia aegyptia*'da butanol özünden 3 yeni flavonoid glikosid bileşiğinin izole edildiği ve bu bileşenlerin romatizmal ağrının tedavisinde, ateş düşürücü, antidiyabetik ve antispazmodik olarak kullanıldığı ve ayrıca; *C. albicans* dışında *B. subtilis*, *S. maxima*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* sp., *S. typhimurium*, *A. niger*, *A. flavus* ve *T. viride* gelişimlerini değişik düzeylerde engellediği tespit edilmiştir (Atta, vd., 2013).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Çalışma Alanı, Bitki Numunelerinin Eldesi, Muhafaza Edimesi Ve Teşhisi İle İlgili Çalışmalar

Çalışma; Elazığ ili Baskil ilçesi ve çevresinde yer alan bölgeleri kapsamıştır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Çalışma alanı

Çalışmada kullanılan bitki örneği, *T. isatidea* 2015 yılının Mart-Haziran ayları arasında araziye çıkılarak; dağ yamaçları, tepelik alanlar, yol kenarları ve sürülemeyen kıraç alanlarda ($38^{\circ}37'01.6''N$ $38^{\circ}41'46.4''E$, $38^{\circ}34'26.4''N$ $38^{\circ}46'37.6''E$ ve $38^{\circ}34'34.1''N$ $38^{\circ}45'24.6''E$) bitki örnekleri kök kısımları ile birlikte elde edilmiş ve kayıt altına alınarak fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. *T. isatidea*'nın doğal yaşam alanındaki görüntüleri

Steril poşetler içerisine bırakılan bitki örnekleri laboratuvara getirilerek numunenin bir kısmı kurutulmuş (Şekil 2.3) ve diğer kısımları ise farklı analizlerde kullanılmak üzere dondurucuda muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.3. Teşhisi yapılan *T. isatidea*'nın kök gövde ve çiçek kısımları.

Arazi çalışmalarında elde edilen bitki türünün, *T. isatidea* (Şekil 2.2-2.3), teşhisi Davis (1970, 1984-1985)'e göre Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Herbarium Laboratuvarındaki örneklerle karşılaştırma yapılmış ve Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sistematik Botanikçi Prof. Dr. Şemsettin Civelek tarafından teşhis edilmiştir.

2.2. *T. isatidea*'nin Besinsel İçeriğinin Tespiti İle İlgili Deneysel Çalışmalar

T. isatidea'nin ham besin madde içerikleri; Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Yem Analiz Laboratuvarında yapılmıştır. Bitki örneklerinin ham besin madde (kuru madde, ham kül, ham selüloz, ham yağ, organik madde, karbonhidrat, ham protein ve enerji) bileşimleri bildirilen (AOAC, 1990; Ergün vd., 2004) analiz metotlarına göre belirlenmiştir.

2.2.1. Kuru Madde Analiz Yöntemi

Porselen bir krozenin darası alınarak (a=dara, g), içerisine 2 g numune bırakılmış (b=dara+numune, g) ve 105°C sıcaklıktaki pastör fırını içerisinde, numune sabit ağırlığa ulaşana kadar 8-12 saat süreyle bekletilmiştir. Sonra, krozeler alınarak desikatör içerisine bırakılmış ve oda sıcaklığına kadar bekletildikten sonra tartılarak (c=dara+kuru numune, g) fark hesabına göre, materyalin kuru madde oranı hesaplanmıştır.

Tartılan numune miktarı=b-a

Kuru numune miktarı=c-a

$$\% \text{Kuru Madde Miktarı} = \frac{(c-a)}{(b-a)} \times 100$$

$$\% \text{Su} = 100 - \% \text{Kuru Madde}$$

2.2.2. Ham Kül Analiz Yöntemi

Porselen krozenin darası alınarak (a=dara, g), içerisine 2 g numune bırakılmış (b=dara+numune, g) ve kül fırınında 550-650°C'de 5-6 saat süreyle yakılmış ve sıcaklık 100°C'ye düşünceye kadar bekletmiştir. Krozeler, fırından alınarak desikatör içerisine bırakılmış ve oda sıcaklığına kadar bekletildikten sonra tartılarak (c=dara+ham kül, g) fark hesabına göre, materyalin ham kül oranı hesaplanmıştır.

Tartılan numune miktarı=b-a

Ham kül miktarı=c-a

$$\% \text{Ham Kül} = \frac{(c-a)}{(b-a)} \times 100$$

2.2.3. Ham Selüloz

Cam tüpe 1 g örnek konulduktan sonra üzerine 12.5 mL glasiyel asetik asit, 2.5 mL konsantre nitrik asit ilave edilip kaynayan su banyosunda 30 dk bekletilmiştir. Bu sürede selüloz dışındaki bazı organik maddeler asitte çözüneceklerdir. Tüpün içindikiler vakumlu gooch krozesine süzmüş, asit ve asitte çözünen maddeleri krozeden ayırmak için sıcak saf su ile yıkanmıştır. Lipitleri ve renkli maddeleri ayırmak için sıcak alkol sıcak benzen ile kroze yıkanmıştır. Krozede ham selüloz ve asitte çözünmemiş inorganik madde (kül) kalır. 105°C lik kurutma dolabında kroze sabit ağırlığa gelinceye kadar 8-12 saat bekletilmiştir. Kroze desikatörde soğutulup tartılmıştır (a:kroze+ham sellüloz+asitte çözünmemiş inorganik madde). Kroze 500-550°C de kül fırınında 3-5 saat yakılmıştır (Bu esnada ham sellüloz yanar ve inorganik madde kalır). Desikatörde soğutulup tartılmıştır (b:kroze+asitte çözünmüş inorganik madde).

$$\% \text{Ham selüloz} = \frac{(a-b)}{\text{numune miktarı,g}} \times 100$$

2.2.4. Ham Yağ Analiz Yöntemi

Cam balonun darası alınarak (a=dara, g), öğütülmüş bitki numunesinden 3 g tartılıp, bir kartuş içerisine konulmuş ve numune dışarı çıkmayacak şekilde pamuk ile tıkatılmıştır (b=numune, g). Kartuş ekstraksiyon bölmesine konularak, balonun üzerine ekstraksiyon bölmesi kapatılmıştır. Eter, ekstraksiyon bölmesine bırakılıp, sifon yaptırılarak balona geçmesi sağlanmıştır. Ekstraksiyon esnasında sürekli sifonun yapılabilmesi için bölmenin yarısına kadar eter bırakmıştır. Ekstraksiyon bölmesi ile balon cihaza yerleştirildikten sonra, ısıtıcı ve soğutucu çalıştırılmıştır. Balondaki eter kaynamaya başlayınca, buharlaşarak soğutucu yardımı ile yoğunlaştırılmış ve ekstraksiyon bölümünde toplanmıştır. Eter sürekli numune ile temas halinde olduğundan, numunedeki yağı çözmüştür. Ekstraksiyon bölmesi dolunca yağlı eter sifon yaparak balona itmiştir. Balona geçen yağ buharlaşmayacağından eter tekrar buharlaşıp ekstraksiyon bölümünde toplanmış ve numunedeki yağı çözmüştür. Bu işlem 5-6 saat süreyle devam ettirilmiştir. Ekstraksiyon bölümünde toplanan eter alınarak bir şişe içerisine bırakılmıştır. Balon cihazdan alınarak, cihazın ısıtıcı ve soğutucu bölmesi kapatılmış ve cam balon içerisinde çok az miktarda eter bulunabileceği için balon 1-2 saat

bekletilmiştir. Balon içerisindeki suyun buharlaşması ve balonun sabit ağırlığa ulaşması için 105°C sıcaklıktaki pastör fırını içerisinde 5-6 saat süreyle bekletilmiştir. Daha sonra, cam balonlar desikatör içerisine alınarak soğutulmuş ve tartılarak (c=dara+ham yağ, g) fark hesabına göre, materyalin ham yağ içeriği hesaplanmıştır.

Ham yağ miktarı=c-a

$$\% \text{Ham Yağ} = \frac{(c-a)}{(b)} \times 100$$

2.2.5. Organik madde

%Organik Madde=%Kuru Madde-%Ham Kül

2.2.6. Karbohidrat miktarının belirlenmesi

Örneğin karbohidrat miktarı; protein, lipid ve kül miktarları kullanılarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (CFR Ferreira, vd., 2010).

$$\text{Karbohidrat} = 100 - (\text{g protein} + \text{g lipid} + \text{g kül})$$

2.2.7. Ham Protein Analiz Yöntemi

Yaş Yakma: Örnekten 1 g tartılarak Kjeldahl balonu içerisine bırakılıp, reaksiyonu hızlandırmak için sodyum sülfat, bakır sülfat ve selenyumdan oluşan 1 g katalizör konmuştur. Kjeldahl balonu içerisine 30 mL sülfirik asit ilave edilerek, Kjeldahl balonu yaş yakma bölümüne bırakılmış, beyaz amonyum sülfat kristalleri oluşana ve çözelti berraklaşana kadar 4- 5 saat süreyle ısıtıcıda bekletilmiştir.

Distilasyon: Bir erlene yaklaşık olarak 1/7 N'lik H₂SO₄'den bırakılarak üzerine 3 damla metil red indikatörü damlatılmıştır. Distilasyon bölümünün soğutucusundan sarkan cam borular 0.5 cm kadar aside dalacak şekilde erlene bırakılmıştır. Bu arada su açılarak soğutucu devreye sokulmuş ve distilasyon esnasında kaynamanın düzgün olması için Kjeldahl balonlarına 4-5 tane çinko parçacığı konmuştur. Balonlar 45° eğik tutularak içerisine özenle % 33'lük NaOH'dan 150 mL konup, balon alete yerleştirilerek tıpası iyice

kapatılmıştır. Isıtıcı çalıştırılarak, 30 dk süreyle kaynaması sağlanmıştır. Distilasyon esnasında NaOH'ın, Na'sı amonyum sülfatın kökü ile birleşir. Amonyak açığa çıkıp buharlaşırken soğutucu yardımı ile yoğunlaştırılır. Ortamda fazla sülfat kökü var ise renk pembe olur. Bu süre sonunda erlenlere sarkan borular çözeltiden çıkartılıp, erlenler 3-5 dk süreyle işleme tabi tutulur. Ardından saf su ile boru ağzları erlende yıkanıp, daha sonra ısıtıcı kapatılmıştır.

Titrasyon: Erlen iç yüzeyi saf su ile yıkanıp, otomatik bürete doldurulmuş 1/7 N'lik NAOH çözeltisi ile titrasyon yapılmıştır. Erlen içerisindeki ortam asidik olduğu için, çözeltinin rengi pembedir. Renk sarıya dönme noktası gösterinceye kadar, damla damla NAOH eklenmiştir. Kalıcı sarı renk oluşumu ile titrasyona son verilmiştir. Tüketilen NAOH miktarı yazılmış ve daha önce erlene bırakılan 1/7 N'lik H₂SO₄ miktarı belli olduğundan, tüketilen 1/7 NAOH miktarı asit miktarından çıkartılmıştır. Böylece amonyak tarafından tutulan asit miktarı belirlenmiştir. 1/7 N'lik H₂SO₄'ün her bir mL'si 0.002 g N kapsadığından amonyak tarafından tutulan asit miktarı 0.002 ile çarpılarak numunedeki azot miktarı bulunmuştur. Proteinlerin %16'sını azot oluşturduğundan elde edilen azot miktarı 6.25 (100/16=6.25) ile çarpılarak ham protein miktarı hesaplanmıştır. Bulunan değer numune miktarına bölünüp, 100 ile çarpılarak numunedeki ham protein oranı % olarak hesaplanmıştır.

2.2.8. Enerji miktarının (kkal) belirlenmesi

Örneğin enerji (kkal) miktarı; protein, karbohidrat ve lipid miktarlarından yararlanılarak aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Ferreira, vd., 2010).

$$\text{Enerji (kkal)} = 4 \times (\text{g protein} + \text{g karbohidrat}) + 9 \times (\text{g lipid})$$

2.2.9. *T. isatidea*'nin Element İçeriğinin Belirlenmesi ile İlgili Çalışmalar

Bitki oda sıcaklığında (25°C) yaklaşık 2 hafta süreyle kurutulduktan sonra, öğütülmüş ve numuneler 105°C'de 24 saat süreyle etüvde bekletilmiştir. Belli miktarda (1 g) alınan örnek erlene alınarak üzerine, 12 mL'lik derişik asit karışımı (nitrik asit (HNO₃), sülfirik asit (H₂SO₄) ve hidrojenperoksit (H₂O₂) (10:1:1 mL)) ilave edilmiştir. Daha sonra numuneler ısıtılarak, beyaz-sarı çözelti oluşuncaya kadar kaynatılmıştır. Numunenin kaynatılma işlemi yaklaşık 15-20 dk sürdürülerek, berrak çözelti elde edilinceye kadar ısıtılmış ve yaş metotla çözünürleştirilmiştir. Daha sonra; numuneler süzülerek 50 mL saf suya tamamlanmıştır. Örneklerde; Fe, Zn, Mn, Cu, Cr, Cd, Co, Ni ve Pb gibi eser element içerikleri atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Perkin-Elmer, model: 370, The Perkin-Elmer Corporation Norwalk Connecticut, U.S.A) ile K, Ca ve Na ise atomik emisyon spektrofotometresi (Eppendorf Geratebau, Netheler+HINZ GMBH HAMBURG, GERMANY) ile tayin edilmiştir (Helrich, 1990).

2.3. *T. isatidea*'nin A ve E Vitamin İçeriğinin Belirlenmesi İle İlgili Çalışmalar

Derin dondurucudan alınan bitki, çözdürme yapıldıktan sonra, 1 g alınıp üzerine %1'lik H₂SO₄ ihtiva eden etil alkolden 2 mL ilave edilerek proteinler çöktürülmüştür. Karışım vorteks ile iyice karıştırıldıktan sonra 4500 dev./5 dk. santrifüjlenip, üzerine 0.3 mL n-hekzan ilave edilmiştir. Hekzan ilavesiyle ortamdaki yağda çözünen vitaminler hekzan fazına ekstrakte edilmektedir. Hekzan ilave edildikten sonra tekrar vortekste karıştırılıp tüpler santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonunda hekzan fazı cam tüpe alınıp örnek üzerine 0.3 mL n-hekzan ilave edilerek karıştırılıp, santrifüjlendikten sonra n-hekan fazı cam tüpteki hekzan fazı ile birleştirilmiştir. Ekstrakte edilen hekzan, kuru azot altında uzaklaştırılmıştır. Kalıntı 100 µL metanolde çözülüp, HPLC'de analiz edilmiştir. Örnekdeki E vitamini 296 nm ve A vitamini ise 326 nm dalga boyunda instertsil 5 µ C-18 (15 cm x 4.6 mm) kolonu ve asetonitril:metanol:diklormetan:kloroform:hekzan (60:10:15:10:5) hareketli fazında akış hızı 1 mL/dk olacak şekilde analiz edilmiştir (Cerhata, vd., 1994; Karatepe, 2004; Miller, vd., 1984).

2.4. *T. isatidea*'nin Antioksidan Aktivitesi ile İlgili Çalışmalar

2.4.1. Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi

Numuneden 1/5 (g/mL) metanol ekstraktı hazırlanarak DPPH süpürücü aktivite ölçülmüştür (Brand-Williams, vd., 1995). Serbest radikal olarak 25 mg/L α,α -Diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) metanol çözeltisi hazırlanmış ve deney tüplerine sırasıyla 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ bitki ekstraktları ve DPPH çözeltisinden 3.9 mL ilave edilmiştir. Elde edilen bu karışımlar, oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dk inkübasyon süresinin sonunda spektrofotometrede 517 nm'de blanka karşı okunmuştur (Hsu, vd., 2006).

Azalan absorbans, geriye kalan DPPH miktarı serbest radikal giderme aktivitesi olarak belirlendi ve sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\% = \frac{\text{Kontrol}_{\text{ABS}} - \text{Sample}_{\text{ABS}}}{\text{Kontrol}_{\text{ABS}}} \times 100$$

2.4.2. MDA Miktar Tayini

Bitki örneği 1 g alınıp, üzerine 0.2 mL 0.5 M HClO_4 ilave edilerek proteinler çöktürülmüştür. Daha sonra bu karışım vortekslelendikten sonra üzerine saf su ilave edilerek 1 mL'ye tamamlanmıştır. Karışım 5 dk santrifüjlelendikten (4500 devir/dk) sonra örneklerin üzerindeki berrak kısımdan (süpernatant) alınarak MDA miktarı HPLC'de analiz edilmiştir. Analizler hareketli faz olarak 30 mM KH_2PO_4 -metanol (%82.5-17.5, pH:4) karışımında 250 nm'de intertsil 5 μ C-18 (15 cm x 4.6 mm) kolonu kullanılarak akış hızı 1 mL/dk yapılmıştır (Cerhata, vd., 1994; Karatepe, 2004; Miller, vd., 1984).

2.4.3. Total Antioksidan Seviyesinin (TAS) Belirlenmesi

Kit Standart Solusyonları

Reagent 1 (Buffer) 1X50 mL

Reagent 2 (Renkli ABTS Radikal Solusyonu) 1X10 mL

Standart 1 (0.0 mmol Trolox Equiv./L)

Standart 2 (1.00 mmol Trolox Equiv./L) 1x5 mL

Reagent 1'den 200 µL tüp içerisine alınıp, üzerine 12 µL *T. claveryi*'nin metanol özütleri eklenerek, başlangıç absorbansı 660 nm spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Üzerine 30 µL Reagent 2 ilave edilerek 5 dakika 37 °C'de inkübasyon yapıp, inkübasyon sonrası 660 nm'de ikinci absorbans değeri okunmuştur. Hesaplamalar yapılarak TAS değerine ulaşılmıştır (Erel, 2004). Değerlendirmeler Tablo 2.1'e göre yapılmıştır.

Sonuçların hesaplanması:

$$\text{TAS (mmol/L)} = [\Delta\text{Abs Std1} - \Delta\text{Abs Örnek}] / [\Delta\text{Abs Std1} - \Delta\text{Abs Örnek}] \times 20$$

Hesaplamada kullanılacak veriler:

$\Delta\text{Abs Std1}$: (Std1'in ikinci Abs. - Std1'in birinci Abs.)

$\Delta\text{Abs Std2}$: (Std2'in ikinci Abs. - Std2'in birinci Abs.)

$\Delta\text{ÖrnekAbs}$: (Örneğin ikinci Abs. - Örneğin birinci Abs.)

2.4.4. Total Oksidan Seviyesinin (TOS) Belirlenmesi

Kit Standart Solusyonları

Reagent 1 (Assay Buffer) 1x50mL

Reagent 2 (Prokromojen Solusyon) 1x10mL

Standart 1 (Blank Solusyon: deiyonize su)

Standart 2 solusyon 1x5mL

Standart çalışma solüsyonunun hazırlanması:

SSSS deiyonize su ile 40 kez seyreltilmiştir. Seyreltilmiş SSSS'ten 50 µL üzerine 10 mL deiyonize su ilave edilerek vortekslenerek, tekrar 50 µL alınıp ikinci kez 10 mL deiyonize su ilave edilerek ve vortekslenerek günlük çalışma standart 2 solüsyonu hazırlanmıştır. 200 µL Reagent 1 ve 30 µL örnek ya da hazırlanan standart solüsyonu ilave edilerek başlangıç absorbansı spektrofotometrik olarak 660 nm'de okunmuştur. Üzerine 10µL Reagent 2 ilave edilerek 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra 2. Kez 660 nm'de okunup hesaplamalar yapılarak TOS değerleri Tablo 2.1'e göre değerlendirilmiştir (Erel, 2005).

Sonuçların hesaplanması:

$$\text{TOS (µmol/L)} = (\text{Abs.Örnek} / \text{Abs Standart2}) \times 20 \text{ (Standart2 Değeri)}$$

Hesaplamada kullanılacak veriler:

Abs. Örnek = (Örneğin ikinci Abs.- Örneğin birinci Abs.)

Abs. Standart2: (Std2'in ikinci Abs.- Std2'in birinci Abs.)

Standart 2 Değeri = 20 µmol H₂O₂ Equiv./L

Tablo 2.1. Rell Assay Diagnostic Kit Referans Değerleri

TAS REFERANS DEĞERLER (mmol Trolox Equiv./L)		
>2.0		Çok İyi
1.45	2	Normal
1.2	1.45	Normal Kabul Edilebilir
1	1.2	Düşük Antioksidan Seviyesi
<1.20		Çok Düşük Antioksidan Seviyesi
TOS REFERANS DEĞERLER (µmol H ₂ O ₂ Equiv./L)		
<5.00		Çok İyi
8	5	Normal Değer
12	8	Yüksek Oksidan Seviyesi
>12.00		Çok Yüksek Oksidan Seviyesi

2.5. *T. isatidea*'nin DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi İle İlgili Çalışmalar

Özütün, DNA'yı UV ve oksidatif kaynaklı hasarlardan koruma etkinliklerinin tespiti için pBR322 plazmid DNA (vivantis) kullanılmıştır. Plazmid DNA'sı, özütün varlığında H₂O₂ ve UV uygulanarak hasara uğratarak (Russo, vd., 2000) %1.25'lik agaroz jel üzerinde görüntüleme gerçekleştirilmiştir. Metanol özütlerinden her örnek için 50 mg tartılarak üzerine 1000 µL dH₂O eklenip özütlerin tamamen çözünmesi sağlandıktan sonra seyreltme işlemi gerçekleştirilmiştir. %0.1'lik bitki özütü solüsyonundan 1/10 oranında seyreltme yapılmıştır. Çalışma prosedüründe de bu plan kullanılmıştır (Tepe vd., 2011).

1/10 oranında seyreltme için 5 mL özüt+45 mL dH₂O

1/5 oranında seyreltme için 10 mL özüt+40 mL dH₂O

1/2,5 oranında seyreltme için 20 mL özüt+30 mL dH₂O

1/1,25 oranında seyreltme için 40 mL özüt+10 mL dH₂O

Kontrol ve bitki özütlerinin hazırlanması:

K1. Kontrol: Plazmit DNA (3 µL) + dH₂O (6 µL)

K2. Kontrol: Plazmit DNA (3 µL) + dH₂O (6 µL)+ UV

K3. Kontrol: Plazmit DNA (3 µL) + dH₂O (6 µL)+ UV+ H₂O₂ (1 µL)

K4. Kontrol: Plazmit DNA (3 µL) + dH₂O (6 µL)+ H₂O₂ (1 µL)

S1. Plazmit DNA (3 µL) + H₂O₂ (1 µL) + UV+ örnek (5 µL)

Kontrol dışında tüplere bitki özütünden 5.0 µL konularak üzerine 3.0 µL pBR322 plazmid DNA'sı (172 mg.µL) ve 1.0 µL %30'luk H₂O₂ ilave edilmiştir. Özütün bulunduğu tüpler ile 2. ve 3. Tüpler birlikte 5 dk süresince UV ışınlarına maruz bıraktıktan sonra 2.0 µL yükleme tamponu eklenerek %1.25'lik agaroz jele yüklenmiştir. Işık kaynağı olarak oda sıcaklığında 302 nm dalga boyunda ve 8000 µW/cm yoğunlukta ışık üreten UV translüminatör (DNR-IS) cihazı kullanılmıştır. 100 dk 100 V %1.25'lik agaroz jel elektroforezi uygulamasından sonra jel dökümantasyon sisteminde (DNR-IS, MiniBIS Pro) görüntülenerek fotoğrafları çekilmiştir.

2.6. *T. isatidea*'nin Antimikrobiyal Aktivisinin Belirlenmesi İle İlgili Çalışmalar

2.6.1. Ekstraktların Hazırlanması

Bitki örneği oda sıcaklığında kurutulup, toz haline gelinceye kadar öğütülmüştür. Toz halindeki bitki materyalinden 10 g alınarak farklı çözügenlerle (su, etanol ve metanol) 100 mL'de çözdürüldü. Homojenatlar 5000 rpm+4°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj ve filtrasyondan sonra evaporatörde konsantre edilmiştir.

2.6.2. Çalışmalarda Kullanılan Test Mikroorganizmaları

Çalışmada test mikroorganizmaları olarak; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas vulgaris* FMC 1, *Pseudomonas aeruginosa* DMS 50071, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Klebsiella pneumoniae* FMC 5, *Bacillus subtilis* IMG 22, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Staphylococcus aureus* COWAN 1 ve *Candida albicans* FMC 17 kullanılmıştır.

2.6.3. Mikroorganizma Kùltürlerinin Hazırlanması ve Aşılama

Bakteri suşları $35\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat nutrient buyyonda, maya suşları $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat malt ekstrakt buyyonda ve dermatofit funguslar glukozlu sabouroud buyyonda inkübe edildi. Sıvı besiyerinde gelişen kùltürler, Mc Farland (0.5) standart tüpüne göre yoğunluk ayarı yapıldıktan sonra buyyon tüplerine aktarıldı. Erlenmayerde steril edilen ve $45-50^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulan Müller Hinton Agar, Malt Ekstrakt Agar ve Sabouraud Dextrose Agar hazırlanıp bakteri, maya ve fungusların buyyondaki kùltürü ile %1 oranında aşılansarak (10^6 bakteri/mL, 10^4 maya/mL ve 10^4 fungus/mL) iyice çalkalandıktan sonra 9 cm çapındaki steril petri kutularına dökülmüştür. Katılaşılan agar ortamına aseptik olarak her biri 100 μl 'lik farklı ekstraktlar emdirilmiş olan 6 mm çapındaki antimikrobiyal diskler (Oxoid) hafıfçe yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petriler kutuları 4°C 'de 1.5-2 saat bekletildikten sonra, bakteri aşılansan plaklar $37\pm0.1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat, maya ve dermofit aşılansan plaklar ise $25\pm0.1^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat süre ile inkübe edilmiştir. Kontrol için standart diskler kullanılmıştır (Streptomisin sülfat: 10 $\mu\text{g/disk}$, Nystatin: 30 $\mu\text{g/disk}$). Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşlan inhibisyon zonları mm olarak değersendirilmiştir (Collins ve Lyne, 1987).

3. BULGULAR

3.1. *T. isatidea*'nın Besinsel İçeriği

T. isatidea'nın besinsel içeriklerinden kuru madde, ham kül, ham selüloz, ham yağ, organik madde, karbonhidrat, protein ve enerji miktarları Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

T. isatidea'de %91.57 kuru madde, %14.37 ham kül, %1.82 ham yağ, karbonhidrat %63.21, %20.60 ham protein, %77.20 organik madde, %29.02 ham selüloz ve %351.62 kcal enerji tespit edilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. *T. isatidea*'nın Besinsel İçeriği

Kuru Madde (%)	Ham Kül (%)	Ham Selüloz (%)	Ham Yağ (%)
%91.57	%14.37	%29.02	%1.82
Organik Madde (%)	Karbonhidrat (%)	Ham Protein (%)	Enerji (Kcal)
%77.20	%63.21	%20.60	351.62

3.2. *T. isatidea*'nın Element İçeriği

T. isatidea'nın element içeriklerinden K, Na, Ca, Mn, Fe, Zn, Cu, Pb, Cr, Co ve Cd miktarları Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

T. isatidea'da 42.5 mg/kg K, 260 mg/kg Na, 102.4 mg/kg Ca, 1.59 mg/kg Fe, 1.160 mg/kg Zn, 0.121 mg/kg Cu, 7.49 mg/kg Mn ve 2.16 mg/kg Pb tespit edilmiştir (Tablo 3.2). Ayrıca; Cr, Co ve Cd düzeyleri ise tespit edilmemiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. *T. isatidea*'nın Element İçeriği

Mikro elementler	mg kg ⁻¹ ±SD
K	42.5±0.13
Na	260±2.18
Ca	102.4±1.27
Mn	7.49±0.12
Fe	1.59±0.03
Zn	1.16±0.11
Cu	0.12±0.01
Pb	2.16±0.07
Cr	-
Co	-
Cd	-

(Çalışma 3 tekerrür gerçekleştirildi (n=3) ve ortalama ± standart sapma olarak hesaplandı)

3.3. *T. isatidea*'nın Vitamin İçeriği

T. isatidea'nın A vitamini ve E vitamini miktarları Tablo 3.3'de verilmiştir. *T. isatidea* 'da 2,82 µg/g A vitamini ve 22.95 µg/g E vitamini tespit edilmiştir (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. *T. isatidea*'nın A vitamini ve E vitamini içeriği.

	A vitamini	E vitamini
<i>T. isatidea</i>	2.82 µg/g	22.95 µg/g

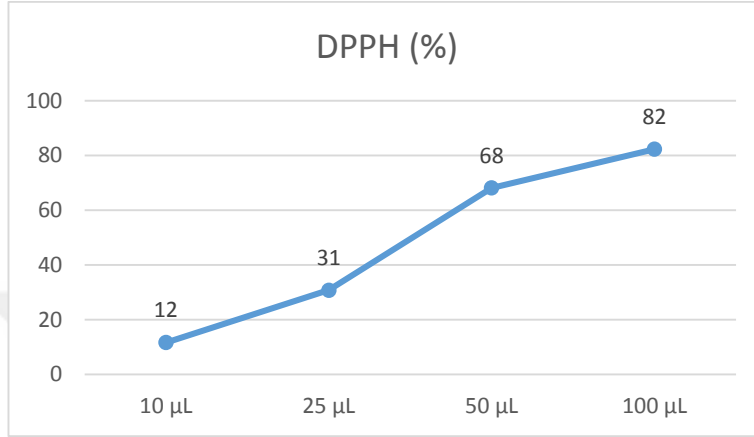
3.4. *T. isatidea*'nın DPPH Serbest Radikalini Giderme Aktivitesi

DPPH (α , α -Diphenyl-1-picrylhydrazyl) serbest radikalini temizleme sonuçlarına göre; *T. isatidea*'nın 10 µL'den itibaren etkili olduğu ve bu etkinin konsantrasyona bağlı olarak 100 µL'ye kadar lineer bir şekilde devam ettiği belirlendi (Tablo 3.4 ve Şekil 3.1). Bitki ekstraktının DPPH radikal temizleme aktivitesi 10 µL'de %11.68, 25 µL'de %30.80, 50 µL'de %68.20 ve 100 µL'de %82.34 bulunmuştur (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. *T. isatidea*'nın DPPH Giderme Aktivitesi (%).

DPPH	10 µL	25 µL	50 µL	100 µL
<i>T. isatidea</i>	11.68±0.27	30.80±0.35	68.20±0.56	82.34±1.06

(Çalışma 3 tekrerrür gerçekleştirildi ve ortalama ± standart sapma olarak hesaplandı)



Şekil 3.1. *T. isatidea*'nın DPPH Giderme Aktivitesi.

3.5. *T. isatidea*'nın Toplam Antioksidan (TAS) ve Toplam Oksidan Seviyesi (TOS)

T. isatidea'da; MDA, TAS ve TOS değerleri Tablo 3.5'de gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan *T. isatidea*'nın metanol ekstraktından TAS ve TOS kapasite çalışmaları ticari kit ile belirlendi ve sonuçlar kit içeriğindeki referans değerleri aralığına göre değerlendirilmiştir (Tablo 2.1, Tablo 3.5). *T. isatidea*'nın MDA oranı 133.56 nmol/g, total antioksidan seviyesi 3.91 µmol/L ve total oksidan düzeyi ise 69.96 µmol/L olarak bulunmuştur (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. *T. isatidea*'nın MDA, TAS ve TOS değerleri.

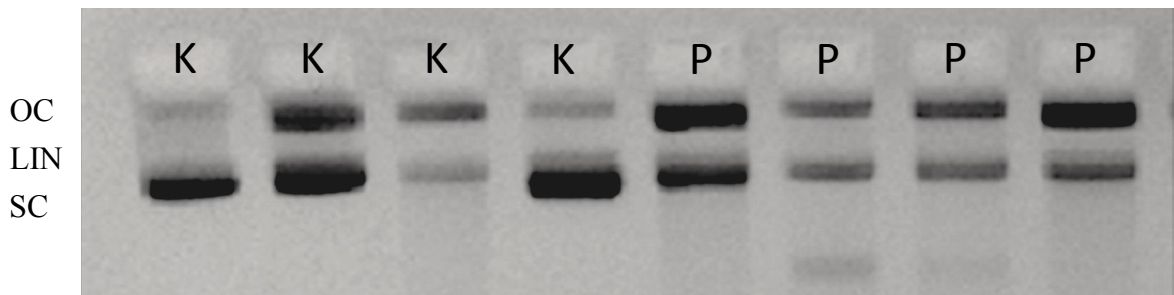
MDA	TAS	TOS
133.56 nmol/g	3.91 mmol Trolox Eq/L	6.96 µmol H ₂ O ₂ Eq/L

3.6. *T. isatidea*'nın DNA Koruyucu Aktivitesi

DNA kırılımlarını incelemenin bir yolu, supercoiled DNA'nın (süper kıvrımlı halkasal DNA; kırık yok), open-circular (tek zincir kırığı içeren halkasal DNA; DNA zincirlerinden birinde kırık mevcut) veya linear (doğrusal DNA; iki zincirde de bir veya birden fazla kırık mevcut) forma dönüşümünü gözlemlemektir. Agaroz jel elektroforezinde bu formların farklı hızlarda hareket ettikleri bilinmektedir. Agaroz jel elektroforezinde pBR322 plazmit DNA'sı; hızlı hareket eden supercoiled DNA (scDNA) ve daha yavaş hareket eden open-circular DNA (ocDNA) olmak üzere 2 bant oluşturmaktadır. H₂O₂ ve kuvvetli UV ışık ile muamele edilen plazmit DNA'sı, supercoiled halkasal DNA'nın kırılması sonucu linear DNA'yı meydana getirmektedir.

İlk 4 kuyucuk kontrol olarak kullanılmıştır (Şekil 3.2). 1 ve 2. kuyucuklarda üç bant (scDNA, linDNA ve ocDNA) meydana geldiği gözlenmiştir. 3. kuyucukta DNA'nın H₂O₂ varlığında UV ile etkileşimi sonucu OH radikalinin DNA'yı kestiği görülmüştür. 4. kuyucukta ise jel üzerinde yine 3 bant oluştuğu belirlenmiştir (Şekil 3.2).

T. isatidea özütlerinin kuvvetli UV ışık ve H₂O₂ varlığında pBR322 plazmit DNA'sını koruma potansiyelleri incelenmiştir. Bitki özütünün DNA koruyucu potansiyeli agaroz jel üzerinde olan 5. ve 8. kuyuda üç bant meydana geldiği gözlenmiştir. 6. ve 7. kuyucuklarda ise DNA'nın H₂O₂ varlığında UV ile etkileşimi sonucu OH radikalinin DNA'yı kestiği görülmüştür (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *T. isatidea*'nın DNA Koruma Aktivitesini Gösteren Jel Görüntüsü.

(SC: Supercoiled DNA, LIN: Linear DNA, OC: Open-circular DNA)

K1: Plazmit DNA (3 µL) + dH₂O (6 µL)

K2: Plazmit DNA (3 µL) + dH₂O (6 µL) + UV

K3: Plazmit DNA (3 µL) + dH₂O (6 µL) + UV+ H₂O₂ (1 µL)

K4: Plazmit DNA (3 µL) + dH₂O (6 µL) + H₂O₂ (1 µL)

- P1: Plazmit DNA (3 µL) + H₂O₂ (1 µL) + UV+ 1/10 ÖRNEK (5 µL)
P2: Plazmit DNA (3 µL) + H₂O₂ (1 µL) + UV+ 1/5 ÖRNEK (5 µL)
P3: Plazmit DNA (3 µL) + H₂O₂ (1 µL) + UV+ 1/2,5 ÖRNEK (5 µL)
P4: Plazmit DNA (3 µL) + H₂O₂ (1 µL) + UV+ 1/1,25 ÖRNEK (5 µL)

3.7. *T. isatidea*'nın Antimikrobiyal Aktivitesi

Bitki örneğinin antimikrobiyal aktivitesi çeşitli çözenler kullanılarak (su, etanol, metanol); *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *S. aureus* gibi bakterilere ve *C. albicans* maya türüne karşı disk difüzyon metoduyla antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 3.6'de gösterilmiştir.

Mikroorganizmaların gelişmelerini en iyi metanol, daha sonra etanol ve su özütü engellemiştir (Tablo 3.6). Metanol özütünde inhibisyon zonu 10-13 mm arasında değiştiği, en büyük zonun *B. subtilis*'de (13 mm çap) görülmüştür (Tablo 3.6). *P. aeruginosa* ve *L. monocytogenes* 11 mm, *E. coli*'de 12 mm, *P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *B. megaterium* ve *C. albicans* üzerinde ise 10 mm inhibisyon zonu oluşmuştur (Tablo 3.6). Etanol ile elde edilen ekstreler incelendiğinde ise 9-11 mm arasında inhibisyon zonları elde edilmiş ve en çok *B. subtilis* üzerinde (11 mm çap) etkili olmuştur (Tablo 3.6). *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*'de 10 mm, diğer mikroorganizmalarda ise 9 mm inhibisyon zonu görülmüştür (Tablo 3.6). Bitkinin su ile hazırlanmış özütü ise bazı mikroorganizmalar üzerine etki etmemiştir. *B. subtilis*'de 10 mm, *E. coli*'de 9 mm, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* üzerinde ise 8 mm inhibisyon zonu ölçülmüştür (Tablo 3.6).

Tablo 3.6. *T. isatidea*'nın Antimikrobiyal Aktivitesi

	<i>E.coli</i>	<i>P.vulgaris</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>C.albicans</i>
T. su	9	-	8	-	-
T. Etanol	10	9	10	9	9
T. Metanol	12	10	11	10	10
Standart	13**	11**	11**	19**	9**
	<i>B.subtilis</i>	<i>B.megaterium</i>	<i>S.aureus</i>	<i>L.monocytogenes</i>	
T. su	10	-	8	8	
T. Etanol	11	9	9	10	
T. Metanol	13	10	11	11	
Standart	19**	9**	13**	18*	

(*: Nystatin, **: Streptomisin sülfat)

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan çalışmada *T. isatidea*'nın besinsel içerikleri, antioksidan aktivitesi, DNA koruyucu aktivitesi ve antimikrobiyal etkileri elde edilmiştir (Tablo 3.1-3.6, Şekil 3.1-3.2).

T. isatidea'da kuru madde %91.57, ham kül %14.37, ham selüloz %29.02, ham yağ %1.82, organik madde %77.20, karbonhidrat %63.21, protein %20.60 ve enerji miktarı %351.62 kcal olarak saptanmıştır (Tablo 3.1).

T. isatidea'nın yapılan çalışma sonucunda ham kül oranı %14.37 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.1). Elde edilen veriler *E. sativa*'nın ham kül sonuçları (%0.28) ile kıyaslandığında *T. isatidea*'nın ham kül oranının daha yüksek olduğu görülmüştür (Khan, vd., 2016).

Tablo 3.1'de görüldüğü gibi *T. isatidea*'nın ham yağ oranı %1.82 olarak tespit edilmiştir. Aynı familyadaki *E. sativa*'nın ham yağ oranı %0.40 (Khan, vd., 2016), kaynatılmış ve pişirilmiş Brokoli'de %0.60 ve çiğ brokolide ise %0.60 olarak rapor edilmiştir (Campbell, vd., 2012). *T. isatidea*'nın protein içeriği % 20.60 olarak belirlenmiştir (Tablo 3.1). Değişik çalışmalarda *E. sativa*'nın protein içeriği %2.88 (Khan, vd., 2016), kaynatılmış ve pişirilmiş brokolide 3.80 g/100g, çiğ brokolide ise 4.40 g/100g olarak belirlenmiştir (Campbell, vd., 2012). Elde edilen bu veriler ile kıyaslandığında en yüksek protein içeriğinin *T. isatidea*'da olduğu görüldüğü (Tablo 3.1), bunun temel nedeni ise türlerin farklılığından kaynaklanmaktadır.

T. isatidea'de karbonhidrat miktarı %63.21 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.1). Daha önceki yapılan çalışmalarda (Khan, vd., 2016), *E. sativa*'da karbonhidrat miktarı %8.28, kaynatılmış veya pişirilmiş brokolide %1.70, çiğ brokolide ise %2.30 olarak değişkenlik göstermektedir. Elde edilen bu veriler kıyaslandığında; *T. isatidea*'nın karbonhidrat miktarının çok daha yüksek olduğu çalışma sonuçlarından elde edilmiştir (Tablo 3.1).

Khan vd. (2016), *E. sativa*'nın enerji miktarını %28.04 kcal olarak hesaplamıştır. *T. isatidea*'nın yapılan analizler sonucunda hesaplanan enerji miktarı %351.62 kcal olarak bulunmuştur (Tablo 3.1). Elde edilen sonuçlar kıyaslandığında *T. isatidea*'nın enerji miktarının değiştiği saptanmıştır.

Tablo 3.2'de elde edilen veriler neticesinde *T. isatidea*'da Mn element içeriği 7.49 mg/g, Fe miktarı 1.59 mg/g olarak tespit edilmiştir. Daha önceki yapılan çalışmada (Khan, vd., 2016), *E. sativa*'da 30.50 mg/g Mn ve 30.89 mg/g Fe rapor edilmiştir Lahana ve karnabardaki Fe element içeriğini sırasıyla 0.3 ve 0.1 mg/g (Gebhardt, vd., 2002), çiğ

brokoli, kırmızı lahana ve beyaz lahanadaki Fe düzeyinin ise sırasıyla 1.2, 0.6 ve 0.4 mg/g olarak rapor edilmiştir (Campbell, vd., 2012). Elde edilen tüm veriler kıyaslandığında en yüksek Fe element miktarının *E. sativa*'ya ait olduğu belirlenmiştir.

T. isatidea'da K miktarı 42.05 mg/g olarak belirlenmiştir (Tablo 3.2). Khan, vd. (2016), *E. sativa*'da K element miktarını 2.265 mg/g olarak bulmuştur. Lahana ve karnabaharla yapılan çalışma da ise aynı element içerikleri sırasıyla 161 ve 39 mg/g olarak değişkenlik göstermektedir (Gebhardt, vd., 2002). Çiğ brokoli, kırmızı lahana ve beyaz lahanadaki K içerikleri ise sırasıyla 487, 300 ve 215 mg/g olarak tespit edilmiştir (Campbell, vd., 2012). Tablo 3.2'de elde edilen K element düzeyi sonuçları kıyaslandığında element düzeylerinin değiştiği saptanmıştır.

T. isatidea'da Na içeriği 2.60 mg/g olarak değişmektedir (Tablo 3.2). Aynı element içeriği *E. sativa*'da 1.79 mg/g (Khan, vd., 2016), lahana ve karnabaharda 20 mg/g ve 4 mg/g (Gebhardt, vd., 2002), çiğ brokoli, kırmızı lahana ve beyaz lahanada ise 5 mg/g, 32 mg/g ve 5 mg/g olarak belirlenmiştir (Campbell, vd., 2012). Tablo 3.2'de elde edilen Na element düzeyi sonuçlarının diğer araştırmacıların (Khan, vd., 2016; Campbell, vd., 2012; Gebhardt, vd., 2002) verileriyle kıyaslandığında; türe, yetiştirme ortamına ve analiz çeşidine ve yöntemine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.

T. isatidea'da Zn içeriği 11.60 mg/g ve Cu düzeyi ise 0.12 mg/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.2). *E. sativa*'da Zn miktarı 28.43 mg/g ve Cu ise 30.90 mg/g (Khan, vd., 2016), çiğ brokoli, kırmızı ve beyaz lahanada ise Zn miktarı 0.7 mg/g, 0.3 mg/g ve 0.1 mg/g olarak hesaplanmıştır (Campbell, vd., 2012). Tablo 3.2'de elde edilen Zn ve Cu düzeyinin (11.60 ve 0.12 mg/g), diğer araştırmacıların (Khan, vd., 2016; Campbell, vd., 2012) verilerinden farklı olduğu gözlenmiştir.

Tablo 3.2'de yapılan analizler sonucunda *T. isatidea*'da Pb element düzeyi 1.16 mg/g olarak belirlenmişken, Cr, Co ve Cd miktarları ise tespit edilmemiştir. *E. sativa*'da ise 0.22 mg/g Pb, 0.68 mg/g Cr ve 0.84 mg/g Cd olarak rapor edilmiştir (Khan, vd., 2016). Tablo 3.2'de elde edilen veriler ile kıyaslandığında *T. isatidea*'nın Pb element miktarının yüksek olduğu, fakat *E. sativa*'da ise Cr ve Cd elementlerini az da olsa içerdiği belirtilmiştir (Khan, vd., 2016).

Tablo 3.2'de *T. isatidea*'nın element miktarlarının, karşılaştırılan diğer türlerden benzer veya farklı bulunmuştur (Khan, vd., 2016; Campbell, vd., 2012; Gebhardt, vd., 2002). Farklılıkların temel nedeninin; çalışmada kullanılan türlerin değişken olması, yetiştikleri

habitatın farklı oluşu ve bazen de bir bitkinin farklı organlarında bile etken maddelerin farklı düzeylerde bulunmasından kaynaklanabilmektedir.

T. isatidea'da 2.82 µg/g A vitamini ve 22.95 µg/g E vitamini tespit edilmiştir (Tablo 3.3). Benzer çalışmalarda ise aynı bitkide 1.75 µg/g A vitamini ve 3.96 µg/g E vitamini tespit edilmiştir (Birişik, vd., 2013). Tablo 3.3'de vitamin miktarlarında görülen farklılığın temel nedeninin; numunenin toplanma zamanı, yetiştiği lokalite ve kullanılan yöntemin farklı olmasından kaynaklanabilir.

DPPH verilerine bakıldığında *T. isatidea*'nın 10 µL'den itibaren etkili olduğu ve bu etkinin konsantrasyona bağlı olarak 100 µL'ye kadar lineer bir şekilde devam ettiği belirlenmiştir (Tablo 3.4, Şekil 3.1). Bitki ekstraktının DPPH radikal temizleme aktivitesi 10 µL'de %11.68, 25 µL'de %30.80, 50 µL'de %68.20 ve 100 µL'de %82.34 bulunmuştur (Tablo 3.4, Şekil 3.1). Ayrıca; *T. isatidea*'nın MDA oranı 133.56 nmol/g, total antioksidan seviyesi 3.91 µmol/L ve total oksidan düzeyi ise 69.96 µmol/L olarak bulunmuştur (Tablo 3.5). *T. isatidea*'ya, yakın bir tür olan *D. virgate* ile gerçekleştirilen çalışmada ise farklı yöntemler kullanılarak DPPH düzeyinin 26.03 IC₅₀ (µg/mL) ve *D. erucoides* ise 27.02 IC₅₀ (µg/mL) olarak tespit edilmiştir (Salah, vd., 2015).

Şekil 3.2'de *T. isatidea*'nın konsantrasyona bağlı olarak değişken oranda DNA koruyucu aktivitesinin olduğu tespit edilmiştir. Değişik çalışmalarda da Brassicaceae ait olan *L. latifolium* yapraklarının DNA koruyucu aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca, Brassicaceae ait bitkilerde tespit edilen glukozinatların, hücreleri DNA hasarından koruyabileceğini ve karsinojenleri inaktive edebilecekleri belirtilmiştir (Akan, vd., 2013; Al-Gendy, AA, vd., 2010; Blažević, vd., 2010).

Çalışmada kullanılan patojen mikroorganizma gelişmelerini en iyi *T. isatidea*'nın metanol özütü (10-13 mm çap) engellemiştir (Tablo 3.6). *T. isatidea*'nın su ile hazırlanan ekstraktının bazı mikroorganizmalar üzerine etki etmediği gözlenmiştir (Tablo 3.6). Ayrıca; *T. isatidea*'nın etanol ile elde edilen ekstraktları incelendiğinde ise 9-11 mm arasında inhibisyon zonları elde edilmiş ve en çok *B. subtilis* üzerinde (11 mm çap) etkili olmuştur (Tablo 3.6). Tablo 3.6'de *T. isatidea*'nın farklı ekstraktlarının (metanol, etanol ve su), çalışmada kullanılan standartlara kıyasla çok düşük antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlenmiştir.

Farsetia aegyptia Turra. (Brassicaceae)'nın metanolik ekstraktı; *B. subtilis*, *S. maxima*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* sp., *S. typhimurium*, *A. niger*, *A. flavus* ve *T. viride* gelişmelerini farklı oranlarda engellediği, fakat *C. albicans*'ın

gelişimini ise önlememiştir (Atta, vd., 2013). Aynı familyadaki *Lobularia libyca* (Viv.)'nın tohum hidrolizatının antimikrobiyal çalışmasında ise; *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. faecalis*, *E. coli*, *N. gonorrhoeae*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* gelişmelerini farklı oranlarda engellediği (9-16 mm çap), fakat *A. flavus*'un gelişimi üzerine ise herhangi bir etki göstermemiştir (Al-Gendy, vd., 2016).

Aurinia sinuata (L.)'nın glukozinolat bozunma ürünlerini içeren uçucu numuneler, disk difüzyon yöntemi kullanılarak 0.100, 0.250, 0.500 mg konsantrasyonlarında antimikrobiyal aktivite açısından değerlendirilmiştir. Taze bitkinin hidrodistilasyonu ile elde edilen uçucu numune konsantrasyona bağlı olarak mikroorganizmaların gelişimlerini engellediği belirlenmiştir. *E. coli*'de, *K. pneumonia*'da ve *A. hydrophila*'da 25 mm inhibisyon zonu ölçüldüğü (0.500 mg) ve Minimum inhibisyon konsantrasyonlarının ise 0.008 ile 0.115 mg/mL arasında değiştiği tespit edilmiştir (Blažević, vd., 2010).

Diplotaxis virgata (Cav.) ve *D. eruroides* (L.) ekstraktının; *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *K. pneumoniae* gelişimini değişik oranlarda (15-22 mm çap) engellemiştir (Salah, vd., 2015).

Tablo 3.6'de *T. isatidea*'nın antimikrobiyal etkileri karşılaştırılan diğer türlerden benzer veya farklı bulunmuştur (Atta, vd., 2013; Al-Gendy, vd., 2016; Blažević, vd., 2010; Salah, vd., 2015). Farklılıkların temel nedeninin; çalışmada kullanılan örneklerin, çözümlerin, test mikroorganizmalarının ve analiz yöntemlerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Sonuç olarak; Brassicaceae ait birçok bitkide olduğu gibi *T. isatidea*'nında antioksidan, DNA koruyucu etkisi ve antimikrobiyal özellikleri ihtiva ettiği belirlenmiştir.

ÖNERİLER

T. isatidea'nın özellikle glukosinat düzeylerinin araştırılması önem arz etmektedir. Dikenli yapısından dolayı sebze olarak kullanılamayan bitkinin gölgede kurutulmuş formu toz haline getirilerek su ile dekoksasyon veya infüzyon şeklinde hazırlanarak tüketilebileceği gibi disk haline getirilerek hap şeklinde tüketilebilir. Bitkinin toz formu vazelinle karıştırılıp harici yara iyileştirici olarak kullanılabilir. Literatür taraması; bu bitkinin kaliteli bir süs bitkisi olarak peyzajda kullanılabileceği gibi aynı zamanda doğal bir boya olması nedeniyle de bölgede kültürünün yapılmasının ekonomik açıdan önemsenmesi gerektiği vurgulamaktadır.

KAYNAKÇA

- Acar, G.**, 2006. *Crocus Cinsine Ait (Crocus biflorus* Miller, *Crocus baytopiorum* Mathew, *Crocus flavus* Weston subp. dissectus T. Baytop & Mathew) Saf Ekstraktların Antimikrobiyal ve Antioksidant Etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Pamukkale Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Place
- Akan, S., Veziroğlu, S., Özgün, Ö., ve Ellialtıpgü, Ş.**, 2013. Turp (*Raphanus sativus* L.) sebzemin fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmesi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, **23**(3), 289-295.
- Al-Gendy, A., El-Gindi, O., Hafez, A. S., ve Ateya, A.**, 2010. Glucosinolates, volatile constituents and biological activities of *Erysimum corinthium* Boiss.(Brassicaceae), *Food Chemistry*, **118**(3), 519-524.
- Al-Gendy, A. A., Nematallah, K. A., Zaghloul, S. S., ve Ayoub, N. A.**, 2016. Glucosinolates profile, volatile constituents, antimicrobial, and cytotoxic activities of *Lobularia libyca*, *Pharmaceutical Biology*, **54**(12), 3257-3263.
- Alpınar, K., ve Saçlı, S.**, 1997. Türkiye'deki etnobotanik çalışmalar hakkında bir bibliyografya, *XI. BİHAT Bildiriler Kitabı*, Ankara, 157-167.
- Altundag, E., ve Ozturk, M.**, 2011. Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey, *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, **19**(2011), 756-777.
- Anonim. Turpgiller. <http://www.kanser.gov.tr/index.php/kanser/kanser-beslenme/273-turpgiller.html>.
- Aruoma, O. I.**, 1997. Extracts as antioxidant prophylactic agents, *Inform*, **8**(12), 1236-1242.
- Arzani, H., Basiri, M., Khatibi, F., ve Ghorbani, G.**, 2006. Nutritive value of some Zagros Mountain rangeland species, *Small Ruminant Research*, **65**(1), 128-135.
- Aslay, M., Teken, M., Cukadar, K., Unlu, M. H., Kadiodlu, Z., ve Kaya, E.**, 2013. Morphology and Germination of *Tchihatchewia isatidea* Boiss. (Brassicaceae), *Botany Research Journal*, **6**(1), 6-8.

- Atta, E., Hashem, A., ve Eman, R. E.-S.,** 2013. A novel flavonoid compound from *Farsetia aegyptia* and its antimicrobial activity, *Chemistry of Natural Compounds*, **49**(3), 432-436.
- Aydın, Ç., ve Mammadov, R.,** 2017. İnsektisit aktivite gösteren bitkisel sekonder metabolitler ve etki mekanizması, *Marmara Pharmaceutical Journal*, **21**(1), 30-37.
- Baird, M. B., Birnbaum, L. S., ve Sfeir, G. T.,** 1980. NADPH-driven lipid peroxidation in rat liver nuclei and nuclear membranes, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **200**(1), 108-15.
- Barber, D. A., ve Harris, S. R.,** 1994. Oxygen Free Radicals and Antioxidants: A Review: The use of antioxidant vitamin supplements to scavenge free radicals could decrease the risk of disease, *American Pharmacy*, **34**(9), 26-35.
- Bast, A., Haenen, G. R., ve Doelman, C. J.,** 1991. Oxidants and antioxidants: state of the art, *The American Journal of Medicine*, **91**(3), S2-S13.
- Başaran, A.A.,** 2012, Ülkemizdeki bitkisel ilaçlar ve ürünlerde yasal durum, MİSED, Sayı : 27-28, s: 22-26.
- Başer, K.,** 1998. Tıbbi ve aromatik bitkilerin endüstriyel kullanımı, *Tab Bülteni*, **13**(14), 19-43.
- Baytop, T., *Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present)*, 1999, Istanbul, Nobel Tıp Basımevi.
- Baytop, T.,** 1994. Türkçe bitki adları sözlüğü, *Türk Dil Kurumu Yayınları*, **578**.
- Baytop, T.,** 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (geçmişte ve bugün), *İstanbul Üniversitesi Yayınları*, (3255).
- Becker, E. M., Nissen, L. R., ve Skibsted, L. H.,** 2004. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects, *European Food Research and Technology*, **219**(6), 561-571.
- Birişik, A., Karataş, F., Yılmaz, S., ve Özdemir, F. A.,** 2013. Boya çiçeği (*Neotchihatchewia isatidea*) bitkisindeki vitaminler ile glutatyon miktarlarının araştırılması.
- Blakely, W. F., Fuciarelli, A. F., Wegher, B. J., ve Dizdaroglu, M.,** 1990. Hydrogen peroxide-induced base damage in deoxyribonucleic acid, *Radiat Research*, **121**(3), 338-43.

- Blazevic, I., Burcul, F., Ruscic, M., ve Mastelic, J.,** 2013. Glucosinolates, volatile constituents, and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Alyssoides utriculata*, *Chemistry of Natural Compounds*, **49**(2), 374-378.
- Blažević, I., Radonić, A., Mastelić, J., Zekić, M., Skočibušić, M., ve Maravić, A.,** 2010. Glucosinolates, glycosidically bound volatiles and antimicrobial activity of *Aurinia sinuata* (Brassicaceae), *Food Chemistry*, **121**(4), 1020-1028.
- Boissier, E.,** 1867-1988. Flora orientalis, vol. 1-5, *H. Georg, Basel*.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., ve Berset, C.,** 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food Science and Technology*, **28**(1), 25-30.
- Brown, P. D., ve Morra, M. J.,** 1997. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants, *Advances in Agronomy (USA)*.
- Brunori, M., ve Rotilio, G.,** 1984. [2] Biochemistry of oxygen radical species, *Methods Enzymol*, **105**, 22-35.
- Burçak, G., ve Andican, G.,** 2004. Oxidative DNA damage and aging, *Cerrahpaşa J Med*, **35**, 59-69.
- Burton, G. J., ve Jauniaux, E.,** 2011. Oxidative stress, *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, **25**(3), 287-299.
- Büyük, İ., SOYDAM-AYDIN, S., ve Aras, S.,** 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar, *Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, **69**(2).
- Campbell, B., Han, D., Triggs, C. M., Fraser, A. G., ve Ferguson, L. R.,** 2012. Brassicaceae: Nutrient analysis and investigation of tolerability in people with Crohn's disease in a New Zealand study, *Functional Foods in Health and Disease*, **2**(11), 460-486.
- Cerhata, D., Bauerova, A., ve Ginter, E.,** 1994. Determination of ascorbic acid in blood serum using high-performance liquid chromatography and its correlation with spectrophotometric (colorimetric) determination, *Ceska a Slovenska farmacie: casopis Ceske farmaceuticke spolecnosti a Slovenske farmaceuticke spolecnosti*, **43**(4), 166-168.

- CFR Ferreira, I., A Vaz, J., Vasconcelos, M. H., ve Martins, A.,** 2010. Compounds from wild mushrooms with antitumor potential, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, **10**(5), 424-436.
- Collins, C., ve Lyne, P.,** 1987. Microbiological Methods Butter Morths & Co (Publishers) Ltd, London. 450pp.
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., ve Lunec, J.,** 2003. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease, *The FASEB Journal*, **17**(10), 1195-1214.
- Cowan, M. M.,** 1999. Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews*, **12**(4), 564-582.
- Cross, C. E., Halliwell, B., Borish, E. T., Pryor, W. A., Ames, B. N., Saul, R. L., McCord, J. M., ve Harman, D.,** 1987. Oxygen radicals and human disease, *Annals of Internal Medicine* **107**(4), 526-45.
- Çakılcıoğlu, U., Khatun, S., Turkoglu, I., ve Hayta, S.,** 2011. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazığ-Turkey), *Journal of Ethnopharmacology*, **137**(1), 469-486.
- Davis, P. H.,** 1965. Flora of Turkey and the east Aegean islands, Edinburgh University Press.
- Delaquis, P., ve Mazza, G.,** 1995. Antimicrobial properties of isothiocyanates in food preservation, *Food Technology*, **49**(11), 73-84.
- Donkin, S. G., Eiteman, M. A., ve Williams, P. L.,** 1995. Toxicity of glucosinolates and their enzymatic decomposition products to *Caenorhabditis elegans*, *Journal of Nematology*, **27**(3), 258.
- El, SN.,** 2016. Beslenme Ders notları. Ege Ü. Mühendislik fak. Gıda Müh. Bölümü. 87 sayfa
- Erden, M.,** 1992. Serbest Radikaller, *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, **12**(3), 201-207.
- Erden, M., ve Bor, N. M.,** 1984. Changes of reduced glutathion, glutathion reductase, and glutathione peroxidase after radiation in guinea pigs, *Biochemia Medica*, **31**(2), 217-27.

- Ergün, A., Çolpan, İ., Yıldız, G., Küçükersan, S., Tuncer, S.D., Yalçın, S., Küçükersan, M.K., Şehu, A.** (2004) Yemler, Yem Hijyeni ve Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı. II. Baskı, Bölüm 8, 354-391 s., ISBN 975-97808-0-1.
- Esen, M.,** 2008. *Verbascum pinetorum* (Boiss.) O. Kuntze Bitki Ekstraktının Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, Mustafa Kemal Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Evans, M. D., ve Cooke, M. S.,** 2004. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids, *Bioessays*, **26**(5), 533-542.
- Gebhardt, S., ve Thomas, R.,** 2002. Nutritive Value of Foods. United States Department of Agriculture, *Agricultural Research Service, Home and Garden Bulletin*, (72).
- Gutteridge, J. M.,** 1984. Lipid peroxidation initiated by superoxide-dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide, *FEBS letters*, **172**(2), 245-249.
- Gülbağ, F.,** 2014. Türkiye’ de Süs Bitkileri Islah Çalışmaları, *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 12-15.
- Gümüşçü, A., Arslan, N., Uranbey, S., ve Çalışkan, M.,** 2013. Some morphological and agronomical characteristics of genus of Turkey: *Tchihatchewia isatidea* Boiss, *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, **3**(2), 30-37.
- Güneş, S., Savran, A., Paksoy, M. Y., Koşar, M., ve Çakılcıoğlu, U.,** 2017. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Karaisalı and its surrounding (Adana-Turkey), *Journal of Herbal Medicine*, **8**, 68-75.
- Halliwell, B., ve Gutteridge, J. M.,** 2015. Free radicals in biology and medicine, Oxford University Press, USA.
- Helrich, K.,** 1990. Official methods of Analysis of the AOAC. Volume 2, Association of Official Analytical Chemists Inc.
- Hsu, B., Coupar, I. M., ve Ng, K.,** 2006. Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, *Hyphaene thebaica*, *Food Chemistry*, **98**(2), 317-328.

- İşbilir, Ş. S.**, 2008. Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi.
- Jeong, J. B., Park, J. H., Lee, H. K., Ju, S. Y., Hong, S. C., Lee, J. R., Chung, G. Y., Lim, J. H., ve Jeong, H. J.**, 2009. Protective effect of the extracts from *Cnidium officinale* against oxidative damage induced by hydrogen peroxide via antioxidant effect, *Food and Chemical Toxicology*, **47**(3), 525-529.
- Kaewklom, S., Euanorasetr, J., Intra, B., Panbangred, W., ve Aunpad, R.**, 2016. Antimicrobial activities of novel peptides derived from defensin genes of Brassica hybrid cv Pule, *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, **22**(1), 93-100.
- Karatepe, M.**, 2004. Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC-UV, *Lc Gc North America*, **22**(4), 362-365.
- Karbownik, M., ve Reiter, R. J.**, 2000. Antioxidative effects of melatonin in protection against cellular damage caused by ionizing radiation, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **225**(1), 9-22.
- Kaya, Y., ve Aksakal, Ö.**, 2005. Distribution of endemic plants in the World and Turkey, *Journal of Education Faculty*, **7**(1), 85-99.
- Khan, H., Jan, S. A., Javed, M., Shaheen, R., Khan, Z., Ahmad, A., Safi, S. Z., ve Imran, M.**, 2016. Nutritional composition, antioxidant and antimicrobial activities of selected wild edible plants, *Journal of Food Biochemistry*, **40**(1), 61-70.
- Kjær, A.**, *Naturally derived isothiocyanates (mustard oils) and their parent glucosides*, in *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products/Progrés Dans la Chimie des Substances Organiques Naturelles* 1960, Springer. p. 122-176.
- Lazzeri, L., Tacconi, R., ve Palmieri, S.**, 1993. In vitro activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **41**(5), 825-829.
- Lin, C.-M., Kim, J., Du, W.-X., ve Wei, C.-I.**, 2000. Bactericidal activity of isothiocyanate against pathogens on fresh produce, *Journal of Food Protection*, **63**(1), 25-30.

- Maede, Y., Kuwabara, M., Sasaki, A., Inaba, M., ve Hiraoka, W.,** 1989. Elevated glutathione accelerates oxidative damage to erythrocytes produced by aromatic disulfide, *Blood*, **73**(1), 312-7.
- Manici, L. M., Lazzeri, L., Baruzzi, G., Leoni, O., Galletti, S., ve Palmieri, S.,** 2000. Suppressive activity of some glucosinolate enzyme degradation products on *Pythium irregulare* and *Rhizoctonia solani* in sterile soil, *Pest Management Science*, **56**(10), 921-926.
- Manici, L. M., Lazzeri, L., ve Palmieri, S.,** 1997. In vitro fungitoxic activity of some glucosinolates and their enzyme-derived products toward plant pathogenic fungi, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**(7), 2768-2773.
- Mason, R. P., Stolze, K., ve Flitter, W. D.,** 1990. Free radical reactions with DNA and its nucleotides, *Basic Life Sci*, **52**, 119-25.
- McCord, J. M.,** 1993. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance, *Clinical Biochemistry*, **26**(5), 351-357.
- Miller, K. W., Lorr, N. A., ve Yang, C. S.,** 1984. Simultaneous determination of plasma retinol, α -tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high-performance liquid chromatography, *Analytical Biochemistry*, **138**(2), 340-345.
- Mitchell, J. B., ve Russo, A.,** 1987. The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity, *Br J Cancer Suppl*, **8**, 96-104.
- Nakazawa, H., Genka, C., ve Fujishima, M.,** 1996. Pathological aspects of active oxygens/free radicals, *Japanese Journal of Physiology*, **46**(1), 15-32.
- Official Methods of Analysis of Association of the Official Analytical Chemists** (1990). In: Helrich K. ed. Published by the Association of Official Analytical Chemists Inc. Wilson Boulevard Arlington, Virginia 22201 USA; Fifteenth Edition, pp. 1213.
- Ombra, M. N., Cozzolino, A., Nazzaro, F., d'Acierno, A., Tremonte, P., Coppola, R., ve Fratianni, F.,** 2017. Biochemical and biological characterization of two Brassicaceae after their commercial expiry date, *Food Chemistry*, **218**, 335-340.

- Ono, H., Tesaki, S., Tanabe, S., ve Watanabe, M.,** 1998. 6-Methylsulfinylhexyl isothiocyanate and its homologues as food-originated compounds with antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **62**(2), 363-365.
- Organization, W. H., Report of a WHO meeting. 2000
- Organization, W. H., The world health report 2002. 2003
- Özsahin, A. D., Kireççi, O. A., Yılmaz, Ö., Erden, Y., Bircan, B., ve Karaboğa, Z.,** 2012. Investigating Inhibitory Effects of *Punica granatum* Fruit Extracts on Lipid Peroxidation in the Fenton Reagent Environment, *Asian Journal of Chemistry*, **24**(3), 1010.
- Papas, A. M.,** 1996. Determinants of antioxidant status in humans, *Lipids*, **31 Suppl**, S77-82.
- Paravicini, T. M., ve Touyz, R. M.,** 2008. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension, *Diabetes care*, **31**(Supplement 2), S170-S180.
- Pedras, M. S. C., ve Sorensen, J. L.,** 1998. Phytoalexin accumulation and antifungal compounds from the crucifer wasabi, *Phytochemistry*, **49**(7), 1959-1965.
- Peterson, C. J., Tsao, R., ve Coats, J. R.,** 1998. Glucosinolate aglucones and analogues: insecticidal properties and a QSAR, *Pesticide science*, **54**(1), 35-42.
- Piretti, M. V., Pagliuca, G., ve Vasina, M.,** 1987. Proposal of an analytical method for the study of the oxidation products of membrane lipids, *Analytical Biochemistry*, **167**(2), 358-61.
- Radulović, N. S., Dekić, M. S., ve Stojanović-Radić, Z. Z.,** 2012. Antimicrobial volatile glucosinolate autolysis products from *Hornungia petraea* (L.) Rchb.(Brassicaceae), *Phytochemistry Letters*, **5**(2), 351-357.
- Reiter, R. J.,** 1998. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin, *Progress in Neurobiology*, **56**(3), 359-384.
- Rosa, E., ve Rodrigues, P.,** 1999. Towards a more sustainable agriculture system: the effect of glucosinolates on the control of soil-borne diseases, *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **74**(6), 667-674.

- Salah, N. B., Casabianca, H., Jannet, H. B., Chenavas, S., Sanglar, C., Fildier, A., ve Bouzouita, N.,** 2015. Phytochemical and biological investigation of two *Diploaxis* species growing in Tunisia: *D. virgata* & *D. eruroides*, *Molecules*, **20**(10), 18128-18143.
- Southorn, P. A., ve Powis, G.,** 1988. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions, *Mayo Clinic Proceeding*, **63**(4), 381-9.
- Şen, C.,** 2011. *Hibiscus sabdariffa* L. bitkisinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Tekkes, Y.,** 2006. Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Tepe, B., Degerli, S., Arslan, S., Malatyali, E., ve Sarikurkcu, C.,** 2011. Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamoebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*, *Fitoterapia*, **82**(2), 237-246.
- Tookey, H., VanEtten, C., Daxenbichler, M., ve Liener, I.,** 1980. Glucosinolates, *Toxic Constituents of Plant Foodstuffs.*, 103-142.
- Tuzlacı, E., ve Doğan, A.,** 2010. Turkish folk medicinal plants, IX: Ovacık (Tunceli), *Marmara Pharmaceutical Journal*, **14**(1), 136-143.
- Uranbey, S., İpek, A., ve Arslan, N.,** 2008. In vitro micro-propagation of endangered ornamental plant-*Neotchihatchewia isatidea* (Boiss.) Rauschert, *African Journal of Biotechnology*, **7**(3).
- Vaca, C. E., Wilhelm, J., ve Harms-Ringdahl, M.,** 1988. Studies on lipid peroxidation in rat liver nuclei and isolated nuclear membranes, *Biochimica et Biophysica Acta* **958**(3), 375-87.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., ve Telser, J.,** 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **39**(1), 44-84.

- Wittstock, U., Kliebenstein, D. J., Lambrix, V., Reichelt, M., ve Gershenzon, J.,** 2003. Chapter five glucosinolate hydrolysis and its impact on generalist and specialist insect herbivores, *Recent Advances in Phytochemistry*, **37**, 101-125.
- Yalçın, A. S.,** 1998. Antioksidanlar, *Klinik Gelişim*, **11**(1-2), 342-346.
- Yasodomma, N., Sree, K. S., Aekhya, C., ve Binny, A. J. R.,** 2013. In-vitro antioxidant activity and quantitative analysis of total phenolic and flavonoid compounds of *Sebastiania chamaelea* Muell. Arg. Leaf Extracts, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **4**(2), 623-629.
- Yemiş, O., ve Artık, N.,** 2007. Glukosinolatlar ve insan sağlığı, *Gıda Dergisi*, **32**(6).
- Yılmaz, İ.,** 2010. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres, *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, **17**(2).
- Yu, B.P.,** 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species, *Physiological Reviews*, **74**(1), 139-62.
- Zasada, I., ve Ferris, H.,** 2004. Nematode suppression with brassicaceous amendments: application based upon glucosinolate profiles, *Soil Biology and Biochemistry*, **36**(7), 1017-1024.

ÖZGEÇMİŞ

Mürşide Gizem BİRCAN

Adres : Cumhuriyet Mh. 170. Sk. No:48/A Daire:3 Elazığ
Cep Tel : 0507 466 53 90
e-mail : gizem_kaymaz1313@hotmail.com

Kişisel Bilgiler:

Doğum yeri : Üsküdar
Doğum Tarihi :16/07/1986
Medeni Durumu : Evli

Eğitim:

Lise : İzmir Bornova Anadolu Lisesi
Üniversite : Elazığ Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümü 2004-2008
Yüksek Lisans : Elazığ Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümü 2014-2017
Yabancı Dil : İngilizce