KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÜL YAPRAĞI EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

HANNE DİLARA KÜÇÜK

KOCAELİ 2020

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÜL YAPRAĞI EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

HANNE DİLARA KÜÇÜK

Doç.Dr. Neslihan ŞAKİ		
Danışman,	**Kocaeli Üniversitesi**	.....
Prof. Dr. Asgar KAYAN		
Jüri Üyesi,	**Kocaeli Üniversitesi**	.....
Doç.Dr. Gülnur ARABACI		
Jüri Üyesi,	**Sakarya Üniversitesi**	.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 26.08.2020

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince her zaman engin bilgi ve tecrübeleriyle yanımda olan, bu süreçte bana her zaman tolerans gösteren, sabırla yardımcı olan manevi olarak hep desteğini hissettiğim değerli danışman hocam Doç. Dr. Neslihan ŞAKİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte laboratuvar çalışmalarıma tecrübeleriyle destek veren ve yol gösteren Mustafa AKIN'a, aynı laboratuvarı paylaştığımız Gamze TUFAN'a,

Her türlü maddi ve manevi desteğini esirgemeyen öncelikle sevgili babam Önder KÜÇÜK'e, annem Hilal KÜÇÜK'e, kardeşlerime ve arkadaşlarım Serpil BAĞ, Gizem GÜLER, Melike ÇAĞLAR'a,

Beni eğitimim konusunda destekleyen ve tolerans sağlayan sevgili müdürüm Buket TOPÇU'ya ve iş arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın gerçekleştirilmesinde ekonomik destek sağlayan Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) komisyonuna da ayrıca teşekkür ederim (Proje No: 2019-089).

Temmuz - 2020 Hanne Dilara KÜÇÜK

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
ŞEKİLLER DİZİNİ v
TABLOLAR DİZİNİ vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ vii
ÖZET viii
ABSTRACT ix
GİRİŞ 1
1. GENEL BİLGİLER 4
1.1. Gül Bitkisinin Genel Özellikleri 4
1.2. Gül Bitkisinden Elde Edilen Ürünler 5
1.2.1. Gül suyu 5
1.2.2. Kurutulmuş gül 6
1.2.3. Diğer ürünler 6
1.2.4. Gül yağı 6
1.3. Uçucu Yağlar 7
1.3.1. Uçucu yağ elde etme yöntemleri 7
1.3.1.1. Damıtma (distilasyon) 7
1.3.1.2. Su distilasyonu 7
1.3.1.3. Su-buhar distilasyonu 8
1.3.1.4. Buhar distilasyonu 8
1.3.1.5. Kuru distilasyon 8
1.3.1.6. Ekstraksiyon yöntemi 8
1.3.1.7. Sıkma (presleme) 9
1.4. Serbest Radikaller 9
1.4.1. Singlet oksijen ($^1O_2$) 9
1.4.2. Süperoksit (O_2*) 10
1.4.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2) 10
1.4.4. Hidroksil (OH^{*-}) 11
1.4.5. Oksidatif stres 12
1.4.6. Reaktif nitrojen türleri (RNS) 13
1.4.7. Serbest radikallerin yararları 13
1.4.8. Serbest radikallerin zararları 14
1.4.8.1. Lipitler 14
1.4.8.2. Proteinler 14
1.4.8.3. DNA 14
1.4.8.4. Karbohidratlar 14
1.5. Antioksidan Aktivite 15
1.5.1. Antioksidanların sınıflandırılması 16
1.5.1.1. Doğal antioksidanlar 17
1.5.1.2. Sentetik (doğal olmayan) antioksidanlar 20
1.5.2. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri 20
1.5.2.1. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikalinin süpürme kapasitesi 21

1.5.2.2. Metal şelatlama aktivitesi 21
1.5.2.3. Demir (III) indirgeyici antioksidan tayini (FRAP) 22
1.5.2.4. Toplam fenolik madde tayini (Folin-Ciocalteu yöntemi) 22
1.5.2.5. İndirgeme gücü kapasitesi 22
1.6. Antimikrobiyal Aktivite 23
1.6.1. Antimikrobiyal aktivite tayin yöntemleri 23
1.6.1.1. Minimum inhibitör konsantrasyonu 23
1.6.1.2. Minimum bakterisidal konsantrasyon 24
1.6.1.3. Agar disk difüzyon testi 24
1.6.1.4. Agar kuyucuk difüzyon testi 24
1.6.2. Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan mikroorganizmalar 24
1.7. Literatür Özeti 26
2. MALZEME VE YÖNTEM 30
2.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar 30
2.1.1. Kullanılan kimyasallar 30
2.1.2. Kullanılan cihazlar 30
2.2. Kullanılan Bitki Örnekleri 31
2.3. Kullanılan Mikroorganizmalar 31
2.4. Çözeltilerin Hazırlanması 31
2.4.1. DPPH radikali giderim aktivite tayini için kullanılan çözeltisi 31
2.4.2. İndirgeme kapasitesi tayini için kullanılan çözeltiler 31
2.4.3. Toplam fenolik madde miktarı tayini için kullanılan çözeltiler 31
2.5. Besiyeri Hazırlanması 32
2.5.1. Müller-Hilton besiyerinin hazırlanması 32
2.5.1.1. Sıvı besiyeri hazırlanması 32
2.5.1.2. Katı besiyeri hazırlanması 32
2.5.1.3. Suşların ayarlanması 32
2.6. Çalışmada Kullanılan Yöntemler 32
2.6.1. Gül ekstraktlarının hazırlanması 32
2.6.2. Antioksidan aktivite belirleme yöntemleri 33
2.6.2.1. DPPH (2,2 Difenil-1-pikrilhidrazil) radikali süpürme kapasitesi 33
2.6.2.2. İndirgeme kapasitesi tayini 33
2.6.2.3. Toplam fenolik madde tayini 33
2.6.3. Antimikrobiyal aktivite belirleme yöntemi 34
2.6.3.1. Disk difüzyon yöntemi 34
3. BULGULAR VE TARTIŞMA 35
3.1. Antioksidan Aktivite Tayini Bulguları 35
3.1.1. DPPH radikal süpürücü tayin yöntemi 35
3.1.2. İndirgeme gücü tayini 37
3.1.3. Toplam fenolik madde tayini 39
3.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Bulguları 41
3.2.1. Disk difüzyon yöntemi 41
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 44
KAYNAKLAR 46

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER 51
ÖZGEÇMİŞ 52

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Pembe ve beyaz rosa damascena 4
Şekil 1.2. Antioksidanların sınıflandırılması 16
Şekil 1.3. Askorbik asit (C vitamini) yapısı 18
Şekil 1.4. α-tokoferol kimyasal yapısı 19
Şekil 1.5. β-karotenin kimyasal yapısı 19
Şekil 1.6. DPPH radikali ve indirgenmiş formu 21
Şekil 1.7. Demir (III) tripridiltriazin'in, demir (II) tripridiltriazin şelatına indirgenmesi 22
Şekil 1.8. Staphylococcus aureus 25
Şekil 1.9. Escherichia coli 25
Şekil 1.10. Bacillus subtilis 26
Şekil 1.11. Bacillus cereus 26
Şekil 3.1. Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi 35
Şekil 3.2. Tokoferol, pembe gül ve beyaz gülün indirgeme güçleri 38
Şekil 3.3. Gallik asit standart grafiği 39
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyondaki ekstraktların toplam fenolik madde tayini 40
Şekil 3.5. Bitki ekstraktlarının oluşturduğu inhibisyon zonları 42

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Temel antioksidan kaynakları 15
Tablo 1.2. Antimikrobiyal tayin testlerinde kullanılan bazı mikroorganizmalar ve gram özellikleri 25
Tablo 3.1. Trolox, pembe gül ve beyaz gülün % giderim aktiviteleri 35
Tablo 3.2. Tokoferol, pembe gül ve beyaz gülün indirgeme güçleri 37
Tablo 3.3. Bitki ekstraktlarının toplam fenol içerikleri 39
Tablo 3.4. Beyaz gül için antimikrobiyal aktivite tayin sonuçları (mm) 41
Tablo 3.5. Pembe gül için antimikrobiyal aktivite tayin sonuçları (mm) 42

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

H_2O_2 : Hidrojen peroksit
H_2O_2 : Hidrojen peroksit
O_2 : Oksijen
O_2^- : Süperoksit
$OH^{\cdot -}$: Hidroksil radikali

Kısaltmalar

ATP : Adenozin Trifosfat
BHA : Butillendirilmiş hidroksianisol
BHT : Bütillendirilmiş Hidroksitoluen
CAT : Katalaz
DNA : Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH : 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil
FRAP : Demir (III) İndirgeyici Antioksidan Tayini
GR : Glutatyon Redüktaz
GSH-PX : Glutatyon Peroksidaz
GSSG : Glutatyon Redüktaz
GST : Glutatyon S-Transferaz
MİK : Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
NADPH : Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
RNS : Reaktif Nitrojen Türleri
ROS : Reaktif Oksijen Türleri
SOD : Süperoksit dismutaz
TPTZ : Tripridiltriazin

GÜL YAPRAĞI EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Günümüzde yeni tedavi veya ilaçların geliştirilmesi için doğal kaynakların büyük önemi vardır. Bu sebeple araştırmacılar farklı doğal kaynaklar arayışına girmekte, bitki ve baharatların içerikleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır. *Rosa Damascena* Mill. (Şam Gülü), hoş kokuya sahip, endüstriyel, kozmetik, peyzaj ve farmasötik alanda yaygın olarak kullanılan bir bitkidir. Sahip olduğu uçucu yağın antioksidan, antimikrobiyal, antifungal etkileri bilinmektedir. Bitkinin yetiştiği bölgenin iklim şartları ve toprak yapısı gibi etkenler sebebiyle sahip olduğu esansiyel yağın içeriğinin değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Böylece farklı yerlerde yetişen gül bitkisinin gösterdiği özellikler de değişiklik göstermektedir. Bu çalışmada kurutulmuş olarak elde edilen beyaz ve pembe gül yapraklarının antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri incelendi. Antioksidan aktivite tayini için DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürücü yöntemi, indirgeme kapasitesi tayini ve total fenolik madde tayini olmak üzere 3 farklı yöntem kullanıldı. En yüksek giderim aktivitesi %63,76 ile 100 mg/ml konsantrasyonunundaki pembe gül ekstraktında, en düşük aktivite ise %0,87 ile 5 mg/ml konsantrasyonunundaki beyaz gül ekstraktında görüldü. İndirgeme gücü tayininde bitki ekstraktları standarta yakın sonuçlar gösterdi, total fenolik madde tayininde ise en yüksek sonuç 32.81 mgGAE/g ile 100 mg/ml beyaz gül ekstraktında, en düşük sonuç ise 5 mg/ml pembe gül ekstraktında 2.17 mgGAE/g olarak elde edildi. Gül yapraklarının antimikrobiyal aktiviteleri ise disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Bu yöntem için 1 gram negatif ve 3 gram pozitif bakteri kullanıldı. Pembe gül denemelerinde Staphylococcus aureus ve Escherichia coli bakterilerinde, beyaz gül denemelerinde ise Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Bacillus cereus bakterilerinde inhibisyon zonu gözlemlendi. En yüksek inhibisyon zonu 21 mm, en düşük inhibisyon zonu ise 4 mm olarak ölçüldü. Sonuç olarak kurutulmuş gül yapraklarının antioksidan ve antimikrobiyal ajan olarak kullanılabinecek alternatifler oldukları sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal Aktivite, Antioksidan Aktivite, Kurutulmuş Gül, Rosa Damascena.

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF ROSE LEAF EXTRACTS

ABSTRACT

Today, natural sources are of great importance for the development of new treatments and drugs. For this reason, researchers are looking for different natural sources, and studies are carried out on the contents of herbs and spicies. *Rosa Damascena* Mill. (Damascus Rose) is a plant with a pleasant smell, widely used in industrial, cosmetic, landscape and pharmaceutical field. The antioxidant, antimicrobial and antifungal effects of its essential oil are known. It is known that the content of the essential oil it has varies due to reasons such as climate conditions and soil structure of the region where the plant grows. Thus, the characteristics shown by the rose plant growing in different places also vary. In this study, the antioxidant and antimicrobial activities of white and pink rose leaves obtained as dried were investigated. DPPH (2,2 diphenyl-1- picrylhydrazyl) radical scavening method, reducing capacity determination and total phenolic content method were used for antioxidant activity determination. The highest scavening activity with 63.76% was observed in the pink rose extract with a concentration of 100 mg/ml and the lowest activity with 0.87% was in the white rose extract with a concentration of 5 mg/ml. Plant extracts showed close results to the standard in the determination of reducing power. The highest result in the determination of total phenolic content was obtained in 32.81 mgGAE/g with 100 mg/ml white rose extract and the lowest result was 2.17 mgGAE/g in 5 mg/ml pink rose extract. Antimicrobial activities of rose leaves were determined by disc diffusion method. For this method, 1 gram negative and 3 gram positive bacteria were used. Inhibition zone was observed in Staphylococcus aureus ve Escherichia coli bacteria in pink rose studies, and Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Bacillus cereus bacteria in white rose studies. The highest inhibition zone was 21 mm and the lowest inhibition zone was 4 mm. As a result, it was concluded that dried rose leaves are alternatives that can be used as antioxidants and antimicrobial agents.

Keywords: Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity, Dried Rose, Rosa Damascena.

GİRİŞ

Günümüzde bitki ve baharat esansiyel yağları ile yapılan çalışmalar farmasötik alanda oldukça önem arz etmektedir. Piyasada bilinen geliştirilmiş birçok ilaç ve tedaviye canlı metabolizmasının bir süre sonra bağışıklık kazandığı veya kazanabileceği bilinmektedir. Bu sebeple mevcut ilaç ve tedavilere alternatif olacak birçok doğal kaynaklı bileşen arayışı mevcuttur. Böylece günümüzde bu ihtiyaca yönelik çeşitli çalışmalar yapılmakta ve doğal kaynaklardan elde edilen ekstraktların kimyasal bileşenleri sayesinde kullanılabilecek alternatifler oldukları düşünülmektedir. *Rosa* Damascena Mill. (-Damask Rose- Rosaceae familyasına ait bir tür), ülkemizde Isparta ilinde yetişen, hoş kokulu bir bitkidir. Sahip olduğu güzel koku yapısındaki uçucu yağ içeriğinden gelmektedir. Endüstriyel alanda geçmişten günümüze parfüm üretiminde, arındırıcı ve nemlendirici etkilerinden dolayı da cilt bakım ürünlerinde kullanımı mevcuttur. Gül bitkisi uçucu yağ içeriğinin canlı biyosistemi üzerindeki etkisinin bunlarla da sınırlı olmadığı bilinmektedir. Farklı ülkelerde yetişen Rosa Damascena bitkisinin uçucu yağ içeriğinin farmasötik alanda antioksidan, antimikrobiyal, antifungal özelliklerini değerlendiren birçok çalışma vardır (Boskabady ve diğ., 2011; Shohayeb ve diğ., 2014; Baydar ve Baydar, 2015; Balouiri ve diğ., 2015).

Rosa Damascena ekstraktlarının fenolik bileşenlere, terpenlere ve nonterpenoid hidrokarbonlara sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşenler başlıca terpenler grubuna ait olan geranilol, linalol, nerol ve büyük bir fenolik grup olan fenil etil alkol olarak sıralanmaktadır. Ayrıca bitki içeriğinde değişen miktarlarda A, B1, B2, B3, C ve K vitaminleri, sitrik asit, malik asit, pektin, tanin ve karotenoid bileşenlerinin mevcut olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalar farklı bölgelerde yetişen gül bitkisinin içeriğindeki bileşen miktarlarında da farklılık olduğunu ortaya koymaktadır. Böylelikle farmasötik alanda incelenecek olan gül bitkisinin yetiştiği bölgelere göre farklı aktiviteler de gösterebileceği bilinmektedir (Boskabady ve diğ., 2011, Nayebi ve diğ., 2017). Bitki kaynaklı bu kimyasal bileşenler canlı sistemde de birçok önemli etkiye sahiptir. Fenolik bileşiklerin serbest radikaller üzerindeki inhibisyon etkisi yapılan birçok çalışma ile ortaya konmuştur. Serbest radikaller canlı sistemde gerçekleşen reaksiyonlar sonucu oluşabilen ya da solunum yoluyla canlı biyosistemine

alınan ve hücre veya dokularda tahribata yol açabilen moleküllerdir. Bitki içeriğindeki bu kimyasal bileşenler serbest radikallerle etkileşime girmekte ve inhibisyona uğratarak meydana gelebilecek hasarı engellemektedir. Bu şekilde serbest radikallerin inhibisyonuna sebep olan moleküller antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Antioksidanlar - veya antioksidan ajanlar -, kolay modifikasyona uğrayabilen yükseltgenebilir moleküllerdir ve insan biyosisteminde üretilebilirler. Ancak; canlı sistem serbest radikallerin oluşturduğu tahribatı onarmak veya engellemek için dışardan antioksidan takviyesine ihtiyaç duymaktadır. Bu sebeple doğal kaynaklardan antioksidan alımı çok önemlidir. Bitkiler ve baharatlar önemli antioksidan kaynaklarındandır ve sahip oldukları uçucu yağların antioksidan ajan olarak kullanılmak üzere iyi bir alternatif olduğu bilinmektedir. Antioksidan aktivitelerinin tayini ise birçok farklı yöntem ile yapılabilmektedir. Literatürde mevcut yirmiden fazla metot vardır. Bir bileşiğin antioksidan ajan olabileceğini vurgulayabilmek için bu yöntemlerden en az ikisi incelenmelidir. Çünkü bir yöntemde düşük aktivite gösteren bileşen diğer yöntemde yüksek sonuçlar verebilmektedir. Her çalışma sonunda bileşen, literatürdeki antioksidan olarak kabul edilmiş standart ile karşılaştırılıp, aktivitesi değerlendirilmektedir (Valko ve diğ., 2006; Debnaht ve Naht, 2014; Yavaşer, 2011).

Günümüzde doğal kaynaklardan elde edilen kimyasal bileşenler mevcut bazı patojen veya patojen olmayan mikrobiyallere karşı da direnç göstermektedir. Geçmişten günümüze birçok bitki, tedavi amacıyla ya da ilaçların geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Ancak; yaygın antibiyotik kullanımın sonucunda mikrobiyal türlerin halihazırda bilinen ilaçlara bağışıklık kazanması, araştırmacıları doğal ve bitki kaynaklı yeni antioksidan ve antimikrobiyal ajan arayışına itmektedir (Cerit, 2008). Bu ihtiyaçtan dolayı özellikle bitki ve baharat uçucu yağları üzerine birçok çalışma yapılmaktadır. Gül bitkisinin de antimikrobiyal ajan olmak üzere alternatif olarak kullanılabileceği adına birçok çalışma yapılmış ve yapılmaktadır. Bu çalışmalar gül bitkisinden elde edilen kimyasal bileşenlerin hangi mikroorganizmaya nasıl tepki verdiğini ortaya koyan spesifik çalışmalardır. Antimikrobiyal ajan olarak davranacağı düşünülen bileşen, bakteri ile muamele edilerek onun çoğalmasını inhibe etmekte veya bakteri öldürücü etki göstermektedir. Antimikrobiyalin etkisi bakteri oluşumunu engellediği alanın çapına göre değerlendirilmektedir. Her mikroorganizma için

aktivite tayini ayrı ayrı yapılmaktadır. Böylelikle her mikroorganizmanın yol açtığı hastalıkların tedavisinde alternatif olarak kullanılabilmektedir (Baydar ve Baydar, 2015; Diler ve Genç, 2014; Özkan ve diğ., 2004; Basım, 2004; Akar ve Bulut, 2013).

Çalışmamızda, pembe ve beyaz Rosa Damascena bitkisinin etanol ekstraktları hazırlanarak antioksidan aktiviteleri üç farklı yöntem ile saptanmış ve literatürdeki standartlar ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca gram pozitif ve gram negatif bakteriler kullanılarak her iki bitkinin de antimikrobiyal aktivite tayinleri gerçekleştirilmiştir.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Gül Bitkisinin Genel Özellikleri

Rosa Damascena Mill. (-Damask Rose- *Rosaceae* familyasından bir bitki) şam gülü veya yağ içeren gül olarak da bilinen en önemli aromatik bitkilerden biridir (Şekil 2.1). Türkiye Bulgaristan'la beraber endüstriyel alanda kullanılmak üzere R. Damascena yetiştiren ve sağlayan dünyadaki en önemli ülkelerden biridir. R. Damascena uçucu yağ üretimi için en yaygın olarak kullanılan gül çeşitlerindendir ve bahçe gülü olarak yaygın bir şekilde yetiştirilmektedir. Güçlü bir kokuya sahip olan bu bitki Çin, Hindistan, Libya, Güney Fransa, İtalya, Kuzey Rusya ve Ukrayna gibi ülkelerde yetiştirilebilir (Baydar ve Baydar, 2013; Pal, 2013; Nunes ve Miguel, 2017).



Şekil 1.1. Pembe ve beyaz *Rosa Damascena*

Evlerde, bahçelerde, parklarda süs olarak yetiştirilmesinin yanı sıra parfümler için esansiyel olarak, ilaç ve besin endüstrisinde kullanılmak üzere yetiştirilen bir bitkidir (Boskabady ve diğ., 2011). Türkiye ve Bulgaristan'da endüstriyel amaçla yetiştirilen bu bitki dik bir çalı şeklinde 2,5 metre yüksekliği aşabilir ve Mayıs-Haziran aylarında yılda bir kez çiçek açabilir, çiçekleri ise renkli (pembe, kırmızı) parlak ve yaklaşık 30 civarı yaprağa sahip çiçeklerdir (Nunes ve Miguel, 2017). Bir asrı aşan süredir gül yağı ve ürünlerinin üretiminde dünyanın önemli bir merkezi olan Isparta yöresinde, gül bitkisinin çiçeklerinden gül yağı ve gül suyu, n-heksan ekstraksiyonu ile konkret, konkretin alkol ile ekstraksiyonu sonucu ise absolüt elde edilmektedir. Elde edilen bu ürünler gıda, ilaç, parfüm ve kozmetik endüstrisinin önemli hammaddeleri olarak

kullanılmaktadır, eski tıpta ise göğüs ve kas ağrılarının iyileşmesinde, menstrual kanama ve sindirim problemlerinde, boğaz iltihaplanmalarının iyileştirilmesinde tedavi edici olarak kullanılmıştır (Baydar ve Baydar, 2015). Ayrıca gül yağı depresyon, sinir ve stresi iyileştiren, susuzluğun azaltılmasına yardımcı olan, öksürük, migren, alerji, baş ağrısı gibi durumlarda iyileştirici özelliğe sahip ve özellikle cilt sağlığı ve bakımı, yaraların iyileşmesi için de tedavi edici olarak kullanılan önemli bir bitkidir. Gül yağıyla buhar terapisi bazı alerjik durumların ve migrenin iyileşmesine yardımcı olur. Bilinen bu kullanımlarının yanı sıra son zamanlarda bu ekstraktların antioksidan, antiradikal, antimikrobiyal ve antifungal özelliklerini belirleyebilmek adına da birçok çalışma yapılmaktadır (Boskabady ve diğ. 2011; Shohayeb ve diğ., 2014; Baydar ve Baydar, 2015).

Rosa Damascena bitkisinin yetişmesi için gerekli olan şartlar şöyle sıralanabilir:

- Söz konusu bitkinin en sevdiği mevsim ilkbahar sonlarıdır. Ilıman iklimin olduğu bölgelerde yetişmektedir. Ülkemizde yetiştiği yer olan Isparta yaz ve kış mevsimlerinde çok soğuk ve çok sıcak havaların yaşanmadığı geçit iklim bölgesidir.
- Toprak açısından derin ve kumlu toprakları sever. Ekim yapılacak toprağın organik maddelerce zengin olması ve havanın hafif nemli olması verimi artırmaktadır.
- Arazi olarak iyi güneş alan alanlar Rosa Damascena bitkisinin yetişmesi için uygundur. Arazinin bol rüzgâr değil de hafif hafif rüzgâr alan bir yer olması yağ veriminde 40%'a kadar artış sağlamaktadır (Kürkçüoğlu, 1988; Kınacı ,2005).

1.2. Gül Bitkisinden Elde Edilen Ürünler

Dünya çapında gül bitkisinden elde edilen birçok ürün vardır. En önemlileri ise aşağıda verilmiştir.

1.2.1. Gül suyu

Gül suyu, taze gül yapraklarının (*Rosa Damascena*) distilasyonuyla ile elde edilen bir sıvı preparattır. Alternatif olarak kurutulmuş gülden veya farklı gül türlerinden de elde edilebilir. Bazı endüstriyel şirketler gül suyu eldesinde gül yağını kullanabilirler. Bu

prosedüre göre gül yağı (%0.02- %0.05) basitçe damıtılır, su ile seyreltilir ve bir miktar koruyucu eklenir.

Gül suyu; parfümlerin bir bileşeni olarak kullanılmasının yanı sıra orta doğu kültüründe yemeklerde, cilt temizleme sıralamasında tonik temizleyici olarak ve dini törenlerde ise yasta insanları sakinleştirmek ve rahatlatmak için kullanılır (Agarwal ve diğ., 2005; Verma ve diğ., 2011; Boskabady ve diğ., 2011; Pal, 2013).

1.2.2. Kurutulmuş gül

Yemeklerden sonra sindirime yardımcı olması için tüketilebilir ancak; çoğunlukla ihracat için ya da tüm çiçekler damıtma esnasında kullanılmadıysa sonra damıtma yapabilmek için kurutulur (Boskabady ve diğ., 2011).

1.2.3. Diğer ürünler

Gül yapraklarından elde edilen diğer ürünler ise hidrosol, absolüt veya bitkinin yaprak ve tohumlarından elde edilebilen etanolik, sulu veya kloroformik ekstraktlarıdır. Gül yağı ile kıyaslandıklarında hidrosol ve absolütler daha az pahalıdır. Etanolik, kloroformik ve sulu ekstraktlar ise araştırma amaçlı hazırlanıp kullanılabilir (Boskabady ve diğ., 2011).

1.2.4. Gül yağı

Taze gül yapraklarının damıtılmasıyla elde edilen uçucu yağlardır. Gül yağı bilimsel koşul ve kontroller altında büyük fabrikalarda, bakır-alüminyum damıtıcılarda hazırlanır. Küçük miktarlarda gül yağının eldesi için yaklaşık 3000 gül yaprağı toplanır. Damıtma sonunda sarı, soluk ve yarı katı bir yağ elde edilir. Normal sıcaklıklarda elde edilen yağ %15-20 oranında katı içerir ve bu kısımda kokusuz stearopten içeren doymuş alifatik hidrokarbon (C14-C23 parafin) vardır. Gül yağı, parfümeride geniş çaplı bir kullanım alanına sahiptir ve çoğu modern parfüm ve kozmetik ürünlerinin ana bileşenlerinden biridir. Gül yağının kozmetik alanda kullanımının yanı sıra, büyük ölçüde antimikrobiyal antioksidan anti-enfektif ve anti-inflamatuvar gibi insan sağlığını olumlu yönde etkileyecek etkileri de ortaya konmuştur. Gül yağı ekstraksiyonunun yan ürünleri gıda endüstrisinde antioksidan

veya antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilmektedir (Boskabady ve diğ. 2011; Pal, 2013; Nunes ve Miguel, 2017).

1.3. Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar (eterik yağ, esans) genelde su veya buhar distilasyonu yöntemleri ile bitkilerden elde edilen, normal koşullarda sıvı olan, spesifik kokuları, tatları olan uçucu ve yağımsı ikincil metabolitlerdir. Sudan daha hafif olduklarından su ile karıştıklarında yüzeyde kalırlar ve varsa yapıdaki oksijenli bileşikler su ile karışım hazırlandığında çözünerek aromatik sular da hazırlanabilir (Kürkçüoğlu, 1988; Kıneci, 2005; Geylani, 2004). Bitki uçucu yağların kimyasal olarak yapılarının büyük bir bölümünü terpenler oluşturmaktadır. Bunun dışında yapılarında az miktarlarda alkol, aldehit, ester, fenol, azot ve kükürt içeren bileşikler de bulunur. Kırılma indisleri oldukça yüksektir ve optikçe aktiftirler. Bu sayede kırılma indisi ve polarize ışığı çevirme açısındaki farklılıklar takip edilerek uçucu bir yağın saflığının bozulup bozulmadığı tayin edilebilir (Kıneci, 2005; Kılıç, 2008; Çelik ve Çelik, 2007). Uçucu yağın tadı ve kokusu uçucu yağın içinde bulunan oksijenli bileşiklerden (aromatik bileşikler) gelir (Kıneci, 2005).

1.3.1. Uçucu yağ elde etme yöntemleri

Bitki uçucu yağları bitkinin yağ keseciklerinde veya yağ bezlerinde bulunur. Uçucu yağ dayanıklı ise damıtma (distilasyon) yöntemi kullanılırken, dayanıklı olmayan uçucu yağlar alçak basınç altında distillenirler ancak; bu durum maliyetli olduğundan çeşitli çözücülerle ekstraksiyon yapılabilir (Kıneci, 2005). Bu çalışmada kullanılan gül yağı çözücü ile ekstrakte edilmiştir.

1.3.1.1. Damıtma (distilasyon)

En çok kullanılan yöntemdir. Homojen bir karışımdaki bileşenlerin buhar basıncı farklarından yararlanılarak yapılan bir ayırma işlemidir. 3 farklı şekilde uygulanır.

1.3.1.2. Su distilasyonu

Eğer kullanılacak bitki kaynatılma ile bozulmuyorsa bu yöntem tercih edilir. Bu damıtma işlemi sonucunda hem aromatik su hem de uçucu yağ elde edilir. Uçucu

yağların kaynama noktaları suyun kaynama noktasına göre daha yüksektir ancak, uçucu yağlar su buharı ile sürüklenebilecek yapıdadırlar. Su ile taşınan uçucu yağ soğuk cam çeperlerine çarparak yoğunlaşır ve sıvı olarak toplama kabında birikir. İşlem sonunda toplama kabında toplanan uçucu yağ miktarı volumetrik olarak kaydedilir (Kürkçüoğlu, 1988; Geylani, 200; Kıneci, 2005).

1.3.1.3. Su-buhar distilasyonu

Yöntem kaynama noktası farkına dayanır. Kaynama noktası yüksek olan maddeleri, kaynama noktası düşük ya da uçucu olmayan maddelerden ayırmak için kullanılır. Bu yöntemde, su- bitki karışımı bulunan bir kap üzerine basınç yardımıyla su buharı uygulanır, basınç ve sıcaklığın etkisiyle bitkideki uçucu yağ açığa çıkar. Buharlaşan su ise yağ damlacıklarını beraberinde toplama kabına sürükler (Kürkçüoğlu, 1988; Kılıç, 2005).

1.3.1.4. Buhar distilasyonu

Taze bitkiye direk uygulanan bir yöntemdir. Bitki üzerine buhar basıncı verilerek uçucu yağların toplama kabında birikmesi amaçlanır (Kılıç, 2005).

1.3.1.5. Kuru distilasyon

Bu distilasyon yönteminin esası özel çelikten yapılmış imbikler içinde toplanan bitkinin, havayla temas etmeden yüksek sıcaklıkta ısıtılmasına dayanır. Bu işlem sonunda uçucu olan maddeler soğutucudan geçirilerek toplama kabında birikir (Geylani, 2004).

1.3.1.6. Ekstraksiyon yöntemi

Ekstraksiyon yöntemi karışımdaki etken maddenin bir fazdan diğer faza geçmesi işlemidir. Ekstraksiyon işlemi için uygun solventin seçilmesi çok önemlidir. Ayrıca ekstraksiyon işleminde etken maddenin kimyasal ve fiziksel özelliklerine uygun şartlar sağlanmalıdır. Böylece bitkisel materyalden etken maddenin izolasyonu gerçekleştirilir. En çok kullanılan ekstraksiyon yöntemi çözücü ile ekstraksiyondur (Geylani, 2004; Kılıç 2005). Bu yöntemde bitki oda sıcaklığında solvent ile muamele edilebileceği gibi, bir sokslet içerisinde çözücü ile kaynatılabilir. Bu işlemde çözücü

olarak etanol, hekzan, eter, pentan, diklorometan ve benzen gibi çözücüler kullanılabilir. Çözücünün kaynama noktasının düşük olması ve kolay bulunabilir olması önemlidir. Bu yöntem ısıya duyarlı ve damıtma ile elde edilemeyecek kadar küçük miktarlardaki yağların eldesi için kullanılır. Bu işlem sonucunda çözücünün uçurulmasından geriye kalan yarı katı ürüne 'konkret' denir. Konkretin içeriğinde sabit yağ, uçucu yağ, mumlar ve renk pigmentleri bulunur. Konkretin alkol ile muamele edilmesinin ardından sadece kokulu bileşikler elde edilir. Elde edilen bu madde ise 'absolü' (öz) olarak adlandırılır (Geylani, 2004; Kıneci, 2005; Kılıç 2005).

1.3.1.7. Sıkma (presleme)

Turunçgiller familyasına uygulanır. Esans bu meyvelerin kabuklarında bulunur ve buradaki uçucu yağ damıtma ile bozulmaktadır. Bu nedenle meyve kabukları bez torbaya konulup soğuk hidrolik preslerde sıkılarak esans elde edilir (Kılıç, 2005).

1.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller en dış yörüngelerinde ortaklaşmamış elektronu bulunan, genellikle kararsız ve oldukça reaktif moleküllerdir (Bardakçı, 2017). Oksijen insan hayatı için kaçınılmaz bir elementtir. Canlı sistemde oksijen hücrelerde enerji üretimi için kullanılırken, mitokondri tarafından da serbest radikaller üretilir (Shinde ve diğ., 2012). Oksijen-serbest radikalleri -reaktif oksijen türleri- (ROS) atmosferde kirletici olarak bulunabildikleri gibi canlı sistemde gerçekleşen çeşitli reaksiyonların yan ürünleri olarak da üretilirler. Bu radikaller canlı sistemde yüksek miktarda bulunduklarında membran lipitlerine, protein ve nükleik asitlere genel olarak hücre yapısına zarar vererek oksidatif strese yol açabilirler (Valko ve diğ., 2006). Serbest radikallerin zararları olduğu gibi yararları da gözlemlenmiştir. (Karabulut ve Gülay, 2016). Radikalik olan ve olmayan en önemli serbest radikaller şu şekilde sıralanabilir.

1.4.1. Singlet oksijen ($^1O_2$)

Elektron taşıma sistemindeki moleküler oksijenin, ışıkla uyarılması sonucu açığa çıkabilen formudur. Ayrıca bazı serbest radikallerin indirgenmesi için hücrelerde üretilen miyeloperoksidaz enziminin katalizlediği reaksiyonlar dizisi sonucunda da $^1O_2$ oluşabilmektedir. Diğer bir yol ise NADPH'ın oksidasyonu süresince meydana

gelen reaksiyonların sonucunda oluşmaktadır. Oksijenin bu formu oldukça elektrofiliktir ve doymamış karbon-karbon bağlarına atak yaparak kimyasal bileşenlerin formunu bozmakta ve doğal reaksiyonlarını engellemektir (Fang ve diğ., 2002; Obeagu, 2018).

$$2O_2 + NADPH \longrightarrow 2O_2^{*-} + NADP^+ + H^+ \quad (1.1)$$

$$2O_2^{*-} + 2H \longrightarrow H_2O_2 + {}^1O_2 \quad (1.2)$$

$$2O_2^{*-} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2 \quad (1.3)$$

$$H_2O_2 + Cl^- \longrightarrow H_2O + OCl \quad (1.4)$$

$$H_2O_2 + OCl \longrightarrow {}^1O_2 + H_2O + Cl^- \quad (1.5)$$

1.4.2. Süperoksit (O_2*)

Süperoksit anyonu ya metabolik süreçler sonucu ya da oksijenin fiziksel olarak ışıkla uyarılması sonucu açığa çıkar. Direk olarak polipeptit, şeker veya nükleik asitlerle reaksiyona girmez, önce dismutasyona uğrar (Valko ve diğ., 2006). Fizyolojik koşullar altında vücut tarafından tüketilen O_2 %1 ila %3 arasında süperoksit veya diğer ROS türlerine dönüştürülür (Fang ve diğ., 2002).

$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{*-} \quad (1.6)$$

Metal atomlarının yükseltgenmesi ile süperoksit radikali oluşur.

$$O_2 + Fe^{+2} \longrightarrow Fe^{+3} + O_2^{*-} \quad (1.7)$$

$$O_2 + Cu^+ \longrightarrow Cu^{+2} + O_2^{*-} \quad (1.8)$$

1.4.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit canlı sistemler için kuvvetli bir sitotoksik maddedir. O_2'nin süperoksit dismutaz (SOD), asetil koenzim A oksidaz, ürik asit dismutaz, D-amino asit oksidaz gibi enzimler tarafından 2 e^- indirgenmesi ile oluşur ve hafif oksitleyici veya hafif indirgeyici ajan olarak kullanılabilir. Hidrojen peroksit biyolojik membranlara

etki ederken büyük biyolojik moleküllere (lipitler, DNA ve proteinler) kolaylıkla etki etmez (Halliwell ve diğ.,. 2000; Fang ve diğ., 2002).

$$2O_2^{*-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2 \quad (1.9)$$

1.4.4. Hidroksil (OH^{*-})

Süperoksit radikali Fe^{+2} katalizörlüğünde H_2O ile reaksiyona girdiğinde hidroksil radikalini oluşturur Bu reaksiyona "Haber-Weiss reaksiyonu" denir. Ayrıca H_2O_2'nin canlı sistemde Fe^{+2} ve Cu^+ gibi geçiş metalleri ile verdiği "fenton reaksiyonu" sonucu da hidroksil radikali oluşur. Bu metal iyonları süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek tekrar kullanılabilir hale gelir. Hidroksil radikalleri biyomoleküllerle kuvvetli bir şekilde reaksiyona girerek canlı sisteme büyük hasarlar verebilir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Fenton reaksiyonu:

$$H_2O_2 + Fe^{+2}/Cu^+ \longrightarrow OH^{*-} + OH^- + Cu^{+2}/Fe^{+3} \quad (1.10)$$

$$Cu^{+2}/Fe^{+3} + O_2^* \longrightarrow Cu^+/Fe^{+2} + OH^{*-} \quad (1.11)$$

Haber-Weiss reaksiyonu:

$$O_2^* + H_2O \xrightarrow{Fe+2} O^2 + OH^{*-} + OH^- \quad (1.12)$$

Serbest radikaller endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere ikiye ayrılır. Eksojen kaynaklı serbest radikaller radyasyon, ilaçlar, toksinler ve ksenobiyotikler gibi canlı sisteme dışarıdan alınan kaynaklardır. Endojen kaynaklı serbest radikaller ise aşağıda sıralanmıştır;

Mitokondri: Mitokondri, ROS üretimi için hayati bir kaynaktır. Fizyolojik koşullarda, solunum zinciri aracılığıyla ATP üretimi için moleküler haldeki oksijen iki tane su molekülüne indirgenmektedir. Bu enerji dönüşümünde zamanından önce sızan oksijen molekülleri dönüşümlerini tamamlayamadıkları için bu sürecin sonunda %1-2 civarında süperoksit anyon radikali açığa çıkmaktadır. Süperoksit radikalleri kimyasal aktivite açısından nispeten zayıftır. Membran lipitlerinden geçemez ve süperoksit dismutaz (SOD) tarafından hidrojen peroksite çevrilmektedir. Yine de hidrojen

peroksit oluşumu birçok kimyasal olarak aktif molekülün oluşmasına neden olmaktadır. Örneğin fenton reaksiyonu sonucu demir ile hidrojen peroksitin etkileşiminden hidroksil serbest radikali açığa çıkmaktadır (Obeagu, 2018).

Hücresel Oksitlenme: Mitokondriyel solunum zinciri süperoksit serbest radikalinin ana kaynağı olsada, bu serbest radikal normal koşullar altında sayısız farklı oksidasyon sonucu açığa çıkabilmektedir. Bu oksidasyonların ikisi NAD(P)H (NOX ailesi) ve Ksantin oksidazdır (XO) tarafından gerçekleşmektedir. NOX enzimleri limfosit, fibroblast, endotelyal hücreler, miyositler ve kondrositlerde üretilmekte olup ROS üretiminin miktarını azatlmakta ve mikrobiyal saldırılara ve enfeksiyonlara karşı düzenleyici rol oynamaktadırlar. Ksantin oksidaz, süperoksit anyonunun bir diğer kaynağıdır. Hipoksik koşullar altında sitozolde bulunmaktadır. Fizyolojik koşullarda enzim ksantin oksidoredüktaz dehidrojenaz formundadır ancak hipoksi sırasında oksidaz forma dönüştürülmekte ve oksijen elektron alıcısı olarak kullanılmakta süperoksit ve hidrojen peroksit üretilmektedir (Obeagu, 2018).

Metal Katalizli Reaksiyonlar: Hidroksil radikali güçlü bir oksitleyici ajan olarak bilinmekte ve organik moleküllerle reaksiyona girmektedir. Fe+2/Fe+3 veya Cu+/Cu+2 varlığında veya bu metallerle serbest radikallerin verdikleri 'Haber-Weiss' ve 'Fenton' reaksiyonları sonucu ise hidroksil radikali açığa çıkmaktadır (Obeagu, 2018; Victor ve diğ., 2004).

Miyeloperoksidaz: Miyeloperoksidaz esas olarak nötrofillerde, düşük miktarlarda da monosit ve eozinofillerde bulunmaktadır. Miyeloperoksidaz katalizörlüğünde H2O2, klorür ile reaksiyona girerek bir başka serbest radikal olan hipoklöröz asiti oluşturmaktadır (Obeagu, 2018; Valko ve diğ., 2006).

$$H_2O_2 + Cl^- \longrightarrow HClO + OH^{*-} \quad (1.13)$$

1.4.5. Oksidatif stres

Normal bir hücrede serbest radikallerin üretilmesi ve uzaklaştırılması belirli bir dengededir ancak; vücuttaki antioksidan seviyesinin azalması ile bu denge değişebilmektedir. Bu durum 'oksidatif stres' olarak adlandırılmakta ve stres uzun süreli ve çok büyükse hücreyi hasara uğratmaktadır. Oksidatif stres kanser, eklem

rahatsızlıkları, yaşlanma, otoimmün hastalıklar, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıkların baş göstermesinde büyük rol oynamaktadır. Canlı sistem sentezlediği veya dışardan takviyeler ile alınan antioksidanlar ile oksidatif stresi engellemektedir. Endojen ve eksojen antioksidanlar serbest radikal olarak temizleyici olarak davranarak vücudun bağışıklık savunmasını güçlendirmekte ve kanser riskini azaltmaktadırlar (Shinde ve diğ., 2012; Valko ve diğ., 2006).

1.4.6. Reaktif nitrojen türleri (RNS)

Reaktif nitrojen türleri (RNS), nitrojen içeren serbest radikaller olup yüksek oksitleme kapasitesine sahip, oksidatif stresi artıran radikallerdir. Nitrit oksit (NO^{*}), nitrojen dioksit (NO^{*-2}), radikalik olmayan peroksinitrit ($ONOO^{-}$) bilinen başlıca RNS türleridir. Nitrik oksidin yarılanma ömrü birkaç saniyedir ve düşük oksijen konsantrasyonlarında kararlıdırlar. Nitrik oksitler canlı sistemde biyolojik dokularda nitrik oksit sentazlar aracılığıyla sentezlenirler. Nitrik oksit sentazlar NO oluşumu ile L- Arjininin L-Sitüline dönüşümünü metabolize etmektedir. Nitrik oksitler, çeşitli fizyolojik fonksiyonları, kan basıncını, savunma mekanizmasını ve bağışıklığı düzenlemektedirler. İltihaplanma durumu esnasında bağışıklık sistemi tarafından süperoksit anyonu ve nitrik oksit üretilmektedir. Bunların sonunda da oksidatif stres artmakta ve peroksinitrit anyonu gibi farklı serbest radikaller oluşabilmektedir. Bunlar lipit oksidasyonu ve DNA fragmantasyonuna da yol açmaktadır (Obeagu, 2018).

1.4.7. Serbest radikallerin yararları

Canlı sistemde birçok fizyolojik reaksiyon sonucu O^{-2}, H_2O_2, OH^{*-} gibi serbest radikaller oluşmaktadır. Oluşan bu ROS'lar; düşük ve kontrol edilebilir konsantrasyonlarda, hücresel süreçlerin olgunlaşmasında önemli rol oynamaktadırlar. Oluşan bu serbest radikaller bazı enzimlerin aktivitesini artırmakta, tiroksin ve prostaglandin gibi biyosentez reaksiyonlarına katılıp işlemlerin gelişimini hızlandırmakta, canlı sistemde bağışıklık ve savunma mekanizmasının gelişmesine katkıda bulunmakta, ayrıca canlı sistemi bazı enfeksiyonlara karşı savunarak kanser hücrelerinin ölümüne sebep olmaktadırlar. Diğer yandan bu ROS türlerinin hücresel sinyal sistemini uyararak psikolojik olarak bazı etkiler gösterdiği bilinmektedir. (Karabulut ve Gülay, 2016).

1.4.8. Serbest radikallerin zararları

Dışarıdan alınan ya da canlı metabolizmasındaki çeşitli reaksiyonlar sonucu açığa çıkan serbest radikaller canlı biyosisteminde yüksek konsantrasyonda bulunduklarında membran lipitlerine, proteinlere ve nükleik asitlere etki ederek birtakım hasarlara yol açmaktadırlar. Bu hasarlar aşağıdaki gibi açıklanabilir (Valko ve diğ., 2006).

1.4.8.1. Lipitler

Serbest radikaller membran lipitleri ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyonuna yol açmaktadır. Lipit peroksidasyonu ile birçok toksik yan ürün açığa çıkar ve bu yan ürünlerin etki ettiği alan oldukça büyüktür. Membran lipitlerinde meydana gelen bu hasar hücre yapısının spesifik özelliklerini kaybetmesine neden olmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016).

1.4.8.2. Proteinler

Serbest radikaller proteinlerin yapılarına etki ederek proteinin işlevini ve enzim aktivitesini kaybetmesine sebep olmaktadırlar. Proteinin serbest radikallerden etkilenme dereceleri yapılarındaki aminoasitlerin yapılarına ve sayılarına göre değişir. Sülfür bağı ve çoklu bağ içeren aminoasitler serbest radikallerle kolayca etkileşime girmektedirler (Karabulut ve Gülay, 2016; Devasagayam ve diğ., 2003).

1.4.8.3. DNA

Serbest radikaller DNA'daki şeker moleküllerine atak yaparak bir hidrojen (H^+) koparabilmekte veya ekleyebilmektedir. Özellikle pirimidin bazlarının C4-C5 karbonları arasındaki bağ çok hassastır ve serbest radikaller buraya atak yaparak DNA'yı hasara uğratır. Bu radikaller ayrıca bazı yıkıcı enzimleri aktive ederek DNA parçalanmasına ve hücre ölümüne yol açar (Fang ve diğ., 2002; Karabulut ve Gülay, 2016).

1.4.8.4. Karbohidratlar

Serbest radikaller karbohidratlarla etkileşime girerek yapılarındaki hidrojen atomunu kaybedip radikalik bir yapı oluşmasına yol açmaktadır. Bu oluşan radikalik yapılar önemli moleküller için zincir kırıcı bir rol oynamaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016).

1.5. Antioksidan Aktivite

Son yıllarda bitki kaynaklı antioksidan aktivite testleri ve tekniklerine, elde etme yöntemlerine ilgi artmaktadır. Endüstriyel alanda veya bilimsel araştırmalarda, mevcut bilinen doğal ve sentetik antioksidanları elde etmek için, aromatik bitkilerin ve baharatların antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması oldukça ilgi görmektedir (Suhaj, 2006).

Canlı sistemin, serbest radikaller ve diğer oksidanların zararlı etkilerini azaltmak veya yok etmek için doğal enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunmalarını kapsayan karmaşık bir sistemi vardır. Antioksidan ağırlıklı beslenme ile serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı korunma sağlanmaktadır (Alam ve diğ., 2012). Günlük besin ihtiyacını karşılayan sebzeler ve meyveler, antioksidan açısından oldukça zenginlerdir. Besin yoluyla alınan bu antioksidanlar gıdalardaki oksidatif bozulmayı önlediği ya da geciktirdiği gibi canlı sistemde de serbest radikallerin zarar verici etkilerini azaltmakta ve insan sağlığını olumlu yönde etkilemektedir. Bu antioksidan maddeler vücuda alınmaları itibariyle radikal zincir oluşumlarını engelleyerek veya reaktif türlerin oluşmasını önleyerek canlı sistemi radikal türlerin olumsuz etkilerinden korur (Öztan, 2006). (Tablo 1.1.)

Tablo 1.1. Temel antioksidan kaynakları

	Temel Antioksidan Kaynakları
Enzimler	Süperoksit Dismutaz, Peroksidaz, Katalaz
Büyük Molekülller	Albumin, Ferritin ve diğer proteinler
Küçük Moleküller	Askorbik asit, ürik asit, tokoferol, karetonoidler, polifenoller (Epigallokateşin, kafeik asit, klorojenik asit, gallik asit, ferulik asit, kumarik asit vb)
Bazı Hormonlar	Östrojen, Melatonin vb.

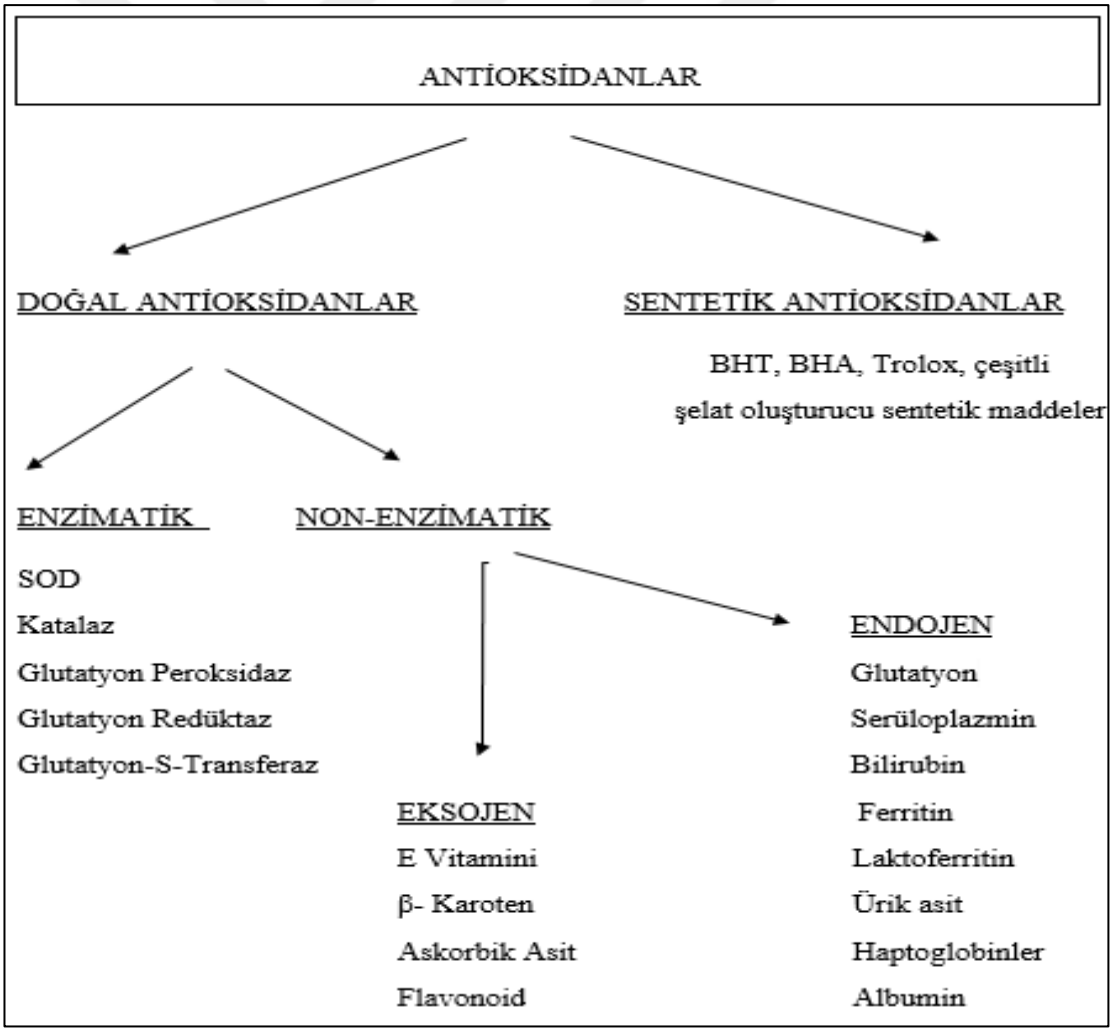
Antioksidanların etki ettiği oksidan türler değişiklik gösterebilir. Örneğin; karetonoidler singlet oksijene karşı fenolik antioksidanlardan daha iyi radikal gidericidir. Öte yandan fenoller karetonoidlere göre peroksil radikallerine daha iyi atak yapar (Öztan, 2006).

Antioksidanlar canlı sistemde iki şekilde etki göstermektedir;

- Zincir kırıcı etki: Antioksidanlar oksidan türlerin yol açtığı radikal zincir reaksiyonlarına etki eder. Yükseltgenebilir maddeler olduklarından reaksiyona dahil olup serbest radikalleri indirgeyerek zincir reaksiyonlarını durdurur.
- Radikal önleyici etki*:* Bazı antioksidanlar serbest radikaller ile etkileşime girerek bu serbest radikalleri sönüme uğratırlar. Böylece onların radikalik reaksiyonlara yol açmalarını engellerler (Yavaşer, 2011).

1.5.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar kendi içlerinde doğal ve sentetik antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Şekil 1.2.).



Şekil 1.2. Antioksidanların sınıflandırılması

1.5.1.1. Doğal antioksidanlar

Doğal antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan doğal antioksidanlar olarak iki gruba ayrılır.

Enzimatik Doğal Antioksidanlar: Canlı sistemde süregelen reaksiyonlar sonucu açığa çıkan serbest radikaller, yine canlı sistemde var olan bazı enzimler tarafından inhibe edilmektedir. Bu enzimler serbest radikalleri inhibe ederek antioksidan aktivite gösterirler. Bu enzimlerin bazıları aşağıdaki gibidir;

Süperoksit dismutaz (SOD); moleküler oksijenin yükseltgenmesiyle oluşan süperoksitin hidrojen peroksit ve oksijene dönüşümünü katalizlemektedir. Canlı sistemde sitozolde bulunur ve iki izoenzimi mevcuttur (Yavaşer, 2011).

$$2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2 \quad (1.14)$$

Katalaz (CAT); reaktif bir tür olan OH^* oluşumunu engellemek için H_2O_2'nin su ve oksijene dönüşümünü katalizlemektedir. En iyi aktiviteyi karaciğer, böbrek, miyokard, eritrositler ve çizgili kaslarda göstermektedir. Canlı sistemde sitozol ve çoğunlukla peroksizomlarda bulunur (Yavaşer, 2011; Bardakçı, 2017).

$$2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} H_2O + O_2 \quad (1.15)$$

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px); Hidrojen peroksit ile reaksiyonunda H_2O_2'yi H_2O'ye GSH'ı okside glutatyona (GSSG) dönüşümünü katalizler. Böylece hidroperoksitleri indirgemekte ve lipit peroksidasyonunu önlemektedir (Bardakçı, 2017; Yavaşer, 2011).

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GSH\text{-}Px} GSSG + 2H_2O \quad (1.16)$$

$$ROOH + 2GSH \xrightarrow{GSH\text{-}Px} GSSG + ROH + H_2O \quad (1.17)$$

Glutatyon redüktaz (GR); glutatyon peroksidazın katalizlediği reaksiyon sonucu açığa çıkan GSSG indirgenmezse artan konsantrasyonu oksidatif strese yol açabilmektedir. Glutatyon redüktaz bu GSSG'nin GSH'a dönüşümünü katalizlemektedir (Yavaşer, 2011).

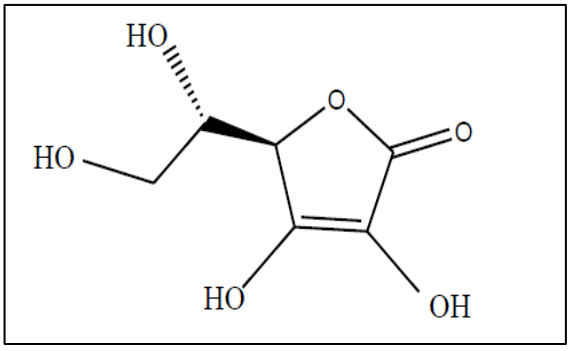
$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^+ \quad (1.18)$$

Glutatyon S-Transferaz (GST); glutatyon S-Transferazler lipit peroksitlerine karşı aktivite göstererek lipit peroksidasyonunu önleyecek bir savunma göstermektedirler. Detoksifikasyon, hücre içi taşıyıcı, bağlayıcı gibi birçok fonksiyonlara sahiptirler (Yavaşer, 2011).

$$ROOH + 2GSH \xrightarrow{GST} GSST + ROH + H_2O \quad (1.19)$$

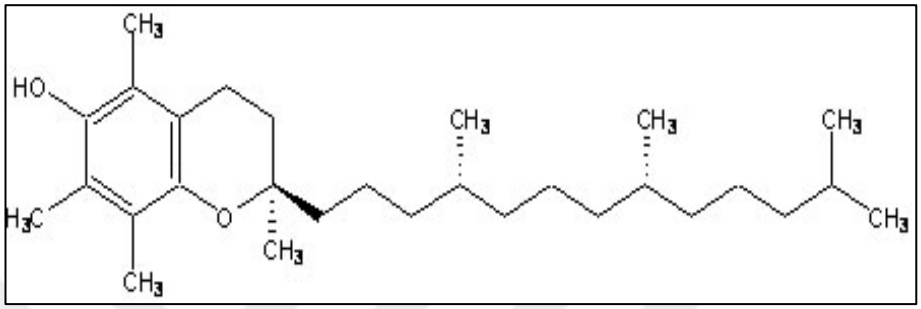
Enzimatik Olmayan Doğal Antioksidanlar: Enzimatik olmayan antioksidanlar metabolik ve besin kaynaklı antioksidanlardır. Metabolik antioksidanlar endojen kaynaklı olup canlı sistemde sentezlenen veya çeşitli reaksiyonlarla oluşan bileşiklerdir. Endojen kaynaklı antioksidanlara örnek olarak; glutatyon, serüloplazmin, bilirubin, ferritin, laktoferrin, transferrin, ürik asit, haptoglobinler, albümin, sistein, metiyonin ve melatonin gibi bileşikler sıralanabilir (Yavaşer, 2011; Bardakçı, 2017). Besin kaynaklı antioksidanlar ise eksojen antioksidanlar olup canlı biyosistemine beslenme yoluyla alınan antioksidanlardır. Serbest radikallerden kaynaklı hasarları engelleme konusunda vücutta sentezlenen antioksidanlar yeterli olmayabilir, bu sebeple eksojen antioksidanların vücuda alınması önemlidir (Şermet, 2015). Eksojen kaynaklardan bazıları;

Askorbik asit (C vitamini); C vitamini canlı sistemin en çok ihtiyaç duyduğu eksojen antioksidan olarak suda yüksek çözünürlüğe sahip ve serbest radikalleri doğrudan inhibe edebilen kuvvetli bir antioksidandır. Çeşitli gıdalarda serbest radikallerin yol açtığı renk değişimi, bozulma ve acılaşmayı da engellediği bilinmektedir. Bitkilerden doğal yolla canlı biyosistemine alınabileceği gibi endüstriyel olarak da üretilebilmektedir. Ayrıca beraber kullanıldığı antioksidanların etkilerini artırmaktadır (Dursun, 2011).



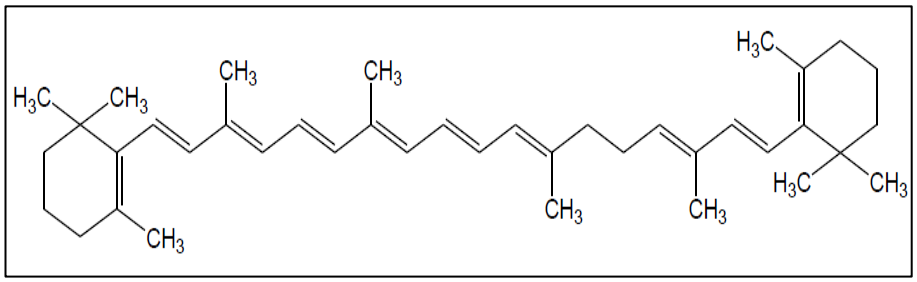
Şekil 1.3. Askorbik asit (C vitamini) yapısı

Tokoferoller (E vitamini); 7 farklı izomere sahiptir. Bunlardan α-tokoferol, E vitaminidir. Kuvvetli bir antioksidan ve zincir kırıcıdır. Ayrıca, hücre membran lipitlerini serbest radikallerin zararlı etkilerinden korumakta ve lipit peroksidasyonunu da engellemektedir. Bitkisel kaynaklı bir bileşiktir. Yeşil yapraklı bitkilerde, bitkisel yağlarda, ceviz, süt, fındık, baklagiller ve yumurtada bulunmaktadır (Küçükçoban, 2009).



Şekil 1.4. α-tokoferol kimyasal yapısı

Karotenoidler; bitkilerin yapısında bulunan ve yapılarında birçok konjuge çift bağ bulundurmalarından dolayı renkli bir yapıya sahip doğal biyolojik pigmentlerdir. Canlı sistemin çok ihtiyaç duyduğu bu antioksidanın bu zamana kadar izole edilmiş 600'ü aşkın çeşidi vardır. Yağda çözünen bu bileşikler; sadece hidrojen ve karbon içeren hidrokarbon karotenoidleri olan karotenler ve en az bir oksijen grubu taşıyan (hidroksi, keto, epoksi, metoksi veya karboksilik asit) oksijenlenmiş hidrokarbon türevleri içeren ksantofiller olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Havuç, mısır, domates, tereyağı, süt yumurta sarısı gibi birçok yiyecekte bulunmaktadır. En yaygın olarak bilinen, A-provitamini olarak da tanınan β-karotendir. A vitamini, β-karoten varlığında etki göstermektedir (Küçükçoban, 2009; Dursun, 2011).



Şekil 1.5. β-karotenin kimyasal yapısı

Fenolik bileşikler ve flavonoidler; fenolik bileşikler bitkilerin meyve, kök, kabuk, yaprak gibi kısımlarında bulunabilen, bitkilerde doğal olarak oluşan ve antimikrobiyal,

antialerjik olarak aktiflik gösteren büyük biyomoleküllerdir (Eruçar, 2006). Flavonoidler ise büyük bir polifenol grubudur. Polifenoller, flavonoidler ve bunların metabolitleri canlı biyosisteminde antioksidan maddeler olarak da aktivite göstermektedirler. Bu moleküller; lipit peroksidasyonunda, peroksidasyonu inhibe ederek malondialdehit oluşumunu ve membranın hasar görmesini engeller, ayrıca polifenoller düşük yoğunluklu lipoproteinin (LDL) oksidasyonunu engelleyerek kolesterol riskini de düşürmektedir (Debnaht ve Naht, 2014). Flavonoidlerin indirgenme potansiyelleri süperoksit ve alkil peroksillerin indirgenme potansiyellerine göre daha düşüktür. Bu sebeple flavonoidler bu oksidanlara etki ederek yol açabilecekleri hasarı önlemektedirler (Özyurt, 2005).

Terpenler; esansiyel yağların yapılarını büyük ölçüde oluşturan birkaç maddeden biri de terpenoidlerdir. Bunlar büyük hidrokarbon molekülleridir (Turhan, 2015). Terpenler de diğer fenolik gruplarla beraber hücre zarı yapısındaki fosfolipit tabakasına etki ederek hücre zarı geçirgenliğini artırmakta ve hücre içine girebilecek serbest radikal ve mikroorganizmaları inhibe ederek antioksidan ve antimikrobiyal ajan olarak davranmaktadır (Cerit, 2008).

1.5.1.2. Sentetik (doğal olmayan) antioksidanlar

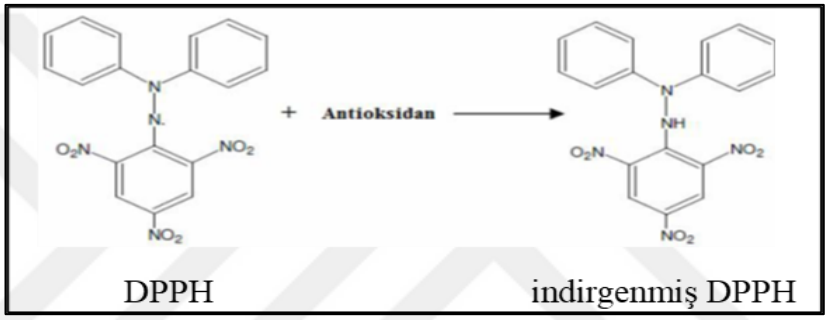
Son zamanlarda endüstriyel ve bilimsel alanda yapılan çalışmalarla beraber antioksidanlara ilgi giderek artmaktadır. Çeşitli moleküllerin antioksidan aktiviteleri bilinmekte ve birçok araştırmacı alternatif moleküller ortaya koymak için çalışmalarını sürdürmektedir. Sentetik antioksidanlar, endojen veya eksojen kaynaklı doğal antioksidanların farklı formlarını ele alır. Örneğin α-tokoferollerin β,γ,δ formları da doğada bulunmaktadır ve bu formların tamamı canlı biyosisteminde bulunduğunda α-tokoferollerin etkisini artırmaktadır (Yavaşer, 2011).

1.5.2. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri

Günümüzde antioksidan kapasitesinin tayini için birbirinden farklı birçok metot kullanılmaktadır. Bu yöntemler genel olarak serbest radikalleri hedef almaktadır. Kullanılan serbest radikalin özelliğine bağlı olarak sonuçlar değişkenlik gösterebilmektedir (Öztan, 2006).

1.5.2.1. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikalinin süpürme kapasitesi

DPPH, kararsız bir azot radikalidir. Koyu menekşe rengine sahip olan bu bileşik ticari olarak elde edilmektedir. Yöntem Blois (1958) tarafından ilk kez antioksidan tayininde kullanılmıştır. Brand-Williams ve diğ., (1995) ise bu metodu geliştirmiş ve birçok araştırmacıya referans olmuşlardır. Bu yöntem DPPH çözeltisinin antioksidan madde tarafından indirgenmesiyle koyu mor menekşe renginin kaybolması sonucu sarı renkli çözelti elde edilmesine dayanır. Bu çözelti 517 nm de absorbans vermektedir ve bu absorbansın düşüşü ile antioksidan aktivitesi belirlenmektedir (Şekil 1.3) (Bardakçı, 2017).



Şekil 1.6. DPPH radikali ve indirgenmiş formu (Yavaşer, 2011)

Oldukça basit ve tekrarlanabilir bir yöntemdir. Hızlı ve doğru sonuçlar elde edilmektedir ancak; DPPH sadece alkol varlığında çözünebilir. Suda çözünen antioksidanların tayininde önemli bir sınırlamadır (Bardakçı, 2017).

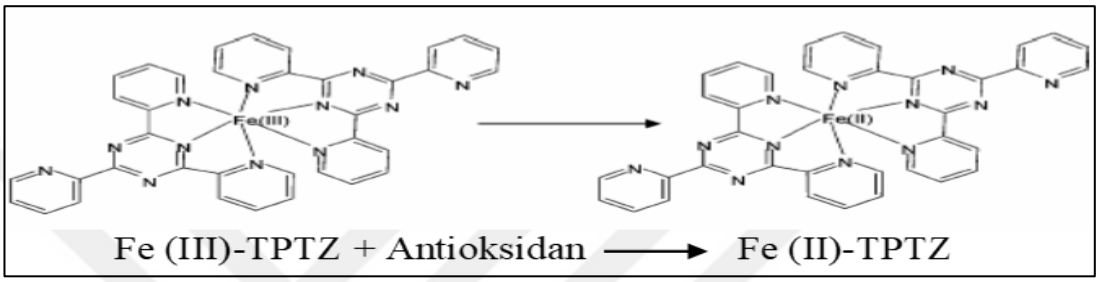
1.5.2.2. Metal şelatlama aktivitesi

Canlı biyosisteminde bulunan demir, vücutta bulunan protein, lipit ve diğer moleküllerle reaksiyona girerek oksidatif strese neden olabilmektedir. Ayrıca Fenton reaksiyonları sonucunda serbest radikal oluşturma eğilimi göstermektedir (Öztan, 2006). Demir geçiş metalleri içerisinde en aktifi olduğundan lipitlerin peroksidasyonuna yol açan en önemli pro-oksidandır (Gülçin, 2005). Bu yöntemle; metal şelatlama özelliği olan bir antioksidan varlığında ortamda bulunan demir iyonları bu antioksidan tarafından bağlanmakta ve fenton reaksiyonları sonucu açığa çıkan serbest radikallerin oluşumu engellenmektedir. Aktivite, demir iyonlarının şelatlanması sonucu kaybolan kırmızı rengin takibi ile tayin edilmektedir (Öztan, 2006).

% Şelatlama Aktivitesi = [1- $Abs_{örnek}$ / $Abs_{kontrol}$] x 100 (1.20)

1.5.2.3. Demir (III) indirgeyici antioksidan tayini (FRAP)

Bu yöntemin esası, demir (III) tripridiltriazin (TPTZ) kompleksi antioksidan varlığında demir (II) kompleksine indirgenmesine dayanmaktadır. Çözelti mavi renktedir ve 595 nm'de absorbans vermektedir. Bu yöntem ile sadece demir iyonlarını indirgeyebilen antioksidanların aktivitesi belirlenmektedir (Şekil 1.7) (Öztan, 2006).



Şekil 1.7. Demir (III) tripridiltriazin'in, demir (II) tripridiltriazin şelatına indirgenmesi (Öztan, 2006)

1.5.2.4. Toplam fenolik madde tayini (Folin-Ciocalteu yöntemi)

Bu yöntemin esası, kolorimetrik olarak folin reaktifi kullanılarak numunedeki toplam fenol içeriğinin belirlenmesidir. UV spektrofotometre kullanılarak 750 nm'deki absorbansın değişimi ile takip edilmektedir ve standart olarak gallik asit kullanılmaktadır. Bu metot yüksek duyarlılıkla sonuç veren basit bir metottur ancak; ortamın asidik olmasına göre yavaşlamakta ve özgünlüğünü kaybetmektedir. Ayrıca analiz esnasında ortamda askorbik asit gibi indirgen maddeler varsa bunlarla etkileşime girebilmektedir (Yokuş, 2014).

1.5.2.5. İndirgeme gücü kapasitesi

Yöntem ilk Oyaizu (1986) tarafından ortaya konmuştur. Bu yöntem antioksidan aktivite göstereceği düşünülen bileşiğin indirgeme potansiyelini esas almaktadır. Fe^{+3} iyonunun Fe^{+2} iyonuna indirgenmesi sonucu oluşan renk değişiminin 700 nm de verdiği absorbans değişimi takip edilmektedir. Kaydedilen sonuçlar literatürde yüksek indirgeme potansiyeli olan antioksidan bir madde ile karşılaştırılmaktadır (Yavaşer, 2011).

$$LOOH + Fe^{+3} \longrightarrow LOO\cdot + Fe^{+2} + H^{+} \quad (1.21)$$

1.6. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite, bakteri veya benzeri etki gösteren mikroorganizmalara (virüs, maya, küf mantarı) karşı muamele edilen ajanların, bu mikroorganizmaları öldürücü (bakterisit) ya da üremelerini durdurucu (bakteriyostatik) şekilde etki göstermesidir. Bu etkiyi gösteren maddeler antimikrobiyal ajanlar ya da antimikrobiyal maddeler olarak adlandırılmaktadırlar (Avcı, 2015).

Günümüzde bakteriler birçok ilaca karşı direnç kazandığından bu durum insan sağlığı için küresel çapta bir endişe oluşturmakta ve bu sebepten dolayı yeni antibiyotiklerin keşfi oldukça önem arz etmektedir. Bugünlerde hala antibiyotik veya ilaçlar için doğal ürünler önemli kaynaklardır. Bitkiler ve doğal kaynaklar çokça çeşitliliğe sahip ve yapılarında da çeşitli kompleksler olan kaynaklardır (Balouiri ve diğ., 2015).

Son zamanlarda antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilecek bitkisel kaynaklı çalışmalar artmaktadır. Antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların zamanla direnç kazanması ve sentetik antibakteriyel ürünlerin güvenilirliğine duyulan kaygı yeni bitki kaynaklı doğal antimikrobiyal maddelere duyulan ihtiyacı ve önemi ortaya koymaktadır (Cerit, 2008).

1.6.1. Antimikrobiyal aktivite tayin yöntemleri

Antimikrobiyal aktivite testleri, antimikrobiyal ajan olabilecek maddelerin tayininde kullanılan birtakım metotları kapsamaktadır. Bu antimikrobiyal ajanların bakterileri öldürücü veya üremelerini durdurucu etki göstermesi ile antimikrobiyal aktiviteye olup olmadıkları tayin edilebilmektedir. Günümüzde kullanılan mevcut yöntemlerden bazıları ise şu şekilde sıralanabilir;

1.6.1.1. Minimum inhibitör konsantrasyonu

Minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK), 24 saat inkübasyondan sonra antimikrobiyal maddenin, mikroorganizmanın gözlemlenebilir büyümesi üzerinde tam etki sağlayacak en düşük konsantrasyonudur. Bu yöntem ile mikroorganizmanın, antimikrobiyal ajana karşı duyarlılığı belirlenmektedir (Kaya, 2011).

1.6.1.2. Minimum bakterisidal konsantrasyon

Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK), antimikrobiyal ajanın, mikroorganizmanın % 99.9'unu öldüren en düşük konsantrasyonudur. Antimikrobiyal maddenin bakterileri öldürme becerisini bulmak amacıyla kullanılan testlerdir (Kaya, 2011).

1.6.1.3. Agar disk difüzyon testi

1940 yılında geliştirilen agar disk difüzyon testi, birçok klinik mikrobiyoloji laboratuvarında antimikrobiyal duyarlılık testi için rutin olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem bazı testlerin saflaştırılması için gerekli inkübasyon koşulları sağlanarak spesifik kültür ortamları hazırlamak ve antimikrobiyal ajan olabilecek maddelerin çeşitli konsantrasyondaki çözeltilerinin diskler yardımıyla ortama eklenmesiyle oluşan inhibisyon zonlarının gözlemlenmesi ve yorumlanması esasına dayanmaktadır (Balouiri ve diğ., 2015).

1.6.1.4. Agar kuyucuk difüzyon testi

Agar kuyucuk difüzyon testi, bitki veya mikrobiyal ekstraktların antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemde uygulanan prosedür agar disk difüzyon yöntemine benzemektedir. Spesifik olarak; bir kültür ortamının hazırlanması ve antimikrobiyal ajanların bulunduğu çözeltinin, çapı 6 ila 8 milimetre olacak şekilde agar delici (corkborer) kullanılarak hazırlanan kuyucuklara 20 ila 100 mililitre arası inoküle edilmesi esasına dayanmaktadır. İnkübasyon sonucunda kuyunun etrafındaki inhibisyon zonları gözlemlenerek değerlendirilmeleri yapılır.

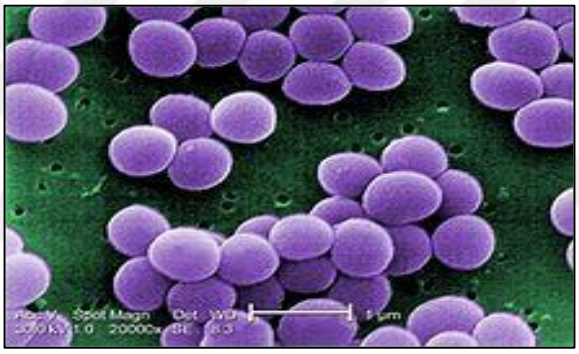
1.6.2. Antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan mikroorganizmalar

Bir antimikrobiyal ajanın etkisini belirlemek için kullanılan yöntemlerin genel çalışma prensibi, mikroorganizmanın üzerindeki inhibisyon etkisinin belirlenmesiyle değerlendirilir. Bu sebeple antimikrobiyal ajanların aktivitelerinin belirlenmesinde çeşitli patojen bakteriler kullanılmaktadır. Antimikrobiyal aktivite tayin testlerinde kullanılan bakterilerden bazıları Tablo 1.2' de verilmiştir (Balouiri ve diğ, 2016).

Tablo 1.2. Antimikrobiyal tayin testlerinde kullanılan bazı mikroorganizmalar ve gram özellikleri

Mikroorganizma	Gram Özelliği
Staphylococcus aureus	Gram (+)
Escherichia coli	Gram (-)
Bacillus Subtilis	Gram (+)
Bacillus Cereus	Gram (+)

Staphylococcus aureus: Gram pozitif bir bakteridir ve çeşitli bakteriyolojik boyalarla boyanabilir. Bu bakteriler doğal ortamda oldukça yaygındırlar, insan ve hayvanlarda geniz, deri ve ağız floralarında, dışarıda toprakta ve eşyalarda bulunabilirler (Turhan, 2015). İmpetigo, yanmış cilt sendromu, selülit ve sivilce gibi deri sendromlarına ve pnömöni, menenjit, toksik şok gibi ciddi hastalıklara yol açabilmekte ve pastörizasyon ve yüksek sıcaklığa maruz kalma sonucu öldürülmektedirler (Şermet, 2005).



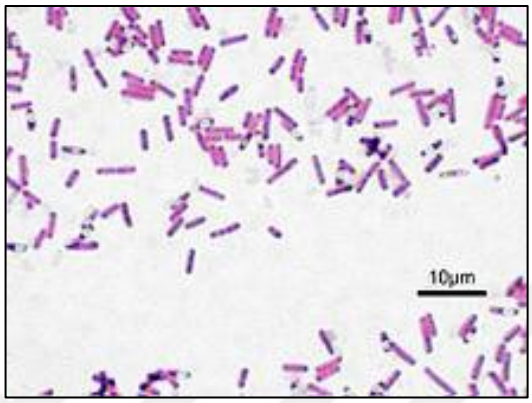
Şekil 1.8. *Staphylococcus aureus*

Escherichia coli: Gram negatif bir bakteridir. Hayvan ve insanlarda bağırsak florasında en çok bulunan bakteridir (Turhan, 2015). *Escherichia coli* türlerinin çoğu zararlı değildir, bağırsak florasında patojenik bakterilerin kolonileşmesini önler ve kemiğin sağlıklı mineral yoğunluğunun korunmasını sağlayan K_2 vitaminini üretir (Şermet, 2005).



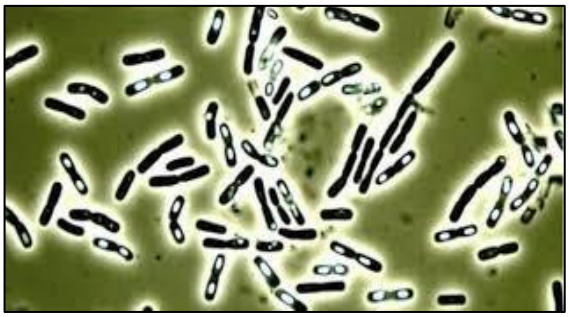
Şekil 1.9. *Escherichia coli*

Bacillus subtilis: Gram pozitif bir bakteridir. Doğada çok yaygın olarak bulunmaktadır. Nadiren besin zehirlenmelerine ve bağışıklık sistemi zayıf olan insanlarda ise bazı hastalıklara yok açabilmektedir. Bakteriyel kromozom replikasyonu ve hücre farklılaşmasını gözlemlemek için örnek organizma olarak değerlendirilmektedir (Şermet, 2005).



Şekil 1.10. *Bacillus subtilis*

Bacillus cereus: Gram pozitif bir bakteridir. Et, süt, peynir, pirinç, balık, puding, gibi besinlerle canlı sisteme alınmakta ve gıda kaynaklı hastalıklara yol açmaktadırlar. Karın ağrısı, mide bulantısı, ishal, kusma gibi belirtileri vardır. Bu hastalıklar genelde kısa süreli ve orta şiddette hastalıklardır (İncili ve diğ., 2015).



Şekil 1.11. *Bacillus cereus*

1.7. Literatür Özeti

Ülkemizde Isparta ilinde yetiştirilen gül bitkisinin, Isparta ilinin sahip olduğu iklim şartlarına sahip bazı civar ülkelerde de yetiştirilebileceği bilinmektedir (Kürkçüoğlu, 1988). Boskabady ve diğ., (2006) yaptıkları çalışmada İran'da yetiştirilen Rosa Damascena bitkisinin hoş koyuya sahip uçucu yağının parfüm endüstrisinde önemli bir yere sahip olduğunu ve hoş görüntüsü nedeniyle bahçelerde peyzaj düzenlemesi

amacıyla sıkça kullanıldığını ortaya koymuşlardır. Ayrıca gül bitkisinden çeşitli ürünlerin elde edildiğini ve bunların günlük hayatta sık sık kullanıldığını belirtmişlerdir.

Günümüzde doğal kaynaklardan elde edilen uçucu yağların farmasötik alanda kullanımlarıyla ilgili birçok çalışma yapılmaktadır. Verma ve diğ., (2011), Kuzey Hindistan'da yetişen gül bitkilerinden elde edilen gül suyu ve uçucu yağ bileşenlerini ortaya koymak için yaptıkları çalışmada, bu uçucu yağların ana bileşenlerini; fenil etil alkol (%66.2 – 79.0), sitronellol (%15.9 - 35.3), geraniol (%8.3 – 20), nerol (%4.0 – 9.6), nonadekan (%4.5 – 16.0), heneikosan (%2.6 – 7.9) ve linanol (%0.7 – 2.8) olarak saptamışlardır. Bu bileşenler hidrokarbon yapıdalardır, en fazla orana sahip fenil etil alkol bir fenol grubudur, sitronellol, geraniol, nerol bileşenleri ise terpenler olarak bilinen hidrokarbon grubuna dahildir ve antioksidan etkilerini ortaya koyan birçok çalışma mevcuttur.

Geylani (2004), Rosa Damascena türüne ait Midas gülü bitkisinin uçucu yağ bileşenlerini ortaya koymak için yaptığı çalışma sonucu, uçucu yağ içeriğini fenil etil alkol (%48.8), sitronellol (%16.1), geraniol (%8.2) ve nerol (%7.5) olarak saptamıştır.

Nayebi ve diğ., (2017), İran'da yetişen Rosa Damascena bitkisini farmasötik açıdan incelemek üzere bitkiden flavonoidler, terpenler, glikozidler ve antosiyanleri izole etmişlerdir. Ayrıca bitki içeriğinde saptanan C, A, B1, B2, B3 ve K vitaminleri, sitrik asit, malik asit, pektin, tanin ve karotenoid miktarları raporlanmıştır. Çalışmaya göre total fenolik bileşenler bitkinin su içeriğinden çok uçucu yağ içeriğinde bulunmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda yukarıda sıralanan fenolik grupların DPPH metodu ile antioksidan aktiviteleri incelenmiş ve aktif antioksidan madde olarak önerilmişlerdir. Demir (III) tiyosiyanat metodu ile de %78 oranında aktivite göstermiştir. Bu bileşikler Propionibacterium acnes ile muamele edilmiş ve sonuç olarak potansiyel anti-akne etkisi olduğu belirtilmiştir ve Candida albicans türü ile muamelesi sonucu antifungal özelliğe sahip olduğundan bahsedilmiştir.

Akar ve Bulut (2013), Rosa Damascena'nın ve diğer tekstil boyar maddesi olarak kullanılabilen bazı bitki ve baharatların antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada tekstil boyar maddesi olarak kullanılabilen bitkilerin antibakteriyel aktivitelerini belirlemek için AATCC 147–2011, AATCC 100–2004, AATCC 174–

2011 gibi metotların kullanımı desteklenmiş ve biyo-çözünürlüğe sahip bu maddelerin antibakteriyel etkiye sahip oldukları için alerjik, kanserojen gibi sorunlara sahip kimyasal boyar maddelere karşı kullanılabilecek alternatifler oldukları belirtilmiştir.

Yassa ve diğ., (2009) yaptıkları çalışmada İran'ın Gilan eyaletinde yetişen Rosa Damascena bitkisinin uçucu yağ bileşenlerini ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Bu bölgede yetişen gül bitkilerinin taze taç yaprakları toplanarak, su buharı distilasyonu ile bitki uçucu yağı elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağın bileşikleri GC/MS kullanılarak analiz edilmiş ve yirmi bir bileşikten on yedisi tanımlanmıştır (%97 v/w). Elde edilen uçucu yağın nonterpenoid hidrokarbon içeriği %73.38 olarak belirlenmiştir. Ayrıca; linalol %3.68, geraniol %15.5, nerol %3.05 ve fenil etil alkol %0.86 olarak saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar literatürde var olan İran'ın Kaşan eyaletinde yetişen Rosa Damascena bitkisinin verileri ile kıyaslandığında; uçucu yağ bileşenlerinin çeşitliliği açışından benzerlik olduğu görülmüş ancak; bileşenlerin miktarlarının değiştiği ortaya konulmuştur. Bitkinin antioksidan özelliğini incelemek üzere de taç yaprakları %80'lik metanol ile ekstrakte edilmiş ve vakum altında metanol uçurularak bitki uçucu yağı elde edilmiştir. Çalışmada; DPPH radikal süpürücü kapasitesi, serbest radikal yakalama kapasitesi ve demir iyonları indirgeme kapasitesi yöntemleri kullanılmış, standart olarak doğal antioksidan olan E vitamini ve sentetik antioksidan olan BHT kullanılmıştır. Sonuçlar uçucu yağın kullanılan standartlardan daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak İran'ın Gilan bölgesinde yetişen gül bitkisinin uçucu yağ ekstraktlarının gıda ve tıp gibi alanlarda kullanılabilecek, serbest radikallerin zararlarını engelleyebilecek alternatif antioksidan ajanlar olabileceği ortaya konmuştur.

Safiyev ve Cracker (1999) yaptıkları çalışmada bazı bitki uçucu yağlarının çeşitli bakterilere karşı aktivitelerini gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada kullanılan bitkiler, Thymus Vulgaris (burnaol tip), Thymus Vulgaris (linalool tip), Thymus Serpyllum, Eucalyptus Smitii, Eucalyptus Globulus, Eucalyptus Radiata, Eucalyptus polybractea, Eugenia Caryophyllus ve Rosa Damascena olmak üzere dokuz tanedir. Kullanılan bu bitkilerin tamamı Herba Aromatica, Hayword, California'dan tedarik edilmiştir. Bu bitkilerden elde edilen uçucu yağlar Staphyloccoccus aureus (ATCC 25923), Escherichia coli (ATCC 25922), Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853) ve Candida

albicans (ATCC 14053) bakterileri ile muamele edilmiş ve antimikrobiyal aktivite tayininde agar disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu mevcut bütün bitki uçucu yağlarının Staphyloccoccus aureus, Escherichia coli, Candida albicans bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği, Pseudomonas aeruginosa bakterisine karşı ise bu yağların hiçbir etki göstermediği ortaya konmuştur. Bu bitkilerin içinde ise en fazla aktiviteyi Rosa Damascena türünün gösterdiğinden bahsedilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre çalışmada kullanılan bitkilerin gıda endüstrisinde, depolama tesislerinde ve medikal malzemelerin sterilizasyonunda kullanılabilir olduğu önerilmiştir.

Basım ve Basım (2004), Rosa Damascena türünün bazı gıda kaynaklı veya insan patojen bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etkilerini ortaya koyan çalışmaları ele alarak, bitkilerde hastalık oluşturan (fitopatojenik) bir bakteri olan ve ateş yanığı hastalığına neden olan Erwinia amylorova mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmada Isparta'da yetişen Rosa Damascena bitkisi kullanılmıştır. Bitkiden elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal aktivite tayininde, disk difüzyon yöntemi uygulanmış ve bakteriye karşı kuvvetli inhibisyon gösterdiği gözlenmiştir. Sonuç olarak, Türkiye ve civar ülkelerde yetiştirilebilen Rosa Damascena bitkisinin, ateş yanığı hastalığına karşı geliştirilebilecek doğal alternatif bakterisitler için bir avantaj olabileceğinden bahsedilmiştir.

Bizim çalışmamız ise; ülkemizde yetişen pembe ve beyaz Rosa Damascena bitkisinin sahip olduğu uçucu yağın antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenerek, tıp, gıda, tekstil ve ilaç sektörlerinde kullanılabilecek doğal alternatif olduklarını ortaya koymayı amaçlamaktadır.

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

2.1.1. Kullanılan kimyasallar

- Etanol (Merck)
- Metanol (Merck)
- DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Sigma)
- Tokoferol (Sigma)
- Müller-Hilton Besiyeri
- Folin-Ciocalteu Reaktifi (Sigma)
- Sodyum Fosfat Tamponu
- Potasyum Ferrisiyanür ($K_3Fe(CN)_6$)
- Trikloroasetik Asit (TCA)
- Demir (III) klorür ($FeCl_3$)
- Sodyum karbonat (Na_2CO_3) (Merck)
- Gallik asit (Sigma)
- Ceftriakson

2.1.2. Kullanılan cihazlar

- Evaporatör (Thermo)
- UV Spektrofotometre (Optizen Pop)
- Otoklav
- Hassas Terazi (Sartorius)
- Etüv
- Santrifüj Cihazı (Nüve)
- Manyetik Karıştırıcı (Vortex-Genine)
- Otomatik Pipet (Eppendorf)
- Petri kabı
- Swab
- Boş Diskler

2.2. Kullanılan Bitki Örnekleri

Pembe ve beyaz gül (*Rosa Damascena* Mill.) yaprakları kurutulmuş olarak yerel bir aktardan satın alındı. Önce çeşme suyu altında sonra da saf su ile yıkanıp oda sıcaklığında kurutuldu ve çalışmalar yapılana kadar +4 ^{o}C'de saklandı.

2.3. Kullanılan Mikroorganizmalar

- Escherichia coli (ATCC 25922)
- Staphylococcus aureus (ATCC 25923)
- Bacillus cereus (ATCC 14579)
- Bacillus subtilis (ATCC 6051)

2.4. Çözeltilerin Hazırlanması

2.4.1. DPPH radikali giderim aktivite tayini için kullanılan çözeltisi

10^{-4} M DPPH çözeltisi: 4 mg DPPH bir miktar metanolde çözülerek 100 ml'ye tamamlandı ve karanlıkta muhafaza edildi.

2.4.2. İndirgeme kapasitesi tayini için kullanılan çözeltiler

200 mM fosfat tamponu (pH 6.6): 1.42 g NaH_2PO_4 tartılarak saf su ile çözüldü. pH:6.6 olacak şekilde ayarlandı ve toplam hacim 50 ml'ye tamamlandı.

%1'lik $K_3Fe(CN)_6$ çözeltisi: 0.5 g $[K_3Fe(CN)_6].3H_2O$ tartılarak saf suda çözüldü ve 50 ml'ye tamamlandı.

%10'luk TCA çözeltisi: 15 g TCA saf suda çözündü ve toplam hacim 150 ml'ye tamamlandı.

%0.1'lik $FeCl_3$ çözeltisi: 0.1 g $FeCl_3.6H_2O$ tartılarak saf suda çözüldü ve 100 ml'ye tamamlandı.

2.4.3. Toplam fenolik madde miktarı tayini için kullanılan çözeltiler

%2'lik Na_2CO_3 çözeltisi: 1 g Na_2CO_3 tartım alınarak saf su ile çözüldü ve 50 ml'ye tamamlandı.

Folin-Ciocalteu Reaktifi: Satın alındığı şekilde kullanıldı.

2.5. Besiyeri Hazırlanması

2.5.1. Müller-Hilton besiyerinin hazırlanması

2.5.1.1. Sıvı besiyeri hazırlanması

Müller-Hilton agardan 10.5 g tartım alınarak 500 ml de saf suda çözüldü ve sterilizasyonu için 121 ºC'de 1 atm basınç altında otoklavlandı. Sonrasında bakteriyel suçlar bu besiyerinde 37ºC'de 1 gece inkübe edilerek canlandırıldı.

2.5.1.2. Katı besiyeri hazırlanması

Müller-Hilton agardan 34 g tartım alınarak 1 L saf suda çözelti hazırlandı. 121 ºC'de 1 atm basınç altında sterilize edilmek üzere otoklavlandı. Çözelti soğuduktan sonra 90 mm çapındaki petri kaplarına yaklaşık 20 ml eklendi.

2.5.1.3. Suşların ayarlanması

Canlandırılan suşlar UV spektrofotometre kullanılarak 0.5 McFarland a göre ayarlandı.

2.6. Çalışmada Kullanılan Yöntemler

Çalışmada; DPPH (2,2 Difenil-1-pikrilhidrazil) radikali süpürme kapasitesi, indirgeme kapasitesi tayini ve toplam fenolik madde miktarı tayini olmak üzere üç farklı antioksidan aktivite tayin yöntemi kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite ise disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir.

2.6.1. Gül ekstraktlarının hazırlanması

Kurutulmuş gül yaprakları toz haline getirilip, 100 gr yaprak 500 ml etanolde 24 saat boyunca otomatik çalkalayıcıda ekstrakte edildi. Daha sonra süzgeç kağıdından süzülüp solvent evaporatörde 40 ºC'de vakumda uçuruldu. Elde edilen kalıntı analizler yapılana dek +4 ºC'de saklandı.

2.6.2. Antioksidan aktivite belirleme yöntemleri

2.6.2.1. DPPH (2,2 Difenil-1-pikrilhidrazil) radikali süpürme kapasitesi

DPPH radikali süpürme kapasitesi yöntemi Yavaşer (2011)'e göre yapıldı. Antioksidan madde olarak incelenecek örnek çözeltiden 5 farklı konsantrasyonda (5, 10, 25, 50, 100 mg/ml) etanol çözeltileri hazırlandı. Her bir örnek çözeltiden sırasıyla 3 ml alındı ve üzerlerine 1 ml hazırlanan DPPH çözeltisi eklendi. Kontrol çözeltisi, 3 ml DPPH çözeltisine 1 ml metanol eklenerek hazırlandı. Vortekslenip yarım saat karanlıkta bekletilen bu son çözeltilerin sırasıyla UV spektrofotometrede 517 nm'deki absorbans değişimleri kaydedildi. Her bir çözelti için uygulamalar 3 tekrarlı olarak yapıldı. % İnhibisyon aşağıdaki formül ile hesaplandı;

% İnhibisyon = (Ak – Aö/ Ak) * 100 (2.1)

A_k = Kontrolün absorbansı, $A_ö$ = Örneğin absorbansı

2.6.2.2. İndirgeme kapasitesi tayini

İndirgeme gücü tayini Pascoal ve diğ., (2014)'e göre yapıldı. Hazırlanan 5 farklı konsantrasyondaki her bir çözeltiden 1 ml alınarak 2.5ml 200 mM sodyum fosfat tamponu (pH 6.6) ve %1'lik 2.5 ml potasyum ferrisiyanür eklendi. Son karışım 50^{o}C'de 20 dakika inkübe edildi. Ardından 2.5 ml %10'luk trikloroasetik asit eklendi ve karışım 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Üst fazdan 2.5 ml alınarak üzerine 2.5 ml saf su ve 0.5 ml %0.1'lik demir (III) klorür eklendi. Elde edilen çözeltinin UV spektrofotometre kullanılarak 700 nm'deki absorbans değişimi gözlemlendi. Bu yöntemde standart olarak tokoferol kullanıldı.

2.6.2.3. Toplam fenolik madde tayini

Total fenolik madde tayini yöntemi Singleton ve ve diğ., (1999) metoduna göre yapıldı. Çalışmada Folin-Ciocalteu fenol reaktifi kullanıldı. 1 ml Folin reaktifi alındı ve 1 ml bitki ekstraktına eklenerek 5 dakika karıştırıldı. Ardından 1 ml sodyum karbonat çözeltisi eklendi ve karışım distile su ile 10 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan karışım 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra hazırlanan karışımın UV spektrofotometre kullanılarak 760 nm'deki absorbans değişimi gözlemlendi. Standart

olarak gallik asit çözeltisi (0.01-0.4 mM) kullanıldı ve bir kalibrasyon grafiği hazırlandı. Sonuçlar ekstrakt başına mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edildi. Deneyler üç paralel olarak çalışıldı.

2.6.3. Antimikrobiyal aktivite belirleme yöntemi

2.6.3.1. Disk difüzyon yöntemi

Bu çalışmada gram negatif olarak *Escherichia coli* (ATCC 25922), gram pozitif olarak da *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 14579), *Bacillus subtilis* (ATCC 6051) bakteriyel suşları kullanıldı. Bakteriyel kültürler, bir gece boyunca Müller-Hilton Besiyeri (MHB) ortamında 37°C'de inkübe edildi. 5 mL saf su içeren steril tüplere, inkübe edilmiş mikroorganizmalar eklendi ve spektrofotometrik olarak 0.5 McFarland standartlarına (1.5 x 108 CFU/ml bakteri) ayarlandı. Steril swab kullanılarak tüplerden alınan kültürler Müller-Hilton besiyeri içeren petri kabı üzerine inoküle edildi. Bitki ekstraktları, seri seyreltmeler ile 25, 50, 75 ve 100 mg/mL olmak üzere 4 farklı konsantrasyona ayarlandı. Diskler 20 µL hazırlanan solüsyonlarla yüklendi ve inoküle edilmiş agar üzerine yerleştirildi. Boş diskler, negatif kontrol olarak etanol (her bir boş disk için 20 µL) ile yüklendi. Ceftriakson (30 µg / disk), pozitif referans standartı olarak kullanıldı. Ardından inkübatörde 37°C' de 24 saat inkübe edilen inokule petri kapları ve antimikrobiyal aktiviteler, test organizmalarına karşı inhibisyon zonları ölçülerek değerlendirildi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Antioksidan Aktivite Tayini Bulguları

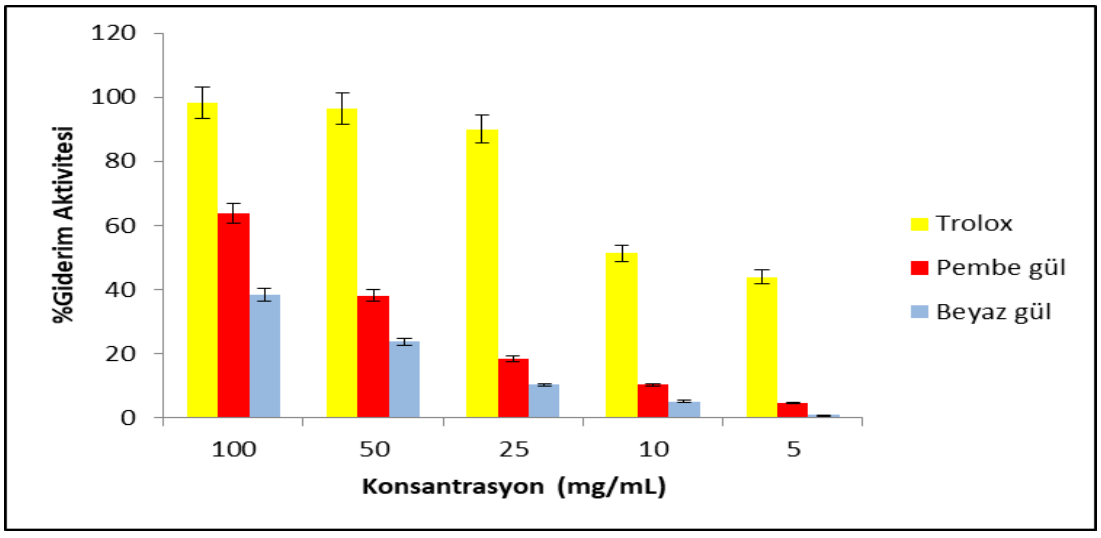
3.1.1. DPPH radikal süpürücü tayin yöntemi

DPPH kolayca indirgenebilen kararlı bir serbest radikaldir. Yöntem incelenecek maddenin hidrojen verme yeteneği ile serbest radikalin inhibisyonunu sağlamasına dayanır. Tek başına UV spektrofotometrede 517 nm'de absorbans vermektedir. Böylelikle antioksidan aktivitesi incelenecek bileşen ile muamele edildiğinde, bileşenin DPPH radikalini inhibe ederek okunan absorbansı düşürmektedir.

Beyaz ve pembe gül için 5 farklı konsantrasyonda (5, 10, 25, 50, 100 mg/ml) hesaplanan % giderim aktiviteleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Çalışmada standart olarak troloks kullanılmıştır.

Tablo 3.1. Trolox, pembe gül ve beyaz gülün % giderim aktiviteleri

Konsantrasyon (mg/ml)	(%) Trolox	(%) Pembe Gül	(%) Beyaz Gül
5	43,96 ± 1,35	4,71 ± 0.88	0,87 ± 0,27
10	51,28 ± 1,58	10,24 ± 1,8	5,12 ± 0,66
25	90,08 ± 0,92	18,37 ± 1,4	10,24 ± 1,09
50	96,2 ± 0,7	38,16 ± 0,12	23,71 ± 1,03
100	98,2 ± 0,2	63,76 ± 0,62	38,27 ± 1,2



Şekil 3.1. Bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktivitesi (%)

Elde edilen bu veriler sonucunda; pembe ve beyaz gülün standarta karşı antioksidan aktiviteleri değerlendirildiğinde, pembe gülün, beyaz güle oranla daha yüksek aktivite gösterdiği kaydedilmiştir (Şekil 3.1).

En yüksek giderim aktivitesi %63,76 ile 100 mg/ml konsantrasyonundaki pembe gül bitki ekstraktından, en düşük aktivite ise %0,87 ile 5 mg/ml konsantrasyonundaki beyaz gül bitki ekstraktından elde edilmiştir. Sonuçlar sırasıyla Troloks>pembe gül>beyaz gül şeklindedir. Pembe gül yüksek konsantrasyonlarda standarta daha yakın aktivite gösterirken konsantrasyon azaldıkça bitki ekstraktlarının aktiviteleri oldukça düşmüştür.

Baydar ve diğ., (2008) yaptıkları çalışmada taze ve kuru gül bitkilerinin uçucu yağ oranlarını incelemiş, en yüksek uçucu yağ bileşenlerine sahip gül bitkisinin hasattan hemen sonra incelenen bitkiler olduğu, kurumuş gül bitkisinde ise uçucu yağ bileşenlerininde monoterpenenoidler ve fenolik bileşenlerinin azaldığını ortaya koymuşlardır. Bu sebeple çalıştığımız kurumuş gül bitkilerinin standarta göre daha düşük aktivite göstermesi olağandır.

Baydar ve Baydar (2013) taze gül yaprağından elde ettikleri esansiyel yağ ile yaptıkları çalışmada %giderim aktivitesini 0.15, 0.1, 0.05 mg/ml konsantrasyonları için sırasıyla 89.44, 77.94, 74.03 olarak saptamışlardır. Standart olarak kullanılan troloks değerlerini ise sırasıyla 92.35, 92.04, 82.96 olarak ölçmüşlerdir. Taze gül yaprakları kullanılarak yapılan bu çalışmada bitki ekstraktları standarta oldukça yakın aktivite gösterek antioksidan madde olabilecekleri desteklenmiştir.

Mao ve diğ., (2005) yaptıkları çalışmada gül bitkisinin antioksidan aktivitelerini incelerken DPPH radikal süpürücü tayin yöntemini kullanmışlar ve çalışılan gül bitkileri soğukta muhafaza edilerek ve açık havada kurutularak kullanılmıştır. Çalışmada ekstraktlar suda ve etanolde hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlar sırasıyla; α-tokoferol > BHA > BHT > Soğukta muhafaza edilen bitkinin su ekstraktı > Soğukta muhafaza edilen bitkinin etanol ekstraktı > Açık havada kurutulan bitkinin su ekstraktı > Açık havada kurutulan bitkinin etanol ekstraktı şeklindedir.

Aliakbarlu ve diğ., (2018) yaptıkları çalışmada kurutulmuş gül bitkisinin siyah çayın antioksidan aktivitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Pozitif kontrol olarak BHT

kullanılmıştır 3 farklı konsantrasyonda (0.5, 1 ve 2 mg/ml) gül bitkisi etanol ektraktı hazırlanmış ve %giderim aktiviteleri ise sırasıyla %8.30, %16.35, %28.07 olarak hesaplanmıştır. Pozitif kontrol BHT ~%85, siyah çay ise %29.35 olarak hesaplanmıştır. Bu bulgulardan yola çıkarak; BHT, gül bitkisinden çok daha yüksek aktivite göstermiş ancak siyah çay ile birleştirildiğinde antioksidan aktivitesini %51.20 ye kadar artırmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre kurutulmuş bitkinin -DPPH radikal süpürücü yöntemi esas alınırsa- standartlardan daha düşük aktivite göstermesi olağandır. Elde ettiğimiz sonuçlar da kurutulmuş bitkinin DPPH yöntemine göre antioksidan aktivitesinin stardarta göre daha düşük olduğudur. Bu yönteme göre kurutulmuş bitkinin taze bitki ile mukayese edildiğinde daha düşük aktiviteye sahip ancak; antioksidan olarak kullanılabilecek alternatif olabileceği gözlemlenmiştir.

3.1.2. İndirgeme gücü tayini

Bir maddenin inhibisyon yeteneği o maddenin antioksidan olup olmadığını ortaya koymada önemli bir özelliktir. Maddenin inhibe etme gücü ne kadar yüksekse antioksidan olarak o kadar aktiftir.

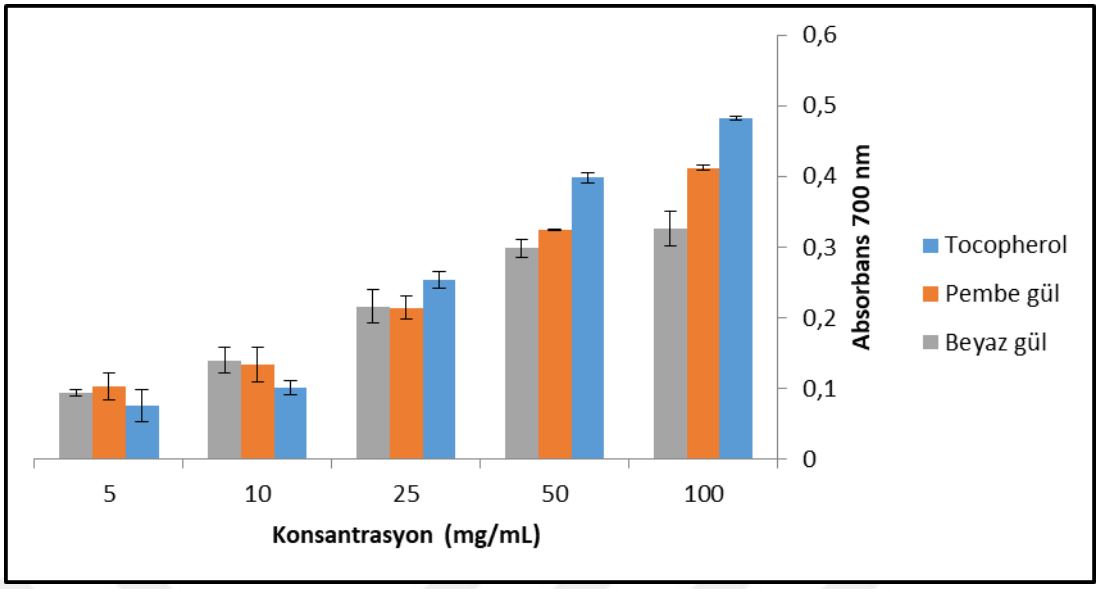
Oyaizu (1986) tarafından ortaya koyulan bu yöntem antioksidan aktivite gösterecek bileşiğin demir (III) iyonlarını indirgemesine dayanmaktadır. Bu metot için iki bitki ekstraktı ile 5 farklı konsantrasyonda (5, 10, 25, 50, 100 mg/ml) çalışıldı ve standart olarak tokoferol kullanıldı.

Ekstraktların total indirgeme güçleri Şekil 3.2 ve Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Tokoferol, pembe gül ve beyaz gülün indirgeme güçleri*

Konsantrasyon (mg/ml)	Tokoferol	Pembe gül	Beyaz gül
5	0.076 ± 0.023	0,102 ± 0.019	0.094 ± 0.04
10	0.101 ± 0.01	0,134 ± 0.024	0.14 ± 0.018
25	0.254 ± 0.012	0,214 ± 0.016	0.216 ± 0.023
50	0.398 ± 0.007	0,314 ± 0.001	0.298 ± 0.013
100	0.482 ± 0.003	0,412 ± 0.004	0.326 ± 0.024

*(Ortalama ± standart sapma)



Şekil 3.2. Tokoferol, pembe gül ve beyaz gülün indirgeme güçleri

Ekstraktların farklı konsantrasyonlarda ölçümleri alınmış ve pembe gülün beyaz gül ile kıyaslandığında, her konsantrasyon için daha yüksek aktivite gösterdiği ortaya konmuştur. Pembe gül standarta yakın sonuçlar vererek yüksek aktivite göstermiştir. Ayrıca her iki bitki ekstraktı da düşük konsantrasyonda tokoferolden yüksek aktivite göstermişlerdir. Sıralama 5, 10 ve 25 mg/ml konsantrasyonları için pembe gül≈beyaz gül>tokoferol şeklindedir. 50 ve 100 mg/ml konsantrasyonlarında ise tokoferol>pembe gül>beyaz gül gibidir. Dolayısıyla, bitki ekstraktlarının standart olarak kullanılan tokoferole karşı total indirgeme kapasiteleri oldukça yakındır.

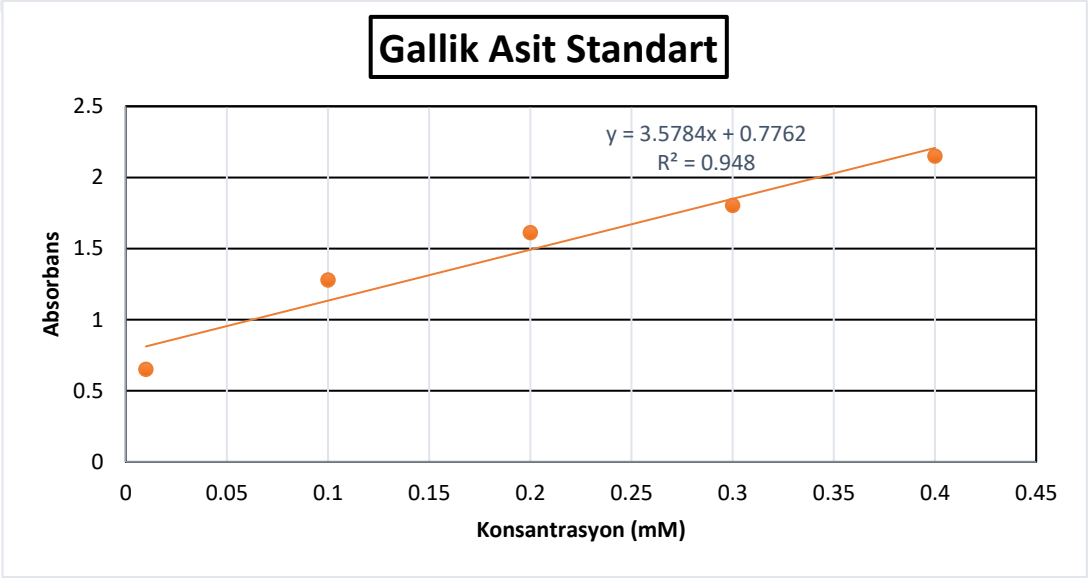
Choi ve diğ., (2015) artan güzellik ve cilt bakımı taleplerinden ötürü serbest radikallerin aktive ettiği ve yaşlanmaya yol açan kolajenaz enzimine karşı beyaz gülün inhibisyon aktivitesini incelemişlerdir. Sonuçlar, beyaz gülün yaşlanmaya yol açan enzimler için güçlü inhibisyon yeteneği olduğunu ve yaşlanma karşıtı olarak kullanılabilecek güçlü bir alternatif olduğunu ortaya koymuştur.

Al-Garni ve diğ. (2017) yaptıkları çalışmada taze gül yapraklarının indirgeme gücü yöntemine göre aktivitesini hesaplamışlar. Standart olarak trolox kullanılmış ve çalışma 3 farklı konsantrasyon için gerçekleştirilmiştir. Veriler taze gül yapraklarının her konsantrasyonda troloks ile neredeyse aynı aktiviteyi gösterdiğini ortaya koymuştur.

Çalışmamızda kullandığımız kurutulmuş gül yaprakları, bu çalışma için kuvvetli antioksidan aktivite göstermiştir. Düşük konsantrasyonda ise standarttan daha yüksek aktivite gösterdiği kaydedilmiştir.

3.1.3. Toplam fenolik madde tayini

Fenolik gruplar serbest radikalleri inhibe etme fonksiyonuna sahip oksidanlardır. Bu yöntem ile antioksidan aktivite tayini uçucu yağın içeriğindeki fenol gruplarının serbest radikalleri indirgemesi ile ölçülmektedir. 5 farklı konsantrasyon için (5, 10, 25, 50, 100 mg/ml) çalışmalar yapılmış olup, standart olarak gallik asit kullanılmıştır (Şekil 3.3). Sonuçlar Tablo 3.3.'te mgGAE/g cinsinden ifade edilmiştir.



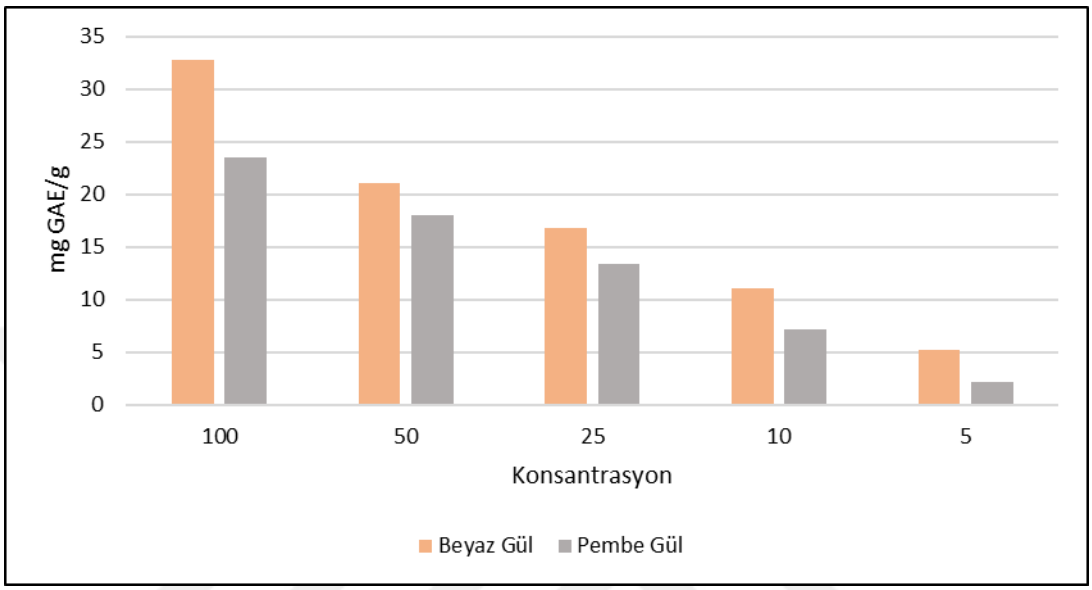
Şekil 3.3. Gallik asit standart grafiği

Tablo 3.3. Bitki ekstraktlarının toplam fenol içerikleri

	Beyaz Gül		Pembe gül	
Konsantrasyon (mg/ml)	Absorbans	mgGAE/g	Absorbans	mgGAE/g
5	0.07	5.17	0.02	2.17
10	0.09	11.02	0.06	7.13
25	0.11	16.76	0.091	13.45
50	0.187	21.08	0.14	18.06
100	0.233	32.81	0.19	23.54

En yüksek fenolik içerik aktivitesi 100 mg/ml konsantrasyondaki beyaz gül bitki ekstraktında 32,81 mg GAE/g olarak, en düşük fenolik içerik aktivitesi ise 5 mg/ml konsantrasyonuna sahip pembe gül ekstraktında 2,17 mg GAE/g olarak

hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre beyaz gül her konsantrasyon için pembe gülden daha fazla aktivite göstermiştir (Şekil 3.4). Böylelikle beyaz gülün pembe gülden daha fazla miktarda fenolik madde içerdiği muhtemeldir ancak; her iki bitkinin de antioksidan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.



Şekil 3.4. Farklı konsantrasyondaki ekstraktların toplam fenolik madde tayini

Geylani (2004) yaptığı çalışmada *Rosa Damascena* türüne ait Midas gülünün uçucu yağ içeriğinde % 48.8 oranında büyük bir fenolik bileşik olan fenil etil alkol bileşeninin olduğunu ortaya koymuş, Verma ve diğ., (2006) Hindistan'da yetişen *Rosa Damascena* bitkisinin uçucu yağ bileşeni oranını %79.0 - %66.2 aralığında ifade etmişlerdir. Yapılan çalışmalar dikkate alındığında *Rosa Damascena* bitkisinin uçucu yağ bileşeninin fenolik gruplarından dolayı yüksek antioksidan aktivite göstermesi beklenmektedir.

Kovatcheva-Apostolova ve diğ. (2008) *Rosa Damascena* ve *Lavandula Vera* bitki hücre kültürlerinin gıda alanında kullanılabilecek fenolik antioksidan olarak kullanılabileceklerini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada, bitkileri kurutulmuş olarak kullanmışlardır. *Rosa Damascena*'nın %70'lik etanolik çözeltisi hazırlanıp analizler yapılmış, sonuç 7.9 ± 0.6 mg GAE/g cinsinden hesaplanmıştır. Elde edilen sonuç bizim hesapladığımız düşük konsantrasyondaki bitki ekstraktları ile benzerlik göstermektedir. Artan konsantrasyondaki bitki ekstaktlarının daha yüksek aktivite göstermesi olağandır.

Patil ve diğ., (2015) Hindistan'da yetişen *Rosa Damascena* bitkisinin in vitro olarak antiradikal aktivitelerini incelemişler, bu çalışma için taze ve kuru gül yapraklarını kullanmışlardır. Her iki seçeneğinde etanol ve aseton ile ekstaktları hazırlanmış, taze gül yaprakları sırasıyla 147.1, 129.73 mg GAE/g, kuru gül yaprakları ise sırasıyla 77.37, 66.38 mg GAE/g olarak hesaplanmıştır.

Yukarıdaki sonuçları ve literatürde örnekleri verilen çalışmaları ele aldığımızda kurutulmuş gül yaprakları taze gül yapraklarına kıyasla daha düşük antioksidan aktiviteye sahiptir. Bizim çalışmamızdaki sonuçların daha düşük olması, bitkilerin yetiştiği coğrafyaların farklı olması, iklim koşulları ve toprak yapısındaki öngörülebilir farklılıktan dolayıdır.

3.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Bulguları

3.2.1. Disk difüzyon yöntemi

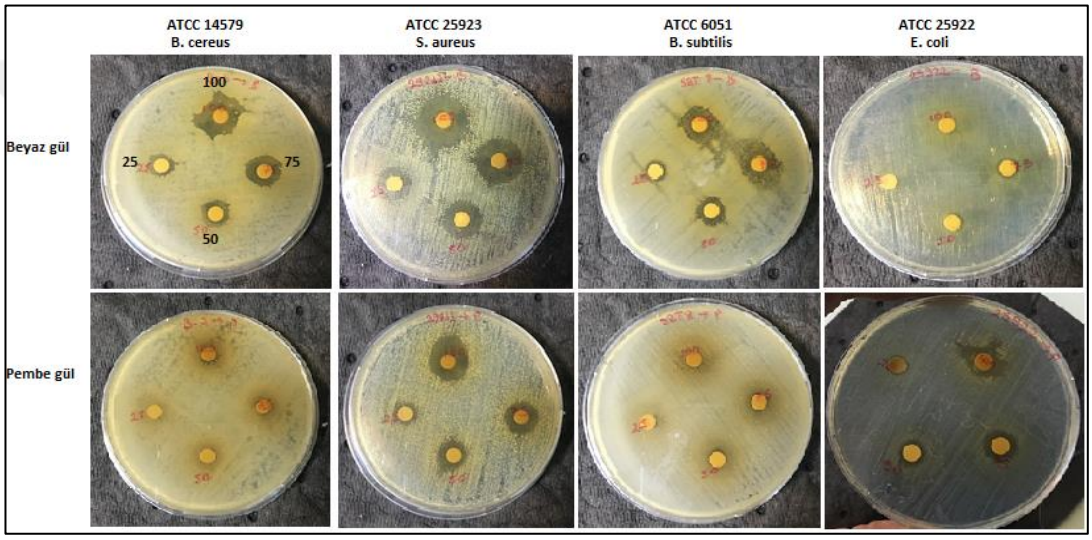
Bu yönteme göre, kültür ortamı içerisine inoküle edilen bakterilerin ortamına antimikrobiyal ajan olabileceği düşünülen madde eklenerek, beklenen bakteri öldürücü ya da çoğalmasını engelleyici etkisi gözlemlenmektedir. İncelenecek maddenin inkübasyon sonrası çevresinde oluşan inhibisyon zonu değerlendirilir. Bu yöntem her bakteri için spesifiktir. Çalışma için beyaz ve pembe gül ekstraktları 4 farklı konsantrasyonda (25, 50, 75, 100 mg/ml) hazırlanmış ve pozitif kontrol olarak cetrifiakson, negatif kontrol olarak etanol kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar her bakteri için kaydedilmiştir. Kaydedilen inhibisyon zonları Şekil 3.5.'te gösterilmiştir.

Tablo 3.4. Beyaz gül için antimikrobiyal aktivite tayin sonuçları (mm)

Konsantrasyon (mg/ml)	Escherichia coli (ATCC 25922)	Bacillus subtilis (ATCC 6051)	Bacillus cereus (ATCC 14579)	Staphylococcus aureus (ATCC 25923)
25	-	4	4	6
50	-	7	5	14
75	-	13	8	16
100	-	13	13	21
Ceftriaxone (CRO-30)	20	38	11	20

Tablo 3.5. Pembe gül için antimikrobiyal aktivite tayin sonuçları (mm)

Konsantrasyon (mg/ml)	Escherichia coli (ATCC 25922)	Bacillus subtilis (ATCC 6051)	Bacillus cereus (ATCC 14579)	Staphylococcus aureus (ATCC 25923)
25	-	-	-	4
50	4	-	-	6
75	7	-	-	9
100	10	-	-	15
Ceftriaxone (CRO-30)	20	38	11	20



Şekil 3.5. Bitki ekstraktlarının oluşturduğu inhibisyon zonları

Elde ettiğimiz sonuçlara göre beyaz gül için sıralama; Staphylococcus aureus> Bacillus subtilis>Bacillus cereus şeklindedir. Escherichia coli'de ise inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir. En yüksek inhibisyon zonu 21 mm ile Staphylococcus aureus bakterisinin 100 mg/ml konsantrasyondaki beyaz gül ekstraktında gözlemlenmiştir. Yüksek konsantrasyonda bitki ekstraktı pozitif kontrolden daha kuvvetli antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Bacillus cereus bakterisi de 100 mg/ml konsantrasyonundaki bitki ekstraktı ile inkübasyonu sonucu pozitif kontrolden daha kuvvetli antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bacillus subtilis bakterisi için ise bitki ekstraktı, pozitif kontrole göre daha düşük aktivite göstermiştir.

Pembe gül için sonuçlar; Staphylococcus aureus>Escherichia coli şeklindedir. Bacillus cereus ve Bacillus subtilis bakterileri için inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir. Düşük konsantrasyonlarda Escherichia coli bakterisi için bitki ekstraktı antimikrobiyal

aktivite göstermezken, yüksek konsantrasyonlarda düşük aktivite göstermiştir. Staphylococcus aureus bakterisi için ise yüksek konsantrasyonlardaki pembe gül ekstraktının iyi bir antimikrobiyal ajan olacağı görülmektedir.

Halawani (2014) yaptığı çalışmada 4 farklı çözgen ile hazırlanmış gül bitkisinin antimikrobiyal aktivitesini 10 farklı patojen bakteri için incelemiştir ve en yüksek inhibisyon çaplarını Staphylococcus aureus ve Escherichia coli bakterileri için ölçmüştür.

Arıdoğan ve diğ., (2002) bazı bitki uçucu yağlarının bileşenlerini ve antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Bu araştırmaya göre gül bitkisi yapısında fenolik bileşiklere göre daha yüksek oranda terpen yapıda bileşiklere sahiptir bu bileşikler sitronellol, geranilol ve neroldür. Bu bileşiklerin her biri Staphylococcus aureus bakterisi için kuvvetli, Escherichia coli için ise yüksek konsantrasyonlarda aktivite göstermiştir.

Ulusoy ve diğ., (2009) gül yağının suyunun ve absolütün kimyasal bileşenlerini ve antioksidan aktivitelerini incelemişler, Bacillus subtilis bakterisine karşı 5 farklı konsantrasyonda yüksek inhibisyon zonları gözlemlemişlerdir.

Özkan ve diğ., (2004) yaptıkları çalışmada gül yağının antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemişler, Staphylococcus aureus, Escherichia coli ve Bacillus cereus bakterileri için yüksek inhibizyon zonu elde etmişlerdir.

Çalışmamızda pembe gül için Staphylococcus aureus, Escherichia coli bakterilerine karşı aktivite gözlemlenirken, beyaz gül için Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Bacillus cereus bakterileri için yüksek aktivite gözlemlenmiştir.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Antioksidan Aktivite

Çalışmamızda beyaz ve pembe gül bitkilerinin kurutulmuş yapraklarından hazırlanan farklı konsantrasyondaki etanol ekstraktlarının farklı yöntemlerle antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Buna göre;

- Kurutulmuş gül yaprakları, DPPH Radikal Süpürücü Tayini yöntemine göre incelendiğinde; pembe gülün beyaz gülden daha yüksek aktivite gösterdiği ve iki bitki ekstraktının da standarta göre daha düşük aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır.
- İndirgenme Gücü Tayinine göre; beyaz gül ve pembe gülün yüksek konsantrasyonlarda standarta yakın aktiviteye sahip olduğu, düşük konsantrasyonlarda ise standarttan daha yüksek aktivite gösterdiği ortaya konmuştur.
- Toplam Fenolik Madde Tayininde; beyaz ve pembe gül ekstraktlarının aktiviteleri mgGAE/g cinsinden ifade edilmiş ve aktivite gösteren bitki ekstraktlarının verileri beyaz gül> pembe gül şeklinde elde edilmiştir.

Antimikrobiyal Aktivite

Pembe ve beyaz gül ekstraktları 4 farklı konsantrasyonda 4 farklı bakteriye karşı incelenmiştir. Buna göre;

- Pembe gül eksraktları için aktivite Staphylococcus aureus> Escherichia coli şeklindedir. Elde edilen inhibisyon zonları pozitif kontrole kıyasla küçüktür. Bacillus cereus ve Bacillus subtilis bakterileri için ise inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir.
- Beyaz gül ekstraktları için aktivite Staphylococcus aureus> Bacillus subtilis> Bacillus cereus şeklindedir. Staphylococcus aureus ve Bacillus cereus bakterilerindeki inhibisyon çapı pozitif kontrole göre daha büyüktür. Escherichia coli'de ise inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir.

Elde edilen bu sonuçlara göre;

Literatürdeki verilerle karşılaştırdığımızda kurutulmuş gül yapraklarının uçucu yağ bileşenlerinin taze gül yaprağına kıyasla azalmış olduğu görülmüştür. Bu nedenle; standart antioksidan maddelere göre daha düşük aktivite gözlenmesi olağan bir durumdur. Ayrıca her konsantrasyonda aktivite gözlemlenmiş böylece gül yaprağı ekstraktlarının antioksidan aktiviteye sahip olduğu ortaya konmuştur. Çalışmamızda beyaz gül bitkisi toplam fenolik madde tayininde daha yüksek aktivite göstermiştir. Bu sebeple beyaz gülün pembe güle kıyasla fenolik madde içeriğinin daha fazla olduğunu da söyleyebiliriz.

Antimikrobiyal aktivite tayini sonucunda ise; incelediğimiz bitkilerin patojen veya patojen olmayan bazı bakterilere karşı spesifik bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur.

Bu çalışma sonucunda elde ettiğimiz veriler ve mevcut çalışmalar sonucunda; aktarlardan kurutulmuş olarak elde edilebilen gül bitkisinin, farklı bitki ve baharatlarla birlikte kullanılması halinde, bütünün antioksidan aktivitesine katkıda bulunacağı söylenebilir. Böylece bazı bitki çayları ve baharatlarla birlikte alınması canlı metabolizmasının serbest radikallere karşı direncini artıracaktır. Kozmetik sektöründe krem, tonik ve bazı makyaj malzemelerinde serbest radikallerin yol açtığı yaşlanma, hücre deformasyonu veya yıkımı, lipit peroksidasyonundan dolayı hücre yapısındaki bozulmalara karşı da iyi bir bileşen olarak kullanılabilir.

Ayrıca; gıda sektöründe antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinden dolayı koruyucu ve renklendirici olarak veya endüstriyel alanda antibakteriyel tekstil, cam, duvar ve oyun boyalarının geliştirilmesinde katkı maddesi olarak kullanılabilir.

Tıpta ve farmakololojik alanda ise; vücut direncini artıran metabolizma destekleyici antibiyotikler olarak mikrobiyal hastalıkların önlenmesi veya tedavisinde kullanılan bazı ilaç ve tedavilerin geliştirilmesine destek verebilecek alternatiflerdir.

KAYNAKLAR

Agarwal S.G., Gupta A., Kapahi B.K., Baleshwar, Thappa R. K., Suri O. P., Chemical Composition of Rose Water Volatiles, *Journal of Essential Oil Research*, 2005, **17**(3), 265-267.

Akar E., Bulut M.O., Bazı Tekstil Boya Bitkilerinin Antibakteriyel Çzellikleri ve Aktivitesi İçin Kullanılan Test Yöntemleri, *SDÜ Teknik Bilimler Dergisi*, 2013, **2** (3), 1-6.

Alam N., Bristi N.J., Rafiquzzaman, Review on in Vivo and in Vitro Methods Evaluation of Antioxidant Activity, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2013, **21**(2), 143-152.

Aliakbarlu J., Mohammadi S., Dehestaniathar S., Sadaghiani S.K., Effects of Dried Rose Petals (*Rosa damascena*) on the Antioxidant Capacity of Green and Black Tea, *J Adv. Environ Health Res*, 2018, **6**, 240-245.

Arıdoğan B.C., Baydar H., Kaya S., Demirci M., Özbaşar D., Mumcu E., Antimicrobial Activities and Chemicam Composition of Some Essential Oil, *Archives of Pharmacal Research*, 2002, **25**(6), 860-864.

Avcı S., Farklı Ağaç Türlerine Ait Talaş Ortamlarının Pleurotus Osrteatus Mantarının Verimi, Kalitesi ve Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, 2015, 394451.

Balouiri B., Sadiki M., Ibnsouda S.K., Methods for in Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2016, **6** (2), 71-79.

Bardakçı Ö., Bazı Sentetik Antioksidanların 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi ile Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2017, 478877.

Baydar N.G., Baydar H., Phenolic Compounds, Antiradical Activity and Antioxidant Capacity of Cil-bearing Rose (Rosa damascena Mill) Extracts, *Industrial Crops and Products*, 2013, **41**, 375-380.

Baydar H., Baydar N.G., Yağ Gülü (Rosa damascena Mill.)'nde Distilasyon Ürünlerinin Uçucu Yağ ve Fenolik Madde İçerikleri ile Antiradikal ve Antioksidan Aktiviteleri, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 2017, **23**, 1-9.

Boskabady M.H., Shafei M.N., Saberi Z., Amini S., Pharmacological Effects *of Rosa Damascena:* A Review, *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2011, **14** (4), 295-307.

Cerit L.S., Bazı Baharat Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 2008, 216654

Choi E.K., Guo H., Choi J.K., Jang S.K., Shin K, Cha Y.S., Choi Y., Seo D.W., Lee Y.B., Joo S.S., Kim Y.B., Extraction Conditions of White Rose Petals The Inhibition of Enzymes Related to Skin Aging, *Lab Anim Res,* 2015, **31**(3), 148-152.

Çelik E., Çelik G.Y., Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi,* 2007, **2**(5), 1-6.

Devasagayam T.P.A, Boloor K.K., Ramsarma T., Methods for Estimating Lipid Peroxidation: Analysis of Merits and Demerits, *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics,* 2003, **40**(5), 300-308.

Debnaht J., Naht L.K., A Review on Pathophysiology of Ischemic-Reperfusion Injury of Heart and Ameliorating Role of Flavonoids and Polyphenols, *Journal of Medicinal Plant Research,* 2014, **8**(16), 607-614.

Diler A., Genç İ.Y., Isparta Gülünün (Rosa Damascena Mill.) Su Ürünlerinde Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanımı: Antimikrobiyel ve Antioksidan Özellikleri Açısından Genel Değerlendirme, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi,* 2013, **17**(2), 4-6.

Dursun İ., Butomus Umbellatus L. ve Sparganium Emersum Rehmann Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitelerinin Tayini ve Fenolik Asit İçeriklerinin HPCL-UV ile Analizi, Yüksek lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars, 2011, 294899.

Fang Y.Z., Yang S., Wu G., Free Radicals, Antioxidant and Nutrition, *Regulation of Physiological Systems By Nutrients*, Nutrition 2002, **18**, 872-879.

Geylani A., Rosa Damescena var. Semperflorens (Midas Gülü)'in Uçucu Bileşikleri, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 2004,173756.

Gülçin İ., Antioxidant Activity of Caffeic Acid (3,4-dihydroxycinnamic acid), *Toxicology*, 2005, **217**, 213-220.

Halawani E.M., Antimicrobial Activity of Rosa Damascena Petal Extracts and Chemical Composition by Gass Chtomatography- Mass Spectrometry (GS/MS) Analysis, *African Journals of Microbiology Resarch,* 2014, **24** (8), 2859-2367.

Halliwell B., Clement M.V., Long L.H., Hydrogen Peroxide in the Human Body, *National University of Singapore,* 2000, **486**, 10-13.

İncili K., Dikici A., Çalıcıoğlu M., Gıda Kaynaklı Bakteriye Hastalıklar ve Korunma Özel Sayısı, *Turkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics,* 2015, **1**(3), 87-91.

Karabulut H., Gülay M.Ş., Serbest Radikaller, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi,* 2016, **4**(1), 50-59.

Kaya Ö., Investigation of Antioxidant and Antimicrobial Effects of Plantago Major Leaves, Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2011, 305642.

Kılıç A., Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri, *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 2008, **13**(10), 37-45.

Kıneci S., Gül Yağı Eldesinde Verim Artırıcı Yeni Tekniklerin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 2005, 197353.

Kovatcheva-Apostolova E.G., Georgiev M.I., Ilieva M.P., Skibsted L.H., Rodtjer A., Andersen M.L., Extracts of Plant Cell Cultures of Lavandula Vera and Rosa Damascena as Sources of Phenolic Antioxidants for Use in Foods, *Eur Food Res Technol*, 2008, **227**, 1243-1249.

Kürkçüoğlu M., Türk Gül Yağının Üretimi ve Özelliklerinin Tesbiti, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 1988, 6421.

Küçükçoban Ç., Türkiye'de Yetiştirilen Bazı Erik Çeşitlerinin Toplam Antioksidan Kapasitelerinin ve Başlıca Antioksidan Bileşenlerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2009, 252823.

Mao L.C., Pan X., Que F., Fang X.H., Antioxidant Properties of Water and Ethanol Extracts From Hot Air-Dried And Freeze-Dried Daylily Flowers, *Eur Food Res Technol*, 2006, **222**, 236–241.

Nayebi N., Khalili N., Kamalinejad M., Emtiazy M., A Systematic Review of the Efficacy and Safety of Rosa damascena Mill. with an Overview on Its Phytopharmacological Properties, *Complementary Therapies in Medicine*, 2017, **34**, 129-140.

Nunes H.S., Miguel M.G, Rosa Damascena Essential Oils: A Brief Review About Chemical Composition and Biological Properties, *Trends in Phytochemical Researches*, 2017, **1**(3), 111-128.

Obeagu E.I., A Review on Free Radicals and Antioxidant, *International Journal of Current Research in Medical Science*, 2018, **4**(2), 123-133. DOI: 10.22192 / ijcrms.2018.04.02.019

Özkan G., Sağdiç O., Baydar N.G., Baydar H., Note: Antioksidant and Antibacterial Activities of *Rosa Damascena* Flower Extracts, *Food Science and Technology International*, 2004, *10*, 277-281. DOI: 10.1177/1082013204045882

Öztan T., Mor Havuç, Konsantresi, Şalgam Suyu, Nar Suyu ve Nar Ekşisi Ürünlerinde Antioksidan Aktivitesi Tayini ve Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2006, 222296.

Özyurt D., Toplam Flavonoid Miktarının Geliştirilen Spektrofotometrik Yöntem ile Tayini, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2005, 166756.

Pal P.K., Evaluation, Genetic Diversity, Recent Development of Distillation Method, Challenges and Opportunities of Rosadamascena: A Review, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2013, **16**(1), 1-10. DOI: 10.1080/0972060X.2013.764176

Pascoal A., Rodrigues S., Teixeira A., Feás X., Estevinho L.M., Biological Activities of Commercial Bee Pollens: Antimicrobial, Antimutagenic, Antioxidant and Anti-inflammatory, *Food Chem. Toxicol.*, 2014, **63**, 233-239. https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.11.010

Patil P.S., Tatke P.A., Gabhe S.Y., In Vitro Antioxidant and Free Radical Scavening Activity of Extracts of Rosa Damascena Flower Petals, *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 2015, 589-601

Singleton V.L., Ortholer R., Lamuela-Raventos R.M., Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent, *Methods in Enzymology*, 1999, **299**, 152-178.

Shinde A., Ganu J, Naik P., Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review, *J Dental Allied Sciences*, 2012, **1**(2), 63-66.

Suhaj M., Spice Antioxidant Isolation and Their Antiradical Activity: A Review, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, **19**, 531-537.

Şermet M.Ö., Antioxidant, Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Pistacia Vera L. Skin, Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2015, 416701.

Verma R.S., Padalia R.C., Chauhan A., Singh A., Yadav A.K., Volatile Constituents of Essential Oil and Rose Water of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) Cultivars From North Indian Hills, Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters, 2011, 25(17), 1577-1584.

Turhan D., Bazı Esansiyel Yağların Staphyloccoccus Aureus ve Escherichia Coli Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2015, 405042.

Ulusoy S., Tınaz G.B., Canbay H.S., Tocopherol, Caroten, Phenolic Content and Antibacterial Properties of Rose Essential Oils, Hydrosol and Absolute, *Curr Microbiol*, 2009, **59** (5), 554-558. DOI: 10.1007 / s00284-009-9475-y

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-Induced Cancer, *Chemico-Biological Interactions*, 2006, **160**, 1-40.

Victor, V., Rocha, M., De la Fuente, M.'Immune Cells: Free Radicals and Antioxidants in Sepsis', *International Immunopharmacology*, 2004, **4**(3), 327-347.

Yassa N., Masoomi F., Rohani R.S.E., Hadjiakhoondi A., 'Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Extract and Essential oil of *Rosa damascena* from Iran, Population of Guilan, *Daru-Journal of Faculty of Pharmacy*, 2009, **17**(3), 175-180

Yavaşer R., Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2011, 300122

Yokuş B., Farklı Ön İşlemlerin ve Uygulanan Farklı Yöntemlerin Elmada Toplam Fenol Miktarı ve Antioksidan Aktivite Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bilecik, 2014, 364036

Zoral F.B., Turgay Ö., Çeşitli Gıda Atıklarının Toplam Fenolik Madde İçeriğinin, Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması, *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi,* 2014, **17**(2), 24-33.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Küçük H.D., Şaki N., Şeker Borat Esterlerinin Sentezlenmesi, Antioksidan & Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması, *31.Ulusal Kimya Kongresi,* İstanbul, Türkiye, 10-13 Eylül 2019.

ÖZGEÇMİŞ

İlk ve ortaöğretimimi İstanbul Avcılar'da tamamladım. 2016 yılında Kocaeli Üniversitesi Kimya Bölümünden mezun oldum. 2017 yılında Kocaeli Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine kabul edildim. Şu an yüzde 80 yabancı ağırlıklı müşteri portföyüne sahip Türk-Alman ortaklı bir şirkette satış uzmanı olarak çalışmaktayım.