Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 7(sp2): 52-58, 2019
DOI: https://doi.org/10.24925/turjaf.v7isp2.52-58.3126

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology

Available online, ISSN: 2148-127X | www.agrifoodscience.com | Turkish Science and Technology

Evaluation of Nutrients and Biological Activities of Kenger (*Gundellia tournefortii* L.) Seeds Cultivated in Sivas Province[#]

Handan Saraç[1,a,*], Ahmet Demirbaş[1,b], Sevgi Durna Daştan[2,c], Mehmet Ataş[3,d], Özge Çevik[4,e], Nuraniye Eruygur[5,f]

[1]*Department of Medicinal and Aromatic Plants, Sivas Vocational School, Sivas Cumhuriyet University, 58140 Merkez/Sivas, Turkey*
[2]*Department of Biology, Faculty of Science, Sivas Cumhuriyet University, 58140 Merkez/Sivas, Turkey*
[3]*Department of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Pharmacy, Sivas Cumhuriyet University, 58140 Merkez/Sivas, Turkey*
[4]*Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Aydın Adnan Menderes University, 09010 Merkez/Aydın, Turkey*
[5]*Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Selcuk University, 42130 Selcuklu/Konya, Turkey*
[*]*Corresponding author*

ARTICLE INFO

[#]This study was presented as an oral presentation at the 13th National, 1th International Field Crops Conference (Antalya, TABKON 2019)

Research Article

Received : 26/11/2019
Accepted : 06/12/2019

Keywords:
Biological activity
Gundelia tournefortii
Nutrient
Antioxidant
Antiproliferative effect

ABSTRACT

The aim of the present study is to conduct a general content evaluation of water extract obtained from the seeds of *Gundellia tournefortii* by GC-MS (Gas chromatography–Mass spectrometry) analysis, to determine its macro and micro element concentrations, antimicrobial activity and total antioxidant level (TAS), total oxidant level (TOS), oxidative stress index (OSI) values, and to reveal its anti-carcinogenic properties on various cell lines. Rel Assay Diagnostics kits were used to determine TAS, TOS and OSI values. By determining the minimum inhibition concentration (MIC) value by Microdilution Broth method, antimicrobial activity analyses were performed on microorganisms which are *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (ATCC11778), *Klebsiella pneumonia* (ATCC 13883), *Candida albicans* (ATCC 10231) and *Candida tropicalis* (DSM11953), respectively. By MTT method, cytotoxic activity was determined on normal mouse fibroblast cell line, HUVEC and 3 different human cancer cell lines. As a result, it was determined that *Gundelia tournefortii* plant extract has a rather weak antimicrobial activity except for on *S. aureus* strain, a good antioxidant activity, and a cytotoxic activity in some cells. As for the oxidative stress index of the plant, it was found to be low. In addition, in terms of macro and micro nutrient content of the plant *Gundellia tournefortii* has concentrations of 3.64% N, 0.11% P, 3.78% K, 0.22% Ca, 0.57% Mg, 268.4 mg/kg Fe, 16.7 mg/kg Zn, 19.4 mg/kg Mn and 8.3 mg/kg Cu.

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 7(sp2): 52-58, 2019

Sivas İlinde Kültürü Yapılan Kenger (*Gundellia tournefortii* L.) Bitkisi Tohumlarının Besin Elementlerinin ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş : 26/11/2019
Kabul : 06/12/2019

Anahtar Kelimeler:
Besin elementi
Biyolojik aktivite
Gundelia tournefortii
Antioksidan
Antiproliferatif etki

ÖZ

Bu çalışmada, *Gundellia tournefortii* bitkisinin tohumlarından elde edilen su ekstraktının GC/MS (Gaz kromatografisi -Kütle spektrometresi) analizi ile genel olarak içeriğinin değerlendirilmesi, makro ve mikro besin elementi konsantrasyonları, antimikrobiyal aktivitesi, toplam antioksidan seviyesi (TAS), toplam oksidan seviyesi (TOS), oksidatif stres indeksi (OSI) değerlerinin belirlenmesi ve çeşitli hücre hatları üzerindeki anti-kanserojen niteliklerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. TAS, TOS ve OSI değerlerini tespit etmek için Rel Assay Diagnostics kitler kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite analizleri, Mikrodilüsyon Broth yöntemi ile Minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değeri belirlenerek, *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (ATCC11778), *Klebsiella pneumonia* (ATCC 13883), *Candida albicans* (ATCC 10231) ve *Candida tropicalis* (DSM11953) mikroorganizmaları üzerinde yapılmıştır. Sitotoksik aktivite ise, normal fare fibroblast hücre hattı, HUVEC ve 3 farklı insan kanser hücre hattında MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuç olarak, *Gundelia tournefortii* bitki ekstraktının *S. aureus* bakterisi üzerinde orta düzeyde, diğer mikroorganizmalar üzerinde ise zayıf düzeyde antimikrobiyal aktivite, iyi derecede antioksidan aktivite ve bazı hücrelerde sitotoksik aktivitesinin olduğu tespit edilmiştir. Bitkinin oksidatif stres indeksinin ise, düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, makro ve mikro besin elementi içeriği bakımından *Gundellia tournefortii* bitkisinin %3,64 N, %0,11 P, %3,78 K, %0,22 Ca, %0,57 Mg, 268,4 mg/kg Fe, 16,7 mg/kg Zn, 19,4 mg/kg Mn ve 8,3 mg/kg Cu konsantrasyonlarına sahip olduğu belirlenmiştir.

[a] *handansarac@cumhuriyet.edu.tr* *https://orcid.org/0000-0001-7481-7978*
[b] *ademirbas@cumhuriyet.edu.tr* *https://orcid.org/0000-0003-2523-7322*
[c] *sdurna@cumhuriyet.edu.tr* *https://orcid.org/0000-0003-4946-5602*
[d] *mehmetatas@cumhuriyet.edu.tr* *https://orcid.org/0000-0002-9425-0080*
[e] *ozge.cevik@adu.edu.tr* *https://orcid.org/0000-0002-9325-3757*
[f] *neruygur@cumhuriyet.edu.tr* *https://orcid.org/0000-0002-4674-7009*

This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License

Giriş

Gıda ve ilaç arasında önemli bir bağın olduğuna inanılmaktadır. Özellikle gıda olarak tüketilen bitkiler ve tıbbi etkileri birbirlerinden tamamen ayrı tutulamazlar (Ceylan ve Yücel, 2015). Bu nedenle, yenilebilir yabani bitkiler, besinsel içerikleri ve biyoaktif özelliklerinden dolayı insan sağlığında önemli bir rol oynamaktadırlar (Ceylan ve Yücel, 2015; Konak ve ark., 2017). Literatürde yabani bitkilerin yenilebilir kısımları; vitamin, mineral ve besin elementleri açısından oldukça zengin kaynaklar olarak tanımlanmaktadır (Yıldırım ve ark., 2001; Turan ve ark., 2003; Yücel ve ark., 2012). Ayrıca, birçoğunun antioksidan, antimikrobiyal, antikarsinojenik, antimutajenik etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Yücel ve ark., 2012). Son yıllarda ise özellikle antikanser özelliği tespit edilen bitkilerin etken maddelerine yönelik çalışmalarda artış görülmektedir. Bununla birlikte, *in vitro* ortamda umut vaadedici antikanser özellik gösteren ancak henüz *in vivo* çalışmaları gerçekleştirilmemiş birçok bitki türü bulunmaktadır. Bu bitkilerin veya ürünlerinin kanser tedavisinde etkinliğini belirlemek için daha kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır (Desai ve ark., 2008; Top, 2018).

Asteraceae familyasının bir üyesi olan Kenger (*Gundelia tournefortii*); 20-30 cm boyunda, tek tohumlu, dikenli, çok yıllık otsu yabani yenilebilir bir bitkidir (Yıldız, 2014; Konak ve ark., 2017). Özellikle Kıbrıs, Mısır, İran, İsrail, Ürdün, Azerbaycan ve Türkmenistan olmak üzere Asya kıtasının ılımlı bölgelerinde doğal olarak yetişmektedir (Çoruh ve ark., 2007; Konak ve ark., 2017). Ülkemizde ise Akdeniz, Orta, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yayılış gösteren *Gundelia tournefortii* bitkisine değişik iklim ve rakımlarda da rastlanabilmektedir (Asadi–Samani ve ark., 2013; Karaaslan ve ark., 2014; Konak ve ark., 2017).

Kenger bitkisi, iyi bir besin kaynağı olmasının yanı sıra yüzyıllardır birçok toplum tarafından geleneksel tıpta kullanılmıştır. Bitkinin kramplara, hazımsızlığa ve migrene iyi geldiği bilinmektedir. Ayrıca, karaciğer iltihabı, safra yolu iltihabı, siroz, kabakulak, vitiligo, ishal, bronşit ve kronik karaciğer hastalıklarında etkili olduğu rapor edilmektedir (Çoruh ve ark., 2007; Azeez ve Kheder, 2012; Asadi–Samani ve ark., 2013; Tabibian ve ark., 2013; Karaaslan ve ark., 2014). Bunların dışında özellikle saplarının karaciğer koruyucu ve kan temizleyici olduğu, bitkinin hipoglisemik, anti-inflamatuar, anti-parazit, antibakteriyel ve antioksidan etkilerinin de olduğu belirtilmiştir (Çoruh ve ark., 2007; Polat, 2012; Konak ve ark., 2017).

Bu çalışmada, Kenger (*Gundellia tournefortii*) bitkisinin tohumlarından elde edilen su ekstraktının GC/MS analizi ile genel olarak içeriğinin değerlendirilmesi, makro ve mikro besin elementi konsantrasyonları, antimikrobiyal aktivitesi, toplam antioksidan seviyesi (TAS), toplam oksidan seviyesi (TOS), oksidatif stres indeksi (OSI) değerlerinin belirlenmesi ve çeşitli hücre hatları üzerindeki anti-kanserojen niteliklerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bitki Materyali

Kenger bitkisi, 2019 yılında Mayıs-Ağustos ayları döneminde Sivas ilinden, Kenger bitkisinin kültüre alınarak çoğaltmasına yönelik çalışmaları olan bir yetiştiricinin bahçesinden toplanmıştır. Toplanan bitki örneklerinin çalışmada kullanılacak olan tohumları ayıklanarak, oda koşullarında gölgede kurutma yapılmıştır. Bitkinin tür teşhisi ise, Flora of Turkey'in 5.'inci cildinden yararlanılarak yapılmış olup (Davis, 1975), teşhis sonucunda *Gundellia tournefortii* L. (B7 Sivas: Merkez, bozkır, 1523 m, 21.07.2018. M. Sevindik 1502) türüne ait olduğu belirlenmiştir.

Su Ekstraksiyonu

Kurutulan tohumlar ev tipi rondoda parçalanmış ve sonrasında su ekstraksiyonu yapılmıştır. Su ekstraksiyonu işleminde, 100 g öğütülmüş Kenger tohumu üzerine 1000 mL (80°C) distile su eklenerek 30 dak boyunca demlenmiştir (Mata ve ark., 2007). Süre sonunda filtre kağıdı (Whatman mavi band) yardımıyla süzme işlemi yapılmıştır. Süzük içerisinden çözücü olarak kullanılan su liyofilize edilerek uzaklaştırılmıştır.

Makro ve Mikro Besin Elementi Konsantrasyonu Tayini

Kenger bitkisi tohumları agat değirmende öğütülmüş ve H_2O_2-HNO_3 asit karışımı ile yaş yakmaya tabi tutulmuştur. Elde edilen süzükte P kolorimetrik olarak 882 nm'de spektrofotometrede (Murphy ve Riley, 1962)'e göre, Ca, Mg, K, Fe, Mn, Zn ve Cu konsantrasyonları Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre (Shimadzu AA-7000) ile, N konsantrasyonları ise Kjeldahl destilasyon yöntemi ile (Bremner, 1965) belirlenmiştir.

GC/MS Analizi

Kenger bitkisinin tohumlarından elde edilen su ekstraktının GC/MS analizi Kastamonu Üniversitesi, İleri Teknoloji Araştırma ve Geliştirme Merkezi'nde hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır. Analizde, RTX-5MS Kapiler kolon (30 m; 0,25 mm; 0,25 μm) aparatı, Shimadzu GCMS QP 2010 ULTRA cihazı ve taşıyıcı gaz olarak Helyum (0,7 mL/min) kullanılmıştır. Kolon fırını sıcaklığı 40°C ve Enjeksiyon sıcaklığı 250°C, basınç ise 100 kPa olarak ayarlanmıştır. Enjeksiyon modu split ve split oranı 5 olarak seçilmiştir. Enjeksiyon hacmi 1,0 mikrolitre ve fırın sıcaklık programı: 40°C'de 3 dak 40°C'den 240°C'ye 4°C/dak artışla toplam süre 53 dak olarak belirlenmiştir. İnterface sıcaklığı 250°C ve iyon kaynağı sıcaklığı 200°C olarak kullanılmıştır. Dilüsyon 1/10 oranında hekzan ile yapılmıştır.

Antimikrobiyal Aktivite Tespiti

Kenger tohumu su ekstraktının mikroorganizmalara karşı Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu'nu (MIC) belirlemek amacıyla Mikrodilüsyon Broth yöntemi kullanılmıştır (Eloff, 1998). Çalışmada, *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (ATCC11778), *Klebsiella pneumonia* (ATCC 13883), *Candida albicans* (ATCC 10231) ve *Candida tropicalis* (DSM11953) mikroorganizmaları kullanılmıştır.

Ekstrakt, %40 Dimethyl sulfoxide (DMSO) içerisinde çözdürülerek derişik çözeltiler hazırlanmıştır. Bakteriler için Mueller Hinton Broth (Accumix® AM1072); mayalar için Saboraud Dekstroz Broth (Himedia ME033) besiyerleri kullanılmıştır (CLSI, 2002; CLSI, 2012).

Üreme kontrol olarak 12. sıradaki plate kuyucukları kullanılmıştır. İlk sırada bulunan kuyucuklara 10 µL ekstrakt eklenmiş ve seri sulandırım yapılmıştır. Öze ile kanlı agar besiyerinde üreyen mikroorganizmalardan alınarak, McFarland 0,5 bulanıklığında süspansiyon hazırlanmıştır. Bakteri suşları için 5×10^5 CFU/mL, maya suşları için 0,5-2,5$\times10^3$ CFU/mL olacak şekilde her kuyucuğa 50'şer µL mikroorganizma süspansiyonu eklenmiştir. Bakteri suşlarının eklendiği plaklar 37°C'de, maya suşlarının eklendiği plaklar ise 35°C'de 16-24 saat aralığında inkübasyona bırakılmıştır. MIC değeri olarak, bakteri kolonisinin görünümünün azaldığı ilk kuyucuklar kabul edilmiştir. Analiz 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

Antioksidan Aktivite Değerlerinin Belirlenmesi

Bitki tohumu su ekstraktının total antioksidan içeriği (TAS), total oksidan içeriği (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) ticari olarak satılan Rel Assay Diagnostic kitleri ile belirlenmiştir (Erel, 2004; Erel, 2005). TAS ve TOS analizleri için referans olarak sırası ile Trolox ve hidrojen peroksit standartı kullanılmıştır. Oksidatif stres indeksi (OSI (Arbitrary Unit = AU)) değeri hesaplanırken aşağıdaki formül kullanılmıştır (Erel, 2005):

$$\text{OSI (AU)} = \frac{\text{TOS, µmol } H_2O_2 \text{ equiv./L}}{\text{AS, mmol Trolox equiv./L}\times10}$$

Hücre Kültürü Çalışmaları

Bitki tohumunun su ekstraktının antikanserojen aktivitesinin belirlenmesinde, Meme Kanseri Hücre Hattı (MCF-7; Human breast adenocarcinoma cell), Sağlıklı İnsan Endotelyal Hücre Hattı (HUVEC; human umbilical vein endothelial cel), İnsan Mide Kanseri Hücre Hattı (MKN-45; Human gastric cancer cell line), Prostat Kanseri Hücre Hattı (PC3; Human prostate cancer cell line) ve Fare Fibroblast Hücre Hattı (L929; Mouse fibroblast cell line) kullanılmıştır.

Hücrelerin Büyütülüp Çoğaltılması

Çalışmada kullanılan hücre hatları 37°C'lik %5 CO_2 ve %95 nem içeriğine sahip bir inkübatör içinde 25 cm^2 flasklarda (Corning-Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA), yüksek glukoz, 2 mM L-glutamine ve sodyum piruvat içeren Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) ve %10 FBS içerikli besiyerlerinde kültüre edilmiştir. Hücre kültürü ortamı olarak Penicilin-Streptomycin (100 ünite), L-Glutamine ve $NaHCO_3$ içeren DMEM (Gibco Invitrogen) besiyeri kullanılmıştır. Büyüyen hücreler pasajlanırken Tripsin-EDTA eklenmiş ve CO_2 etüvünde yaklaşık 1 dk. tutulmuştur. Daha sonra besiyeri eklenerek hücreler falkon tüpe toplanıp oda sıcaklığında 1000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üst faz atılıp, çöken pellet medyumda süspande edilip, hücre sayımı yapılarak kültür platelerine ekim yapılmıştır (Nuve MN 120). 96 kuyucuktan (100 µL/plate boşluğunda 5×10^3 hücre olacak şekilde) her birine 200 µL'lik karışım konulmuştur.

MTT Testi

Bu çalışmada, hücre canlılığının saptanması için MTT yöntemi kullanılmıştır. MTT testi (3-[4, 5-dimetilltiyazol-2-y1]-2, 5-difenil tetrazolyum bromür) hücrenin metabolik aktivitesini değerlendirmek için kullanılan kolorimetrik bir analiz yöntemidir. Bu yönteme göre, hücreler suda çözünen MTT'yi çözünür olmayan mor formazana dönüştürürler. Formazan daha sonra çözünür hale getirildiğinde, konsantrasyonu optik yoğunluk ile belirlenebilir.

Hücre ekimi yapılan 96 kuyucuk platelere hücrelerin yapışmasını takiben farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan Kenger bitki tohumlarının su ekstraktları eklenmiştir. 24 saat sonra kuyucuklara 12 mM'lık MTT çözeltisinden 10 µL eklenip, 4 saat 37°C'de %5 CO_2 içeren etüvde inkübasyona bırakılmıştır. 4 saat sonrasında oluşan mor renkli formazan kristallerini çözmek için 0,01M HCl'de çözündürülen SDS'ten 100 µL eklenip, 37°C'de %5 CO_2 içeren etüvde inkübasyona bırakılmıştır. 4 saat sonra oluşan mor rengin absorbansı 570 nm'de Elisa plaka okuyucu ile ölçülmüştür.

MTT deneyleri sonucunda, IC_{50} değerleri Graphpad programı kullanılarak hesaplanmıştır. IC_{50} değerleri 100 µM'dan yüksek olan bitki ekstraktlarında ayrıntılı antikanser etki çalışmaları yapılmamıştır. Çünkü, NCBI kanser enstitüsü tarafından 100 µM değerinin üzerindeki IC_{50} değerlerini veren ekstraktların belirgin bir antikanserojen etkisinin olmadığı kabul görmektedir.

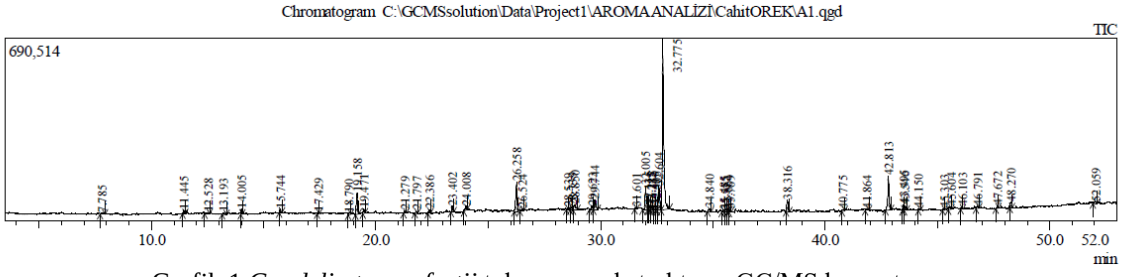
İstatistiksel Analiz

Verilerin analizinde SPSS 22.0 (IBM Corparation, Armonk, New York, United States) programı kullanılmıştır.

Bulgular

GC/MS Analizi Bulguları

Sivas ilinden toplanan Kenger bitkisinin tohumlarından elde edilen su ekstraktının kimyasal kompozisyonlarını gösteren GC/MS analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. GC/MS kromatogramlarından ve kromatogram dökümünden oluşturulan çizelgelerde, bitki tohumlarının su ekstraktında 50 farklı bileşenin olduğu görülmektedir (Grafik 1, Çizelge 1). Bu bileşenlerden en fazla miktarda bulunan maddenin Diethyl Phthalate (%37,89) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Bulunma miktarlarına göre tanımlanmış diğer bazı maddeler ise; Cycloheptasiloxane, Tetradecamethyl, 1-Tetradecanol, 1-Hexadecene, Dibutyl phthalate olarak sıralanabilir.



Grafik 1 *Gundelia tournefortii* tohumu su ekstraktının GC/MS kromatogramı
Graphic 1 GC/MS chromatogram of Gundelia tournefortii seed water extract

Çizelge 1 Gundelia tournefortii tohumu su ekstraktının kimyasal bileşimi
Table 1 Chemical composition of Gundelia tournefortii seed water extract

Sıra No	R. Time	Alan	% Alan	Bileşiğin Adı
1	7,785	43560	0,60	
2	11,445	43016	0,60	1-Decene
3	12,528	44440	0,62	Nonane, 2,5-dimethyl-
4	13,193	34032	0,47	Benzenemethanol (CAS)
5	4,005	60967	0,85	Tetradecane
6	15,744	40385	0,56	Decane 3,7-dimethyl-
7	17,429	31492	0,44	
8	18,790	34928	0,49	
9	19,158	279097	3,88	1-Dodecanol
10	19,471	55287	0,77	Dodecane (CAS)
11	21,279	31229	0,43	Tridecane
12	21,797	37998	0,53	Heptadecane
13	22,386	51730	0,72	Dodecane, 4,6-dimethyl-
14	23,402	80705	1,12	(R)-(+)-Citronellic acid
15	24,008	72558	1,01	Dodecane, 2,6,11-trimethyl-
16	26,258	417849	5,80	1-Tetradecanol (CAS)
17	26,524	39643	0,55	Tetradecane
18	28,539	30645	0,43	Dodecane, 4,6-dimethyl-
19	28,739	43744	0,61	
20	28,850	126189	1,75	Diethyl Phthalate
21	29,623	47306	0,66	Eicosane
22	29,744	203227	2,82	Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-
23	31,601	40124	0,56	Phthalate <diethyl>
24	32,005	423849	5,89	Diethyl Phthalate
25	32,135	42993	0,60	
26	32,215	59219	0,82	
27	32,285	51020	0,71	
28	32,419	89077	1,24	
29	32,505	65481	0,91	
30	32,604	367220	5,10	1-Hexadecene (CAS)
31	32,775	2728442	37,89	Diethyl Phthalate
32	34,840	58354	0,81	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-
33	35,485	39005	0,54	
34	35,555	41102	0,57	
35	35,664	34176	0,47	
36	35,769	31395	0,44	Tridecane, 5-propyl-
37	38,316	148627	2,06	1-Nonadecene
38	40,775	30792	0,43	
39	41,864	34243	0,48	
40	42,813	555262	7,71	Dibutyl phthalate
41	43,495	73914	1,03	1-Nonadecene
42	43,546	54782	0,76	
43	44,150	38097	0,53	
44	45,303	32274	0,45	
45	45,604	66057	0,92	TRANS-BETA-IONON-5,6-EPOXIDE
46	46,103	38060	0,53	
47	46,791	52384	0,73	
48	47,672	35513	0,49	9-Octadecanoic acid (Z)-, tetradecyl ester
49	48,270	80979	1,12	Octadecanoic acid, ethyl ester
50	52,09	38606	0,54	
		7201074	100,00	

Çizelge 2 Kenger tohumunun N, P, K, Ca ve Mg konsantrasyonları (%)
Table 2 N, P, K, Ca and Mg concentrations of Kenger seed (%)

Bitki	N	P	K	Ca	Mg
Kenger tohumu	(%)				
	3,64	0,11	3,78	0,22	0,57

Çizelge 3 Kenger tohumunun Fe, Zn, Mn ve Cu konsantrasyonları (mg/kg)
Table 3 Fe, Zn, Mn and Cu concentrations of Kenger seed (mg/kg)

Bitki	Fe	Zn	Mn	Cu
Kenger tohumu	(mg/kg)			
	268,45	16,75	19,46	8,26

Çizelge 4 *Gundelia tournefortii* (Kenger) tohumunun antimikrobiyal aktivitesi (mg/mL)
Table 4 Antimicrobial activity of Gundelia tournefortii (Kenger) seed (mg/mL)

Bitki	*E.coli*	*S.aureus*	*P.aeruginosa*	*K.pneumoniae*	*B.cereus*	*E.faecalis*	*C.albicans*	*C.tropicalis*
	ATCC 25922	ATCC 29213	ATCC 27853	ATCC 13883	ATCC 11778	ATCC 29212	ATCC 10231	DSM 11953
KTSE	>5	0.3125	5	>5	>5	>5	>5	>5

KTSE: Kenger tohumu su ekstraktı

Çizelge 5 *Gundelia tournefortii* tohum ekstraktının TAS, TOS ve OSI değerleri
Table 5 TAS, TOS and OSI values of Gundelia tournefortii seed extract

Bitki	TAS mmol/L	TOSµmol/L	OSI
Gundelia tournefortii (Kenger) tohumu	6,831±0,489	3,712±0,584	0,054±0,463

Değerler ortalama ±SD olarak verilmiştir.

Çizelge 6 Kenger tohum ekstraktının farklı hücre hatlarında IC_{50} düzeyleri (µM)
Table 6 IC_{50} levels in different cell lines of Kenger seed extract (µM)

	IC_{50} (µM)				
Bitki	MKN-45	PC3	HUVEC	MCF-7	L929
Kenger tohumu su ekstraktı	237,040	68,855	612,18	348,54	458,32

Makro ve Mikro Besin Elementi Konsantrasyonu Bulguları

Kenger bitkisi tohumlarının bazı makro ve mikro element konsantrasyonları Çizelge 2 ve Çizelge 3'te verilmiştir.

Araştırmada, Kenger bitkisi tohumlarının makro ve mikro element konsantrasyonları belirlenmiş ve buna göre azot, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, çinko, mangan ve bakır konsantrasyonları sırasıyla %3,64 N, %0,11 P, %3,78 K, %0,22 Ca, %0,57 Mg, 268,45 mg/kg Fe, 16,75 mg/kg Zn, 19,46 mg/kg Mn ve 8,26 mg/kg Cu şeklindedir (Çizelge 2, 3). Yıldız (2014) Yukarı Fırat Havzasında yetişen; Kenger (*Gundelia tournefortii* L.), bitkisinde bazı polifenol ve bazı eser elementleri belirlemeyi amaçladığı çalışmada, Pertek/Tunceli, Karaca/Diyarbakır ve Yazıkonak/Elazığ bölgelerinden Kenger bitkisi toplamıştır. Karaca bölgesinde yetişen Kenger bitkisinde; 20,68 mg/kg Cu, 52,47 mg/kg Mn, 32,82 mg/kg Cr, 1825,42 mg/kg Fe, 794,42 mg/kg Zn, Pertek bölgesinde yetişen Kenger bitkisinde; 22,45 mg/kg Cu, 56,48 mg/kg Mn, 38,62 mg/kg Cr, 1454,25 mg/kg Fe, 741,35 mg/kg Zn, Yazıkonak bölgesinde yetişen Kenger bitkisinde; 18,73 mg/kg Cu, 61,62 mg/kg Mn, 34,71 mg/kg Cr, 1850,42 mg/kg Fe, 798,29 mg/kg Zn, konsantrasyonu belirlemiştir.

Antimikrobiyal Aktivite Bulguları

Kenger tohumunun su ekstraktının bazı bakteri ve maya suşları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi Çizelge 4'te verilmiştir. Değerlendirme, MIC değerleri 0.1 mg/mL veya daha düşük olduğunda önemli, 0,1<MIC≤0,625 mg/mL aralığında orta derecede etkili ve 0,625 mg/mL'den fazla olduğunda ise zayıf etkili olarak yapılmıştır (Kuete, 2010; Awouafack ve ark., 2013). Genel olarak Kenger tohumu su ekstraktının, denenen 8 farklı mikroorganizma üzerinde zayıf nitelikte antimikrobiyal aktivitesinin olduğu belirlenmiştir. Sadece *S. aureus* bakterisinde 0,3125 mg/mL değeriyle orta düzeyde bir antimikrobiyal etkinliğinin olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4).

Antioksidan Aktivite Bulguları

Çalışmanın antioksidan aktivite bulguları değerlendirildiğinde, genel olarak kenger tohumunda orta düzeyde bir antioksidan etkinlik olduğu tespit edilmiştir. Bitki tohumundaki oksidatif stress indeksi (OSI) ise, oldukça düşük bulunmuştur (Çizelge 5).

In vitro Antiproliferatif Etkinlik Bulguları

Kenger tohumu su ekstraktının 1, 10, 100 ve 1000 µg/mL gibi değişen derişimlerdeki dozları, 5 farklı hücre hattı üzerinde uygulanarak, 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Hücrelerde IC_{50} değerleri Graphpad programında hesaplanmış ve hücre ölümlerinin %50 oranında olduğu konsantrasyonlar tespit edilmiştir. Ekstraktın, farklı hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerini gösteren IC_{50} değerleri aşağıdaki tabloda verilmiştir (Çizelge 6). Prostat kanseri hücre hattı dışında diğer hücre hatlarında Kenger tohum ekstraktının antikanserojen etkinliğini gösteren IC_{50} değerlerinin genel olarak 100 µM dozunun üzerinde olduğu belirlenmiştir. Sadece PC3 hücre hattında 68,855 olarak nispeten daha düşük bir IC_{50} değeri elde edilmiştir. Genel olarak, Kenger tohumu su ekstraktının HUVEC ve L929 hücre hattı dışında çalışılan diğer hücre hatları üzerinde orta düzeyde bir antiproliferatif etkinlik gösterdiği söylenebilir. HUVEC ve L929 hücre hatları üzerinde ise zayıf sitotoksik etkisi söz konusudur (Çizelge 6).

Tartışma

Son yıllarda sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması nedeniyle, bitkisel ürünlere olan talep artmıştır. Bu bağlamda, özellikle halk tarafından tıbbi amaçlı kullanılan yabani bitkilerin incelenmesi ve bunlar üzerinde kapsamlı araştırmaların yapılması, antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik etkilerinin ortaya çıkarılması insan sağlığı ve Türk halk hekimliği açısından oldukça önem taşımaktadır (Yücel ve Tülükoğlu, 2000; Top, 2018).

Karaslan ve ark. (2014) yaptıkları bir çalışmada *Gundelia tournefortii* bitkisinin suda çözünen antioksidanlar açısından zengin bir bitki olduğunu tespit etmişlerdir. Ceylan ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada yine Erzurum ilinden toplanan *Gundellia* sp. bitkisinin antioksidan aktivitesinin çok yüksek olduğu belirlenmiş ve Van ilinden toplanan örneklerle karşılaştırmalar yapılmıştır. Yaptığımız bu çalışma da, Sivas ilinde kültürü yapılan Kenger bitkisinin tohumundan elde edilen su ekstraktının antioksidan etkinliğinin oldukça yüksek olduğu, düşük OSI değeriyle de son derece dikkat çekici olduğu görülmüştür. Bu nedenle Kenger bitkisi, gıda olarak kullanılabilen, vücuttaki oksidatif hasarı azaltabilecek nitelikte güçlü bir antioksidan kaynağı olabilir. Ayrıca, serbest radikallerin sebep olduğu hasarların giderilmesinde faydalanılabilecek etken maddelerin eldesinde ve üretilmesinde daha ayrıntılı olarak ele alınması gereken bitkilerden birisi de olabilir. Konak ve ark. (2017) Kenger bitkisinin antioksidan özelliklerini belirledikleri bir çalışmada, bitkinin potansiyel bir antioksidan kaynağı olduğunu ve doğal bir antioksidan kaynağı olarak günlük olarak tüketilebileceği sonucuna ulaşmışlardır. Ancak çalışmada yaptığımız analizlerden biri olan GC/MS analizinde, Kenger bitkisinde 50 farklı bileşenin olduğu görülmektedir ve bu bileşenlerden bazıları tanımlanmamıştır. Bu yüzden daha ayrıntılı bir kimyasal içerik analizinin yapılması, içerisinde toksik veya uyarıcı nitelikte olabilecek bileşenlerin bulunmadığından emin olunması da gıdalarda kullanılabilecek güçlü bir antioksidan kaynağı olarak önerilebilmesi için son derece önemlidir. Diğer taraftan daha önce yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, ekstraksiyon çözücüsünün polaritesi ve bitkinin toplandığı yerin coğrafi durumu nedeniyle, aynı bitkinin GC/MS analizi sonucunda farklı bileşenlere sahip olduğu belirlenebilir (Jamilah ve ark., 2012). 2013 yılında *Gundellia* sp. türü üzerinde yapılan bir derleme çalışmasında, çeşitli ekstraksiyon metodlarıyla elde edilen Kenger bitkisinin içeriğinde bulunan çok sayıda bileşen açıklanmıştır. Yine aynı çalışmada *Gundellia* sp. bitkisinin metanol ekstraktının çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinliklerinden bahsedilmiştir (Asadi-Samani ve ark., 2013). Bu çalışmaya benzer şekilde yaptığımız çalışmada Sivas'tan toplanan bitki örneklerinin de *S. aureus* üzerinde etkili olabileceği belirlenmiştir.

Topçuoğlu ve ark. (2015) Kenger sakızının mutant *Streptococcus* suşları üzerindeki antibakteriyal etkilerinin ve 3T3 Fibroblast hücre hattındaki sitotoksik etkisini araştırdıkları bir çalışmada, Kenger sakızının mutant *Streptococcus* suşlarına karşı spesifik ve uzun süreli antibakteriyal aktiviteye sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Ayrıca, Kenger sakızının aseton ekstraktının orta düzeyde antiproliferatif özelliğe sahip olduğunu da belirlemişlerdir. Abu-Lafi ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada ise, Kenger bitkisinin metanol özütlerinin kolon kanseri hücre hattı üzerinde orta derecede antiproliferatif etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmamızın sonuçlarına göre de denenen 5 hücre hattından iki tanesi olan L929 ve HUVEC normal hücre hatlarında Kenger tohumlarının sitotoksik aktivitesi çok zayıftır. MCF-7, PC3, MKN-45 kanser hücre hatları içinde de sadece PC3 üzerinde 68,855 IC_{50} değeri ile umut vadedici bir sitotoksik etkiye sahiptir. Diğer kanser hücre hatlarında çok fazla etkisi gözlenmemiştir. Fakat, halk arasında besin kaynağı olarak ve hastalıklara şifalı geldiği yönünde tüketilmesi sebebiyle daha ayrıntılı analizlerin yapılması, farklı hücre hatları üzerinde etkilerinin ortaya konulması ve araştırmaların yapılması uygun olacaktır. Yapılan bu çalışmada, Kenger bitkisi tohumlarının kuvvetli bir antimikrobiyal etkisi belirlenememiştir.

Sonuç ve Öneriler

Bu çalışma kapsamında, Sivas ilinde kültür ortamından toplanan *Gundelia tournefortii* bitki tohumlarının; antioksidan, oksidan, antimikrobiyal, antikanserojen potansiyelleri ile birlikte besin elementi konsantrasyonları ve GC/MS analizi ile kimyasal kompozisyonu araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; bitki tohumlarının yüksek derecede antioksidan potansiyele sahip olduğu ve denenen mikroorganizmalar içerisinde sadece *S. aureus* üzerinde orta düzeyli bir antimikrobiyal etkinliğinin bulunduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, *Gundelia tournefortii* bitkisinin biyoaktif bileşenlerinin ayrıntılı olarak belirlenmesi, farmakolojik özelliklerini ortaya koymaya yönelik farmakognozi alanında ileri düzeyde projelerin planlanması ve farklı hücre hatları üzerindeki etkilerini moleküler seviyede incelemeye yönelik araştırmaların yapılması ileriye dönük olarak faydalı olacaktır.

Yapılan bu çalışmanın mevcut literatür bilgisine katkı sağlayabileceğine ve daha sonra yapılacak olan çalışmalar için model moleküllerin seçiminde, tasarımında ve planlanmasında, nanopartikül sentezlerinde ve biyoyararlı bileşiklerin dizayn edilmesinde faydalanılabilecek nitelikte olabileceğine inanılmaktadır.

Teşekkür

Bitkinin tanımlanmasında ve tür teşhisinin yapılmasında destek veren Dr. Mustafa Sevindik'e ve bitki materyalini sağlama konusunda yardımcı olan Birgül Canikligil'e çok teşekkür ederiz.

Bu çalışma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje kodu: YMYO-007 ve V-066).

Kaynaklar

Asadi-Samani M, Rafieian-Kopaei M, Azimi N. 2013. Gundelia: a systematic review of medicinal and molecular perspective. Pakistan Journal of Biological Sciences, 16 (21): 1238-1247.

Awouafack MD, McGaw LJ, Gottfried S, Mbouangouere R, Tane P, Spiteller M, Eloff JN. 2013. Antimicrobial activity and cytotoxicity of the ethanol extract, fractions and eight compounds isolated from *Eriosema robustum* (Fabaceae). BMC Complementary and Alternative Medicine, 13 (1): 289.

Azeez OH, Kheder AE. 2012. Effect of *Gundelia tournefortii* on some biochemical parameters in dexamethasone-induced hyperglycemic and hyperlipidemic mice. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, 26 (2): 73-79.

Bremner JM. 1965. Method of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Methods. American Society of Agronomy Inc., ss: 1149-1178, Madison, USA.

Ceylan F, Yücel E. 2015. Düzce ve çevresinde gıda olarak tüketilen yabani bitkilerin tüketim biçimleri ve besin öğesi değerleri. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 15 (3): 1-17. DOI: 10.5578/fmbd.10227.

Ceylan S, Cetin S, Camadan Y, Saral O, Ozsen O, Tutus A. 2019. Antibacterial and antioxidant activities of traditional medicinal plants from the Erzurum region of Turkey. Irish Journal of Medical Science, 188 (4): 1303-1309.

CLSI. 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, approved standard. 2nd ed., NCCLS document M27- A2. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087- 1898, USA.

CLSI. 2012. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, approved standard. 9th ed., CLSI document M07-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA.

Çoruh N, Sağdıçoğlu Celep AG, Özgökçe F, İşcan M. 2007. Antioxidant capacities of *Gundelia tournefortii* L. extracts and inhibition on Glutathione-S-Transferase activity. Food Chemistry, 100 (3): 1249–1253. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.12.008.

Davis PH. 1975. Flora of Turkey. Edinburgh at the University Press. Edinburg, Vol. 5, 325 p.

Desai GA, Qazi NG, Ganju RK, El-Tamer M, Singh J, Saxena AK, Bedi YS, Taneja SC, Bhat HK. 2008. Medical plants and cancer chemoprevention. Curr Drog Metab, 9 (7): 581-591. DOI: 10.2174/138920008785821657.

Eloff JN. 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. Planta Med., 64: 711–713. DOI: 10.1055/s-2006-957563.

Erel O. 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clinical Biochemistry, 37 (4): 277- 285. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015.

Erel O. 2005. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clinical Biochemistry, 38 (12): 1103-1111. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008.

Jamilah J, Sharifa AA, Sharifah NRSA. 2012. GC-MS analysis of various extracts from leaf of Plantago major used as traditional medicine. World Appl Sci. J., 17: 67-70.

Karaaslan Ö, Çöteli E, Karataş F. 2014. Kenger (*Gundelia tournefortii*) bitkisindeki A, E, C vitaminleri ile malondialdehit ve glutatyon miktarlarının araştırılması. EÜFBED-Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7 (2): 159-168.

Konak M, Ateş M, Şahan Y. 2017. Yenilebilir yabani bitki *Gundelia tournefortii*'nin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 31 (2): 101-108.

Kuete V. 2010. Potential of Cameroonian plants and derived products against microbial infections: A review. Planta Med., 76: 1479–1491.

Mata AT, Proença C, Ferreira AR, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, Araújo MEM. 2007. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as portuguese food spices, Food chemistry, 103 (3): 778-786.

Murphy J, Riley JP. 1962. A modified single solution for the determination of phosphate in natural waters, Analtica Chemica Acta., 27: 31-36.

Polat B. 2012. Kayseri ve çevresinde yetişen bazı yabani meyvelerin biyoaktif özelliklerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.

Tabibian M, Nasri S, Kerishchi P, Amin G. 2013. The effect of *Gundelia tournefortii* hydro-alcoholic extract on sperm motility and testosterone serum concentration in mice. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences, 15 (8): 18-21.

Top R. 2018. Bazı önemli tıbbi bitkilerin antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Bartın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Bartın.

Topçuoğlu N, Laçin ÇÇ, Ergüven M, Bilir A, Sütlüpınar N, Külekçi G. 2015. Antibacterial effect of Kenger gum on mutans Streptococci and its cytotoxic effect on the 3T3 fibroblast cell line. Oral Health Prev. Dent., 13 (2): 157-162. DOI: 10.3290/j.ohpd.a32666.

Turan M, Kordali S, Zengin H, Dursun A, Sezen Y. 2003. Macro and micro mineral content of some wild edible leaves consumed in Eastern Anatolia. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B- Plant Soil Science, 53 (3): 129-137.

Yıldırım E, Dursun A, Turan M. 2001. Determination of nutrition contents of the wild plants used as vegetables in Upper Çoruh Valley. Turkish Journal of Botany, 25: 367-371.

Yıldız S. 2014. Yukarı Fırat havzasında yetişen Kenger (*Gundelia tournefortii* L.), Güllük (*Eremurus spectabilis* M. Bieb.) ve Işkın (*Rheum ribes* L.) bitkilerindeki polifenollerin ve bazı metallerin tayini. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Elazığ.

Yücel E, Tülükoğlu A. 2000. Gediz (Kütahya) çevresinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler. Çevre Koruma, 9 (36): 12-14.

Yücel E, Yücel Şengün İ, Çoban Z. 2012. The wild plants consumed as a food in Afyonkarahisar/Turkey and consumption forms of these plants. Biological Diversity and Conservation, 5 (2): 95-105.