T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI *EUPHORBİA* TÜRLERİNİN AĞIR METAL VE TÜRE ÖZGÜ SEKONDER METABOLİT İÇERİKLERİNİN LC-MS/MS, LC-MS-IT-TOF VE ICP-MS İLE METOT VALİDASYONU; ANTİOKSİDAN VE ANTİKANSER ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

İsmail YENER

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

MART – 2017

T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

İsmail YENER tarafından yapılan "Bazı *Euphorbia* Türlerinin Ağır Metal ve Türe Özgü Sekonder Metabolit İçeriklerinin LC-MS/MS, LC-MS-IT-TOF ve ICP-MS ile Metot Validasyonu; Antioksidan ve Antikanser Özelliklerinin Belirlenmesi" konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan : Prof. Dr. Mustafa SOYLAK

Üye : Prof. Dr. Hamdi TEMEL (Danışman)

Üye : Prof. Dr. Bekir BÜKÜN

Üye : Prof. Dr. Fırat AYDIN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Yeter YEŞİL

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 17/03/2017

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

18/04/2017

Doç. Dr. Sevtap SÜMER EKER

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ V.

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında, bilgisinden ve deneyiminden yararlandığım, sabrını ve yol göstericiliğini benden esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Hamdi TEMEL'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında her konuda fikir ve yardımlarını esirgemeyen Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi ikinci danışman hocam sayın Doç. Dr. Abdulselam ERTAŞ'a teşekkür ederim.

Biyolojik aktivite çalışmalarında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet Boğa'ya teşekkür ederim.

Metot validasyon çalışmalarında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi ve arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Mustafa Abdullah Yılmaz'a teşekkür ederim.

Tez bitkilerin toplanmasında ve teşhisini yapan Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğtim Fakültesi Biyoloji Bölümü Arş. Gör. Mehmet FIRAT'a teşekkür ederim.

Dicle Üniversitesi'nden arkadaşlarım Arş. Gör. Oğuz Çakır, Arş. Gör. Hilal Saruhan Fidan, Ebubekir İzol'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında sık sık ayrı kaldığım ve her zaman, her koşulda yanımda olan, desteğini esirgemeyen değerli aileme teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımı gerçekleştirmek için gerekli materyali sağlayan Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜBTAM)'ne teşekkür ederim.

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (DÜBAP) tarafından desteklenmiştir (Proje No: ECZACILIK. 15.004).

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR I

İÇİNDEKİLER II

ÖZET VI

ABSTRACT VIII

ÇİZELGE LİSTESİ X

ŞEKİL LİSTESİ XII

EK LİSTESİ XIV

KISALTMA VE SİMGELER XIX

1. GİRİŞ 1

2. KAYNAK ÖZETLERİ 9

2.1. *Euphorbiaceae* Familyası 9

2.2. *Euphorbia* L.Türlerinin Morfolojik özellikleri 10

2.3. *Euphorbia* L.Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı 11

2.4. Çalışılan *Euphorbia* Türleri 12

2.4.1. *Euphorbia* türleriyle İlgili Çalışmalar 19

2.5. Antioksidanlar 27

2.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması 31

2.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri 35

2.6.1. Folin Ciocalteu Fenol Reaktifiyle Toplam Fenolik Miktar Tayini Yöntemi 35

2.6.2. *β*-Karoten Renk Açılım Yöntemi 36

2.6.3. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi 36

2.6.4. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi 36

2.6.5. CUPRAC Yöntemi (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi) 37

2.7. Antialzheimer 37

2.8. Bitkilerin Sekonder Metabolitlerinin Belirlenmesinde Kullanılan ÖnemliAnalitik Teknikler 38

2.9. Gaz Kromatografisi (GC) 39

2.10. HPLC Teknikleri 40
2.10.1. HPLC ile Beraber Kullanılan Dedektörler 42
2.11. LC-MS Teknikleri 43
2.11.1. LC-MS/MS (Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle Spektrometresi) 43
2.12. LC-MS IT-TOF Hibrit Cihaz Sistemi 45
2.13. Bitkilerin Beslenmelerinde Gereksinim Duyulan Besin Elementleri 45
2.13.1. Metal Toksisitesi 46
2.13.2. Bitkilerin Biyomönitör Olarak Kullanımı 47
2.14. Metal Analizi için Kullanılan Temel Yöntemler 48
2.15. ICP-MS Analiz Tekniği 48
3. MATERYAL VE METOD 53
3.1. Bitkisel Materyal 53
3.2. Ekstrelerin Hazırlanması 53
3.3. Kullanılan Cihazlar 54
3.4. Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler 55
3.4.1. Toplam Fenolik Miktar Tayin Yöntemi 55
3.5. Toplam Flavonoid Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler 56
3.5.1. Toplam Flavonoid Miktar Tayin Yöntemi 56
3.6. Antioksidan ve Antikolinesteraz Tayin Yöntemlerinde Kullanılan Kimyasallar 57
3.7. Antioksidan Testlerinde Kullanılan Reaktifler ve Hazırlanışları 57
3.7.1. β–Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözelti 57
3.7.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti 57
3.7.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti 57
3.7.4. CUPRAC Yönteminde Kullanılan Çözeltiler 58
3.7.5. Antikolinesteraz Aktivite Tayininde Kullanılan Reaktiflerin Hazırlanışı 58
3.7.6. Ativite Tayininde Kullanılan Standart Çözeltilerinin Hazırlanması 59
3.8. Antioksidan Tayin Yöntemleri 59
3.8.1. β-Karoten-Linoleik Asit Yöntemi (Renk Açılım Aktivite Tayini) 60

3.8.2. DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Serbest Radikali Giderim Yöntemi 60
3.8.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi 61
3.8.4. CUPRAC Yöntemi 61
3.8.5. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi 62
3.8.5.1. AChE Aktivite Testi 62
3.8.5.2. BChE Aktivite Testi 62
3.9. Antikanser Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar ve Hücreler 63
3.9.1. MTT Testi ile Sitotoksisitenin Belirlenmesi 63
3.10. Ekstrelerin Yağ Asidi için Analize Hazırlanması 63
3.10.1. GC-MS ile Yağ Asidi Analizi Çalışma Şartları 64
3.11. LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar 64
3.11.1. LC-MS/MS Metod Validasyonunda Kullanılan Kimyasallar 65
3.12. LCMS IT-TOF Cihazı ve Kromatografik Şartlar 66
3.13. Örneklerinin Metal Analizine Hazırlanması 67
3.14. ICP-MS Cihazı ve Çalışma Şartları 68
3.14.1. Standart Referans Materyal (SRM) Maddenin Uygulanması 69
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 71
4.1. Ekstre Verim Sonuçları ve Tür Kısaltmaları 71
4.2. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoid Miktarı Tayini Sonuçları 72
4.3. Çalışılan *Euphorbia* Türlerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları 77
4.4. Metanol Ekstrelerinin CUPRAC Yöntemideki Absorbans Sonuçları 82
4.5. Çalışılan *Euphorbia* Türlerinin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları 85
4.6. Çalışılan *Euphorbia* Türlerinin Sitotoksite Sonuçları 87
4.7. Çalışılan *Euphorbia* Türlerinin Yağ asidi Sonuçları 90
4.8. LC-MS/MS ile 11 Fitokimyasal Maddenin Tanımlanması ve Kantitatif Analizi 92
4.9. LC-MS/MS Metod Validasyon Parametreleri 94
4.9.1. Doğrusallık (Lineerite) 94
4.9.2. Gerçeklik (Geri Kazanım) ve Kesinlik (Tekrarlanabilirlik) 94

4.9.3. Belirleme ve Tayin Alt Sınırları (LOD/LOQ) 95
4.9.4. Bağıl Standart Belirsizlik (U^{95}) 95
4.9.5. LC-MS/MS Metodundaki Analitlerin Kalibrasyon Grafikleri 95
4.9.6. LC-MS/MS Analizine İlişkin Standart ve Numune Kromatogramları 96
4.9.7. LC-MS/MS Metot Validasyon Çalışmaları 97
4.10. Metanol Ekstrelerinin LC-MS/MS ile Kantitatif Analizinin İncelenmesi 100
4.11. LC-MS/MS ile 27 Fitokimyasal Maddenin Metot Validasyon Parametreleri 104
4.11.1. LC-MS/MS ile 27 Fitokimyasal Maddenin Analizine İlişkin Örnek Standart veNumune Kromatogramları 106
4.11.2. LC-MS/MS ile 27 Fitokimyasal Maddenin Kantitatif Analiz Sonuçları 106
4.12. HPLC-IT-TOF-MS Sonuçları 119
4.13. *Euphorbia* Türlerinin Metal İçeriklerinin İncelenmesi 131
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 139
6. KAYNAKLAR 143
EKLER 155
ÖZGEÇMİŞ 217

ÖZET

BAZI *EUPHORBİA* TÜRLERİNİN AĞIR METAL VE TÜRE ÖZGÜ SEKONDER METABOLİT İÇERİKLERİNİN LC-MS/MS, LC-MS-IT-TOF VE ICP-MS İLE METOT VALİDASYONU; ANTİOKSİDAN VE ANTİKANSER ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

İsmail YENER

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

2017

Euphorbiaceae familyası dünyada ve ülkemizde çok fazla bulunan familyalardan biridir. *Euphorbiaceae* familyası 331 cins altında toplanmış yaklaşık 5000 türe sahip büyük familyalardan biridir. *Euphorbiaceae* familyasına ait *Euphorbia* L. cinsi, yaklaşık olarak 2 000 türle temsil edilmektedir. Özellikle yapılarında terpenoid, kumarin, steroid ve aromatik bileşikler içeriği bakımından zengin bir kaynak oluşturmaktadır. *Euphorbia* L. cinsinin ülkemizde 111 türü bulunmaktadır ve bu türlerden 14'ü endemiktir. *Euphorbia* cinsinin pek çok türü halk arasında tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Bazı türlerin siğillere, deri kanserine karşı etkili olduğu, antiviral, antiflamatuar, antipiretik ve analjezik olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Bunların yanı sıra antitümör, antifungal, antibakteriyel ve sitotoksik etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bu özelliklerin ise içerdiği terpenoid bileşiklerden ileri geldiğini gösteren pek çok sayıda yayın bulunmaktadır.*Euphorbia* cinsinin en belirgin özellikleri çok tahriş edici süt bulundurmalarıdır. Tahriş edici özellikleri, makrosiklik tipteki diterpenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada, halk arasında sütleğen olarak bilinen ve ıslah çalışmalarında geniş kullanıma sahip bazı *Euphorbia*türlerinin çeşitli kimyasal ve biyolojik parametreleri incelenmiştir. Yeni bir LC-MS/MS metodunun geliştirilmiş olmasının yanı sıra,çalışılan ekstreler grubumuz tarafından daha önce geliştirilen LC-MS/MS metodu ile fenolik içerikleri taranmıştır. GC-MS ile yağ asidi içerikleri tespit edilmiştir. Ayrıca ICP-MS ile ağır metal içeriği belirlenmiştir. Diğer taraftan ekstrelerin antioksidan ve sitotoksik aktiviteleri belirlenmiştir.

Çalışılan tüm türlerin toplam fenolik içerik bakımından zengin, toplam flavonoid içeriği bakımından ise fakir olduğu tespit edilmiştir. *E. macroclada* türünün diğer türlere göre fenolik içeriği daha zengin olduğu belirlenmiştir. Tüm çalışılan antioksidan yöntemlerinde *E.grisophylla* türünün oldukça yüksek bir antioksidan potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

E. fistulosa dışındaki türlerin genel olarak antikolinesteraz aktivite göstermediği ya da düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *E. falcata* türünün sağlıklı hücre serisi üzerinde toksik etki göstermeyip DLD-1 hücre serisi üzerinde etki göstermesi kayda değer bir bilgi olarak tespit edilmiştir. Çalışılan diğer *Euphorbia* türleri kayda değer sitotoksik etki göstermediği veya orta derecede sitotoksik etki gösterdiğibelirlenmiştir. LC-MS/MStaramalarına baktığımızda ise genel olarak çalışılan *Euphorbia* türlerinin kinikve tannik asit'in yanı sıra rutin, hesperidin ve hyperosid gibi flavonoidler bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan türlerin ağır metal içeriklerine bakıldığında literatürde belirlenen değerlerden yüksek olduğu ve bu nedenle *Euphorbia* türlerinin ıslah çalışmalarında kullanıla bilme potansiyeline sahip olduğu söylenilebilir.

Anahtar Kelimeler:*Euphorbia*, Antioksidan, Stotoksite, LC-MS/MS, GC-MS, Ağır Metal Antikolinesteraz, Fenolik Bileşikler

ABSTRACT

DETERMINATION OF HEAVY METALS AND SPECIES-SPECIFIC SECONDARY METABOLITES OF SOME *EUPHORBIA* SPECIES BY ICP-MS, LC-MS/MS (INCLUDING METHOD VALIDATION) AND LC-MS-IT-TOF; IDENTIFICATION OF ANTIOXIDANT AND ANTICANCER PROPERTIES

PhD THESIS

İsmail YENER

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

UNIVERSITY OF DICLE

2017

Euphorbiaceae is a very common family in our country and in the world. Euphorbiaceae is one of the biggest families that has around 5 000 species gathered under 331 genus. *Euphorbia* L. genus that belongs to Euphorbiaceae family is represented by aproximately 2 000 species. Especially, they are rich sources of terpenoids, coumarin, steroids and aromatic compounds. There are 111*Euphorbia* L. species in our country 14 of which are endemic. Many species of *Euphorbia* L. genus are used for therapeutic purposes in public. There are reports that some species are effective against warts and skin cancer; and have antiviral, antiflamatory, antipyretic and analgesic properties. Besides, it is known that they have antitumor, antifungal, antibacterial and cytotoxic properties. There are a great many studies which show that their terpenoid content is responsible for these properties. The most prominent feature of the Euphorbia genus is that it contains irritating milk. Their irritant properties are thought to originate from macrocyclic type diterpenes.

In this study, various chemical and biological parameters of some *Euphorbia* species, commonly known as sparrows and widely used in breeding studies, have been examined.In addition to the development of a new LC-MS/MS method, phenolic contents of the studied species were screened by the LC-MS/MS method previously developed by our group. Fatty acid content was determined by GC-MS. Additionally, heavy metal content was determined by ICP-MS. On the other hand, antioxidant and cytotoxic activities of the extracts were investigated. All of the studied species were found to be poor in total phenolic content-rich in total flavonoid content. *E. Macroclada* species is richer in terms of phenolic content than other studied species. *E. grisophylla* species is determined to have quite high antioxidant potential in all antioxidant methods. Species except from *E. fistulosa* were determined to show no or little

anticholinesterase activity. It was found to be a valuable information that *E. falcata* did not show any toxic effect on the healthy cell line and show cytotoxic effect on the DLD-1 cell line. When we look at the LC-MS/MS screening results, it has been found that generally the studied *Euphorbia* species are rich in terms of quinic and tannic acids as well as flavonoids such as rutin, hesperidin and hyperoside. When the studied species were investigated in terms of their heavy metal contents, they were determined to be higher than the literature results. Therefore, it can be said that *Euphorbia* species have the potential to be used in breeding studies

Keywords: *Euphorbia*, Antioxidant, Cytotoxicity, LC-MS/MS, GC-MS, Heavy Metal, Anticholinesterase, Phenolic Compounds.

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No **Sayfa No**

Çizelge 2.1. *Euphorbiaceae'*deki sekonder metabolitler ve etkileri 22
Çizelge 2.2. Euphorbiaceae ekstraklarının tıbbi patent örnekleri 23
Çizelge 2.3. Farklı *Euphorbia* türlerinden elde edilen fitokimyasallar 26
Çizelge 2.4. Antioksidanların sınıflandırılması 28
Çizelge 2.5. Reaktif oksijen ve azot türleri 29
Çizelge 2.6. Bitkisel ilaçlarda toksik metallerin limit değerleri 48
Çizelge 2.7. ICP-MS'te görülen genel interferanslar 51
Çizelge 3.1. *Euphorbia* türlerinin herbaryum kayıtları ve toplanma yeleri 53
Çizelge 3.2. ICP-MS analiz metoduna ait analitik parametreler 68
Çizelge 3.3. ICP-MS cihazı için çalışma şartları 69
Çizelge 3.4. Standart referans madde (CRM) (NIST 1573atomato leaves) değerleri 69
Çizelge 4.1. Ekstre verimleri ve tür kısaltmaları 71
Çizelge 4.2. Metanol ekstrelerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri 75
Çizelge 4.3. Farklı illerden toplanan *E.macrocla'*da türlerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri 77
Çizelge 4.4. Ekstrelerin β-Karoten, DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri 80
Çizelge 4.5. Farklı illerden toplanan *E.macrocla'*da türlerinin β-Karoten, DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri 82
Çizelge 4.6. Çalışılan*Euphorbia* türlerinin CUPRAC aktiviteleri 83
Çizelge 4.7. Farklı lokalitelerden toplanan *E.macrocla'*datürlerinin CUPRAC aktiviteleri 84
Çizelge 4.8. Çalışılan *Euphorbia* türlerinin antikolinesteraz aktivite sonuçları 85
Çizelge 4.9. Farklı lokalitelerden toplanan*E.macrocla'*datürlerinin metanol ekstrelerininantikolinesteraz aktivite sonuçları 87
Çizelge 4.10. *Euphorbia* türlerinin petrol eteri ekstrelerinin yağ asidi içerikleri 89
Çizelge 4.11. 11 Fitokimyasalın LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler 91
Çizelge 4.12. Standart maddeler için kullanılan kalibrasyon noktalarının konsantrasyonları 94
Çizelge 4.13. Eugenol için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 99
Çizelge 4.14. Eugenol için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışmaları 100
Çizelge 4.15. Eugenol için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 100
Çizelge 4.16. *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi 102
Çizelge 4.17. *E.macroclada* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi 104
Çizelge 4.18. 27 Fitokimyasal maddenin LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler 103
Çizelge 4.19. *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi 109
Çizelge 4.20. *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi 111
Çizelge 4.21. *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi 113
Çizelge 4.22. *E.macroclada* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi 115

Çizelge 4.23. *E.macroclada* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi 116
Çizelge 4.24. *E.macroclada* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi 118
Çizelge 4.25. Çalışılan *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin HPLC-IT-TOF-MS ile kalitatifanalizi sonucu molekül formülleri tespit edilen adları tahmin edilen sekonder metabolitler 118
Çizelge 4.26. *E.craspedia* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu 131
Çizelge 4.27. *E.denticulata* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu 132
Çizelge 4.28. *E.aleppica* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu 132
Çizelge 4.29. *E.eriophora*türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu 133
Çizelge 4.30. *E.grisophylla*türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu 134
Çizelge 4.31. *E.seguieriana* subsp.*seguieriana* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu 134
Çizelge 4.32. *E.fistulosa*türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu 135
Çizelge 4.33. Malatya'dan toplanan *E.macroclada* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu 136
Çizelge 4.34. Diyarbakır'dan toplanan *E.macroclada* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu 136
Çizelge 4.35. Van'dan toplanan *E.macroclada* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu 137
Çizelge 4.36. Trabzon'dan toplanan *E.macroclada* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu 138

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No		Sayfa No
Şekil 1.1.	2001 ve 2010 yılları arasında onaylanan ilaç kaynakları	3
Şekil 2.1.	İngenan diterpeninin iskelet yapısı (ingenol R_1= R_2= R_3= OH)	10
Şekil 2.2.	*E.craspedia*'nın Türkiye'deki dağılımı	12
Şekil 2.3.	*E.craspedia*'nınresmi	12
Şekil 2.4.	*E.macroclada*'nın Türkiye'deki dağılımı	13
Şekil 2.5.	*E.macroclada*'nınresmi	13
Şekil 2.6.	*E.denticulata*'nın Türkiye'deki dağılımı	13
Şekil 2.7.	*E.denticulata*'nınresmi	14
Şekil 2.8.	*E.aleppica*'nın Türkiye'deki dağılımı	14
Şekil 2.9.	*E.aleppica*'nınresmi	15
Şekil 2.10.	*E.eriophora*'nın Türkiye'deki dağılımı	15
Şekil 2.11.	*E.eriophora*'nınresmi	15
Şekil 2.12.	*E.grisophylla*'nın Türkiye'deki dağılımı	16
Şekil 2.13.	*E.grisophylla*'nın resmi	16
Şekil 2.14.	*E.seguieriana* subsp.*seguieriana*'nın Türkiye'deki dağılımı	17
Şekil 2.15.	*E.seguieriana* subsp.*seguieriana* resmi	17
Şekil 2.16.	*E.fistulosa*'nın Türkiye'deki dağılımı	17
Şekil 2.17.	*E.fistulosa*'nın resmi	18
Şekil 2.18.	*E.falcata*'nın Türkiye'deki dağılımı	18
Şekil 2.19.	*E.falcata*'nın resmi	19
Şekil 2.20.	Birincil antioksidanlar	33
Şekil 2.21.	İkincil antioksidanlar	34
Şekil 3.1.	Türlerin metanol ile maserasyonu	54
Şekil 3.2.	Türlerin maserasyonu işleminden sonra çözücü uçurma işlemi	54
Şekil 3.3.	Standart pirokatekolün ölçü grafiği	55
Şekil 3.4.	Standart kersetinin ölçü grafiği	56
Şekil 3.5.	LC-MS/MS metod validasyonu yapılan kimyasalların molekül yapıları	66
Şekil 3.6.	LC-MS/MS metodunda kullanılan kimyasalların molekül yapıları	66
Şekil 3.7.	Örneklerin öğütme sonrası görünümü	67
Şekil 4.1.	ECMM, EMMM, EDKM, EADM, EEDM, EMDM türlerinin canlı fibroblast hücre serisindeki stotoksik aktivitesi	88
Şekil 4.2.	EFDM1, EMVM, EGVM, ESDM, EFDM ve EMTM türlerinin canlı fibroblast hücre serisindeki stotoksik aktivitesi	88
Şekil 4.3.	ECMM, EMMM, EDKM, EADM, EEDM ve EMDM türlerinin kanserli hücre serisindeki stotoksik aktivitesi	89

Şekil 4.4. $EFDM_1$, EMVM, EGVM, ESDM, EFDM ve EMTM türlerinin kanserli hücre serisindeki stotoksik aktivitesi 90
Şekil 4.5. LC-MS/MS metodundaki eugenol analitinin kalibrasyon grafiği 96
Şekil 4.6. Kalibrasyon noktası 5'in standart kromatogramı 96
Şekil 4.7. *E.eriophora* karışık kısmınınmetanol ekstresinin standart kromatogramı 97
Şekil 4.8. 27 Fitokimyasal maddenin UHPLC-ESI-MS/MS kalibrasyon noktası 5'in standart kromatogramı 106
Şekil 4.9. Trabzon ilinden toplana *E macroclada* yaprak kısmınınmetanol ekstresinin standart kromatogramı 106

EK LİSTESİ

Ek No		Sayfa No
Ek 1.	*E.*craspedia'nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi	155
Ek 2.	Malatya'dan toplanan *E.macroclada'*nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi	155
Ek 3.	*E.denticulata'*nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi	155
Ek 4.	*E.aleppica'*nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi	156
Ek 5.	*E.eriophora'*nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi	156
Ek 6.	Diyarbakır'dan toplanan *E.macroclada* ABTS katyon radikali giderim aktivitesi	156
Ek 7.	Van'dan toplanan *E.macroclada*'nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi	157
Ek 8.	*E.grisophylla'*nınABTS katyon radikali giderim aktivitesi	157
Ek 9.	*E.seguieriana* subsp.*seguieriana*'nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi	157
Ek 10.	Trabzon'dan toplanan *E.macroclada*'nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi	158
Ek 11.	*E.fistulosa*'nınABTS katyon radikali giderim aktivitesi	158
Ek 12.	*E.craspedia'*nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	158
Ek 13.	Malatya'dan toplanan*E.macroclada'*nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	159
Ek 14.	*E.denticulata'*nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	159
Ek 15.	*E.aleppica'*nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	159
Ek 16.	*E.eriophora'*nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	160
Ek 17.	Diyarbakır'dan toplanan *E.macroclada* DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	160
Ek 18.	Van'dan toplanan *E.macroclada*'nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	160
Ek 19.	*E.grisophylla'*nınDPPH serbest radikali giderim aktivitesi	161
Ek 20.	*E.seguieriana*subsp.*seguieriana*'nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	161
Ek 21.	Trabzon'dan toplanan *E.macroclada*'nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi	161
Ek 22.	*E.fistulosa*'nınDPPH serbest radikali giderim aktivitesi	162
Ek 23.	*E.craspedia'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi	162
Ek 24.	Malatya'dan toplanan*E.macroclada'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi	162
Ek 25.	*E.denticulata'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi	163
Ek 26.	*E.aleppica'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi	163
Ek 27.	*E.eriophora'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi	163
Ek 28.	Diyarbakır'dan toplanan*E.macroclada'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi	164
Ek 29.	Van'dan toplanan *E.macroclada'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi	164
Ek 30.	*E.grisophylla'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi	164
Ek 31.	*E.seguieriana* subsp.*seguieriana*'nın β–karoten renk açılım aktivitesi	165
Ek 32.	Trabzon'dan toplanan*E.macroclada'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi	165
Ek 33.	*E.fistulosa*'nın β–karoten renk açılım aktivitesi	165
Ek 34.	11 Fitokimyasalın LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri	167
Ek 35.	11 Fitokimyasalın LC-MS/MS metodunda kullanılan standartların belirleme (LOD) vetayin (LOQ) sınırlarının belirlenmesi	166

Ek 36. Kinik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 169
Ek 37. Kinik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları 170
Ek 38. Kinik asitiçin yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 170
Ek 39. Protokateşik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) vekesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 171
Ek 40. Protokateşik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları 172
Ek 41. Protokateşik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 172
Ek 42. Rutin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 173
Ek 43. Rutiniçin yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları 174
Ek 44. Rutin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 174
Ek 45. Hesperidin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 175
Ek 46. Hesperidin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları 176
Ek 47. Hesperidin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 176
Ek 48. Eugenol için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 177
Ek 49. Eugenol için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları 178
Ek 50. Eugenol için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 178
Ek 51. *p*- Kumarik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 179
Ek 52. p- Kumarik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları 180
Ek 53. p- Kumarik asitiçin yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 180
Ek 54. Piseatannol için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 181
Ek 55. Piseatannol için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları 182
Ek 56. Piseatannol için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 182
Ek 57. Skopoletin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 183
Ek 58. Skopoletin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları 184
Ek 59. Skopoletin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 184
Ek 60. Kavain için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 185
Ek 61. Kavain için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları 186
Ek 62. Kavain için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 186
Ek 63. Krisofanik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) vekesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 187
Ek 64. Krisofanik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları 188

Ek 65. Krisofanik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 188
Ek 66. Resiniferatoksin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları 189
Ek 67. Resiniferatoksin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları 190
Ek 68. Resiniferatoksin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması 190
Ek 69. *E.craspedia*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 191
Ek 70. *E.craspedia*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 191
Ek 71. *E.craspedia*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 191
Ek 72. *E.craspedia*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 192
Ek 73. *E.craspedia*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 192
Ek 74. *E.craspedia*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 192
Ek 75. *E.denticulata*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 193
Ek 76. *E.denticulata*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 193
Ek 77. *E.denticulata*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 193
Ek 78. *E.denticulata*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 194
Ek 79. *E.denticulata*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 194
Ek 80. *E.denticulata*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 194
Ek 81. Malatya'dan toplanan *E.macroclada*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 195
Ek 82. Malatya'dan toplanan *E.macroclada*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 195
Ek 83. Malatya'dan toplanan *E.macroclada*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 195
Ek 84. Malatya'dan toplanan *E.macroclada*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 196
Ek 85. Malatya'dan toplanan *E.macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 196
Ek 86. *E.aleppica*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 196
Ek 87. *E.aleppica*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 197
Ek 88. *E.aleppica*'nın olgunlaşmış yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 197
Ek 89. *E.aleppica*'nın olgunlaşmamış yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 197
Ek 90. *E.aleppica*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 198
Ek 91. *E.eriophora*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 198
Ek 92. *E.eriophora*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 198
Ek 93. *E.eriophora*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 199
Ek 94. *E.eriophora*'nın yaprak tozu kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 199
Ek 95. *E.eriophora*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 199
Ek 96. Diyarbakır'dan toplanan *E.macroclada*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 200
Ek 97. Diyarbakır'dan toplanan *E.macroclada*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 200
Ek 98. Diyarbakır'dan toplanan *E.macroclada*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 200
Ek 99. Diyarbakır'dan toplanan *E.macroclada*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 201
Ek 100. Diyarbakır'dantoplana *E.macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 201
Ek 101. *E.falcata*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 201
Ek 102. Van'dan toplanan *E.macroclada*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 202

Ek 103. Van'dan toplanan *E.macroclada*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 202
Ek 104. Van'dan toplanan *E.macroclada*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 202
Ek 105. Van'dan toplanan *E.macroclada*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 203
Ek 106. Van'dan toplanan *E.macroclada*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 203
Ek 107. Van'dan toplanan *E.macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 203
Ek 108. *E.grisophylla*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 204
Ek 109. *E.grisophylla*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 204
Ek 110. *E.grisophylla*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 204
Ek 111. *E.grisophylla*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 205
Ek 112. *E.grisophylla*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 205
Ek 113. *E.seguieriana* subsp.*seguieriana*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 205
Ek 114. *E.seguieriana* subsp.*seguieriana*'nın kök kısmının metanol ekstresinin 206
Ek 115. *E.seguieriana* subsp.*seguieriana*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 206
Ek 116. *E.seguieriana* subsp.*seguieriana*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 206
Ek 117. *E.seguieriana* subsp.*seguieriana*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 207
Ek 118. *E.seguieriana* subsp.*seguieriana*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 207
Ek 119. Trabzon'dan toplanan *E.macroclada*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 207
Ek 120. Trabzon'dan toplanan *E.macroclada*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 208
Ek 121. Trabzon'dan toplanan *E.macroclada*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 208
Ek 122. Trabzon'dan toplanan *E.macroclada*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 208
Ek 123. Trabzon'dan toplanan *E.macroclada*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 209
Ek 124. Trabzon'dan toplanan *E.macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 209
Ek 125. *E.fistulosa*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 209
Ek 126. *E.fistulosa*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 210
Ek 127. *E.fistulosa*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 210
Ek 128. *E.fistulosa*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 210
Ek 129. *E.fistulosa*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı 211
Ek 130. *E.craspedia*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı 211
Ek 131. *E.denticulata*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı 211
Ek 132. Malatya'dan toplanan *E.macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresininLC- MS IT- TOF kromatogramı 212
Ek 133. *E.aleppica*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı 212
Ek 134. *E.erophora*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı 212
Ek 135. Diyarbakır'dan toplanan *E.macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresininLC- MS IT- TOF kromatogramı 213
Ek 136. *E.falcata*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı 213
Ek 137. Van'dan toplanan *E.macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresininLC- MS IT- TOF kromatogramı 213
Ek 138. *E.grisophylla*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı 214

Ek 139. *E.seguieriana* subsp.*seguieriana*'nın karışık kısmının metanol ekstresininLC- MS IT- TOF kromatogramı 214
Ek 140. Trabzon'dan toplanan *E.macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı 214
Ek 141. *E.fistulosa*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı 215

KISALTMA VE SİMGELER

WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü
BHA	:	Bütillenmiş hidroksi anizol
BHT	:	2,6-di-*t*-bütil-1-hidroksi toluen
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
GC	:	Gaz kromatografisi
LC	:	Sıvı kromatografisi
CE	:	Kapiler elektroforez
GC-MS	:	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
LC-MS	:	Sıvı kromatografisi- kütle spektrometresi
LC-MS/MS	:	Sıvı kromatografisi üçlü kuadrupol kütle spektrometresi
MS	:	Kütle spektrometresi
HPLC	:	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
UHPLC	:	Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ESI	:	Elektrosprey iyonlaştırma
APCI	:	Atmosferik-basınç kimyasal iyonlaştırma
IT	:	İyon tuzağı
TOF	:	Uçuş zamanlı
IT-TOF	:	İyontuzaklı/uçuş zamanlı kütle spektrometresi
HPLC-MS IT-TOF	:	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşik hibrit iyontuzaklı/uçuş zamanlı kütle spektrometresi
LC-MS IT-TOF	:	Sıvı kromatografisi ile birleşik hibrit iyontuzaklı/uçuş zamanlı kütle spektrometresi
AAS	:	Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi
GF-AAS	:	Grafit Fırınlı Atomik, Absorbsiyon Spektrometresi
ICP-AES	:	İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Atomik Emisyon Spektrometrisi
ICP-OES	:	İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Optik Emisyon Spektrometrisi
ICP-MS	:	İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Kütle Spektrometrisi
LXRF / KXRF	:	L-Kabuğu/K-Kabuğu X-Işını Floresan
PIXE	:	Yüklü Parçacıklı X-Işını Emisyonu
DPASV/ASV	:	Diferansiyel Puls/Anodik Sıyırma Voltametrisi
ID-MS	:	İzotop Seyreltimi Kütle Spektrometrisi
DPPH	:	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
ABTS	:	2,2 –azinobis(3-etilbenzotiazolin-sulfonik asit)
CUPRAC	:	Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
DLD-1	:	Kanserli kolon hücresi
RP-HPLC	:	Ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi
İTK	:	İnce tabaka kromatografisi

HP-TLC	:	Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi
AIDS	:	Acquired Immuno Deficiency Syndrome
PG	:	Propil gallat
TBHQ	:	*t*-bütilhidrokinon
$R^{\bullet}$	:	Radikali
EDTA	:	Etilendiamintetraasetik asit
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
FRAP	:	Demir (III) iyonu indirgeme gücü
TRAP	:	Toplam radikal tutma parametresi
ORAC	:	Oksijen radikalini absorplama kapasitesi
AD	:	Alzheimer hastalığı
AChE	:	Asetilkolinesteraz
BChE	:	Bütirilkolinesteraz
ACh	:	Asetilkolin
FID	:	Alev iyonlaştırma dedektörü
TCD	:	Isıl iletkenlik dedektörü
ECD	:	Elektron yakalama dedektörü
FPD	:	Alev fotometrik dedektörü
PID	:	Foto-iyonizasyon dedektörü
GC-FID	:	Gaz kromatografisialev iyonlaştırma dedektörü
DAD	:	Diod-array dedektörü
ELSD	:	Buharlaştırmalı ışık saçılımlı dedektörü
UV	:	Ultraviyole ışınları
RID	:	Refraktif indeks dedektörü
m/z	:	Kütle/yük oranı
DC	:	Doğru akım
RF	:	Radyo frekans
SIM	:	Seçilmiş iyon görüntüleme
MRM	:	Çoklu Reaksiyon Görüntüleme
CID	:	Collision Induced Dissociation
MS^n	:	Çoklu MS
^oK	:	Kelvin sıcaklığı
ORS	:	Oktopol Reaksiyon Sistemi
FCR	:	Folin-Ciocalteu reaktifi
DTNB	:	5,5-ditiyobis-(2-nitro benzoik asit)
NADH	:	Nikotinamit adenindinükleotit
PMS	:	Fenazin-meta sülfat
NBT	:	Nitroblutetrazolyum

1. GİRİŞ

Dünya da 750 000-1 000 000 arasında bitki türünün bulunduğu tahmin edilmektedir. Bunlardan henüz 500 000 kadarı isimlendirilmiştir. Her yıl 2 000 civarında yeni bitki türü bulunmaktadır. Bitkiler insanoğlu tarafından önce gıda olarak, daha sonra tedavi amacı ile kullanılmaya başlanmıştır (Sezik 1990). Bilinen en eski tedavi yöntemi şüphesiz bitkilerle tedavidir. Milattan üç bin sene evvel yazıldığı tespit edilen Mısır'daki 'Eber Papirüsü'nde 700'den fazla şifalı otun adı geçmektedir. Medler'den, Persler'den ve eski Hind'den kalma tıp kitapları içinde şifalı bitkilerden bahseden kitaplar vardır (Akyüz 2006).

Tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin sayısı eski çağlardan beri devamlı artış göstermektedir. Mezopotamya medeniyeti döneminde 250, Grekler'de 600, Arap- Fars medeniyetinde 4 000 civarında bitkinin tedavide kullanıldığı kaynaklarda belirtilmektedir. On dokuzuncu asrın başlarında ise, bu rakam 19 000'e çıkmıştır. Halen değişik ülkelerde halk ilacı olarak kullanılan bitkilerde dâhil edilirse 80-100 000 civarında bitkinin tedavi amacı ile kullanılmakta olduğu düşünülmektedir. Yaklaşık 2000 yıl önce yaşamış olan büyük tabiat bilgini, yazarı Casus- Secundus PILINIUS'un 'her derdin bir bitkisel devası vardır' şeklindeki sözü hala geçerliliğini korumaktadır. İnsanoğlu, binlerce yıldır hastalıklarına karşı bitkileri değişik şekillerde kullanmış ve yeni kullanış şekillerini araştırmaktadırlar (Sezik 1990).

Son yıllarda tabiata dönüş fikri bitkilerin ilaç olarak bilhassa Avrupa'da yaygın bir şekilde kullanılmasını sağlamıştır. Avrupa ülkelerinde, bilhassa Almanya, İtalya, Fransa ve İngiltere'de hatta ilaç sanayinin devlerinin bulunduğu İsviçre'de bile halk ilacı temelli bitki türlerinin kullanımı, eğitimi ve yayınları her geçen gün artmaktadır. Değişik ülkelerdeki insanlar, bitkileri doğrudan veya preparatları halinde hekim tavsiyesi ile veya atalarından gördükleri gibi muhtelif hastalıkların tedavisinde kullanılmış veya kullanmaktadırlar (Akyüz 2006).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) yeryüzünde 4 milyar civarında insanın, yani dünya nüfusunun % 80'in sadece bitkisel ilaçlarla tedavi olduğunu bildirmektedir (Sezik 1990). Bitkilerin tıbbi amaçla tedavide kullanılması yönünden Mısır, Hindistan ve Pakistan gibi ülkelerin ciddi başarılar kazandığı bilinmektedir. Doğru kullanıldığı takdirde bitkilerle yapılan tedavinin hiçbir yan tesiri veya zararının olmadığı tespit

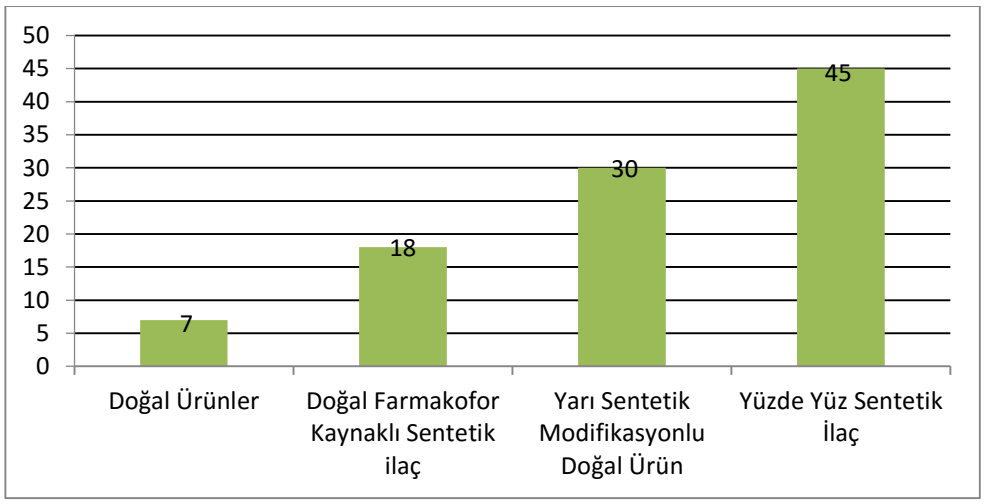
edilmiştir. Bu bakımdan bilhassa koruyucu aile hekimliğine yönelik çalışan genç araştırmacılar meseleyi ciddiyetle ele almalı ve daha ileriye götürmelidir. Bitkilerin etkileri araştırılarak piyasaya arz edildiği ileri sürülmesine rağmen, hali hazırda yasaklanmış çok sayıda ilacı tamamen piyasadan kaldırılmaması, halkı bitkisel tedaviye yöneltirken, ilaçların pahalılığı da şifalı bitkilere rağbeti artırmaktadır. Bazı ilaç hammaddelerinin, bitkisel droglardan sentetik olanlara göre daha ucuza ve daha kolaylıkla elde edilebilme imkânları da bitkilerin tercih edilmesinde önemli rol oynamaktadır. Bitkilerden şifaya vesile olması maksadıyla yapılan istifade aslında insanın yaratılışına kadar uzanır. Deneme yanılma yoluyla bazı bitkilerin faydalı, bazılarının ise zararlı hatta öldürücü olduğunu gören insanlar, bunları binlerce yıldan beri birbirlerine nakletmişlerdir (Akyüz 2006).

Şifalı bitkilerin içerdikleri maddeler, yetiştiği toprağa, iklime ve mevsime göre değişiklik arz eder. Yine toplama, kurutma ve saklama teknikleri de aktif maddeler üzerinde önemli rol oynamaktadırlar. Laboratuvar testleri sırasında şifalı bitkiler içinde şu aktif maddelerin bulunduğu saptanmıştır. Uçucu yağlar, vitaminler, madeni tuzlar, glikozitler, alkaloidler, saponinler, acı maddeler, tanenler, reçinemsi maddeler ve flavonoidlerdir (Akyüz 2006).

Dünyada ve ülkemizde eski çağlardan beri halk arasında bitkiler tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Bitkilerin tedavi edici etkilerinin hangi maddelerden ileri geldiğini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar hızla devam etmektedir. Tedavi amacıyla kullanılan birçok bitkinin içerdiği sekonder metabolitlerin saflaştırılarak yapılarının aydınlatılması, bunların farmakolojik ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan doğal kaynaklı ilaç etken maddeleri tespit edilmiştir. Sentetik ilaç etken maddelerine göre daha az yan etkiye sahip olan doğal kaynaklı maddeler daha çok tercih edilmektedir. İnsan ömrünün uzamasıyla birlikte kronik hastalıkların artması (kanser, kalp-damar hastalıkları, alzheimer, vb.) günümüzde biyolojik aktivitelere olan ilgiyi arttırmıştır. Bunun nedeni, antioksidan bakımından zengin gıdaların tüketilmesinin ve doğal antioksidanların beslenme takviyesinde kullanılmalarının hücresel yaşlanmayı ve birçok kronik hastalığın oluşumunu geciktirdiğinin veya önlediğinin bilimsel olarak kanıtlanmış olmasıdır. Günümüzde en çok kullanılan yapay antioksidanlar, BHA (Bütillenmiş hidroksi anizol), BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen)'dır. Sentetik antioksidanların ve

bunların yan ürünlerinin kansere neden olabileceklerinin belirlenmesi, bunların yerine kullanılabilecek doğal antioksidanların bulunmasına yönelik araştırmalar artmıştır (Casio ve ark. 2006).

İnsanoğlu geçmişten günümüze kadar ilaç gibi temel ihtiyaçları için, tabiata bağımlı kalmıştır. Canlı organizmalardan elde edilen kimyasal bileşikler veya maddeler ilaç pazarında bulunan onaylanmış ilaçların üçte birini teşkil eder. 1983 ve 1994 yılları arasında 33 farklı hastalık alanı için onaylanan ilaçların % 39'u doğal ürünler veya bu doğal ürünlerden elde edilen bileşiklerdir (Cragg ve ark. 1997). 1981 ve 2006 yılları arasında dünya çapında bütün hastalıklar için onaylanan 1184 yeni kimyasal bileşenin % 28'i doğal ürün veya doğal ürünlerden elde edilen bileşikler olup % 24'ü ise doğal ürün yapıları kullanılarak sentezlenen bileşiklerdir (Newman ve Cragg 2007). 2001 ve 2010 yılları arasındaki onaylanan küçük moleküllü (molekül ağırlığı 5 000 Da'dan küçük olan) ilaçların ise % 55'i doğal ürün veya doğal ürünlerden elde edilen ilaçlardır (Eugster 2014). (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. 2001 ve 2010 yılları arasında onaylanan ilaç kaynakları

Bitkiler yapılarındaki yüksek oranda bulunan fenolik ve flavonoid bileşiklerinden dolayı insan sağlığına önemli ölçüde etki etmektedirler. Bu etkilerin öncelikli olanı ise fenolik ve flavonoid bileşiklerin antioksidan aktiviteleridir. Antioksidanlar insan vücudundaki metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan oksidasyon sürecini en aza düşüren ve bu sebeple serbest radikallerin meydana gelmesini engelleyip canlı vücudundaki birçok zararın önüne geçilmesine neden olan bileşiklerdir. (Benkeblia 2005). Antioksidanlar insan vücudundaki radikallerin zararını ortadan

kaldırdığından veya azalttığından gıdalardaki maddelerin bozulmasını engellediğinden dolayı sürekli çalışılmakta ve bu konuda çok fazla araştırma yapılmaktadır (Kulisic ve ark. 2004).

Yaşam için gerekli olan oksijen aynı zamanda toksik etkiye de sahiptir. Bu toksisite oksijenin oluşturduğu reaktif oksijen türlerinden kaynaklanmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin çeşitli hastalıkların gelişmesinde önemli rolü olduğunu ortaya koyan pek çok çalışma bulunmaktadır. Reaktif oksijen türleri lipitlerin, proteinlerin ve DNA'nın hasarına yol açar. DNA hasarı da kanser riskini arttırmaktadır. Reaktif oksijen türleri özellikle kanserin ilerleme aşamasında rol oynamaktadır. (Hsu ve ark. 2005).

Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini azaltırlar veya ortadan kaldırırlar. Canlılarda, reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği zararları ortadan kaldırmak için çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmaların savunmada yetersiz kalması sonucunda ortaya çıkabilecek hastalıklardan korunmak için antioksidan etkiye sahip meyve, sebze ve şifalı bitkilerin tüketilmesinin insan sağlığı açısından faydalı olduğunu gösteren çok sayıda araştırma bulunmaktadır (Salvatore ve ark. 2005).

Kanser önemi giderek artan bir sağlık ve yaşam sorunu haline gelmektedir. Ölüm nedeni olarak, kalp ve damar hastalıklarının hemen ardından gelmektedir. Dünyada yaklaşık her yıl yedi milyon insan kansere yakalanmakta ve 5 milyon insan kanser nedeniyle yaşamını kaybetmektedir. Ülkemizde ise her yıl 150 bin kişi kansere yakalanmakta ve yaklaşık 400 bin insan da kanserle yaşamaktadır. Dünyada ölüm nedenleri içinde ikinci sırada olan kanserin 2030 yılında hızla artarak ölüm nedenleri arasında birinci sıraya yükselmesi öngörülmektedir (Tuncer 2007). Ülkemiz istatistiklerinde ise bu oran % 38 kalp damar hastalıkları ve % 29 kanser hastalıkları ile ölümler seyretmektedir. Kadınlarda en sık görülen kanser türlerinin başta meme kanseri olmak üzere, akciğer, uterus ve kolon kanserleri takip etmektedir. Erkeklerde ise en sık görülen kanser türleri başta akciğer kanseri olmak üzere, prostat, mide ve kolon kanserleri takip etmektedir (Parkin 2001; Tuncer ve ark. 1994). Günümüzde çoğu kanser çeşidinin kesin tedavisi sadece erken teşhis ile sağlanabilmektedir. Sıklıkla uygulanan tedavi yöntemleri cerrahi, kemoterapi ve radyoterapidir. Henüz kanser tedavisinde çözüm olabilecek bir ilaç etken maddesi geliştirilmemiştir. Bu yüzden

bitkiler âleminin sekonder metabolit ve biyolojik aktiviteleri bakımından taranmaları önem kazanmaktadır.

Teknolojinin gelişimiyle geçmişten günümüze bitkilerin metabolik profillerini çıkarmak için farklı analitik teknikler kullanılmaktadır. Kütle spektrometresi, bir ayırma yöntemi (GC, LC, CE) ile birlikte, günümüzde küçük organik moleküllerin ölçümü için anahtar bir teknolojidir. Bir yanda etkili ve yeni ayrım metotlarında devam eden gelişmeler, diğer yanda mükemmel hassasiyet ve kütle çözünürlüğüne sahip kütle spektrometreleri sekonder metabolitlerin miktarsal tayinlerinda yeni olanaklar sunmaktadırlar. GC-MS veya LC-MS ile karmaşık bir biyolojik numunede sekonder metabolitler tek bir analizle belirlenebilir. GC ile MS'in kolay ara yüz oluşturması ve yüksek ayırma verimliliği nedeniyle GC, kütle spektrometre bazlı metabolomik çalışmalarında eskiden beri ayırma tekniği olarak tercih edilmiştir. GC-MS öncelikle termal olarak kararlı ve uçucu bileşikler için kullanılır, ancak kimyasal olarak türevlendirilmiş ise, daha büyük ve daha çok polar metabolitler hariç tutulmak üzere bazı uçucu olmayan bileşikler için de kullanılabilir. Sadece belirli metabolitler kendi doğal yapısında uçucudurlar, ancak silanlama ve alkilleme sonrasında geniş bir aralıktaki metabolome uçucu hale gelebilir (Wei ve ark. 2010).

Geniş aralıktaki polariteye sahip metabolitler türevlendirme basamağı olmadan analiz edilebildiği için HPLC ile MS'in birleşimi (LC-MS) hedefli ve hedefli olmayan metabolomiks çalışmalarında en yaygın kullanılan tekniktir. İyonik ve daha az polariteye sahip analitlerin MS'e erişimine olanak veren Elektrosprey iyonlaştırma (ESI) tekniği, LC-MS bazlı metabolomiks çalışmalarında APCI (Atmosferik Basınç Kimyasal İyonlaştırma) gibi diğer iyonlaştırma tekniklerine göre daha çok tercih edilmektedir (Luo ve ark. 2007; Coulier ve ark. 2006).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, bitkisel ürünlerin ekstrelerinin hızlıca taranması, bilinen ve bilinmeyen sekonder metabolit içeriğinin karakterizasyonunda LC-MS en çok tercih edilen teknik olmuştur. Bu teknikte kullanılan üç temel kütle analizörü vardır, quadrupole (kuadrupol), ion trap (iyon tuzağı) (IT) ve time-of-flight (uçuş zamanı) (TOF). Anlamlı kombinasyonlarla, Q-IT ve IT-TOF hibrit cihazlar bitki kimyası çalışmalarında kullanılmaktadır. Günümüz LC-MS cihaz tasarımlarından biri olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşen hibrit iyon tuzağı-uçuş zamanlı

kütle spektrometresi (HPLC-hibrit-IT-TOF-MS), hem TOF hem de IT-MS sistemlerinden daha yüksek hassasiyet ve doğruluk sağlar. Özellikle doğal ürünlerin MS^n modunda çoklu taranması ve tam kütle ölçümleri veriye dayanan ölçümle eş zamanlı olarak gerçekleştirilebilir (Liu ve ark. 2011). Hem IT hem de TOF avantajını bir araya getiren bu sıralı MS tekniği bitkisel ürünlerin kalitatif analizinde analitik hız ve doğruluk açısından yeni bir boyut getirmiştir (Liang ve ark. 2010).

İnsanlar yaşamları süresince, doğaya ve doğada cereyan eden olaylara ilgi duymuşlardır. Toprakta belirli şartlarda çimlenen tohum kök, dal ve yaprak gibi organları oluşturması, ilk insanların ilgilendiği önemli konulardan birisi olmuştur. Çünkü insanoğlunun hayatını devam ettirebilmesi gıda, hammadde ve enerji kaynağı olarak her zaman bitki yaşamına bağlı olmuştur. Bitkiler gelişip fizyolojik dönemlerini tamamlamada gereksinim duydukları maddeleri kolayca topraktan kökleri vasıtasıyla almaktadırlar. Bu maddeler bitkide bulundukları formda toprakta da bulunmaktadır. Bitkide bulunan bu maddelerin dışardan alındığı görüşü oldukça yaygındır (Brohi ve ark. 1994). Bitki beslenmesinde her besin elementinin rolü farklıdır, bunların dengeli bir şekilde bitkiye uygulanması gerekmektedir. Tarımsal açıdan çok büyük bir öneme sahip olan bitkiler, besin elementlerini alırken dışarıdan bir takım olumsuzluklarla karşı karşıya kalmaktadırlar. Bu olumsuzluklar bitkinin hayatiyetini sınırlamada önemli rol oynamaktadır.

Bitkilerin yaşamaları için gerekli olan elementlere, “Bitki besin elementleri” denilmektedir. Bitki dokularının analizinde doğada bulunan tüm elementleri hemen hemen bulmak mümkündür. Her ne kadar bitkilerin besin iyonları alımı seçici ise de, yetiştirme ortamında yararlı formda bulunan besin elementleri oranı arttıkça, bitki bünyesine pasif yollarla geçebilen bazı ağır metaller, bitkilere alınarak besin zincirine dâhil olmaktadırlar. Bunun sonucu olarak bitkilere ve bitkilerle beslenen canlılarda toksik etkiler yapabilmektedirler. Çünkü bitkiler yetiştikleri ortamda bulunan elementleri, kendileri için gerekli olsun veya olmasın az da olsa bünyelerine almaktadırlar. Ancak bu elementlerden 14 tanesi (C, H, O,N, P, K, S, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu ve Mo) bütün bitkiler için mutlak gerekli besin elementleridir. Diğer altı element (Co, Al, Na, Si, Ni ve V) ise sadece bazı bitkilere veya proseslere gerekli olduğu kabul edilen yararlı elementlerdir (Yıldız 2003).

Ülkemizin gerek hızla sanayileşmesi ve gerekse her geçen gün artan trafik yoğunluğuna maruz kalması diğer birçok kirleticiyle beraber ağır metallerin de çevredeki miktarlarını artırmaktadır. Bu durum özellikle aktif hareket etme yeteneği olmayan bitkilerde başta ürün kaybı olmak üzere birçok olumsuzluğa neden olmaktadır.

Yüksek konsantrasyonlardaki bazı ağır metaller, bitkileri ve bitkilerle beslenen canlıları olumsuz yönde etkileyebilmektedirler. Kadmiyum ve kurşun çevresel kirleticiler olarak insan mikro elementleridir ve yüksek derişimlerde canlılar için toksik elementler iken, nikel ise aynı grup canlılar için olası kanserojen bir elementtir. Bununla beraber, nikel yüksek bitkiler için esansiyel besin elementi olarak kabul edilmiştir. Ağır metaller içinde en şiddetli zehir etkisi olanları Cd, Pb ve Hg olduğu ifade edilmektedir (Çepel 1997). Önemli çevresel kirletici olan ağır metallerin düşük konsantrasyonları bile zehirlidir. Zehirli metallerle birlikte biyosferin kirlenmesi endüstriyel gelişimin başlamasıyla çarpıcı bir şekilde artmıştır (Nriogo 1979).

Ağır metallerin bitkiler tarafından alınma miktarı değişiklik göstermektedir. Bütün bitkiler toprak ve sudan kendi büyüme ve gelişimleri için elzem olan ağır metalleri toplama kabiliyetine sahiptirler. Bu metaller Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Mo ve Ni elementleridir ve bazı bitkiler de biyolojik fonksiyonları bilinmeyen ağır metalleri biriktirme kabiliyetine sahiptirler. Bunlar da Cd, Cr, Pb, Co, Ag, Se ve Hg elementleridir. Yüksek konsantrasyonlardaki ağır metallerin hem tolere edilebilir hem de biriktirilebilir üst sınırları farklı ve bitki türlerine göre değişmektedir (Okçu ve ark. 2009).

Günümüzde metal analizleri için kullanılan temel yöntemler şunlardır. Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi (AAS), Grafit Fırınlı Atomik Absorbsiyon Spektrometresi (GF-AAS), İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Atomik Emisyon Spektrometrisi (ICP-AES), İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Optik Emisyon Spektrometrisi (ICP-OES) olarak da adlandırılır), İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Kütle Spektrometrisi (ICP-MS), L-Kabuğu/K-Kabuğu X-Işını Floresan (LXRF / KXRF), Yüklü Parçacıklı X-Işını Emisyonu (PIXE), Diferansiyel Puls/Anodik Sıyırma Voltametrisi (DPASV/ASV), İzotop Seyreltimi Kütle Spektrometrisi (ID-MS) (Dhhs 2003). Eser element analizlerinde en yaygın kullanılan teknikler (AAS), (GF AAS), (ICP-AES) ve (ICP-MS) yöntemleridir.

İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) ve Kütle Spektrometresi (MS), örneklerin yüksek sıcaklıktaki bir plazmaya, genellikle argon ile gönderilerek moleküler bağların kırıldığı ve atomların iyonlaştırıldığı bir analitik tekniktir. Örnek, genel olarak bir solüsyon halinde örnek giriş sistemi aracılığıyla nebulizöre ve sprey odacığına sunulur. Burada yüksek hızlı argon akışı sayesinde örnek solüsyonu sisleştirilir. Sadece çok küçük damlacıklar argon plazmasına taşınır, diğerleri doğrudan atığa gider. 6500-10000 ^{o}K sıcaklıklardaki plazma örneği buharlaştırır ve iyonize eder. İyon akışı atmosferik basınçtan örnekleyici (sampler) ve süzücü (skimmer) konlar aracılığıyla yüksek vakumlu bir ortama gider. Sonra iyon akımı iyon lensleri aracılığıyla kuadrupole odaklanarak kütle filtresine yönlendirilir. İyonlar kütle spektrometrede kütle yük oranına göre ayrılırlar ve detektör tarafından sayılarak ölçülürler.

Bu çalışmada *Euphorbiaceae* familyasına ait *E. aleppica*, *E. eriophora*, *E. macroclada*, *E. grisophylla*, *E. seguieriana* subsp. *Seguieriana*, *E. craspedia*, *E. denticulata* ve *E. fistulosa* türlerin metanol ekstreleri (tohum, kök, dal, yaprak, çiçek ve karışık kısımlarından ayrı ayrı) ve türlerin karışık kısımlarının petrol eteri ekstreleri hazırlanmıştır. Metanol ekstrelerinin LC-MS IT-TOF cihazı ile özellikle bu türlere özgü bileşikleri kapsayan genel bir metabolit taraması yapılıp bu bileşen gruplarının bir kısmının (kinik asit, protokateşik asit, rutin, hesperidin, eugenol, *p*-kumarik asit, piseatannol, skopoletin, kavain, krisofanik asit, resiniferatoksin) LC-MS/MS ile miktarsal tayinleri için metot validasyonu geliştirilmeye çalışılmıştır. Petrol eteri ekstrelerinin yağ asidi profili GC-MS ile belirlenmiştir. Bu türlerin (tohum kök, dal, yaprak, çiçek ve karışık kısımlarından ayrı ayrı), çeşitli kısımlarının ICP-MS ile ağır metallerin kantitatif tayini yapılmıştır. Ayrıca, çalışılan *Euphorbia* türlerinin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi, β-karoten lipit peroksidasyon test sistemi ve CUPRAC bakır indirgeme kapasitesi yöntemleriyle antioksidan etkileri, asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimleri inhibisyon yöntemleri ile antikolinesteraz aktiviteleri incelenmiştir. Buna ek olarak, pirokatekole eşdeğer toplam fenolik içeriği ile kersetine eşdeğer toplam flavonoid içeriği belirlenmiştir. Çalışmanın diğer kısmında da çalışılan dokuz farklı *Euphorbia* türünün toprak üstü kısımlarının metanol ekstrelerinin L929 Fibroblast (Sağlıklı hücre) ve kanserli insan kolon DLD-1 hücre serilerine karşı sitotosik aktiviteleri incelenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Euphorbiaceae Familyası

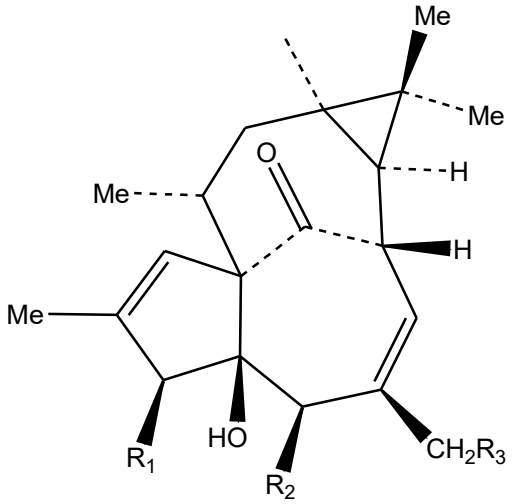
Euphorbiaceae familyası dünyada ve ülkemizde çok fazla bulunan familyalardan biridir. *Euphorbiaceae* familyasına 331 cins altında toplanmış yaklaşık 5000 türe sahip büyük familyalardan biridir (Brumutt 1992). *Euphorbiaceae* familyasına ait *Euphorbia* L. cinsi, yaklaşık olarak 2 000 türle temsil edilmektedir (willis 1966). Özellikle yapılarında terpenoit, kumarin, steroid ve aromatik bileşikler içeriği bakımından zengin bir kaynak oluşturmaktadır. *Euphorbia* L. cinsinin ülkemizde 111 türü bunmaktadır ve bunlardan 14 türü endemiktir. *Euphorbia* cinsinin pek çok türü halk arasında tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Bazı türlerinin siğillere, deri kanserine karşı etkili olduğu (Evans ve ark. 1983), antiviral, antienflamatuar, antipiretik ve analjezik olduğuna dair yayınlar bulunmaktadır (Lanhers ve ark. 1990). Bunların yanı sıra antitümör, antifungal, antibakteriyel ve sitotoksik etkilerinin olduğu bilinmektedir (Lanhers ve ark. 1991). Bu özelliklerin ise içerdiği terpenoid bileşiklerden ileri geldiğini gösteren pek çok sayıda yayın bulunmaktadır (Hamburger ve ark. 1989). *Euphorbia* cinsinin en belirgin özellikleri çok tahriş edici süt bulundurmalarıdır. Tahriş edici özellikleri, makrosiklik tipteki diterpenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Jeske ve ark. 1995).

Euphorbiaceae türlerinin Anadoludaki yöresel ismi sütleğendir. Süddüyen, sütlüvan, süldüğen, sütgen, sütlen, sütlengeç, sütlücen (Kastomonu) sütlüyen, sütlügan, sütlügen, sütlü ot, sütlüvan, zerana (Artvin) olarakta bilinmektedir (Baytop 1997).

Euphorbia türleri üzerindeki ilk kimyasal çalışmalar Rose ve Fluckiger tarafından 1834 yılında yapılmıştır (Fluckıger 1868; Rose 1841). Araştırmacıların *Euphorbia* lateksinden "euphorbon" olarak adlandırdıkları kristal bir madde elde etmelerinden sonra Bauer ve Schenkel tarafından euphorbon'dan doymamış alkollü türevi elde edilmiştir (Bauer ve ark. 1928).

Euphorbiaceae familyasının en yaygın türü olan *Euphorbia*, çok sayıda bioaktif bileşiklerin kaynağıdır. Tiglian, ingenan ve dafnan diterpenlerinden dolayı deriyi tahriş eder ve tümör oluşumunu önler. Kimyasal farklılığı ve bioaktifliği sebebiyle makrosiklik diterpenlere çok önem verilmiştir. *Euphorbia* türleriyle yapılan son

çalışmalarda, çok sayıda yeni diterpen sınıfları bulunmuştur. *Euphorbia* türlerinin, tahriş edici ve tümör önleyici bileşikleri diterpen esterlerini, inceleyen çok sayıda araştırma yapılmıştır (Hoffman ve ark. 1999). *Euphorbia* türlerindeki tahriş edici özelliğinin diterpen esterlerinin ingenan iskeletinden kaynaklandığı bilinmektedir (Şekil 1.1).



Şekil 2.1. İngenan diterpeninin iskelet yapısı (ingenol R_1= R_2= R_3= OH)

Euphorbia türleri son zamanlarda deri kanserine ve özellikle siğillere karşı etkili olabileceğini gösteren literatürde yayınlar bulunmaktadır (Evans ve Taylor 1983). Bununla beraber yapılan çalışmalarda *Euphorbiaceae* türlerinin antiviral (Hartwell 1965) ve antitimör (Wu ve ark. 1991) etki gösterdiği saptanmasından dolayı bu familyaya ait türlerin kimyasal bakımdan incelenmesi giderek önem kazanmıştır. Ayrıca National Cancer Institute (USA) tarafından yapılan testlerle bu familyanın türlerinin kimyasal bakımdan diğer familyaların türlerine kıyasla daha fazla HIV (Human Immunodeficiency Virus / İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü) etki gösterdiği belirlenmiştir (Zayed ve ark. 2001). Ülkemizde bazı kırsal bölgelerde tatlı su balıklarını avlamak içinde taze sütleğen dalları kullanılmakla birlikte bu şekilde avlanan balıkların yenmesi zararlıdır. Zira yetişkinlerde herhangi bir belirti meydana gelmese de çocuklarda diyare oluşumuna sebebiyet verir (Baytop 1984).

2.2. *Euphorbia* L.Türlerinin Morfolojik özellikleri

Euphorbia cinsi dünyaya dağılmış yaklaşık 5 000 türü ile oldukça geniş bir cinsidir. Genellikle bu bitkiler tek yıllık ya da çok yıllık otsu bitkilerden oluştuğu gibi,

çalımsı türleri de vardır ve bazen kaktüs gibi bir habitat gösterirler. Yaprakları genellikle almaşık dizilişli daha az sıklıkla da dairesel dizilişli ya da karşılıklı olabilir. Çiçekler indirgenmiş yanda olup budak biçimli çiçek durumunda ve tek bir erkek organa indirgenmiş çok sayıda erkek çiçeklerden oluşur. Uçtaki çiçekler dişi çiçeklerdir. Bu cinse ait türlerde genellikle sütsü salgı vardır. İçerdikleri bu salgılardan dolayı zehirli olabildikleri gibi cilt içinde tahriş edici özellikleri vardır (Frohne ve Pfander 2005).

2.3. *Euphorbia* L. Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

Halk arasında 'sütleğen' olarak isimlendirilen *Euphorbia* türleri müshil olarak, sıtma ve sarılık tedavisinde, birçok ülkede de deri hastalıkları, barsak parazitleri, romatizma, nevralji, astım ve bakteriyal enfeksiyonlara karşı kullanılmaktadır (Hecker 1977). Bitkinin tohumundan elde edilen yağın tahriş edici özelliğe sahip olduğu ve düşük dozlarda kullanılması gerektiği literatürlerde geçmektedir. Anadolu'da yaygın olarak bulunan *E. heliscopia* L.' den siğil ve romatizmaya karşı haricen ağrı kesici ve kızartıcı olarak kullanılmaktadır (Baytop 1963).

Euphorbiaceae familyasından olan *Mallotus japonicus* türü kabukları ve yaprakları polifenolik bileşiklerce zengin olduğundan Japonya'da gastrik ülser tedavisinde kullanılan bir tür olduğu belirlenmiştir (Yoshida ve ark. 1982).

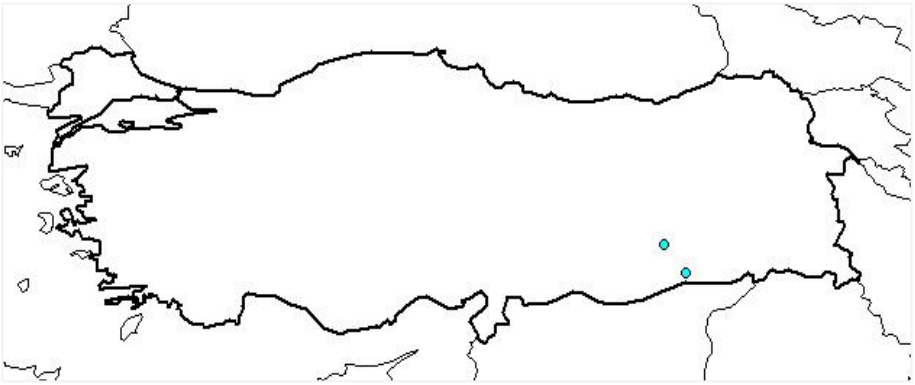
Euphorbiaceae familyasına ait bazı türler kauçuk ve boya maddesi elde edilen ve ilaç sanayinde kullanılmaktadır. Ayrıca bazı *Euphorbia* türleri süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. (Engin 1991). Bu türlerden biri *E. marginata* süs bitkisi olarak araştırma konusu olmuştur. *E. marginata* güneşli alanları seven, aynı zamanda gölgede de yetişen, toprak seçmeyen, her alanda kolay yetişen ve bir bahçe çiçeği olan bu bitkinin park ve bahçelerde tek ve grup olarak yetiştirilebileceği kanıtlanmıştır. Bu özelliklerinden dolayı süs bitkisi yetiştirenlerce değerli görülmüştür, ayrıca bu tür ülkemizde yetiştirilmektedir (Erenberk 1998).

Euphorbia türlerinin aktiviteleri dışında halk arasında boyarmadde olarak da kullanıldığı bilinmektedir. Yaprağından kül rengi ve sarı, gövdesinden kirli sarı renkler elde edilmektedir. Ayrıca *Euphorbia*, topraktan yüksek miktarda metal toplama yeteneğine sahip olduğu için yerbilimciler kurşun, bakır ve çinko gibi metallere ait

maden arama tarama çalışmalarında biyokimyasal prospeksiyon aracı olarak bu bitkiyi kullanırlar (Sen 2002). *Euphorbia* türleri için karakteristik kimyasal bileşikleri terpenoitlerdir.

2.4. Çalışılan *Euphorbia* Türleri

Euphorbia craspedia: Güney Doğu Anadalu (Mezopotamya) bölgesinde bulunan ve endemik olmayan çok yıllık otsu bir türdür. *E. craspedia* 5-6. aylarında çiçeklenmektedir (TÜBİVES 2016).

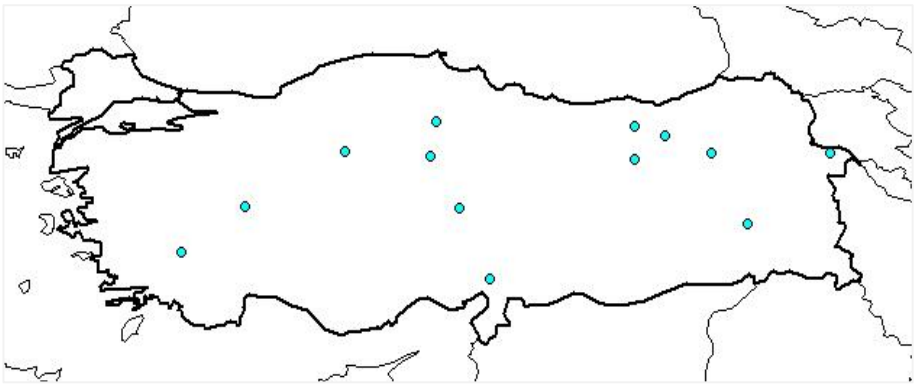


Şekil 2.2. *E. craspedia*'nın Türkiye'deki dağılımı (TÜBİVES 2016)



Şekil 2.3. *E. craspedia*'nın resmi (Turkiye Bitkileri 2016)

Euphorbia macroclada: Bitki boyu 70 cm kadar yükselebilen, çok dallı, yaprakları uzunca oval şekilli, çok yıllık otsu bir türdür. Orta ve Güney Anadoluda yaygın bulunan bir türdür. *E. macroclada* endemik olmayan ve 5-9. aylarında çiçeklenen bir türdür. Ayrıca yapısında bulunan süt kuvvetli müshil yapıcı etkiye sahiptir. Kırsal bölgelerde müshil olarak kullanılmaktadır (TÜBİVES 2016).

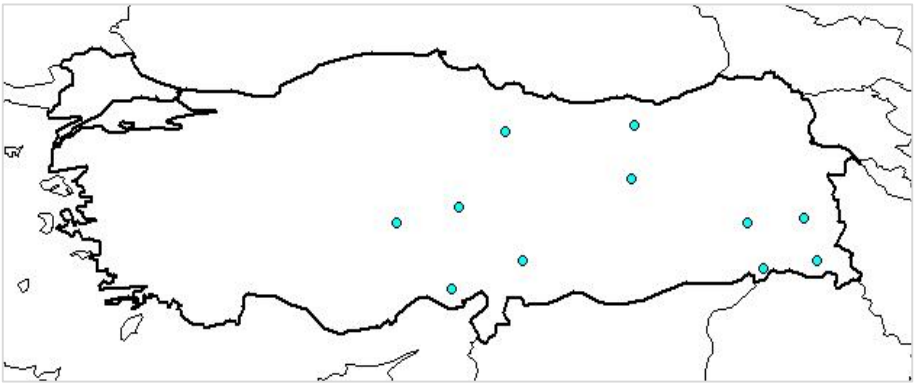


Şekil 2.4. *E. macroclada*'nın Türkiye'deki dağılımı (TÜBİVES 2016)



Şekil 2.5. *E. macroclada*'nın resmi (Fırat ve ark. 2015)

Euphorbia denticulata: Çok yıllık, otsu ve endemik bir tür olmayan *E. denticulata* 4-8. aylar arasında çiçeklenen bir türdür (TÜBİVES 2016).

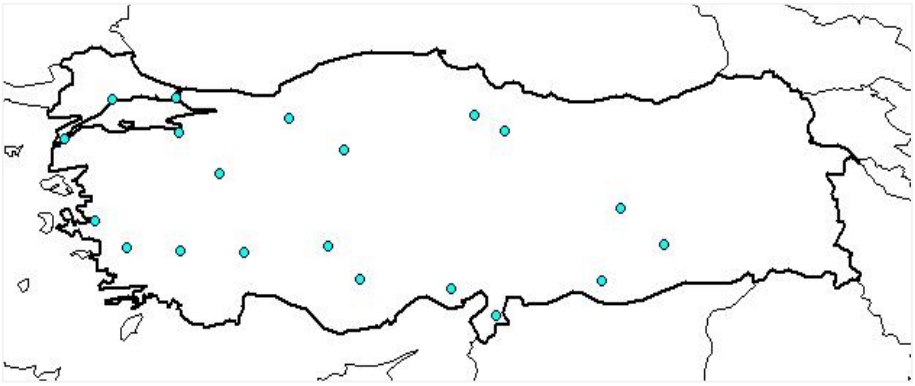


Şekil 2.6. *E. denticulata*'nın Türkiye'deki dağılımı (TÜBİVES 2016)



Şekil 2.7. *E. denticulata*'nın resmi (Turkiye Bitkileri 2016)

Euphorbia aleppica: Kurak taşlı yamaçlar, serpantin tepeler, step, akarsu kenarları, tarlalar ve yol kenarlarında yetişen, endemik olmayan ve 4-9. aylar arasında çiçeklenen tek yıllık otsu bir türüdür. Ülkemizde yaygın olarak Doğu ve Kuzey Doğu bölgelerinde yetişmektedir (TÜBİVES 2016).



Şekil 2.8. *E. aleppica*'nın Türkiye'deki dağılımı (TÜBİVES 2016)



Şekil 2.9. *E. aleppica*'nın resmi (Turkiye Bitkileri 2016)

Euphorbia eriophora: Stepte tebeşirli marl, nadas tarlalar ve ekili alanlarda yetişen, endemik olmayan ve 5-9. aylar arasında çiçeklenen tek yıllık otsu bir türüdür. Ülkemizde yaygın olarak karasal bölgelerde yetişmektedir (TÜBİVES 2016).

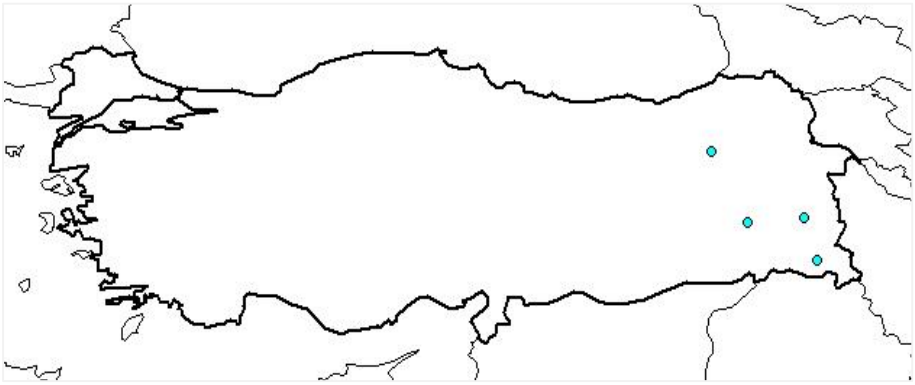


Şekil 2.10. *E. eriophora*'nın Türkiye'deki dağılımı (TÜBİVES 2016)



Şekil 2.11. *E. eriophora*'nın resmi (Fırat ve ark. 2015)

Euphorbia grisophylla: Çok yıllık, otsu ve endemik bir tür olan *E. grisophylla* 6-7. aylar arasında çiçeklenmektedir. Kurak kayalı magmatik, kireçtaşlı yamaçlar ve çağıllık alanlarda yetişmektedir (TÜBİVES 2016).

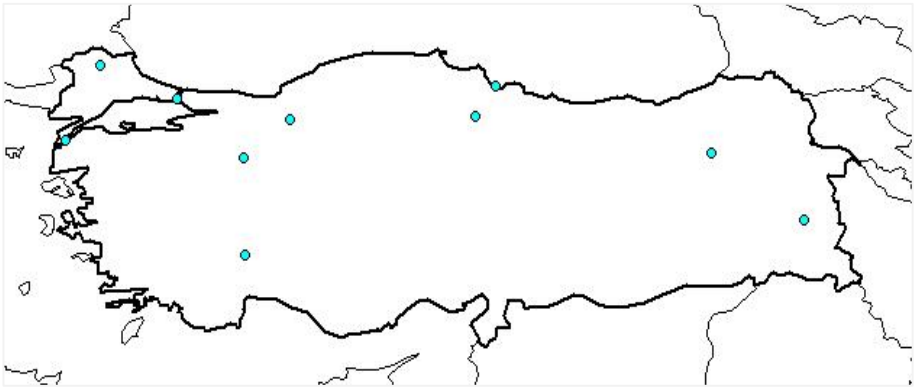


Şekil 2.12. *E. grisophylla* 'nın Türkiye'deki dağılımı (TÜBİVES 2016)



Şekil 2.13. *E. grisophylla*'nın resmi (Fırat ve ark. 2015)

E. seguieriana subsp. *seguieriana*: *E. seguieriana* bitki boyu 60 cm'ye kadar uzayan çok yıllık otsu bir bitki türü ve endemik olmayan 3-10. aylarda çiçeklenen bir türdür. Orman, çalılık, step, kayalık yamaçlar, dere kenarları ve nadaslarda 10-1900 m kadar yükseklikte yetişir. Bitkinin tümü boyarmadde taşır. Bu bitki türünden mor ile sarı boyar madde elde edilir (Uysal 1991).

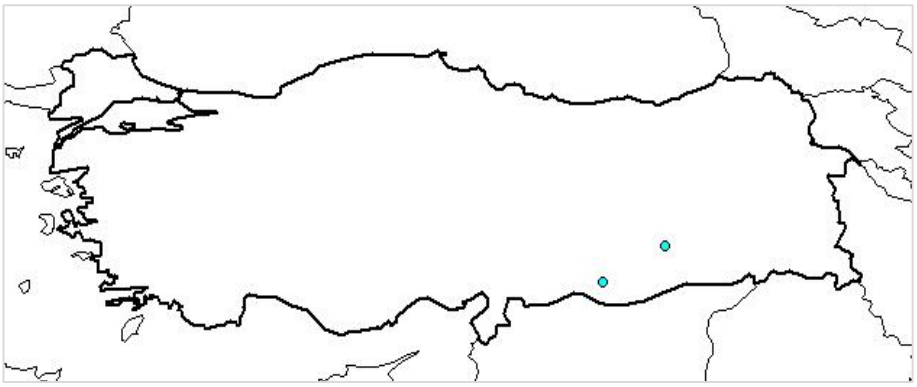


Şekil 2.14. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana*'nın Türkiye'deki dağılımı (TÜBİVES 2016)

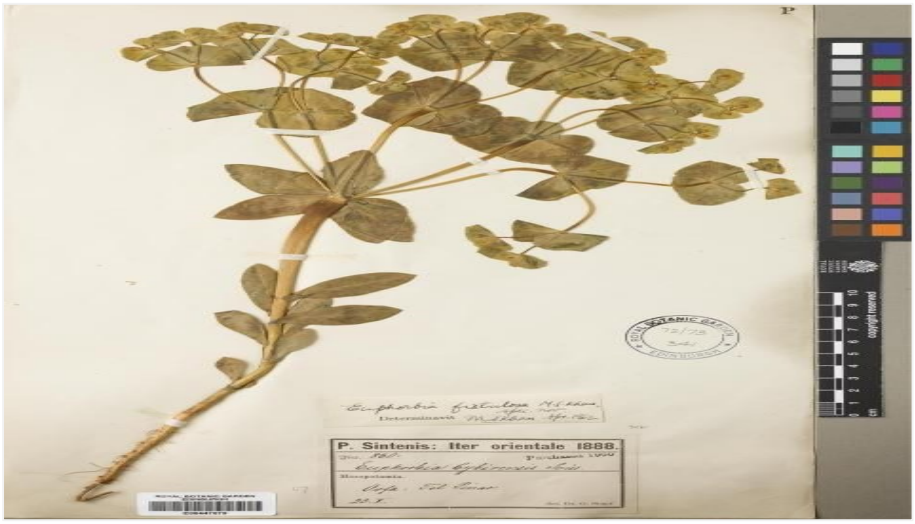


Şekil 2.15. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana* resmi (Fırat ve ark. 2015)

Euphorbia fistulosa: Nadasa bırakılmış tarlalar ve taşlık alanlarda yetişen, endemik olmayan ve 4-6. aylar arasında çiçeklenen tek yıllık otsu bir türüdür. Ülkemizde Doğu Anadolu bölgelerinde yetişmektedir (TÜBİVES 2016).

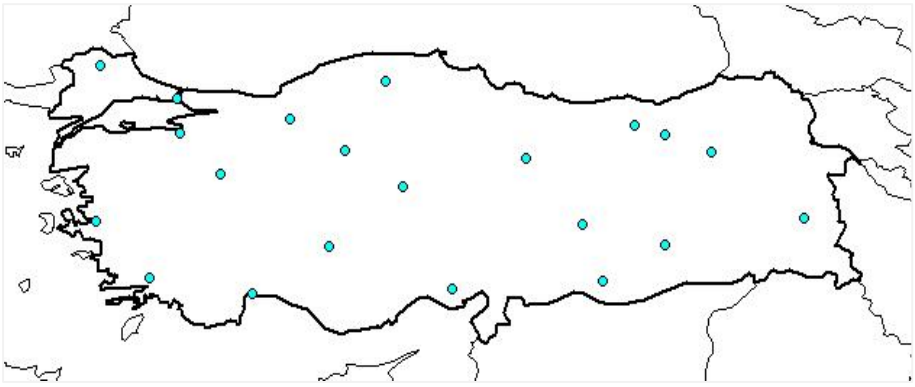


Şekil 2.16. *E. fistulosa*'nın Türkiye'deki dağılımı (TÜBİVES 2016)



Şekil 2.17. *E. fistulosa*'nın resmi (Khan 2016)

Euphorbia falcata: *E. falcata* türü endemik olmayan ve tek yıllık otsu bir türüdür. Kökleri 4-8.5 cm uzunluğunda, 1-3 mm çapına sahiptir. Ayrıca 16-24 cm uzunluğunda ve 2-3 mm genişliğinde gövdesi dik bir türdür. Bu tür 4- 8. aylarda çiçeklenen bir türdür (TÜBİVES 2016).



Şekil 2.18. *E. falcata*'nın Türkiye'deki dağılımı (TÜBİVES 2016)



Şekil 2.19. *E. falcata*'nın resmi (Turkiye Bitkileri 2016)

2.4.1. *Euphorbia* Türleriyle İlgili Çalışmalar

Karimi ve ark. (2016), tarafından yapılan bir çalışmada *E. spinidens* türünün toprak üstü metanol ekstresi hazırlanmış, toplam fenolik ve flavonoid içerikleri araştırılmıştır. *E. spinidens* türünün toplam fenolik içeriği gallik asit'e eş değer miktarı ve toplam flavonoid içeriği rutin'e eşdeğer miktarı sırasıyla 70.00±1.00 mg/g ve 49.66±1.00 mg/g olarak tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmada bütilen hidroksi tolüen (BHT) standartına karşı, *E. spinidens* türün metanol ekstresinin antioksidan kapasitesi β-karoten renk açılımı yönteminde inhibisyon % 44±1 olarak bulunmuştur.

Perumal ve ark. (2016), tarafından yapılan bir çalışmada *E. hirta* L. türünün toprak üstü metanol ekstresi hazırlanmış, toplam fenolik, flavonoid içerikleri ve ekstre verimi araştırılmıştır. *E. hirta* L türünün toplam fenolik içeriği gallik asit'e eş değer miktarı ve toplam flavonoid içeriği kateşin'e eşdeğer miktarı sırasıyla 213.40±0.75 mg/g, 62.30±1.01 mg/g ve ekstrenin metanol verimi % 12.5 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmada bütilen hidroksi tolüen (BHT) standartına karşı, *E. hirta* L türün metanol ekstresinin antioksidan kapasitesi DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yönteminde IC_{50} değeri 42.80±2.83 µg/mL ve β-karoten renk açılımı yönteminde inhibisyon % 90.01±0.97 olarak bulunmuştur. Yapılan bu çalışmada türün sitotoksik etki göstermediği belirlenmiştir.

Ashraf ve ark. (2015), tarafından yapılan bir çalışmada *E. royleana* türünün toprak üstü metanol ekstresi hazırlanmış, toplam fenolik, flavonoid içerikleri ve DPPH serbest radikali giderim aktivitesi araştırılmıştır. *E. royleana* türünün toplam fenolik

içeriği gallik asit'e eş değer miktarı ve toplam flavonoid içeriği kersetin'e eşdeğer miktarı sırasıyla 56.97±0.27 mg/g ve 43.98±0.79 µg/mg olarak tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmada bütilen hidroksi tolüen (BHT) standartına karşı, *E. hirta* L. türünün metanol ekstresinin antioksidan kapasitesi DPPH serbest radikali giderim aktivitesi yönteminde inhibisyon % 56.78±1.37 olarak bulunmuştur.

Ryu ve ark. (2016), tarafından yapılan bir çalışmada; kültürü edilmiş ve doğal olarak yetişen *E. supina* türünün toplam fenolik ve flavonoid içerikleri araştırılmıştır. Kültürü edilmiş ve yabani olarak toplanan *E. supina* türünün metanol eksresi hazırlanmış ve toplam fenolik içeriği gallik asit'e eşdeğer miktarı sırasıyla 21.3±0.78 mg/g ve 24.10±0.88 mg/g olarak bulunmuştur. Toplam flavonoid içeriği kersetin'e eşdeğer miktarı ise sırasıyla 2.4±0.3 mg/g ve 4.4±0.4 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Munro ve ark. (2015), tarafından yapılan bir çalışmada; *E. tirucalli* türünün metanol ve su ekstresinde toplam fenolik ve flavonoid içerikleri incelenmiştir. *E. tirucalli* türünün metanol ve su ekstresinin standart gallik asit'e eşdeğer toplam fenolik içeriği sırası ile 73.33±6.39 mg/g ve 34.01±1.23 mg/g olarak bulunmuştur. Türün metanol ve su ekstrelerinin toplam flavonoid içerikleri ise rutin'e eşdeğer miktarı sırasıyla 28.65 ± 6.45 mg/g ve 14.24 ± 0.69 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Ertaş ve ark. (2014), tarafından yapılan bir çalışmada; *E. macroclada* ve *E. gaillardotii* türlerinin metanol ekstrelerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri incelenmiştir. *E. macroclada* ve *E. gaillardotii* türlerinin toplam fenolik içerikleri standart olarak kullanılan pirokatakol'e eşdeğer miktarı sırasıyla 102.38±0.32 µg/mg ve 83.48±0.39 µg/mg olarak, toplam flavonid içerikleri ise standart olarak kullanılan kersetin'e eşdeğer miktarı sırasıyla 39.72±0.28 µg/mg ve 29.61±0.91 µg/mg olarak belirlenmiştir ve bu çalışmada; *E. macroclada* ve *E. gaillardotii* türlerinin metanol ekstrelerinde ABTS katyon radikali giderim aktivitesi ve DPPH serbest radikali giderim aktivitesi incelenmiştir. *E. macroclada* ve *E. gaillardotii* türlerinin ABTS katyon radikali giderim aktivitesi sırasıyla 6.71±0.16 µg/mL ve 18.61±0.39 µg/mL olarak, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi ise sırasıyla 49.91±0.32 µg/mL ve 55.29±1.29 µg/mL olarak belirlenmiştir. Ayrıca *E. macroclada* ve *E. gaillardotii* türlerinin metanol ekstrelerinde LS-MS/MS ile kinik, p-kumarik, hesperidin, klorijenik asit ve rutin gibi fenolik bileşiklerin miktarsal tayinleri yapılmıştır. *E. macroclada* türünün kinik asit, p-

kumarik asit, hesperidin, klorijenik asit ve rutin miktarları sırasıyla 20.877.9±179.4 µg/g, 184.7±17.3 µg/g, 4660.6±181.9 µg/g, 80.9±4.8 µg/g ve 11,716.1±294.0 olarak, *E. gaillardotii* türünde ise kinik asit, p-kumarik asit, hesperidin ve rutin sırasıyla 12953.7±143.6 µg/g, 161.9±13.6 µg/g, 66.4±2.9 µg/g ve 74.5±1.9 µg/g olarak tespit edilmiştir.

Barla ve ark. (2007), tarafından yapılan bir çalışmada farklı *Euphorbia* türlerinde toplam fenolik ve flavonoid içerikleri incelenmiştir. Türkiye'nin farklı illerinden toplanan (Malatya, Çanakkaele ve Muğla) ve etanol ekstresi hazırlanan *E. macroclada, E. rigida* ve *E. acanthothamnos* türlerinin toplam fenolik içerikleri standart pirokatakol'e eşdeğer miktarı sırasıyla 22.69±1.58 µg/mg, 5.15±0.17 µg/mg ve 176.01±1.11 µg/mg olarak bulunmuştur ve toplam flavonoid içerikleri standart kersetin'e eşdeğer miktarı ise sırasıyla 34.36±0.23 µg/mg, 9,19±1.09 µg/mg ve 33.72±3.07 µg/mg olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada farklı *Euphorbia* türlerinde DPPH serbest radikali giderim ve β-karoten renk açılım yöntemleriyle antioksidan içerikleri incelenmiştir. Etanol ekstresi hazırlanan *E. macroclada, E. rigida* ve *E. acanthothamnos* türlerinin DPPH içeriklerini IC_{50} değerleri sırasıyla 51.13±1.00 µg/mL, >100 µg/mL ve 13.45±1.23 µg/mL olarak bulunmuştur ve β-karoten renk açılım yönteminde % inhibisyon değerleri sırasıyla % 86.13±0.18 , % 40.09±0.95 ve % 78.52±0.06 olarak tespit edilmiştir.

Ndam ve ark. (2016), tarafından yapılan çalışmada; Güney Batı Cameron bölgesinde toplanan *E. golondrina* türü oda sıcaklığında kurutulup yapraklarının aseton ekstresi hazırlanmış ve ABTS katyon radikali giderim yönteminde antioksidan aktivitesi incelenmiştir. *E. golondrina* türünün aseton ekstresinin aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi tayini için kullanılan gallik asit ve bütüllenmiş hidroksi tolüen standartlarından daha aktif olduğu belirlenmiş ve konsantrasyonu sırasıyla 0.1ve 0.2 mg/mL olarak belirlenmiştir.

Bağcı (2007), tarafından yapılan çalışmada *E. orientalis* ve *E. macroclada* türlerinde tohum kısmının yağ asidi içerikleri belirlenmiştir. Çalışılan her iki türde en yüksek yağ asidi linolenik (α-18:3) ve linoleik (α-18:2) asitler olarak belirlenmiştir. *E. orientalis* ve *E. macroclada* türlerinin linolenik ve linoleik asit içerikleri sırasıyla %

60.7- 49.7 ve % 20.9-14.9 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada iki türün diğer yağ asitleri arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.

Liu ve ark. (2011), tarafından yapılan bir çalışmada; *E. helioscopia* türünde biyolojik aktivite tayininde önemli bir bileşik olan kersetin miktarı HPLC ile belirlemeye çalışılmıştır. *E. helioscopia* türünün tohum, kök ve yaprak kısımlarından hazırlanan metanol ekstrelerinde kersetin miktarını belirlemek için RP-HPLC cihazında metot geliştirilmiştir. Geliştirilen metotta türün tohum, kök ve yaprak kısımlarının metanol ekstresindeki kersetin miktarı sırasıyla 21.1±1.4 µg/g, 43.7±1.8 µg/g ve 1417.9±1.3 µg/g olarak bulunmuştur.

Mwine ve Damme (2011), tarafından yapılan bir çalışmada; *Euphorbia* türleriyle ilgili çeşitli sekonder metobolitlerin etkileri araştırılmıştır (Çizelge 2.1.).

Çizelge 2.1. *Euphorbiaceae'*deki sekonder metabolitler ve etkileri

Tür Adı	Etkileri	Kimyasal Bileşenler
E. guyoniana	Anti bakteriyel	Diterpenler
E. sororia	Anti bakteriyel	Ceramidler ve elagik asit türevleri
E. hirta	Anti bakteriyel	Tanenler, alkaloidler ve flavonoidler
E. pubescens	Anti bakteriyel	Diterpenler
E. sessiliflora	Anti bakteriyel	Triterpenler ve elagik asit türevleri
E. segetalis L.	Anti bakteriyel	Kumarinler ve Steroidler
E. ebracteolata	Anti bakteriyel	Casbane diterpenoidler
E. heterophylla	Anti bakteriyel	Saponinler, flavonoidler ve taninler
E. kansui	Anti viral	Triterpenler, steroller ve diterpenler
E. hyberna	Anti viral	Diterpenler
E. cotinifolia, E. tirucalli	Anti viral	Diterpenler
E. thymifolia	Anti viral	Alkaloidler
E. thymifolia	Anti viral	Triterpenler ve alkaloidler
E. nivulia	Anti-fungal	Diterpenler
E. hirta, E. tirucalli	Anti-fungal	Diterpenler ve triterpenler
E. tirucalli, E. helioscopia,	Nematicidal	Diterpenler
E. pulcherrima	Nematicidal	Flavonolar
E. kansui	Nematicidal	Fenoller
E. hirta	Nematicidal	Peptidler
E. tirucalli, E. conspicua, *E. splendens*	Moluscicidal	Diterpenler ve triterpenler
E. paralias	Moluscicidal	Diterpenler
E. hirta	Böcek öldürücü	Flavonol glikozitleri

Mwine ve Damme (2011), tarafından yapılan bir çalışmada; *Euphorbia* türleriyle ilgili alınan patent çalışmaları Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Euphorbiaceae ekstraklarının tıbbi patent örnekleri

Tür adı	Patent Sahibi	Etkileri	Patent no
E. lathyris	Advanced plant Pharm. Inc.	Terapötik bitki kompozisyonu	US 5707631
E. peplus, E. hirta, E. drummondii	Peplin Biotech Pyt.	İmmuno uyarıcı	US 6844013
E. antiquorum	LaRiviere Grubman and Payne LLP.	Tümör inhibisyonu	US 2003/0165579 A1
E. peplus, E. hirta, E. drummondii	Peplin Biotech Pty.	Anti-kanser bileşiği	US 6432452
E. aaron-rossii, E. tirucalli, E. tomentella, E. tomentosa	Peter Gordon Parsons	Prostat kanseri	US 2003/0171334 A1
E. obesa	Nicholas Dodato	Anti-kanser bileşiği	US 6923993
E. hirta	PhytoMyco Research Corp.	Anti-enflamatuar Özellikler	US 2007/0248694 A1
E. prostrata	Rajesh Jain and others	Ano-rektal ve kolon hastalıkları	US 2006/0198905 A1

Atinafu ve ark. (2015), tarafından tıbbi bitkilerde toksik metallerin birikmesi ile ilgili bir çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada As, Cd ve Pb gibi ağır metallerin analizlerini AAS ve GF-AAS cihazlarıyla yapılmıştır. Çalışmada kullanılan tıbbi bitkiler *Acalypha acrogyna*, *Adansonia digitata*, *Brucea antidysentrica*, *Calpurnia aurea*, *Carissa spinarum*, *Croton macrostachyus*, *Dodonaea angustifolia*, *Maytenus Ovatus*, *Maytenus undata* ve *Piliostigma thonningii* türleridir. As miktarı *Carissa spinarum* ve *Calpurnia aurea* türlerinde, Cd miktarı *Croton macrostachyu*, *Brucea antidysentrica*, *Acalypha acrogyna*, *Maytenus Ovatus*, *Piliostigma thonningii*, *Calpurnia aurea* ve *Maytenus undata* türlerinde ve Pb miktarı ise *Brucea antidysentrica*, *Carissa spinarum* ve *Maytenus undata* türlerinde WHO tarafından belirlenen değerlerle karşılaştırıldığında daha fazla ağır metal içerdği belirlenmiştir. (WHO tarafından belirlenen metal değerleri As:1 mg/kg, Cd: 0.3 mg/kg ve Pb:10 mg/kg dır.)

Hajar ve ark. (2014), tarafından yapılan bir çalışmada; *Stevia rebaudiana* bitkisinin tohum, yaprak ve çiçek kısımlarında ağır metal içerikleri araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada As, Cd, Cr, Pb, Cu, Fe, Zn, Ag, Co, Ni ve Se metalleri türün tohum ve çiçek kısımları yaprak kısmından daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Patel ve ark. (2013), tarafından yapılan bir çalışmada; *E. exigua, E. helioscopia* ve *E. peplus* türlerinde major bileşen olarak sesquiterpen beta-caryophyllene ve alpha-

humulene bileşikleri, *E. amygdaloides* türünde ise diterpen olan kaur-16-ene bileşiğini katı faz ekstraksiyonunu kullanarak GC-MS'te tayin edilerek tespit edilmiştir.

Sadeghı-Aliabadi ve ark. (2009), tarafından yapılan bir çalışmada; farklı *Euphorbia* (*Euphorbiaceae*) türlerinin antitümör aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Bazı raporlar da göstermiştir ki; bu türler hücre hatlarına karşı sitotoksik etki potansiyeline sahiptirler. Bu çalışmada diklorometan, etilasetat ve metanol maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlar ve türün sütü MDA-MB-468 hücre hattına karşı incelemişlerdir. Diklorometan ve etilasetat ekstraktlarının hücre hattına karşı sitotoksik etki göstermediğini, metanol ekstraktının ve tür sütünün test konsantrasyonuna karşı sitotoksik etki göstermediğini belirlenmiştir. Çalışmada *E. macroclada* posasının nonpolar ekstraktının yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Duarte ve ark. (2008), tarafından yapılan bir çalışmada; kültürü yapılan *E. lagascae* türünün tohum ekstrelerinde yüksek oranda ve kimyasal endüstride kullanılan 12,13-epoxyoleik asit (venolik asit) tespit edilmiştir. Ayrıca bu türün metanol ekstresinden piseatannol bileşiği izole edilmiştir.

Şaşmaz ve Yaman (2006), tarafından yapılan bir çalışmada; *E. macroclada* türünün kök ve tomurcuğunda Cr, Ni ve Co metal içerikleri incelenmiştir. Türün Cr, Ni ve Co metal içerikleri kök kısmında sırasıyla 4.60 (mg/kg), 6.35 (mg/kg) ve 2.35 (mg/kg) ve tomurcuğunda ise sırasıyla 0.67 (mg/kg), 1.53 (mg/kg) ve 0.47 (mg/kg) olarak belirlenmiştir. Çalışılan türün biyomonitör olarak kullanılabileceği ile ilgili bilgi verilmiştir.

Rizk ve ark. (1985), tarafından yapılan bir çalışmada *E. peplus* türüyle yapılan ve preparatif ayırma ve ince tabaka kromatografisi çalışmasıyla iki enflamatuar etkiye sahip diterpen esteri izole edilmiştir. Bu diterpenler 20-Deoxiingenol 3-oangelat ve ingenol 20- O- oktanoat bileşikleri olarak belirlenmiştir.

Cui ve ark. (2011), tarafından yapılan bir çalışmada; *E. fischeriana* türünün GC/MS ile uçucu yağ içeriği ve DPPH serbest radikali giderim aktiviteleri incelenmiştir. GC/MS ile yapılan uçucu yağ analizinde 40 tane bileşen tespit edilmiştir. *E. fischeriana* türün uçucu yağ ana bileşenleri β-eudesmol (% 18.22), p-menth-8-en-2-ol (% 9.36), caryophayllene oxide (% 8.61), β-selinenol (%6.83), cedrol (% 4.30) ve β-selinene (% 4.21) olarak belirlenmiştir. Ayrıca *E. fischeriana*'nın uçucu yağın DPPH

serbest radikali giderim aktivitesine bakılmış ve yöntemde standart olarak kullanılan BHT, askorbik asit ve türün IC_{50} değeri sırasıyla 26.05±1.87, 63.15±3.28 ve 57.24±2.31 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

Feizbakhsh ve ark. (2004), tarafından yapılan bir çalışmada; endemik olan *E. teheranica* türünün GC/MS ile uçucu yağ içeriği incelenmiştir. Yapılan çalışmada 24 tane uçucu yağ bileşeni tespit edilmiş ve major bileşenleri elemol (% 57.50), β-caryophayllene (% 8.1) ve caryophayllene oxide (% 7.8) olarak belirlenmiştir.

Akhgar ve ark. (2014), tarafından yapılan bir çalışmada; endemik olan *E. hebecarpa* türünün GC/MS ile uçucu yağ içeriği incelenmiştir. Yapılan çalışmada 28 tane uçucu yağ bileşeni tespit edilmiş ve major bileşenleri α-bisabolol (% 31.2), cis-cadin-4-en-7-ol (% 20.1), *cis-p*-menth-2-en-1-ol (% 6.4) *trans-p*-menth-2-en-1-ol (% 6.2), trans-piperitol (%8.6) ve oxygenated sesquiterpenes (% 59.3) olarak belirlenmiştir.

Rojas ve ark. (2009), tarafından yapılan bir çalışmada; *E. carascasana* ve *E. cotinifolia* türlerinin GC/MS ile uçucu yağ içerikleri incelenmiştir. Yapılan bu çalışmada iki *Euphorbia* türlerinden 28 tane uçucu yağ bileşeni tespit edilmiş ve major olanları *E. carascasana için* β- caryophayllene (% 33.7), α-humulene (% 18.8) ve aromadendrene (% 8.4) , *E. cotinifolia* için ise β- caryophayllene (% 39.3), germacrene-D (% 21.5) ve α-copaene (% 9.3) olarak belirlenmiştir.

Lin ve ark. (2012), tarafından yapılan bir çalışmada; *E. macrorrhhiza* türü GC/MS ile uçucu yağ içerikleri ve elde edilen uçucu yağın antitümör aktivitesi incelenmiştir. *E. macrorrhhiza* türünün toprak üstü ve tohum kısımlarında 36 tane uçucu yağ bileşeni tespit edilmiş ve major bileşenleri sırasıyla acorenone-B (% 16.72 ve % 25.80), ± cycloisosativene (% 14.94 ve %12.40), 3a-hydroxy-5b-androstane (% 10.62 ve % 5.52), copaene (% 7.37 ve % 6.29), 1-calamenene (% 4.13 ve % 4.65) ve β-cedrene (% 8.40 ve %7.98) olarak belirlenmiştir. Ayrıca türün toprak üstü ve tohum kısımlarının uçucu yağlarının antitümör aktiviteleri Caco 2-hücre serisine karşı sırasıyla IC_{50} değerleri 78.32 µg/mL ve 11.86 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 2.3. Farklı *Euphorbia* türlerinden elde edilen fitokimyasallar

Bitki türü	Flavonoid ve kumarinler	Terpenoitler ve steroidler	Diğer bileşikler	Kaynaklar
E. larica	6-Metoksiapigenin	Lupeone		Ulubelen ve ark. 1986
E. larica	Kaempferol-3-rutinosid	Ginnone, ambrein		Ulubelen ve ark. 1986
E. larica		Lupeol, lupeol asetat	Octacosyl behenate	Ulubelen ve ark. 1986
E. larica	Rutin	β- Amirin asetat	Nonacosane	Ulubelen ve ark. 1986
E. virgata	Kaempferol			Ulubelen ve ark. 1986
E. chamaesyce	Kersetin-3-O-glukosid			Ulubelen ve ark. 1986
E. chamaesyce	Kaempferol-3-O-glukosid			Ulubelen ve ark. 1986
E. magalanta	Kersetin-3-O-glukosid			Ulubelen ve ark. 1986
E. magalanta	Kaempferol-3-rutinosid			Ulubelen ve ark. 1986
E. magalanta	Kaempferol-3-O-glukosid			Ulubelen ve ark. 1986
E. petiolata	Sikloartenol			Rustaiyan ve ark. 1982
E. falcata L.		γ-euphorbol	Eicosan-2-one	Aynehchi ve ark 1978
E. falcata L.		Obtusifoldienol	Octadecan-2-one	Aynehchi ve ark 1978
E. lanata			Octacosanol	Jassbi 2006
E. lanata	Kaempferol	Sitosteril-3-β-D-glukosid	Octacosyl behenate	Jassbi 2006
E. lanata	Esculetin			Jassbi 2006
E. tinctoria	Kaempferol			Jassbi 2006
E. tinctoria	Rhamnoside			Jassbi 2006
E. tinctoria	Kersetin-7-glukosid		Eicosan-2-one	Jassbi 2006
E. tinctoria	Kersetin	Euphorbol		Jassbi 2006
E. myrsinites			Nonacosane	Jassbi 2006
E. myrsinites	Taraxerol, β-amirin		Octacosanol	Jassbi 2006
E.resinifera		α-Euphorbol		Jassbi 2006
E. officinarum		Obtusifoliol		Jassbi 2006
E. decipiens		Dekipinon		Ahmad ve ark. 1998
E. macrostegia		Butyrospermol,		Zare ve ark. 2015
E. macrostegia		Cycloartenol		Zare ve ark. 2015
E. macrorrhiza		Macrorilone A-B		Gao ve ark. 2016
E. macrorrhiza		Macroripremyrsinone A		Gao ve ark. 2016
E. macrorrhiza		Macrorilathyrone A-B		Gao ve ark. 2016
E. macrorrhiza		Macrorieuphorone A-B		Gao ve ark. 2016
E. macrorrhiza		Sikkimenoids A-D,		Gao ve ark. 2016
E. macrorrhiza		Latilagascenes F		Gao ve ark. 2016
E. macrorrhiza		Macroricasbalone A-C		Gao ve ark. 2016
E. macrorrhiza		Jatrophalone		Gao ve ark. 2016
E. macrorrhiza		Jolkinol B,		Gao ve ark. 2016
E.myrsinites		Butelin		Öksüz ve ark. 1995
E.myrsinites		Myrsinol		Öksüz ve ark. 1995
E. aleppıca		Methylenecycloartanol,		Öksüz ve ark. 1996
E. aleppıca		Cyclolaudenol		Öksüz ve ark. 1996
E. aleppıca		Cycloart-25-en-3fl-ol-24-one		Öksüz ve ark. 1996
E. aleppıca		Cycloart-22-en-3fl,25-diol		Öksüz ve ark. 1996

Bitki türü	Flavonoid ve kumarinler	Terpenoitler ve steroidler	Diğer bileşikler	Kaynaklar
E. aleppıca		Cycloart-25-en-3fl,24-diol)		Öksüz ve ark. 1996
E. aleppıca	Kaempferol	Scopoletin,		Öksüz ve ark. 1996
E. aleppıca	4-hydroxybenzoic acid			Öksüz ve ark. 1996
E.paralias		Paralinone A		Öksüz ve ark. 1997
E.paralias		Paralinone B		Öksüz ve ark. 1997
E.denticulara		Butelin		Shamsabadipour ve ark. 2013
E.denticulara		β- Sitosterol		Shamsabadipour ve ark. 2013
E.denticulara		24-methylene cycloartan-3-ol		Shamsabadipour ve ark. 2013
E.denticulara		Cycloarta 23Z- ene- 3,25-diol		Shamsabadipour ve ark. 2013
E.denticulara		Obtusifoliol		Shamsabadipour ve ark. 2013
E.sapinii		Lanost-24-en-20-ol-3-tetradecanoate		Tsopmo ve Kamnaing 2011
E.sapinii		Euphorbol-7-one		Tsopmo ve Kamnaing 2011
E. aucherii	Myricetin			Nazemiyeh 2010
E. aucherii	Myricetin 3-o-Rhamnoside			Nazemiyeh 2010
E. petiolata	Myricetin 3-o-glucoside			Nazemiyeh 2010
E. petiolata	Kersetin			Nazemiyeh 2010
E. petiolata	Keamferol			Nazemiyeh ve ark. 2010
E. geniculata	Keamferol	Genicunolide A		Farozi ve ark. 2015
E. geniculata	Kersetin	Genicunolide B		Farozi ve ark. 2015
E. geniculata	3-Rhamnosyl- keamferol	Genicunolide C		Farozi ve ark. 2015
E. heteraden	Ellagic acid	24-Methylenecycloartanol		Öksüz ve ark. 2002
E. heteraden	Syringic acid	Cycloart-25-en-3beta,24-diol		Öksüz ve ark. 2002
E. heteraden	Scopoletin	Cycloart-22-en-3beta,25-diol		Öksüz ve ark. 2002
E. heteraden		Vomifoliol		Öksüz ve ark. 2002
E. heteraden		Vomifoliol 9-O-beta-D-glucopyranoside		Öksüz ve ark. 2002
E. iberica		ingenol 20-eicosanoate		Öksüz ve ark. 1999
E. iberica		3 beta-acetoxy-urs-12-ene-1 beta,11 alpha-diol		Öksüz ve ark. 1999
E. iberica		3 beta-(E)-coumaroyloxy-urs-12-ene		Öksüz ve ark. 1999
E. iberica		3 beta-(Z)-coumaroyloxy-urs-12-ene		Öksüz ve ark. 1999

2.5. Antioksidanlar

Antioksidanlar, yiyeceklerde veya vücutta düşük derişimlerde bulunduğu zaman oksidasyonu önemli derecede güçleştiren veya geciktiren maddelerdir (Yıldız ve ark. 2008). Organizmada oluşan anabolik ve katabolik olayları ve tüm metabolizmayı etkileyen bir kısm enzimlerin aktif gruplarında yer alan, yokluğu ve eksikliği fizyolojik fonksiyonların durmasına ya da önemli ölçüde azalmasına neden olan antioksidan maddelere karşı ilgi artmış ve bilimsel araştırmalara konu olmuştur (Keleştemur ve Özdemir 2011). Prooksidanlar ise lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif

hasara sebep olan ve bunun sonucunda çeşitli patolojik olaylara ve/veya hastalıklara yol açan zararlı maddelerdir. Prooksidan terimi, reaktif türler için kullanılan bir terimdir (Cao ve Prior 1999). Antioksidanlar birçok hastalıkta tedavi ajanları olarak önem kazanmıştır. İnsan antioksidan savunması katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik süpürücüler; üre, askorbat, glutatyon ve flavonoidler gibi hidrofilik süpürücüler; tokoferoller, karotenoidler ve ubikinol gibi lipofilik radikal süpürücüler ile donatılmıştır (Ratnam ve ark. 2006). Antioksidan aktivitesi olan doğal gıdaların tüketimi hastalıklarla mücadelede en etkili yol olarak kabul edilir. Antioksidan etki gücünü ölçmek gıda kalitesini değerlendirmek ve hastalıkların teşhis ve tedavisi için önemlidir (Özyürek ve ark. 2011).

Çizelge 2.4. Antioksidanların sınıflandırılması (Ratnam ve ark. 2006)

Antioksidanlar	Enzimatik antioksidanlar	Brincil enzimler (Süperoksit Dismutaz, Katalaz, GSH-PX)		
		İkincil enzimler (Gulutatyon redüktaz)		
	Enzimatik olmayan antioksidanlar	Minareller (Zn, Se)		
		Vitaminler (C, E ve A vitaminleri)		
		Karatenoidler (β-karoten, Likopen, Lutein)		
		Düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar (Gulutatyon)		
		Organosülfür bileşikleri (Alilsülfür, İndoller)		
		Antioksidan kofaktorler (koenzim)		
		Polifenoller	Fenolik asitler	Hidroksi sinamik asit (Ferulik asit, β-Kumarik asit)
				Hidroksibenzoik asitler (Gallik asit, Ellagik asit)
			Flavonoidler	Flavonoller (Kersetin, Kemferol)
				Flavanoller (Kateşin)
				Flavanonlar (Hesperetin)
				İzoflavonoidler (Genistein)
				Antosiyanidinler (Delfinidin)
				Flavonlar (Krisin)

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanların zararlarını önlemektedirler

- ✓ Temizleme etkisi: Enzimler tarafından oksidan molekülleri zayıf hale getirip oksijen ile reaksiyona girerek oksijen konsantrasyonunu azaltırlar.
- ✓ Baskılama etkisi: Vitaminler ve flavonoidler tarafından oksidanlara bir hidrojen atomu verilerek hidroksil radikali yapısında yer alan hidrojen atomları ile bağ

oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyip peroksidasyonun başlamasını önlerler.

- ✓ Onarma etkisi: Serbest radikallerin oluşturduğu hasarları onarırlar.
- ✓ Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyebilirler. Zincir kırıcı antioksidanlar arasında fenoller, aromatik aminler ve en yaygın olan α- tokoferoller yer almaktadır (Keleştemur ve Özdemir 2011). Antioksidanlar, yağların oksidasyonunu önlemeyi ve/veya yavaşlatmayı sağlarlar. Gıdalardaki antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu engelleyici veya mevcut olan serbest radikalleri etkisiz hale getirme özelliğene sahiptirler.

Çizelge 2.5. Reaktif oksijen ve azot türleri

Reaktif Oksijen Türleri		Reaktif Azot Türleri	
Radikaller	Radikal Olmayanlar	Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit ($O_2^{\cdot -}$)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	Azot Oksit ($NO^{\cdot}$)	Nitröz Asit (HNO_2)
Hidroksi ($HO^{\cdot}$)	Hipokloröz Asit (HOCl)	Azot Dioksit ($NO_2^{\cdot}$)	Nitrozil Katyonu (NO^+)
Peroksi ($RO_2^{\cdot}$)	HipobromikAsit (HOBr)		Nitroksi Anyonu (NO^-)
Alkoksi ($RO^{\cdot}$)	Ozon (O_3)		Diazot Tetraoksit (N_2O_4)
Hidroperoksi ($HO_2^{\cdot}$)			Diazot Trioksit (N_2O_3)
			Peroksinitrit ($ONOO^-$)
			Peroksinitröz Asit (ONOOH)
			Nitronyum Katyonu (NO_2^+)
			Alkilperoksi Nitritler (ROONO)

Reaktif oksijen ve azot türleri vucudumuzda çeşitli şekillerde meydana gelebilirler;

- ✓ Hücrenin normal solunumu sırasında yan ürün olarak reaktif oksijen ve azot türleri oluşur.
- ✓ Süperoksit ve hidrojen peroksit miktarı, bazı biyomoleküllerin (adrenalin, dopamin, tetrahidrofolat, sitokrom P450 ve elektron transport zincirlerinin bazı bileşikleri) oksijen tarafından doğrudan oksidasyonuyla artabilir (Halliwell 1994).

- ✓ Vücudumuz, doğal ve insan kaynaklı radyasyona maruz kalabilir. Yüksek enerjili elektromagnetik ışın, suyu parçalayabilir ve hidroksi radikali oluşturur (Von-Sonntag 1987).

Reaktif oksijen ve azot türleri dışarıdan da organizmaya alınabilirler. Sigara dumanının ana bileşiği $NO_2^{\bullet}$'dir. $NO_2^{\bullet}$'in sigara olefinleri ile reaksiyona girmesiyle karbon merkezli radikallerin oluştuğu düşünülmektedir. Ayrıca sigara içimi nötrofilleri aktive ederek dolaylı olarak serbest radikal üretimini artırmaktadır (Papas 1996).

Yabancı organizmalara karşı koruyucu görev yapan fagositler (nötrofiller, monositler, makrofajlar, eosinofiller) yabancı organizmayı öldürmek için süperoksit ve hidrojen peroksit üretirler. Bu önemli savunma sisteminin bozukluğu, doku hasarıyla sonuçlanan aşırı fagosit aktivitesinin eşlik ettiği romatoit artirit ve iltihaplı bağırsak hastalığı gibi bazı hastalıklara neden olur (Anggard 1994).

Oksidasyon, radikalik zincir reaksiyonları üzerinden yürür. Radikaller eşleşmemiş elektronlarını eşleştirme eğiliminde oldukları için özellikle gevşek bağlı elektronları koparırlar. Bu özellikleri, radikallerin kimyasal olarak aktif olmalarını sağlar ve bunların organizmadaki varlığı biyomoleküllerin modifikasyonuna sebep olur.

Canlı organizmalarda antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin bulunması yaşam için önemli bir ihtiyaçtır. Antimutajenik, antikarsinojenik, yaşlanmayı geciktirici gibi birçok etki canlılardaki antioksidan özellikteki maddelerden kaynaklanır (Cook ve Samman 1996). Antioksidan maddelerin eksikliğinde reaktif oksijen ve azot türleri kanser, diabet, kireçlenme, parkinson, AIDS, beyin ve kalp hastalıkları gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasına sebep olurlar (Packer ve Cadenas 2002).

Doğal kaynaklı antioksidanlar, bitkilerde bulunan fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler), azotlu bileşikler (alkaloidler, klorofil türevleri, proteinler, aminler), organik asitler ve karotenoidlerdir (Hudson 1990). Sistein, metiyonin, histidin, triptofan ve lizin (Taylor ve Richardson 1980) gibi aminoasitler ile sülfürlerce zengin olan tiyoredoksin (Buchanan ve ark. 1994) proteini de antioksidan özellik gösterirler.

Diğer taraftan sentetik antioksidanlar gıdaların bozunmasını önlemek ve raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadırlar. Günümüzde BHA (bütillenmiş hidroksi-

anisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), PG (propil gallat) ve TBHQ (*t*-bütilhidrokinon) en çok kullanılan sentetik antioksidanlardır. Ancak sentetik antioksidanlar ve oluşturdukları yan ürünlerin çeşitli hastalıklara yol açabileceğini ortaya koyan çalışmalar vardır (Tepe ve ark. 2007). Bu nedenle doğal kaynaklardan, sentetik antioksidanların yerini tutabilecek yeni antioksidan maddelerin bulunmasına yönelik çalışmalar giderek önem kazanmış ve bu alanda yapılan araştırmalar artmıştır.

2.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, reaksiyon mekanizmalarına göre birincil ve ikincil antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar. Bazı antioksidanlar ise birden fazla aktivite mekanizması gösterirler ve bunlar çok fonksiyonlu antioksidanlar olarak adlandırılırlar.

Birincil antioksidanlar (tip–1 veya zincir kırıcı antioksidanlar) otooksidasyonun başlangıç aşamasını erteleyen veya engelleyen ya da otooksidasyonun ileri aşamasını yarıda kesen serbest radikal alıcılarıdır. Bir lipit (alkil) radikali ($R^{\bullet}$) oluşturmak için, doymamış yağdan α-metilenik hidrojen ayrıldığında otooksidasyon başlar.

$$RH \longrightarrow R^{\bullet} + H^{\bullet}$$

Oluşan lipit radikali çok etkin reaktiftir, ilerleyen basamaklarda peroksi radikali ($ROO^{\bullet}$) oluşturmak için oksijenle reaksiyona girer.

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet} + H^{\bullet}$$

Reaksiyonun ilerleyen aşamalarında peroksi radikalleri lipitle reaksiyona girerek hidroperoksit ve yeni bir kararsız lipit radikali oluştururlar.

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet}$$

Daha sonra bu lipit radikali başka peroksi radikali oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girecektir. Bu oksidatif mekanizma kendiliğinden katalizlenir ve böylece otooksidasyon devam eder (Reische ve ark. 2002).

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet} + H^{\bullet}$$

Hidroperoksitler (ROOH) kararsızdırlar ve bozunarak radikaller oluştururlar. Bu da reaksiyonun hızlanmasına neden olur.

$$ROOH \longrightarrow RO^{\bullet} + HO^{\bullet}$$

$$RO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROH + R^{\bullet}$$

Birincil antioksidanlar (AH) lipit radikali ($R^{\bullet}$) ve peroksi radikalleriyle ($ROO^{\bullet}$) reaksiyona girerler ve onları daha kararlı, radikal olmayan ürünlere çevirirler. Birincil antioksidanlar lipit radikallerine hidrojen atomları verirler ve lipit türevleri ile antioksidan radikaller meydana getirirler ($A^{\bullet}$). Hidrojen verici olarak birincil antioksidanlar peroksi radikallerine lipitlerden daha çok ilgi gösterirler. Bu yüzden otooksidasyon reaksiyonunda oluşan peroksi ($ROO^{\bullet}$) ve oksi ($RO^{\bullet}$) serbest radikalleri birincil antioksidanlar tarafından giderilirler. Antioksidanlar lipit radikalleriyle doğrudan da etkileşebilirler

$$ROO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\bullet}$$

$$RO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROH + A^{\bullet}$$

$$R^{\bullet} + AH \longrightarrow RH + A^{\bullet}$$

Hidrojenin verilmesiyle oluşan antioksidan radikali lipitlerle çok az reaksiyona girer. Oksijen veya lipitlerle antioksidan radikalinin reaksiyonu çok yavaş olduğundan reaksiyon hızı azalır. Kararlı rezonans hibritler oluşturmak için fenol halkasının çevresindeki ortaklanmamış elektronun delokalizasyonu ile antioksidan radikali kararlı hale getirilir. Antioksidan radikaller peroksi, oksi ve diğer antioksidan radikaller ile sonlandırma reaksiyonlarına katılabilme yeteneğine sahiptirler (Reische ve ark. 2002).

$$ROO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow ROOA$$

$$RO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow ROA$$

$$A^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow AA$$

Katı ve sıvı yağlarda antioksidan dimerlerin oluşumu göze çarpar ve bu oluşum fenolik antioksidan radikallerin kolayca sonlandırma reaksiyonlarına uğradığını gösterir. Antioksidan dimerler, radikal olmayan şekillerinde ne kadar uzun süre kalırlarsa otokatalitik serbest radikal zincir mekanizmasını o kadar etkili şekilde durdururlar.

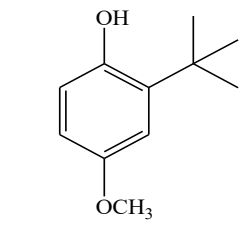
Otooksidasyonun başlangıcından önce, antioksidanların tüketildiği ve serbest radikallerin oluştuğu indüksiyon zamanı olmalıdır. Bu yüzden birincil antioksidanlar,

otooksidasyon basamakları meydana gelmeden oksidasyonun indüksiyon ve başlangıç aşamalarında ilave edilirlerse daha etkili olurlar (Reische ve ark. 2002).

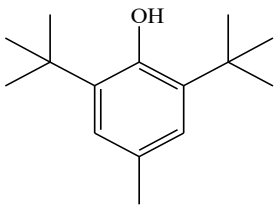
Radikal gidermeye ilaveten birincil antioksidanlar, hidroperoksitleri hidroksi bileşiklerine indirgeyebilirler. Bununla beraber birincil antioksidanların esas antioksidatif mekanizması radikal gidermedir (Reische ve ark. 2002).

Birincil antioksidanlar, çeşitli halka sübstitüsyonlarına sahip mono veya polihidroksi fenollerdir. Fenoldeki hidroksil grubuna göre orto ve para konumuna elektron veren grupların sübstitüsyonundan oluşan indüktif etki bileşiğin antioksidan aktivitesini arttırır. Fenolik antioksidanlar, hidroksil grubunun elektron yoğunluğunu arttırarak onun reaktifliğini azaltır. Hidroksil grubuna göre para konumunda etil veya bütil grupların sübstitüsyonu, antioksidan aktiviteyi arttırır. Bununla beraber sterik engelleme nedeniyle para pozisyonlardaki uzun zincir veya dallanmış alkil gruplarının varlığı antioksidan etkiyi azaltabilir. Orto pozisyonlardaki dallanmış alkil gruplarının sübstitüsyonları kararlı rezonans yapılar oluşturarak fenolik antioksidanın etkisini arttırırlar ve antioksidan radikalinin reaksiyonlara katılma yeteneğini azaltırlar.

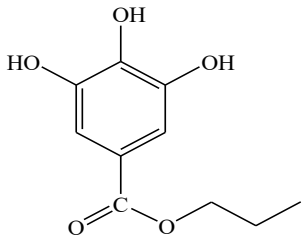
Sentetik birincil antioksidanlara örnek olarak bütillenmiş hidroksianisol, bütillenmiş hidroksitoluen, propil gallat ve *t*-bütil hidrokinon verilebilir (Şekil 2.20.). Tokoferoller ve karotenoitler doğal kaynaklı birincil antioksidanlardır.



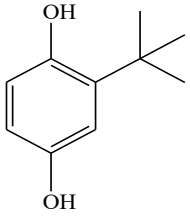
Bütillenmiş hidroksianisol



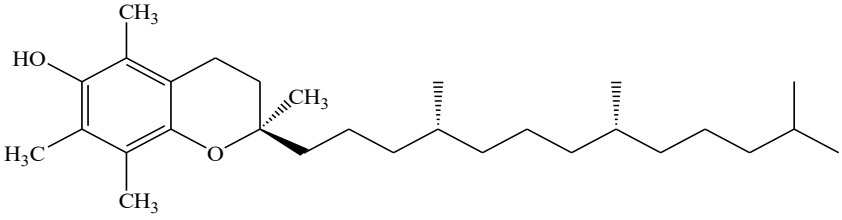
Bütillenmiş hidroksitoluen



Propil gallat



t-Bütil hidrokinon



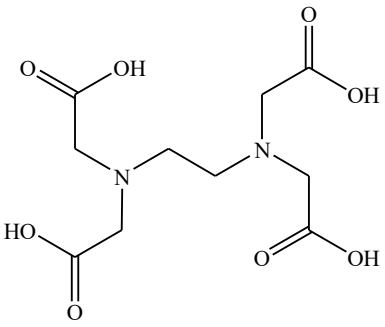
α-Tokoferol (Vitamin E)

Şekil 2.20. Birincil antioksidanlar

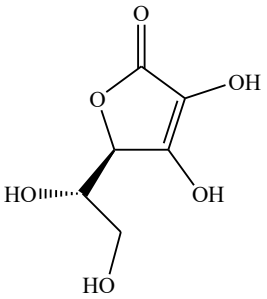
İkincil Antioksidanlar (tip–2 veya koruyucu antioksidanlar) antioksidanlar çok çeşitli reaksiyon mekanizmalarına sahiptirler. Bu antioksidanlar oksidasyon hızını yavaşlatırlar, fakat serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştürmezler. İkincil antioksidanlar prooksidan metallerle kelat yapabilirler ve onları deaktive edebilirler, hidroksiperoksitlerin radikal olmayan türlere parçalanmasını sağlayabilirler, singlet oksijeni deaktive edebilirler, ultraviyole radyasyonu absorbe edebilirler veya oksijen giderici olarak davranabilirler. Bu antioksidanlar, genellikle birincil antioksidanların aktivitesini arttırırlar. Sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin, tartarik asit, EDTA ve *β*-karoten ikincil antioksidanlara örnek olarak verilebilir (Şekil 2.21.).

İkincil antioksidanlar en önemli etki mekanizmalarına göre başlıca üç gruba ayrılabilirler.

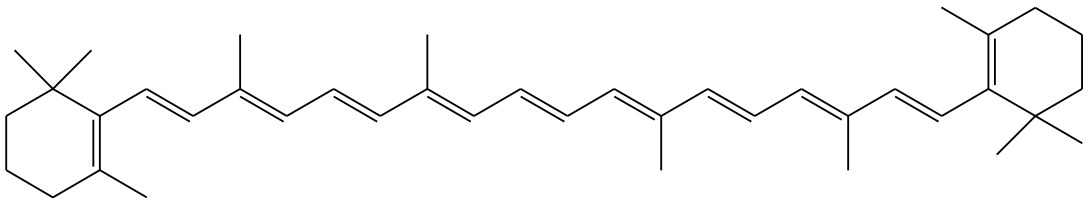
- ✓ **Kelat Yapıcılar:** Sitrik asit, fosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tartarik asit.
- ✓ **Oksijen Gidericiler ve İndirgeme Ajanları:** Askorbik asit, askorbil palmitat, eritorbik asit, sodyum eritorbat, sülfitler.
- ✓ **c) Singlet Oksijen Gidericiler**: Karotenoitler (*β*-Karoten, likopen ve lutein)



Etilendiamintetraasetikasit (EDTA)



Askorbik asit



β-Karoten (A vitamini)

Şekil 2.21. İkincil antioksidanlar

Antioksidanlar, enzimler (Katalaz, Glutatyon peroksidaz, Süperoksit Dismutaz (SOD), doğal kaynaklı ve sentetik antioksidanlar olarak da sınıflandırılabilirler (Halliwell ve Gutteridge 1989). Katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasında görev alırlar.

$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$ (Katalazın katalizlediği reaksiyon)

$GSH + H_2O_2 \longrightarrow GSSG + 2H_2O$ (Glutatyon peroksidazın katalizlediği reaksiyon)

SOD, dismutasyon reaksiyonunu katalizler ve süperoksidin uzaklaştırılmasını sağlar;

$O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ (temel hal) Dismutasyon reaksiyonu

2.6. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

1. Antioksidan aktivite tayin yöntemleri aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır. Tezde çalışılan tayin yöntemleri kısaca açıklanmıştır.
2. Folin Ciocalteu Fenol Reaktifiyle Toplam Fenolik Miktar Tayini Yöntemi
3. β-Karoten Renk Açılım Yöntemi
4. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi
5. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi
6. CUPRAC Yöntemi (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi)
7. FRAP Yöntemi (Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü)
8. Süperoksit Anyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi
9. Ferrisiyanür İndirgeme Gücü Yöntemi
10. TRAP Yöntemi (Toplam Radikal Tutma Parametresi)
11. Luminol Yöntemi (Kemilüminesans)
12. Diklorofloresin-Diasetat Yöntemi
13. ORAC Yöntemi (Oksijen Radikalini Absorplama Kapasitesi)
14. Siklik Voltametri Yöntemi

2.6.1. Folin Ciocalteu Fenol Reaktifiyle Toplam Fenolik Miktar Tayini Yöntemi

Fenolik bileşikler, Folin Ciocalteu Fenol Reaktifi ile sadece alkali ortamda reaksiyon verdiklerinden sodyum karbonat ile ortamın pH'sı yaklaşık 10'a ayarlanır.

Fenolik antioksidanların varlığında Mo(VI)'in indirgenmesiyle renk sarıdan maviye döner. Oda şartlarında iki saat kadar bekletildikten sonra absorbans 760 nm dalga boyunda ölçülür. Bu yöntem toplam fenolik miktarı için geliştirilmiştir (Singleton ve ark. 1999).

2.6.2. β-Karoten Renk Açılım Yöntemi

Oksijen ile doyurulmuş suya linoleik asit ve β-karoten koyulur. Linoleik asitten oluşan radikaller ($^{\cdot}OH$, $^{\cdot}OR$, $^{\cdot}OOR$, vs.), 490 nm'de maksimum absorbans veren β-karoteni parçalayarak renginin açılmasına neden olurlar. Antioksidanlar, oluşan radikalleri söndürerek β-karotenin renginin açılmasını önlerler (Miller 1971). Bu yöntem hidrofilik, hidrofobik ve emülsiyonların oksidasyonunu ölçmek için kullanılır.

2.6.3. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

DPPH (1,1–difenil–2–pikrilhidrazil) kararlı yapıda bir azot radikalidir. DPPH'ın etanoldeki çözeltisi mor renklidir ve 517 nm'de absorbansı ölçülür. DPPH çözeltisine antioksidanların ilave edilmesiyle söz konusu dalga boyundaki absorbansta düşüş meydana gelir ve çözeltinin rengi sarıya doğru kayar. Bu yöntem, antioksidanların serbest radikali giderme kabiliyetlerini belirleyen hızlı, pratik ve güvenirliliği yüksek olan bir yöntemdir (Blois 1958). Bu yöntemin olumsuz yönlerinden birisi 517 nm'de absorbsiyon yapan karotenoidler gibi bazı maddelerin analizinin güç olmasıdır. Bazı antioksidan maddeler, sterik engellemeden dolayı DPPH ile reaksiyona yavaş girerler veya giremezler. Bu nedenle antioksidan kapasiteyi tam anlayabilmek için bu testin yanında başka testler de yapılmalıdır.

2.6.4. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yöntemi

Bu yöntemde 2,2′-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) (ABTS) $K_2S_2O_8$, MnO_2, H_2O_2 gibi güçlü yükseltgenler ile tepkimeye sokulup $ABTS^{+\bullet}$ oluşturulur. Bu radikal 2 gün karanlıkta oda sıcaklığında kararlıdır. 660, 734 ve 820 nm dalga boylarında maksimum absorbans veren radikal, konjuge çifte bağlı antioksidanların aktivitesini ölçmede yararlıdır. Antioksidan ile tepkimeye sokulduğunda, $ABTS^{+\bullet}$'nin absorbansındaki düşme antioksidanın aktif olduğunu gösterir. Geliştirilen bu yöntemin

en büyük avantajı hem hidrofilik hem de lipofilik sistemlerde kullanılabilmesidir (Re ve ark. 1999).

2.6.5. CUPRAC Yöntemi (Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi)

Bu yöntemde 2,9–dimetil–1,10–fenantrolin (Neokuproin) ve bakır klorür aynı ortama bırakılır. Antioksidanın Cu (II)'yi indirgemesi sonucu oluşan Cu (I)'in neokuproin ile oluşturduğu kompleks 450 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermektedir (Apak ve ark. 2004). Bu yöntem hem hidrofilik hem de lipofilik sistemlere uygulanabilir, kolay ve pratiktir.

2.7. Antialzheimer

İnsan ömrünün uzamasına ve dünya nüfusunun yaşlanmasına bağlı olarak çeşitli sağlık sorunları hem sosyal hem de ekonomik önem kazanmaktadır. Bu sorunlardan biri olan demans, günlük yaşam işlevlerinin sürdürülmesini engelleyen ilerleyici bir beyin hastalığı olup, bellek kaybı, günlük yaşamın gereksinimlerini yerine getirmede zorlanma; algılamada, toplumsal davranışların düzenlenmesinde ve duygusal tepkilerin kontrolünde bozulma gibi sık karşılaşılan belirtilerle tanımlanmaktadır. Kesin bir tedavisi olmayan demansın birçok tipi olmasına rağmen, alzheimer hastalığı en sık görülen tipidir (Orhan 2002). İlk kez 1907 yılında Alman Dr. Alois Alzheimer tarafından tanımlanan alzheimer hastalığı, ilerleyen hafıza kaybı ve bilişsel bozulma ile karakterize edilen nörodejeneratif bir hastalıktır (Orhan 2002). Bu hastalık, demans durumundaki 65 yaş üzeri kişilerde % 50-60 oranında görülen, öncelikle yaşlı nüfusu etkileyen ve halk sağlığı açısından çok önemli bir hastalıktır (Howes ve ark. 2003).

İnsan beyninde iki kolinesteraz bulunur; 7. kromozom üzerindeki bir gen tarafından kodlanan asetilkolinesteraz (AChE) ve diğeri 3. kromozom üzerindeki bir gen tarafından kodlanan butirilkolinesteraz (BChE). Enzimler, aminoasit dizilimleri % 65 oranında birbirlerine benzemesine rağmen farklı genler üzerinde kodlanırlar (Savelev ve ark. 2004). AChE'nin kolinerjik iletimdeki rolü oldukça iyi bilinmekle birlikte BChE'nin rolü yeterince anlaşılmış değildir. Normal beyinde sinaptik asetilkolin hidrolizinin esas olarak AChE tarafından yapıldığı, BChE'nin buna çok az katkısının olduğu kabul edilmektedir. Beyindeki kolinesteraz aktivitesinin % 80'inden AChE, geriye kalan % 20'inden BChE'nin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Şahin 2002).

Alzheimer hastalığı'nın sebebi henüz tam olarak anlaşılamamıştır, fakat beynin bazı bölgelerinde ciddi bir kolinerjik nöron kaybı söz konusudur. Güncel klinik strateji, antikolinesteraz inhibitörleri kullanarak alzheimer hastalarının kötüye gidişini yavaşlatmak şeklindedir (Lin ve ark. 2008). Hastalığın oluşma mekanizmalarından birisinin, beyin ve korteksteki sinir uçlarından salınan asetilkolin adlı nöromediyatörün yetersizliğinden kaynaklandığı kabul edilmektedir (Orhan 2002). Asetilkolinesterazın (AChE) başlıca rolü kolinerjik sinapslarda asetilkolin (ACh)'in hızlı hidroliziyle sinir impulsunu sonlandırmaktadır (Mukherjee ve ark. 2007). AChE inhibitörleri bu nöromediyatörü salındığı sinir ucunda hidroliz yoluyla parçalayan asetilkolinesteraz enzimini inhibe etmek suretiyle, asetilkolin miktarının azalmasını engelleyen ilaçlardır (Orhan 2002). Günümüzde alzheimer hastalığının tedavisinde en yararlı sonuçların alındığı tek ilaç grubu olarak, asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri belirtilmektedir. Ancak bu grup ilaçların sadece hafif ve orta şiddetteki alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılabilmeleri ve yan etkileri, hastalığın tedavisi için yeni anti-alzheimer ilaçların bulunmasını gerekli hale getirmektedir (Orhan 2002).

2.8. Bitkilerin Sekonder Metabolitlerinin Belirlenmesinde Kullanılan Önemli Analitik Teknikler

İnsanlık tarihi boyunca, bitkisel doğal ürünler araştırılmış ve sayısız hastalığın tedavisinde kullanılmışlardır. Bu bağlamda en üretken kaynaklar olan tıbbi bitkiler, ilaç keşfi için hedef bileşikler bulmak üzere taranacak yüzlerce molekül içerirler (McChesney ve ark. 2007). Genellikle, bir bitki yüzlerce kimyasal bileşen içermesine karşın sadece birkaç bileşeni biyoaktif olmaktadır (Li ve ark. 2011). Bu yüzden, klinik araştırmaların güvenilirlik ve tekrarlanabilirliğinden emin olmak ve farmakolojik fayda ve zarar açısından kalite kontrolü artırmak için, tıbbi bitkilerin tüm biyoaktif bileşenlerinin belirlenip miktarsal tayinleri gereklidir. Halbuki, botanik ekstrelerin kompleks ve değişken içerikleri tıbbi bitkilerin kimyasal bileşimlerinin belirlenmesinde kullanılan ayrım teknikleri için zorluklar oluşturmaktadır (Marston ve Hostettmann 2009).

Kromatografi, birbirine yakın özellikteki madde karışımlarını ayırmak için kullanılan etkili bir ayırma ve saflaştırma yöntemidir. Genel olarak tanımlamak gerekirse kromatografi, bir karışımın sabit bir faz üzerinde, hareketli bir çözücü

yardımıyla, karışımı oluşturan bileşiklerin farklı hareketleri sonucu bileşenlerine ayrılması olarak ifade edilmektedir. Kromatografide sabit ve hareketli olmak üzere iki faz vardır. Sabit faz katı ve sıvı hareketli faz sıvı ve gaz olabilir. Ayrımı istenen karışım hareketli faz yardımıyla sabit faz üzerinden geçirilir. Karışımı oluşturan bileşikler sabit faz tarafından farklı ölçüde fiziksel olarak tutulması nedeniyle her bir bileşik sistemi farklı zamanlarda terk eder. Böylece bileşikleri birbirinden ayırmak, tanımak ve ayrı ayrı toplamak olasıdır. Kromatografi türlerinin detaylarına girmeden gerekli bilgiler verilecektir.

Ayrım açısından, modern kromatografik yöntemler doğal ürünlerin analizinde oldukça önemlidirler (Zhao ve Jiang 2010). Bitkilerin metabolik taranmasında ince tabaka kromatografisi (TLC ve HP-TLC), gaz kromatografisi (GC), kapiler elektroforez (CE), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC, UHPLC) yöntemleri kullanılagelmiştir (Gotti 2011).

2.9. Gaz Kromatografisi (GC)

Gaz kromaografisi (GC) bitkilerdeki terpenler gibi uçucu ve termal olarak dayanıklı bileşenlerin analizinde sıklıkla tercih edilen bir analitik ayırma tekniğidir. Sıvı kromatografisi yöntemleri ise polar ve az-polar bileşenlerin analizinde tercih sebebidir. Gaz kromatografisinde diğer kromatografi türlerinde olduğu gibi ayrılmaları istenen maddelerle hareketli faz arasında herhangi bir etkileşim söz konusu değildir. Hareketli faz olarak He, Ar ve N_2 gibi inert gazlar kullanılır ve vazifesi maddeleri sürüklenmesini sağlamaktır. Gaz halindeki analitler ise uçuculuklarına göre farklı hızlarda ilerleyerek dedektöre ulaşırlar. Bitkilerin uçucu (eterik) yağlarının profilleri çoğunlukla gaz kromatografisi yöntemleri kullanılarak tayin edilmektedir. Ayrıca yağ asitleri gibi uçucu olmayan bileşenleri de türevlendirilerek uçucu hale getirilip GC yöntemleri ile analiz edilirler.

Gaz kromatografisinde, gaz halindeki bir mobil faz, gaz halinde olan analitleri sabit faz içeren ince ve uzun bir kolon boyunca taşır ve uçucu olan bir örnek kendisini buharlaştıracak olan ve ısıtılan bir blok üzerinden enjekte edilir. Numune kolon boyunca He, Ar, N_2 veya H_2 gibi bir mobil faz aracılığıyla sürüklenir ve ayrılan analitler, çıktısının bir bilgisayar üzerinde görüntülendiği dedektöre doğru aktarılır.

Taşıyıcı gaz kimyasal olarak inert olmalıdır (yani taşıyıcı gaz analitlerle kimyasal etkileşime girmemelidir). Gaz seçimi genellikle kullanılan dedektöre göre değişkenlik göstermektedir. Ayrıca, taşıyıcı gaz sistemi su ve diğer safsızlıkların sisteme ulaşmaması için bir moleküler elek içerir. Optimum kolon etkinliği için enjekte edilen numune miktarı çok olmamalı ve hızlı bir şekilde kolona buhar olarak gitmelidir. Fazla miktardaki numunenin yavaş enjeksiyonu bant genişlemesine ve çözünürlüğün azalmasına yol açar. En çok kullanılan enjeksiyon metodu, numuneyi kauçuk bir septum üzerinden kolonun hemen başında bulunan hızlı buharlaştırıcıya enjekte edildiği metottur.

Gaz kromatografisinde açık boru (tabular) veya kapiler kolonlar ve dolgulu (packed) kolonlar olarak iki tip kolon kullanılır. Kapiler kolonlar, kapiler tüpten (0.3-0.5 mm iç çap) yapılmış ve içi 1 mikro litre kadar kalınlıkta sıvı ile kaplanmış kolonlardır. Kapiler kolonlardaki basınç düşüşü ihmal edilebilir düzeyde olduğundan bu tip kolonlar çok uzundur (10-100 m veya daha fazla olabilir). Dolgulu kolonlar, iç çapı 1-8 mm aralığındaki cam veya metal tüplerden yapılmış ve uzunlukları 2-20 m olabilir. Bunlar katlanmış veya sarımlar şeklindedir, böylece termostat içine sığabilecek boyutlara getirilmişlerdir.

Gaz kromatografisinde kullanılabilen birçok dedektör tipi mevcuttur. Her dedektör farklı bir seçicilik sunmaktadır. Kütle spektrometre (MS), alev iyonlaştırma (FID), ısıl iletkenlik (TCD), elektron yakalama (ECD), Azot-fosfor, alev fotometrik (FPD), foto-iyonizasyon (PID) ve Hall elektrolitik iletkenlik dedektörleri en çok kullanılan dedektörlerdir. Bitki sekonder metabolitlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde ise en çok kütle spektrometre (MS) ve alev iyonlaştırma (FID) dedektörleri kullanılır. Uçucu (esansiyel) yağların tayininde GC-MS, yağ asitleri tayininde ise GC-FID ve GC-MS cihazları kullanılır (Skoog 1998).

2.10. HPLC Teknikleri

Kromatografik analitik tekniklerin birçoğunda, nümune içindeki farklı bileşenlerin fiziko-kimyasal özelliklerinde farklılıklara göre ayrım gerçekleştirilir. Genellikle, analitlerin ayrımdan hemen sonra (on-line) dedekte edildiği sürekli (continuous) teknikler kullanılır. Bu tekniklerin en çok kullanılanı HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) tekniğidir.

Sıvı kromatografisi, numune bileşenlerinin bir sıvı mobil faz ve bir katı durgun faz (yüksek yüzey alanına sahip küçük gözenekli partiküller içeren) arasında dağıldığı bir ayrım tekniğidir. GC'nin aksine HPLC'de durgun fazla güçlü bir şekilde etkileşen numune molekülleri kromatografik sistem boyunca daha uzun sürelerde dolaşır ve daha uzun alıkonma zamanına sahip olurlar. LC (sıvı kromatografi) ayrımında, hareketli (mobil) faz pompadan kromatografik kolona doğru aspire edilir. Numunenin kolona girmesiyle, analitler durgun fazda farklı oranlarda zaman geçirir ve iki faz arasında farklı oranlarda dağılım gösterirler. Kolonun sonundan elüe olan her bir analit dedektöre ulaşır ve bir şekilde ölçülebilir olan bir sinyal üretirler. Oluşan sinyalin intensite ve süresi analitin miktarı ve doğasıyla alakalıdır. Genel olarak, sinyal amplifiye edilir (yükseltilir) ve elektronik bir entegratör (analiti tanımlayıp miktarını tayin etmek için kromatogram üreten bir bilgisayar) tarafından kaydedilir.

HPLC ekipmanı marka ve modelden bağımsız olarak bir dizi önemli kısımları içerir: pompa, enjektör, kromatografik kolon, termostatlı kolon fırını, dedektör ve veri toplama sistemi ünitelerinden oluşur.

Geleneksel olarak, LC kolonlarının (durgun faz) oldukça polar (silika v.b.) ve hareketli fazın apolar (hegzan v.b.) olduğu moda "normal-faz" sıvı kromatografisi denir. Bu modda analitlerin polariteleri arttıkça alıkonma zamanları artar. Eğer mobil fazın polaritesi artırılırsa alıkonma zamanı azalır. Bu kromatografik mod, apolar veya az polar flavonoid aglikonlarının ayrımı için kullanışlı olabilir.

Günümüzde ise analitlerin analitik ve preperatif ayrımları için en çok kullanılan teknik "ters-faz" sıvı kromatografisidir. Bu teknikte, hareketli faz durgun fazdan daha polar olup analitlerin elüsyon sırasını belirler. Hidrofobik moleküller için daha uzun olan alıkonma zamanı, hareketli faza daha apolar çözgenler ekledikçe azalır. Numune moleküllerinin hidrofobikliği pH'a bağlı olduğu için, formik asit, asetik asit ve trifloroasetik asit gibi maddeler hareketli faza eklenebilir. Asit eklemenin etkisi uygulamaya göre değişir ancak genellikle ayrımı olumlu yönde etkiler (Snyder ve Kirkland 1997).

Bitkilerin biyoaktif sekonder metabolitlerinin birçoğu polar karakterli olduğu için, C_8 (n-oktil) veya daha çok C_{18} (n-oktadesil) gibi hidrokarbonlarla modifiye edilmiş kolonların kullanıldığı ters faz kromatografisi ile ayrılırlar. Elüsyon ise asetonitril veya

metanol gibi polar organik çözücülerin su ile beraber olduğu mobil fazlar ile gerçekleştirilir.

HPLC kolonlarında, küçük ve aynı boyutlardaki partiküllere sahip dolgu materyalinin kullanılması sonucu gelen daha iyi seçicilik ve yüksek basınçlı akış, hem daha yüksek ayırma gücü hem de daha hızlı analizlere olanak sağlamıştır. Son zamanlarda UHPLC (ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi) tekniğinin ortaya çıkmasıyla sıvı kromatografisinde büyük gelişmeler olmuştur. Bu teknik sayesinde, 2 µm veya daha küçük boyuttaki parçacık boyutu ve çok yüksek basınçlarda (1300 bara kadar) çalışan pompa sistemleri ile daha kısa analiz süresi, yüksek pik etkinliği ve yüksek ayrım gücüne ulaşılır (Zotou 2012).

2.10.1. HPLC ile Beraber Kullanılan Dedektörler

HPLC cihazına UV dedektör, Diod-array dedektör (DAD), Refraktif indeks dedektörü (RID), Floresan dedektör, Elektirik iletkenlik dedektörü, Elektrokimyasal dedektör, Buharlaştırmalı ışık saçılımlı dedektör (ELSD), ve kütle spektrometre (MS) dedektörü gibi farklı tipte dedektörler bağlanıp kullanılmaktadır (Skoog ve ark. 1996). Bununla birlikte fitokimyasalların kalitatif ve kantitatif analizlerinde UV-visible ve MS dedeksiyon sistemleri günümüzde HPLC ile birlikte en çok kullanılanlardır.

UV-visible temelli dedektörler, kolondan gelen hareketli fazın içerisinden aktığı küçük bir sıvı akış hücresi içerirler. UV ışık hücrenin içinden geçer ve UV foto-dedektöre çarpar. UV absorbans dedektörleri nümuneyi bozmazlar ve sadece ışık kaynağının dalga boyundaki radyasyonu absorbe eden maddelere karşı cevap verebilirler. İki farklı türde dalgaboyu dedektörü vardır: sabit ve çoklu dalgaboyu dedektörleri. İlki ışın dalgaboyunun değiştirilmesine izin vermezken, diğeri analiti belirlemek için kısa bir dalgaboyu aralığını tarayabilir. Çoklu dalgaboyu dedektörlerinin hassasiyeti sabit dalgaboyululara göre daha kötü olmasına karşın esneklik avantajı vardır. Çözelti içerisindeki birçok bileşik elektromanyetik spektrumun UV-visible bölgesindeki ışığı absorplayabilir. Bu yüzden bu dedektörler evrensel dedektörler olarak düşünülebilir. UV-görünür bölge spektroskopisi bize molekül yapısı hakkında bilgi veremez ve belli bir desen olmayınca tam olarak bir aydınlatma sağlayamaz. Ancak bize bileşiklerin bağlı olduğu sınıflar hakkında bigi verir. Zira her molekül sınıfının

karakteristik absorpsiyon bantları vardır. Bu yüzden, kütle spektrometresi gibi tekniklere ihtiyaç vardır.

2.11. LC-MS Teknikleri

Kütle spektrometresi (MS), yapı aydınlatılması, organik, biyoorganik ve organometalik bileşiklerin doğrulanması ve çevre, farmasötik, adli tıp, gıda ve diğer bilimlerde miktarsal analiz için sıklıkla kullanılmaktadır. MS dedektörleri bilinmeyen maddelerin yapısal tayini ve doğrulanması için geniş ölçüde kullanılırlar (Chiu ve Muddiman 2008).

MS dedektörleri; elektrik ve/veya manyetik kuvvet alanlarını kullanarak iyonları kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayıran optik cihazlardır. MS mantığını özetlemek istersek; numuneden iyonları oluşturmak, iyonları m/z oranlarına göre ayrıştırmak ve iyonların bolluğunu ölçmektir. Kütle spektrometre dedektörleri nötr moleküllerin kütlesini doğrudan ölçemezler. Molekülü iyonlaştırarak iyonun kütle/yük (m/z) oranını ölçerler.

Kütle spektrometre cihazları üç temel birimden oluşur: numune moleküllerini gaz fazındaki iyonlara dönüştüren bir iyon kaynağı; iyonları elektromanyetik alan uygulayarak kütlelerine göre sıralayan kütle analizörü ve her bir iyonun miktarını hesaplayan bir dedektör. Kütle spektrometre tekniği hem kalitatif hem de kantitatif amaçla kullanılabilir (Yılmaz 2015).

2.11.1. LC-MS/MS (Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle Spektrometresi)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşen LC-MS (tekli kuadrupol) ve özellikle de LC-MS/MS (üçlü kuadrupol) cihaz sistemleri bütün organik bileşikler gibi bitkilerin sekonder metabolitlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde en çok kullanılan tekniklerdendir. LC-MS cihazı ile HPLC kolonunda belli bir ayrımdan geçen analitlerin ana iyon (parent ion) da denilen moleküler iyonlarını belirleyerek bileşenlerin nicel veya nitel analizleri yapılır. Ancak, birçok fitokimyasal aynı molekül ağırlığına sahip olduğundan LC-MS cihazı tarafından belirlenen m/z oranları da aynı çıkmaktadır. Kromatografik olarak da ayrılamayan bazı moleküllerin tam olarak doğrulanması bu yöntemle mümkün olmamaktadır. Tekli kuadrupol LC-MS sistemine göre daha sofistike cihaz tasarımlarından olan LC-MS/MS sistemleri bu sorunu ortadan kadırarak molekül

ağırlığı ve kromatografik alıkonma zamanı aynı olan moleküllerin dahi nicel ve nitel analizini mümkün kılmaktadır (Vogeser ve Kirchhoff 2011).

Tekli kuadrupol sistemleri sadece bir kütle kuadrupol filtresi içerirken üçlü kuadrupol sistemleri üç kuadrupol içerirler. LC-MS/MS hibrit cihazında Q1 ve Q3 kuadrupolleri kütle filtresi görevi yaparken Q2 çarpışma hücresi olarak görev yapar. Kuadrupoller taramalı veya filtreli modda kullanılabilirler. Kütle taraması sırasında DC ve RF voltajları uygulanarak tam taramalı kütle spektrumları elde edilir. Bu tip spektrumlar tipik olarak kalitatif data analizleri için kullanılırlar. Halbuki kuadrupol taramasının hassasiyeti az ve düşük hıza sahiptir. Bu yüzden, kantitatif çalışmalarda kuadrupoller filtreli modda çalıştırılırlar.

Bir tekli kuadrupol MS cihazı en seçici olarak Seçilmiş İyon Görüntüleme (Selected Ion Monitoring (SIM)) modunda kullanılır. Bu modda kuadrupole sabit DC ve RF voltajları uygulanarak sadece bir iyonun geçmesi sağlanır ve farklı m/z oranına sahip iyonlar atılır.

Üçlü kuadrupol (MS/MS) cihazının tekli kuadrupolden en önemli üstünlüğü Çoklu Reaksiyon Görüntüleme (Multiple Reaction Monitoring (MRM)) modunda çalışabiliniyor olmasıdır. MRM modu kantitatif analizlerde sinyal/gürültü oranını ciddi biçimde düşürerek yüksek hassasiyet ve seçicilik sağlamaktadır. MRM modunda ilk kuadrupol (Q1) ilgili moleküler iyonu (parent ion) filtreler. İyon kaynağında üretilen ve farklı m/z oranına sahip iyonlar Q1'i geçemezler. Çarpışma hücresi olan ikinci kuadrupol (Q2), Q1'den gelen moleküler iyonun inert bir gaz olan Ar ile çarpıştırılarak karakteristik parçalanma ürünü iyonlar oluşturması için optimize edilir. Bu işleme çarpışmaya bağlı ayrışma anlamına gelen Collision Induced Dissociation (CID) denir. Oluşturulan ürün iyonlar (product ions), sadece belirlenen iyonların geçmesine izin verildiği üçüncü kuadrupole (Q3) aktarılırlar. Q2'de oluşan diğer bütün parçalanma ürünü iyonlar dedektöre ulaşmadan filtrelenip dışarı atılırlar. Böylelikle, LC-MS/MS cihazında MRM modu çifte kütle filtresi gibi çalışarak gürültüyü olağanüstü biçimde azaltarak seçicilik ve hassasiyeti artırır (Yılmaz 2015).

2.12. LC-MS IT-TOF Hibrit Cihaz Sistemi

TOF-MS cihazlarının en öemli niteliklerinden biri bilinmeyen maddelerin tayininde kullanılabilen moleküler iyon ve parçalanma ürünlerinin elementel kompozisyonunu veren tam kütle ölçümüdür (molekül ağırlığının virgülden sonra dördüncü basamağa kadar doğru ölçümü). TOF-MS cihazları yüksek hızda tarama yapabilir ve yüksek kütle çözünürlüğüne sahiptirler. Ancak MS^n kabiliyetleri yoktur. IT-MS cihazları ise özellikle çoklu fragmantasyon (MS^n) özelliği sayesinde moleküllerin yapısal tayininde çok önemli bir rol oynarlar. Ancak IT-MS cihazları düşük çözünürlüğe sahiptirler (genellikle 1 Da).

Son zamanların en önemli ve sofistike LC-MS cihaz tasarımlarından biri olan UHPLC IT-TOF-MS (yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile birleşik hibrit iyon tuzaklı/uçuş zamanlı kütle spektrometresi) cihazı hem TOF-MS hem de IT-MS lerden çok daha yüksek hassasiyet ve doğruluğa sahiptir. Bu eşsiz özelliğinin nedeni doğal ürünlerin IT sayesinde MS^n modunda çoklu taraması ile TOF sayesinde tam kütle ölçümlerinin eş zamanlı olarak yapılabilmesidir (Liu ve ark. 2011; Liang ve ark. 2010).

HPLC ile IT-MS ve TOF-MS cihazlarının beraber kullanılışı birçok alanda özellikle de bitkisel sekonder metabolitlerin analizinde yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. LCMS IT-TOF sisteminin bu alanda kullanımı son yıllarda dünyada hızla artmış olup fitokimyasal analizde önümüzdeki yıllarda baskın rol oynayacağını söyleyebiliriz (Yılmaz 2015).

2.13. Bitkilerin Beslenmelerinde Gereksinim Duyulan Besin Elementleri

Bitkiler geliştikleri ortamdan suda çözünebilir formda bulunan çok sayıda elementi alırlar. Örneğin suda çözünebilir altın, bitkiler tarafından alınabilir. (Barak 1999)' a göre peryodik çizelgede yer alan doğal olarak oluşmuş en az doksan element, bitkiler tarafından alınır. Günümüzde bitkilerin bu kadar çok sayıda elementi niçin aldıkları bilinmemektedir. Bitki besin elementleri denildiği zaman genelde; 'ışık enerjisi karşısında gerçekleştirilen fotosentez sonucu ışığın fiziksel enerjisinin kimyasal gıda enerjisi şeklinde depo edildiği organik maddelerin yapımında kullanılan ve geliştikleri ortamdan bitkiler tarafından az ya da çok alınabilen elementler' anlaşılır. Bir elementin bitki gelişmesi için olmazsa olmaz düzeyde, başka bir deyişle mutlak gerekli olabilmesi,

için belli kriterlerin yerine getirilmesi gerekir (Arnon ve Stout 1939). Burda bahsedilen kriterleri şu şekilde özetlenebilir.

2.13.1. Metal Toksisitesi

Endüstriyel, tıbbi ve tarımsal amaçlı kullanılan esansiyel olan ve olmayan metaller, insan vücudunda başta besinler olmak üzere diğer bazı yollarla (örneğin su ve havadan) alınmaktadır. Böylece 'vücut metal yükü' oluşmakta, bazıları (Al, V, Ti, Cr, Sn, Pb ve Cd) kırk yaşına kadar birikerek vücuttaki derişimleri artmaktadır. Metallerin toksik etkileri, her metalin özelliğine göre değişmektedir. Ancak genel olarak bütün metaller birden fazla organ ve sistemi etkilemektedir. Örneğin civa ve arsenik, sülfhidril grubu içeren birçok enzimi inhibe eder. Kadmiyuma en duyarlı organ böbrekler olmakla beraber, karaciğer ve akciğerlerde etkisi görülür. Ağır metallerin toksisitesi ayrıca taşıdığı yüke ve suda veya yağda çözünür olmasına göre de değişmektedir. Toksik ağır metallerin başında kadmiyum, civa ve kurşun gelmektedir. Kadmiyum ileri derecede toksik bir metaldir ve başlıca tehlikesi, kadmiyum metali ya da kadmiyum oksitin teneffüsünden dolayıdır. Sigarada bulunduğundan, çokça maruz kalınır. Ayrıca, endüstriyel yollarla çevreye yayılan kadmiyum sudaki organizmalara geçmekte, buradan besin zinciriyle hayvanlara ve insanlara ulaşmaktadır. Bir paket sigara içildiğinde 2-4 µg kadmiyum solunum yoluyla alınabildiği belirlenmiştir. Besinlerle, sigara ve hava yolu ile günde yaklaşık 18-200 µg kadmiyum alındığı hesaplanmıştır. Kadmiyum kanda proteinlere ve alyuvarlara bağlanır ve bu formda taşınır, biriktiği yer ise böbrek ve karaciğerlerdir. Kadmiyum'un vücuttaki yarılanma ömrü 7-30 yıl arasındadır. Kadmiyum başlıca böbreklerde ve testislerde hasara yol açar. 1944 yılında Japonya'da kadmiyum ile kontamine olmuş pirinci yiyenler arasında zehirlenmeye bağlı olarak görülen itai-itai adlı bir hastalık görülmüştür. Başlıca belirtileri, böbrek hasarı yanında ileri derecede kemik bozukluklarıdır (Güven 1999).

Toksikolojik olarak önemli olan diğer bir metal, kurşundur. Kurşun, tarihin çok eski devirlerinden beri bilinmekte ve kullanılmaktadır. Besin, su ve solunum yoluyla bu metale maruz kalınır; fakat en önemlisi, organik kurşun (tetra etil kurşun) katkılı kurşunlu benzin yanmasından ortaya çıkan havadaki kurşunun devamlı olarak teneffüs edilmesidir. Benzine katılan kurşunlu bileşikler, yanma sonucu egzoz gazları ile havaya çeşitli kurşun bileşikleri (kurşun oksit, kurşun halojenür vs) şeklinde yayılır. Trafiğin

yoğun olduğu şehir havasında bu nedenle kurşun miktarı 1-10 μg/m^3 ve hatta daha yüksek seviyelerde olabilir. Kana geçen kurşunun % 97'si akyuvarlara geçer (Güven 1999).

2.13.2. Bitkilerin Biyomönitör Olarak Kullanımı

Teknolojinin gelişimesiyle birlikte artan sanayileşme ve yaşam standartlarının yükselmesinin yanında çevre kirliliğini de beraberinde getirmiştir. Çevre kirliliğine sepep olan faktörlerden en önemlilerinden biri ağır metallerdir (Akgüç ve ark. 2010). Ağır metaller baca gazları, evsel atıklar, nükleer ve termik santraller, fabrikalar, maden işletmeleri, trafik, tarım ilaçları, aşırı gübreleme ve benzeri gibi faaliyetlerle çevreye yayılmaktadır. Bitkilerin yaşamsal faaliyetlerinin devamlılığı için bazı ağır metallerden az miktarda olması gerekmektedir. Ancak yüksek derişimlerdeki ağır metaller hem bitkiler hemde diğer canlılar için toksiktir (Öktüren ve Sönmez 2006). Ekosistemlerde üretici olarak rol oynayan bitkiler yer değiştirmedikleri için ortamdaki ağır metal kirliliğinden daha fazla etkilenmektedirler. Havadan ve topraktan alınan ağır metaller bitkilerin yüzeylerinde ve çeşitli dokularında birikmekte ve besin zinciri yoluyla diğer organizmalara aktarılmaktadır. Ağır metalleri bünyelerinde biriktirebilen bitkiler kirliliğin belirlenmesinde kullanılırlar. Biyomonitör; çevrenin kirlenip kirlenmediği hakkında bilgi veren bir organizma olarak tanımlanmaktadır (Akgüç ve ark. 2010). Dünyada ve ülkemizde, bitkilerin biyomonitör olarak kukullanılmalarına yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Çelik ve ark. 2005). Bitkilerde trafik kökenli ağır metal kirliliği ile toksik etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma literatürlerde olmasına rağmen; bu çalışmamızda, *Euphorbia* türlerin de çevre kirliliğinde oluşan ağır metal gideriminde ve süs bitkisi olarak kullanılma potansiyeli ve çok sayıda tür çalışarak irdelenmiştir. Tıbbi amaçla kullanılan bitkilerde ağır metal için istenilen istenilen limit değerleri Çizelge 2.6.'da verilmiştir.

Çizelge 2.6. Bitkisel ilaçlarda toksik metallerin limit değerleri (WHO 2007)

		As (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Hg (mg/kg)	Cu (mg/kg)
Bitkisel ilaçlar için değerler							
Kanada	Taze bitki	5	10	0,3	2	0,2	
Kanada	İşlenmiş bitki	0.01 mg/gün	0.02 mg/gün	0.006 mg/gün	0.02 mg/gün	0.02 mg/gün	
Çin	Taze bitki	2	10	1		0,5	
Malezya	İşlenmiş bitki	5	10			0,5	
Singapur	İşlenmiş bitki	5	20			0,5	
Tayland	Taze/İşlenmiş bitki	4	10	0,3			150
Kore	Taze bitki		20 (t Pb)				
WHO Önerdiği derler			10	0.3			
Diğer bitkisel ürünler için değerler							
Ulusal sağlık örgütünün önerdiği değerler (taze bitki)		5	10	0.3	2		
Ulusal sağlık örgütünün önerdiği değerler (işlenmiş bitki)		0.02 1mg/gün	0.02 mg/gün	0.006 mg/gün	0.02 mg/gün	0.02 mg/gün	

2.14. Metal Analizi için Kullanılan Temel Yöntemler

Metal analizleri için analiz öncesi birçok inorganik ve organik ortamların bütün ya da sınırlı oranlarda çözümleştirilerek uygun örnekler oluşturulmalıdır (Oliveira 2003). Kuru veya yaş küllendirme metodu uzun protokollü ve yavaştır. Dolayısıyla metal analizlerinde yakma işlemi; yani asit yardımı ile mikrodalga fırında çözme, daha kullanışlı, işlevsel ve kabul görmüş bir yöntemdir. (Tüzen 2002). İnorganik veya organik matrikslerden doğru analiz yapılacak örneklerin ön işlemlerle hazırlanması tüm çalışmanın % 60-80'ni oluştururken, çalışmada ve analizde oluşacak tüm hataların yaklaşık % 30'una sebep olur (Oliveira 2003; Buszewski ve Szultka 2012). Günümüzde en yaygın kullanılan AAS, GF-AAS, ICP-AES, ICP-OES ve ICP-MS yöntemleridir.

2.15. ICP-MS Analiz Tekniği

ICP-MS; farklı örnek matrikslerinde eser ve ultra eser(iz) seviyede ve eş zamanlı pek çok ağır metalin hızlı tayinini sağlayan en duyarlı analitik tekniklerden biridir (Rao ve Talluri 2007). Ticari olarak 1983'lerde ilk modelleri piyasaya çıkan ICP-MS cihazı; numune girişi, plazma, örnekleme arabirimi, iyon yönlendiriciler, kuadrople yani kütle

ayırma kısmı ve dedektör bölümü olmak üzere 6 temel parçadan oluşmaktadır (Ha ve ark., 2011).

Numune Giriş Sistemi: Peristaltik pompa, nebülizör (sisleştirici) ve gaz girişleri bulunmaktadır. Peristaltik pompa yardımıyla nebülizöre gelen sıvı örnek Peltier Sogutmalı Sprey Odasında (Peltier Cooled Cyclonic Spray Chamber) Argon gazı tarafından örnek aerosol haline dönüştürülür. Peltier soğutmalı sprey odası plazmaya gidecek olan partikül boyutlarının belli büyüklükte oluşmasını sağlar ve plazmaya yüklenen su miktarını azaltır ve bunun sonucu olarak plazma sıcaklığının yüksek ve sabit kalmasını sağlar, bu işlem iyonlaşma etkinliğini artırır ve sinyal kararlığı ile daha iyi matris ayrışımına olanak sağlamış olur. Azaltılmış su buharı poliatomik interferanslarıda (ArO, ArOH) azaltır. En küçük sıvı damlacıkları sprey odasından geçerek iyon kaynağına (plazma) ulaşır. Plazmada sıvı damlacıklar buharlaşır ve iyonlar oluşur (Agilent Technologies Guide Book 2013)

Plazma: İndüktif olarak eşleşmiş plazma elektriksel bir yük boşalması olup kimyasal bir alev değildir. Plazma görüntüsü alev gibi olmasına rağmen bir yanma olayı yoktur. ICP kaynağı iyonlaşmış bir argon gazı akışı ile genellikle 27 veya 40 MHz'lik güçlü ve hızlı salınan radyofrekans alanının serbest elektronların indüktif birleşmesi sonucu oluşturulur. Argon gazının kullanıldığı plazma atmosfer basıncında olup çok yüksek sıcaklıktadır. Plazma; kuartz bir tüp (torch) içerisinden geçen gaz akışında tutulur. Örnek aerosolü yaklaşık 6500-10000 ^{o}K sıcaklıktaki plazmanın merkezinden geçer ve enerji çarpışması ile argon moleküllerine geçer. Plazmada; ayrışma, atomizasyon ve iyonizasyon gerçekleşir ve iyonlar spektrometre içerisine yönlendirilir.

Plazmayı başlatmak için tesla bobini ile argonda ilk iyonlaşma yapılır ve oluşan ilk çekirdek elektronlar güçlü radyofrekans alanda yüksek enerjiye ulaşarak çarptıkları diğer argon atomlarını da iyonlaştırırlar. İstenen enerji alanı Radyo Frekans Bobini (RF) ile sağlanır aynı zamanda enerji yüklü Ar iyonlarının ve elektronlarının ani salınımını indükler (Ha ve ark., 2011).

Örnekleme Arabirimi: Sample cone ve skimmer cone ile ekstraksiyon lenslerinde oluşan üç ana kısımdan oluşur. Arabirim plazmada iyonlaşan atomların ekstraksiyon lenslerine ulaşmasını sağlar. Sırasıyla 1 mm ve 0.4 mm delik çapına sahip bu konların kirlenmesi analiz sonuçlarının önemli miktarda etkilediği için çözelti hazırlanırken fazla derişik olmaması ve temiz çalışılmasının yanı sıra dikkat edilmesi

gereken bir diğer husus ise belli kullanımdan sonra konların dikkatlice temizlenmesi ya da gerekirse yenisi ile değiştirilmesi gerekmektedir.

İyon Yönlendiriciler: Örnek giriş kısmı ile analizör (spektrometre) arasındaki izolasyon valfi, vakumlu bölgeyi ayırarak bakım işlemlerini kolaylaştırır.

Oktopol Reaksiyon Sistemi (ORS): Oktopol reaksiyon hücresi H_2 veya He gazlarıyla doldurulan paslanmaz çelik bir gövde içerisine yerleştirilmiş, sekiz-kutuplu (octopole) iyon yönlendiricisidir. ORS kapalı bir hücre ortamı olup omega ve iyon lensler takımı ile kuadrupol (kütle filtresi) arasında bulunur. İyonlar bu hücreye girdiklerinde içerideki gaz ile etkileşerek moleküler interferansları azaltır. Böylece bu interferanslar, blank çözeltideki seviyelerinin altına inerler. ORS yüksek reaktif gazlar kullanılmadan da çalıştırılabilir. Oktopole tasarımı, daha iyi iyon odaklama ile yüksek hücre basıncı sayesinde reaksiyon alanının genişlemesine olanak sağlar. Deniz suyu ve klinik örnekler gibi kompleks matrislerde uzaklaştırılamayan interferansları elimine eder. He gazıyla çarpıştırılarak interferans yapan moleküllerin parçalanmasının yanı sıra enerji transferinden faydalanılarak kinetik enerji dağılımına göre kuadropole sadece analitin girmesine olanak verilir. Moleküler interferans (ör: ArCl), analite (ör: As) oranla daha geniş geçiş alanına ihtiyaç duyar buda He ile daha sık çarpışmalara yol açar ve interferans yapan molekülün parçalanmasına neden olur. Çizelge 2.7.'de genel interferansların listesi görülmektedir.

Çizelge 2.7. ICP-MS'te görülen genel interferanslar (Agilent Technologies Guide Book 2013)

	Element (amu)	İnterferanslar
Genel interferanslar	Si (28)	N_2, CO
	K (39)	ArH
	Ca (40)	Ar
	V (51)	ClO, ArC
	Cr (52)	ArC, ClOH
	Mn (55)	ClO, KO
	Fe (56)	ArO, CaO
	Co (59)	ArNa, CaOH
	Cu (63)	ArNa
	Zn (66)	ArMg
	As (75)	ArCl
	Se (78)	ArAr, Br

Kuadrupol Kütle Analizörü: Kuadrupole dördel düzenle tam olarak hizalanmıs iki çift bakır (Cu) üzerine molibden (Mo) kaplı çubuklardır. Çubukların yüksek ısıyla esnemesini engellemek için Mo kullanılmıştır. İyonlar çubukların arasında alt merkez boşlukta ilerler ve kütle/yük oranına göre ayrılırlar.

X-ekseni ve y-ekseni kütle kesimi arasındaki fark kuadrupol içerisinden kararlı bir sekilde geçecek olan kütlelerin aralığını verir. Verilen bir RF ve Dogru Akım (DC) (Direct Current) voltajları kombinasyonu için, kuadrupole sadece spesifik kütledeki iyonların dedektöre geçisine izin verir.

Elektron Çoğaltıcı Dedektör: Modern ICP-MS sistemlerinde Hamamatsu veya ETP Electron Multipliers tarafından üretilen bağımsız dinot elektron çogaltıcı dedektörler kullanılır.

İki modda 10^{-9} saniye aralığında ölçüm yapabilen (<1 ppt'den, >500 ppm'e) elektron çoğaltıcı dedektörler kullanılır. İyonun bir dinota çarpması elektronlar oluşturur, birbiri ardına dizilmis dinot serisi içerisindeki seri çarpışmalarla bir elektron yağmuru oluşur bu şekilde sinyal çoğaltılır ve her bir iyon gelişi ölçülebildiğinden Sinyal/Gürültü oranı mükemmeldir ve çok düşük dedeksiyon limitlerine ulaşılır. Aynı anda çok hassas, çok eser ölçümler için pulse sayım modu ve daha az hassas, minor ve major konsantrasyonlar için analog modu bulunmaktadır (Agilent Technologies Guide Book 2013)

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Bitkisel Materyal

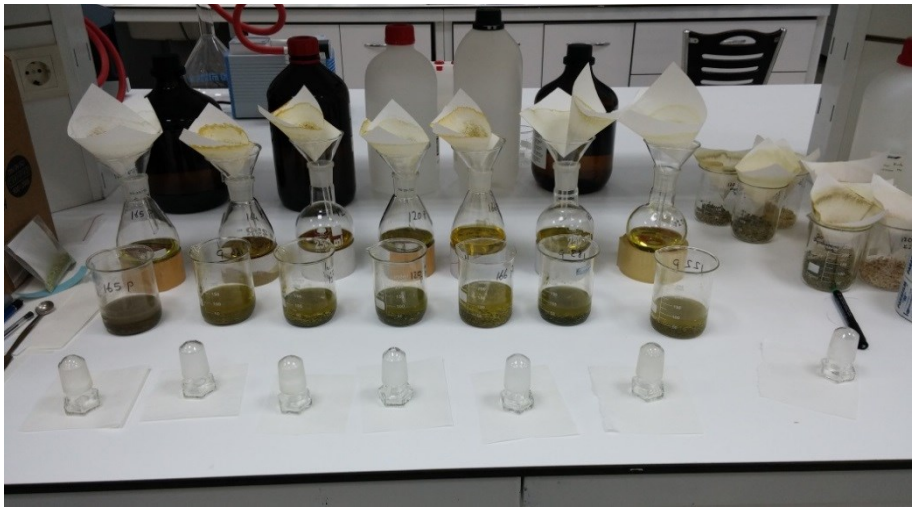
Euphorbia L. cinsine ait Türkiye'nin farklı yerlerinden toplanan 9 farklı *Euphorbia* türü (*E. aleppica, E. eriophora, E. macroclada, E. grisophylla, E. seguieriana* subsp. *seguieriana, E. craspedia, E. denticulata, E. fistulosa ve E. falcata*) toplanmıştır. Kurutulmuş bitki örnekleri Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda (VANF) saklanmaktadır. Bitkilerin herbaryum kayıtları, toplanma yerleri ve toplanma zamanlarına ilişkin bilgiler Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. *Euphorbia* türlerinin herbaryum kayıtları ve toplanma yeleri

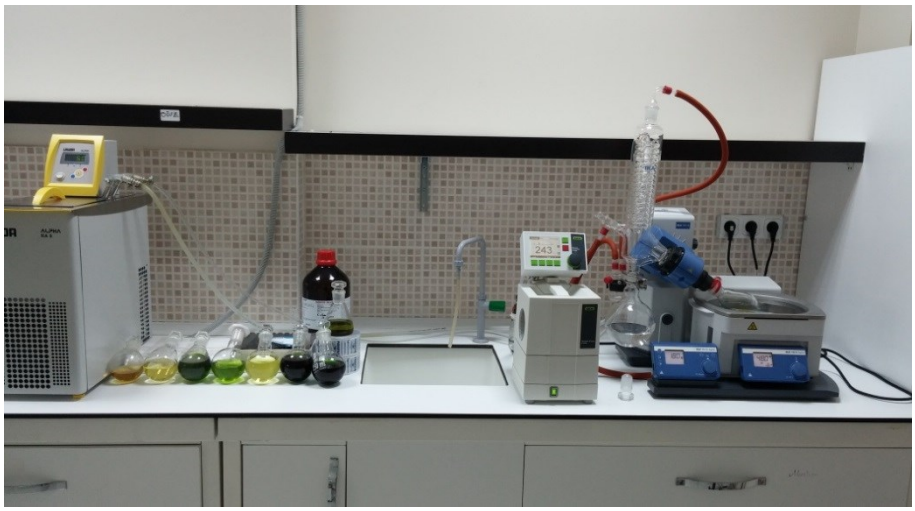
Euphorbia Türü	Toplanma Yeri	Toplanma Zamanı	Herbaryum Numarası
E. craspedia	Mardin	5. ve 6. aylarda arasında	M. Fırat 31625(VANF)
E. denticulata	Kayseri	4. ve 8. aylarda arasında	M. Fırat 31630(VANF)
E. aleppica	Diyarbakır	4. ve 9. aylarda arasında	M. Fırat 31626(VANF)
E. eriophora	Diyarbakır	5. ve 9. aylarda arasında	M. Fırat 31627(VANF)
E. grisophylla	Van	6. ve 7. aylarda arasında	M. Fırat 30910(VANF)
E. seguieriana subsp. *seguieriana*	Diyarbakır	3. ve 10. aylarda arasında	M. Fırat 30905 (VANF)
E. fistulosa	Diyarbakır	4. ve 6. aylarda arasında	M. Fırat 31628(VANF)
E. falcata	Diyarbakır	4. ve 8. aylarda arasında	M. Fırat 31629(VANF)
E. macroclada	Diyarbakır	5.ve 9. aylarda arasında	M. Fırat 30906 (VANF)
E.macroclada	Malatya	5.ve 9. aylarda arasında	M. Fırat 30906 (VANF)
E. macroclada	Van	5.ve 9. aylarda arasında	M. Fırat 30906 (VANF)
E. macroclada	Trabzon	5.ve 9. aylarda arasında	M. Fırat 30906 (VANF)

3.2. Ekstrelerin Hazırlanması

Kimyasal ve biyolojik aktivite testleri için kullanılan ekstreler hazırlanırken her türün çeşitli kısımlarından (tohum, kök, dal, yaprak, çiçek ve karışık gibi bitki kısımlarından ayrı ayrı) metanol (50 mL, 3×8 saat) ile masere edildi. Süzme ve çözücü buharlaştırma işlemlerinden sonra elde edilen ham ekstreler etanolde çözülerek 4000 mg/kg derişimde 4'er mL çözeltiler hazırlandı. LC-MS/MS analizi ve LC-MS-IT-TOF taraması için hazırlanan metanol ekstrelerinden 1000 mg/kg örnekler hazırlanmıştır. Örnekler cihazlara verilmeden önce ekstre çözeltileri 0.22 μm şırınga ucu filtreden geçirilerek HPLC viallerine aktarıldı.



Şekil 3.1. Türlerin metanol ile maserasyonu



Şekil 3.2. Türlerin maserasyonu işleminden sonra çözücü uçurma işlemi

3.3. Kullanılan Cihazlar

- LC-MS/MS (Shimadzu LCMS 8040 model)
- LC-MS-IT-TOF (Shimadzu)
- ICP-MS (Agilent 7700x model)
- GC-MS
- Rotaevaporator (Büchi, İsviçre)
- Otomatik pipetler (10-100 µL, 100-1000 µL, 500-5000 µL) (Eppendorf, Almanya)
- Hassas terazi (Scaltec SBA 31)
- pH-metre (Thermo, Amerika Birleşik Devletleri)
- Jeio-Tech ultrasonik banyo (Kore)

- Ultra saf su cihazı (Sartorious, Arium Pro, Almanya)
- Vortex (LMS Co. LTD, Japonya)
- ELİSA Reader

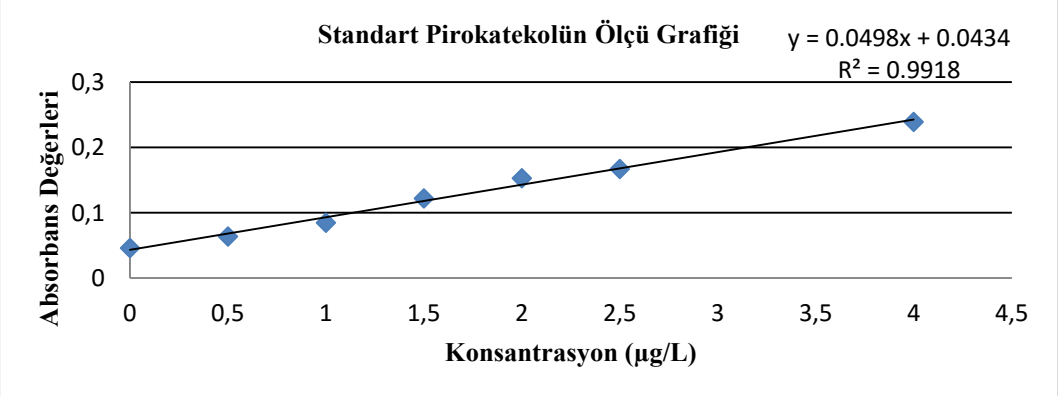
3.4. Toplam Fenolik Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

% 2'lik Sodyum karbonat çözeltisinin hazırlanması: 2 g Na_2CO_3 100 mL'lik balon jojeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile hacmine tamamlandı. Folin-Ciocalteu Fenol Reaktifi (fosfotungistik-fosfomolibdik asit + bakır sülfat) analitik saflıkta satın alındığı şekliyle kullanıldı.

3.4.1. Toplam Fenolik Miktar Tayin Yöntemi

Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak pirokatekole eşdeğer olarak belirlenmiştir (Slinkard ve Singleton 1977). 100 mg/L'lik pirokatekol çözeltisi hazırlanmış ve bu çözeltiden 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 µL alınarak hacimleri distile su ile 184 µL'ye tamamlandı. *Euphorbia* türlerinin etanol ekstrelerinin 1000 ppm konsantrasyonda çözeltileri hazırlandı. Bir miligram ekstre içeren örnek çözeltilerinden 4 µL alındı, distile su ile 184 µL' ye tamamlandı. Pirokatekol çözeltileri ve örneklere 4 µL Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ve 3 dk sonra % 2'lik Na_2CO_3 çözeltisinden 12 µL ilave edildi. Karışım 120 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve örneklerin absorbansları 760 nm'de okundu. Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri standart pirokatekol grafiğinden (Şekil 3.3.) elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlendi. Absorbans = 0.0498 (µg) + 0.0434 (R^2: 0.9918)

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.



Şekil 3.3. Standart pirokatekolün ölçü grafiği

3.5. Toplam Flavonoid Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler

% 10'luk alüminyum nitrat çözeltisinin hazırlanması: 1.76 g $Al(NO_3)_3.9H_2O$ 10 mL'lik balon jojeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.

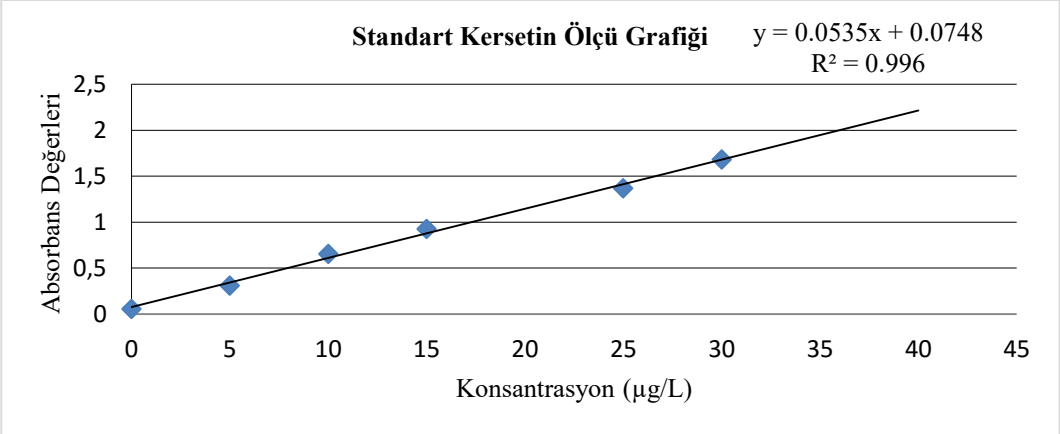
1 M Potasyum asetat çözeltisinin hazırlanması: 0.96 g CH_3COOK 10 mL'lik balon jojeye koyuldu ve bir miktar deiyonize su ile çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra deiyonize su ile balonun hacmine tamamlandı.

3.5.1. Toplam Flavonoid Miktar Tayin Yöntemi

Hazırlanan ekstrelerin toplam flavonoid içerikleri kersetine eşdeğer olarak alüminyum nitrat metodu ile belirlendi (Moreno ve ark. 2000). 1000 mg/L'lik kersetin çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiden 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 µL alınarak hacimleri % 80'lik etanol ile 192 µL'ye tamamlandı. 1 M'lık 4 µL potasyum asetat eklendi ve bir dakika sonra 4 µL % 10'luk alüminyum nitrat ilave edildi. 40 dakika inkübasyon süresinden sonra 415 nm'de mikroplaka reader ile absorbansları okundu.

Aynı şekilde *Euphorbia* türlerinin etanol ekstrelerinin tek konsantrasyonda (1000 mg/L) hazırlanan çözeltilerinin de absorbans değerleri okundu. Ekstrelerin toplam flavonoid içerikleri, standart kersetin ölçü grafiğinden elde edilen aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 3.4.). Absorbans = 0.0535 (µg) + 0.0748 (R^2: 0.9960)

Her bir örnekten üç paralel ölçüm yapılmıştır.



Şekil 3.4. Standart kersetinin ölçü grafiği

3.6. Antioksidan ve Antikolinesteraz Tayin Yöntemlerinde Kullanılan Kimyasallar

β-Karoten, linoleik asit, kersetin, pirokatekol, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,6-di-*t* bütil-1-hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), DTNB (5,5-ditiyobis-(2-nitro benzoik asit)), nikotinamit adenindinükleotit (NADH), fenazin-meta sülfat (PMS), nitroblutetrazolyum (NBT), asetilkolinesteraz, butirilkolinesteraz, α-tokoferol, potasyum peroksi disülfat ($K_2S_2O_8$), ABTS ve bakır (II) klorür, Tween-40, kloroform, diklorometan, metanol, etanol, alüminyum nitrat, potasyum asetat, galantamin hidrobromür, neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) Sigma-Aldrich firmasından (St. Louis); asetiltiyokolin iyodür, Folin-Ciocalteu reaktifi (Applichem), butiriltiyokolin iyodür (Fluka), sodyum karbonat, amonyum asetat, sodyum hidrojen fosfat ve sodyum dihidrojen fosfat Riedel-de-Haen firmasından temin edildi. Kullanılan kimyasal maddeler ve tüm çözücüler analitik saflıktadır.

3.7. Antioksidan Testlerinde Kullanılan Reaktifler ve Hazırlanışları

3.7.1. β–Karoten Renk Açılım Yönteminde Kullanılan Çözelti

β–Karoten reaktifinin hazırlanması: 0.2 mg β-Karoten 1 mL kloroformda çözülerek bir balona aktarıldı. Üzerine 200 µL Tween–40 ve 20 µL linoleik asitten ilave edilip karıştırıldı. Vakum altında kloroform uçurulduktan sonra üzerine daha önceden oksijen ile doyurulmuş 50 mL su ilave edildi ve kuvvetlice çalkalandı.

3.7.2. DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti

0.1 mM DPPH çözeltisinin hazırlanması: 4 mg DPPH tartılarak 100 mL etil alkolde çözüldü.

3.7.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti

7 mM ABTS katyon radikalinin hazırlanması: 19.2 mg ABTS tartılarak 5 mL suda çözüldü. Üzerine toz halinde 3.3 mg potasyum peroksi disülfat ($K_2S_2O_8$) eklenip karıştırıldı. Karanlıkta oda sıcaklığında 12-16 saat beklendi. Bekleme süresi sonunda

çözelti kullanılmaya başlamadan önce absorbsiyonu yaklaşık 0.70 olacak şekilde seyreltildi.

3.7.4. CUPRAC Yönteminde Kullanılan Çözeltiler

10 mM Bakır (II) klorür dihidrat çözeltisinin hazırlanması: 42.62 mg $CuCl_2.2H_2O$ tartılarak 25 mL suda çözüldü.

1 M Amonyum asetat tamponunun hazırlanması: 1.927 g NH_4OAc tartılarak 25 mL suda çözüldü, pH= 7'ye ayarlandı.

7.5 mM Neokuproin çözeltisinin hazırlanması: 76.6 mg neokuproin tartılarak 50 mL % 96'lık alkolde çözüldü.

3.7.5. Antikolinesteraz Aktivite Tayininde Kullanılan Reaktiflerin Hazırlanışı

0.1 M NaH_2PO_4 Çözeltisinin hazırlanması: 1.56 g NaH_2PO_4tartılıp 100 mL distile suda çözüldü.

0.1 M Na_2HPO_4Çözeltisinin hazırlanması: 3.556 g Na_2HPO_4tartılıp 200 mL distile suda çözüldü.

0.1 M pH=8 Tampon çözeltisinin hazırlanması: 94.7 mL Na_2HPO_4 ve 5.3 mL NaH2PO4çözeltilerinden alındıktan sonra 100 mL distile su eklenerek hazırlandı.

0.1 M pH=7 Tampon çözeltisinin hazırlanması: 3.9 mL NaH_2PO_4 ve 6.1 mL Na_2HPO_4çözeltilerinden alınarak 10 mL distile su eklenerek hazırlandı.

5 mM DTNB Çözeltisinin hazırlanması: 16 mg 5.5-ditiyobis(2-nitro benzoik asit) (DTNB) 1 mL pH=7 tampon çözeltisinde ve 7.5 mg $NaHCO_3$ 1 mL pH=7 tampon çözeltisinde çözüldükten sonra iki çözelti karıştırıldı. Hazırlanan bu çözelti karışımı, 2 mL pH=7 tampon çözeltisi ile 4 mL'ye tamamlandı. Kullanma aşamasında 4 mL pH=8 tampon çözeltisi ilave edildi.

7.1 mM Asetiltiyokolin iyodür (AcI): 32.8 mg AcI alınarak, 8 mL distile su eklendi. Kullanma aşamasında 8 mL pH=8 tamponu ile hacmi 16 mL'ye tamamlandı.

0.79 mM Butiriltiyokolin iyodür (BuI)**:** 4 mg BuI alınarak, 8 mL distile su eklendi. Kullanma aşamasında 8 mL pH=8 tamponu ile hacmi 16 mL'ye tamamlandı.

Asetilkolinesteraz enziminin hazırlanması: 1.17 mg (498.3498 U) AChE enzimi alınarak 5 mL pH=8 tampon çözeltisinde çözüldü ve 1'er mL'lik beş bölüme ayrıldı.
Her biri için 99.66996 U/mL'lik konsantrasyon sağlanmış oldu ve 1 mL'lik stoklar da 125 µL'lik 8 eşit bölüme ayrıldı (0,09966996 U/µL). 125 µL'lik enzim çözeltisine

460µL pH=8 tampon çözeltisi eklendi (0.021297 U/µL) . 585 µL çözelti 25 µL'ik 23 tane küçük eppendorf tüplere doldurularak daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda bekletildi. Stok çözeltiler kullanılmadan önce pH=8 tampon çözeltisiyle 2150 µL'ye tamamlanır (2,476x10-4 U/µL).

Butirilkolinesteraz enziminin hazırlanması: 1 mg (11.4 U) BChE enzimi alınarak 5 mL pH=8 tampon çözeltisinde çözüldü (2.28 U/mL). Bu çözeltiden 300 µL'lik stoklar oluşturulup küçük şişelere dolduruldu ve daha sonra kullanılmak üzere derin dondurucuda bekletildi (0.00228 U/µL). Stok çözeltiler kullanılmadan önce 1850 µL pH=8 tampon çözeltisinden eklenerek kullanıma hazır hale getirilir ($3.1813x10^{-4}$ U/µL).

3.7.6. Ativite Tayininde Kullanılan Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

Bütün deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar analitik saflıkta temin edilmiştir. Çözeltilerin hazırlanmasında analitik saflıktaki kimyasallar kullanılmıştır.

1000 ppm Kersetin çözeltisinin hazırlanması**:** 25.8 mg kersetin 25 mL etil alkolde çözülerek 1000 ppm'lik konsantrasyonda kersetin çözeltisi hazırlandı.

100 ppm Pirokatekol çözeltisinin hazırlanması: 10 mg pirokatekol 100 mL su ile çözülerek 100 ppm'lik pirokatekol çözeltisi hazırlandı.

1000 ppm BHT (2,6-di-t-bütil-1-hidroksitoluen) çözeltisinin hazırlanması: 10 mg BHT 10 mL etanol içinde çözülerek 1000 ppm'lik BHT çözeltisi hazırlandı. Ayrıca 2500 ppm'lik çözelti de hazırlandı.

1000 ppm BHA (2- t-bütil-4-hidroksianisol) çözeltisinin hazırlanması: 10 mg BHA 10 mL etanolde çözülerek 1000 ppm'lik BHA çözeltisi hazırlandı. Ayrıca 2500 ppm'lik çözelti de hazırlandı.

1000 ppm α-Tokoferol çözeltisinin hazırlanması: % 97'lik 10.31 mg α-tokoferol 10 mL etanolde çözülerek 1000 ppm'lik α-tokoferol çözeltisi hazırlandı. Ayrıca 2500 ppm'lik çözelti de hazırlandı.

4000 µM Galantamin çözeltisinin hazırlanması: 2.3 mg galantamin 2 mL etanolde çözülerek galantamin çözeltisi hazırlanmış olur.

3.8. Antioksidan Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivite tayini için çalışılan 9 farklı *Euphorbia* türünün metanol ekstrelerinin antioksidan aktivileri, β-karoten-linoleik asit test sistemi, DPPH serbest

radikali giderim, ABTS katyon radikali giderim ve CUPRAC yöntemleri ile tayin edilmiştir.

3.8.1. β-Karoten-Linoleik Asit Yöntemi (Renk Açılım Aktivite Tayini)

β-Karoten-linoleik asit test sistemi, linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesine dayanmaktadır (Dapkevicius ve ark. 1998). *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin 10 miligramı 10 mL etanolde çözülerek stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 µL alınarak distile su ile hacimleri 40 µL'ye tamamlandı ve üzerlerine β-karoten-linoleik asit çözeltisinden her bir örneğe 160 µL ilave edilir edilmez mikroplaka reader ile başlangıç absorbansları 490 nm'de ölçüldü. Hazırlanan çözeltiler 50 ºC'de 120 dakika bekletildi (Miller 1971). Bu süre sonunda absorbanslar tekrar ölçüldü. β-Karotenin renk açılım oranı aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$R = \ln (a/b)/t$

ln: Doğal logaritma

a: Başlangıç absorbansı

b: İnkübasyonundan sonraki absorbans

t: Zaman (dakika)

Toplam antioksidan aktivite, kontrole göre % inhibisyon olarak aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

Toplam Antioksidan Aktivite (%İnhibisyon) = $[(R_{kontrol} - R_{örnek}) / R_{kontrol}] \times 100$

$R_{kontrol}$: Kontrolün renk açılım oranı

$R_{örnek}$: Örneğin renk açılım oranı

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT, BHA ve α-Toc kullanıldı.

3.8.2. DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Serbest Radikali Giderim Yöntemi

Ekstrelerin serbest radikal giderim aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak belirlendi (Blois 1958). *Euphorbia* türlerinin etanol ekstrelerinin 10 mg'ı 10 mL etanolde çözülerek stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 µL alınarak etanol ile hacimleri 40 µL'ye tamamlandı ve üzerlerine 0.1 mM DPPH çözeltisinden 160 µL ilave edildi. Hazırlanan çözeltilerin oda

sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübasyondan sonra 517 nm'de absorbansları ölçüldü. Elde edilen bu absorbans değerlerinden % inhibisyon değerleri hesaplandı. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. Serbest radikal giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

% İnhibisyon = $(A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}$ x 100

A: Absorbans

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT, BHA ve α-Toc kullanıldı.

3.8.3. ABTS Katyon Radikali Giderim Aktivitesi

Ekstrelerin ABTS katyon radikali giderim aktiviteleri 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak belirlendi (Re ve ark. 1999). *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin 10 mg'ı 10 mL etanolde çözülerek stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 2, 5, 10 ve 20 µL alınarak etanol ile hacimleri 40 µL'ye tamamlandı ve üzerlerine 7 mM ABTS katyon radikali çözeltisinden 160 µL ilave edildi. Reaksiyon karanlıkta 6 dakika bekletildikten sonra 734 nm'de absorbansları ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirildi. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

% İnhibisyon = $(A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}$ x 100

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak α-Toc, BHT ve kullanıldı.

3.8.4. CUPRAC Yöntemi

CUPRAC yönteminde, örneklerdeki antioksidan bileşikler varlığında Cu(II)-Neokuproin (Nc) kompleksi, renkli Cu(I)-Nc kelatına indirgenir ve bu kelatın 450 nm'de absorbansı ölçülür. Hazırlanan örnekler ve standartların üzerine, son konsantrasyonları 10, 25, 50, 100 µg/mL olacak şekilde Cu (II), neokuproin ve NH_4CH_3COO tamponu ilave edildi ve 1 saat sonra 450 nm'de absorbans ölçüldü (Apak ve ark. 2004). Örneklerin absorbans değerleri standartlara karşı değerlendirildi.

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı. Standart olarak BHT, BHA ve α-TOC kullanıldı.

3.8.5. Antikolinesteraz Aktivite Tayin Yöntemi

Asetilkolinin AChE tarafından tiyokoline parçalandıktan sonra, tiyokolinin sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunu vermek üzere 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyon verdiği kolorimetrik bir yöntem olan Ellman metodu, 96 kuyucuklu mikroplakalarda gerçekleştirildi (Ellman ve ark. 1961).

3.8.5.1. AChE Aktivite Testi

Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak asetilkolinesteraz enzimi, substrat olarak ise asetiltiyokolin iyodür kullanılmaktadır. Sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat anyonunun konsantrasyonu 412 nm'de mikroplaka reader ile ölçülmektedir. Mikroplakadaki kuyucuklara 130 µL fosfat tamponu (pH =8), ekstrelerin etanol içinde 4000 mg/L konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerinden 10 µL ve enzim çözeltisinden 20 µL koyuldu. Bu çözelti 10 dakika süre ile 25ºC de inkübe edildi. 10 dakika sonra 20 µL DTNB reaktifi ve substrat (asetiltiyokolin iyodür) ilave edildi.
Standart olarak galantamin kullanıldı. Mikroplaka ELISA okuyucuya yerleştirilerek 412 nm dalga boyunda absorbans okundu. AChE aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

% İnhibisyon = $(A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}$ x 100

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.

3.8.5.2. BChE Aktivite Testi

AChE aktivite testinde uygulunan yöntem kullanıldı. Farklı olarak butirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi için enzim olarak at serumundan elde edilen butirilkolinesteraz enzimi, substrat olarak ise butiriltiyokolin iyodür kullanıldı. BChE aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

% İnhibisyon = $(A_{kontrol} - A_{örnek}) / A_{kontrol}$ x 100

Her bir örnekten üç paralel çalışma yapıldı.

Antioksidan ve antikolinesteraz aktivite sonuçlarında elde edilen veriler üç paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir. Sonuçlar Student's t-testine göre % 95 güven sınırları içinde bulunmuştur. Anlamlılık sınırı olarak $p<0.05$ kabul edildi. En küçük kareler yönteminin kullanıldığı doğrusal regresyon analizi eğim, intersept ve korelasyon katsayılarının değerlendirilmesiyle yapıldı.

3.9. Antikanser Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar ve Hücreler

Ekstrelerin sitotoksisitesini belirlemek için MTT testi kullanıldı. Bu test hücre proliferasyonunun ölçülmesi için 3,[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) tetrazolyumtuzu'nun kullanıldığı hassas bir metoddur. Çalışmada L929 Fibroblast canlı hücre serisini ve kanserli insan kolon DLD-1 hücre serisi kullanılmıştır.

3.9.1. MTT Testi ile Sitotoksisitenin Belirlenmesi

Sitotoksisiteyi belirlemek için MTT testi kullanılmıştır. Bu test hücre proliferasyonunun ölçülmesi için 3,[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) tetrazolyumtuzu'nun kullanıldığı hassas bir metoddur. Eğer canlılık % 70'in altında hesaplanırsa numune sitotoksik potansiyele sahip demektir. L929 Fibroblast hücreleri ve DLD-1 hücreleri 96 well platelere her bir kuyucuğa $1.0x10^4$ hücre olacak şekilde ekimi yapıldı. Hücreler 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Numuneler 1 mg/ mL olacak şekilde hazırlandı. UV altında sterilizasyonu yapıldı ve 0.20 µm lik filtreden geçirildi. Hazırlanan ekstrelerden belirlenen 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12.5 µg/mL hücrelere uygulanarak 24 saat inkübe edilmiştir. Kontrol olarak sadece besi ortamı hücrelere uygulandı. 24 saat sonunda kuyucuklardaki vasatlar atılarak her kuyucuğa 100 µL besiyeri ve 10 µL MTT çözeltisi ilave edildi. 37 ºC'de 3,5 saat inkübasyondan sonra kuyucuklara 150 µL DMSO eklenerek 15 dakika inkübe edildi. Hücre canlılığının tespiti için 96 kuyucuklu plate'in absorbans değerleri ELİSA plate okuyucuda 570 nm'de okutuldu. Kontrol grupları baz alınarak % canlılık aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$\text{Viab. \%} = \left(\frac{OD_{570e}}{OD_{570b}}\right)x100$$

OD_{570e}: numunenin optik yoğunluğunun değeri

OD_{570b}: kontrol grubunun optik yoğunluğu

3.10. Ekstrelerin Yağ Asidi için Analize Hazırlanması

Yüz miligram yağ örneği, 0.1M KOH çözeltisi ve metanol (2 mL) içinde 1 saat geri çeviren soğutucuda tutulup çözelti soğutulduktan sonra 5 mL su ilave edildi. Sulu karışım, 0.5 mL HCl çözeltisi ile nötralize edilip ve hekzan/dietil eter (1/1; 3-5 mL) karışımı ile ekstre edildi. Organik tabaka ayrılarak ve su ile yıkanarak (10 mL), daha

sonra susuz Na_2SO_4 üzerinde kurutuldu. Organik çözücü rota evaporatörde uçurularak yağ asidi esterleri elde edildi (Kılıç ve ark. 2007).

3.10.1. GC-MS ile Yağ Asidi Analizi Çalışma Şartları

GC-MS analizi apolar Phenomenex DB-5 kolonunda (30 m- 0.32 mm, 0.25 μm film kalınlığı) helyum gazı (1 mL/dak ve 20 psi) ile yapılıp GC fırın sıcaklığı 40 °C'de 5 dakika tutulup, 280 °C'ye 5 °C/dakika hızla çıkarıldı ve bu sıcaklıkta (280 °C) 10 dakika sabit tutuldu. Split oranı 1:20 olarak ayarlanarak injeksiyon hacmi 0.1 μL'dir. Kütle spektrometresi (EI/MS) 70 eV iyonizasyon enerjisine ayarlandı. Kütle spektrometresi tarama aralığı m/z 35-450 atomik kütle birimi (amu) aralığına ayarlandı. NIST ve Wiley GC-MS kütüphaneleri ile bileşenlerin belirlenmesinde kullanıldı. Ayırılan bileşenlerin relatif yüzde miktarı, computerized integratorla toplam iyon kromatografisinden hesaplandı.

3.11. LC-MS/MS Cihazı ve Kromatografik Şartlar

11 Fitokimyasal bileşiğin kalitatif ve kantitatif analizinde kullanılan LC-MS/MS sistemi; Shimadzu Neexera model UHPLC cihazı ile Shimadzu LCMS 8040 model üçlü kuadrupol kütle spektrometre cihazının birleşiminden oluşmaktadır. Kullanılan sıvı kromatografi sistemi LC-30 AD model gradient pompa, DGU-20A3R model degazer, CTO-10ASvp model kolon fırını ve SIL-30AC model oto örnekleyiciden oluşmaktadır. Kromatografik ayrım, Inertsil ODS-4 model C18 (100 mm×2.1 mm, 2 μm) kolonda gerçekleştirilmiştir. Analiz sırasında kolon fırını 35 ºC'ye ayarlanmıştır. Elüsyon gradiyentinde hareketli faz A için ultrasaf su ve hareketli faz B için asetonitril kullanılmıştır. Ayrıca, daha iyi bir kromatografik ayrım ve iyonlaştırmayı kolaylaştırmak için su fazına 5 mM amonyum asetat ve % 0.1 asetik asit eklenmiştir.

Analitlerin optimum ayrımının gerçekleşmesi için yapılan pek çok denemenin ardından en uygun UHPLC gradiyent profili 35-50 % B (0-5 dk), 50-90 % B (5-10 dk), 90 % B (10-13 dk), 35 % B (13-38) şeklinde optimize edilmiştir. Hareketli faz akış hızı 0.25 mL/dk ve enjeksiyon hacmi 2 μL olarak belirlenmiştir. Üçlü kuadrupol kütle spektrometresi hem negatif hem de pozitif modda çalışan bir ESI (elektrosprey iyonlaştırma) kaynağı ile donanımlıdır. LC-ESI-MS/MS verileri cihazda kayıtlı olan by LabSolutions (Shimadzu, Kyoto, Japonya) yazılımı ile toplanarak işlenmiştir.

Analitlerin miktarsal tayini için cihaz ile MRM (multiple reaction monitoring) modunda çalışılmış ve moleküler (parent) iyonlar bir veya iki parçalanma ürünü (product ions) (ilki kantitatif amaçlı diğeri kalitatif amaçlı kullanılmıştır) ile kombine edilmiştir. Kütle spektrometresinde optimize edilen diğer parametreler şunlardır: ara yüz (interface) sıcaklığı; 350 ºC, DL sıcaklığı; 250 ºC, heat block sıcaklığı; 400 ºC, nebulizer gaz (N_2) akışı; 3 L/dk ve kurutma gazı (N_2) sıcaklığı; 15 L/dk.

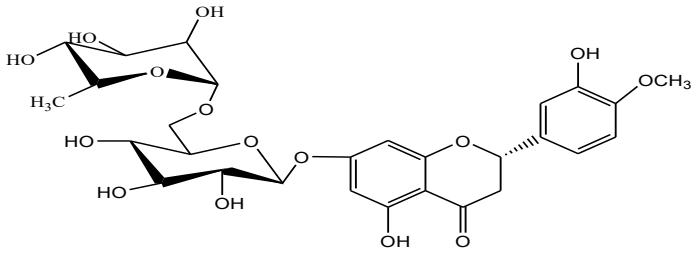
3.11.1. LC-MS/MS Metod Validasyonunda Kullanılan Kimyasallar

Hesperidin, resiniferatoksin, kavain, *p*-kumarik asit, protokateşik asit, rutin, piseatannol, krisofanik asit, skopoletin, eugenol, kinik asit asetik asit, amonyum asetet, asetonitril, ultrasaf su.

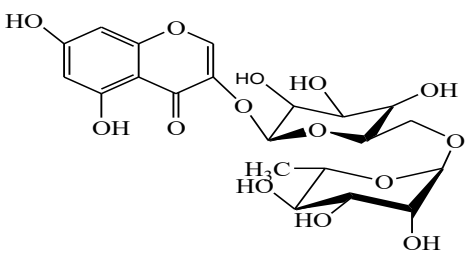
LC-MS/MS metodunda kullanılan kimyasallar ve sınıfları şunlardır:

- **Fenolikler(7 adet):** p-Kumarik asit, protokateşik asit, piseatannol, eugenol, resiniferatoksin, kavain, krisofanik asit
- **Flavonoidler (2 adet):** Rutin, hesperidin,
- **Kumarinler (1 adet):** Skopoletin
- **Organik asitler (1 adet):** Kinik asit

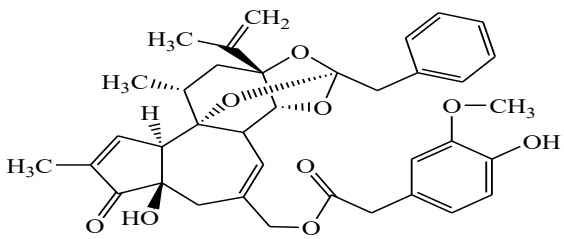
LC-MS/MS metodunda çalışılan 11 kimyasalın molekül yapıları Şekil 3.5. ve 3.6.'de verilmiştir.



Hesperidin

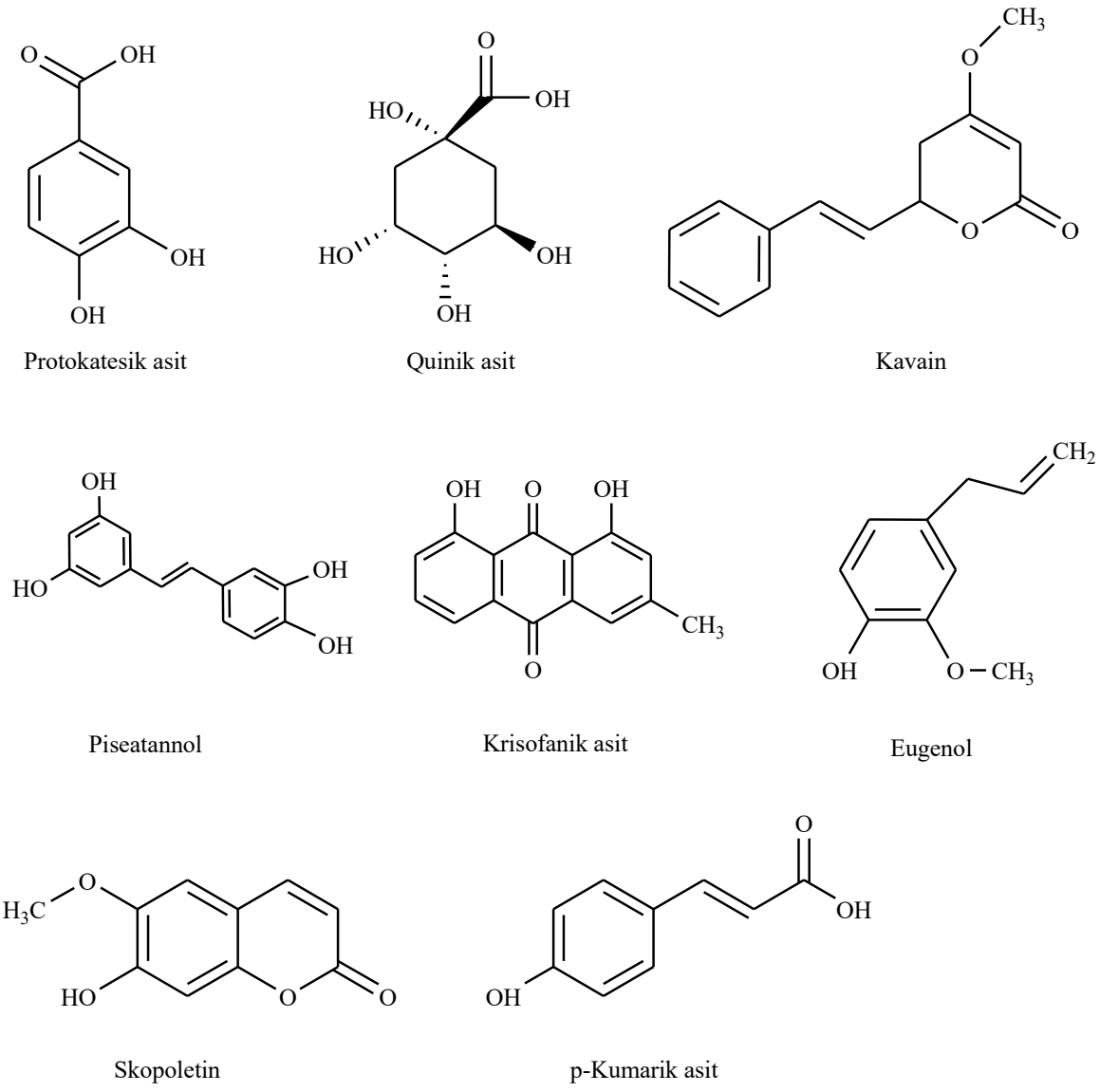


Rutin



Resiniferatoksin

Şekil 3.5. LC-MS/MS metod validasyonu yapılan kimyasalların molekül yapıları



Şekil 3.6. LC-MS/MS metodunda kullanılan kimyasalların molekül yapıları

3.12. LCMS IT-TOF Cihazı ve Kromatografik Şartlar

Çalışılan 9 farklı *Euphorbia* türünün metanol ekstrelerinin fitokimyasal içeriğinin kalitatif olarak taranması için Shimadzu LCMS IT-TOF cihazı kullanılmıştır. Bu hibrit cihaz sistemi UHPLC ile yüksek çözünürlüklü bir kütle spektrometresi olan IT-TOF- MS sisteminden oluşmaktadır. Shimadzu marka UHPLC sistem donanımı, bir gradiyent pompa (LC-20AD), bir oto örnekleyici (SIL-20AC), bir gaz giderici (DGU-20A3), bir iletişim modülü (CBM-20A) ve bir kolon fırını (CTO-20AC) içermektedir. Kromatografik ayrım Agilent Eclipse XDB (150×4.6 mm, 3.5µm) kolon ile akış hızının

0.35 mL/dk ve kolon sıcaklığının 35 ºC olduğu şartlarda gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 4 µL olarak belirlenmiştir. Ayrım gerçekleştirilirken A (5 mM amonyum format içeren ultra saf su) ve B (% 100 asetonitril) hareketli fazlarıyla gradiyent elüsyon yapılmıştır. Uygulanan gradiyent, 52-65 dk (% 7.5 B), 5-45 dk (% 7.5-95 B), 45-52 dk (% 95 B), ve 52-65 dk (% 7.5 B) şeklinde belirlenmiştir. Hibrit IT-TOF-MS yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi hem pozitif hem de negatif modda çalışan ESI iyonlaştırma kaynağı ile donanmıştır. Optimize edilmiş MS şartları şöyledir: artı ve eksi iyon modu; nebulizer gaz (N_2), 1.5 L/dk; kurutma gazı (N_2) basıncı, 100 kPa; CDL sıcaklığı, 200 ºC; heat block sıcaklığı, 200 ºC; dedektör voltajı, 1.63 kV; elektrosprey voltajı, -4.5 kV; kütle aralığı, *m/z* 100-1000 (MS1); TOF bölme basıncı, 1.4×10^{-4}Pa; IT basıncı 1.8×10^{-4}Pa ve iyon birikme zamanı 30 msan. Data toplama ve analizler LC-MS Solution Version 3.41(Shimadzu, Japonya) yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.

3.13. Örneklerinin Metal Analizine Hazırlanması

Metal analizi için hazırlanan *Euphorbia* türlerinin homojen hale getirilmesi için Ultra-Turrax öğütücü ile toz haline getirilen ve kurutulmuş bitki kısımları (tohum, kök, dal, yaprak, çiçek ve karışık) analize kadar nem geçirmeyen kilitli naylon poşetlere (Şekil 3.7.) konularak laboratuvarda muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.7. Örneklerin öğütme sonrası görünümü

Euphorbia türlerinde ağır metal analizini gerçekleştirmek için kurutulan ve öğütülerek homojen hale getirilmiş bitki örneklerinden yaklaşık 0.2g (0.0001g hassasiyetle) tartılıp teflon tüplere konuldu. Bu teflon tüplerden biri blank için boş bırakılarak ve diğer tüplere asitlendirme işlemi yapıldı. Numunelerin yanmaması (yani

kömürleşmemesi) için 6/2 oranında her bir tüpe ayrı ayrı 6 mL HNO_3 ve 2 mL H_2O_2 konuldu. 200 °C mikrodalga fırında (MILESTONE START D) 30 dakika süreyle kapalı sistem çözünürleştirme işlemi yapılmıştır. Çözümleştirme işleminden sonra teflon tüplerdeki numuneler analiz için hazırlanan tüplere aktarılarak ultra saf su ile seyreltilip analize hazır hale getirilmiştir. Analiz tüplerin ağzı kapatılarak ölçüm gününe kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir. ICP-MS ile gerçekleştirilen metallerin kalibrasyon ve denklemleri Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3. 2. ICP-MS analiz metoduna ait analitik parametreler

Element	Lineer aralık (µg/kg)	Kalibrasyon denklemi	R^2	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
Ag	0-100	y= 0.1202 x + 0.0013	0.9998	0.0066	0.0198
As	0-100	y= 0.0429x + 0.0012	0.9999	0.0088	0.0264
Ba	0-100	y= 0.0092 x + 0.0005	0.9999	0.0126	0.0378
Cd	0-100	y= 0.0069 x + 0.0005	0.9999	0.0042	0.0126
Co	0-100	y= 0.0661 x + 0.0012	0.9999	0.0196	0.0588
Cr	0-100	y= 0.0573 x + 0.0170	0.9997	0.0461	0.1383
Cs	0-100	y= 0.0710 x + 0.0002	0.9997	0.0041	0.0123
Cu	0-100	y= 0.7185 x + 0.8796	0.9998	0.0572	0.1716
Ni	0-100	y= 0.0148 x + 0.0316	0.9998	0.5303	1.5909
Pb	0-100	y= 0.0760 x + 0.0103	0.9998	0.0268	0.0804
Rb	0-100	y= 0.2538 x + 0.0020	0.9999	0.0048	0.0144
Se	0-100	y= 0.0026 x + 0.0019	0.9997	0.0765	0.2295
Sr	0-100	y= 0.3451 x + 0.1645	0.9999	0.0668	0.2004
Tl	0-100	y= 0.0571 x + 0.0004	0.9998	0.0205	0.0615
V	0-100	y= 0.0630 x + 0.0018	0.9998	0.0025	0.0075
Zn	0-100	y= 0.0435 x + 0.1530	0.9995	0.5737	1.7211

Lineer aralık, belirleme katsayısı (R^2), Belirleme sınırı/Tayin sınırı (LOD/LOQ)

3.14. ICP-MS Cihazı ve Çalışma Şartları

Analize hazır hale getirilen örneklerin ICP-MS (İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP) ve Kütle Spektrometresi (MS)) ile gerçekleştirilmiştir. Örneklerde Be, Tl, Cr, Co, Ni, As, Se, Cd, Pb, Li, V, Cu, Zn, Rb, Sr, Ag, Cs ve Ba metal tayinleri için Agilent 7700X model ICP-MS cihazı kullanılmıştır. Bu cihaz için çalışma şartları Çizelge 3.3.'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. ICP-MS cihazı için çalışma şartları

Cihaz parametreleri	Cihaz çalışma Şartları
RF Gücü	1550 W
RF Frekansı	27.12 MHz
İç taşıyıcı gaz akışı	1.1 L/min
Dış taşıyıcı gaz akışı (soğutma gazı)	0.9 L/min
Plazma gazı	Ar X50S 5.0
Plazma gaz akışı (Ar)	15 L/min
Nebülizör peristaltik pompa çalışma hızı	0.1 rps
Cihazın numune çekiş hızı	0.5 mL/min
Sprey çemberin sıcaklığı	2 °C
Kütle çözünürlüğü (m/z)	244 amu
Bekgraunt kaunt sayısı	<5 cps (9 amu)
Kısa süreli stabilite	<3% RSD
Uzun süreli stabilite	<4% RSD/2 h
Cihazda ölçülen izotoplar	^{7}Li, ^{9}Be, ^{51}V, ^{52}Cr, ^{59}Co, ^{60}Ni, ^{63}Cu, ^{66}Zn, ^{75}As, ^{78}Se, ^{85}Rb, ^{88}Sr, ^{107}Ag, ^{111}Cd, ^{133}Cs, ^{137}Ba, ^{205}Tl, ^{208}Pb

3.14.1. Standart Referans Materyal (SRM) Maddenin Uygulanması

ICP-MS cihazının metal analizlernin doğru okuyup okumadığını belirlemek amacıyla standart referans madde (NIST 1573a Tomato Leaves) kullanılmıştır. Bitki örneklerinin hazırlandığı gibi standart referans madde de aynı şartlarda hazırlanıp cihaza okutulmuştur. Okuma sonucunda elde edilen değerler ve yüzde geri kazanımları Çizelge 3.4.'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Standart referans madde (CRM) (NIST 1573a tomato leaves) değerleri

Element	Sertifika Değeri (mg/kg)	Bulunan Değer (mg/kg)	Geri kazanım
Cd	1.52±0.04	1.49±0.11	98.02
Cr	1.99±0.06	2.04±0.03	102.50
Co	0.57±0.02	0.56±0.01	98.24
Cu	4.70±0.14	4.68±0.08	99.57
Fe	368±7	364±1	98.91
Mn	246±8	249±2	101.22
Ni	1.59±0.07	1.62±0.03	101.89
Zn	30.90±0.70	32.10±0.20	103.89

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Ekstre Verim Sonuçları ve Tür Kısaltmaları

Çalışılan *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin verimleri ve türlerin kısaltmaları Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Ekstre verimleri ve tür kısaltmaları

Bitki İsimleri	Çalışılan Türlerin kısaltmaları	Türlerin ekstre % verimi (g/g)
E. craspedia tohum	ECMS	9.46
E. craspedia kök	ECMR	2.17
E. craspedia dal	ECMB	9.95
E. craspedia yaprak	ECML	8.80
E. craspedia çiçek	ECMF	8.10
E. craspedia karışık	ECMM	13.98
E. denticulata tohum	EDKS	9.28
E. denticulata kök	EDKR	11.86
E. denticulata dal	EDKB	8.76
E. denticulata yaprak	EDKL	10.93
E. denticulata çiçek	EDKF	12.49
E. denticulata karışık	EDKM	11.80
E. aleppica kök	EADR	5.28
E. aleppica dal	EADB	8.90
E. aleppica olgunlaşmış yaprak	EADL	19.62
E. aleppica olgunlaşmamış yaprak	EADL1	11.95
E. aleppica karışık	EADM	10.85
E. eriophora kök	EEDR	3.92
E. eriophora dal	EEDB	4.62
E. eriophora yaprak	EEDL	10.94
E. eriophora yaprak tozu	EEDL1	7.28
E. eriophora karışık	EEDM	8.14
E. falcata karışık	EFDM1	14.51
E. grisophylla tohum	EGVS	13.92
E. grisophylla kök	EGVR	6.31
E. grisophylla dal	EGVB	14.40
E. grisophylla yaprak	EGVL	12.54
E. grisophylla karışık	EGVM	13.03
E. seguieriana subsp. *seguieriana* tohum	ESDS	5.31
E. seguieriana subsp. *seguieriana* kök	ESDR	4.58
E. seguieriana subsp. *seguieriana* dal	ESDB	5.43
E. seguieriana subsp. *seguieriana* yaprak	ESDL	5.90
E. seguieriana subsp. *seguieriana* çiçek	ESDF	13.13
E. seguieriana subsp. *seguieriana* karışık	ESDM	5.13

Çizelge 4.1. (devam)

Bitki İsimleri	Çalışılan Türlerin kısaltmaları	Türlerin ekstre % verimi (g/g)
E. fistulosa kök	EFDR	2.96
E. fistulosa dal	EFDB	3.10
E. fistulosa yaprak	EFDL	8.26
E. fistulosa çiçek	EFDF	12.04
E. fistulosa karışık	EFDM	5.66
Diyarbakır'dan toplanan *Euphorbia macroclada*		
E. macroclada tohum	EMDS	3.42
E. macroclada kök	EMDR	9.81
E. macroclada dal	EMDB	5.93
E. macroclada yaprak	EMDL	14.47
E. macroclada karışık	EMDM	6.57
Van'dan toplanan *Euphorbia macroclada*		
E. macroclada tohum	EMVS	2.93
E. macroclada kök	EMVR	5.69
E. macroclada dal	EMVB	6.05
E. macroclada yaprak	EMVL	12.71
E. macroclada çiçek	EMVF	4.40
E. macroclada karışık	EMVM	10.51
Trabzon'dan toplanan *Euphorbia macroclada*		
E. macroclada tohum	EMTS	8.91
E. macroclada kök	EMTR	14.79
E. macroclada dal	EMTB	12.94
E. macroclada yaprak	EMTL	13.58
E. macroclada çiçek	EMTF	14.23
E. macroclada karışık	EMTM	10.38
Malatya'dan toplanan *Euphorbia macroclada*		
E. macroclada kök	EMMR	13.58
E. macroclada dal	EMMB	7.71
E. macroclada yaprak	EMML	8.43
E. macroclada çiçek	EMMF	15.59
E. macroclada karışık	EMMM	7.08

4.2. Ekstrelerin Toplam Fenolik ve Flavonoid Miktarı Tayini Sonuçları

Çalışılan *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri sırasıyla pirokatekol ve kersetine eşdeğer olarak belirlenmiş ve sonuçlar µg/mg ekstre olarak verilmiştir (Çizelge 4.2. ve 4.3.).

E. craspedia türünün ECMS ve ECMM ekstrelerinin toplam fenolik içeriği diğer ekstrelerden daha yüksek olduğu görülmektedir. Toplam flavonoid içeriği ise ECMS ve ECML ekstrelerinde daha fazla olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2.).

E. denticulata türünün EDKS ve EDKL ekstrelerinin fenolik içeriği diğer ekstrelerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Toplam flavonoid içeriği ise EDKL ve EDKF ekstrelerinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bitkinin hem toplam fenolik ve hemde toplam flavonoid içeriğine bakıldığında EDKL ekstresinin diğer ekstrelerden daha zengin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2.).

E. aleppica türünün hem toplam fenolik hemde flavonoid içeriğine bakıldığında EADL ekstresinin diğer ekstrelerden daha zengin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2.).

E. eriophora türünün EEDB ve EEDL ekstrelerinin toplam fenolik içeriği diğer ekstrelerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Toplam flavonoid içeriği ise EEDL ve EEDM ekstrelerinin diğer ekstrelerden yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2.).

E. grisophylla türünün EGVS, EGVR, EGVL ve EGVM ekstrelerinin toplam fenolik ve flavonoid içeriği EGVB ekstresinin toplam fenolik ve flavonoid içeriğinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca toplam fenolik içeriği EGVS ekstresinde ve toplam flavonoid içeriği ise EGVM ekstresinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2.).

E. seguieriana subsp. *seguieriana* türünün ESDS ekstresinin toplam fenolik içeriğinin diğer ekdtrelerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Toplam flavonoid içeriği bakımından ise ESDL ekstresinin diğer ekstrelerden daha zengin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2.).

E. fistulosa türünün EFDB ekstresinin toplam fenolik içeriği diğer ekstrelerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Toplam flavonoid içeriği bakımından ise EFDF ekstresinin diğer ekstrelerden daha zengin olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.).

Toplam fenolik ve flavonoid içerikleri bakımından *E.macroclada* dışındaki türler karşılaştırıldığında; *E.falcata* ve *E.grisophylla* türlerinde toplam fenolik içeriği ve *E.denticulata* türünde toplam flavonoid içeriği diğer türlerden daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Metanol ekstrelerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri

Bitki İsimleri	Fenolik İçeriği (µg PEs/mg ekstrakt)[b]	Flovanoid İçeriği (µg QEs/mg ekstrakt)[c]
ECMS	123.46 ± 4.10	13.35 ± 0.50
ECMR	74.88 ± 1.68	9.94 ± 0.29
ECMB	63.03 ±1.68	9.85 ± 0.03
ECML	94.23 ± 5.47	14.11 ± 0.62
ECMF	87.12 ± 3.62	11.39 ± 0.15
ECMM	103.32 ±1.68	12.46 ± 0.66
EDKS	153.08 ± 6.70	13.82 ± 0.32
EDKR	141.23 ± 1.68	10.12 ± 0.28
EDKB	68.96 ± 3.35	10.85 ± 0.80
EDKL	153.08±5.03	23.57 ± 0.90
EDKF	148.34 ±5.03	14.30 ± 0.36
EDKM	89.10 ±1.68	12.42 ± 0.12
EADR	77.65 ±7.24	9.57 ± 0.21
EADB	70.14 ±5.03	10.20 ± 0.85
EADL	127.01 ±1.68	16.49 ± 0.76
EADL1	83.18 ±6.70	14.76 ± 1.01
EADM	80.81 ±0.00	13.54 ± 0.27
EEDR	80.81 ±6.70	10.12 ± 0.09
EEDB	102.13 ±6.70	12.05 ± 0.24
EEDL	64.22 ±3.35	9.25 ± 0.36
EEDL1	220.62 ±6.70	14.52 ± 0.76
EEDM	92.65 ±3.35	14.35 ± 0.06
EFDM1	247.38 ±7.13	13.14 ± 0.98
EGVS	227.22 ±9.98	13.58 ± 0.96
EGVR	189.92 ±5.70	10.62 ± 0.32
EGVB	95.16 ±0.00	9.67 ± 0.30
EGVL	210.08 ±5.70	14.48 ± 0.56
EGVM	140.52 ±4.28	14.58 ± 0.87
ESDS	88.10 ±1.43	12.33 ± 0.18
ESDR	192.94 ±5.67	9.99 ± 0.64
ESDB	77.02 ±3.49	9.97 ± 0.15
ESDL	155.65 ±0.00	16.60 ± 0.90
ESDF	134.48 ±4.28	15.71 ± 0.99
ESDM	124.40 ±4.28	12.18 ± 0.36
EFDR	89.11 ±2.85	9.42 ± 0.27
EFDB	99.87 ±3.08	10.52 ± 0.11
EFDL	67.82 ±3.50	13.72 ± 0.48
EFDF	76.49 ±8.75	15.10 ± 0.41
EFDM	70.30 ±0.00	13.53 ± 0.36

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.
b: Pirokatekole eşdeğer fenolik içerik.($y = 0.0498(\mu g) + 0.0434$ (R^2: 0.9918))
c: Kersetine eşdeğer flavonoid içerik. ($y = 0.0535\ (\mu g) + 0.0748$ (R^2: 0.9960))

Dört ilden (Diyarbakır, Van, Trabzon ve Malatya) toplanan *E. macroclada* türlerine bakıldığında ise toplam fenolik ve flavonoid içerikleri bakımından Diyarbakır'dan toplanan türün daha zengin olduğu görülmektedir. Malatya'dan toplanan *E. macroclada* türünün EMMF ekstresinin toplam fenolik içeriği bakımıdan diğer ekstrelerden daha zengin olduğu, toplam flavonoid içeriği bakımından ise EMML ekstresinin diğer ekstrelerden daha zengin olduğu görülmektedir. Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada* türünün EMDS ekstresinin toplam fenolik ve flavonoid içeriği diğer ekstrelerden daha fazla olduğu görülmektedir. Van'dan toplanan *E. macroclada* türünün EMVS ve EMVF ekstrelerinin toplam fenolik içeriği diğer ekstrelerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Toplam flavonoid içeriği bakımından ise EMVL ve EMVF ekstrelerinin diğer ekstrelerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada* türünün EMTS ekstresinin toplam fenolik içeriği diğer ekstrelerden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Toplam flavonoid içeriği bakımından ise EMTL ve EMTM ekstrelerinin diğer ekstrelerden daha zengin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Farklı illerden toplanan *E. macrocla'*da türlerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri

Bitki İsimleri	Fenolik İçeriği (µg PEs/mg ekstrakt)[b]	Flovanoid İçeriği (µg QEs/mg ekstrakt)[c]
EMMR	74.88 ± 5.03	10.07 ± 0.42
EMMB	70.54 ±2.74	11.05 ± 0.33
EMML	72.12 ± 1.37	17.77 ± 0.95
EMMF	125.83 ± 2.37	12.93 ± 0.99
EMMM	63.43 ± 2.74	10.18 ± 0.03
EMDS	372.27 ±9.51	19.07 ± 0.95
EMDR	262.09 ±8.49	11.33 ± 0.35
EMDB	75.00 ±0.00	9.38 ± 0.11
EMDL	133.47 ±0.00	17.69 ± 0.98
EMDM	137.50 ±5.70	15.69 ± 0.85
EMVS	80.04 ±4.28	10.40 ± 0.63
EMVR	90.12 ±2.28	8.72 ± 0.19
EMVB	76.01 ±1.43	9.20 ± 0.42
EMVL	76.34 ±2.33	13.54 ± 0.76
EMVF	93.15 ±3.55	12.99 ± 0.87
EMVM	74.33 ±2.33	12.16 ± 0.97
EMTS	95.16 ±2.85	9.63 ± 0.23
EMTR	177.82 ±2.85	10.16 ± 0.45
EMTB	218.15 ±4.17	9.23 ± 0.35
EMTL	262.50 ±2.85	17.13 ± 0.12
EMTF	261.49 ±6.24	15.11 ± 1.07
EMTM	265.52 ±7.13	17.77 ± 0.27

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.
b: Pirokatekole eşdeğer fenolik içerik.($y = 0.0498(\mu g) + 0.0434$ (R^2: 0.9918))
c: Kersetine eşdeğer flavonoid içerik. ($y = 0.0535 (\mu g) + 0.0748$ (R^2: 0.9960)

4.3. Çalışılan *Euphorbia* Türlerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları

Çalışılan türlerin farklı kısımlarının (tohum, kök, dal, yaprak, çiçek ve karışık kısımların ayrı ayrı), metanol ekstrelerinin dört farklı, *β*-karoten renk açılımı, DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, ABTS katyon radikali giderim aktivitesi ve CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemleriyle antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Tüm antioksidan aktivite yöntemlerinde standart olarak α-TOC, BHT ve BHA kullanılmıştır.

E. craspedia türünün ECMM ekstresinin *β*–karoten renk açılım yönteminde, ECMS eksteresinin ise hem DPPH serbest radikali giderim aktivitesi hemde ABTS katyon radikali giderim aktivite yöntemlerinde türün diğer ekstrelerine göre daha aktif oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.4.).

E. denticulata türünün EDKL ve EDKF ekstreleri ABTS katyon radikali giderim yönteminde standart olarak kullanılan BHA'dan, türün EDKS, EDKL ve EDKF ekstreleri DPPH serbest radikali giderim yönteminde standart olarak kullanılan BHT'den daha aktif olduğu belirlenmiştir. *β*–Karoten renk açılım yönteminde ise türün EDKB ekstresinin daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4.).

E. aleppica türünün EADL ekstresi hem *β*–karoten renk açılım yönteminde hemde DPPH serbest radikali giderim ve ABTS katyon radikali giderim yöntemlerinde diğer ekstrelerden daha iyi antioksidan aktive gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.).

E. eriophora türünün EADL ekstresi ABTS katyon radikali giderim yönteminde standart olarak kullanılan BHA ve BHT'den, DPPH serbest radikali giderim yönteminde ise standart olarak kullanılan BHT'den daha aktif olduğu belirlenmiştir. *β*–Karoten renk açılım yönteminde ise türün kayda değer aktivite göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.4.).

E. grisophylla türünün EGVS, EGVR ve EGVB ekstreleri DPPH serbest radikali giderim yönteminde standart olarak kullanılan BHA, BHT ve *α*-TOC bileşiklerinden daha aktif olduğu, ABTS katyon radikali giderim yöntemde ise türünün EGVS, EGVR ve EGVL ekstreleri standartlar olarak kullanılan BHT, BHA ve *α*-TOC bileşiklerinden daha aktif olduğu belirlenmiştir. *β*–Karoten renk açılım yönteminde türün EGVM ekstresi orta derecede aktivite gösterdiği ve diğer ekstrelerden daha aktif olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.).

E. seguieriana subsp. *seguieriana* türünün ESDL ekstresi *β*–Karoten renk açılım yöntemi, DPPH serbest radikali giderim ve ABTS katyon radikali giderim yöntemlerinde standart olarak kullanılan BHT, BHA ve *α*-TOC bileşiklerinden daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.).

E. fistulosa türünün EFDF ekstresi *β*–karoten renk açılım yöntemi, DPPH serbest radikali giderim ve ABTS katyon radikali giderim yöntemlerinde daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği, diğer ekstreler ise orta derecede antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4.).

E. falcata türünün EFDM1 ekstresi hem DPPH serbest radikali giderim ve ABTS katyon radikali giderim yöntemlerinde standart olarak kullanılan BHT'den daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Ekstrelerin β-Karoten, DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri

Örnekler	β-Karoten-linoleikasit	DPPH Serbest Radikali	ABTS Katyon Radikali
ECMS	366.90±1.41	74.78±1.68	43.18±1.46
ECMR	>1000	79.93±2.68	79.24±2.62
ECMB	>1000	85.52±0.13	413.53±5.42
ECML	>1000	181.53±1.06	58.04±1.91
ECMF	224.78± 8.96	135.72±1.12	64.50±0.12
ECMM	129.20±3.46	133.21±2.11	85.26±0.53
EDKS	149.19±2.56	34.39±1.59	48.39±0.65
EDKR	80.78±1.05	73.14±2.08	22.86±0.42
EDKB	**12.67±0.11**	505.18±8.79	190.26±2.33
EDKL	34.03±1.10	47.59±0.36	17.03±0.05
EDKF	35.34±0.56	55.05±0.61	16.11±0.12
EDKM	50.70±1.10	120.90±2.69	46.00±0.87
EADR	68.54±1.40	685.06±11.15	149.70±2.52
EADB	146.26±2.36	576.78±7.24	244.88±6.95
EADL	127.56±1.07	91.95±1.20	34.67±0.98
EADL1	107.31±2.87	230.78±6.03	117.36±3.76
EADM	251.06±5.32	228.68±2.73	160.76±1.47
EEDR	144.69±3.74	565.05±7.25	97.16±1.96
EEDB	288.27±6.11	85.38±2.10	27.66±0.43
EEDL	>1000	20.10±0.41	10.96±0.26
EEDL1	>1000	608.25±5.24	162.14±3.84
EEDM	>1000	89.69±2.00	36.13±0.89
EFDM1	>1000	48.34±1.46	13.48±0.13
EGVS	45.89±1.84	1.73±0.02	**8.93±0.02**
EGVR	105.64±3.56	**0.79±0.01**	9.16±0.01
EGVB	118.70±1.24	5.64±0.05	62.52±0.19
EGVL	81.15±0.21	27.37±0.74	9.08±0.40
EGVM	37.95±0.83	38.55±0.86	12.50±0.50
ESDS	109.68±1.22	181.33±2.05	85.52±1.98
ESDR	31.49±0.87	90.74±0.25	54.61±0.73
ESDB	99.78±1.77	325.67±5.66	125.84±1.51
ESDL	**10.41±0.93**	27.09±0.30	10.83±0.01
ESDF	136.20±1.32	101.86±4.18	33.10±0.86
ESDM	244.46±3.88	80.09±1.71	34.82±0.77
EFDR	>1000	302.74±3.65	82.94±1.14
EFDB	>1000	389.39±11.54	74.32±0.13
EFDL	>1000	400.45±8.39	80.87±1.10
EFDF	136.02±4.66	109.08±0.66	54.96±0.50
EFDM	≥1000	254.82±2.27	79.85±0.98
BHA	**1.5±0.01**	**7.88±0.20**	**17.59±0.10**
α-TOC	**2.1±0.10**	**16.30±0.79**	**9.88±0.23**
BHT	**1.3±0.03**	**58.86±0.50**	**12.29±0.67**

a:Sonuçlar IC_{50} değerleri olarak verilmiştir

b: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

Malatya'dan toplanan *E. macroclada* türünün EMML ekstresi DPPH serbest radikali giderim yönteminde standart olarak kullanılan BHT kadar aktif olduğu, ABTS katyon radikali giderim yönteminde ise standart olarak kullanılan BHA'ya yakın aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Türün diğer ekstreleri hem DPPH serbest radikali giderim yönteminde hemde ABTS katyon radikali giderim yönteminde standart olarak kullanılan bileşiklerle karşılaştırıldığında çok aktif olmadığı tespit edilmiştir. *β*–Karoten renk açılım yöntemine göre türün tüm ekstrelerinin kayda değer aktivite göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.5.).

ABTS katyon radikali giderim yönteminde Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada* türünün EMDS ekstresi kullanılan standartların hepsinden, EMDR ekstresi ise standart olarak kullanıla BHA ve BHT'den daha aktif olduğu, DPPH serbest radikali giderim yönteminde ise standart olarak kullanılan BHT ve *α*-TOC'dan daha aktif olduğu belirlenmiştir. Ayrıca DPPH serbest radikali giderim yönteminde türün EMDM ekstresinin standart BHT'den daha aktif olduğu tespit edilmiştir. *β*–Karoten renk açılım yöntemine göre türün tüm ekstrelerinin kayda değer aktivite göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.5.).

Van'dan toplanan *E. macroclada* türünün, EMVF ekstresinin DPPH serbest radikali giderim yönteminde standart olarak kullanılan BHT ve *α*-TOC'dan, ABTS katyon radikali giderim yöntemde ise diğer eksrelerden daha aktif olduğu belirlenmiştir. *β*–Karoten renk açılım yöntemine göre türün tüm ekstrelerinin kayda değer aktivite göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.5.).

Trabzon'dan toplanan *E. macroclada* türünün EMTL ekstresinin ABTS katyon radikali giderim yöntemde standart olarak kullanılan BHT, BHA ve *α*-TOC'dan daha aktif olduğu, EMTF ve EMTM ekstrelerinin ise standart olarak kullanılan BHA'dan daha aktif olduğu belirlenmiştir. ABTS katyon radikali giderim yöntemde ise EMTS, EMTL, EMTF ve EMTM ekstreleri standart olarak kullanılan BHA'dan daha aktif olduğu belirlenmiştir. *β*–Karoten renk açılım yöntemine bakıldığında ise EMTS ekstresi dışındaki ekstrelerin kayda değer aktivite göstermedikleri belirlenmiştir (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Farklı illerden toplanan *E. macrocla*'da türlerinin β-Karoten, DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri

Örnekler	β-Karoten-linoleikasit	DPPH Serbest Radikali	ABTS Katyon Radikali
EMMR	>1000	176.81±0.38	67.64±1.59
EMMB	>1000	235.72±5.43	79.92±0.05
EMML	>1000	58.76±0.45	22.14±0.70
EMMF	99.54±2.56	92.37±2.35	28.25±0.01
EMMM	171.31±0.19	951.57±7.37	418.26±11.18
EMDS	128.03±1.38	10.76±0.24	5.97±0.03
EMDR	115.71±2.70	19.72±0.52	11.27±0.46
EMDB	154.69±2.64	355.69±8.39	152.26±4.12
EMDL	>1000	62.31±1.90	23.34±0.20
EMDM	>1000	54.73±0.78	20.50±0.48
EMVS	237.88±1.25	522.08±6.40	148.79±4.00
EMVR	144.96±1.43	94.67±0.50	171.81±0.68
EMVB	339.91±1.38	219.56±2.56	339.35±5.11
EMVL	174.68±2.38	25.44±0.50	279.93±5.84
EMVF	132.49±2.59	8.50±0.04	75.28±0.42
EMVM	116.54±5.20	14.34±0.71	457.44±4.36
EMTS	304.76±6.57	129.32±3.48	55.38±0.74
EMTR	84.89±1.37	47.25±1.48	13.13±0.12
EMTB	132.35±1.03	117.93±3.31	51.56±0.75
EMTL	123.30±2.38	12.88±0.54	9.13±0.13
EMTF	93.31±2.53	24.42±0.28	13.57±0.28
EMTM	125.24±1.33	17.51±0.80	12.94±0.21
BHA	**1.5±0.01**	**7.88±0.20**	**17.59±0.10**
α-TOC	**2.1±0.10**	**16.30±0.79**	**9.88±0.23**
BHT	**1.3±0.03**	**58.86±0.50**	**12.29±0.67**

a: Sonuçlar IC_{50} değerleri olarak verilmiştir.
b: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

4.4. Metanol Ekstrelerinin CUPRAC Yöntemideki Absorbans Sonuçları

CUPRAC yönteminde; *E. eriophora* EEDL, *E. grisophylla* EGVS, EGVR ve EGVM ve *E. denticulata* EDKL ekstrelerinin Cu^{+2} indirgeme gücünün standart olarak kullanılan BHA'dan daha aktif olduğu belirlenmiştir. CUPRAC yönteminde çalışılan türlerin kendi aralarında karşılaştırıldığında *E. grisophylla*'nın daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. Çalışılan *Euphorbia* türlerinin CUPRAC aktiviteleri

Örnekler	10 (µg/mL)	25 (µg/mL)	50 (µg/mL)	100 (µg/mL)
ECMS	0.199±0.011	0.353±0.045	0.652±0.023	1.136±0.026
ECMR	0.114±0.002	0.177±0.010	0.277±0.007	0.498±0.010
ECMB	0.114±0.010	0.188±0.012	0.337±0.067	0.455±0.015
ECML	0.144±0.002	0.237±0.007	0.379±0.012	0.712±0.023
ECMF	0.122±0.005	0.197±0.015	0.307±0.022	0.506±0.016
ECMM	0.133±0.011	0.223±0.026	0.286±0.117	0.514±0.022
EDKS	0.162±0.009	0.303±0.011	0.516±0.043	0.858±0.051
EDKR	0.213±0.012	0.415±0.004	0.704±0.019	1.342±0.060
EDKB	0.103±0.007	0.164±0.002	0.255±0.002	0.440±0.009
EDKL	0.259±0.020	0.545±0.017	1.019±0.072	1.830±0.065
EDKF	0.273±0.021	0.528±0.026	0.944±0.048	1.617±0.024
EDKM	0.161±0.005	0.311±0.019	0.518±0.008	0.920±0.012
EADR	0.120±0.015	0.174±0.012	0.246±0.003	0.415±0.027
EADB	0.094±0.018	0.153±0.030	0.173±0.004	0.296±0.027
EADL	0.167±0.006	0.281±0.009	0.482±0.022	0.825±0.027
EADL1	0.117±0.002	0.196±0.013	0.307±0.006	0.530±0.009
EADM	0.146±0.013	0.235±0.001	0.388±0.010	0.631±0.023
EEDR	0.097±0.008	0.154±0.006	0.230±0.018	0.382±0.017
EEDB	0.187±0.013	0.310±0.021	0.546±0.024	0.980±0.063
EEDL	0.389±0.013	0.748±0.027	1.435±0.122	2.199±0.176
EEDL1	0.079±0.003	0.100±0.001	0.140±0.010	0.207±0.004
EEDM	0.175±0.022	0.310±0.026	0.521±0.023	0.816±0.018
EFDM1	0.282±0.004	0.541±0.026	1.049±0.020	1.923±0.103
EGVS	**0.385±0.006**	**0.861±0.050**	**1.561±0.081**	**2.842±0.231**
EGVR	**0.395±0.012**	0.827±0.042	1.482±0.022	2.394±0.092
EGVB	0.145±0.005	0.217±0.025	0.366±0.011	0.599±0.012
EGVL	0.362±0.034	0.663±0.033	1.235±0.041	2.337±0.085
EGVM	0.243±0.008	0.463±0.010	0.863±0.030	1.604±0.048
ESDS	0.119±0.012	0.184±0.010	0.289±0.005	0.535±0.041
ESDR	0.174±0.014	0.318±0.028	0.577±0.037	1.014±0.054
ESDB	0.134±0.040	0.173±0.010	0.275±0.015	0.498±0.014
ESDL	0.305±0.014	0.611±0.026	1.171±0.018	1.862±0.100
ESDF	0.184±0.016	0.303±0.012	0.554±0.004	0.992±0.056
ESDM	0.193±0.039	0.322±0.038	0.565±0.032	0.987±0.068
EFDR	0.103±0.003	0.150±0.004	0.246±0.003	0.430±0.005
EFDB	0.116±0.001	0.178±0.009	0.313±0.047	0.495±0.006
EFDL	0.126±0.005	0.195±0.006	0.338±0.006	0.614±0.019
EFDF	0.153±0.005	0.246±0.002	0.420±0.004	0.680±0.089
EFDM	0.157±0.004	0.227±0.006	0.406±0.013	0.683±0.028
BHT	**0.628±0.045**	**1.286±0.081**	**2.084±0.114**	**3.851±0.147**
BHA	**0.205±0.014**	**0.365±0.027**	**0.616±0.029**	**1.171±0.110**
α-TOC	**0.491±0.065**	**1.117±0.098**	**1.887±0.045**	**3.637±0.184**

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir.

Farklı lokalitelerden toplanan *E. macroclada* türlerinin Cu^{+2} indirgeme kapasiteleri incelendiğinde; Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada*'nın EMDS ve EMDR ekstrelerinin, standart olarak kullanılan BHA ve BHT'ye yakın aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada* EMTR ve EMTL ekstrelerinin BHA'dan daha aktif olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca farklı lokalitelerden toplanan *E. macroclada* türlerinin Cu^{+2} indirgeme kapasiteleri karşılaştırıldığında Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada*'nın diğer lokalitelerden toplanan *E. macroclada*'dan daha aktif olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. Farklı lokalitelerden toplanan *E. macrocla'*da türlerinin CUPRAC aktiviteleri

Örnekler	10 (µg/mL)	25 (µg/mL)	50 (µg/mL)	100 (µg/mL)
EMMR	0.170±0.035	0.286±0.030	0.436±0.021	0.721±0.029
EMMB	0.115±0.008	0.179±0.003	0.283±0.021	0.477±0.020
EMML	0.211±0.008	0.399±0.017	0.724±0.027	1.249±0.029
EMMF	0.209±0.013	0.388±0.005	0.684±0.009	1.215±0.029
EMMM	0.133±0.011	0.236±0.011	0.403±0.010	0.649±0.022
EMDS	**0.534±0.050**	**1.006±0.025**	**1.764±0.064**	**2.834±0.090**
EMDR	0.418±0.023	0.913±0.020	1.646±0.053	2.532±0.133
EMDB	0.102±0.009	0.147±0.006	0.208±0.008	0.345±0.026
EMDL	0.209±0.008	0.420±0.033	0.742±0.010	1.309±0.033
EMDM	0.241±0.025	0.452±0.012	0.811±0.012	1.372±0.045
EMVS	0.122±0.007	0.196±0.004	0.293±0.007	0.452±0.023
EMVR	0.086±0.001	0.107±0.005	0.138±0.005	0.213±0.006
EMVB	0.103±0.001	0.137±0.003	0.204±0.008	0.312±0.013
EMVL	0.146±0.040	0.199±0.002	0.321±0.020	0.437±0.027
EMVF	0.144±0.004	0.212±0.010	0.357±0.004	0.605±0.035
EMVM	0.132±0.004	0.236±0.001	0.358±0.012	0.575±0.043
EMTS	0.110±0.005	0.190±0.008	0.301±0.005	0.550±0.017
EMTR	0.289±0.024	0.621±0.028	1.111±0.040	2.024±0.138
EMTB	0.129±0.009	0.198±0.010	0.338±0.006	0.640±0.015
EMTL	0.465±0.040	0.999±0.070	1.754±0.021	**3.028±0.161**
EMTF	0.355±0.014	0.755±0.012	1.383±0.046	2.329±0.071
EMTM	0.411±0.015	0.809±0.026	1.502±0.045	2.629±0.049
BHT	**0.628±0.045**	**1.286±0.081**	**2.084±0.114**	**3.851±0.147**
BHA	**0.205±0.014**	**0.365±0.027**	**0.616±0.029**	**1.171±0.110**
TOC	**0.491±0.065**	**1.117±0.098**	**1.887±0.045**	**3.637±0.184**

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir

4.5. Çalışılan *Euphorbia* Türlerinin Antikolinesteraz Aktivite Sonuçları

Çalışılan *Euphorbia* türlerinin antikolinesteraz aktiviteleri asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonu yöntemlerine göre belirlenmiştir.

E. fistulosa türünün EFDR ve EFDB ekstreleri % 53.71±1.89 ve % 59.81±0.27 inhibisyon değerleriyle orta seviyede antikolinesteraz aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bütirilkolinesteraz inhibisyonu yönteminde ise *E. fistulosa* türünün EFDR ekstresi % 77.63±0.60 inhibisyon değeriyle standart olarak kullanılan galantamin kadar etki gösterdiği belirlenmiştir. Çalışılan diğer tüm tür ve ekstrelerin asetilkolinesteraz inhibisyonu göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. Çalışılan *Euphorbia* türlerinin antikolinesteraz aktivite sonuçları

Tür İsimleri	AChE (% İnhibisyon)	BChE (% İnhibisyon)
ECMS	A.D.	A.D.
ECMR	A.D.	A.D.
ECMB	A.D.	A.D.
ECML	A.D.	A.D.
ECMF	A.D.	A.D.
ECMM	A.D.	A.D.
EDKS	A.D.	A.D.
EDKR	A.D.	22.36±0.87
EDKB	A.D.	5.39±0.02
EDKL	A.D.	34.76±1.98
EDKF	A.D.	22.04±1.67
EDKM	A.D.	23.24±0.62
EADR	A.D.	22.39±0.76
EADB	A.D.	A.D.
EADL	A.D.	10.73±0.29
EADL1	A.D.	10.23±0.23
EADM	A.D.	18.05±0.25
EEDR	A.D.	7.94±0.06
EEDB	A.D.	4.51±0.01
EEDL	A.D.	17.53±0.33
EEDL1	A.D.	A.D.
EEDM	A.D.	21.13±0.87
EFDM1	A.D.	19.64±0.24
EGVS	A.D.	23.86±0.75
EGVR	A.D.	23.15±0.25
EGVB	A.D.	A.D.
EGVL	A.D.	4.53±0.05

Çizelge 4.8. (devam)

Tür İsimleri	AChE (% İnhibisyon)	BChE (% İnhibisyon)
EGVM	A.D.	A.D.
ESDS	A.D.	A.D.
ESDR	A.D.	A.D.
ESDB	A.D.	A.D.
ESDL	A.D.	A.D.
ESDF	13.71±0.27	A.D.
ESDM	7.90±1.48	A.D.
EFDR	**53.71±1.89**	**77.63±0.60**
EFDB	59.81±0.27	A.D.
EFDL	22.19±3.64	26.37±0.84
EFDF	47.52±0.13	40.41±0.41
EFDM	38.48±1.08	44.89±1.43
Galantamin	**83.24±1.24**	**80.70±0.16**

a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir (200 µg/mL).
d: Standart madde, A.D.: Aktif değil

Farklı lokalitelerden toplanan *E. macro*clada türlerinin antikolinesteraz aktiviteleri asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonu yöntemlerine göre belirlenmiştir.

Bütirilkolinesteraz inhibisyonu yönteminde Diyarbakır ilinden toplanan *E.macro*clada türünün EMDS ekstresi % 75.67±1.37 inhibisyon değeriyle standart olarak kullanılan galantaminin etkisine yakın değer gösterdiği belirlenmiştir. Diyarbakır ilinden toplanan *E. macro*clada türünün EMDM ekstresi % 49.44±1.37 ve Trabzon ilinden toplanan *E. macro*clada türünün EMTS ekstresi % 46.77±0.41 inhibisyon değeriyle orta seviyede bütirilkolinesteraz aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Farklı lokalitelerden toplanan tüm *E. macro*clada örneklerinin asetilkolinesteraz inhibisyonu göstermediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. Farklı lokalitelerden toplanan *E.macrocla*'da türlerinin metanol ekstrelerinin antikolinesteraz aktivite sonuçları

Tür İsimleri	AChE (%İnhibisyon)	BChE (%İnhibisyon)
EMMR	A.D.	A.D.
EMMB	A.D.	A.D.
EMML	A.D.	A.D.
EMMF	A.D.	A.D.
EMMM	A.D.	A.D.
EMDS	A.D.	28.25±1.23
EMDR	A.D.	**75.67±1.37**
EMDB	A.D.	14.45±0.86
EMDL	A.D.	41.62±1.25
EMDM	A.D.	49.44±1.37
EMVS	A.D.	2.40±0.01
EMVR	A.D.	A.D.
EMVB	A.D.	4.81±0.01
EMVL	A.D.	21.22±0.99
EMVF	A.D.	3.81±0.02
EMVM	A.D.	A.D.
EMTS	A.D.	A.D.
EMTR	A.D.	46.77±0.41
EMTB	A.D.	A.D.
EMTL	A.D.	14.51±0.02
EMTF	A.D.	A.D.
EMTM	A.D.	14.22±0.66
Galantamin	**83.24±1.24**	**80.70±0.16**

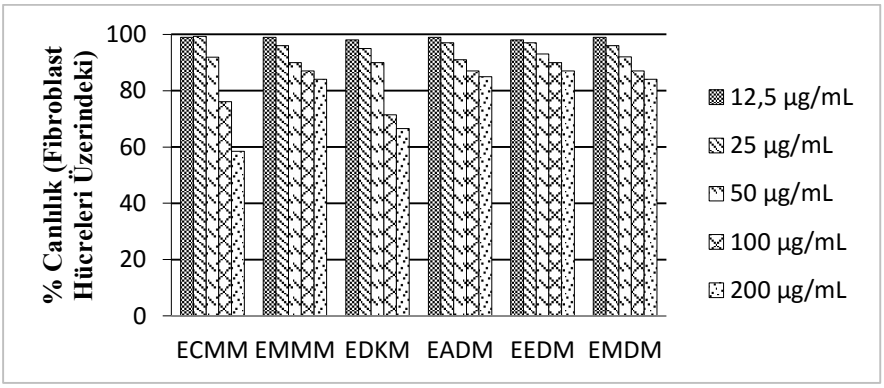
a: Değerler 3 paralel ölçümün ortalaması ve standart sapması olarak verilmiştir (200 µg/mL).
d: Standart madde, A.D.: Aktif değil

4.6. Çalışılan *Euphorbia* Türlerinin Sitotoksite Sonuçları

Çalışılan *Euphorbia* türlerinin sitotoksik aktivite sonuçlarının değerlendirilmesi için farklı konsantrasyonlarda (12.5 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL) hazırlanan metanol ekstreleri kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.1-4.4.'te verilmiştir.

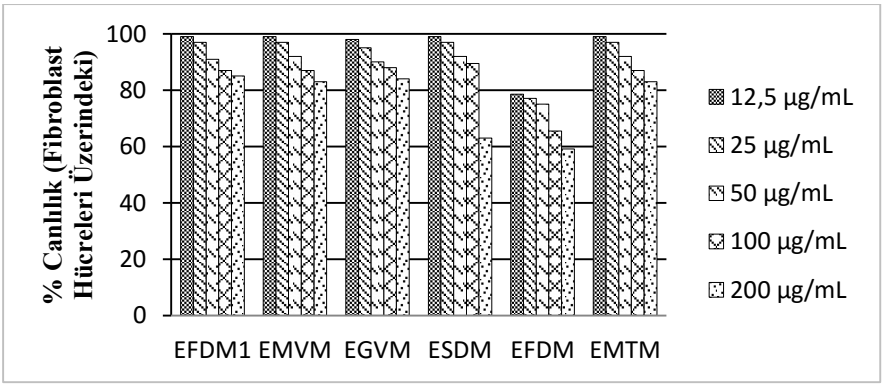
Çalışılan ECMM, EMMM, EDKM, EADM, EEDM, EMDM metanol ekstrelerinin fibroblast hücre serisine karşı etkisi Şekil 4.1.'de verilmiştir. Türlerin düşük konsantrasyonlarda 12.5 µg/mL'de normal hücreler üzerinde toksik etki göstermediği belirlenmiştir. Bu türlerden EADM, EEDM ve EMDM ekstrelerinin orta derişimlerde canlı fibroblast hücre serisi üzerinde toksisitesinin düşük olduğu

saptanmıştır. Bu türlerden en az toksisiteye sahip EMDM ekstresinin 200 µg/mL derişimde normal hücrelerin büyümesini engellememiştir. Çalışılan türlerden ECMM ekstresinin en fazla toksisiteye sahip tür olmuş ve yüksek derişimlerde normal hücrenin yaklaşık % 50'sini öldürmüştür.



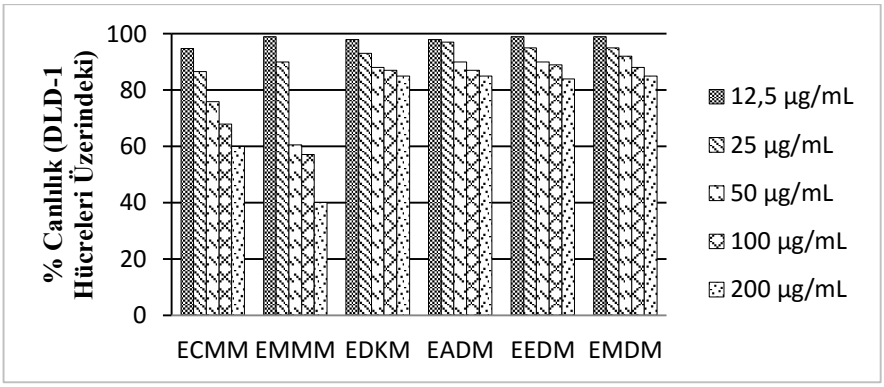
Şekil 4.1. ECMM, EMMM, EDKM, EADM, EEDM, EMDM türlerinin canlı fibroblast hücre serisindeki stotoksik aktivitesi

Çalışılan EFDM1, EMVM, EGVM, ESDM, EFDM ve EMTM metanol ekstrelerinin canlı fibroblast hücrelerine karşı etkisi Şekil 4.2.'de verilmiştir. EFDM1, EMVM, EGVM, ESDM ve EMTM ekstrelerinin düşük derişimlerde 12.5 µg/mL'de normal hücreler üzerinde toksik etki göstermediği belirlenmiştir. EFDM1, EMVM, EGVM ve EMTM ekstrelerinin orta derişimlerde canlı hücre serisi üzerinde toksisitesinin düşük olduğu saptanmıştır. Bu ekstrelerden en az toksisiteye sahip EGVM ve EMTM ekstrelerinin 200 µg/mL derişimlerde bile normal hücrelerin büyümesini engellemediği belirlenmiştir. EFDM ve ESDM ekstreleri ise en fazla toksisiteye sahip olduğu ve yüksek derişimlerde normal hücrenin yaklaşık % 50'sini öldürdüğü tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. $EFDM_1$, EMVM, EGVM, ESDM, EFDM ve EMTM türlerinin canlı fibroblast hücre serisindeki stotoksik aktivitesi

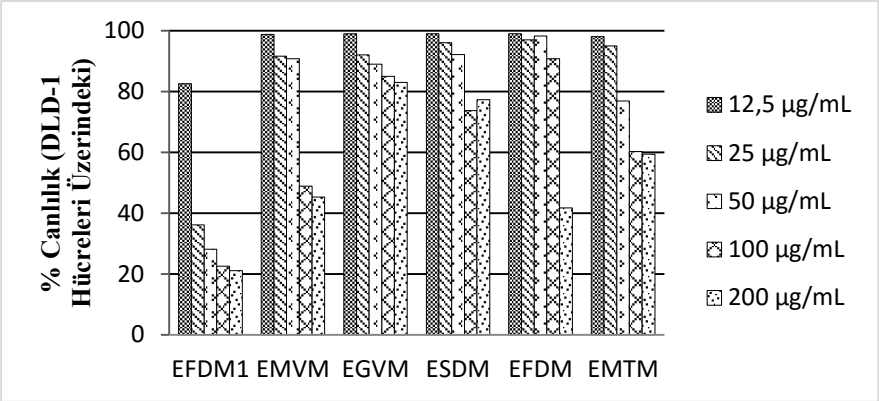
Çalışılan ECMM, EMMM, EDKM, EADM, EEDM ve EMDM metanol ekstrelerinin DLD-1 kanserli hücre serisine karşı etkisi Şekil 4.3.'te verilmiştir. ECMM, EMMM, EDKM, EADM, EEDM ve EMDM ekstrelerinin DLD-1 kanser hücrelerine karşı stotoksik aktivitesi en yüksek olan ECMM ve EMMM ekstreleri olarak belirlenmiştir. Diğer ekstrelerden en yüksek derişim olan 200 µg/mL'de bile stotoksik etki göstermezken ECMM ve EMMM ekstreleri bahsedilen derişimde sırasıyla yaklaşık % 40 ve % 60 oranında kanserli hücreleri öldürdüğü tespit edilmiştir. ECMM ekstresi bu ekstrelerden en yüksek stotoksiteye sahip ekstre olarak belirlenmiştir. 12.5 µg/mL'de yaklaşık % 10 civarında kanser hücresini öldüren ECMM ekstresi derişimi artıkça doğrusal olarak stotoksik etkinliği artmıştır. 25 µg/mL, 50 µg/mL ve 100 µg/mL derişimlerinde sırasıyla % 15, % 30 ve % 45 oranında kanserli hücreleri öldürdüğü tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. ECMM, EMMM, EDKM, EADM, EEDM ve EMDM türlerinin kanserli hücre serisindeki stotoksik aktivitesi

Çalışılan EFDM1, EMVM, EGVM, ESDM, EFDM ve EMTM metanol ekstreleri DLD-1 kanser hücrelerine karşı etkisi Şekil 4.4.'te verilmiştir. EFDM1, EMVM, EGVM, ESDM, EFDM ve EMTM ekstrelerinden DLD-1 kanser hücrelerine karşı stotoksik aktivitesi en yüksek olan EFDM1 ve EMVM ekstreleri olarak belirlenmiştir. Diğer ekstrelerden en yüksek derişim olan 200 µg/mL'de ancak orta derede stotoksik etki gösterirken EFDM1 ve EMVM ekstreleri bahsedilen derişimde sırasıyla yaklaşık % 80 ve % 60 oranında kanserli hücreleri öldürdüğü belirlenmiştir. EFDM1 ekstresi bu ekstrelerden en yüksek stotoksiteye sahip ekstre olarak belirlenmiştir. 12.5 µg/mL'de yaklaşık % 20 civarında kanser hücresini öldüren EFDM1 ekstresinin derişim artıkça doğrusal olarak stotoksik etkinliği artmıştır. 25 µg/mL, 50

µg/mL ve 100 µg/mL derişimlerinde sırasıyla % 60, % 70 ve % 80 oranında kanserli hücreleri öldürdüğü görülmüştür.



Şekil 4.4. $EFDM_1$, EMVM, EGVM, ESDM, EFDM ve EMTM türlerinin kanserli hücre serisindeki stotoksik aktivitesi

4.7. Çalışılan *Euphorbia* Türlerinin Yağ asidi Sonuçları

Toplanan 11 *Euphorbia* türünün petrol eteri ekstrelerinin yağ asidi profili GC-MS ile belirlenmiştir. Bütün ekstrelerin yağ içeriklerinin % 100'ü olarak belirlenmiştir. ECMM ekstresi için ana bileşen olarak linoleik asit (% 40.52), Malatya ilinden toplanan EMMM ekstresi için 17- tetratriaktonen (% 41.03), EDKM ekstresi için 17- tetratriaktonen (% 64.75), EADM ekstresi için 17- tetratriaktonen (% 31.59), EEDM ekstresi için palmitik asit (% 43.83), Diyarbakır ilinden toplanan EMDM ekstresi için palmitik asit (% 39.48), Van ilinden toplanan EMVM ekstresi için linoleik asit (% 53.45), EGVM ekstresi için heksatriasontan (% 52.32), ESDM ekstresi için 17-tetratriaktonen (% 19.86), Trabzon ilinden toplanan EMDM ekstresi için oleik asit (% 15.82) ve EFDM ekstresi için heksatriasontan (% 38.13) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.10.).

Çizelge 4.10. *Euphorbia* türlerinin petrol eteri ekstrelerinin yağ asidi içerikleri

RT	Bileşikler	ECMM	EMMM	EDKM	EADM	EEDM	EMDM	EMVM	EGVM	ESDM	EMTM	EFDM
19.03	Dodecanoic acid (Lauric acid)	-	-	-	-	1.28	-	-	1.26	0.8	0.53	0.94
19.24	Azelaic acid	-	-	-	-	4.08	-	-	1.19	0.98	2.76	1.18
26.83	Myristic acid	-	-	-	-	11.4	10.25	1.23	0.79	4.8	0.71	5.81
30.5	Pentadecanoic acid	-	-	-	-	0.87	-	0.15	0.23	-	-	0.34
34.04	Palmitic acid	19.64	1.54	1.85	13.51	43.83	39.48	9.3	12.85	14.62	11.3	18.72
37.36	Heptadecanoic acid	-	-	-	-	0.82	-	0.15	-	0.37	0.3	-
39.3	9.12-Octadecadienoic acid	8.63	-	-	-	-	-	-	0.64	4.54	7.53	3.92
39.418	Linoleic acid	40.52	0.2	-	-	3.35	-	53.45	0.48	3.15	10.34	3.8
39.611	Oleic acid	12.12	0.35	-	-	4.21	-	10.79	8.93	4.2	15.82	1.77
39.79	Elaidic acid	-	-	-	-	-	-	1.01	-	0.35	2.1	-
40.611	Stearic acid	4.16	0.25	-	1.77	10.43	5.44	2.77	3.89	3.55	7.79	3.37
45.7	Eicosenoic acid	-	-	-	-	-	-	1.76	0.2	0.43	1.95	0.42
46.62	Arachidic acid	-	-	-	-	5.54	3.45	0.73	1.7	4.39	1.39	4.07
51.9	Erucic acid	-	-	-	2.45	-	2.34	0.48	0.26	3.3	0.9	2.19
52.25	Behenic acid	-	-	-	-	1.62	6.02	0.95	1.38	2.76	3.4	3.43
52.672	17- tetratriaktonen	-	41.03	64.75	31.59	12.56	9.52	9.85	3.99	19.86	12.22	1.58
54.016	Heksatriasontan	-	33.03	2.31	8.5	-	16.23	0.05	52.32	18.78	9.68	38.13
55.252	Lanosterol	-	0.71	1.07	3.22	-	1.06	1.38	0.62	0.39	2.11	0.88
55.989	β-Sitosterol	-	11.54	14.69	20.13	-	3.51	0.66	0.85	1.19	0.53	0.68
56.482	17-Pentatriacontene	-	9.76	12.33	18.72	-	-	3.79	8.33	6.93	6.44	4.82
59.615	Tetracosanoic acid	11.28	0.99	0.78	0.11	-	2.71	1.42	0.09	4.6	2.22	39.6

4.8. LC-MS/MS ile 11 Fitokimyasal Maddenin Tanımlanması ve Kantitatif Analizi

Tez çalışmasının bu bölümünde, çalışılan *Euphorbia* türlerinin LC-MS/MS cihazı ile farklı kısımları ayrı ayrı (tohum, kök, dal, yaprak, çiçek ve karışık gibi) metanol çözücüsüyle hazırlanan ekstrelerinin öncelikle major sekonder metabolitlerinin taranması hedeflenmiştir.

LC-MS/MS çalışmasında 11 adet fitokimyasal standart maddenin kalitatif ve kantitatif analizi için çok kapsamlı bir metot hazırlanarak validasyon çalışmaları yapılmıştır.

LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (alıkonma zamanı (RT), ana (parent) iyonlar: standart bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), belirleme katsayısı (R^2), bağıl standart sapma (RSD), belirleme ve tayin alt sınırları (LOD/LOQ (µg/L)), % 95 güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2) (U (%)) Çizelge 4.12.'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. 11 Fitokimyasalın LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler

No	Analitler	RT[a]	Ana iyon (m/z)[b]	Parçalama iyonları	İyon modu	Kalibrasyon denklemi	R^2	Lineer aralığı (µg/L)	LOD/LOQ (µg/L)[e]	(% RSD[d])		Geri Kazanım (%)		U[f]
										Aynı gün	Farklı günler	Aynı gün	Farklı günler	
1	Kinik asit	0.944	190.95	85.25- 93.15	Neg	y=34.5791x+65729.5	0.9951	500-20000	20.88/69.61	0.0011	0.0011	1.0067	1.0035	0.0041
2	Protokateşik asit	1.397	153	109.10- 108.10	Neg	y=1101.00x+59048.1	0.9967	50-2000	2.48/8.28	0.0038	0.0100	0.9959	0.9993	0.0172
3	Rutin	1.399	609.05	271.1	Neg	y=193.476x-32739.8	0.9994	250-10000	19.63/65.45	0.0076	0.0107	0.9974	1.0029	0.0279
4	Hesperidin	1.773	610.95	303.00- 449.00	Poz	y=364.317x-65780.1	0.9999	250-1000	10.91/36.37	0.0046	0.0036	0.9962	0.9973	0.0132
5	Eugenol	2.056	162.6	119.30- 62.15	Neg	y=2330.77x+136202.0	0.9943	25-1000	3.01/10.04	0.0142	0.0148	0.9995	0.9999	0.0270
6	p-Kumarik asit	2.072	162.75	119.30- 93.20	Neg	y=3061.45x+767001.0	0.9947	100-4000	6.62/22.07	0.0069	0.0112	1.0045	0.9995	0.0281
7	Piseatannol	2.564	242.95	159.20- 201.20	Neg	y=896.611x+135143.0	0.9956	100-4000	8.23/27.43	0.0234	0.0230	1.0102	1.0099	0.0422
8	Skopoletin	2.649	190.95	176.05- 104.25	Neg	y=2838.63x+64443.1	0.9995	25-1000	3.81/12.71	0.0191	0.0153	1.0092	1.0050	0.0422
9	Kavain	7.877	230.9	115.10- 153.10	Poz	y=14905.7x+5453.0	0.9999	5-100	0.41/1.36	0.0145	0.0177	1.0065	1.0053	0.0306
10	Krisofanik asit	11.12	252.95	225.10- 182.20	Neg	y=617.568x-12169.4	0.9988	25-1000	0.90/2.98	0.0201	0.0233	1.0006	1.0078	0.0404
11	Resiniferatoksin	11.16	629.05	311.00- 293.00	Poz	y=8815.06x+11367.2	0.9999	5-100	0.34/1.136	0.0181	0.0162	0.9996	1.0004	0.0292

[a]RT: Alıkonma zamanı, [b]Ana iyon(*m/z):*Standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), [c]R^2:Belirleme katsayısı, [d]RSD: Bağıl standart sapma, [e]LOD/LOQ (µg/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, [f]U (%): 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2)

4.9. LC-MS/MS Metod Validasyon Parametreleri

Metodun performans özellikleri standart çözeltiler, standart ekleme (spike) yapılmış ve yapılmamış numunelere uygulanarak belirlenmiştir. Bu amaçla metot validasyonu kapsamında doğrusallık (lineerite), gerçeklik (geri kazanım), kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik), belirleme ve tayin alt sınırı (LOD/LOQ) ile bağıl standart belirsizlik (U= 95% güven seviyesinde (k=2)) parametreleri değerlendirilmiştir. Validasyon çalışmalarına ilişkin parametreler Çizelge 4.11.'de gösterilmiştir

4.9.1. Doğrusallık (Lineerite)

11 adet fitokimyasal standart maddenin kalitatif ve kantitatif analizini gerçekleştirmek için gruplandırma yapılarak 6 farklı konsantrasyon aralığında (Çizelge 4.12.) kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. LC-MS/MS metodundaki standartların lineer aralığının belirlenmesi için 3 tekrarlı 6 noktalı kalibrasyon eğrileri çizilmiştir.
Kalibrasyon eğrilerine ait denklemler ve belirleme katsayıları (R^2) Çizelge 4.11.'de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Standart maddeler için kullanılan kalibrasyon noktalarının konsantrasyonları

Grup	Analitler	Kalib-1	Kalib-2	Kalib-3	Kalib-4	Kalib-5	Kalib-6
1	Hesperidin, Rutin	250	500	1000	2500	5000	10000
2	Kavain, Resiniferatoksin	5	10	20	50	100	200
3	Kinik asit	500	1000	2000	5000	10000	20000
4	Protokateşik asit	50	100	200	500	1000	200
5	Piseatannol, p-Kumarik asit	100	200	400	1000	2000	4000
6	Eugenol, Skopoletin, Krisofanik asit	25	50	100	250	500	1000

Kalibrasyon noktarının konsantrasyonları (µg/L) olarak kullanılmıştır

4.9.2. Gerçeklik (Geri Kazanım) ve Kesinlik (Tekrarlanabilirlik)

Metodun gerçeklik ve kesinlik çalışmaları, seçilen bir *Euphorbia* türü metanol ekstresine aynı günde altı defa ve farklı günler içerisinde (3 farklı günde) altışar defa üç farklı konsantrasyonda (düşük, orta ve yüksek) her standardın kalibrasyonuna göre standart ekleme yapılarak gerçekleştirilmiştir. Aynı gün ve farklı günlerde yapılan çalışmalar sonucunda, gerçeklik ve kesinliği belirlemek üzere geri kazanım ve % RSD

değerleri bulunmuştur (Çizelge 4.11). Ayrıca gerçeklik ve kesinlik çalışmalarına ilişkin veriler Ek 36-68.'de verilmiştir.

4.9.3. Belirleme ve Tayin Alt Sınırları (LOD/LOQ)

LC-MS/MS metodunda kullanılan standartların belirleme (LOD) ve tayin (LOQ) alt sınırlarının tespit edilmesinde analit içermeyen bir ekstreden hazırlanan 10 eş örneğe standardın sinyal verdiği en düşük derişimde standart ekleme yapılarak cihaza enjekte edilmiştir. LOD ve LOQ değerleri aşağıdaki eşitliklere göre hesaplanmıştır (Çizelge 4. 11.).

LOD=Ortalama+3×Standart Sapma

LOQ= Ortalama+10×Standart Sapma

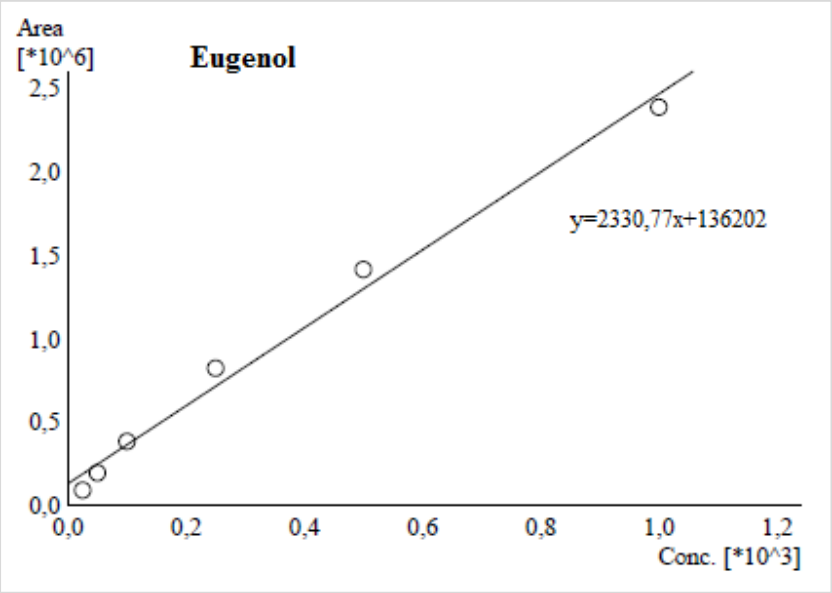
Ayrıca LOD ve LOQ çalışmalarına ilişkin veriler Ek 35.'te verilmiştir.

4.9.4. Bağıl Standart Belirsizlik (U^{95})

Analitlerin standart bağıl belirsizlikleri EURACHEM Guide'a göre gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik çalışmalarıyla belirlenmiştir (EURACHEM CITAC Guide, 2004). Herbir analit için yapılan belirsizlik çalışmalarının detayları Ek 36-68.'de verilmiştir.

4.9.5. LC-MS/MS Metodundaki Analitlerin Kalibrasyon Grafikleri

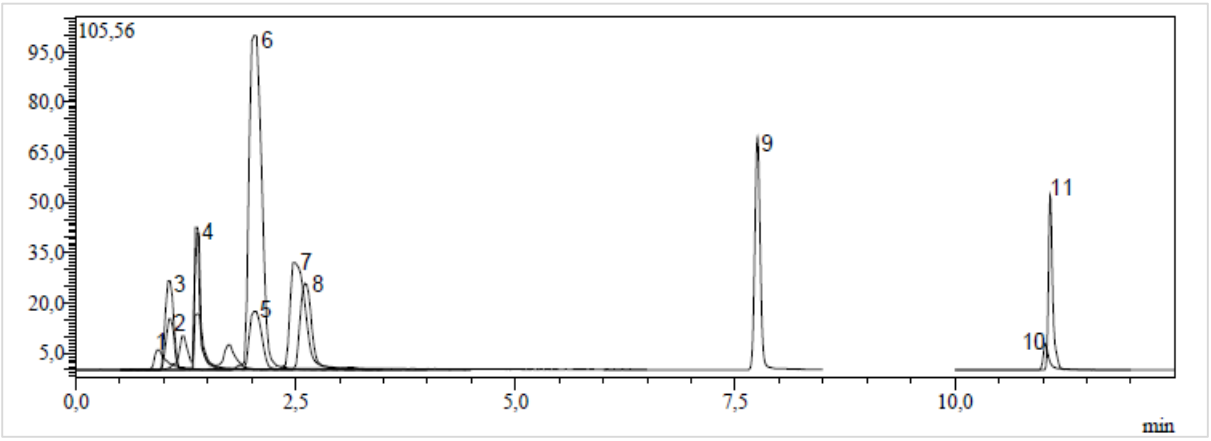
11 adet fitokimyasal standart maddenin LC-MS/MS metodu ile kalitatif ve kantitatif analizini gerçekleştirmek üzere 6 noktalı kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Örnek olarak eugenol fitokimyasalı için kalibrasyon grafiği ve denklemi Şekil 4.5.'te verilmiştir. Kalibrasyon eğrilerine ait diğer grafikler, denklemler ve belirleme katsayıları (R^2) Ek 34.'te verilmiştir.



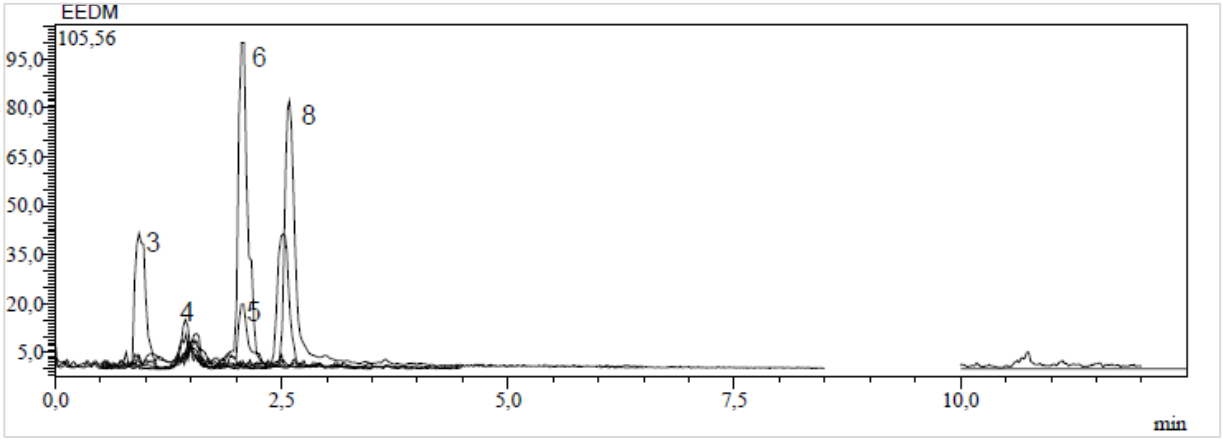
Şekil 4.5. LC-MS/MS metodundaki eugenol analitinin kalibrasyon grafiği

4.9.6. LC-MS/MS Analizine İlişkin Standart ve Numune Kromatogramları

Çalışılan *Euphorbia* türlerinin tohum, kök, dal, yaprak, çiçek ve karışık kısımlarının metanol ekstrelerinin LC-MS/MS metodu ile taranmasına ilişkin standart ve örnek kromatogram Şekil 4.6. ve 4.7.'de diğer kısımlara ait kromatogramlar Ek 69-129.'da verilmiştir. Aşağıda sadece örnek olarak kalibrasyon noktası 5 standartı ve *E. eriophora* karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramları verilmiştir.



Şekil 4.6. Kalibrasyon noktası 5'in standart kromatogramı



Şekil 4.7. *E. eriophora* karışık kısmının metanol ekstresinin standart kromatogramı

4.9.7. LC-MS/MS Metot Validasyon Çalışmaları

Metodun performans özelliklerinin belirlenmesi için kapsamlı validasyon çalışmaları yapılmıştır (Çizelge 4.11.). Bu amaçla metot validasyonu kapsamında doğrusallık (lineerite), gerçeklik (geri kazanım), kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik), belirleme ve tayin alt sınırı (LOD/LOQ) ile bağıl standart belirsizlik (U= % 95 güven seviyesinde (k=2) parametreleri değerlendirilmiştir. Metodun gerçeklik ve kesinlik çalışmaları için seçilen bir tür Trabzon ilinden toplanan *E. macroclada* türü metanol ekstresine aynı günde altı defa ve farklı günler içerisinde (3 farklı günde) altışar defa üç farklı derişimlerde (düşük, orta ve yüksek) her bileşen standartın kalibrasyonuna göre standart ekleme yapılarak gerçekleştirilmiştir. Aynı gün ve farklı günlerde yapılan çalışmalar sonucunda, gerçeklik ve kesinliği belirlemek üzere geri kazanım ve RSD (bağıl standart sapma) değerleri hesaplanmıştır. Standart bileşenlerin belirleme (LOD) ve tayin (LOQ) alt sınırlarının tespit edilmesinde belirlenen bir ekstreden hazırlanan 10 eş örneğe standartın sinyal verdiği en düşük derişimde standart ekleme yapılarak cihaza enjekte edilmiştir. Analitlerin standart bağıl belirsizlikleri (U^{95}) EURACHEM Guide'a göre gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik çalışmalarıyla belirlenmiştir. Validasyon çalışmalarında kullanılan bazı eşitlikler aşağıdaki verilmiştir. Aşağıda sadece eugenol için validasyon çalışmalarının detayları olarak (gerçeklik, kesinlik ve belirsizlik) verilmiştir (Çizelge 4.13.). Diğer fitokimyasallara ilişkin validasyon çalışmalarına ait Çizelgeler Ek 36- 68.'de verilmiştir.

Ortalama ($\overline{x}$)= (x_1+ x_2... x_n)/n

Standart Sapma $\sigma = \sqrt{\frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}(x_i - \bar{x})^2}$

RSD= Standart sapma/Ortalama

Geri Kazanım=100×Bulunan miktar/ standart ekleme yapılan miktar

% Geri Kazanım=Geri kazanım/100

LOD=Ortalama+3×Standart Sapma

LOQ= Ortalama+10×Standart Sapma

Çizelge 4.13. Eugenol için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

Eugenol	Spike Yok	D. spike (25 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (100 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	Y. spike (500 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)
	4.71	29.56	99.63	1.00	104.67	100.02	1.00	500.78	99.23	0.99
	4.58	30.03	101.51	1.02	101.99	97.34	0.97	494.76	98.02	0.98
Aynı Gün	4.56	28.99	97.35	0.97	103.21	98.56	0.99	504.34	99.94	1.00
	4.69	29.79	100.55	1.01	105.67	101.02	1.01	500.12	99.09	0.99
	4.70	30.67	104.07	1.04	104.56	99.91	1.00	510.45	101.16	1.01
	4.68	29.87	100.87	1.01	104.99	100.34	1.00	507.23	100.52	1.01
Ort.	4.65	29.82	100.66	1.01	104.18	99.53	1.00	502.95	99.66	1.00
Std	0.066	0.553	2.210	0.022	1.341	1.341	0.013	5.591	1.118	0.011
RSD	0.014	0.019	0.022	0.022	0.013	0.013	0.013	0.011	0.011	0.011
	4.67	29.09	97.68	0.98	101.34	96.67	0.97	499.67	99.00	0.99
	4.60	30.31	102.56	1.03	103.67	99.00	0.99	498.98	98.86	0.99
F. Günler (1)	4.68	29.89	100.88	1.01	105.76	101.09	1.01	500.34	99.13	0.99
	4.70	29.54	99.48	0.99	106.43	101.76	1.02	512.67	101.60	1.02
	4.67	28.98	97.24	0.97	105.78	101.11	1.01	510.54	101.17	1.01
	4.65	29.99	101.28	1.01	105.34	100.67	1.01	498.45	98.76	0.99
	4.70	30.12	101.80	1.02	101.57	96.90	0.97	498.23	98.71	0.99
	4.69	30.09	101.68	1.02	103.56	98.89	0.99	490.45	97.16	0.97
F. Günler (2)	4.66	29.89	100.88	1.01	104.76	100.09	1.00	503.34	99.73	1.00
	4.64	29.86	100.76	1.01	103.54	98.87	0.99	505.38	100.14	1.00
	4.68	29.99	101.28	1.01	107.21	102.54	1.03	502.65	99.60	1.00
	4.66	30.43	103.04	1.03	107.56	102.89	1.03	499.88	99.04	0.99
	4.72	29.78	100.44	1.00	105.43	100.76	1.01	490.56	97.18	0.97
F. Günler (3)	4.69	28.99	97.28	0.97	106.54	101.87	1.02	496.89	98.44	0.98
	4.66	29.89	100.88	1.01	104.78	100.11	1.00	494.77	98.02	0.98
	4.67	30.33	102.64	1.03	106.56	101.89	1.02	496.67	98.40	0.98
	4.64	30.23	102.24	1.02	103.45	98.78	0.99	498.78	98.82	0.99
	4.69	29.58	99.64	1.00	103.65	98.98	0.99	510.56	101.18	1.01
F.G.Ort.	4.67	29.83	100.65	1.01	104.83	100.16	1.00	500.49	99.16	0.99
F.G.Std	0.028	0.443	1.773	0.018	1.794	1.794	0.018	6.243	1.249	0.012
F.G.RSD	0.006	0.015	0.018	0.018	0.017	0.018	0.018	0.012	0.013	0.013
Gen.Ort	4.67	29.83	100.65	1.0065	104.67	100.00	1.0000	501.10	99.29	0.9929
Gen.Std	0.0395	0.4600	1.8399	0.0184	1.6889	1.6876	0.0169	6.0654	1.2133	0.0121
Gen.RSD	0.0085	0.0154	0.0183	0.0183	0.0161	0.0169	0.0169	0.0121	0.0122	0.0122
RSD (Pool)		0.013384								

RSD: bağıl standart sapma, Ort.: ortalama, Std.:standart sapma

Çizelge 4.14. Eugenol için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışmaları

Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % Geri Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	25	1.0065	0.4600	0.0184	0.0154	24
Eugenol	100	1.0000	1.6889	0.0169	0.0161	24
	500	0.9929	6.0654	0.0121	0.0121	24
Ort		0.9998		0.0158	0.0146	n=72
				karakök n:		8.485281
				Standard belirsizlik:		0.001862

Çizelge 4.15. Eugenol için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.013384 (RSD_{Pool})	0.013384 (c) (RSD_{Pool}/1)
Bias	0.999800 (a) Ortalama % G. Kazanım	0.001862 (b) Standart Belirsizlik	0.001862 (b/a)
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.013513 (Karekök (c^2+d^2))
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.027026 (2xe)

4.10. Metanol Ekstrelerinin LC-MS/MS ile Kantitatif Analizinin İncelenmesi

Dokuz farklı *Euphorbia* türünün fitokimyasal madde içeriklerini kalitatif ve kantitatif olarak, analizlerini LC-MS/MS cihazı ile metot validasyon çalışmaları yapılarak belirlenmiştir *Euphorbia* türleri incelendiğinde genel olarak fenolik asit içerikleri bakımından zengin olduğu görülmektedir. Fakat çalıştığımız türlerin genel olarak çalışılan fenolik bileşikler bakımından fakir olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan *Euphorbia* türlerinin tohum, kök, dal, yaprak, çiçek ve karışık kısımlarının metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizine ilişkin sonuçlar aşağıda değerlendirilmiştir. Verilen sonuç miktarları µg analit/g ekstre cinsindendir. Fitokimyasal bileşiklerin kantitatif sonuçları Çizelge 4.16. ve 4.17.'de verilmiştir.

E. craspedia'nın bütün ekstrelerinde kinik asit miktarı en yüksek olarak bulunmuştur. Bu türde protokateşik asit miktarı ECMS ekstresinde en fazla olarak tespit edilmiş ve türün diğer ekstrelerinde protokateşik asit miktarı dedeksiyon limitinin altında kalmıştır. Rutin bileşiği ise türün ECML ve ECMM ekstrelerinde daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.16.).

E. denticulata türü incelendiğinde; kinik asit, türün tüm ekstrelerinde, rutin, hesperidin, protokateşik asit, eugenol ve *p*-kumarik asit EDKL ekstresinde, skopoletin ise EDKR ve EDKB ekstrelerinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan diğer bileşikler (pisetannol, kavain, krisofanik asit ve resiniferatoksin) yapılan metod çalışmasında belirlenen gözlenebilir sınırının altında kalmıştır (Çizelge 4.16.).

E. aleppica türü incelendiğinde; kinik asitin EADS ve EADL1 ekstrelerinde, eugenol, p-kumarik asitin EADL ekstresinde ve skopoletin ise türün EADB ekstresinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan diğer bileşikler (protokateşik asit, pisetannol, kavain, rutin, hesperidin, krisofanik asit ve resiniferatoksin) yapılan metod çalışmasında belirlenen gözlenebilir sınırının altında kalmıştır (Çizelge 4.16.).

E. eriophora türüne bakıldığında; kinik asit EEDF ve EEDM ekstrelerinde, eugenol ve *p*-kumarik asit EEDB ekstresinde fazla olduğu belirlenmiştir. Pisetannol, kavain, rutin, hesperidin, krisofanik asit ve resiniferatoksin fitokimyasalları ise geliştirilen metotta dedeksiyon limitinin altında kalmıştır (Çizelge 4.16.).

E. grisophylla türüne bakıldığında; rutin, eugenol, hesperidin, kinik asit EGVL ekstresinde, *p*-kumarik asit EGVS ekstresinde ve skopoletin ise EGVR ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan diğer fitokimyasal bileşikler dedeksiyon limitinin altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır (Çizelge 4.16.).

E. seguieriana türü incelendiğinde; kinik asit türün tüm ekstrelerinde, protokateşik ve *p*-kumarik asit ESDF ekstresinde, rutin ve hesperidin ESDM ekstresinde, eugenol ve kavain ESDR ekstesinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Pisetannol, kavain, krisofanik asit ve resiniferatoksin fitokimyasalları ise geliştirilen metotta dedeksiyon limitinin altında kalmıştır (Çizelge 4.16.).

E. fistulosa türü incelendiğinde; kinik asit, skopoletin, eugenol ve protokateşik asit EFDF ekstresinde, rutin ve hesperidin EFDL ekstresinde ve *p*-kumarik asit ise EFDM ekstresinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Pisetannol, kavain, krisofanik asit ve resiniferatoksin fitokimyasalları ise geliştirilen metotta dedeksiyon limitinin altında kalmıştır (Çizelge 4.16.).

Çizelge 4.16. *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi

Örnekler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ECMS	11500	151	N.D.	N.D.	14	51	N.D.	7.8	N.D.	N.D.	N.D.
ECMR	6324	N.D.	N.D.	N.D.	5.6	N.D.	N.D.	47.8	N.D.	N.D.	N.D.
ECMB	844	N.D.	N.D.	N.D.	11.5	20.48	N.D.	67	N.D.	N.D.	N.D.
ECML	13287	28.98	N.D.	N.D.	4.4	65	N.D.	32.9	N.D.	N.D.	N.D.
ECMF	5999	113	N.D.	27.60	N.D.	20.38	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ECMM	12701	60	N.D.	N.D.	4.9	49.09	N.D.	20.3	N.D.	N.D.	N.D.
EDKS	15348	30.15	607	1407	N.D.	74	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EDKR	110	N.D.	3.09	N.D.	11.7	50.87	N.D.	136	N.D.	N.D.	N.D.
EDKB	60	N.D.	61	207	8.4	31.51	N.D.	283	N.D.	N.D.	N.D.
EDKL	1410	79	2303	3205	21.3	112	N.D.	121	N.D.	N.D.	N.D.
EDKF	14967	42.30	509	1206	7.6	100	N.D.	73	N.D.	N.D.	N.D.
EDKM	935	N.D.	224	609	8.8	60	N.D.	61	N.D.	N.D.	N.D.
EADR	80	N.D.	N.D.	N.D.	13.8	37.07	N.D.	682	N.D.	N.D.	N.D.
EADB	50.20	N.D.	N.D.	N.D.	5.7	35.02	N.D.	386	N.D.	N.D.	N.D.
EADL	901	N.D.	N.D.	N.D.	22.4	126	N.D.	117	N.D.	N.D.	N.D.
EADL1	168	N.D.	N.D.	N.D.	8.9	62	N.D.	47.9	N.D.	N.D.	N.D.
EADM	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	9.6	40.22	N.D.	277	N.D.	N.D.	N.D.
EEDR	323	N.D.	N.D.	N.D.	28.7	120	N.D.	266	N.D.	N.D.	N.D.
EEDB	582	40.89	N.D.	N.D.	35.7	154	N.D.	174	N.D.	N.D.	N.D.
EEDF	1076	30.01	N.D.	N.D.	15.6	64	N.D.	37.9	N.D.	N.D.	N.D.
EEDF1	136	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	20.66	N.D.	9.9	N.D.	N.D.	N.D.
EEDM	81	N.D.	N.D.	N.D.	26.6	27.46	N.D.	74	N.D.	N.D.	N.D.
EFDM1	968	N.D.	241	696	22.9	70	N.D.	145	N.D.	N.D.	N.D.
EGVS	825	250	256	481	8.7	129	N.D.	11.9	N.D.	N.D.	N.D.
EGVR	N.D.	50.16	N.D.	N.D.	6.3	47.90	N.D.	400	N.D.	N.D.	N.D.
EGVB	60.09	136	64	172	8.3	71	N.D.	69	N.D.	N.D.	N.D.
EGVL	8080	120	295	503	8.7	49.22	N.D.	8.9	N.D.	N.D.	N.D.
EGVM	2908	160	167	362	8.1	61	N.D.	43.8	N.D.	N.D.	N.D.
ESDS	11986	33.43	22.56	58	10.8	34.93	N.D.	64	N.D.	N.D.	N.D.
ESDR	55	N.D.	N.D.	39.02	17.5	50.36	N.D.	495	N.D.	N.D.	N.D.
ESDB	139	26.03	33.92	91	10.1	30.88	N.D.	181	N.D.	N.D.	N.D.
ESDL	130	N.D.	24.05	66	N.D.	29.29	N.D.	29.4	N.D.	N.D.	N.D.
ESDF	5674	45.30	37.15	120	13.7	80	N.D.	40.1	N.D.	N.D.	N.D.
ESDM	705	N.D.	56	139	14.3	63	N.D.	189	N.D.	N.D.	N.D.
EFDR	1325	26.59	N.D.	N.D.	7.6	29.40	N.D.	47.7	N.D.	1.19	N.D.
EFDB	2037	27.03	N.D.	N.D.	14.5	29.83	N.D.	26.7	N.D.	N.D.	N.D.
EFDL	13883	235	40.43	55	10.3	29.02	N.D.	22.2	N.D.	N.D.	N.D.
EFDF	27074	361	N.D.	N.D.	14.3	29.46	N.D.	314	N.D.	N.D.	N.D.
EFDM	8753	168	42.33	45.02	8.8	43.78	N.D.	97	N.D.	N.D.	N.D.

Fitokimyasal bileşikler numaralarla belirtilmiştir. 1: Kinik asit, 2: Protokateşik asit, 3:Rutin, 4: Hesperidin, 5: Eugenol, 6: p-Kumarik asit, 7: Pisetannol, 8: Skopoletin, 9: Kavain, 10: Krisofanik asit, 11: Resiniferatoksin

Malatya ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; rutin, hesperidin ve kinik asit EMML ekstresinde, protokateşik asit, *p*-kumarik asit ve skopoletin EMMF ekstresinde, daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Pisetannol, kavain, krisofanik asit ve resiniferatoksin bileşiklerinin miktarları dedeksiyon limitinin altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır. Ayrıca türün tüm ekstrelerinde skopoletin fitokimyasalı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.17.).

Diyarbakır ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; kinik asit, protokateşik asit, rutin, hesperidin, eugenol ve *p*-kumarik asit EMDS ekstresinde, skopoletin ise türün EMDR ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan diğer fitokimyasal bileşikler pisetannol, kavain, krisofanik asit ve resiniferatoksin miktarları dedeksiyon limitinin altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır. Bu türe genel olarak bakıldığında fitokimyasal bileşenlerin EMDS ekstresinde daha fazla olduğu görülmektedir (Çizelge 4.17.).

Van ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; kinik asit ve protokateşik asit EMVF ekstresinde, eugenol ve *p*-kumarik EMVL ekstresinde skopoletin ise türün EMVR ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir Çalışılan diğer fitokimyasal bileşikler rutin, hesperidin, pisetannol, kavain, krisofanik asit ve resiniferatoksin miktarları dedeksiyon limitinin altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır (Çizelge 4.17.).

Trabzon ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; kinik asit EMTM ekstresinde, *p*-kumarik asit ve protokateşik asit EMTL ekstresinde, skopoletin ise EMTR ekstresinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Çalışılan diğer fitokimyasal bileşikler rutin, hesperidin, pisetannol, kavain, krisofanik asit ve resiniferatoksin miktarları dedeksiyon limitinin altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır (Çizelge 4.17.).

Çizelge 4.17. *E. macroclada* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi

Örnekler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
EMMR	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D	48.6	N.D	N.D	N.D
EMMB	N.D	27.13	N.D	N.D	5.5	N.D	N.D	37.9	N.D	N.D	N.D
EMML	4460	N.D	95	214	8.6	33.70	N.D	44.8	N.D	N.D	N.D
EMMF	110	160	N.D.	N.D.	25.5	205	N.D	473	N.D	N.D	N.D
EMMM	110	99	34.90	123	10.2	35.65	N.D	112	N.D	N.D	N.D
EMDS	26467	139	1113	1736	28.6	331	N.D	45.1	N.D	N.D	N.D
EMDR	N.D.	46.04	N.D	34.37	5.5	43.83	N.D	342	N.D	N.D	N.D
EMDB	451	27.07	40.29	97	15.5	117	N.D	291	N.D	N.D	N.D
EMDL	1801	N.D	412	887	10.5	63	N.D	11.9	N.D	N.D	N.D
EMDM	3830	31.87	400	840	6.7	134	N.D	39.4	N.D	N.D	N.D
EMVS	1665	N.D	N.D	N.D	13.8	50.72	N.D	121	N.D	N.D	N.D
EMVR	29.04	N.D	N.D	N.D	3.7	N.D	N.D	444	N.D	N.D	N.D
EMVB	71	N.D	N.D	N.D	20.1	63	N.D	256	N.D	N.D	N.D
EMVL	32.07	39.20	N.D	N.D	49.4	275	N.D	113	N.D	N.D	N.D
EMVF	2700	128	N.D	N.D	15.9	106	N.D	154	N.D	N.D	N.D
EMVM	58	66	N.D	N.D	24.4	84	N.D	183	N.D	N.D	N.D
EMTS	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.	52	N.D	12.3	N.D	N.D	N.D
EMTR	N.D	N.D	N.D	N.D	3.3	58	N.D	338	N.D	N.D	N.D
EMTB	20.50	28.89	N.D	N.D	4.9	121	N.D	86	N.D	N.D	N.D
EMTL	985	86	N.D	N.D	N.D.	415	N.D	30.4	N.D	N.D	N.D
EMTF	30.20	N.D	N.D	N.D	4.7	90	N.D	39.6	N.D	N.D	N.D
EMTM	8735	62	N.D	N.D	4.2	50.98	N.D	59	N.D	N.D	N.D

Fitokimyasal bileşikler numaralarla belirtilmiştir. 1: Kinik asit, 2: Protokateşik asit, 3:Rutin, 4: Hesperidin, 5: Eugenol, 6: p-Kumarik asit, 7: Pisetannol, 8: Skopoletin, 9: Kavain, 10: Krisofanik asit, 11: Resiniferatoksin

4.11. LC-MS/MS ile 27 Fitokimyasal Maddenin Metot Validasyon Parametreleri

Yapılan LC-MS/MS taramasında 27 adet fitokimyasal standart maddenin kantitatif analizi için çok kapsamlı bir metot hazırlanarak validasyon çalışmaları daha önce grubumuz tarafından yapılmıştır. LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler (alıkonma zamanı (RT), ana (parent) iyonlar, standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), belirleme katsayısı (R^2), bağıl standart sapma (RSD), belirleme ve tayin alt sınırları (LOD/LOQ (µg/L)), % 95 güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2) (U (%)) Çizelge 4.18.'de verilmiştir (Ertaş ve ark. 2014)

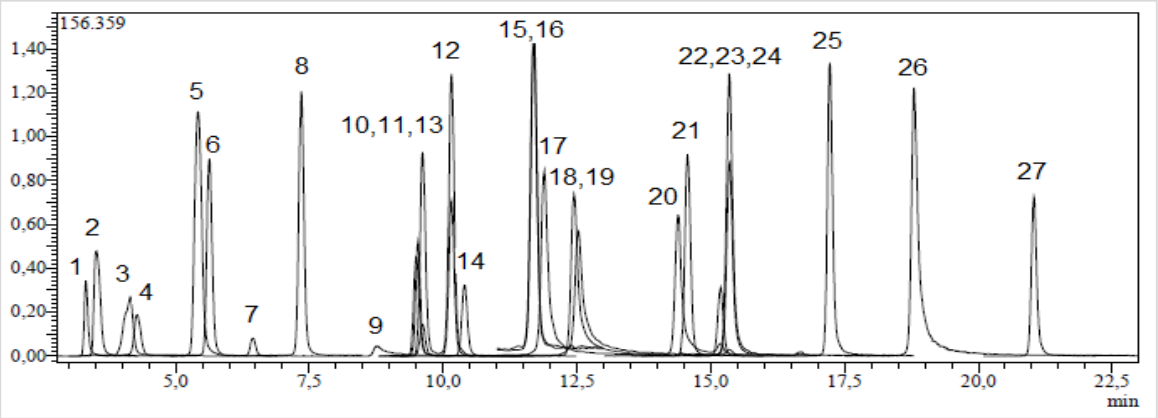
Çizelge 4.18. 27 Fitokimyasal maddenin LC-MS/MS analiz metoduna ait analitik parametreler

No	Analytes	RT[a]	Ana iyon (m/z)[b]	İyon modu	R^{2c}	Lineer aralık	LOD/LOQ (µg/L)e	G. Kazanım (%)	RSD (%)d	Uf
1	Kinik asit	3.32	190.95	Neg	0.993	250-10000	22.3 / 74.5	103.3	0.04	4.8
2	Malik asit	3.54	133.05	Neg	0.998	250-10000	19.2 / 64.1	101.4	0.12	5.3
3	tr-Akonitik asit	4.13	172.85	Neg	0.993	250-10000	15.6 / 51.9	102.8	0.39	4.9
4	Gallik asit	4.29	169.05	Neg	0.990	25-1000	4.8 / 15.9	102.3	0.47	5.1
5	Klorojenik asit	5.43	353	Neg	0.993	250-10000	7.3 / 24.3	99.7	0.19	4.9
6	Protokateşik asit	5.63	152.95	Neg	0.999	100-4000	25.8 / 85.9	100.2	0.60	5.1
7	Tannik asit	6.46	182.95	Neg	0.996	100-4000	10.2 / 34.2	97.8	0.91	5.1
8	tr- Kafeik asit	7.37	178.95	Neg	0.994	25-1000	4.4 / 14.7	98.6	1.01	5.2
9	Vanilin	8.77	151.05	Neg	0.999	250-10000	10.1 / 33.7	99.2	0.41	4.9
10	p-Kumarik asit	9.53	162.95	Neg	0.991	100-4000	15.2 / 50.8	98.4	1.14	5.1
11	Rozmarinik asit	9.57	358.9	Neg	0.999	250-10000	10.4 / 34.8	101.7	0.52	4.9
12	Rutin	10.2	609.1	Neg	0.997	250-10000	17.0 / 56.6	102.2	0.81	5.0
13	Hesperidin	9.69	611.1	Poz	0.997	250-10000	21.6 / 71.9	100.2	0.14	4.9
14	Hiperosid	10.4	463.1	Neg	0.955	100-4000	12.4 / 41.4	98.5	0.21	4.9
15	4-OH benzoik asit	11.7	136.95	Neg	0.993	25-1000	3.0 / 10.0	106.2	1.40	5.2
16	Salisilik asit	11.7	136.95	Neg	0.990	25-1000	4 / 13.3	106.2	0.66	5.0
17	Mirisetin	11.9	317	Neg	0.999	100-4000	9.9 / 32.9	106	2.82	5.9
18	Fisetin	12.6	284.95	Neg	0.999	100-4000	10.7 / 35.6	96.9	2.43	5.5
19	Kumarin	12.5	146.95	Poz	0.992	100-4000	9.1 / 30.4	104.4	0.42	4.9
20	Kersetin	14.5	300.9	Neg	0.999	25-1000	2.0 / 6.8	98.9	4.31	7.1
21	Naringenin	14.7	270.95	Neg	0.996	25-1000	2.6 / 8.8	97	2.02	5.5
22	Hesperetin	15.3	300.95	Neg	0.996	25-1000	3.3/ 11.0	102.4	1.02	5.3
23	Luteolin	15.4	284.95	Neg	0.999	25-1000	5.8 / 19.4	105.4	3.95	6.9
24	Kemferol	15.4	284.95	Neg	0.992	25-1000	2.0 / 6.6	99.1	0.59	5.2
25	Apigenin	17.3	268.95	Neg	0.995	25-1000	0.1 / 0.3	98.9	0.68	5.3
26	Rhamnetin	18.9	314.95	Neg	0.999	25-1000	0.2 / 0.7	100.8	2.57	6.1
27	Krisin	21.2	253	Neg	0.997	25-1000	0.05 / 0.17	102.2	1.55	5.3

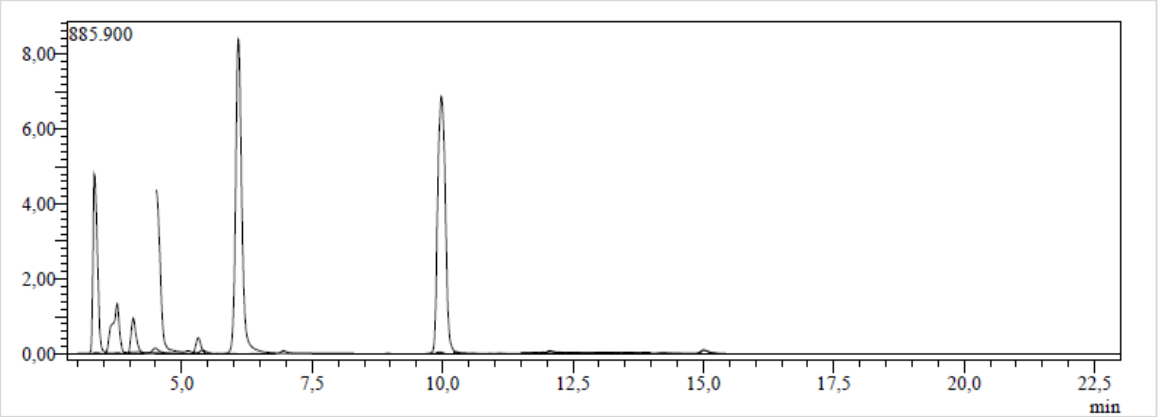
[a]RT: Alıkonma zamanı, [b]Ana iyon(*m/z)*:Standard bileşiklerin moleküler iyonları (m/z oranı), [c]R^2:Belirleme katsayısı, [d]RSD: Bağıl standart sapma, [e]LOD/LOQ (µg/L): Belirleme sınırı/Tayin sınırı, [f]U (%): 95% güven seviyesinde bağıl standart belirsizlik (k=2) (Ertaş ve ark. 2014).

4.11.1. LC-MS/MS ile 27 Fitokimyasal Maddenin Analizine İlişkin Örnek Standart ve Numune Kromatogramları

Çalışılan *Euphorbia* türlerinin tohum, kök, dal, yaprak, çiçek ve karışık kısımlarının metanol ekstrelerinin LC-MS/MS metodu ile taranmasına ilişkin örnek kromatogramlar Şekil 4.8 - 4.9.'da verilmiştir. Aşağıda sadece örnek olarak kalibrasyon noktası 5 standartı ve Trabzon'dan toplanan *E macroclada* yaprak kısmının metanol ekstresinin standart kromatogramları verilmiştir.



Şekil 4.8. 27 Fitokimyasal maddenin UHPLC-ESI-MS/MS kalibrasyon noktası 5'in standart kromatogramı



Şekil 4.9. Trabzon'dan toplanan *E macroclada* yaprak kısmının metanol ekstresinin standart kromatogramı

4.11.2. LC-MS/MS ile 27 Fitokimyasal Maddenin Kantitatif Analiz Sonuçları

Oniki *Euphorbia* türünün fitokimyasal madde içeriklerini nicel olarak, analizlerini LC-MS/MS cihazı ile belirlenmiştir (Ertaş ve ark. 2014). Çalışılan türlerin metanol ekstreleri analiz edilmiştir ve içerdikleri fitokimyasal bileşiklerin kantitatif

sonuçları Çizelge 4.20- 4.25.'te verilmiştir. Verilen sonuç miktarları µg analit/g ekstre cinsindendir.

E. craspedia türü incelendiğinde; tüm ekstrelerde kinik, malik ve tannik asit miktarları en yüksek olarak bulunmuştur. Bu türün protokateşik asit miktarı ECMS ekstresinde en fazla olarak tespit edilmiştir. Gallik ve klorojenik asit miktarı türün ECML ekstresinde ve vanilin ise ECMB ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. tr-akonitik ve tr-kafeik asit fitokimyasalları dedeksiyon limitinin anltında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır (Çizelge 4.19.).

E. denticulata türü incelendiğinde; kinik asit ve tannik asit, türün tüm ekstrelerde, tr-akotinik asit ve vanilin EDKF ekstresinde, gallik ve protokateşik asit EDKL ekstresinde malik asit ise EDKS ekstresinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.19.).

E. aleppica türü incelendiğinde; kinik ve gallik asit EDKL ekstresinde, tr-akonitik ve malik asit EDKR ekstresinde, vanilin EDKM ekstresinde ve tannik asit ise türün tüm ekstrelerinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Klorojenik, protokateşik ve tr-kafeik asit bileşikleri geliştirilen metot'ta gözlenebilme sınırının altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır (Çizelge 4.19.) .

E. eriophora türüne bakıldığında; kinik, malik, gallik ve tannik asit fitokimyasalları türün tüm ekstrelerinde (EEDR, EEDB, EEDL, EEDF ve EEDM) bulunmaktadır. tr-Akonitik ve protokateşik asit türün EEDL ekstresinde, vanilin ise EEDF ekstresinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Klorojenik ve tr-kafeik asit fitokimyasalları dedeksiyon limitinin altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır (Çizelge 4.19.).

E. grisophylla türüne bakıldığında; kinik, klorojenik, malik ve tr-kafeik asit türün EGVL ekstresinde, tr-akonitik asit EGVB ekstresinde, vanilin ise EGVM ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Gallik ve tannik asit fitokimyasalları türün tüm ekstrelerinde bulunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.19.).

E. seguieriana türü incelendiğinde; kinik, malik ve tannik asit türün tüm ekstrelerinde tayin edilmiş olup ve en yüksek olarak ESDS ve ESDM ekstrelerinde belirlenmiştir. Diğer fitokimyasallar açısından tr-akonitik asit ESDM ekstresinde, gallik asit ESDL ekstresinde, protokateşik asit ESDF ekstresinde, vanilin ise ESDS

ekstresinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. tr-Akonitik ve klorojenik asit belirlenen metotta gözlenebilme sınırının altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır (Çizelge 4.19.).

E. fistulosa türü incelendiğinde; kinik, malik, protokateşik ve tr-akonitik asit miktarları EFDF ekstresinde, klorojenik asit, EFDM ekstresinde, gallik, tannik, tr-kafeik asit ve vanilin ise EFDL ekstresinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kinik ve malik asit türün tüm ekstrelerinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.19.).

E. falcata türü incelendiğinde; vanilin, kinik, malik, gallik ve tannik asit fitokimyasallarının bulunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.19.).

Çizelge 4.19. *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi

Örnekler	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ECMS	11579	7300	N.D	7.85	N.D	150	191	N.D	N.D
ECMR	6359	6405	N.D	19.21	N.D	N.D	1105	N.D	N.D
ECMB	864	139	N.D	N.D	N.D	N.D	352	N.D	12.32
ECML	13387	2215	N.D	52	8.69	38.98	1842	N.D	N.D
ECMF	59120	565	N.D	24.08	A.D	133	1504	N.D	10.73
ECMM	12740	1854	N.D	30.63	8.63	66	990	N.D	8.90
EDKS	15338	15631	N.D	89	N.D	31.05	11494	N.D	14.27
EDKR	100	114	N.D	44.43	N.D	N.D	4809	N.D	N.D
EDKB	67	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	1412	N.D	16.28
EDKL	1431	6608	25.86	244	N.D	73	34126	N.D	13.36
EDKF	14920	7088	37.14	125	N.D	46.37	22691	N.D	17.75
EDKM	935	808	12.89	37.05	N.D	23.90	7467	N.D	12.87
EADR	85	11851	161	N.D	N.D	N.D	1030	N.D	N.D
EADB	55	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	5595	N.D	11.47
EADL	931	1908	N.D	96	N.D	N.D	43201	N.D	11.41
EADL1	167	2543	N.D	28.56	N.D	N.D	22516	N.D	A.D
EADM	46.76	144	N.D	8.91	N.D	N.D	15062	N.D	14.95
EEDR	313	24723	109	9.17	N.D	N.D	5877	N.D	15.20
EEDB	586	8093	251	101	N.D	42.99	92102	N.D	N.D
EEDL	1096	472	50.49	388	N.D	33.06	141907	N.D	21.02
EEDL1	156	45.35	122	18.27	N.D	N.D	11184	N.D	13.38
EEDM	81	46.4	N.D	57	N.D	N.D	60294	N.D	11.92
EFDM1	966	1101	N.D	36.98	N.D	N.D	7396	N.D	16.89
EGVS	836	N.D	N.D	134	N.D	260	27503	5.01	12.34
EGVR	N.D	N.D	N.D	197	N.D	55	11867	N.D	N.D
EGVB	61	N.D	17.86	26.47	N.D	146	2984	5.85	N.D
EGVL	8090	212	N.D	128	45.11	128	17501	16.27	N.D
EGVM	2968	28.94	N.D	108	8.64	152	5942	6.42	23.21
ESDS	11996	17442	N.D	17.34	N.D	34.54	2379	N.D	15.53
ESDR	58	7794	50.30	36.89	N.D	N.D	4669	N.D	N.D
ESDB	109	1097	35.37	N.D	N.D	26.43	1855	N.D	N.D
ESDL	131	20.79	29.87	66	N.D	A.D	23033	N.D	13.28
ESDF	5714	4197	27.37	34.07	N.D	46.39	9369	N.D	12.63
ESDM	702	6846	55	49.93	N.D	N.D	22242	N.D	11.93
EFDR	1310	5684	N.D	330	N.D	27.59	11011	N.D	15.28
EFDB	2057	2553	N.D	78	N.D	27.63	6663	N.D	11.21
EFDL	13762	900	112	376	28.97	256	44338	9.84	18.23
EFDF	27094	20065	132	232	19.18	369	29166	6.42	N.D
EFDM	8736	770	45.87	186	42.42	188	31894	N.D	15.86

27'lik fitokimyasal bileşikler numaralarla belirtilmiştir. 1: Kinik asit, 2: Malik asit, 3:tr-Akonitik asit, 4: Gallik asit, 5: Klorojenik asit, 6: Protokateşik asit, 7: Tannik asit, 8: tr- Kafeik asit, 9: Vanilin

E. craspedia türü incelendiğinde; p-kumarik asit ECML ekstresinde, hesperidin ve hiperosid ECMF ekstresinde, 4-hidroksibenzoik asit ve salisilik asit ECMS ekstresinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Rozmarinik asit, rutin, mirisetin ve fisetin fitokimyasalları dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir. (Çizelge 4.20.).

E. denticulata türü incelendiğinde; p-kumarik asit, rutin, hesperidin, hiperosid ve mirisetin EDKL ekstresinde, 4-hidroksibenzoik asit ve salisilik asit EDKS ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Fisetin ve rozmarinik asit fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.20.).

E. aleppica türü incelendiğinde; p-kumarik asit, hperosid ve 4-hidroksibenzoik asit EADL ekstresinde, salisilik asit ise EADS ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Fisetin, rutin, hesperidin, mirisetin ve rozmarinik asit fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir. Bu türün genel olrak EADL ekstresinde daha fazla fitokimyasal bileşen içerdiği belirlenmiştir. (Çizelge 4.20.).

E. eriophora türüne bakıldığında; p-kumarik asit EEDR ekstresinde, rozmarinik asit, 4-hidroksibenzoik asit ve salisilik asit EEDB ekstresinde, hiperosid ise EEDF ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Rutin, hesperidin ve fisetin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.20.).

E. grisophylla türüne bakıldığında; p-kumarik asit, rutin, hesperidin ve 4-hidroksibenzoik asit EGVS ekstresinde, hiperosid ise EGVL ekstresinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Rozmarinik asit, salisilik asit, mirisetin ve fisetin ise fitokimyasalları dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.20).

E. seguieriana türü incelendiğinde; p-kumarik asit, rutin, hesperidin, hiperosid, salisilik asit ve 4-hidroksibenzoik asit ESDF ekstresinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Rozmarinik asit, mirisetin ve fisetin fitokimyasalları ise belirlenen metod'da gözlenebilme sınırının altında kaldığında miktarsal tayinleri yapılamamıştır (Çizelge 4.20.).

E. fistulosa türü incelendiğinde; p-kumarik asit, 4-hidroksibenzoik asit ve salisilik asit EFDF ekstresinde, rutin, hesperidin ve hiperosid EFDL ekstresinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Rozmarinik asit, mirisetin ve fisetin fitokimyasalları ise belirlenen metod'da gözlenebilme sınırının altında kaldığında miktarsal tayinleri yapılamamıştır (Çizelge 4.20.)

Çizelge 4.20. *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi

Örnekler	10	11	12	13	14	15	16	17	18
ECMS	61	N.D.	N.D	N.D.	42.09	15.02	15.57	N.D	N.D.
ECMR	N.D	N.D.	N.D	N.D.	14.93	N.D	N.D	N.D	N.D.
ECMB	22.48	N.D.	N.D	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.
ECML	65	N.D.	N.D	N.D.	30.40	N.D	4.40	N.D	N.D.
ECMF	23.38	N.D.	N.D	28.50	81	N.D	N.D	N.D	N.D.
ECMM	40.89	N.D.	N.D	N.D	21.05	N.D	5.85	N.D	N.D.
EDKS	73	N.D.	626	1418	1961	32.38	29.93	N.D	N.D.
EDKR	56	N.D.	3.89	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.
EDKB	34.61	N.D.	68	236	100	7.61	N.D	N.D	N.D.
EDKL	132	N.D.	2404	3255	2853	29.45	28.21	215	N.D.
EDKF	120	N.D.	570	1245	1534	31.29	29.19	64	N.D.
EDKM	69	N.D.	255	604	619	4.72	N.D	58	N.D.
EADR	37.07	N.D.	N.D	N.D.	N.D	5.74	4.96	N.D	N.D.
EADB	25.32	N.D.	N.D	N.D.	N.D	N.D	4.24	N.D	N.D.
EADL	116	N.D.	N.D	N.D.	20.17	5.29	N.D	N.D	N.D.
EADL1	62	N.D.	N.D	N.D.	N.D	5.72	N.D	N.D	N.D.
EADM	44.22	N.D.	N.D	N.D.	N.D	3.51	N.D	N.D	N.D.
EEDR	110	N.D.	N.D	N.D.	N.D	5.05	N.D	N.D	N.D.
EEDB	175	62	N.D	N.D.	N.D	14.90	13.27	N.D	N.D.
EEDL	63	N.D.	N.D	N.D.	323	3.15	5.46	47.39	N.D.
EEDL1	22.96	N.D.	N.D	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.
EEDM	37.49	N.D.	N.D	N.D.	40.15	N.D	N.D	44.48	N.D.
EFDM1	79	N.D.	280	626	652	6.04	4.56	64	N.D.
EGVS	109	N.D.	299	581	582	4.14	N.D	N.D	N.D.
EGVR	47.50	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.
EGVB	91	N.D.	74	162	66	N.D	N.D	N.D	N.D.
EGVL	49.82	N.D.	275	514	1192	3.48	N.D	N.D	N.D.
EGVM	61	N.D.	157	373	505	3.02	N.D	N.D	N.D.
ESDS	34.03	N.D.	22.66	60	908	25.50	24.39	N.D	N.D.
ESDR	59	N.D.	N.D	39.32	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.
ESDB	35.71	N.D.	32.02	98	120	5.97	6.17	N.D	N.D.
ESDL	24.79	N.D.	24.15	62	333	4.83	4.66	N.D	N.D.
ESDF	88	N.D.	38.05	100	2637	45.72	44.06	N.D	N.D.
ESDM	62	N.D.	46.21	120	615	15.61	13.06	N.D	N.D.
EFDR	15.40	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.
EFDB	19.93	N.D.	N.D	N.D	188	4.70	N.D	N.D	N.D.
EFDL	27.52	N.D.	42.91	55	3669	3.92	4.49	N.D	N.D.
EFDF	39.36	N.D.	N.D	N.D	2872	18.41	18.10	N.D	N.D.
EFDM	41.78	N.D.	40.23	47.52	3090	7.63	N.D	N.D	N.D.

27'lik fitokimyasal bileşikler numaralarla belirtilmiştir. 10: p-Kumarik asit, 11: Rozmarinik asit, 12: Rutin, 13: Hesperidin, 14: Hiperosid, 15: 4-Hidroksi benzoik asit, 16: Salisilik asit, 17: Mirisetin, 18: Fisetin

E. craspedia türü incelendiğinde; naringenin ECMS ekstesinde en fazla olarak bulunmuştur. Kumarin, kersetin, hesperetin, luteolin, kemferol, apigenin, rhamnetin ve krisin fitokimyasalları bu türde dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir. (Çizelge 4.21.).

E. denticulata türü incelendiğinde; kersetin EDKL ekstresinde, naringenin ve kemferol EDKL ekstresinde daha zengin olduğu tespit edilmiştir. Kumarin, hesperetin, luteolin, apigenin, rhamnetin ve krisin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.21.).

E. aleppica türü incelendiğinde; kersetin EDKL ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir ve diğer ekstrelerde, kumarin, kersetin, hesperetin, luteolin, kemferol, apigenin, naringenin, rhamnetin ve krisin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir. Bu tür genel olarak çalışılan bileşen içermediği belirlenmiştir. (Çizelge 4.21.).

E. eriophora türüne bakıldığında; kumarin, kersetin, hesperetin, luteolin, kemferol, apigenin, naringenin, rhamnetin ve krisin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir. Bu tür genel olarak çalışılan bileşen içermediği belirlenmiştir. (Çizelge 4.21.).

E. grisophylla türüne bakıldığında; naringenin EGVS ve EGVM ekstrelerinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir ve diğer ekstrelerde, kumarin, kersetin, hesperetin, luteolin, kemferol, apigenin, naringenin, rhamnetin ve krisin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir. Bu tür genel olarak çalışılan bileşen içermediği belirlenmiştir. (Çizelge 4.21.).

E. seguieriana bitki türü incelendiğinde; naringenin ESDS ve ESDF ekstrelerinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir ve diğer ekstrelerde, kumarin, kersetin, hesperetin, luteolin, kemferol, apigenin, naringenin, rhamnetin ve krisin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir. Bu tür genel olarak çalışılan bileşen içermediği belirlenmiştir. (Çizelge 4.21.).

E. fistulosa bitki türü incelendiğinde; naringenin EFDF ve EMDM ekstrelerinde, kemferol EFDL ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir ve diğer ekstrelerde, kumarin, kersetin, hesperetin, luteolin, kemferol, apigenin, naringenin, rhamnetin ve

krisin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.21.).

Çizelge 4.21. *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi

Örnekler	19	20	21	22	23	24	25	26	27
ECMS	N.D.	N.D.	29.58	N.D.	N.D.	N.D	5.16	N.D.	N.D.
ECMR	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D	N.D.	N.D.	N.D	N.D
ECMB	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D.	N.D.	2.35	N.D.	N.D.
ECML	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D
ECMF	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D.
ECMM	N.D	N.D	10.09	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D
EDKS	N.D.	27.42	296	N.D.	N.D.	12.73	11.81	N.D.	N.D.
EDKR	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D
EDKB	N.D.	N.D.	11.25	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D.
EDKL	N.D	29.60	35.33	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D
EDKF	N.D.	28.70	396	N.D.	N.D.	22.45	2.99	N.D.	N.D.
EDKM	N.D	10.44	94	N.D	N.D	4.15	4.38	N.D.	N.D
EADR	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D	N.D.
EADB	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D.	N.D
EADL	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D	N.D.
EADL1	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D.	N.D
EADM	N.D.	59	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D	N.D.
EEDR	N.D	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D.	N.D
EEDB	N.D.	N.D	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D	N.D.
EEDL	N.D	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D.	N.D
EEDL1	N.D.	N.D	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D	N.D.
EEDM	N.D	N.D.	6.16	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D	N.D
EFDM	N.D.	9.82	103	N.D.	N.D.	N.D	4.96	N.D.	N.D.
EGVS	N.D	N.D.	35.67	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D
EGVR	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	1.99	N.D.
EGVB	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D
EGVL	N.D.	N.D.	9.30	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D.
EGVM	N.D	N.D.	22.66	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D
ESDS	N.D.	N.D.	39.80	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D.
ESDR	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D
ESDB	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D.
ESDL	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D
ESDF	N.D.	N.D.	69	N.D.	N.D.	6.69	N.D	N.D.	N.D.
ESDM	N.D	N.D.	8.44	N.D	N.D	4.78	N.D.	N.D	N.D
EFDR	N.D.	N.D	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D	N.D.
EFDB	N.D	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D.	N.D
EFDL	N.D.	9.59	N.D.	N.D.	N.D.	21.08	N.D	N.D	N.D.
EFDF	N.D	7.22	137	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D
EFDM	N.D.	N.D	47.78	N.D.	N.D.	7.63	N.D	N.D.	N.D.

27'lik fitokimyasal bileşikler numaralarla belirtilmiştir. 19: Kumarin, 20: Kersetin, 21: Naringenin, 22: Hesperetin, 23: Luteolin, 24: Kemferol, 25: Apigenin, 26: Rhamnetin, 27: Krisin

Malatya ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; tr-akonitik asit, klorojenik asit ve vanilin bileşiklerinin miktarları dedeksiyon limitinin altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır. Türün diğer fitokimyasal bileşiklere bakıldığında ise kinik asit ve malik asit EMML ekstresinde, gallik asit, protokateşik asit, tannik asit ve tr-kafeik asit EMMF ekstresinde daha fazla olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.22.).

Diyarbakır ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; kinik asit, malik asit, tr-akonitik asit, gallik asit, protokateşik asit ve tannik asit EMDS ekstresinde, klorojenik asit EMDL ekstresinde, vanilin ise EMDB ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Tr-kafeik asit miktarı dedeksiyon limitinin altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır. Ayrıca gallik asit, tannik asit ve vanilin fitokimyasalları türün tüm ekstrelerinde katitasyonu yapılmıştır (Çizelge 4.22.).

Van ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; kinik asit ve malik asit EMVS ekstresinde, tr-akonitik asit, gallik asit, klorojenik asit, protokateşik asit ve tannik asit EMVM ekstresinde, vanilin ise EMVB ekstresinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kinik asit, malik asit ve tannik asit türün tüm ekstrelerinde (kök, dal, yaprak, çiçek ve karışık kısımları) bulunmaktadır ve tr-kafeik asit ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır (Çizelge 4.22.).

Trabzon ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; tr-akonitik asit, gallik asit, klorojenik asit, tannik asit ve Kinik asit EMTM ekstresinde, malik asit EMTF ekstresinde, vanilin ve protokateşik asit ise EMTB ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Tr-kafeik asit fitokimyasalı ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından miktarsal tayinleri yapılamamıştır (Çizelge 4.22.).

Çizelge 4.22. *E. macroclada* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi

Örnekler	1	2	3	4	5	6	7	8	9
EMMR	N.D	53	N.D.	5.42	N.D	N.D	646	N.D	N.D
EMMB	N.D	422	N.D.	N.D	N.D.	29.03	261	N.D	N.D
EMML	4435	8680	N.D.	13.07	N.D	N.D	2254	N.D	N.D
EMMF	113	N.D.	N.D.	33.38	N.D.	169	14033	6.83	N.D
EMMM	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D	N.D	767	N.D	N.D
EMDS	26624	10175	143	476	N.D.	159	76588	N.D	12.06
EMDR	N.D.	N.D.	N.D.	25.63	N.D	46.94	8546	N.D	12.07
EMDB	457	N.D.	N.D.	12.70	N.D.	27.67	2479	N.D	12.78
EMDL	1891	476	N.D.	196	10.14	N.D	36408	N.D	10.93
EMDM	3834	2095	N.D.	135	N.D	37.80	19066	N.D	11.94
EMVS	1670	9222	N.D.	N.D	N.D.	N.D	333	N.D	N.D
EMVR	28.04	7845	N.D.	N.D	N.D	N.D	54	N.D	12.43
EMVB	74	6291	N.D.	N.D	N.D.	N.D	294	N.D	18.37
EMVL	37.57	624	N.D.	N.D	N.D	31.29	688	N.D	11.82
EMVF	2715	8585	55	21.71	15.46	120	879	N.D	12.74
EMVM	N.D.	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D	44.76	N.D	N.D
EMTS	N.D.	2166	18.46	N.D	N.D.	N.D	124	N.D	N.D
EMTR	N.D.	1273	N.D	N.D	N.D	N.D	197	N.D	N.D
EMTB	24.59	3592	21.91	N.D	N.D.	28.39	117	N.D	13.53
EMTL	975	1959	N.D.	N.D	N.D	96	532	N.D	10.54
EMTF	33.24	8753	N.D.	N.D	N.D.	N.D	82	N.D	12.40
EMTM	8703	1440	32.04	42.47	12.93	72	4266	N.D	10.35

27'lik fitokimyasal bileşikler numaralarla belirtilmiştir. 1: Kinik asit, 2: Malik asit, 3:tr-Akonitik asit, 4: Gallik asit, 5: Klorojenik asit, 6: Protokateşik asit, 7: Tannik asit, 8: tr- Kafeik asit, 9: Vanilin

Malatya ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; p-kumarik asit, hesperidin, 4-hidroksibenzoik asit ve salisilik asit EMMF ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir ve diğer ekstrelerde, p-kumarik asit, rozmarinik asit, rutin, hesperidin, hiperosid, 4-hidroksi benzoik asit, salisilik asit, mirisetin ve fisetin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.23.).

Diyarbakır ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; p-kumarik asit, rutin ve hesperidin türün tüm ekstrelerinde bulunmaktadır. Rutin, hesperidin, hiperosid ve salisik asit EMDS ekstresinde, p-kumarik asit EDMB ekstresinde ve mirisetin EDML ekstresinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Türe genel olarak fitokimyasalların EMDS ekstresinde olduğu görülmektedir (Çizelge 4.23.).

Van ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; p-kumarik asit EMVL ekstresinde, salisilik, hiperosid ve 4-hidroksi benzoik asit EMVF ekstresinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ve diğer ekstrelerde, rozmarinik asit, rutin, hesperidin mirisetin ve fisetin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.23.).

Trabzon ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; p-kumarik asit EMTL ekstresinde, hiperosid EMTM ve EMTL ekstrelerinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ve diğer ekstrelerde, 4-hidroksi benzoik asit, salisilik asit, rozmarinik asit, rutin, hesperidin mirisetin ve fisetin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.23.).

Çizelge 4.23. *E. macroclada* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi

Örnekler	10	11	12	13	14	15	16	17	18
EMMR	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
EMMB	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMML	N.D	N.D	90.07	204	176	N.D	N.D	N.D	N.D
EMMF	255	N.D.	N.D	N.D.	279	15.24	14.59	N.D.	N.D.
EMMM	77	N.D	58	77	50.09	10.98	13.92	N.D	N.D
EMDS	341	N.D.	1174	1637	2222	29.79	30.49	79	N.D.
EMDR	54	N.D	N.D	30.37	18.36	N.D	N.D	52	N.D
EMDB	107	N.D.	43.19	99	139	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMDL	63	N.D	422	857	1569	10.99	N.D	324	N.D
EMDM	174	N.D.	470	848	1526	18.88	17.74	49.70	N.D.
EMVS	51	N.D	N.D	N.D	75	20.97	19.57	N.D	N.D
EMVR	N.D	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D.
EMVB	83	N.D	N.D	N.D	50.71	N.D.	N.D.	N.D	N.D
EMVL	285	N.D.	N.D.	N.D.	375	N.D	N.D	N.D.	N.D.
EMVF	116	N.D	N.D	N.D	387	28.51	27.87	N.D	N.D
EMVM	94	N.D.	N.D.	N.D.	134	14.94	14.21	N.D.	N.D.
EMTS	52	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D
EMTR	53	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D	N.D.	N.D.
EMTB	103	N.D	N.D	N.D	N.D.	N.D	N.D.	N.D	N.D
EMTL	435	N.D.	N.D.	N.D.	565	N.D.	N.D	N.D.	N.D.
EMTF	90	N.D	N.D	N.D	39.33	N.D	N.D.	N.D	N.D
EMTM	56	N.D.	N.D.	N.D.	614	N.D.	N.D	N.D.	N.D.

27'lik fitokimyasal bileşikler numaralarla belirtilmiştir. 10: p-Kumarik asit, 11: Rozmarinik asit, 12: Rutin, 13: Hesperidin, 14: Hiperosid, 15: 4-Hidroksi benzoik asit, 16: Salisilik asit, 17: Mirisetin, 18: Fisetin

Malatya ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; apigenin ve kersetin EMMF ve EMMM ekstrelerinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ve diğer ekstrelerde, kumarin, kersetin, naringenin, hesperetin, luteolin, kemferol, apigenin, rhamnetin, krisin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.24.).

Diyarbakır ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; naringenin ve kemferol EMDS ve EMDM ekstrelerinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ve diğer ekstrelerde, kumarin, kersetin, naringenin, hesperetin, luteolin, kemferol, apigenin, rhamnetin, krisin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.24.).

Van ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; kemferol EMVS ve EMVM ekstrelerinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ve diğer ekstrelerde, kumarin, kersetin, naringenin, hesperetin, luteolin, kemferol, apigenin, rhamnetin, krisin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.24.).

Trabzon ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde; naringenin EMTM ekstresinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ve diğer ekstrelerde, kumarin, kersetin, naringenin, hesperetin, luteolin, kemferol, apigenin, rhamnetin, krisin fitokimyasalları ise dedeksiyon limitinin altında kaldığından tayin edilememiştir (Çizelge 4.24.).

Çizelge 4.24. *E. macroclada* türlerinin metanol ekstrelerinin LC-MS/MS ile kantitatif analizi

Örnekler	19	20	21	22	23	24	25	26	27
EMMR	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMMB	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.82	N.D.	N.D.
EMML	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.41	N.D.	N.D.
EMMF	N.D.	425	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.01	N.D.	N.D.
EMMM	N.D.	55	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.02	N.D.	N.D.
EMDS	N.D.	N.D.	83	N.D.	N.D.	35.76	14.74	N.D.	N.D.
EMDR	N.D.	N.D.	11.43	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMDB	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMDL	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMDM	N.D.	N.D.	45.83	N.D.	N.D.	8.01	0.94	N.D.	N.D.
EMVS	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.86	N.D.	N.D.
EMVR	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMVB	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMVL	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMVF	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.55	N.D.	N.D.
EMVM	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.87	N.D.	N.D.
EMTS	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMTR	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMTB	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMTL	N.D.	16.29	15.71	14.79	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMTF	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
EMTM	N.D.	9.90.	80	12.09.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

27'lik fitokimyasal bileşikler numaralarla belirtilmiştir. 19: Kumarin, 20: Kersetin, 21: Naringenin, 22: Hesperetin, 23: Luteolin, 24: Kemferol, 25: Apigenin, 26: Rhamnetin, 27: Krisin

4.12. HPLC-IT-TOF-MS Sonuçları

Çalışılan 12 *Euphorbia* türünün metanol ekstreleri LC-MS IT-TOF cihazında optimize edilen kapsamlı 75 dakikalık bir metotla analiz edilerek genel fitokimyasal profili belirlenmiştir (Çizelge 4.25.). Çalışılan türlerde farklı sınıflardan 180 farklı sekonder metabolit tespit edilmiştir. Molekül formülleri tespit edilen fitokimyasalların tahmini isimleri, alıkonma zamanları, tespit edilen iyon formları, ölçülen m/z değerleri tam kütle olarak verilmiştir Çizelge 4.25.'da verilmiştir. LC-MS IT-TOF taramasına ait kromatogramlar (TIC) ise Ek 130-141.'de verilmiştir.

Çizelge 4.25. Çalışılan *Euphorbia* türlerinin metanol ekstrelerinin HPLC-IT-TOF-MS ile kalitatif analizi sonucu molekül formülleri tespit edilen adları tahmin edilen sekonder metabolitler

No	Tahmini Molekül Adı	Formülü	[M+H]+	[M+NH4]+	[M-H]-	R.T.	CMM	DKM	MMM	EDM	MDM	FDM	MVM	GVM	SDM	FDM	MTM	ADM
1	Malic Acid	$C_4H_6O_5$			133.0142	4.33	*											
2	p-coumaric acid	$C_9H_8O_3$			163.0401	5.46-15.58	*											
3	Shikimic acid	$C_7H_{10}O_5$			173.0455	10.1-17.6	*											
4	Citric acid	$C_6H_8O_7$			191.0197	4.52	*											
5	Quinic acid	$C_7H_{12}O_6$			191.0561	4.03	*				*			*				
6	Ferulic acid	$C_{10}H_{10}O_4$	195.0652		193.0506	16.3-18.2	*											
7	Kaempferol	$C_{15}H_{10}O_6$	287.055			20.96-25.78	*					*			*	*	*	
8	Ellagic acid	$C_{14}H_6O_8$			300.999	17.8-19.90	*				*	*		*	*		*	
9	Hyperoside	$C_{21}H_{20}O_{12}$	465.1028			19.01-19.87	*		*		*	*		*				
10	Rhamnetin	$C_{16}H_{12}O_7$	317.0656			16.3-21.1	*											
11	Bombykol/Muscone	$C_{16}H_{30}O$		256.2635		35.08	*											
12	Ginnalin C	$C_{13}H_{16}O_9$			315.0722	4.5-8.32		*				*			*			
13	Triethyl citrate	$C_{12}H_{20}O_7$		294.1547		4.92-5-5.73	*		*		*		*		*		*	
14	Cleiastanthin B	$C_{27}H_{26}O_{12}$		560.1780		17.91	*											
15	Asterric acid	$C_{17}H_{16}O_8$		349.0918		18.86	*											
16	Jiadifenolide/Picrotin	$C_{15}H_{18}O_7$		328.1391		8.5	*				*	*		*	*		*	*
17	Aesculin /Daphnin	$C_{15}H_{16}O_9$	341.0867			10.06	*		*									
18	Maderone	$C_{18}H_{20}O_8$	365.1231			14.85	*											
19	Adriamycinone	$C_{21}H_{18}O_9$		432.1289		16.3	*											
20	Rashomonic acid A	$C_{27}H_{26}O_{13}$		576.1712		16.66-17.07	*					*						
21	Rivulobirin A	$C_{32}H_{28}O_{10}$	573.1755			19.9	*											
22	Majucin/ Fragilin	$C_{15}H_{20}O_8$	329.1231			19.54-20.66	*		*									
23	Alginin	$C_{21}H_{18}O_{13}$	479.082			19.63	*		*	*	*							
24	Coumestrin	$C_{21}H_{18}O_{10}$	449.1078			20-62								*	*		*	
25	Picrotin	$C_{15}H_{18}O_7$	311.1125			23.94			*									
26	2E-2-Tetradecenal	$C_{14}H_{26}O$		228.2322		29.69	*											
27	Fremontone	$C_{24}H_{24}O_6$	409.1646			34.46						*		*			*	
28	Hexadecenal/Muscone	$C_{16}H_{30}O$		256.2635		35.06	*											
29	Palmitoleic acid	$C_{16}H_{30}O_2$		272.2584		35.66	*											
30	Latifonin	$C_{11}H_{16}O_7$		278.1234		3.94	*				*	*		*	*		*	
31	Bisphenol A	$C_{15}H_{16}O_2$			227.1078	4.41	*											

Çelge 4.25. (devam)

No	Tahmini Molekül Adı	Formülü	[M+H]+	[M+NH4]+	[M-H]-	R.T.	CMM	DKM	MMM	EDM	MDM	FDM	MVM	GVM	SDM	FDM	MTM	ADM
32	Tetra-A-alpha-D-Furanose-Arabinose	$C_{13}H_{18}O_9$			317.0878	10.1			*									
33	Cnidioside A	$C_{17}H_{20}O_9$			367.1035	16.2-17.056	*				*	*		*			*	
34	Alginoside	$C_{13}H_{22}O_8$			305.1242	20.66												
35	1.3.4-Tri-Ac-2-C-Methylerythritol	$C_{11}H_{18}O_7$		280.1391		4.18-4.24-4.36	*		*		*	*		*	*		*	
36	Multicolosic acid/Nafocare B1	$C_{11}H_{12}O_7$		274.0921		4.33								*				
37	4.6-O-1-carboxyethylidene-D-galactose	$C_9H_{14}O_8$		268.1027		5.42-5.98	*		*			*			*		*	
38	Chlorogenic acid	$C_{16}H_{18}O_9$		355.1024		13.62-18.83						*		*			*	
39	Rashomonic acid A	$C_{27}H_{26}O_{13}$		576.1712		16.76-17.07	*		*			*						*
40	Bungeiside A	$C_{14}H_{18}O_8$	315.1074			17.37			*									
41	Asterric acid	$C_{17}H_{16}O_8$	349.0918			18.84	*		*									
42	Quercetin-3-arabinosid	$C_{20}H_{18}O_{11}$	435.0922			20.8-21.30			*	*								
43	Quercetin 7-glucoside	$C_{21}H_{20}O_{11}$	449.1078			20.60-21.23					*	*					*	
44	Puerarin	$C_{21}H_{20}O_{10}$	433.1129			22.63						*						
45	Coniferin	$C_{16}H_{22}O_8$	343.1387			22.76			*									
46	Picrotin	$C_{15}H_{18}O_7$	311.1125			23.91	*		*									
47	Fremontone	$C_{24}H_{24}O_6$	409.1646			34.54-38.58				*	*			*				
48	Crenatin	$C_{13}H_{18}O_9$	319.1024			6.55			*									
49	Theogallin	$C_{14}H_{16}O_{10}$			343.0671	6.59								*	*			
50	Agistatine E	$C_{11}H_{16}O_5$		246.1336		6.8						*			*			
51	Psilotic acid	$C_{11}H_{10}O_3$		208.0968		7.3		*					*					
52	Gallussaeure-glucuronat	$C_{13}H_{14}O_{11}$			345.0463	7.52		*										
53	1.5-Dimethyl citrate	$C_8H_{12}O_7$		238.0921		10.99						*			*			
54	Hexahydrogallic acid/Valienol	$C_7H_{12}O_5$			175.0612	10.99		*		*								
55	Rutin	$C_{27}H_{30}O_{16}$	611.1607			18.67					*							
56	Quercetin	$C_{15}H_{10}O_7$	303.0499			19.01-21.10	*				*	*		*	*			
57	Mirandin A	$C_{22}H_{26}O_6$	387.1802			32.76					*			*	*	*		
58	Tripterinin	$C_{20}H_{30}O_4$	335.2217			35.29				*	*				*			
59	Ugandenial A	$C_{15}H_{22}O_4$			265.1445	35.9				*	*	*						
60	Nephrosterylic acid	$C_{16}H_{30}O_3$		288.2533		37.9		*										

Çzelge 4.25. (devam)

No	Tahmini Molekül Adı	Formülü	[M+H]+	[M+NH4]+	[M-H]-	R.T.	CMM	DKM	MMM	EDM	MDM	FDM	MVM	GVM	SDM	FDM	MTM	ADM
61	8.9-Epibotrydial	$C_{17}H_{26}O_5$			309.1738	38.58		*										
62	Bornyl piperate	$C_{22}H_{26}O_4$	355.1904			40.98		*										
63	Alphadolone	$C_{21}H_{32}O_4$	349.2373			40.98-42.74				*								
64	Nimolicinol	$C_{28}H_{34}O_7$	483.2377			40.98		*										
65	Spherosinin	$C_{22}H_{24}O_5$		386.1962		42.33		*										
66	Spirasineol B	$C_{27}H_{28}O_4$	417.206			46.42		*										
67	Zuelanin-2beta-benzoate	$C_{31}H_{38}O_7$		540.2956		46.42		*										
68	Kendomycin	$C_{29}H_{42}O_6$		504.332		49.46		*										
69	Apigenin 7-O-beta-2'-O-alpha-rhamnosylglucuronide	$C_{27}H_{28}O_{15}$	611.1607			18.67		*										
70	Demethoxybergenin	$C_{13}H_{14}O_8$	299.0761			23.38												*
71	Hexahydrogallic acid	$C_7H_{12}O_5$			175.0612	10.99		*		*								
72	3.5-Di-O-galloylquinic acid	$C_{21}H_{20}O_{14}$			495.078	14.42				*		*						
73	5.7.8.3'.4'.5'-Hexahydroxyflavone 7-O-beta-D-glucuronide	$C_{21}H_{18}O_{14}$	495.0769			18.19				*								
74	Myricetin -3-glucosid	$C_{21}H_{20}O_{13}$	481.0977			18.36					*							
75	Miquelianin	$C_{21}H_{18}O_{13}$			477.0675	19.6					*							
76	Punicaflavanol	$C_{16}H_{14}O_{10}$			365.0514	20.3				*								
77	Hydrangenoside E	$C_{29}H_{40}O_{12}$	581.2593			21.11				*								
78	Levuglandin D2	$C_{20}H_{32}O_5$	353.2323			28.55				*								
79	Subincanin	$C_{22}H_{24}N_2O_2$	349.1911			42.8				*								
80	Paulitin	$C_{15}H_{16}O_5$		294.1336		5.44				*								
81	Methyl-2.3.5-trihydroxytridecanoate	$C_{14}H_{28}O_5$		230.2478		32.85	*											
82	Di-Ac-2.4-Dihydroxybenzoic acid	$C_{11}H_{10}O_6$			237.0405	21.16					*							
83	Melicitrin	$C_{20}H_{18}O_{12}$	451.0871			19.63					*							
84	Picrotin	$C_{15}H_{18}O_7$		328.1391		8.54					*	*						
85	Myricetin -3-glucosid	$C_{21}H_{20}O_{13}$			479.0831	18.38					*							
86	İsorhamnetin 3-O-glucoside	$C_{22}H_{22}O_{12}$	479.1184			21.15					*							
87	Juncunone	$C_{17}H_{16}O_3$	268.1094			5.98					*							
88	p-coumaric acid glucosyl ester	$C_{15}H_{18}O_8$		344.134		4.57-5.4					*			*	*		*	
89	Alliuminoside	$C_{12}H_{20}O_{10}$		342.1395		3.64					*			*				

Çzelge 4.25. (devam)

No	Tahmini Molekül Adı	Formülü	[M+H]+	[M+NH4]+	[M-H]-	R.T.	CMM	DKM	MMM	EDM	MDM	FDM	MVM	GVM	SDM	FDM	MTM	ADM
90	Myricetin	$C_{15}H_{10}O8$	319.0448			18.42					*							
91	shanzhigenin methyl ester	$C_{11}H_{16}O_6$		262.1285		4.2					*			*	*			
92	Narbosine A	$C_{12}H_{22}O_5$	244.1462			6.76						*						
93	Veracylglucan A	$C_{10}H_{16}O_{10}$			295.0671	4.06						*			*		*	
94	Hysterone D	$C_{15}H_{24}O_5$		302.1962		20.62						*						
95	5-Feruloylquinic acid	$C_{17}H_{20}O_9$			367.1035	16.25						*						
96	2-O-beta-D-Galactopyranosyl-L-rhamnitol	$C_{12}H_{24}O_{10}$	328.1364			8.44						*						
97	4.2'-dimethoxyparacotoin	$C_{14}H_{12}O_6$		294.0972		19.27						*						
98	Euxanmodin A	$C_{28}H_{16}O_9$			495.0722	14.39						*			*			
99	Versicorufin	$C_{21}H_{18}O_9$			447.0933	20.98-21.22						*		*			*	
100	Prechrysophanol	$C_{15}H_{14}O_4$			377.0819	3.84						*						
101	Brevifolin carboxylic acid	$C_{13}H_8O_8$			291.0146	16.2						*		*			*	
102	Taccalonolide K	$C_{34}H_{44}O_{14}$	676.2726			33.59						*						
103	Bergapten	$C_{12}H_8O_4$			215.035	3.86						*		*				
104	Frutinone B	$C_{17}H_{12}O_5$	296.0679			3.86						*			*			
105	Trehalose	$C_{12}H_{22}O_{11}$		360.15		3.92						*						
106	Dothideopyrone A	$C_{14}H_{22}O_5$		288.1805		17.83						*						
107	Everlastoside F	$C_{17}H_{28}O_{12}$		442.1919		6.05						*						
108	Aceritannin	$C_{20}H_{20}O_{13}$			467.0831	16.35						*						
109	Sphaeranthanolide	$C_{21}H_{32}O_9$	429.2119			18.96						*						
110	Alangionoside L	$C_{19}H_{32}O_7$	373.2221			21.35						*		*				
111	methyl brevifolincarboxylate	$C_{14}H_{10}O_8$			305.0303	19.62						*		*			*	
112	beta-Glucogallin	$C_{13}H_{16}O_{10}$			331.0671	5.68						*		*				
113	Andrographolide/Resolvin E1	$C_{20}H_{30}O_5$	351.2166			27.28						*						
114	Pyrogallol-2-O-glucuronide	$C_{12}H_{14}O_9$			301.0565	11.98						*						
115	kaempferol-3-O-arabinoside	$C_{20}H_{18}O_{10}$	419.0973			21.71						*						
116	Z-cinnamic acid	$C_9H_8O_2$		166.0863		9.04						*						
117	5'-O-methyl-7'-ethyl ester of p-dehydrodigallic acid	$C_{17}H_{16}O_{10}$	381.0816			3.84						*						
118	pikuroside	$C_{23}H_{30}O_{14}$			529.1563	14.3						*						
119	4-dehydrochebulic acid 1.6-dimethyl ester	$C_{16}H_{14}O_{11}$			381.0463	16.76-17.62						*					*	

Çzelge 4.25. (devam)

No	Tahmini Molekül Adı	Formülü	[M+H]+	[M+NH4]+	[M-H]-	R.T.	CMM	DKM	MMM	EDM	MDM	FDM	MVM	GVM	SDM	FDM	MTM	ADM
120	jioglutin E	$C_{11}H_{20}O_5$			231.1238	24.98						*						
121	puerarin	$C_{21}H_{20}O_{10}$			431.0984	22.58						*						
122	Ixerin D	$C_{21}H_{30}O_9$	427.1963			18.76						*						
123	Theogallin	$C_{14}H_{16}O_{10}$		362.1082		6.52						*						
124	tricalysioside J	$C_{28}H_{44}O_{11}$			555.2811	38.5						*						
125	2-O-caffeoyl-+-allohydroxycitric acid	$C_{15}H_{14}O_{11}$			369.0463	14.34						*						
126	aruncin B	$C_{12}H_{18}O_5$		260.1492		10.52						*						
127	Triethyl citrate	$C_{12}H_{20}O_7$			275.1136	24.97						*						
128	anethol/Tylimanthin A	$C_{20}H_{22}O_2$	294.1614			5.45							*					
129	Terpecurcumin S	$C_{34}H_{40}O_5$	529.2949			39.11										*		
130	Tuliposide B	$C_{11}H_{18}O_9$		294.0945		19.24											*	
131	Amotsangin E	$C_{36}H_{40}O_{10}$	633.2694			43.42											*	
132	Camphonanic acid	$C_9H_{16}O_2$		174.1489		6.7											*	
133	Pradimicin M	$C_{24}H_{16}O_{10}$	465.0816			19.87											*	
134	Cornosid	$C_{14}H_{20}O_8$	317.1231			15.68	*											
135	Albanol B	$C_{34}H_{22}O_8$		576.1653		16.7	*											
136	Radermachol	$C_{24}H_{16}O_4$			367.0976	16.24-18.14							*					
137	Altechromone A	$C_{11}H_{10}O_3$		208.0968		7.25							*					
138	1-1.2-binaphthyl 1-naphthyl ketone	$C_{31}H_{20}O$	409.1646			34.44							*					
139	2-Naphthoic anhydride	$C_{22}H_{14}O_3$		344.1281		5.42							*					
140	Coumestrol/Ayamenin B	$C_{15}H_8O_5$	287.055			20.98							*	*				
141	Aurin/Rosolic acid	$C_{19}H_{14}O_3$			290.0891	4.35							*					
142	Herniarin	$C_{10}H_8O_3$		194.0812		5.48-6.56	*		*				*					
143	Prostaglandin A2	$C_{20}H_{30}O_4$	335.2217			35.28							*					
144	Leptospermone	$C_{15}H_{22}O_4$			265.1445	35.88							*	*	*			
145	Andrographolid	$C_{20}H_{30}O_5$	351.2166			27.26							*					
146	2.3-Pentacenediol	$C_{22}H_{14}O_2$		328.1332		8.5							*					
147	[6.6'-Biaceanthrylene]-1.1'.2.2'-tetrone	$C_{32}H_{14}O_4$	463.0965			20.8							*					
148	1-Acetylpyrene	$C_{18}H_{12}O$		262.1226		4.22							*					
149	Khellin	$C_{14}H_{12}O_5$	279.0863			32.4							*					
150	Plukenetione G	$C_{33}H_{40}O_4$		518.3265		36.5							*					
151	1-Pyreneacetic acid	$C_{18}H_{12}O_2$		278.1176		4.03							*					

Çzelge 4.25. (devam)

No	Tahmini Molekül Adı	Formülü	[M+H]+	[M+NH4]+	[M-H]-	R.T.	CMM	DKM	MMM	EDM	MDM	FDM	MVM	GVM	SDM	FDM	MTM	ADM
152	Berkelic acid	$C_{29}H_{40}O_9$				34.54							*					
153	Eusiderin	$C_{22}H_{26}O_6$	387.1861			34.44							*					
154	Guibourtinidol	$C_{15}H_{14}O_4$	259.0965			5.38							*					
155	Quercetin/Abscisic acid	$C_{15}H_{10}O_7$	303.0499			21.22							*					
156	Santonic acid	$C_{15}H_{20}O_4$	265.1434			3.77							*					
157	6.13-Pentacenequinone	$C_{22}H_{12}O_2$	309.091			26.5								*			*	
158	Cetrarin	$C_{20}H_{18}O_9$				20.98								*			*	
159	Picriside A	$C_{21}H_{26}O_{10}$	439.1599			18.35								*	*			
160	Phaseic acid	$C_{15}H_{20}O_5$	281.1384			4.25								*				
161	Fertaric acid	$C_{14}H_{14}O_9$			325.0565	11.7								*				
162	Isohomoarbutin	$C_{13}H_{18}O_7$		304.1391		7									*			
163	Serpentene	$C_{20}H_{20}O_2$		312.1958		49										*		
164	artochamin H	$C_{25}H_{30}O_4$		412.2482		55.02										*		
165	Phenanthrene trans-9.10-dihydrodiol|	$C_{14}H_{12}O_2$		230.1176		28.62										*		
166	4.3'-di-O-methylellagic acid	$C_{16}H_{10}O_8$	331.0448			17.69										*		
167	Radulanin I	$C_{19}H_{20}O_2$		298.1802		43.52										*		
168	Flavan-4-ol	$C_{15}H_{14}O_2$		244.1332		48.91										*		
169	lignarenone C	$C_{16}H_{18}O$		244.1696		33.8										*		
170	acutifolin A	$C_{20}H_{22}O_4$		344.1856		41.94-42.24										*		
171	abyquinone B	$C_{30}H_{20}O_8$	509.1231			21.19										*		
172	Spiranthol-A	$C_{20}H_{22}O_3$		328.1907		41.46										*		
173	Cannithrene	$C_{15}H_{14}O_3$		260.1281		20.36-31.40										*		
174	pongoflavone	$C_{21}H_{18}O_4$		352.1543		29.09										*		
175	hirsutanonol	$C_{19}H_{24}O$		286.2165		43.32										*		
176	Mansonon D	$C_{14}H_{12}O_3$		246.1125		18.04-26.92										*		
177	Euchrenone b11	$C_{31}H_{32}O_7$		534.2486		39.12										*		
178	scortechinone E	$C_{29}H_{34}O_7$		512.2643		38.56										*		
179	pallidone D	$C_{25}H_{34}O_6$		448.2694		35.88										*		
180	Liganolide/Lucidenic acid J	$C_{27}H_{38}O_8$		508.2905		31.9										*		
181	isoracemosol	$C_{24}H_{24}O_6$	409.1646			34.43										*		
182	methylhydgartol B	$C_{22}H_{24}O_4$	353.1747			5.1										*		
183	loddigesiinol B	$C_{25}H_{22}O_6$	419.1548			42.48										*		
184	Saxicolon	$C_{14}H_{10}O_4$		260.0917		30.23										*		

Çelge 4.25. (devam)

No	Tahmini Molekül Adı	Formülü	[M+H]+	[M+NH4]+	[M-H]-	R.T.	CMM	DKM	MMM	EDM	MDM	FDM	MVM	GVM	SDM	FDM	MTM	ADM
185	Bilinmiyen	$C_{34}H_{22}O_7$		560.1704		17.93	*											
186	Bilinmiyen	$C_{19}H_{40}O_{12}$		478.2858		40.98		*										
187	Bilinmiyen	$C_{19}H_{44}O_{14}$	497.2804			24.12												*
188	Bilinmiyen	$C_{14}H_{20}O_{11}$	365.1078			3.84				*								
189	Bilinmiyen	$C_{21}H_{12}O_{10}$			423.0358	3.87				*	*							
190	Bilinmiyen	$C_{11}H_{17}NO_8$			290.0881	4.34											*	
191	Bilinmiyen	$C_{45}H_{14}O_5$		633.0768		16.9											*	
192	Bilinmiyen	$C_8H_4O_8$			226.9833	4.36	*											
193	Bilinmiyen	$C_{33}H_{20}O_6$	513.1333			23.93										*		
194	Bilinmiyen	$C_{39}H_{14}O$			497.0972	15.19										*		
195	Bilinmiyen	$C_{14}H_7NO_7$			300.015	20.32											*	
196	Bilinmiyen	$C_{37}H_{18}O$			477.1285	14.28										*		
197	Bilinmiyen	$C_{29}H_{30}O_6$		492.2381		36.34										*		
198	Bilinmiyen	$C_{21}H_{42}O_{17}$		584.276		25.79					*							
199	Bilinmiyen	$C_7H_{10}O_{13}$	303.0194			19.87					*							
200	Bilinmiyen	$C_{32}H_{42}N_2O_{15}$		712.2923		39.15				*								
201	Bilinmiyen	$C_{16}H_{32}N_2O_6$	349.2333			40.88				*								
202	Bilinmiyen	$C_{33}H_{48}N_2O_{18}$	760.2897			41.39				*								
203	Bilinmiyen	$C_{33}H_{49}NO_{17}$	732.3073			42.43				*								
204	Bilinmiyen	$C_{19}H_6O_4$			297.0193	17.02												
205	Bilinmiyen	$C_9H_{22}O_{11}$			305.1089	20.68	*			*								
206	Bilinmiyen	$C_{12}H_4O_7$			258.9884	3.93- 14.58					*							
207	Bilinmiyen	$C_{10}H_2O_8$			248.9677	3.68					*			*	*		*	
208	Bilinmiyen	$C_{19}H_6O_7$			345.0041	7.55					*							
209	Bilinmiyen	$C_8H_{14}O_{13}$	319.0507			19.62					*							

Çizelge 4.25. (devam)

No	Tahmini Molekül Adı	Formülü	[M+H]+	[M+NH4]+	[M-H]-	R.T.	CMM	DKM	MMM	EDM	MDM	FDM	MVM	GVM	SDM	FDM	MTM	ADM
210	Bilinmiyen	$C_5H_4O_{14}$			286.9528	42.74		*										
211	Bilinmiyen	$C_{22}H_{20}O_{13}$	493.097			21.59				*								
212	Bilinmiyen	$C_{15}H_{27}NO_7$		351.2126		27.23				*	*							
213	Bilinmiyen	$C_{24}H_{18}O_4$			369.1132	16.17		*										
214	Bilinmiyen	$C_{23}H_{22}O_5$	379.154			40.18				*								
215	Bilinmiyen	$C_{10}H_{16}O_7$		266.1234		3.84	*				*	*		*	*		*	
216	Bilinmiyen	$C_{24}H_{38}O$	343.2995			31.16	*	*		*			*					
217	Bilinmiyen	$C_7H_{18}O_{11}$	279.0922			32.4	*	*		*	*							
218	Bilinmiyen	$C_{21}H_2O_3$			302.0009	4.58-5.37					*			*	*			
219	Bilinmiyen	$C_7H_{18}O_{11}$	279.0922			32.46								*				
220	Bilinmiyen	$C_{15}H_{18}O_7$	447.1286			24.37-25.21						*						
221	Bilinmiyen	$C_{12}O_{18}O_6$		276.1442		5.44					*			*	*			
222	Bilinmiyen	$C_{21}O_{20}O_{10}$	435.1286			21.77					*							
223	Bilinmiyen	$C_8O_{18}O_{11}$			290.0855	4.36					*							
224	Bilinmiyen	$C_{27}O_{30}O_{17}$	627.1556			17.92					*							
225	Bilinmiyen	$C_7O_{10}O_9$			237.0252	21.17					*							
226	Bilinmiyen	$C_{21}O_{42}O_{18}$		600.2709		24.58					*							
227	Bilinmiyen	$C_{26}O_8O_8$	449.0292			21.2					*							
228	Bilinmiyen	$C_{10}O_{24}O_{14}$			367.1093	17.05-18.18					*	*						
229	Bilinmiyen	$C_{15}O_{27}NO_7$		351.2126		27.32					*							
230	Bilinmiyen	$C_{23}H_8O_8$			411.0146	7.29						*						
231	Bilinmiyen	$C_{21}H_2O_3$			300.9931	19.76						*						
232	Bilinmiyen	$C_8H_{22}O_{13}$		344.1399		4.44						*						
233	Bilinmiyen	$C_{13}H_{20}O_{12}$			367.0882	16.26						*						
234	Bilinmiyen	$C_{19}H_8O_8$			364.0225	19						*						

Çizelge 4.25. (devam)

No	Tahmini Molekül Adı	Formülü	[M+H]+	[M+NH4]+	[M-H]-	R.T.	CMM	DKM	MMM	EDM	MDM	FDM	MVM	GVM	SDM	FDM	MTM	ADM
235	Bilinmiyen	$C_{13}H_{24}O_{13}$			387.1144	3.94						*						
236	Bilinmiyen	$C_{12}H_{10}O_9$			297.0252	17.03						*						
237	Bilinmiyen	$C_4H_{10}O_9$			201.0252	19.53						*						
238	Bilinmiyen	$C_7H_{20}O_{15}$	345.0875			6.42						*						
239	Bilinmiyen	$C_{15}H_{30}O_{11}$		404.2126		34.54						*						
240	Bilinmiyen	$C_{12}H_6O_{10}$			308.9888	4.35						*						
241	Bilinmiyen	$C_{25}H_{12}O_8$			439.0459	11.68						*						
242	Bilinmiyen	$C_{11}H_8O_9$			283.0096	6						*						
243	Bilinmiyen	$C_4H_{10}O_{10}$			217.0201	15.62						*						
244	Bilinmiyen	$C_2H_3NO_{13}$			248.961	3.66						*						
245	Bilinmiyen	$C_{16}H_{24}O_{14}$			439.1093	10.97						*						
246	Bilinmiyen	$C_{24}H_{14}O_9$			445.0584	5.68						*						
247	Bilinmiyen	$C_{34}H_{42}N_2O_{14}$		720.2974		41.92						*						
248	Bilinmiyen	$C_{34}H_9N$		449.1073		20.98							*					
249	Bilinmiyen	$C_{34}H_9NO$		465.1022		19.88							*					
250	Bilinmiyen	$C_{34}H_{10}N_2O_2$			477.067	19.59							*					
251	Bilinmiyen	$C_{16}H_{15}N_3O$	266.1288			3.89							*					
252	Bilinmiyen	$C_9H_2N_2O_5S$			248.9612	3.72							*					
253	Bilinmiyen	$C_2H_2O_{15}$			264.9321	3.74						*						
254	Bilinmiyen	$C_9H_8O_{17}$			386.9689	4.33						*						
255	Bilinmiyen	$C_{26}H_{20}O_{16}$				16.93						*						
256	Bilinmiyen	$C_{24}H_{32}O_{16}$	576.1685			16.39						*						
257	Bilinmiyen	$C_{15}H_{18}O_3$		264.1594		21.68							*					
258	Bilinmiyen	$C_{25}H_{14}O_4$			377.0819	3.87							*					
259	Bilinmiyen	$C_{32}H_{16}O_3$	449.1172			21.22							*					

Çzelge 4.25. (devam)

No	Tahmini Molekül Adı	Formülü	[M+H]+	[M+NH4]+	[M-H]-	R.T.	CMM	DKM	MMM	EDM	MDM	FDM	MVM	GVM	SDM	FDM	MTM	ADM
260	Bilinmiyen	$C_{21}H_2O_3$			302.0009	5.4							*		*			
261	Bilinmiyen	$C_{30}H_{28}O$		404.2135		34.46							*					
262	Bilinmiyen	$C_{32}H_{14}O_5$	479.0914			19.58							*					
263	Bilinmiyen	$C_{22}H_6O_2$	303.0441			19.87							*					
264	Bilinmiyen	$C_{29}H_{24}O_3$	421.1798			4.34							*					
265	Bilinmiyen	$C_{17}H_{14}O_3$		284.1281		20.09-24.41							*			*		
266	Bilinmiyen	$C_{39}H_{40}O_3$			555.2905	38.51							*					
267	Bilinmiyen	$C_{27}H_{14}O_5$				19.86							*					
268	Bilinmiyen	$C_{31}H_{12}O_3$		450.1125		20.98							*	*				
269	Bilinmiyen	$C_{24}H_{38}O$	343.2995			31.15							*					
270	Bilinmiyen	$C_{31}H_{12}O_4$		466.1074		19.86							*	*				
271	Bilinmiyen	$C_{28}H_{16}O_7$	465.0969			19.75								*	*			
272	Bilinmiyen	$C_{11}H_8O_{10}$			300.0123	20.36								*				
273	Bilinmiyen	$C_{46}H_{16}O_2$	601.1223			21.12								*				
274	Bilinmiyen	$C_{18}H_{26}O_5$			321.1707	37.12							*	*				
275	Bilinmiyen	$C_{34}H_{26}O_{10}$	595.1599			20.05								*				
276	Bilinmiyen	$C_{45}H_22O_3$	611.1642			19.007								*				
277	Bilinmiyen	$C_{31}H_{18}O_4$			454.1211	3.66								*				
278	Bilinmiyen	$C_{35}H_{10}O_2$			462.0686	17.29								*				
279	Bilinmiyen	$C_{45}H_{14}O_5$			633.0768	16.89								*				
280	Bilinmiyen	$C_{15}H_{16}O_6$		310.1285		8.5								*				
281	Bilinmiyen	$C_{27}H_{16}O_9$			483.0722	14.97								*				
282	Bilinmiyen	$C_{10}H_{14}O_6$		248.1129		3.88								*				
283	Bilinmiyen	$C_{22}H_{22}O_5$	367.154			13.72								*				
284	Bilinmiyen	$C_{15}H_{28}O_2$	387.1861			34.46								*				

Çelge 4.25. (devam)

No	Tahmini Molekül Adı	Formülü	[M+H]+	[M+NH4]+	[M-H]-	R.T.	CMM	DKM	MMM	EDM	MDM	FDM	MVM	GVM	SDM	FDM	MTM	ADM
285	Bilinmiyen	$C_{19}H_{28}O_{10}$		434.2021		18.33								*				
286	Bilinmiyen	$C_{12}H_{24}O_{10}$	329.1442			8.47								*				
287	Bilinmiyen	$C_{26}H_{6}O_{3}$			365.0244	4.11								*				
288	Bilinmiyen	$C_{24}H_{24}O_{6}$	409.1646			34.44									*			
289	Bilinmiyen	$C_{18}H_{18}O_{9}$			377.0878	3.85									*	*		
290	Bilinmiyen	$C_{28}H_{14}O_{7}$	463.0812			20.78									*			
291	Bilinmiyen	$C_{45}H_{14}O_{3}$				16.46									*			
292	Bilinmiyen	$C_{10}H_{14}O_{10}$			293.0514	3.8									*			
293	Bilinmiyen	$C_{43}H_{18}O$		568.1696		14.38									*			
294	Bilinmiyen	$C_{13}H_{4}O_{8}$			286.9833	16.89									*			
295	Bilinmiyen	$C_{5}H_{16}O_{8}$	205.0918			14.35									*			
296	Bilinmiyen	$C_{24}H_{28}O$		350.2478		45.92										*		
297	Bilinmiyen	$C_{24}H_{12}O_{10}$			459.0358	26.72										*		
298	Bilinmiyen	$C_{34}H_{16}O$			439.1128	10.88									*			
299	Bilinmiyen	$C_{17}H_{20}O$		258.1852		36.8										*		
300	Bilinmiyen	$C_{5}H_{6}O_{10}$				17.2										*		
301	Bilinmiyen	$C_{8}H_{18}O_{10}$				19.06										*		
302	Bilinmiyen	$C_{13}H_{26}O_{10}$		360.1864		30.17										*		
303	Bilinmiyen	$C_{39}H_{26}O_{4}$	559.1904			19.86										*		
304	Bilinmiyen	$C_{40}H_{16}O_{6}$			591.0874	25.64										*		
305	Bilinmiyen	$C_{42}H_{1}8O$	539.143			20.84										*		
306	Bilinmiyen	$C_{27}H_{18}O_{6}$		466.2224		47.83										*		

4.13. *Euphorbia* Türlerinin Metal İçeriklerinin İncelenmesi

E. craspedia türü incelendiğinde Cr, Pb, Cu, Zn, Ba, Ni, Sr ve Rb metal içerikleri diğer metallerden daha yüksek olduğu görülmektedir. Türün kısımları incelendiğinde tohum kısmı Zn miktarı, kök kısmında Ba, Cr, Co, Ni, As, Cs ve V metallerin miktarı daha yüksek olduğu görülmektedir. Türün yaprak kısmında sadece Cu miktarı daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çiçek kısmında Se, Ag ve Pb miktarları daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bitki türünün dal ve karışık kısımlarında analizlenen tüm metal içeriklerinin diğer bitki parçalarından daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.26.).

Çizelge 4.26. *E. craspedia* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu

Örnek	Ba	Cr	Co	Ni	As	Se	Cd	Pb
ECMS	1976±7	1547±11	174±2	5571±12	52±2	816±10	124±1	483±5
ECMR	22475±14	7780±8	955±5	8038±11	413±3	667±11	451±3	1596±12
ECMB	9327±13	917±7	109±5	2188±8	60±2	949±13	320±2	533±5
ECML	3250±10	2353±18	626±7	3638±10	137±2	773±11	262±2	1028±5
ECMF	4146±14	1601±10	551±9	3937±10	111±4	2430±3	244±3	2045±11
ECMM	6547±12	1887±8	439±5	3703±12	153±3	826±3	228±2	753±10

Örnek	Cs	V	Cu	Zn	Rb	Sr	Ag	Tl
ECMS	16.79±1.16	503±3	7167±14	24194±12	5551±15	10176±12	838±8	2.54±0.05
ECMR	227±6	4614±6	6288±12	20347±7	7999±13	38652±18	1041±18	39.84±0.36
ECMB	18.71±0.35	414±5	2607±7	18477±8	6565±12	36800±20	919±11	8.54±0.12
ECML	37.96±1.40	1185±7	10423±8	14200±13	4128±10	20946±15	876±10	5.51±0.09
ECMF	36.45±1.00	1151±9	3517±10	14590±15	3833±14	16624±17	3869±15	3.92±0.03
ECMM	50.11±1.10	1300±13	3304±4	19633±20	6209±18	26952±16	768±8	10.16±0.13

Sonuçlar (µg/kg ± RSD) olarak verilmiştir.

E. denticulata türü incelendiğinde Ba, Cu, Sr, ve Rb metal içerikleri diğer metal içeriklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Türün tohum kısmında Cu miktarı, kök kısmında Ba, Cr, Co, Ni, As, Cd, Cs, V, Ag ve Tl metallerin miktarı daha yüksek olduğu görülmektedir. Yaprak kısmında ise Se ve Pb derişimleri daha fazla olduğu tespit edilmiştir. *E. denticulata* türünün çiçek kısmında Zn miktarı daha fazla olduğu belirlenmiştir. Türün tohum kısmı diğer kısımlardan daha fazla metal içerdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.27.).

Çizelge 4.27. *E. denticulata* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu

Örnek	Ba	Cr	Co	Ni	As	Se	Cd	Pb
EDKS	2242±16	340±5	106±1	617±2	91±2	747±3	27.71±0.49	924±1
EDKR	33268±14	5744±2	362±1	1460±7	943±3	533±3	126±1	878±1
EDKB	18163±15	711±2	121±1	344±2	854±3	732±2	62±1	483±1
EDKL	11097±17	410±2	285±1	352±2	752±2	864±4	66±3	1461±1
EDKF	2407±18	435±1	195±3	697±5	157±2	754±4	53±2	582±1
EDKM	24906±12	2886±7	309±2	960±1	841±2	731±2	59±1	731±1

Örnek	Cs	V	Cu	Zn	Rb	Sr	Ag	Tl
EDKS	17.30±1.50	121±3	6837±7	29196±12	13426±10	131646±18	904±4	0.60±0.02
EDKR	193±2	4584±10	4784±6	17486±10	9978±12	264496±11	593±3	20.81±1.10
EDKB	34.11±0.36	270±3	3042±5	13144±11	16934±12	285422±12	812±2	2.14±0.04
EDKL	43.44±044	415±4	2965±2	20451±18	11441±17	298418±13	768±3	1.66±0.10
EDKF	28.78±0.72	244±2	5099±5	29354±11	18768±16	101924±10	726±6	3.57±0.20
EDKM	129±1	1473±13	4871±2	25175±16	18828±18	325285±31	817±7	8.52±0.52

Sonuçlar (µg/kg ± RSD) olarak verilmiştir.

E. aleppica türü incelendiğinde kök kısmında Cr, Co, Ni, As, Se, Cd, Pb, Cs, V, Rb ve Tl elementleri miktarı, yaprak kısmında Ba, Cu, Zn, Sr ve Ag elementleri miktarı, karışık kısmında ise Rb metal içeriğinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu tür genel olarak kök kısmı diğer kısımlarından daha fazla metal biriktirdiği tespit edilmiştir. (Çizelge 4.28.).

Çizelge 4.28. *E. aleppica* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu

Örnek	Ba	Cr	Co	Ni	As	Se	Cd	Pb
EADR	39309±27	8461±11	796±5	5577±14	246±3	635±3	110±2	1086±6
EADB	42512±42	1061±8	121±3	1014±15	93±2	307±3	50.84±2.47	409±3
EADL	75681±32	1381±20	577±8	1425±16	167±3	407±4	99±2	677±5
EADL1	20457±30	699±7	384±4	1092±11	75±1	558±3	48.60±1.72	215±2
EADM	45127±17	2399±10	442±5	1970±16	131±2	505±3	66±1	408±4

Örnek	Cs	V	Cu	Zn	Rb	Sr	Ag	Tl
EADR	145±2	4620±17	5063±12	29189±21	14126±18	29084±23	908±8	20.26±0.12
EADB	12.21±0.43	428±7	7074±15	22146±17	9016±15	38449±34	611±7	4.82±0.08
EADL	28.11±0.32	1267±10	4954±7	35691±23	8106±17	62279±29	1882±12	5.23±0.09
EADL1	14.34±0.12	574±9	8018±17	34603±16	8305±18	21738±30	1092±10	1.49±0.01
EADM	45.53±0.26	1683±16	4588±9	27717±12	9474±15	38574±47	713±9	6.82±0.05

Sonuçlar (µg/kg ± RSD) olarak verilmiştir.

E. eriophora türü incelendiğinde kök kısmında Cr ve V metalleri miktarı, yaprak üzerinde biriken toz kısmında Ba, Cr, Co, Ni, As, Se, Cd, Pb, Cs, V, Cu, Ag ve Tl metallerin miktarı, yaprak kısmında yalnız Zn metali mitarı karışık kısmında ise Sr metal içeriği daha fazla olduğu belirlenmiştir. *E. eriophora* türünün yaprakları üzerinde büyük ölçüde metal biriktirdiği görülmektedir. Bu türün biyomonitör olma potansiyeline sahip olduğu söylenilebilir (Çizelge 4.29.).

Çizelge 4.29. *E. eriophora* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu

Örnek	Ba	Cr	Co	Ni	As	Se	Cd	Pb
EEDR	27034±14	7436±5	595±7	4419±5	219±4	647±2	134±2	665±5
EEDB	35598±19	1846±7	153±6	1116±12	108±3	355±3	63±1	175±4
EEDL	25554±18	1130±4	387±3	1308±11	141±3	687±7	82±2	526±5
EEDL1	44847±36	17437±10	2973±5	17078±15	384±2	774±3	161±2	4043±17
EEDM	34625±48	2461±6	474±4	2314±14	109±2	330±2	69±1	774±6

Örnek	Cs	V	Cu	Zn	Rb	Sr	Ag	Tl
EEDR	98±1	3559±12	4584±4	19053±5	12289±35	21729±29	796±4	13.28±0.12
EEDB	17.84±1.12	632±8	3819±6	21520±9	9993±38	33412±17	681±3	3.56±0.08
EEDL	23.49±0.90	764±9	6623±6	57363±10	8995±30	29751±25	706±5	6.54±0.40
EEDL1	463±3	13638±34	7768±3	54470±10	11618±18	32807±39	2615±20	56±1
EEDM	42.57±1.23	1597±17	5533±8	46703±11	10744±40	33652±18	1210±12	7.80±0.33

Sonuçlar (µg/kg ± RSD) olarak verilmiştir.

E. grisophylla türü incelendiğinde tohum kısmında Cu ve Ag metalleri miktarı, kök kısmında Ba, Cr, Co, Ni, As, Cd, Pb, Cs, V, Zn, Rb, Sr ve Tl metallerin miktarı ve karışık kısmında ise Se metal içeriği daha fazla olduğu belirlenmiştir. *E. grisophylla* türünün kök kısmı diğer kısımlardan daha fazla metal içerdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.30.).

Çizelge 4.30. *E. grisophylla* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu

Örnek	Ba	Cr	Co	Ni	As	Se	Cd	Pb
EGVS	1334±18	483±1	245±2	1774±2	46,14±0,60	504±3	14.42±0.90	185±3
EGVR	64321±36	11985±10	1698±7	8498±9	478±1	444±2	479±6	6813±12
EGVB	5035±21	1588±12	253±2	1242±4	96±1	526±6	163±3	544±4
EGVL	6519±23	2679±8	555±4	1943±11	164±2	526±7	39.31±0.63	1065±8
EGVM	16617±17	5053±8	924±6	3877±6	460±4	601±5	152±4	2054±7

Örnek	Cs	V	Cu	Zn	Rb	Sr	Ag	Tl
EGVS	33.18±1.99	354±8	8635±17	37368±16	14343±12	13212±18	1842±19	1.80±0.04
EGVR	1237±16	10092±32	4307±13	40831±21	18325±11	64648±15	1018±18	159±5
EGVB	47.94±1.24	966±12	6226±11	28427±12	8838±19	40981±11	1046±17	10.12±0.45
EGVL	114±2	2222±34	4229±9	28506±13	8404±10	15176±17	735±6	16.81±0.21
EGVM	328±6	4289±45	4248±8	31608±14	10216±15	27005±23	677±5	41.46±0.32

Sonuçlar (µg/kg ± RSD) olarak verilmiştir.

E. seguieriana subsp. *seguieriana* türü incelendiğinde tohum kısmında Cu ve Ag metalleri miktarı, kök kısmında Ba, Cr, Co, Ni, As, Cd, Pb, Cs, V, Rb, ve Tl metallerin miktarı, yaprak kısmında Se ve Zn metallerin miktarı ve çiçek kısmında Ag metali miktarı daha fazla olduğu belirlenmiştir. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana* türünün kök kısmı diğer kısımlardan daha fazla metal içerdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.31.).

Çizelge 4.31. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu

Örnek	Ba	Cr	Co	Ni	As	Se	Cd	Pb
ESDS	2542±14	395±11	1377±19	4884±21	41.42±3.39	679±4	30.96±0.15	443±3
ESDR	47259±45	12195±27	1699±17	12209±41	1203±7	762±7	369±3	3801±17
ESDB	19740±35	2110±17	527±12	2637±16	364±4	493±5	143±2	1165±23
ESDL	16301±15	1623±20	3861±28	7202±23	608±13	959±10	302±5	352±8
ESDF	4419±16	478±12	2757±31	8937±34	78±3	554±4	68±1	445±9
ESDM	15310±18	1826±13	1774±17	4716±19	317±7	360±3	169±3	1375±14

Örnek	Cs	V	Cu	Zn	Rb	Sr	Ag	Tl
ESDS	9.48±0.58	170±4	5281±19	21283±54	3557±27	27016±24	2482±20	28.57±1.05
ESDR	553±6	11338±43	3925±18	24699±65	9999±27	122883±30	870±17	67±3
ESDB	44.19±1.35	1380±16	2311±19	11438±33	4403±12	106391±32	721±15	7.99±0.54
ESDL	57.02±1.57	1443±13	3501±39	29302±62	3651±19	133426±39	798±16	11.49±0.17
ESDF	14.59±0.81	304±5	5236±20	25608±16	3960±10	46474±28	1507±19	17.06±0.34
ESDM	52.46±1.33	1549±20	3246±28	14932±45	3924±11	94692±75	816±11	9.65±0.09

Sonuçlar (µg/kg ± RSD) olarak verilmiştir.

E. fistulosa türü incelendiğinde kök kısmında Ba, Cr, Co, Ni, As, Pb, Cs, V, Rb, Ag ve Tl metal miktarları, dal kısmında Cu miktarı, yaprak kısmında Sr metal miktarı ve çiçek kısmında ise Se, Cd ve Zn metaleri miktarı daha fazla olduğu tespit edilmiştir. *E. fistulosa* türünün kök kısmı diğer kısımlardan daha fazla metal içerdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.32.).

Çizelge 4.32. *E. fistulosa* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu

Örnek	Ba	Cr	Co	Ni	As	Se	Cd	Pb
EFDR	18811±45	12913±17	1095±16	10248±34	318±4	564±5	301±2	1660±18
EFDB	7247±16	2622±14	155±3	2365±17	66±1	812±6	270±1	291±8
EFDL	9612±17	1808±15	143±2	1598±18	120±2	985±6	561±4	380±7
EFDF	7483±13	1232±12	166±4	3457±34	66±1	1321±12	827±11	241±6
EFDM	7573±10	2158±28	161±2	2160±18	64±1	868±9	539±5	265±6

Örnek	Cs	V	Cu	Zn	Rb	Sr	Ag	Tl
EFDR	317±4	7507±34	21195±11	19154±22	5569±17	36919±30	30.53±1.88	32.44±1.40
EFDB	22.30±0.79	961±12	44488±45	10348±13	2685±15	36889±18	17.68±1.12	5.17±0.12
EFDL	32.45±0.85	1031±25	6297±24	29090±16	3573±24	92236±50	8.40±0.29	6.76±0.23
EFDF	21.07±0.73	724±14	6204±38	36801±18	3941±19	41631±38	11.01±0.45	3.11±0.04
EFDM	289±7	981±15	3870±16	17404±19	3546±25	46827±32	7.96±0.07	4.51±0.06

Sonuçlar (µg/kg ± RSD) olarak verilmiştir.

Malatya ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde kök kısmı Cr, Co, As, Cd, Pb, Cs, V ve Tl metalleri miktarı, dal kısmında Ba, Sr ve Ag metalleri miktarı, yaprak kısmında Ni metali miktarı, çiçek kısmında ise Se, Cu, Zn ve Rb metalleri miktarı daha fazla olduğu belirlenmiştir. Genel olarak Malatya ilinden toplanan *E. macroclada* türüne bakıldığında kök kısmının metal içeriği daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.33.).

Çizelge 4.33. Malatya'dan toplanan *E. macroclada* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu

Örnek	Ba	Cr	Co	Ni	As	Se	Cd	Pb
EMMR	22250±22	9781±27	680±7	3606±18	135±4	423±2	252±2	1079±8
EMMB	52595±50	572±10	303±6	1490±22	37.52±1.25	605±4	210±1	482±7
EMML	7888±33	1278±14	224±4	9866±36	52.71±1.10	528±4	96±1	283±3
EMMF	3191±19	2064±17	175±2	2337±19	60±1	847±7	157±2	394±4
EMMM	25107±25	1250±15	177±3	1513±12	62±1	688±4	167±3	373±5

Örnek	Cs	V	Cu	Zn	Rb	Sr	Ag	Tl
EMMR	308±5	3863±12	3356±18	20433±42	8047±27	54122±39	795±6	42.49±1.84
EMMB	20.73±1.08	348±3	3379±22	22866±48	8056±34	160593±21	968±12	6.20±0.04
EMML	24.42±0.37	426±7	1895±20	25723±40	3118±10	81623±25	753±15	4.54±0.08
EMMF	44.49±1.01	664±8	7768±23	39102±34	10348±18	27714±32	876±16	3.41±0.04
EMMM	49.85±1.90	757±9	3707±13	30760±31	9922±16	95761±35	897±9	7.93±0.15

Sonuçlar (µg/kg ± RSD) olarak verilmiştir.

Diyarbakır ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde tohum kısmında Ag, Cu, Rb ve Zn metalleri, kök kısmında Cr, Ni, As, Cd, V ve Tl metalleri, dal kısmında Ba ve Sr metalleri, yaprak kısmında Co ve Pb metalleri ve karışık kısmında ise Se ve Cs metalleri miktarının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Türe genel olarak bakıldığında tohum ve kök kısımlarında daha fazla metal biriktirdiği görülmektedir (Çizelge 4.34.).

Çizelge 4.34. Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu

Örnek	Ba	Cr	Co	Ni	As	Se	Cd	Pb
EMDS	1904±17	255±1	417±2	5076±5	33.55±0.75	448±3	37.46±0.72	99±1
EMDR	22601±25	5380±5	642±4	4847±5	75±1	384±3	110±2	1107±12
EMDB	22953±23	866±4	190±1	2046±4	35.02±0.20	457±4	62±1	131±2
EMDL	9475±17	1009±5	820±3	2579±4	60±2	472±2	79±1	1634±16
EMDM	12028±15	1161±6	481±2	2878±3	58±1	764±3	69±1	402±5

Örnek	Cs	V	Cu	Zn	Rb	Sr	Ag	Tl
EMDS	7.40±0.07	172±1	5558±15	38362±10	5074±10	9294±16	1102±10	1.84±0.02
EMDR	35.84±0.40	2875±5	3583±13	12331±13	2972±10	33413±12	815±13	8.69±0.03
EMDB	9.31±0.64	416±2	2297±10	16570±20	3609±21	35274±17	1029±10	2.11±0.02
EMDL	10.91±0.98	517±3	2833±12	18703±21	2983±20	28135±27	899±14	1.70±0.06
EMDM	13.46±0.62	716±1	3161±16	16789±27	3456±15	28085±26	800±9	1.98±0.06

Sonuçlar (µg/kg ± RSD) olarak verilmiştir.

Van ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde tohum kısmında Cu metali, kök kısmında Ba, Cr, Co, Ni, As, Pb, Cs, V, Zn, Rb, Sr ve Tl metalleri, yaprak kısmında Se metali, çiçek kısmında Ag metali ve karışık kısmında ise Cd metali miktarının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Türe genel olarak bakıldığında kök kısımında daha fazla metal biriktirdiği görülmektedir (Çizelge 4.35.).

Çizelge 4.35. Van'dan toplanan *E. macroclada* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu

Örnek	Ba	Cr	Co	Ni	As	Se	Cd	Pb
EMVS	310±1	213±2	156±1	604±3	11.04±0.96	608±5	5.14±0.06	71±2
EMVR	42541±15	12329±20	1363±16	9215±12	463±3	545±4	99±1	2842±19
EMVB	4298±17	755±7	124±1	1280±13	43.02±1.04	707±7	14.23±0.92	278±4
EMVL	2865±17	1270±20	1188±14	2553±17	112±2	831±8	14.81±0.02	380±5
EMVF	4250±12	1451±12	540±8	2579±16	110±1	719±5	22.23±0.98	738±7
EMVM	4021±12	1493±10	491±3	2376±10	119±4	730±6	172±3	966±8

Örnek	Cs	V	Cu	Zn	Rb	Sr	Ag	Tl
EMVS	15.66±1.05	52±1	4130±13	12107±33	8009±12	3449±14	866±16	1.76±0.02
EMVR	673±4	6807±12	4038±22	21604±19	12226±27	53139±20	888±11	79±2
EMVB	26.76±0.75	300±1	2555±16	9786±16	5026±14	32691±10	867±17	6.29±0.07
EMVL	51.02±1.27	807±9	3165±13	13438±24	5730±20	21641±27	758±12	8.83±0.50
EMVF	66±2	1180±14	3937±18	16823±15	12080±14	19196±18	1567±18	8.10±0.38
EMVM	49.33±1.14	777±11	3668±10	12602±17	7106±12	22044±20	857±11	6.38±0.44

Sonuçlar (µg/kg ± RSD) olarak verilmiştir.

Trabzon ilinden toplanan *E. macroclada* türü incelendiğinde tohum kısmında Cu, Pb ve Ag metalleri, kök kısmında Cr, As, Cs ve V metalleri, dal kısmında Ba, Se Sr ve Cd metalleri, yaprak kısmında Co, Zn ve Tl metalleri ve çiçek kısmında Ni ve Rb metalleri miktarının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Türe genel olarak bakıldığında kısımlar arasında metallerin derişimleri farklılık gösterdiği görülmektedir (Çizelge 4.36.).

Çizelge 4.36. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada* türünün kuru kütlesindeki metal konsantrasyonu

Örnek	Ba	Cr	Co	Ni	As	Se	Cd	Pb
EMTS	5223±41	444±3	322±4	1169±23	28.65±1.34	264±4	68±1	5396±18
EMTR	53541±23	1982±12	268±3	948±16	370±2	748±5	269±8	1046±21
EMTB	53635±32	728±7	124±2	825±18	71±1	909±16	328±5	729±9
EMTL	13716±25	576±6	931±5	742±4	104±2	654±11	84±2	684±7
EMTF	2106±24	229±3	362±3	1458±12	40.03±1.53	263±9	35.54±2.32	797±5
EMTM	20895±48	753±6	620±4	794±7	144±4	715±11	125±2	928±8

Örnek	Cs	V	Cu	Zn	Rb	Sr	Ag	Tl
EMTS	3.64±0.02	76±1	9640±17	45969±26	1513±19	23523±56	1401±14	2.02±0.06
EMTR	31.27±2.19	949±6	8046±24	26948±27	1831±18	28953±50	833±13	7.79±0.41
EMTB	9.59±0.19	308±3	2696±13	38951±45	1614±17	36533±45	1006±12	3.36±0.12
EMTL	15.80±1.23	496±4	4004±17	79547±58	1610±13	27175±48	789±6	12.81±1.12
EMTF	4.49±0.25	101±2	9172±15	43875±45	2923±21	10798±47	753±7	4.38±0.23
EMTM	14.68±1.55	451±2	4759±20	48516±42	2002±14	21413±49	886±9	9.48±0.73

Sonuçlar (µg/kg ± RSD) olarak verilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında *Euphorbiaceae* familyasına ait olan 9 farklı *Euphorbia* türlerinin (E. *aleppica, E. eriophora, E. macroclada, E. grisophlla*, *E. seguieriana* subsp. *seguieriana, E. craspedia, E. denticulata, E. fistulosa ve E. falcata*) (tohum, kök, dal, yaprak, çiçek ve karışık gibi bitki kısımlarından ayrı ayrı), metanol ekstreleri hazırlanmıştır. Ekstreler kimyasal içerik ve biyolojik aktiviteleri açısından ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir.

Bitkilerin metanol ekstrelerinin LC-MS IT- TOF cihazı ile genel bir metabolit taraması yapılmış olup bu bileşen gruplarının bir kısmının (kinik asit, protokateşik asit, rutin, hesperidin, eugenol, p-kumarik asit, piceatannol, skopoletin, kavain, krisofanik asit ve resiniferatoksin) LC-MS/MS ile miktarsal tayinleri için metot geliştirilmiştir. Bunun yanı sıra LC-MS/MS cihazı ile 27 bileşikten oluşan başka bir metodla da kimyasal içeriği taranmıştır. Petrol eteri ekstresinin yağ asidi bileşimi GC-MS ile belirlenmiştir. Bu türlerin çeşitli kısımlarının ICP-MS ile ağır metallerinin kantitatif tayini yapılmıştır. Ayrıca, bu ekstrelerin DPPH serbest radikali giderim aktivitesi, ABTS katyon radikal giderim aktivitesi, β-karoten lipit peroksidasyon test sistemi ve CUPRAC bakır indirgeme kapasitesi yöntemleriyle antioksidan aktiviteleri, Ellman yöntemi ile antikolinesteraz aktiviteleri incelenmiştir. Bu çalışmalara ek olarak, pirokatekole eşdeğer toplam fenolik içeriği ile kersetine eşdeğer toplam flavonoid içeriği belirlenmiştir. Çalışmanın diğer kısmında da çalışılan dokuz farklı *Euphorbia* türünün toprak üstü kısımlarının metanol ekstrelerinin L929 Fibroblast (Sağlıklı hücre) ve kanserli kolon DLD-1 hücre serilerine karşı sitotosik aktiviteleri incelenmiştir.

Genel olarak çalışılan tüm türlerin total fenolik içeriklerinin toplam flavonoid içeriklerinden yüksek olduğu görülmektedir. Çalışılan türlerin oldukça yüksek bir total fenolik içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Özellikle Diyarbakır'dan toplanan EMDS ekstresinin toplam fenolik içeriğinin çok yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ECMS, EDKS, EDKR, EDKL, EDKF, EADL, EEDL1, EFDM, EGVS, EGVR, EGVL, EGVM, ESDR, ESDL, ESDF, ESDM, EMDR, EMDL, EMDM, EMTB, EMTL, EMTF ve EMTM ekstrelerininde total fenolik içeriği bakımından oldukça zengin olduğu belirlenmiştir. Total flavonoid içeriğine bakıldığında EMDS ekstresinin en yüksek

içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Bütün ekstreleri karşılaştırdığımızda özellikle çalışılan türlerin tohum ve yaprak kısımlarından hazırlanan ekstrelerin genel olarak total fenolik içerik bakımından diğer kısımlardan daha zengin olduğu görülmektedir. Farklı illerden toplanan *E. macroclada*'nın hem fenolik hemde flavonoid içerik bakımından oldukça farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Buda iklim şartları ve toprak yapısı gibi faktörlerin total fenolik ve flavonoid içeriği üzerinde büyük bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Genel olarak çalışılan tüm tür ve ekstrelerin β-karoten renk açılım yöntemine göre aktivitelerinin ABTS katyon radikali giderim, DPPH serbest radikali giderim yöntemlerine göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Tüm tür ve ekstrelerin içinde β-karoten renk açılım yöntemine göre EDKB ve ESDL ekstrelerinin (IC_{50} 12.67±0.11 ve 10.41±0.93 sırasıyla), DPPH serbest radikali giderim yöntemine göre EGVS ve EGVR ekstrelerinin (IC_{50} 1.70±0.02 ve 0.79±0.01 sırasıyla), ABTS katyon radikali giderim yöntemine göre ise EGVS ve EGVR ekstrelerinin (IC_{50} 8.93±0.02 ve 9.16±0.01 sırasıyla) en aktif olduğu tespit edilmiştir. Çalışılan türler arasında β-karoten renk açılım yöntemine *E. denticulata*, DPPH serbest radikali giderim yönteminde *E. grisophylla,* ABTS katyon radikali giderim yönteminde yine *E. grisophylla,* CUPRAC yönteminde ise *E. grisophylla* ve *E. eriophora* türlerinin diğer türlere göre daha aktif olduğu tespit edilmiştir. Kısımları kendi içinde karşılaştırdığımızda kullanılan tüm antioksidan yöntemlerde genel olarak yaprak ve tohum kısımlarının diğer kısımlara göre daha aktif olduğu görülmektedir. Farklı lokalitelerden toplanan *E. macroclada* türlerinin aktivitelerine baktığımızda Diyarbakır'dan toplanan örneğin β-karoten renk açılım yönteminde, DPPH serbest radikali giderim yönteminde ve ABTS katyon radikali giderim yönteminde daha aktif olduğu belirlenmiştir. CUPRAC yöntemine göre ise Trabzon'dan toplanan örneğin daha aktif olduğu tepit edilmiştir. Toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinde olduğu gibi iklim şartları ve toprak yapısı gibi faktörlerin antioksidan aktiviteleri ve bileşenler üzerinde oldukça etkili olduğu görülmektedir. Genel olarak *Euphorbia* türlerinin ciddi bir antioksidan potansiyellerinin olduğu görülmektedir. Bu nedenle genel olarak türlerin toplam fenolik içeriği ile antioksidan kapasitelerinin paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Çalışılan tür ve kısımları içinde *E.fistulosa* dışındaki tüm ekstrelerin asetilkolinesterez inhibisyonu göstermediği tespit edilmiştir. Bütirilkolinesteraz inhibisyonu yönteminde düşük olmakla beraber *Euphorbia* türlerinin bir bütirilkolinesteraz potansiyele sahip olduğu söylenebilir. özellikle antikolinesterez inhibisyonu yönteminde aktif olan *E.fistulosa* türünün orta derecede Bütirilkolinesteraz inhibisyonu gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle EFDR eksresinin (inhibisyon % 77.63±0.60) oldukça aktif olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak *Euphorbia* türlerinin antioksidan potansiyele oranla daha düşük bir antikolinesterez içeriğe sahip olduğu söylenebilir.

Çalışılan türlerin metanol ekstrelerinden özellikle ECMM, EDKM, EMVM ve EFDM ekstrelerinin yüksek konsantrasyonlarda canlı fibroblast hücre serisi üzerinde stotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle EFDM ekstresinin tüm konsantrasyonlarda stotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışılan ekstrelerden ECMM, EFDM1, EMVM ve EFDM ekstrelerinin yüksek derişimlerde kanserli DLD-1 hücre serisine karşı yüksek stotoksik aktivite gösterdiği diğer ekstrelerin ise düşük ve orta derecede aktivite gösterdiği balirlenmiştir. Özellikle EFDM ekstresi canlı hücre serisi üzerinde hiç stotoksik etki göstermeyip kanserli hücre serisi üzerinde çok yüksek sitotoksik etki göstermesi daha detaylı çalışmalar için önemli bir bulgu teşkil etmektedir.

Çalışılan türlerin yağ asidi içeriğine baktığımızda özellikle ECMM ve EMVM ekstrelerinin doymamış yağ asitlerince, EEDM ve EMDM ekstrelerinde doymuş yağ asitlerince zengin olduğu tespit edilmiştir.

Çalışılan *Euphorbia* türleri için fitokimyasal 11 bileşenden oluşan bir metod geliştirilerek LC-MS/MS ile miktar tayinleri yapılmıştır. Bu metoda ait tüm analitik parametreler ortaya konmuştur. Miktar sonuçlarına baktığımızda, çalıştığımız türlerin hemen hemen hepsinin kinik asit, rutin, hesperidin, eugenol, p-kumarik asit ve skopoletin bileşikleri tespit edilmiştir. Ayrıca tüm türlerin kavain, krisofanik asit ve resiniferatoksin bileşenlerini içermediği tespit edilmiştir. Aynı zamanda hazırlanan tüm ekstrelerin içeriği gurubumuz tarafından geliştirilen 27 bileşikten oluşan metoda görede taranmıştır. Miktar sonuçlarına baktığımızda çalışılan türlerin özellikle Kinik asit, malik

asit ve tannik asit içeriği bakımından zengin olmalarının yanı sıra rutin, hesperidin ve hiperosid bakımından da zengin oldukları belirlenmiştir.

HPLC-IT-TOF cihazı ile yapılan tarama çalışmalrında 180 farklı sekonder metabolit tespit edilmiştir. Molekül formülleri tespit edilen bileşiklerin literatür taraması ile tahmini isimleri Çizelge 4.26.'da verilmiştir.

Çalışılan *Euphorbia* türleri metal içerikleri bakımından kıyaslandığında; V, Tl, Cr ve Ni metalleri *E. eriophora* türünde, Ba metali *E. aleppica* türünde, As ve Co metalleri *E. segıieriana* türünde, Ag ve Se metalleri *E. craspedia* türünde, Cu ve Cd metalleri *E. fistulosa* türünde, Cs ve Pb metalleri *E. grisophylla* türünde, Zn metali Trabzon'dan toplanan *E. macroclada* türünde, Rb ve Sr metalleri ise *E. denticulata* türünde daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Bitki droglarının metal tosik limit değerleri Çizelge 2.4'te verilmiştir. Çalıştığımız türlerin (Çizelge 4.27-36.) metal içeriklerine baktığımızda literatürdeki değerlerden daha yüksek olduğu ve bu nedenle *Euphorbia* türlerinin peyzaj mimarisinde biyomonitör olma potansiyellerinin olduğu söylenebilir.

6. KAYNAKLAR

Ahmad, V.U., Jassbi, A.R., Parvez, M. 1998. Three New Diterpene Esters from Euphorbia decipiens. ***Tetrahedron,*** 54: 1573-1584.

Akgüç, N., Özyiğit, I.I., Yaşar, U., Leblebici, Z., Yarci, C. 2010. Use of *Pyracantha coccinea* Roem. as a possible biomonitor for selected heavy metals. ***Int. J.Environ Sci. Tech.,*** 7(3): 427-434.

Akhgar, M. R., Rajaei, P., Aieen, S. 2014. Constıtuents of the Essentıal oil of *Euphorbia hebecarpa.* ***Chemistry of Natural Compounds,*** 50: 5.

Akyüz, D. 2006. Kur'an-ı Kerim'de Besinler ve Şifa. Altın Burç Yayınları, Sayfa 60-64. İzmir.

Anggärd, E. 1994. Nitric oxide: Mediator, murderer and medicine. The Lancet, 343, 1199-1206.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry,*** 52: 7970-7981.

Arnon, D. I., Stout, P.R., 1939. The essentiality of certain element in minute quantity for plants with special reference to copper. ***Plant Physiol,*** 14: 371-375.

Ashraf, A., Sarfraz, R. A., Rashid, M. A., Shahid, M. 2014. Antioxidant, antimicrobial, antitumor, and cytotoxic activities of an important medicinal plant (*Euphorbia royleana*) from Pakistan. ***Journal of Food and Drug Analysis,*** 23(1): 109-115.

Atinafu, T., Mekonnen, T., Somasundaram, J. 2015. Determination of some toxic heavy metal accumulation in medicinal plants commonly used in Gondar area district, Northwestern Ethiopia. ***International Journal of Pharmacy and Analytical Research,*** 4(4): 399-405.

Aynehchi. Y., Hakimzadeh, M.Z. 1978. Chemical examination of *Euphorbia falcata* L. Q. ***J. Crude Drug Res,*** 16: 121-124.

Bağcı, E. 2007. Fatty acid and tocochromanol patterns of two *Euphorbia* species (*E. orientalis* L. and *E. macroclada* Boiss). ***International Journal of science and technology,*** 2: 93-98.

Barak, P. 1999. Essential elements for plant growth. Dept. of Soil Science, Universtiy of Wisconsin, Madison, USA.

Barla, A., Öztürka, M., Kültür, Ş., Öksüz, S. 2007. Screening of antioxidant activity of three *Euphorbia* species from Turkey. ***Fitoterapia,*** 78: 423–425.

Bauer K.H. And Schenkel P. 1928. Arch. Pharm., 266: 633.

Baytop T. 1963. Türkiye'nin Zehirli Ve Tıbbi Bitkileri, İstanbul.

Baytop, T. 1984.Türkiye'de Bitkilerle Tedavi, İstanbul Üniversitesi Yayınları.

Baytop, T. 1997.Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Türk Dil Kurumu Yayınları. Sayfa: 253. Ankara.

Benkeblia, N. 2005. Free- radikal scavenging capacity and properties of some selected onions (Allium cepa L.) and garlic (Allium sativum L.) extracts. An International Journal, 48: 753-759.

Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. ***Nature,*** 181, 1199-1200.

Brohi, A., Akgün, A., Rüştü M. ve Sabit K.E. 1994. Bitki Besleme. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları:4 Kitaplar Serisi:4 Tokat.

Brumutt, R.K. 1992. 'Vascular plant families genera', Royal Botanic Gardens, KEW.

Buchanan, B.B., Schurmann, P., Decottignies, P.T. ve Lozano, R.M. 1994. Perspectives in biochemistry and biophysics: thioredoxin: a multifunctional regulatory protein with a bright future in tecnology and medicine. ***Archives of Biochemistry and Biophysics,*** 314: 257-260.

Buszewskı B., Szultka M. 2012. Past, present, and future of solid phase extraction: A review. ***Critical Reviews in Analytical Chemistry,*** 42: 198–213.

Cao, G., Prior, R. L. 1999. The measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. ***Methods in Enzymology,*** 299: 50-62.

Casio, M. S., Burotti, S., Mannino, S., Benedetti, S. 2006. Use of an electrochemical method of the evaluate the antioxidant activity of herb extracts from Labiatae family, ***Food Chem,*** 97:725-731.

Chiu, C.M., Muddiman, D.C. 2008. What is Mass Spectrometry?, American Society for Mass Spectrometry, http://www.asms.org/whatisms.

Cook, N.C. ve Saman, S. (1996). Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. ***The Journal of Nutritional Biochemistry,*** 7: 66-76.

Coulier, L., Bas, R., Jespersen, S., Verheij, E., van der Werf, M. J., Hankemeier, T. 2006. Simultaneous quantitative analysis of metabolites using ion-pair liquid chromatography Electrospray ionization mass spectrometry ***Analytıcal Chemıstry,*** 78(18): 6573-5682.

Cragg, G.M., Newman, D.J., Snader, K. 1997. Natural products in drug discovery and development. ***Journal of Natural Products,*** 60: 52–60.

Cui, J., Yang, X., Dong, A., Cheng, D., Wang, J., Zhao, H., Xu, R., Wang, P., Lı, W. 2011. Chemical composition and antioxidant activity of *Euphorbia fischeriana* essential oil from China. ***Journal of Medicinal Plants Research,*** 5(19):4794-4798.

Çelik, A., Kartal, A., Akdoğan, A., Kaska, Y. 2005. Determining the heavy metal pollution in Denizli (Turkey) by using *Robinio pseudo-acacia* L. ***Environment International***, 31: 105-112.

Çepel, N. 1997. Toprak Kirliliği Erozyon ve Çevreye Verdiği Zararlar. TEMA Türkiye Erozyonla Mücadele, Ağaçlandırma ve Doğal Varlıkları Koruma Vakfı Yayınları No:14 İstanbul.

Dhhs, U.S. 2003. Department of Health and Human Services. Report on Carcinogens Background Document for Lead and Lead Compounds. http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/newhomeroc/roc11/Lead-Public.pdf.

Duarte, N., Kayser, O., Abreu, P., Ferreira, M.J. U. 2008. Antileishmanial Activity of Piceatannol Isolated from Euphorbia lagascae Seeds. ***Phytotherapy Research,*** 2: 455–457.

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. ve Featherston, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology,* **7**, 88–95.

Engin, A. 1991.Tohumlu Bitkiler Sistematiği, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları, sayfa: 191. Samsun.

Erenberk, H. 1998. Üçüz Çiçeğinin (Euphorbia marginata Pursh.) Süs Bitkisi Olarak Özelliklerinin Saptanmasına İlişkin bir Araştırma. Ekoloji, 26: 6-8.

Ertas, A., Yilmaz, M. A., Firat, M. 2014. Chemical profile by LC–MS/MS, GC/MS and antioxidant activities of the essential oils and crude extracts of two Euphorbia species. ***Natural Product Research,*** 29(6): 529–534.

Eugster, P. 2014. Strategies for High Resolution Profiling of Natural Extracts: UHPLC-MS and Physicochemical Approaches for Early Metabolite Identification. pHd Thesis, Science Faculty, Geneva. 33.

Evans F.J. and Taylor S.E. 1983. prog. Chem. Org. ***Nat. Prod***., 44: 1-99.

Farozi, A., Banday, J. A., Shah, S.A. 2015. Genicunolide A, B and C: three new triterpenoids from *Euphorbia geniculata.* ***Beilstein Journal of Organic Chemistry,*** 11: 2707-2712.

Feizbakhsh, A., Bighdeli,M., Tehrani, M.S., Rustaiyan, A., Masoudi, S. 2004. Chemical Constituents of the Essential Oil of Euphorbia teheranica Boiss., a Species Endemic to Iran. ***Journal of Essential Oil Research,*** 16: 40-41.

Fırat, M., Karavelioğulları, F. A., Aziret A. 2015. Geophytes of East Anatolia (Turkey) Manas. ***Journal of Agriculture and Life Sciense MJAL***, 5 (1): 38-53.

Fluckıger F.A., 1868. Arch. Parm., 184-249.

Frohne, D. and Pfander, H.J. 2005. Poisonous Plants. Translated by: Inge Alford, Camridge, Manson Publishing, Sh. 469.

Gao, J., Chen, Q.B., Liu, Y.Q., Xin, X.L., Yili, A., Aisa, H.A. 2016. Diterpenoid constituents of Euphorbia macrorrhiza. ***Phytochemistry,*** 122: 246-253.

Gotti R. 2011. Capillary electrophoresis of phytochemical substances in herbal drugs and medicinal plants, ***J. Pharm. Biomed. Anal,.*** 55: 775–801.

Güven, K. 1999. Biyokimyasal ve Moleküler Toksikoloji, Dicle Üiversitesi Basım Evi, Diyarbakır.

Ha, Y., Tsay, O.G., Churchıll, D.G. 2011. A tutorial and mini-review of the ICP-MS technique for determinations of transition metal ion and main group element concentration in the neurodegenerative and brain sciences. ***Monatsh Chem.,*** 142:385–398.

Hajar, E.W. I., Sulaiman, A, Z.B., Sakinah, A. M. M. 2014. Assessment of Heavy Metals Tolerance in Leaves, Stems and Flowers of Stevia rebaudiana Plant. ***Procedia Environmental Sciences***, 20: 386 – 393.

Halliwell, B. 1994. Free radicals and antioxidants: A personal view. Nutrition Reviews, 52, 253-265.

Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M.C. (1989). Free Radicals in Biology and Medicine. (2nd ed.), Oxford: Clarendon Press, pp. 543.

Hambueger M., Dudar G., Nair A.G.R., Jayaprakasam R., Hostettmann K. 1989. ***Phytochemistry***, 28: 1767.

Hartwell J.L. 1965. Plants Againts Cancer, A Survey Lloydia, 32: 153-205.

Hecker E. 1977 Pure Application Chemistry, 49: 1423.

Hoffman, J., Vasas, A., Günter, G., Dombi, Gy., Blazso, G., Falkay, Gy., Mathe, I., ve Jerkovich, Gy., 1999. Jatrophane Diterpenoids from E. peplus. Phytochemistry, 51: 673- 677.

Howes, M. J. R., Perry, N. S. L., Houghton, P. J. 2003. Plants with traditional uses activities, relevant to the management of Alzheimer's disease and cognitive disorders. ***Phytotherapy Research,*** 17: 1-18.

Hsu, T.Y., Sheu, S.C., Liaw, E.T., Wang, T.C. ve Lin, C.C. 2005. Antioxidant activity and effect of Pinus morrisonicola on the survival of leukemia cell line U937. Phytomedicine, 12: 663–669.

Hudson, B.J.F. 1990. Food Antioxidants. London and New York: Elsevier Applied Science pp.: 1-316.

Jassbi, A. R. 2006. Chemistry and Biological Activity of Secondary Metabolites in Euphorbia from Iran. ***Phytochemistry,*** 67: 1977-1984.

Jeske, F., Jakupovic, J., ve Berendsohn, W. 1995. Diterpenoids from *Euphorbia seguieriana*. ***Phytochemistry,*** 40 (6): 1743-1750.

Karimi, A., Kamalabadi, M.M., Kopaei, M.R., Amjad, L., Salimzadeh, L. 2016. Determination of antioxidant activity, phenolic contents and antiviral potential of methanol extract of *Euphorbia spinidens* Bornm (Euphorbiaceae). ***Tropical Journal of Pharmaceutical Research,*** 15 (4): 759-764.

Keleştemur, G. T., Özdemir, Y. 2011. Balıklarda antioksidan savunma ve oksidatif stres. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 4(1): 69-73.

Khan, M.S.2016. Image of herbarium specimen held at Royal Botanic Garden Edinburgh, Erişim: [http://eol.org/data_objects/16099491]. Erişim Tarihi:12.12.2016.

Kılıç, T., Dirmenci, T., Gören, A.C. 2007. Chemotaxonomic evaluation of species of Turkish Salvia: Fatty acid composition of seed oils. II, ***Records of Natural Products.*** 1, 17-23.

Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. ***Food Chemistry,*** 85: 633–640.

Lanhers M.C., Fleurentın J., Cabalıon P., Dorfman P., Pelt J.M., 1990. Behavıoral-effects of euphorbıa-hırta l - sedatıve and anxıolytıc propertıes, ***Journal of Ethnopharmacology,*** 29(2): 189-98.

Lanhers, M.C., Fleurentin, J., Dorfman P., Mortier F., Pelt J.M. 1991. Analgesıc, antıpyretıc and antıınflammatory propertıes of *Euphorbıa-hırta*, ***Planta Medıca,*** 57(3): 225-231.

Li, S.P., Zhao, J., Yang, B. 2011. Strategies for quality control of Chinese medicines, ***J. Pharm. Biomed. Anal.*** 55: 802–809.

Liang, Y., Hao, H., Kang, A. 2010. Qualitative and quantitative determination of complicated herbal components by liquid chromatography hybrid ion trap time-of-flight mass spectrometry and a relative exposure approach to herbal pharmacokinetics independent of standards. ***Journal of Chromatography A,*** 1217: 4971–4979.

Lin, H. Q., Ho, M. T., Lau, L. S., Wong, K. K., Shaw, P. C. ve Wan, D. C. C. 2008. Anti-acetylcholinesterase activities of traditional Chinese medicine for treating Alzheimer's disease. ***Chemico-Biological Interactions,*** 175: 352–354.

Lin, J., Dou, J., Xu, J., Aisa, H.A. 2012. Chemical Composition, Antimicrobial and Antitumor Activities of the Essential Oils and Crude Extracts of *Euphorbia macrorrhiza.* ***Molecules***, *17*: 5030-5039.

Liu, H. P., Shi, X. F., Zhang, Y. C., Li, X. Z., Zhang, L., Wang , Z. Y. 2011. Quantitative Analysis of Quercetin in *Euphorbia helioscopia* L by RP-HPLC. ***Cell Biochem Biophys,*** 61: 59–64.

Liu, Z.Y., Zhou, X.N., Zhang, H.H. 2011. An integrated method for degradation products detection and characterization using hybrid ion trap/time-of-flight mass spectrometry and data proces- sing techniques: application to study of the degradation products of danofloxacin under stressed conditions, ***Anal. Bioanal. Chemistry,*** 399: 2475–2486.

Luo, B., Groenke, K., Takors, R., Wandrey, C., Oldiges, M. 2007. Simultaneous determination of multiple intracellular metabolites in glycolysis, pentose phosphate pathway and tricarboxylic acid cycle by liquid chromatography–mass spectrometry, ***Journal of Chromatography A,*** 1147: 153–164.

Macrea W.D., Hudson J.B., and Towers G.H.N. 1988. Studies on the Pharmacological Activity of Amazonian Euphorbiaceae. ***J. Etnopharmacol***. 22: 143

Marston, A., Hostettmann, K. 2009. Natural product analysis over the last decades, ***Planta Med.*** 75: 672–682.

McChesney, J.D., Venkataraman, S.K., Henri, J.T. 2007.Plant natural products: back to the future or into extinction? ***Phytochemistry*** 68: 2015–2022.

Miller, H.E. 1971. A simplified method for the evaluation of antioxidants. ***Journal of the American Oil Chemist's Society,*** 48, 91.

Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M. ve Houghton, P.J. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plants. ***Phytomedicine*****,** 14: 289-300.

Munro, B., Vuong, Q.V., Chalmers, A.C., Goldsmith, C.D., Bowyer, M.C., Scarlett, C.J. 2015. Phytochemical, Antioxidant and Anti-Cancer Properties of *Euphorbia tirucalli* Methanolic and Aqueous Extracts. ***Antioxidants,*** 4: 647-661.

Mwine, J. T. ve Damme, P. V. 2011. Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features. ***Journal of Medicinal Plants Research*** 5(5):652-662.

Nazemiyeh, H., Kazemi, E.M., Zare, K.,Jodari, M., Nahar, L., Sarker, S.D. 2010. Free radical scavengers from the aerial parts of *Euphorbia petiolata.* ***J. Nat. Med,*** 64: 187-190.

Ndam, L.M., Mih, A.M., Tening, A.S., Fongod, A.G.N., Temenu, N.A., Fujii, Y. 2016. Phytochemical analysis, antimicrobial and antioxidant activities of *Euphorbia golondrina* L.C. Wheeler (*Euphorbiaceae* Juss.): an unexplored medicinal herb reported from Cameroon. ***SpringerPlus*****,** 5:264.

Newman, D.J., Cragg, G.M. 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. ***J. Nat. Prod.***, 70: 461–477.

Nriogo, J.O. 1979. Global inventory of natural and anthropogenic emissions of trace metals to the atmosphere. ***Natur,e*** 279: 409-411.

Okcu M., Tozlu E., Kumlay A.M., Pehluvan M. 2009. Ağır Metallerin Bitkiler Üzerine Etkileri, 17 (B): 14-26.

Olıveıra E.D. 2003. Sample preparation for atomic spectroscopy: Evolution and Future Trends. ***J. Braz. Chem. Soc.,*** 14(2):174-182.

Orhan, İ. 2002 Türkiye'de Yetişen Bazı Bitkilerin Asetilkolinestereaz İnhibitörü Aktiviteleri Yönünden İncelenmesi. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bil. Enst. Ankara, 165

Öksüz, S., Gürek, F., Gıl, R. R., Pengsuparp, T., Pezzuto,J.M., Cordell, G.A. 1995. Four Diterpene Esters from *Euphorbia myrsinites.* ***Phytochemistry,*** 38(6): 1457-1462.

Öksüz, S., Gürek, F., Wei Yang, S., Ze Lin, L., Cordell, G.A., Pezzuto, J.M., Wagner, H., Lotter, H. 1997. Paralinones A and B, Novel Diterpene Esters from *Euphorbia paralias* ***Tetrahedron,*** 53(9): 3215-3222.

Öksüz, S., Gürek, F., Wei Yang, S., Ze Lin, L., Gıl, R. R., Pezzuto, J.M., Cordell, G.A., 1996. Aleppicatines A and B From *Euphorbia aleppica.* ***Phytochemistry,*** 42(2): 473-478.

ÖksÜz, S., Ulubelen, A., Barla, A., Kohlbau, H.J., Voelter, W. 1999. Triterpenoids and a diterpene from *Euphorbia iberica.* ***Planta Medica,*** 65(5): 475-477.

Öksüz, S., Ulubelen, A., Barla, A., Voelter, W. 2002. Terpenoids and aromatic compounds from *Euphorbia heteradena*. ***Turkish Journal of Chemistry***, 26(4): 457-463.

Öktüren, A.F., Sönmez, S., 2006. Ağır metal toksisitesinin bitki metabolizması üzerindeki etkileri, ***Derim,*** 23(2): 36-45.

Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R. 2011. The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. ***Trends in Analytical Chemistry,*** 30 (4): 652-664.

Packer, L. ve Cadenoas E. 2002. Oxidative Stress and Disease. Handbook of Antioxidants. 2nd Edn., New York, Basel, USA: Marcel Dekker, pp. 5-8.

Papas, A. M. 1996. Determinants of antioxidant status in humans. ***Lipids, 31***, 77–82.

Parkin, D.M. 2001. "Global cancer statistics in the year 2000", ***Lancet Oncology*****,** 2: 533-543.

Patel, A. V., Sumner, S., Thompson, H. L., Blunden, G., Wright, D., Liu, J. F., Zan, J. F. 2013. Headspace, Solid-phase Micro-extraction, Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Analysis of Terpenoids in the Latex of *Euphorbia* Species. ***Natural Product Communications,*** 8(1): 63-65.

Perumal,S., Mahmud, R., Piaru, S. P.,Lee, W. L., Ramanathan, S. 2013. Antiradical and Cytotoxic Activities of Varying Polarity Extracts of the Aerial Part of *Euphorbia hirta* L. ***Journal of Chemistry,*** 6.

Rao, R.N., Tallurı, M.V.N.K. 2007. An overview of recent applications of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in determination of inorganic impurities in drugs and pharmaceuticals. ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,*** 43: 1–13.

Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V. , Sahana, D. K., Kumar, M. N. V. R. 2006. Role of antioxidants in measurement. ***Trends in Analytical Chemistry,*** 30 (4): 652-664.

Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V. , Sahana, D. K., Kumar, M. N. V. R. 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. ***Journal of Controlled Release*****,** 113: 189–207.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. ***Free Radical Biology and Medicine,*** 26: 1231-1237.

Reische, D.W., Lillard, D.A. ve Eitenmiller, R.R. 2002. Oxidation. Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology, New York: Marcel Dekker Inc., pp. 335-542.

Rizk, A.M., Hammuda, MM., El- Mıssıry, HM., Radwan, M. ve Evans, FJ., 1985. Biologically Active Diterpene Esters from *Euphorbia peplus.* ***Phytochemistry,*** 24(7): 1605-1606.

Rojas, J., Baldovino, S., Vizcaya, M., Rojas, L. B., Morales, A. 2009. The Chemical Composition of the Essential Oils of *E. caracasana* and *E. cotinifolia* (Euphorbiaceae) from Venezuela***. Natural Product Communications,*** 4(4): 571-572.

Rose H. 1841. Poggendorff's Analen, 53-369.

Rustaiyan, A., Niknejad, A., Sharif, Z., Izaddoost, M. 1982. Triterpenes from *Euphorbia pentiolata*. ***Fitoterapia,*** 53: 143-144.

Ryu, H. W., Song, H.H., Kim K.O., Park, Y.J., Kim,D.Y., Kim, J.H.,Oh, S.R. 2016. Secondary metabolite profiling and modulation of antioxidants in wild and cultivated *Euphorbia supina.* ***Industrial Crops and Products,*** 89: 215–224

Salvatore, S., Pellegrini, N., Brenna, O.V., Del Rio, D., Frasca, G., Brighenti, F. 2005. Antioxidant characterization of some Sicilian edible wild greens. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry,*** 53: 9465-9471.

Savelev, S. U., Okello, E. J. ve Perry, E. K. (2004). Butyryl-and acetyl-cholinesterase inhibitory activities in essential oils of *Salvia* species and their constituents. ***Phytotherapy Research*****,** 18: 315-324.

Sen Ö., 2002. Cevherlesme Alanlarında Biyojeokimyasal Arastırmalar, 64-76.

Sezik, E. 1990. Bitkilerle Tedavi. Bilim ve Teknik, 277: 12.

Shamsabadipour, S., Ghanadian, M., Saeedi, H., Rahimnejad, M. R., Mohammadi-Kamalabadi, M., Ayatollahi, S. M., Salimzadeh, L. 2013. Triterpenes and Steroids from Euphorbia denticulata Lam. with Anti-Herpes Symplex Virus Activity. ***Iranıan Journal of Pharmaceutıcal Research,*** 12(4): 759-767

Singleton, V.L., Orthofer, R. ve Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Oxidants and ***Antioxidants,*** 299: 152-178.

Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. 1998. Principles of Instrumental Analysis, 5th Edition, Saunders College Publishing, Philadelphia.

Slinkard, K. ve Singleton, V. L. (1977). Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, **28**, 49–55.

Snyder, L. R., Kirkland,J. J., Glajch,J. L. 1997. Practical HPLC Method Development, 2nd ed., Wiley-Interscience, New York .

Şahin, H. A. 2002. Asetilkolin, kolinesterazlar ve Alzheimer hastalığı, ***Demans Dergisi,*** 2: 69-73.

Şasmaz, A., Yaman, M. 2006. Distribution of Chromium, Nickel and Cobalt in Different Parts of Pant Species and Soil in Mining Area of Keban, Turkey, ***Communıcatıons In Soıl Scıence and Plant Analysıs,*** 37: 1845-1857.

Taylor, M.J. ve Richardson, T. 1980. Antioxidant activity of cysteine and protein sulfhydryls in a linoleate emulsion oxidized by hemoglobin, ***Journal of Food Science,*** 45: 1223-1227.

Tepe, B., Eminağaoğlu, O., Akpulat, H.A. ve Aydın, E. (2007). Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of Salvia verticillata (L.) subsp. verticillata and S. verticillata (L.) subsp. amasiaca (Freyn & Bornm.) Bornm. ***Food Chemistry***, 100: 985-989.

Tsopmo, A., Kamnaing, P. 2011. Terpenoids constituents of Euphorbia sapinii. ***Phytochemistry Letters***, 4: 218-221.

Tuncer, İ., Burgut, R., Bozdemir, N., Coşar, E.F. 1994. Türkiye'de Kanser Sıklığı. Tübitak ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana.

Tuncer, M. 2007. Kanserin Ülkemiz ve Dünyada Önemi, Hastalık Yükü ve Kanser Kontrol Politikaları. Ankara: T.C. S.B. Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı.

TÜBİVES, 2016. Türkiye Bitkileri Veri Servisi Erişim: [http://www.tubives.com/ index.php?sayfa=karsilastir]. Erişin Tarihi: 12.12.2016.

Türkiye Bitkileri, 2016. Erişim: [http://www.turkiyebitkileri.com/index.php?dil=tr&id=1#. WHTMG1OLTDc]. Erişim Tarihi 12.12.2016.

Tüzen, M. 2002. A comparison of sample preparation procedures for the determination of heavy metals in Lichen samples by GFAAS. ***Analytical Letters,*** 35(10):1667–1676.

Ulubelen, A., Aynehchi. Y., Halfon, B. 1986. Hydrocarbons from *Euphorbia larica*. Doga: Tıp Eczacilik, 10: 211-213.

Ulubelen, A., Öksüz, S., Halfon, B., Aynehchi. Y., Mabry, T. J. 1983. Flavonoids from *Euphporbia larica*, *E. virgata*, *E. chamaesyce* and *E. magalanta*. ***J. Nat. Prod***. 46: 598.

Uysal, İ. 1991. Çanakkale İlindeki Bazı Boya Bitkilerinin Morfolojisi, Korolojisi ve Boyacılıkta Kullanılması. Çanakkale Eğitim Yüksekokulu Araştırma Dergisi,2 (1): 65-104.

Vogeser, M., Kirchhoff, F. 2011. Progression in automation of LC-MS in laboratory medicine. Clinical Biochemistry, Vol.44, No.1, (January 2011), pp. (4-13), ISSN 0009-9120.

Von-Sonntag, C. 1987. The Chemical Basis of Radiation Biology, London: Taylor and Francis, pp. 15-49.

W.H.O. 2007 WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues(P:24).

Wei, R., Li, G., Seymour, A. B. 2010. High-throughput and multiplexed LC/MS/MRM method for targeted metabolomics, ***Analytical Chemistry,*** 82: 5527-5533.

Willis, J.C. 1966. 'A Dictionary of the Flowering Plants and Ferns', Cambridge at the University Press.

Wu T.S., Lin Y.M., Haruna M., Pan D.J., Shingu T., Chen Y.P., Hsu H.Y., Nakano T., Lee K.H. 1991. ***J. Nat. Prod.*** 54: 823-829.

Yıldız, L., Başkan, K., Tütem, E., Apak, R. 2008. Combined HPLCCUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay of parsley, celeryleaves, and netle. ***Talanta,*** 77: 304–313.

Yıldız, N. 2003. Toprak Kirletici Ağır Metaller ve Toprak Bitki İlişkileri-I. Ulusal Çevre Sempozyumu. Atatürk Üniversitesi Çevre Sorunları Araştırma Merkezi Müdürlüğü Erzurum.

Yılmaz, M.A. 2015. Bazı *Achıllea* L. Türlerinin LCMS-IT/TOF ve LC-MS/MS İle Metabolik Profillerinin Çıkarılması ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

Yoshida T, Seno K, Takama Y, Okuda T, 1982. Bergenin Derivatives From Mallotus Japonicus. ***Phytochemistry,*** 21(5): 1180-1182.

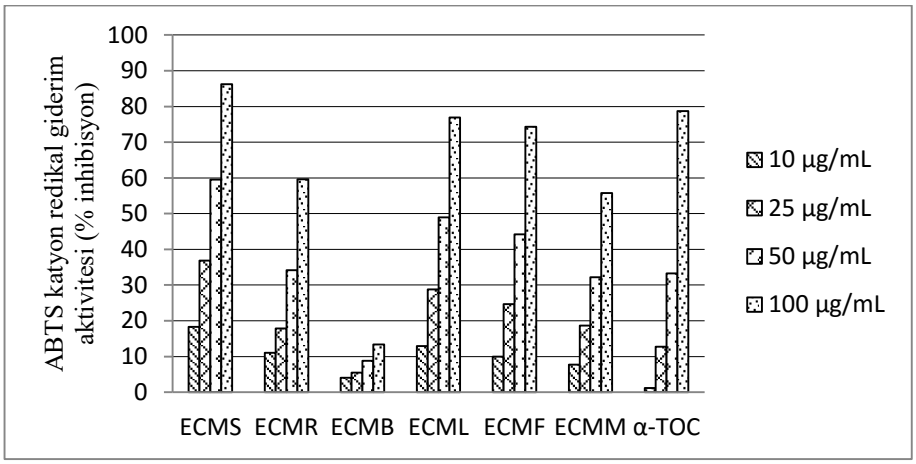
Zare, S., Ghaedi, M., Miri, R., Heiling, S., Asadollahi, M., Baldwin, I. T., Jassbi, A.R. 2015. Phytochemical Investigation on Euphorbia macrostegia (Persian wood spurge). ***Iranian Journal of Pharmaceutical Researc***h, 14 (1): 243-249.

Zayed Salah, M.N.D., Farghaly M., Soliman, M., Gotta, H., Sorg, B., Hecker, E. 2001. ***Journal of Cancer Research and Clinical Oncology,*** 127: 40-47.

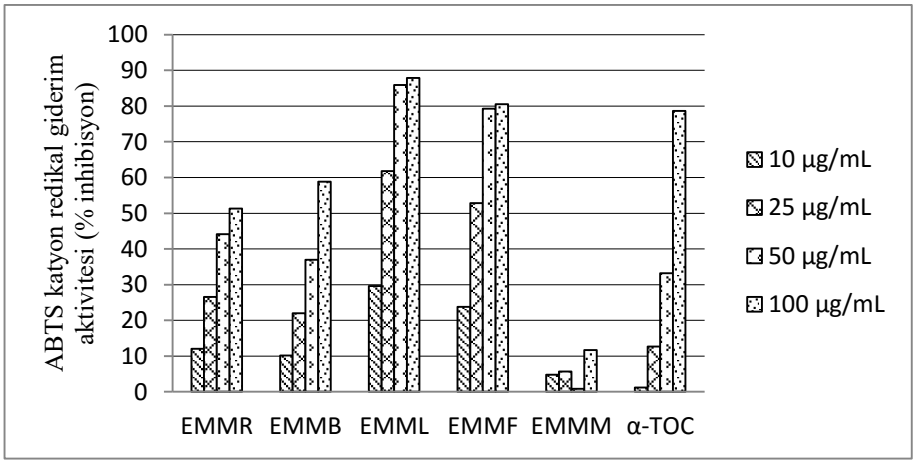
Zhao, H.Y., Jiang, J.G. 2010. Application of chromatography technology in the separation of active components from nature derived drugs, Mini Rev. ***Med. Chemistry,*** 10: 1223–1234.

Zotou, A. 2012, An overview of recent advances in HPLC instrumentation, Central European ***Journal of Chemistr*y**,** 10 (3): 554-569.

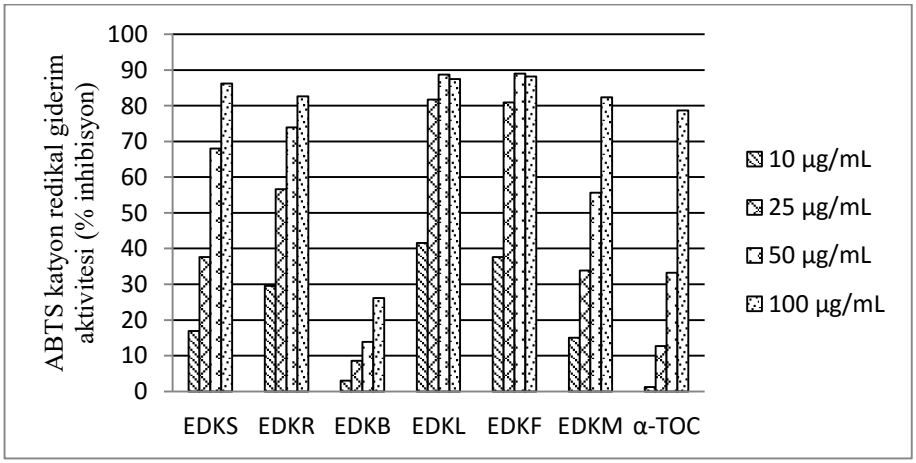
EKLER



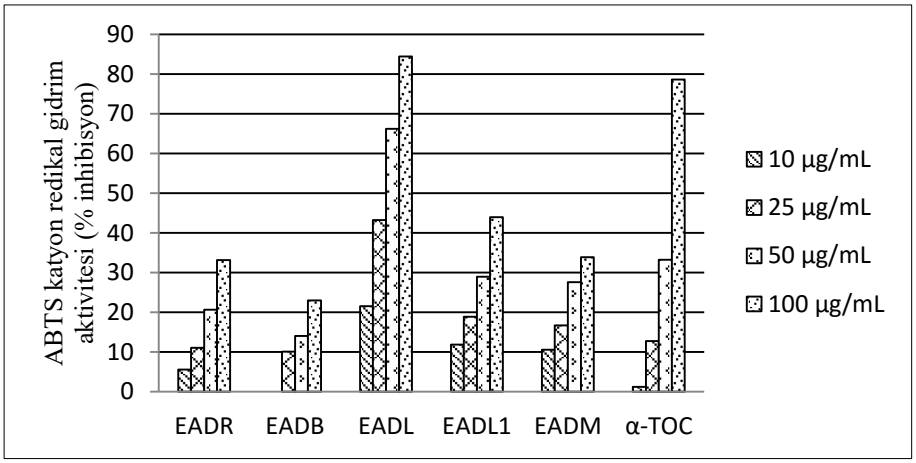
Ek 1. *E.* craspedia'nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi



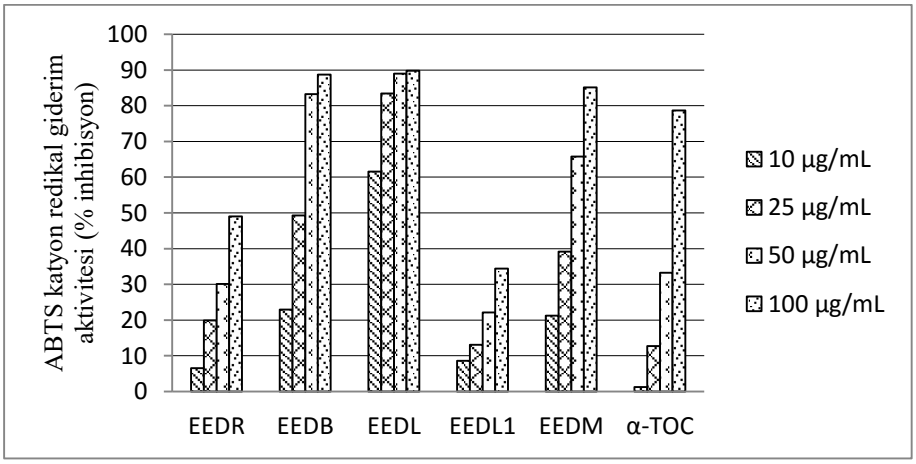
Ek 2. Malatya'dan toplanan *E. macroclada'*nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi



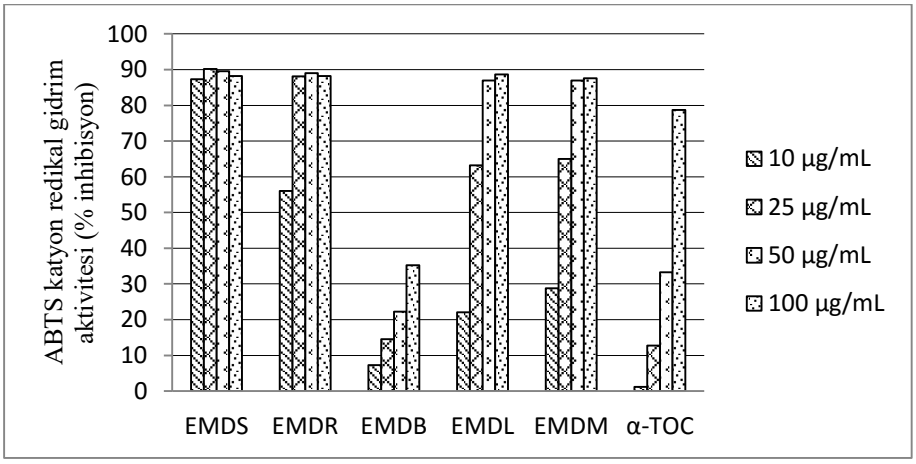
Ek 3. *E. denticulata'*nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi



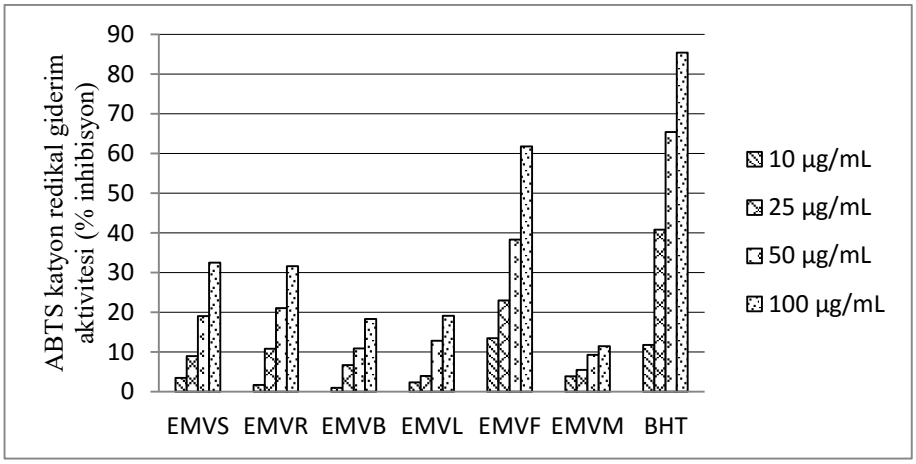
Ek 4. *E. aleppica'*nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi



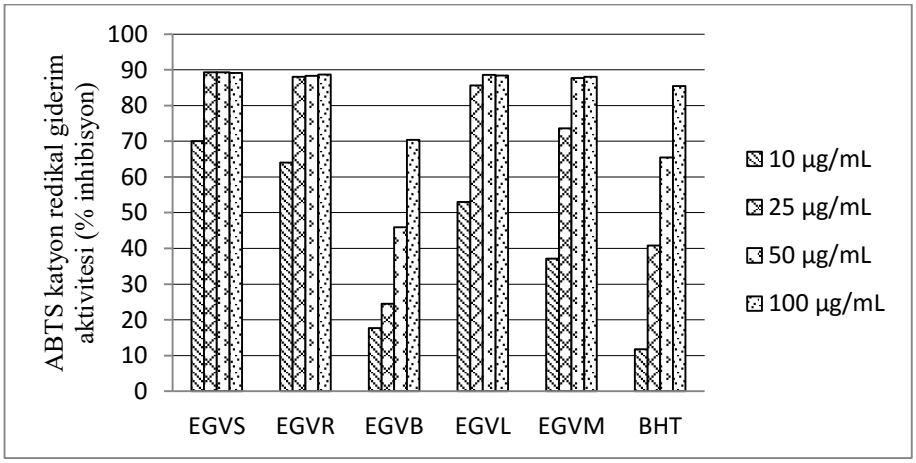
Ek 5. *E. eriophora'*nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi



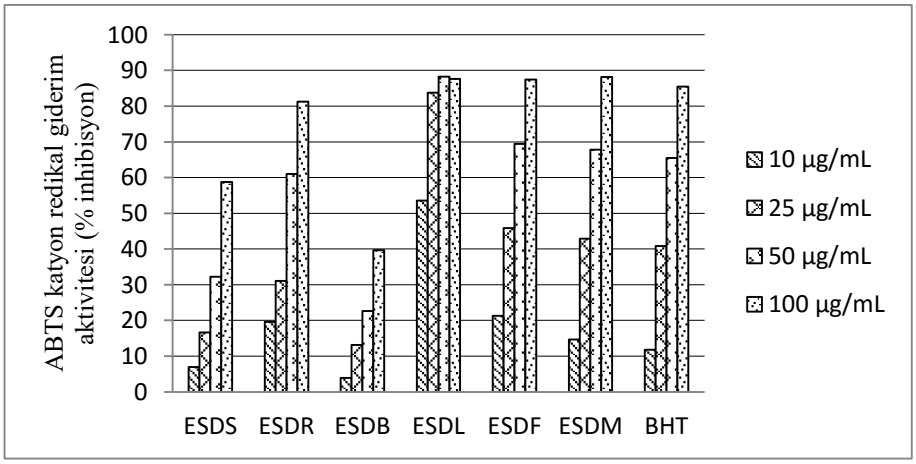
Ek 6. Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada* ABTS katyon radikali giderim aktivitesi



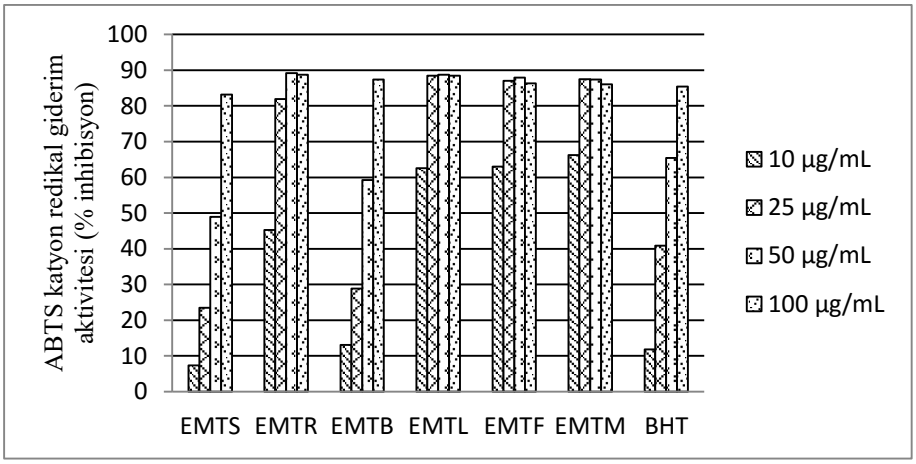
Ek 7. Van'dan toplanan *E. macroclada*'nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi



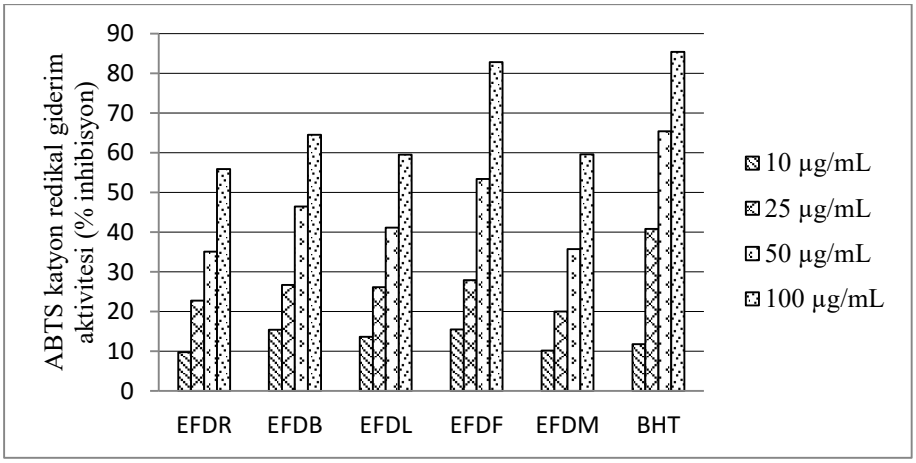
Ek 8. *E. grisophylla'*nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi



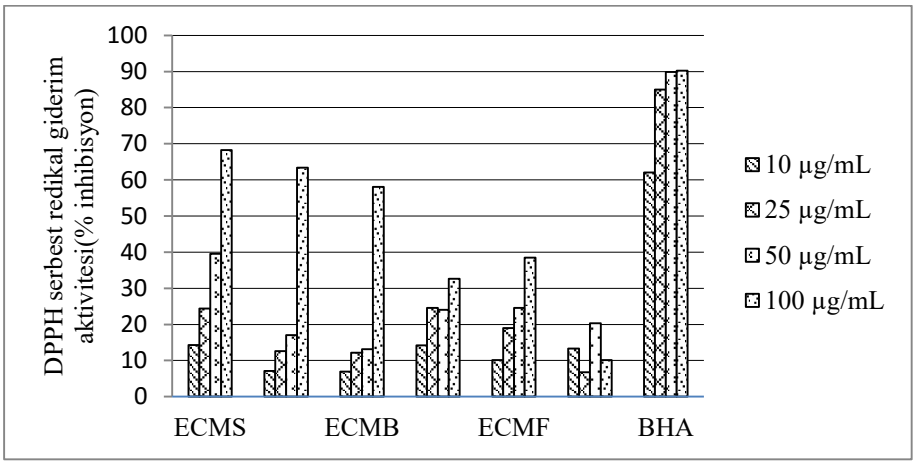
Ek 9. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana*'nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi



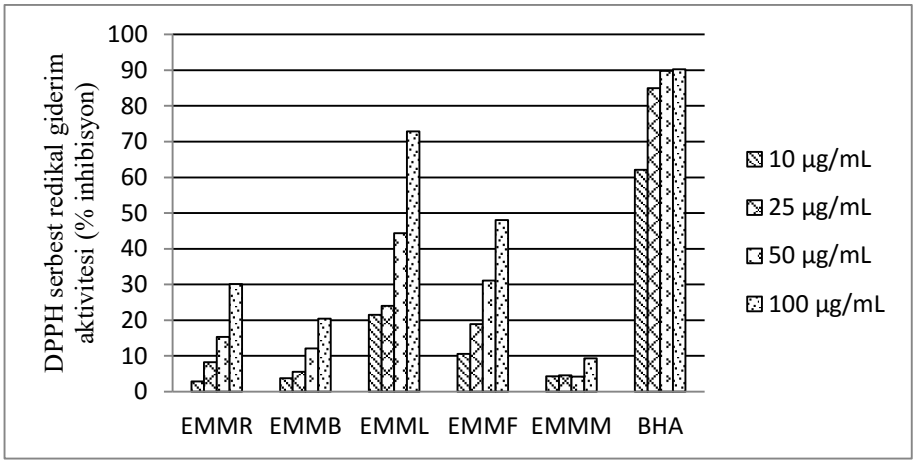
Ek 10. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada*'nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi



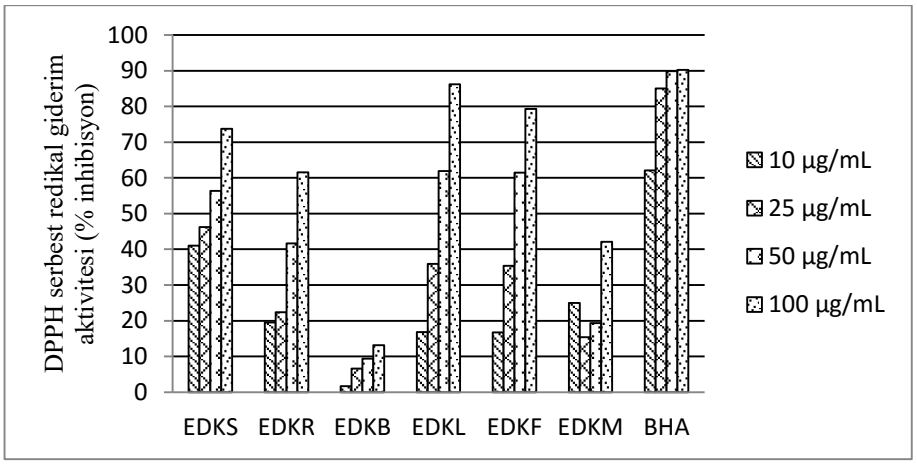
Ek 11. *E. fistulosa*'nın ABTS katyon radikali giderim aktivitesi



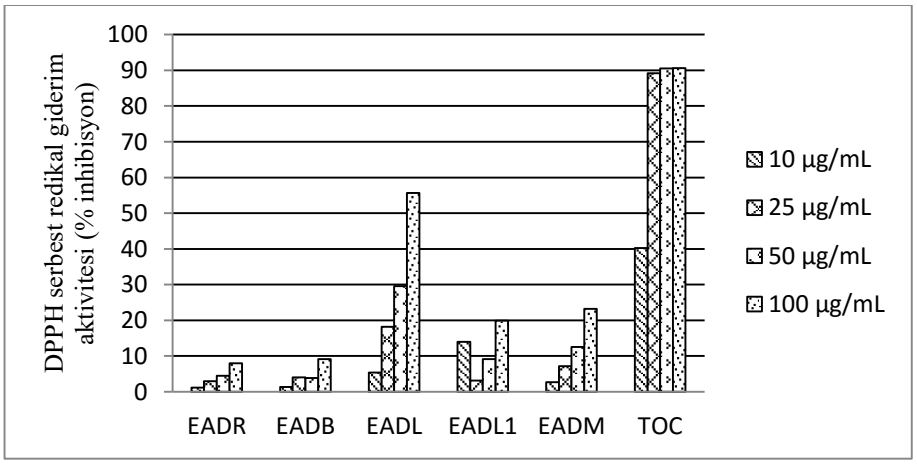
Ek 12. *E. craspedia'*nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi



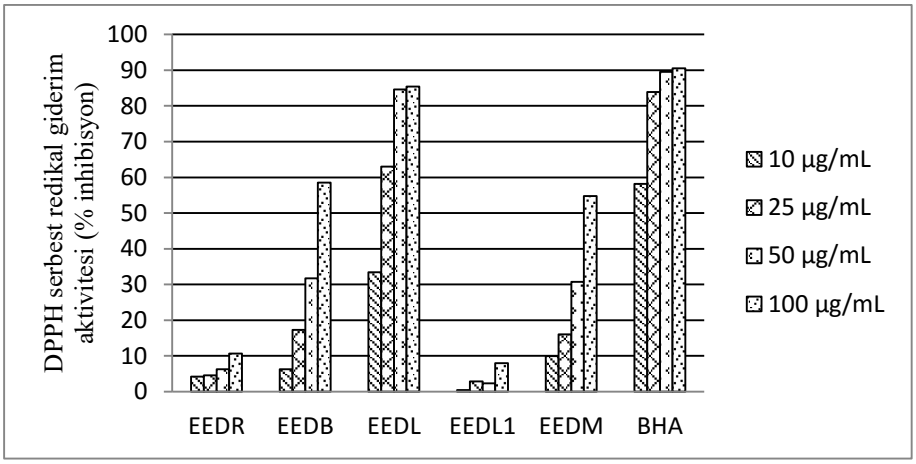
Ek 13. Malatya'dan toplanan *E. macroclada'*nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi



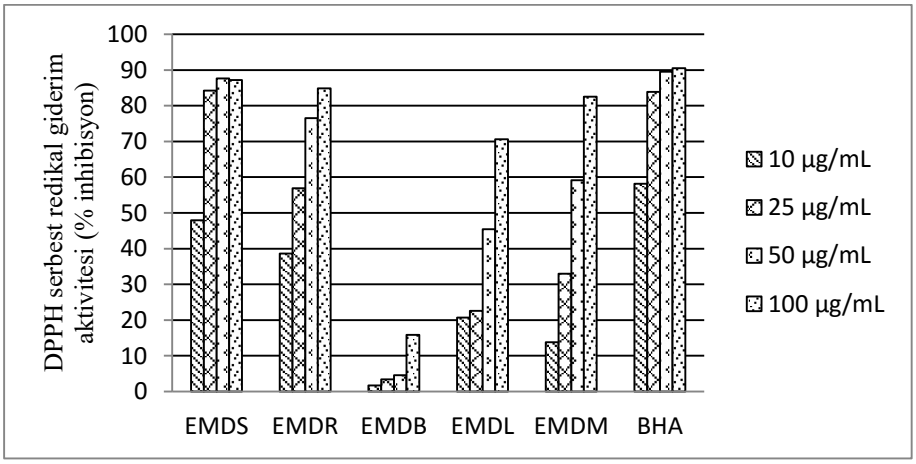
Ek 14. *E. denticulata'*nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi



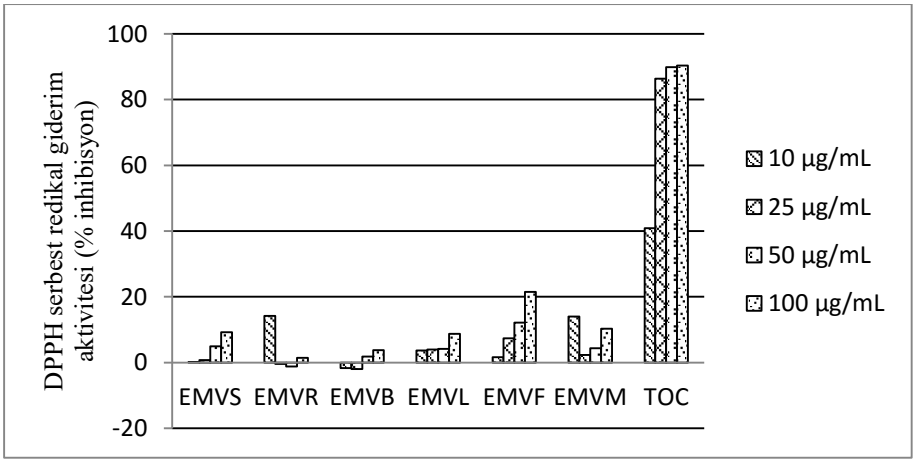
Ek 15. *E. aleppica'*nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi



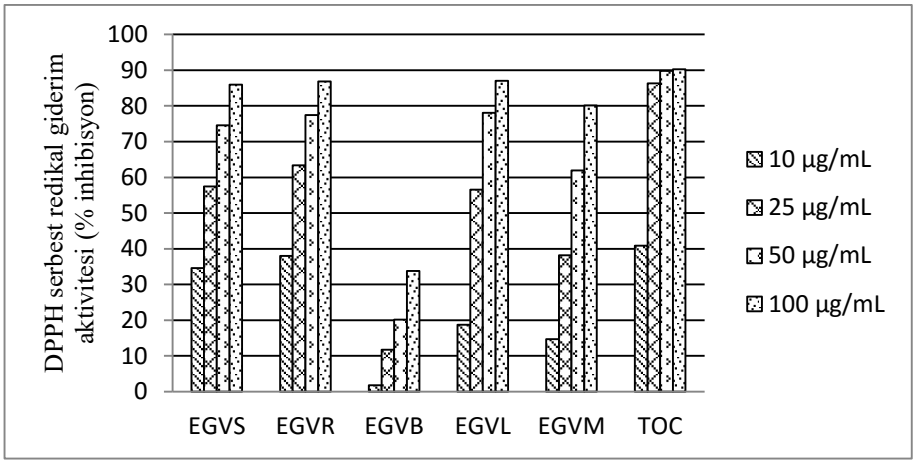
Ek 16. *E. eriophora'*nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi



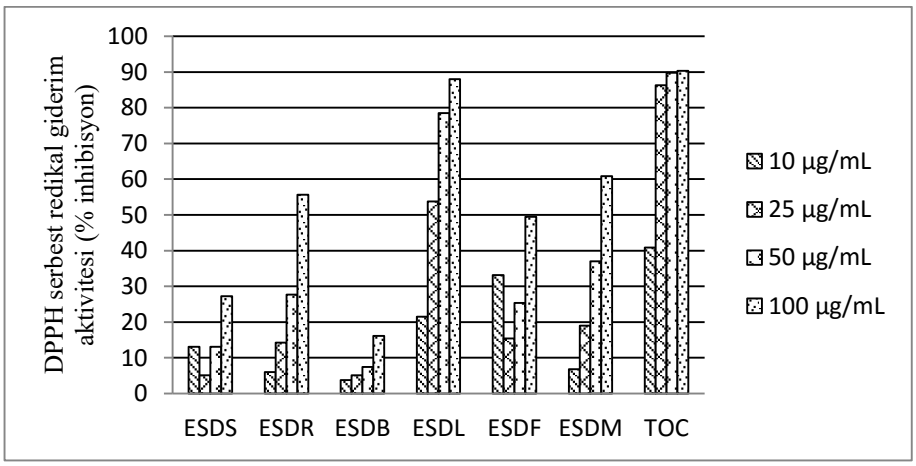
Ek 17. Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada* DPPH serbest radikali giderim aktivitesi



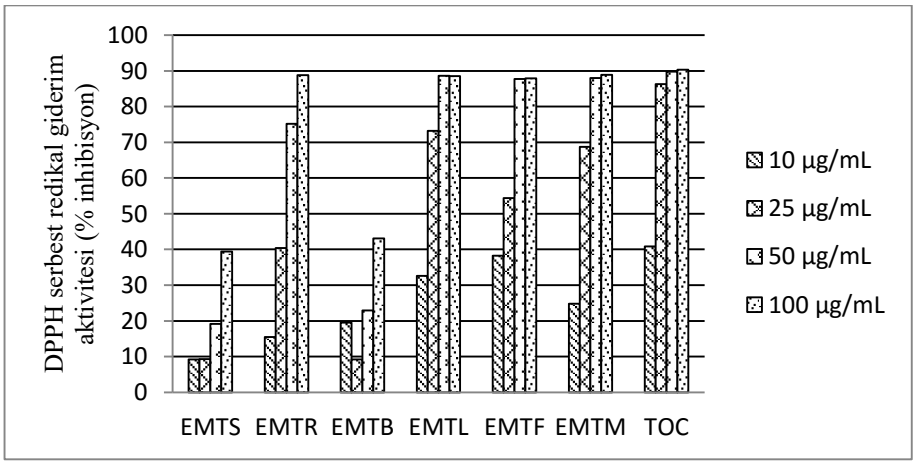
Ek 18. Van'dan toplanan *E. macroclada*'nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi



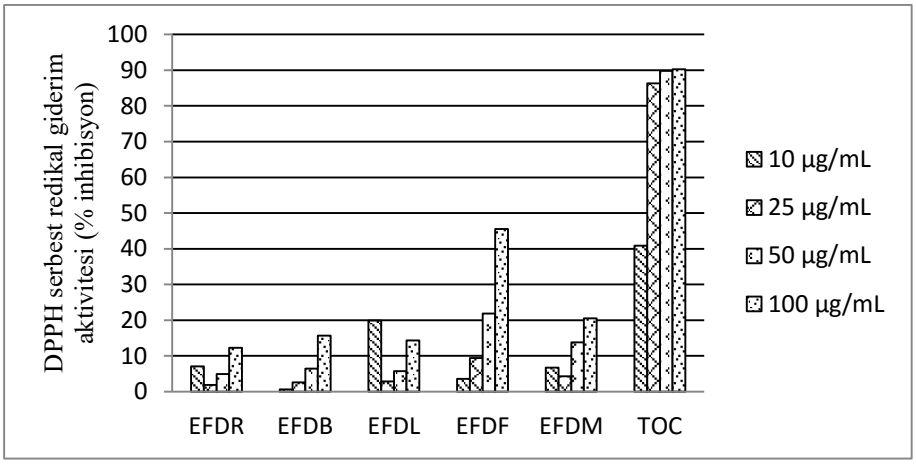
Ek 19. *E. grisophylla'*nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi



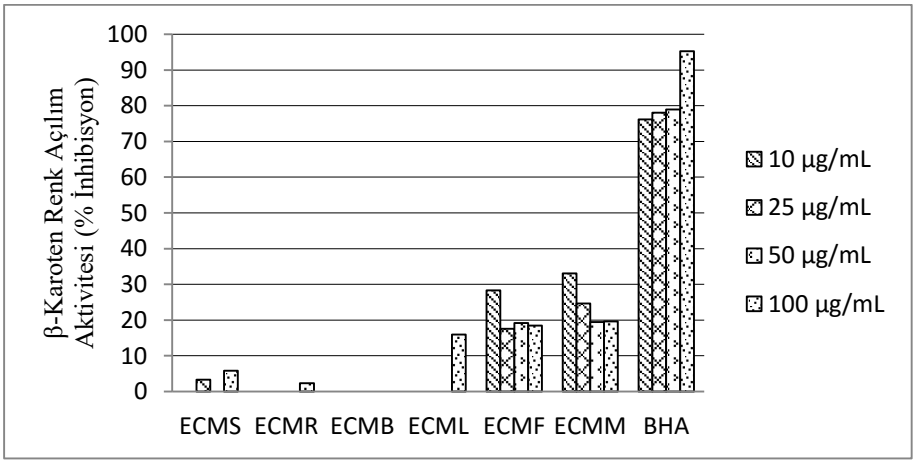
Ek 20. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana*'nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi



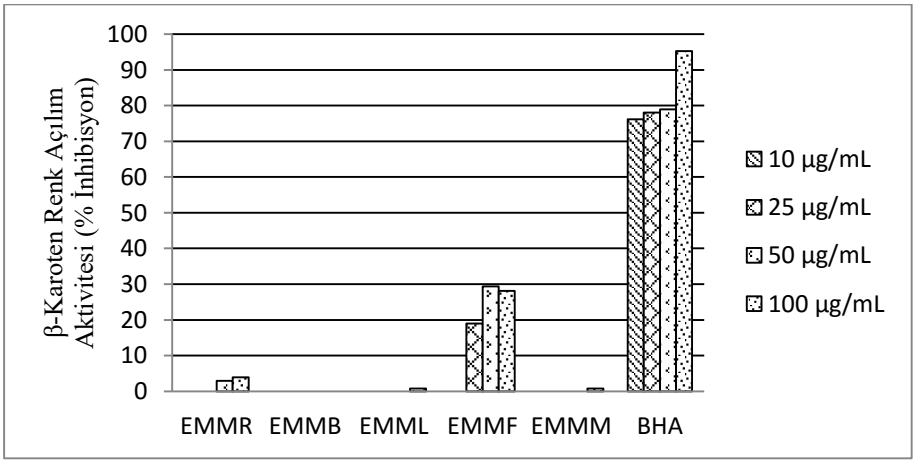
Ek 21. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada*'nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi



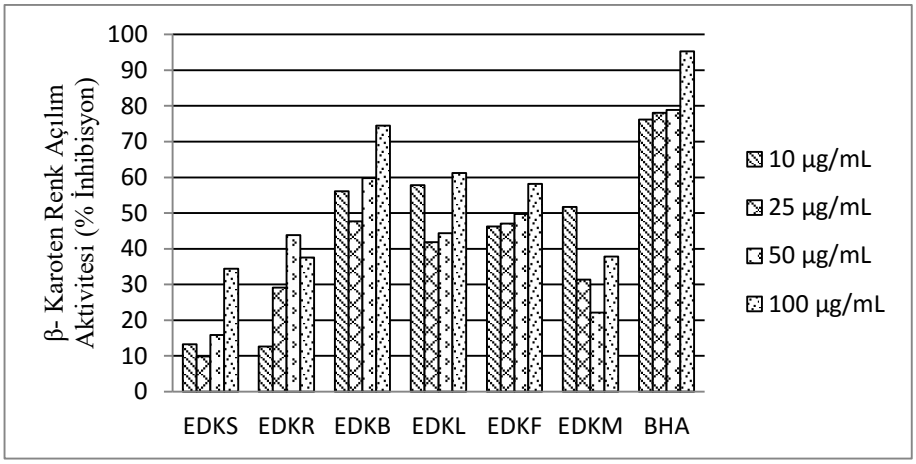
Ek 22. *E. fistulosa*'nın DPPH serbest radikali giderim aktivitesi



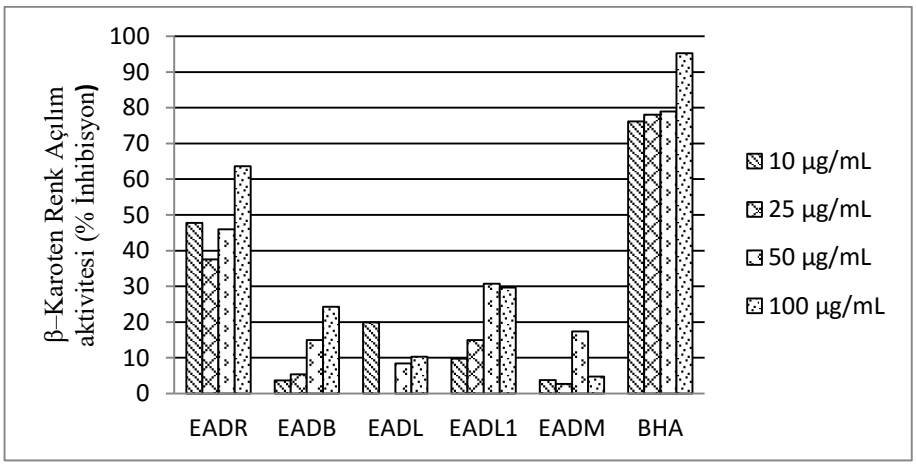
Ek 23. *E. craspedia'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi



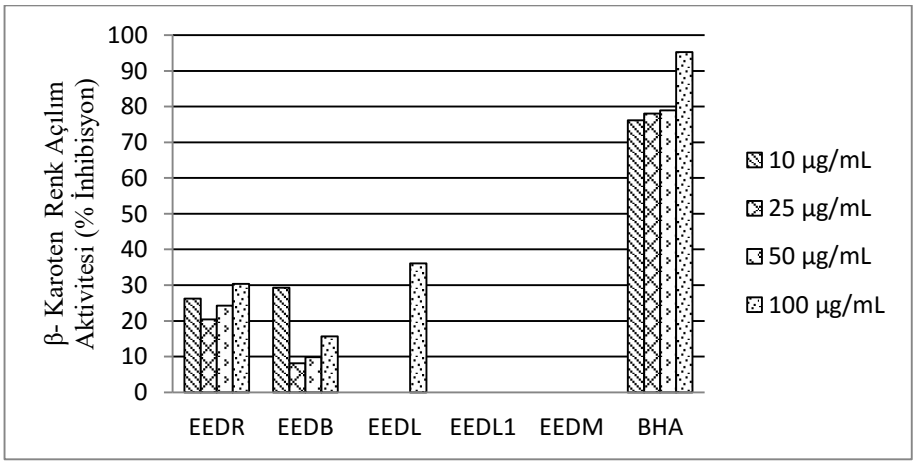
Ek 24. Malatya'dan toplanan *E. macroclada'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi



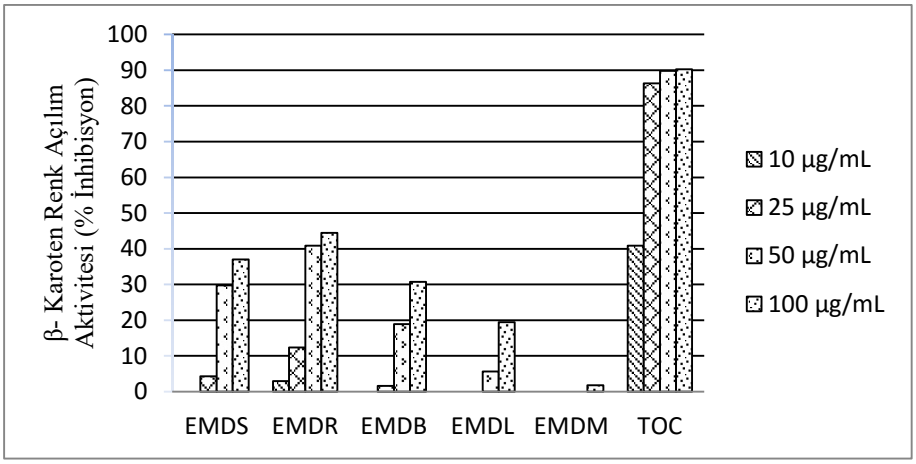
Ek 25. *E. denticulata'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi



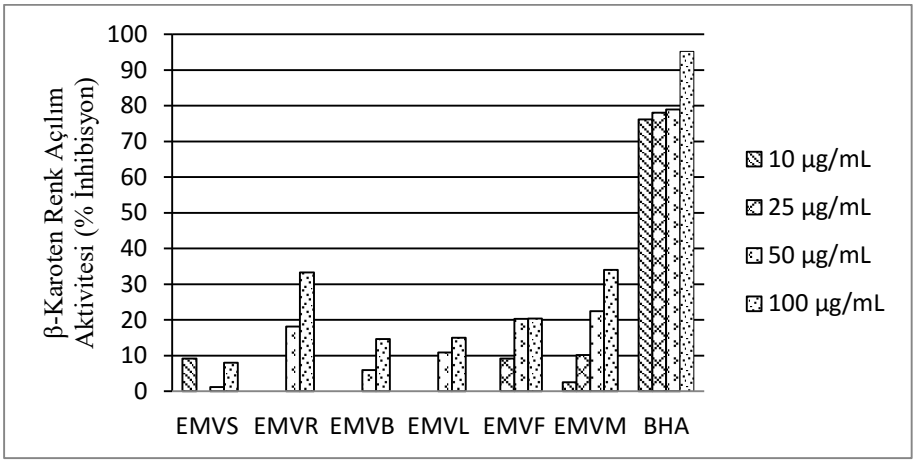
Ek 26. *E. aleppica'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi



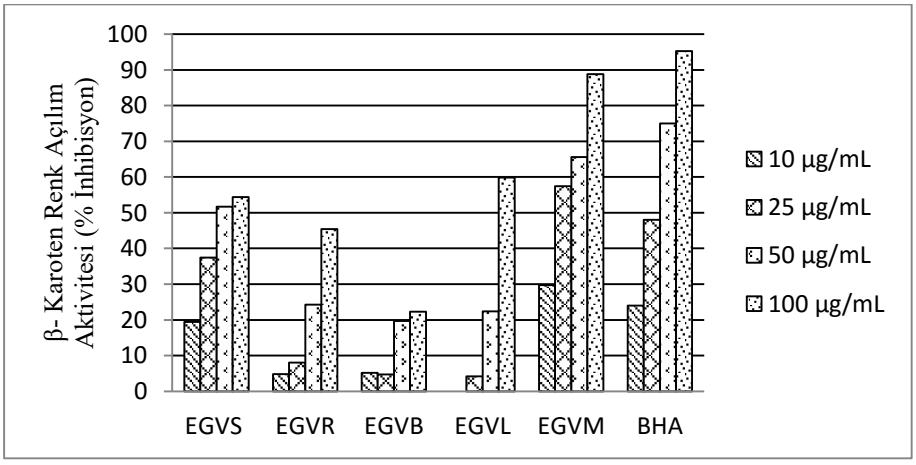
Ek 27. *E. eriophora'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi



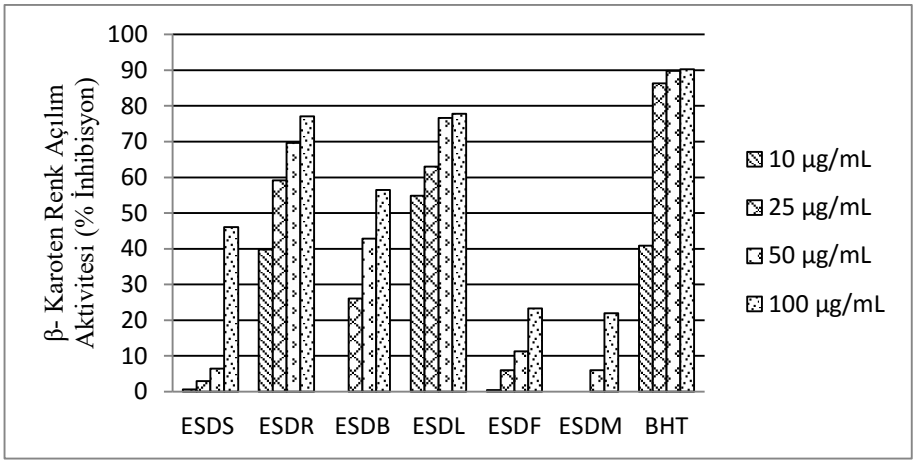
Ek 28. Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi



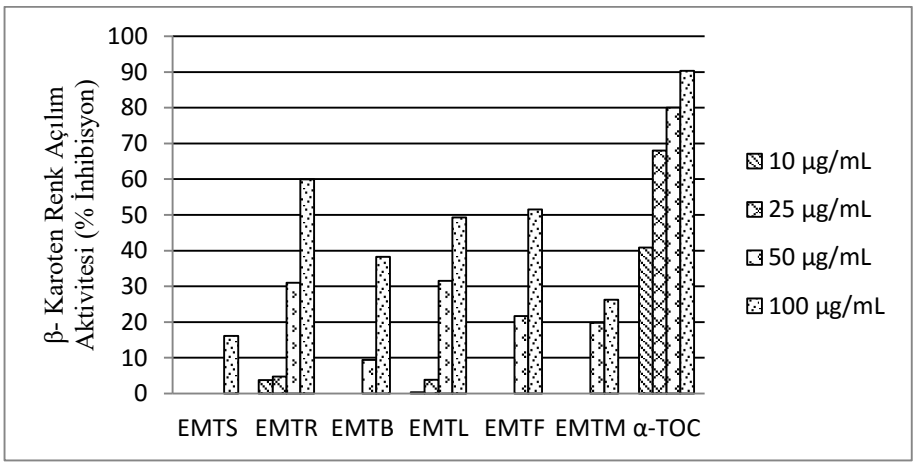
Ek 29. Van'dan toplanan *E. macroclada'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi



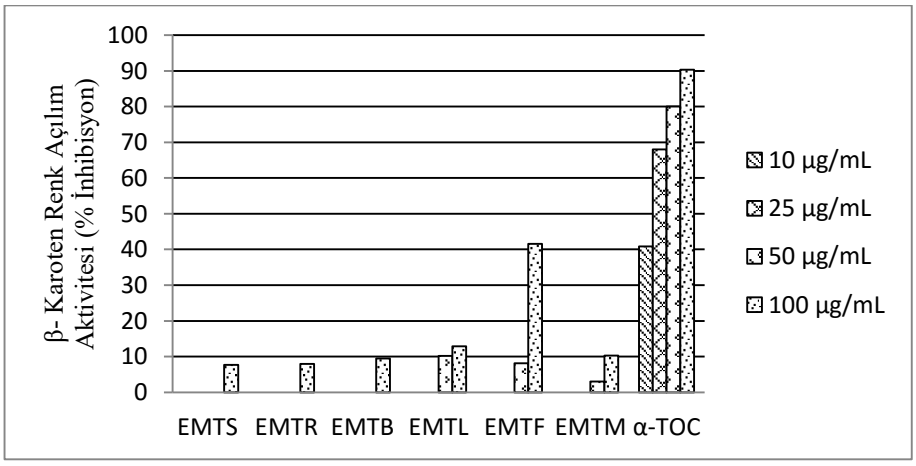
Ek 30. *E. grisophylla'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi



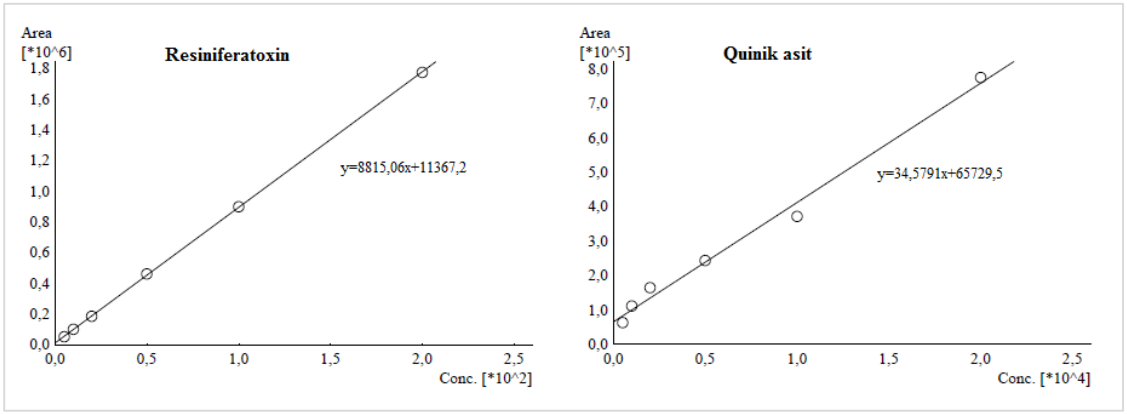
Ek 31. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana*'nın β–karoten renk açılım aktivitesi

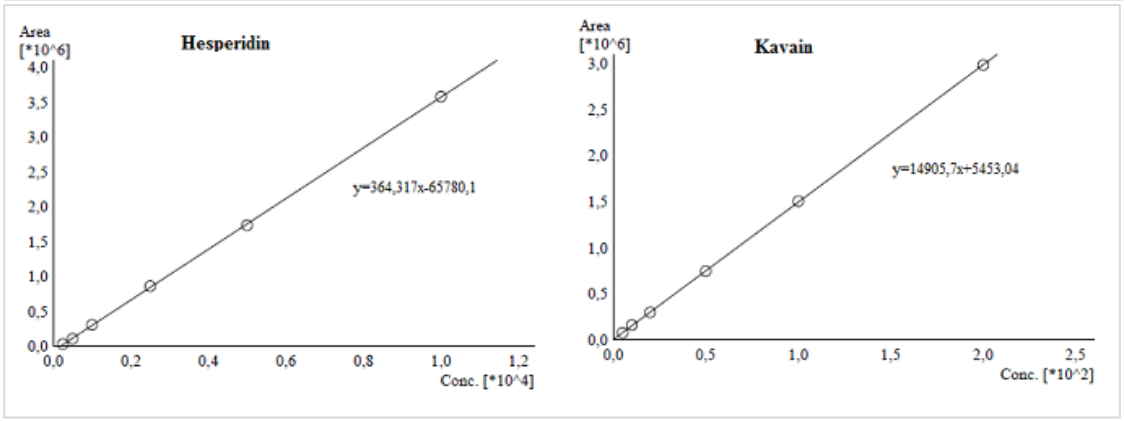


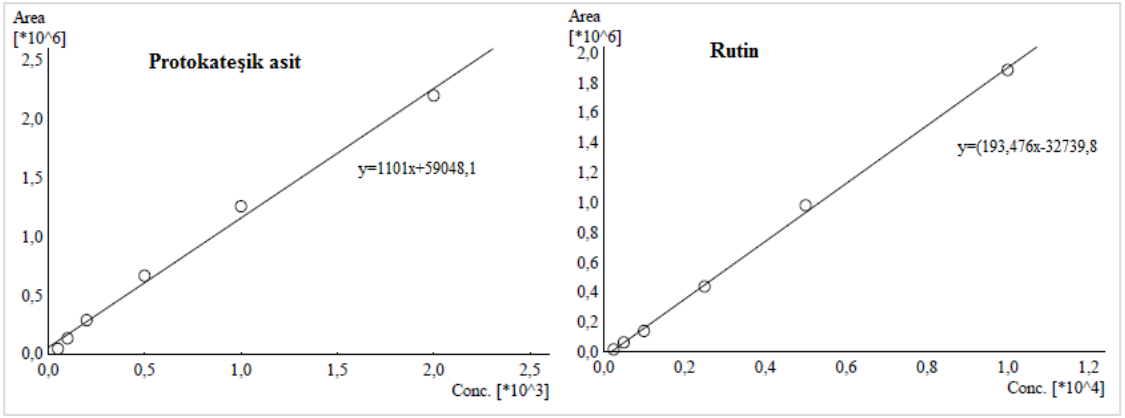
Ek 32. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada'*nın β–karoten renk açılım aktivitesi

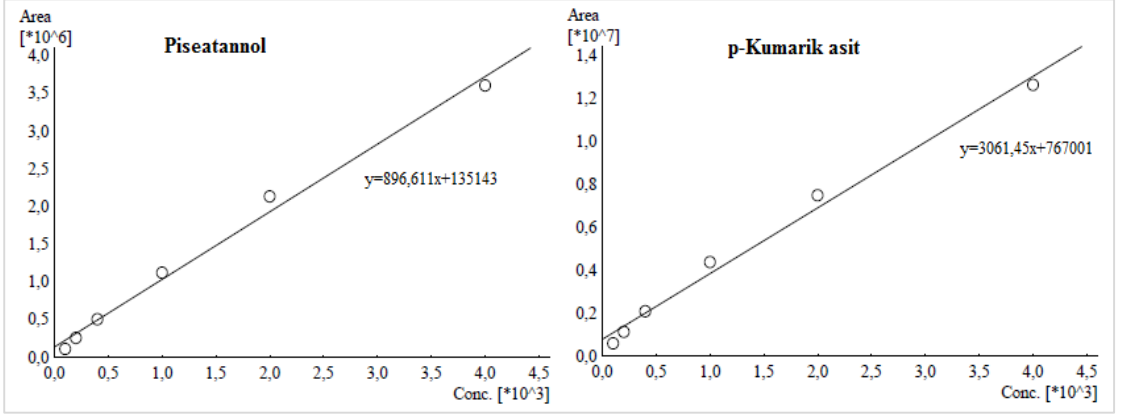


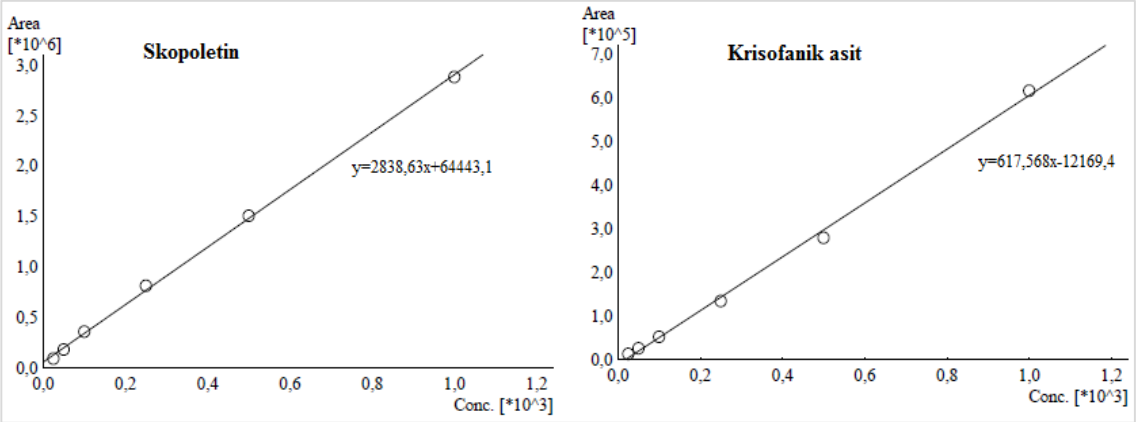
Ek 33. *E. fistulosa*'nın β–karoten renk açılım aktivitesi


Area
[*10^6]
Resiniferatoxin
y=8815,06x+11367,2
Conc. [*10^2]
Area
[*10^5]
Quinik asit
y=34,5791x+65729,5
Conc. [*10^4]


Area
[*10^6]
Hesperidin
y=364,317x-65780,1
Conc. [*10^4]
Area
[*10^6]
Kavain
y=14905,7x+5453,04
Conc. [*10^2]


Area
[*10^6]
Protokateşik asit
y=1101x+59048,1
Conc. [*10^3]
Area
[*10^6]
Rutin
y=(193,476x-32739,8
Conc. [*10^4]


Area
[*10^6]
Piseatannol
y=896,611x+135143
Conc. [*10^3]
Area
[*10^7]
p-Kumarik asit
y=3061,45x+767001
Conc. [*10^3]



Ek 34. 11 Fitokimyasalın LC-MS/MS metodundaki analitlerin kalibrasyon grafikleri

Ek 35. 11 Fitokimyasalın LC-MS/MS metodunda kullanılan standartların belirleme (LOD) ve tayin (LOQ) sınırlarının belirlenmesi

Analitler	1. Okuma	2. Okuma	3. Okuma	4. Okuma	5. Okuma	6. Okuma	7. Okuma	8. Okuma	9. Okuma	10. Okuma	Eğim	Std	RSD	LOD	LOQ
Kinik asit	9396	9365	8964	8824	8896	9365	8964	8724	8965	9064	34.59	240.69	0.03	20.88	69.61
Protokateşik asit	4835	3697	4094	3682	4835	6797	4294	4682	3877	4294	1101.00	911.95	0.20	2.48	8.28
Rutin	18382	19029	18504	18458	20382	20029	19504	22458	19029	20504	193.47	1265.94	0.06	19.63	65.43
Hesperidin	28645	30743	29416	31986	29645	31543	29416	31886	28426	30986	364.31	1325.11	0.04	10.91	36.37
Eugenol	90198	94241	90281	91874	90098	92341	97281	90874	93541	90291	2330.77	2340.99	0.03	3.01	10.04
p-Kumarik asit	536680	544586	537937	547541	556680	544586	556337	547541	540586	546337	306.45	6756.25	0.01	6.62	22.07
Piseatannol	86192	90483	86499	87364	89192	86483	90499	93364	86483	86499	896.61	2459.69	0.03	8.23	27.43
Skopoletin	98583	98480	97922	87227	98583	98480	99922	97627	98680	97922	2838.63	3608.39	0.04	3.81	12.71
Kavain	81657	75770	77565	77836	81657	75770	77565	77836	77565	77836	14905.70	2033.87	0.03	0.41	1.36
Krisofanik asit	11169	11542	11225	11094	11169	11542	11235	11094	11542	11245	617.56	184.31	0.02	0.90	2.98
Resiniferatoksin	52339	49930	50640	49699	52339	49930	50640	49699	49930	50640	8815.06	1001.04	002	0.34	114

Ek 36. Kinik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

Kinik asit	Spike Yok	D. spike (500 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (2000 ppb)	G. Kaz.	G.Kaz. (%)	Y. spike (10000 ppb)	G.Kaz.	G. Kaz. (%)
	15649	16176	104.60	1.05	17678	101.25	1.01	25650	99.97	1.00
	15645	16160	101.40	1.01	17689	101.80	1.02	25600	99.47	0.99
Aynı Gün	15640	16150	99.40	0.99	17654	100.05	1.00	25679	100.26	1.00
	15650	16173	104.00	1.04	17680	101.35	1.01	25690	100.37	1.00
	15680	16140	97.40	0.97	17650	99.85	1.00	25648	99.95	1.00
	15654	16146	98.60	0.99	17698	102.25	1.02	25670	100.17	1.00
Ort.	15653	16158	100.90	1.01	17675	101.09	1.01	25656	100	1.00
Std	14.057	14.721	2.944	0.029	19.104	0.955	0.010	31.990	0.320	0.003
RSD	0.001	0.001	0.029	0.029	0.001	0.009	0.009	0.001	0.003	0.003
	15670	16189	103.09	1.03	17660	99.32	0.99	25600	99.26	0.99
	15685	16190	103.29	1.03	17650	98.82	0.99	25680	100.06	1.00
F. Günler (1)	15689	16145	94.29	0.94	17654	99.02	0.99	25700	100.26	1.00
	15690	16188	102.89	1.03	17689	100.77	1.01	25710	100.36	1.00
	15659	16177	100.69	1.01	17649	98.77	0.99	25649	99.75	1.00
	15690	16190	103.29	1.03	17699	101.27	1.01	25639	99.65	1.00
	15663	16167	98.69	0.99	17700	101.32	1.01	25689	100.15	1.00
	15649	16159	97.09	0.97	17670	99.82	1.00	25690	100.16	1.00
F. Günler (2)	15668	16190	103.29	1.03	17653	98.97	0.99	25677	100.03	1.00
	15678	16165	98.29	0.98	17659	99.27	0.99	25668	99.94	1.00
	15690	16173	99.89	1.00	17680	100.32	1.00	25698	100.24	1.00
	15668	16170	99.29	0.99	17630	97.82	0.98	25683	100.09	1.00
	15658	16187	102.69	1.03	17639	98.27	0.98	25649	99.75	1.00
F. Günler (3)	15689	16198	104.89	1.05	17698	101.22	1.01	25648	99.74	1.00
	15651	16184	102.09	1.02	17649	98.77	0.99	25683	100.09	1.00
	15649	16203	105.89	1.06	17688	100.72	1.01	25640	99.66	1.00
	15688	16188	102.89	1.03	17679	100.27	1.00	25674	100.00	1.00
	15690	16179	101.09	1.01	17690	100.82	1.01	25689	100.15	1.00
F.G.Ort.	15674	16180	101.31	1.01	17669	99.76	1.00	25670	99.97	1.00
F.G.Std	15.853	14.644	2.929	0.029	22.186	1.109	0.011	27.694	0.277	0.003
F.G.RSD	0.001	0.001	0.029	0.029	0.001	0.011	0.011	0.001	0.003	0.003
Gen.Ort	15668	16174	101.21	1.0121	17670	100.09	1.0009	25667	99.98	0.9998
Gen.Std	17.6461	17.4829	2.8737	0.0287	21.2275	1.2071	0.0121	28.7855	0.2824	0.0028
Gen.RSD	0.0011	0.0011	0.0284	0.0284	0.0012	0.0121	0.0121	0.0011	0.0028	0.0028
RSD (Pool)		0.001133								

RSD. bağıl standart sapma, Ort.. ortalama, Std..standart sapma

Ek 37. Kinik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % G. Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	500	1.0121	17.4829	0.0287	0.0011	24
Eugenol	2000	1.0009	21.2275	0.0121	0.0012	24
	10000	0.9998	28.7855	0.0028	0.0011	24
Ort		1.0043		0.0145	0.0011	n=72
				Karakök n.		8.485281
				Standard belirsizlik.		0.001713

Ek 38. Kinik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.001133	0.001133
Bias	1.004300	0.001713	0.001706
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.002048
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.004095

Ek 39. Protokateşik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

Protokateşik asit	Spike Yok	D. spike (50 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (200 ppb)	G. Kaz.	Geri Kaz. (%)	Y. spike (1000 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)
	95.6	145.00	98.51	0.99	295.09	99.67	1.00	1095.23	99.95	1.00
	96.01	144.78	98.07	0.98	295.08	99.67	1.00	1095.34	99.96	1.00
Aynı Gün	95.89	147.76	104.03	1.04	296.12	100.19	1.00	1096.54	100.08	1.00
	95.87	143.73	95.97	0.96	296.05	100.15	1.00	1095.23	99.95	1.00
	95.07	144.89	98.29	0.98	295.23	99.74	1.00	1094.98	99.92	1.00
	96.03	145.09	98.69	0.99	295.34	99.80	1.00	1096.06	100.03	1.00
Ort.	95.75	145.21	98.93	0.99	295.49	99.87	1.00	1095.56	99.98	1.00
Std	0.365	1.345	2.689	0.027	0.475	0.238	0.002	0.602	0.060	0.001
RSD	0.004	0.009	0.027	0.027	0.002	0.002	0.002	0.001	0.001	0.001
	95.6	144.08	97.30	0.97	295.07	99.82	1.00	1065.76	97.03	0.97
	96.09	143.76	96.66	0.97	296.04	100.31	1.00	1095.34	99.99	1.00
F. Günler (1)	95.21	145.98	101.10	1.01	295.32	99.95	1.00	1095.44	100.00	1.00
	95.34	146.34	101.82	1.02	295.76	100.17	1.00	1075.34	97.99	0.98
	95.43	147.34	103.82	1.04	295.56	100.07	1.00	1095.12	99.97	1.00
	95.98	146.23	101.60	1.02	294.87	99.72	1.00	1096.04	100.06	1.00
	94.32	144.76	98.66	0.99	295.98	100.28	1.00	1066.03	97.06	0.97
	95.08	145.88	100.90	1.01	295.32	99.95	1.00	1095.45	100.00	1.00
F. Günler (2)	95.87	143.91	96.96	0.97	296.45	100.51	1.01	1094.99	99.96	1.00
	96.12	144.01	97.16	0.97	290.08	97.33	0.97	1095.88	100.05	1.00
	94.87	147.66	104.46	1.04	286.89	95.73	0.96	1096.05	100.06	1.00
	94.76	147.77	104.68	1.05	296.21	100.39	1.00	1095.23	99.98	1.00
	94.98	147.45	104.04	1.04	296.45	100.51	1.01	1095.77	100.03	1.00
F. Günler (3)	94.97	143.56	96.26	0.96	295.54	100.06	1.00	1094.99	99.96	1.00
	95.56	143.89	96.92	0.97	295.12	99.85	1.00	1085.46	99.00	0.99
	95.87	148.99	107.12	1.07	295.77	100.17	1.00	1095.99	100.06	1.00
	95.78	145.87	100.88	1.01	290.65	97.61	0.98	1096.05	100.06	1.00
	95.87	146.80	102.74	1.03	296.04	100.31	1.00	1086.06	99.06	0.99
F.G.Ort.	95.43	145.79	100.73	1.01	294.62	99.60	1.00	1090.06	99.46	0.99
F.G.Std	0.517	1.676	3.352	0.034	2.624	1.312	0.013	10.341	1.034	0.010
F.G.RSD	0.005	0.011	0.033	0.033	0.009	0.013	0.013	0.009	0.010	0.010
Gen.Ort	95.51	145.65	100.28	1.002798	294.83	99.66	0.9966	1091.43	99.59	0.9959
Gen.Std	0.496444	1.592814	3.242850	0.032428	2.299278	1.140035	0.0114	9.222135	0.918606	0.0092
Gen.RSD	0.005198	0.010936	0.032338	0.032338	0.007799	0.011439	0.0114	0.008450	0.009224	0.0092
RSD (Pool)		0.008349								

RSD. bağıl standart sapma, Ort.. ortalama, Std..standart sapma

Ek 40. Protokateşik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % G. Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	50	1.0027	1.5928	0.0324	0.0109	24
Protokateşik asit	200	0.9966	2.2992	0.0114	0.0077	24
	1000	0.9959	9.2221	0.0091	0.0084	24
Ort		0.9984		0.0176	0.0090	n=72
				Karakök n.		8.485281
				Standard belirsizlik.		0.002078

Ek 41. Protokateşik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.008300	0.008300
Bias	0.998400	0.002078	0.002081
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.008605
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.017209

Ek 42. Rutin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

Rutin	Spike Yok	D. spike (250 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (1000 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	Y. spike (5000 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)
	113.50	360.09	99.57	1.00	1100.45	98.93	0.99	5180.09	101.38	1.01
	113.60	355.88	97.89	0.98	1109.09	99.79	1.00	5101.09	99.80	1.00
Aynı Gün	110.67	359.88	99.49	0.99	1117.56	100.64	1.01	5109.87	99.97	1.00
	109.98	360.77	99.85	1.00	1110.87	99.97	1.00	5102.76	99.83	1.00
	109.45	354.09	97.17	0.97	1102.03	99.09	0.99	5112.45	100.03	1.00
	109.73	359.87	99.49	0.99	1120.06	100.89	1.01	5190.88	101.59	1.02
Ort.	111.16	358.43	98.91	0.99	1110.01	99.89	1.00	5132.86	100.43	1.00
Std	1.899	2.748	1.099	0.011	7.933	0.793	0.008	41.128	0.823	0.008
RSD	0.017	0.008	0.011	0.011	0.007	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008
	110.98	355.98	98.18	0.98	1130.97	102.04	1.02	5107.76	99.94	1.00
	110.88	360.32	99.92	1.00	1101.00	99.05	0.99	5154.09	100.87	1.01
F. Günler (1)	109.85	352.87	96.94	0.97	1142.08	103.16	1.03	5190.77	101.60	1.02
	109.77	368.00	102.99	1.03	1121.67	101.11	1.01	5176.66	101.32	1.01
	110.69	360.32	99.92	1.00	1112.06	100.15	1.00	5186.55	101.52	1.02
	110.45	365.00	101.79	1.02	1110.76	100.02	1.00	5082.88	99.45	0.99
	110.87	354.54	97.61	0.98	1110.65	100.01	1.00	5118.05	100.15	1.00
	111.09	359.76	99.69	1.00	1109.54	99.90	1.00	5108.55	99.96	1.00
F. Günler (2)	111.87	360.23	99.88	1.00	1110.34	99.98	1.00	5112.06	100.03	1.00
	110.83	350.34	95.93	0.96	1110.76	100.02	1.00	5109.43	99.98	1.00
	109.82	361.98	100.58	1.01	1100.87	99.03	0.99	5088.72	99.56	1.00
	107.06	370.23	103.88	1.04	1112.03	100.15	1.00	5109.69	99.98	1.00
	110.78	361.09	100.23	1.00	1131.87	102.13	1.02	5098.89	99.77	1.00
F. Günler (3)	103.66	369.09	103.43	1.03	1112.56	100.20	1.00	5113.01	100.05	1.00
	110.88	360.87	100.14	1.00	1110.21	99.97	1.00	5117.81	100.15	1.00
	115.03	359.65	99.65	1.00	1101.76	99.12	0.99	5108.58	99.96	1.00
	114.55	370.54	104.01	1.04	1109.88	99.94	1.00	5114.52	100.08	1.00
	110.37	359.21	99.47	0.99	1121.51	101.10	1.01	5105.82	99.91	1.00
F.G.Ort.	110.52	361.11	100.24	1.00	1114.47	100.39	1.00	5122.44	100.24	1.00
F.G.Std	2.426	5.750	2.300	0.023	11.127	1.113	0.011	32.072	0.641	0.006
F.G.RSD	0.022	0.016	0.023	0.023	0.010	0.011	0.011	0.006	0.006	0.006
Gen.Ort	110.68	360.44	99.90	0.9990	1113.36	100.27	1.0027	5125.04	100.29	1.0029
Gen.Std	2.2832	5.2431	2.1253	0.0213	10.4447	1.0501	0.0105	33.9002	0.6773	0.0068
Gen.RSD	0.0206	0.0145	0.0213	0.0213	0.0094	0.0105	0.0105	0.0066	0.0068	0.0068
RSD (Pool)		0.013864								

RSD. bağıl standart sapma, Ort.. ortalama, Std..standart sapma)

Ek 43. Rutin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % G. Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	250	0.9990	5.2431	0.0213	0.0145	24
Rutin	1000	1.0027	10.4447	0.0105	0.0094	24
	5000	1.0029	33.9002	0.0068	0.0066	24
Ort		1.0015		0.0129	0.0102	n=72
				Karakök n.		8.485281
				Standard belirsizlik.		0.001516

Ek 44. Rutin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.013864	0.013864
Bias	1.001500	0.001516	0.001514
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.013947
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.027894

Ek 45. Hesperidin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

Hesperidin	Spike Yok	D. spike (250 ppb)	Geri Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (500 ppm)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	Y. spike (1000 ppm)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)
	141.90	394.50	101.06	1.01	640.92	99.82	1.00	1140.89	99.90	1.00
	143.80	391.70	99.94	1.00	641.25	99.88	1.00	1144.08	100.22	1.00
Aynı Gün	140.90	389.12	98.91	0.99	637.12	99.06	0.99	1138.25	99.64	1.00
	139.80	391.05	99.68	1.00	638.35	99.30	0.99	1137.58	99.57	1.00
	141.00	393.12	100.51	1.01	635.04	98.64	0.99	1143.98	100.21	1.00
	143.65	390.36	99.41	0.99	630.28	97.69	0.98	1140.21	99.84	1.00
Ort.	141.84	391.64	99.92	1.00	637.16	99.06	0.99	1140.83	99.90	1.00
Std	1.60	1.93	0.77	0.01	4.10	0.82	0.01	2.76	0.28	0.00
RSD	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
	140.90	391.00	99.86	1.00	640.00	99.73	1.00	1145.00	100.37	1.00
	139.80	392.04	100.28	1.00	641.23	99.98	1.00	1139.33	99.80	1.00
	142.00	390.25	99.56	1.00	642.58	100.25	1.00	1138.98	99.76	1.00
F. Günler (1)	142.36	391.36	100.01	1.00	639.25	99.58	1.00	1137.25	99.59	1.00
	143.00	391.59	100.10	1.00	638.78	99.49	0.99	1143.21	100.19	1.00
	140.65	390.25	99.56	1.00	639.40	99.61	1.00	1143.56	100.22	1.00
	139.00	392.54	100.48	1.00	637.56	99.24	0.99	1140.25	99.89	1.00
	141.85	391.67	100.13	1.00	637.45	99.22	0.99	1142.58	100.12	1.00
	142.02	390.25	99.56	1.00	635.98	98.93	0.99	1146.01	100.47	1.00
F. Günler (2)	143.58	389.24	99.16	0.99	636.89	99.11	0.99	1138.97	99.76	1.00
	142.87	387.89	98.62	0.99	640.98	99.93	1.00	1136.56	99.52	1.00
	142.05	389.56	99.29	0.99	642.15	100.16	1.00	1140.25	99.89	1.00
	142.35	387.68	98.53	0.99	643.02	100.33	1.00	1144.20	100.29	1.00
	143.07	388.59	98.90	0.99	641.78	100.09	1.00	1143.26	100.19	1.00
F. Günler (3)	141.58	390.50	99.66	1.00	643.25	100.38	1.00	1138.77	99.74	1.00
	139.87	390.14	99.52	1.00	638.21	99.37	0.99	1146.58	100.52	1.01
	138.59	389.54	99.28	0.99	636.69	99.07	0.99	1145.87	100.45	1.00
	138.69	387.58	98.49	0.98	634.98	98.73	0.99	1147.52	100.62	1.01
F.G.Ort.	141.35	390.09	99.50	0.99	639.45	99.62	1.00	1142.12	100.08	1.00
F.G.Std	1.575	1.490	0.596	0.006	2.559	0.512	0.005	3.396	0.340	0.003
F.G.RSD	0.011	0.004	0.006	0.006	0.004	0.005	0.005	0.003	0.003	0.003
Genel Ort	141.47	390.48	99.60	0.9960	638.88	99.48	0.99	1141.80	100.03	1.0003
Genenel Std	1.562	1.7099	0.6538	0.0065	3.086	0.633	0.006	3.241	0.329	0.0033
Genel RSD	0.0110	0.0044	0.0066	0.0066	0.0048	0.0064	0.0064	0.0028	0.0033	0.0033
RSD (Pool)		0.006567								

RSD. bağıl standart sapma, Ort.. ortalama, Std..standart sapma

Ek 46. Hesperidin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % G. Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	250	0.9960	1.7099	0.0065	0.0044	24
Hesperidin	500	0.9948	3.0865	0.0063	0.0048	24
	1000	1.0003	3.2411	0.0033	0.0028	24
Ort		0.9970		0.0054	0.0040	n=72
				Karakök n.		8.485281
				Standard belirsizlik.		0.000634

Ek 47. Hesperidin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.006567	0.006567
Bias	0.997063	0.000635	0.000637
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.006600
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.013200

Ek 48. Eugenol için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

Eugenol	Spike Yok	D. spike (25 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (100 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	Y. spike (500 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)
	4.71	29.56	99.63	1.00	104.67	100.02	1.00	500.78	99.23	0.99
	4.58	30.03	101.51	1.02	101.99	97.34	0.97	494.76	98.02	0.98
Aynı Gün	4.56	28.99	97.35	0.97	103.21	98.56	0.99	504.34	99.94	1.00
	4.69	29.79	100.55	1.01	105.67	101.02	1.01	500.12	99.09	0.99
	4.70	30.67	104.07	1.04	104.56	99.91	1.00	510.45	101.16	1.01
	4.68	29.87	100.87	1.01	104.99	100.34	1.00	507.23	100.52	1.01
Ort.	4.65	29.82	100.66	1.01	104.18	99.53	1.00	502.95	99.66	1.00
Std	0.066	0.553	2.210	0.022	1.341	1.341	0.013	5.591	1.118	0.011
RSD	0.014	0.019	0.022	0.022	0.013	0.013	0.013	0.011	0.011	0.011
	4.67	29.09	97.68	0.98	101.34	96.67	0.97	499.67	99.00	0.99
	4.60	30.31	102.56	1.03	103.67	99.00	0.99	498.98	98.86	0.99
F. Günler (1)	4.68	29.89	100.88	1.01	105.76	101.09	1.01	500.34	99.13	0.99
	4.70	29.54	99.48	0.99	106.43	101.76	1.02	512.67	101.60	1.02
	4.67	28.98	97.24	0.97	105.78	101.11	1.01	510.54	101.17	1.01
	4.65	29.99	101.28	1.01	105.34	100.67	1.01	498.45	98.76	0.99
	4.70	30.12	101.80	1.02	101.57	96.90	0.97	498.23	98.71	0.99
	4.69	30.09	101.68	1.02	103.56	98.89	0.99	490.45	97.16	0.97
F. Günler (2)	4.66	29.89	100.88	1.01	104.76	100.09	1.00	503.34	99.73	1.00
	4.64	29.86	100.76	1.01	103.54	98.87	0.99	505.38	100.14	1.00
	4.68	29.99	101.28	1.01	107.21	102.54	1.03	502.65	99.60	1.00
	4.66	30.43	103.04	1.03	107.56	102.89	1.03	499.88	99.04	0.99
	4.72	29.78	100.44	1.00	105.43	100.76	1.01	490.56	97.18	0.97
F. Günler (3)	4.69	28.99	97.28	0.97	106.54	101.87	1.02	496.89	98.44	0.98
	4.66	29.89	100.88	1.01	104.78	100.11	1.00	494.77	98.02	0.98
	4.67	30.33	102.64	1.03	106.56	101.89	1.02	496.67	98.40	0.98
	4.64	30.23	102.24	1.02	103.45	98.78	0.99	498.78	98.82	0.99
	4.69	29.58	99.64	1.00	103.65	98.98	0.99	510.56	101.18	1.01
F.G.Ort.	4.67	29.83	100.65	1.01	104.83	100.16	1.00	500.49	99.16	0.99
F.G.Std	0.028	0.443	1.773	0.018	1.794	1.794	0.018	6.243	1.249	0.012
F.G.RSD	0.006	0.015	0.018	0.018	0.017	0.018	0.018	0.012	0.013	0.013
Gen.Ort	4.67	29.83	100.65	1.0065	104.67	100.00	1.0000	501.10	99.29	0.9929
Gen.Std	0.0395	0.4600	1.8399	0.0184	1.6889	1.6876	0.0169	6.0654	1.2133	0.0121
Gen.RSD	0.0085	0.0154	0.0183	0.0183	0.0161	0.0169	0.0169	0.0121	0.0122	0.0122
RSD (Pool)		0.013384								

RSD. bağıl standart sapma, Ort.. ortalama, Std..standart sapma

Ek 49. Eugenol için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % G. Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	25	10065	0.4600	0.0184	0.0154	24
Eugenol	100	1.0000	1.6889	0.0169	0.0161	24
	500	0.9929	6.0654	0.0121	0.0121	24
Ort		0.9998		0.0158	0.0146	n=72
				Karakök n.		8.485281
				Standard belirsizlik.		0.001862

Ek 50. Eugenol için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.013384	0.013384
Bias	0.999800	0.001862	0.001862
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.013513
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.027026

Ek 51. p- Kumarik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

p- Kumarik asit	Spike yok	D. spike (100ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (400 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	Y. spike (2000 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)
	102.08	203.76	102.06	1.02	497.89	99.05	0.99	2120.09	100.92	1.01
	101.09	205.76	104.06	1.04	501.87	100.04	1.00	2102.98	100.06	1.00
Aynı Gün	100.54	204.61	102.91	1.03	502.76	100.27	1.00	2115.98	100.71	1.01
	100.21	204.52	102.82	1.03	500.12	99.61	1.00	2098.76	99.85	1.00
	102.50	200.81	99.11	0.99	500.43	99.68	1.00	2102.54	100.04	1.00
	103.76	199.59	97.89	0.98	499.93	99.56	1.00	2089.12	99.37	0.99
Ort.	101.70	203.18	101.48	1.01	500.50	99.70	1.00	2104.91	100.16	1.00
Std	1.339	2.422	2.422	0.024	1.689	0.422	0.004	11.397	0.570	0.006
RSD	0.013	0.012	0.024	0.024	0.003	0.004	0.004	0.005	0.006	0.006
	100.00	203.99	101.70	1.02	511.09	102.20	1.02	2100.99	99.93	1.00
	99.76	200.43	98.14	0.98	489.99	96.92	0.97	2100.87	99.93	1.00
F. Günler (1)	98.54	201.32	99.03	0.99	501.65	99.84	1.00	2103.87	100.08	1.00
	102.70	201.87	99.58	1.00	498.76	99.12	0.99	2130.09	101.39	1.01
	104.55	204.65	102.36	1.02	499.76	99.37	0.99	2130.98	101.43	1.01
	104.40	201.65	99.36	0.99	495.09	98.20	0.98	2090.87	99.43	0.99
	106.23	203.67	101.38	1.01	499.81	99.38	0.99	2098.23	99.80	1.00
	103.33	201.56	99.27	0.99	510.21	101.98	1.02	2089.32	99.35	0.99
F. Günler (2)	99.82	199.05	96.76	0.97	515.99	103.42	1.03	2100.54	99.91	1.00
	99.92	199.93	97.64	0.98	490.76	97.12	0.97	2104.89	100.13	1.00
	101.68	205.12	102.83	1.03	498.67	99.09	0.99	2100.21	99.90	1.00
	102.56	201.76	99.47	0.99	487.99	96.42	0.96	2105.75	100.17	1.00
	103.57	201.55	99.26	0.99	503.33	100.26	1.00	2102.65	100.02	1.00
F. Günler (3)	105.88	202.65	100.36	1.00	515.78	103.37	1.03	2126.76	101.22	1.01
	103.65	204.78	102.49	1.02	502.77	100.12	1.00	2101.34	99.95	1.00
	102.21	200.93	98.64	0.99	501.89	99.90	1.00	2100.45	99.91	1.00
	100.98	202.81	100.52	1.01	499.01	99.18	0.99	2088.54	99.31	0.99
	101.51	198.65	96.36	0.96	520.23	104.48	1.04	2103.78	100.07	1.00
F.G.Ort.	102.29	202.02	99.73	1.00	502.38	100.02	1.00	2104.45	100.11	1.00
F.G.Std	2.208	1.897	1.897	0.019	9.149	2.287	0.023	12.494	0.625	0.006
F.G.RSD	0.022	0.009	0.019	0.019	0.018	0.023	0.023	0.006	0.006	0.006
Gen.Ort	102.14	202.31	100.16	1.0016	501.91	99.94	0.9994	2104.57	100.12	1.0012
Gen.Std	2.016	2.0485	2.1299	0.0213	7.9482	1.9812	0.0198	11.9858	0.5997	0.0060
Gen.RSD	0.020	0.0101	0.0213	0.0213	0.0158	0.0198	0.0198	0.0057	0.0060	0.0060
RSD (Pool)		0.013922								

RSD. bağıl standart sapma, Ort.. ortalama, Std..standart sapma

Ek 52. p- Kumarik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % G. Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
p- Kumarik asit	100	1.0016	2.0485	0.0213	0.0101	24
	400	0.9994	7.9482	0.0198	0.0158	24
	2000	1.0012	11.9858	0.0060	0.0057	24
Ort		1.0007		0.0157	0.0105	n=72
				Karakök n.		8.485281
				Standard belirsizlik.		0.001851

Ek 53. p- Kumarik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.013922	0.013922
Bias	1.000700	0.001851	0.001850
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.014044
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.028089

Ek 54. Piseatannol için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

Pisaatannol	Spike Yok	D. spike (100 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (400 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	Y. spike (2000 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)
	0	100.09	100.09	1.00	410.90	102.73	1.03	1990.89	99.54	1.00
	0	95.98	95.98	0.96	398.76	99.69	1.00	2000.45	100.02	1.00
Aynı Gün	0	97.34	97.34	0.97	397.45	99.36	0.99	2023.98	101.20	1.01
	0	105.87	105.87	1.06	405.70	101.43	1.01	2040.65	102.03	1.02
	0	103.87	103.87	1.04	411.70	102.93	1.03	2050.65	102.53	1.03
	0	104.78	104.78	1.05	399.67	99.92	1.00	1980.78	99.04	0.99
Ort.	0.00	101.32	101.32	1.01	404.03	101.01	1.01	2014.57	100.73	1.01
Std	0.000	4.124	4.124	0.041	6.307	1.577	0.016	28.186	1.409	0.014
RSD	0.000	0.041	0.041	0.041	0.016	0.016	0.016	0.014	0.014	0.014
	0	102.80	102.80	1.03	395.76	98.94	0.99	1996.98	99.85	1.00
	0	103.87	103.87	1.04	399.90	99.98	1.00	1988.98	99.45	0.99
F. Günler (1)	0	104.56	104.56	1.05	413.76	103.44	1.03	2013.87	100.69	1.01
	0	106.85	106.85	1.07	404.56	101.14	1.01	2050.65	102.53	1.03
	0	102.23	102.23	1.02	400.98	100.25	1.00	2067.89	103.39	1.03
	0	98.87	98.87	0.99	412.87	103.22	1.03	1983.25	99.16	0.99
	0	96.09	96.09	0.96	403.54	100.89	1.01	1985.76	99.29	0.99
	0	97.36	97.36	0.97	410.76	102.69	1.03	1980.45	99.02	0.99
F. Günler (2)	0	98.78	98.78	0.99	405.78	101.45	1.01	1980.43	99.02	0.99
	0	96.75	96.75	0.97	390.45	97.61	0.98	2045.78	102.29	1.02
	0	102.76	102.76	1.03	397.76	99.44	0.99	2087.34	104.37	1.04
	0	105.08	105.08	1.05	398.67	99.67	1.00	2043.56	102.18	1.02
	0	101.87	101.87	1.02	405.68	101.42	1.01	1988.54	99.43	0.99
F. Günler (3)	0	103.76	103.76	1.04	407.08	101.77	1.02	1990.90	99.55	1.00
	0	104.60	104.60	1.05	400.87	100.22	1.00	1989.56	99.48	0.99
	0	96.89	96.89	0.97	409.50	102.38	1.02	2007.98	100.40	1.00
	0	97.87	97.87	0.98	389.45	97.36	0.97	2065.43	103.27	1.03
	0	103.55	103.55	1.04	412.83	103.21	1.03	2006.65	100.33	1.00
F.G.Ort.	0.00	101.36	101.36	1.01	403.34	100.84	1.01	2015.22	100.76	1.01
F.G.Std	0.000	3.401	3.401	0.034	7.286	1.821	0.018	35.070	1.754	0.018
F.G.RSD	0.000	0.034	0.034	0.034	0.018	0.018	0.018	0.017	0.017	0.017
Gen.Ort	0.00	101.35	101.35	1.0135	403.52	100.88	1.0088	2015.06	100.75	1.0075
Gen.Std	0.0000	3.4998	3.4998	0.0350	6.9263	1.7316	0.0173	32.8918	1.6446	0.0164
Gen.RSD	0.0000	0.0345	0.0345	0.0345	0.0172	0.0172	0.0172	0.0163	0.0163	0.0163
RSD (Pool)		0.020937								

RSD. bağıl standart sapma, Ort.. ortalama, Std..standart sapma

Ek 55. Piseatannol için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % G. Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	100	1.0135	3.4998	0.0350	0.0345	24
Piseatannol	400	1.0088	6.9263	0.0173	0.0172	24
	2000	1.0075	32.8918	0.0164	0.0163	24
Ort		1.0099		0.0229	0.0227	n=72
				Karakök n.		8.485281
				Standard belirsizlik.		0.002699

Ek 56. Piseatannol için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.020937	0.020937
Bias	1.009900	0.002699	0.002673
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.021107
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.042214

Ek 57. Skopoletin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

Skopoletin	Spike yok	D. spike (25 ppb)	Geri Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (100 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	Y. spike (500 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)
	58.80	83.12	103.29	1.03	155.98	98.68	0.99	520.90	92.72	0.93
	58.34	82.34	100.17	1.00	157.34	100.04	1.00	540.87	96.71	0.97
Aynı Gün	55.98	83.08	103.13	1.03	160.43	103.13	1.03	563.87	101.31	1.01
	57.12	82.76	101.85	1.02	158.54	101.24	1.01	534.23	95.39	0.95
	55.87	83.56	105.05	1.05	156.98	99.68	1.00	568.21	102.18	1.02
	57.67	83.45	104.61	1.05	162.04	104.74	1.05	570.34	102.61	1.03
Ort.	57.30	83.05	103.02	1.03	158.55	101.26	1.01	549.74	98.49	0.98
Std	1.207	0.450	1.801	0.018	2.291	2.291	0.023	20.573	4.115	0.041
RSD	0.021	0.005	0.017	0.017	0.014	0.023	0.023	0.037	0.042	0.042
	58.8	83.78	103.82	1.04	157.98	100.15	1.00	539.76	96.39	0.96
	57.23	82.67	99.38	0.99	154.98	97.15	0.97	550.89	98.61	0.99
F. Günler (1)	56.76	83.78	103.82	1.04	160.89	103.06	1.03	549.45	98.32	0.98
	55.87	83.24	101.66	1.02	158.09	100.26	1.00	550.55	98.54	0.99
	55.56	83.32	101.98	1.02	160.02	102.19	1.02	540.34	96.50	0.97
	54.78	82.34	98.06	0.98	154.45	96.62	0.97	549.50	98.33	0.98
	58.67	82.40	98.30	0.98	158.87	101.04	1.01	572.43	102.92	1.03
	59.43	85.12	109.18	1.09	157.77	99.94	1.00	560.28	100.49	1.00
F. Günler (2)	60.05	83.67	103.38	1.03	156.43	98.60	0.99	580.99	104.63	1.05
	60.65	82.37	98.18	0.98	157.23	99.40	0.99	534.12	95.26	0.95
	60.34	82.98	100.62	1.01	156.91	99.08	0.99	557.99	100.03	1.00
	58.45	82.87	100.18	1.00	156.88	99.05	0.99	537.39	95.91	0.96
	58.98	83.67	103.38	1.03	156.33	98.50	0.99	534.87	95.41	0.95
F. Günler (3)	56.76	83.90	104.30	1.04	161.90	104.07	1.04	562.80	100.99	1.01
	57.56	84.03	104.82	1.05	156.88	99.05	0.99	558.65	100.16	1.00
	57.98	83.32	101.98	1.02	158.41	100.58	1.01	550.71	98.58	0.99
	56.45	83.79	103.86	1.04	160.20	102.37	1.02	550.34	98.50	0.99
	56.54	83.54	102.86	1.03	161.77	103.94	1.04	570.51	102.54	1.03
F.G.Ort.	57.83	83.38	102.21	1.02	158.11	158.11	1.00	552.87	99.01	0.99
F.G.Std	1.710	0.704	2.814	0.028	2.152	2.152	0.022	13.251	2.650	0.027
F.G.RSD	0.030	0.008	0.028	0.028	0.014	0.014	0.021	0.024	0.027	0.027
Gen.Ort	57.69	83.30	102.41	1.0241	158.22	100.53	1.0053	552.08	98.88	0.9888
Gen.Std	1.5914	0.6563	2.5863	0.0259	2.1453	2.1791	0.0218	14.9569	2.9874	0.0299
Gen.RSD	0.0276	0.0079	0.0253	0.0253	0.0136	0.0217	0.0217	0.0271	0.0302	0.0302
RSD (Pool)		0.020861								

RSD. bağıl standart sapma, Ort.. ortalama, Std..standart sapma

Ek 58. Skopoletin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % G. Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	25	1.0241	0.6563	0.0259	0.0079	24
Skopoletin	100	1.0053	2.1453	0.0218	0.0136	24
	500	0.9888	14.9569	0.0299	0.0271	24
Ort		1.0061		0.0259	0.0162	n=72
				Karakök n.		8.485281
				Standard belirsizlik.		0.003048

Ek 59. Skopoletin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.020861	0.020861
Bias	1.006100	0.003048	0.003030
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.021080
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.042160

Ek 60. Kavain için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

Kavain	Spike Yok	D. spike (5 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (20 ppb)	Geri Kaz.	G. Kaz. (%)	Y. spike (100 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)
	0	5.01	100.20	1.00	20.14	100.70	1.01	100.25	100.25	1.00
	0	4.99	99.80	1.00	19.89	99.45	0.99	99.87	99.87	1.00
Aynı Gün	0	4.98	99.60	1.00	20.16	100.80	1.01	99.58	99.58	1.00
	0	5.02	100.40	1.00	21.00	105.00	1.05	100.45	100.45	1.00
	0	5.15	103.00	1.03	20.18	100.90	1.01	101.54	101.54	1.02
	0	4.96	99.20	0.99	19.82	99.10	0.99	101.87	101.87	1.02
Ort.	0.00	5.02	100.37	1.00	20.20	100.99	1.01	100.59	100.59	1.01
Std	0.00	0.07	1.36	0.01	0.42	2.10	0.02	0.92	0.92	0.01
RSD	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
	0	4.98	99.60	1.00	19.89	99.45	0.99	100.54	100.54	1.01
	0	4.96	99.20	0.99	19.86	99.30	0.99	99.54	99.54	1.00
F. Günler (1)	0	5.02	100.40	1.00	20.14	100.70	1.01	99.25	99.25	0.99
	0	5.11	102.20	1.02	20.17	100.85	1.01	98.99	98.99	0.99
	0	4.95	99.00	0.99	20.96	104.80	1.05	101.25	101.25	1.01
	0	5.15	103.00	1.03	19.85	99.25	0.99	102.07	102.07	1.02
	0	4.97	99.40	0.99	19.86	99.30	0.99	101.70	101.70	1.02
	0	4.93	98.60	0.99	19.68	98.40	0.98	99.68	99.68	1.00
F. Günler (2)	0	5.02	100.40	1.00	20.58	102.90	1.03	99.87	99.87	1.00
	0	5.02	100.40	1.00	19.04	95.20	0.95	99.76	99.76	1.00
	0	5.16	103.20	1.03	20.78	103.90	1.04	100.58	100.58	1.01
	0	4.95	99.00	0.99	19.84	99.20	0.99	101.67	101.67	1.02
	0	4.99	99.80	1.00	20.68	103.40	1.03	101.57	101.57	1.02
	0	4.92	98.40	0.98	20.78	103.90	1.04	102.09	102.09	1.02
F. Günler (3)	0	4.94	98.80	0.99	19.82	99.10	0.99	100.98	100.98	1.01
	0	5.05	101.00	1.01	19.67	98.35	0.98	102.08	102.08	1.02
	0	5.18	103.60	1.04	20.57	102.85	1.03	101.88	101.88	1.02
	0	4.91	98.20	0.98	20.08	100.40	1.00	99.64	99.64	1.00
F.G.Ort.	0.00	5.01	100.23	1.00	20.13	100.63	1.01	100.73	100.73	1.01
F.G.Std	0.00	0.09	1.71	0.02	0.50	2.51	0.03	1.09	1.09	0.01
F.G.RSD	0.00	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
Gen. Ort	0.00	5.01	100.27	1.0027	20.14	100.72	1.0072	100.70	100.70	1.0070
Gen. Std	0.00	0.0803	1.6051	0.0161	0.4760	2.3799	0.0238	1.0345	1.0345	0.0103
Gen. RSD	0.02	0.0160	0.0160	0.0160	0.0236	0.0236	0.0236	0.0103	0.0103	0.0103
RSD (Pool)		0.015167								

RSD. bağıl standart sapma, Ort.. ortalama, Std..standart sapma

Ek 61. Kavain için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % G. Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	5	1.0027	0.0803	0.0161	0.0160	24
Kavain	20	1.0072	0.4760	0.0238	0.0236	24
	100	1.0070	1.0345	0.0103	0.0103	24
Ort		1.0056		0.0167	0.0166	n=72
				Karakök n.		8.485281
				Standard belirsizlik.		0.001972

Ek 62. Kavain için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.015167	0.015167
Bias	1.005600	0.001972	0.001961
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.015293
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.030586

Ek 63. Krisofanik asit için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

Krisofanik asit	Spike Yok	D. spike (25 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (100 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	Y. spike (500 ppb)	G. Kaz.	G.Kaz. (%)
	0	25.07	100.28	1.00	97.56	97.56	0.98	490.56	98.11	0.98
	0	24.76	99.04	0.99	98.56	98.56	0.99	495.02	99.00	0.99
Aynı Gün	0	26.50	106.00	1.06	99.09	99.09	0.99	495.76	99.15	0.99
	0	24.87	99.48	0.99	102.54	102.54	1.03	500.32	100.06	1.00
	0	26.10	104.40	1.04	98.54	98.54	0.99	490.12	98.02	0.98
	0	24.81	99.24	0.99	100.87	100.87	1.01	505.87	101.17	1.01
Ort.	0.00	25.35	101.41	1.01	99.53	99.53	1.00	496.28	99.26	0.99
Std	0.00	0.753	3.011	0.030	1.836	1.836	0.018	6.014	1.203	0.012
RSD	0.00	0.030	0.030	0.030	0.018	0.018	0.018	0.012	0.012	0.012
	0	24.87	99.48	0.99	97.09	97.09	0.97	490.45	98.09	0.98
	0	25.98	103.92	1.04	99.45	99.45	0.99	489.09	97.82	0.98
F. Günler (1)	0	23.98	95.92	0.96	103.54	103.54	1.04	510.34	102.07	1.02
	0	24.87	99.48	0.99	104.12	104.12	1.04	490.65	98.13	0.98
	0	25.65	102.60	1.03	103.65	103.65	1.04	487.56	97.51	0.98
	0	25.76	103.04	1.03	104.09	104.09	1.04	487.54	97.51	0.98
	0	24.45	97.80	0.98	103.76	103.76	1.04	515.87	103.17	1.03
	0	25.98	103.92	1.04	101.98	101.98	1.02	504.34	100.87	1.01
F. Günler (2)	0	26.01	104.04	1.04	102.65	102.65	1.03	510.62	102.12	1.02
	0	24.23	96.92	0.97	102.89	102.89	1.03	502.56	100.51	1.01
	0	24.98	99.92	1.00	101.65	101.65	1.02	489.76	97.95	0.98
	0	25.12	100.48	1.00	102.62	102.62	1.03	485.87	97.17	0.97
	0	25.76	103.04	1.03	103.98	103.98	1.04	498.76	99.75	1.00
F. Günler (3)	0	25.89	103.56	1.04	97.56	97.56	0.98	480.54	96.11	0.96
	0	25.77	103.08	1.03	99.65	99.65	1.00	512.79	102.56	1.03
	0	25.34	101.36	1.01	100.76	100.76	1.01	499.12	99.82	1.00
	0	25.09	100.36	1.00	101.54	101.54	1.02	516.45	103.29	1.03
	0	24.89	99.56	1.00	100.32	100.32	1.00	488.56	97.71	0.98
F.G.Ort.	0.00	25.26	101.03	1.01	101.74	101.74	1.02	497.83	99.57	1.00
F.G.Std	0.00	0.634	2.537	0.025	2.195	2.195	0.022	11.556	2.311	0.023
F.G.RSD	0.00	0.025	0.025	0.025	0.022	0.022	0.022	0.023	0.023	0.023
Gen. Ort	0.00	25.28	101.12	1.0112	101.19	101.19	1.0119	497.44	99.49	0.9949
Gen. Std	0.00	0.6498	2.5993	0.0260	2.2914	2.2914	0.0229	10.3457	2.0691	0.0207
Gen. RSD	0.00	0.0257	0.0257	0.0257	0.0226	0.0226	0.0226	0.0208	0.0208	0.0208
RSD (Pool)		0.020038								

RSD. bağıl standart sapma, Ort.. ortalama, Std..standart sapma

Ek 64. Krisofanik asit için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % G. Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	25	1.0112	0.6498	0.0260	0.0257	24
Krisofanik asit	100	1.0119	2.2914	0.0229	0.0226	24
	500	0.9949	10.3457	0.0207	0.0208	24
Ort		1.0060		0.0232	0.0230	n=72
				Karakök n.		8.485281
				Standard belirsizlik.		0.002734

Ek 65. Krisofanik asit için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.020038	0.020038
Bias	1.006000	0.002734	0.002718
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.020221
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.040443

Ek 66. Resiniferatoksin için aynı gün ve farklı günlerde yapılan gerçeklik (geri kazanım) ve kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik) çalışmaları

Resiniferatoksin	Spike Yok	D. spike (5 ppb)	G. Kaz.	G. Kaz. (%)	O. spike (20 ppb)	G. Kaz.	G.Kaz. (%)	Y. spike (100 ppb)	G.Kaz	G. Kaz. (%)
	0	4.92	98.40	0.98	19.21	96.05	0.96	99.65	99.65	1.00
	0	4.98	99.60	1.00	19.32	96.60	0.97	98.45	98.45	0.98
Aynı Gün	0	4.99	99.80	1.00	19.80	99.00	0.99	100.23	100.23	1.00
	0	5.01	100.20	1.00	20.12	100.60	1.01	101.08	101.08	1.01
	0	5.11	102.20	1.02	20.14	100.70	1.01	100.87	100.87	1.01
	0	5.15	103.00	1.03	20.65	103.25	1.03	99.67	99.67	1.00
Ort.	0.00	5.03	100.53	1.01	19.87	99.37	0.99	99.99	99.99	1.00
Std	0.000	0.09	1.73	0.02	0.55	2.73	0.03	0.96	0.96	0.01
RSD	0.000	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03	0.01	0.01	0.01
	0	4.98	99.60	1.00	20.12	100.60	1.01	98.99	98.99	0.99
	0	4.96	99.20	0.99	19.65	98.25	0.98	99.58	99.58	1.00
F. Günler (1)	0	5.14	102.80	1.03	19.68	98.40	0.98	98.89	98.89	0.99
	0	4.90	98.00	0.98	20.14	100.70	1.01	98.87	98.87	0.99
	0	4.89	97.80	0.98	20.15	100.75	1.01	98.86	98.86	0.99
	0	4.99	99.80	1.00	19.36	96.80	0.97	102.00	102.00	1.02
	0	4.97	99.40	0.99	19.87	99.35	0.99	101.57	101.57	1.02
	0	5.02	100.40	1.00	19.57	97.85	0.98	101.87	101.87	1.02
F. Günler (2)	0	5.15	103.00	1.03	20.01	100.05	1.00	102.04	102.04	1.02
	0	5.08	101.60	1.02	19.80	99.00	0.99	99.58	99.58	1.00
	0	5.07	101.40	1.01	19.32	96.60	0.97	99.47	99.47	0.99
	0	5.12	102.40	1.02	20.33	101.65	1.02	98.96	98.96	0.99
	0	4.95	99.00	0.99	19.78	98.90	0.99	98.56	98.56	0.99
F. Günler (3)	0	5.05	101.00	1.01	20.45	102.25	1.02	99.82	99.82	1.00
	0	5.08	101.60	1.02	19.99	99.95	1.00	101.54	101.54	1.02
	0	5.18	103.60	1.04	19.66	98.30	0.98	101.70	101.70	1.02
	0	4.97	99.40	0.99	20.58	102.90	1.03	100.87	100.87	1.01
	0	4.93	98.60	0.99	19.55	97.75	0.98	100.21	100.21	1.00
F.G.Ort.	0.00	5.02	100.48	1.00	19.89	99.45	0.99	100.19	100.19	1.00
F.G.Std	0.000	0.09	1.77	0.02	0.36	1.79	0.02	1.29	1.29	0.01
F.G.RSD	0.000	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
Gen. Ort	0.00	5.02	100.49	1.0049	19.89	99.43	0.9943	100.14	100.14	1.0014
Gen. Std	0.000	0.0860	1.7194	0.0172	0.3999	1.9993	0.0200	1.1975	1.1975	0.0120
Gen. RSD	0.000	0.0171	0.0171	0.0171	0.0201	0.0201	0.0201	0.0120	0.0120	0.0120
RSD (Pool)		0.014492								

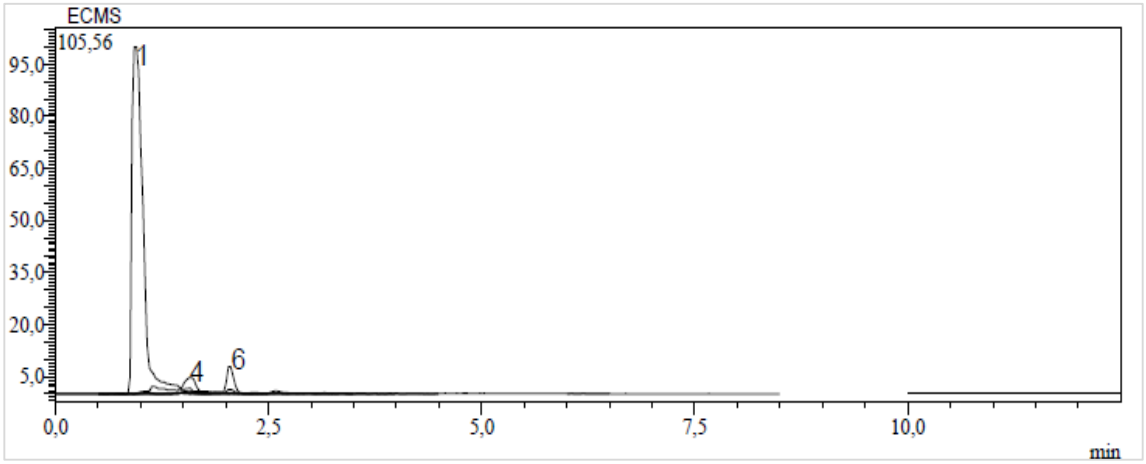
RSD. bağıl standart sapma, Ort.. ortalama, Std..standart sapma

Ek 67. Resiniferatoksin için yapılan gerçeklik ve kesinlik çalışma hesaplamaları

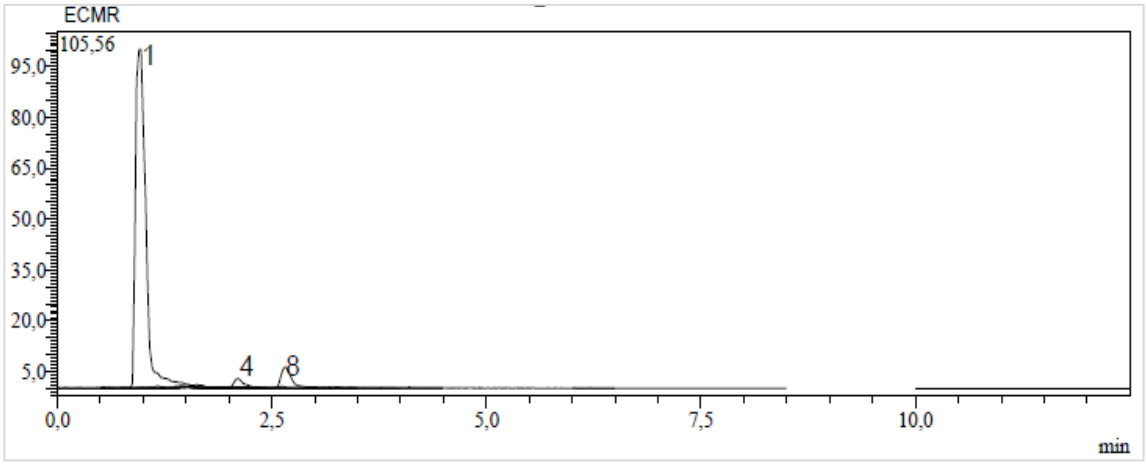
Analit	G.K.Çal. (µg/L)	Ortalama % G. Kazanım	Analiz Son.st.Sapma	% G. Kazanım St. Sap.	RSD	Paralel Sayısı
	5	1.0049	0.0860	0.0172	0.0171	24
Resiniferatoksin	20	0.9943	0.3999	0.0200	0.0201	24
	100	1.0014	1.1975	0.0120	0.0120	24
Ort		1.0002		0.0164	0.0163	n=72
				Karakök n.		8.485281
				Standard belirsizlik.		0.001931

Ek 68. Resiniferatoksin için yapılan k=2 ve % 95 güven aralığında yapılan belirsizlik çalışması

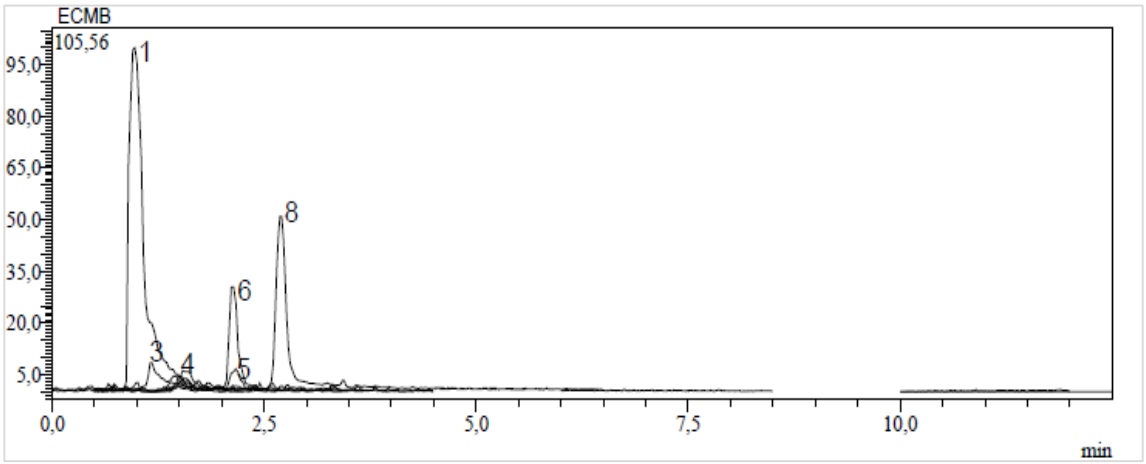
Belirsizlik Kaynakları	x Değeri	Standart Belirsizlik u(x)	Rölatif Standart Belirsizlik u(x)/x
Kesinlik	1	0.014492	0.014500
Bias	1.000192	0.001931	0.001930
Birleştirilmiş rölatif Standart Belirsizlik u(Pop)/Pop			0.014600
Genişletilmiş belirsizlik (k=2. % 95 Güven aralığı)			0.029200



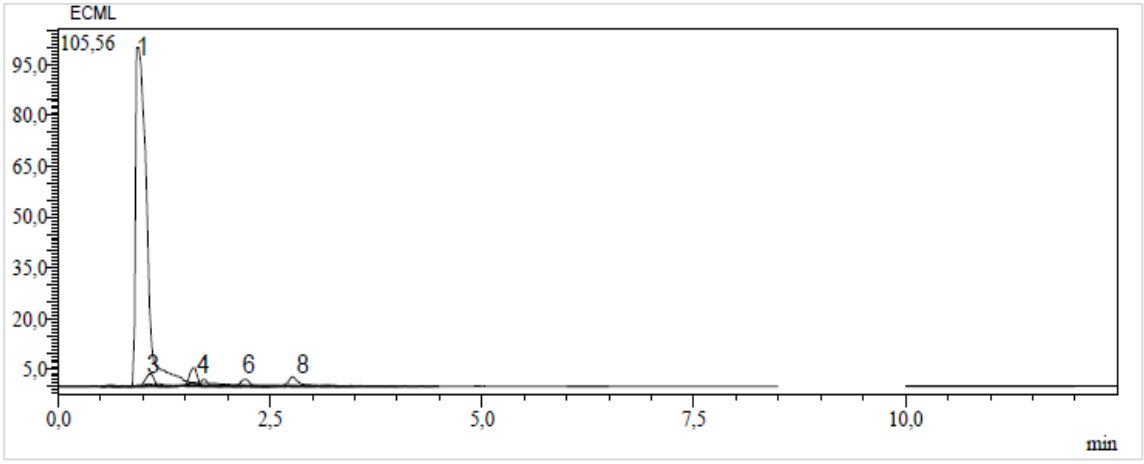
Ek 69. *E. craspedia*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



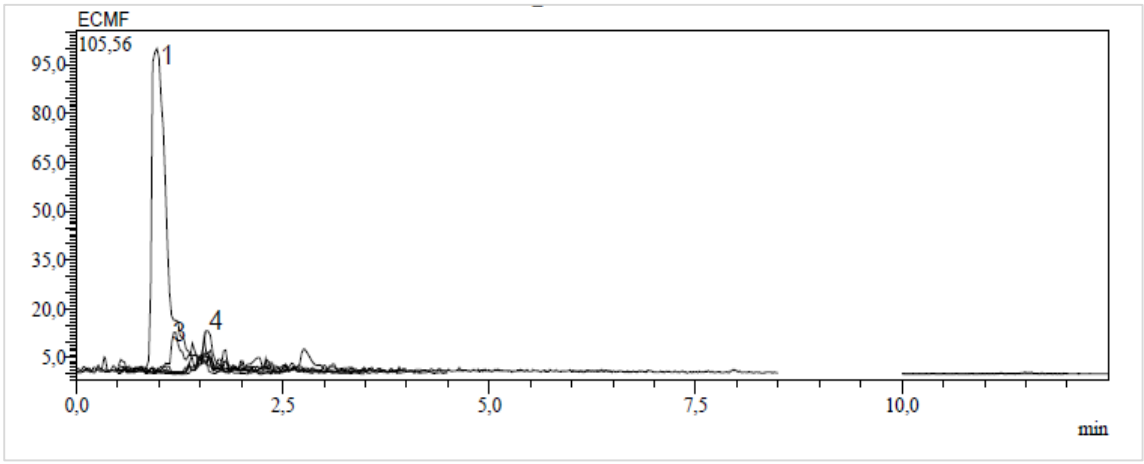
Ek 70. *E. craspedia*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



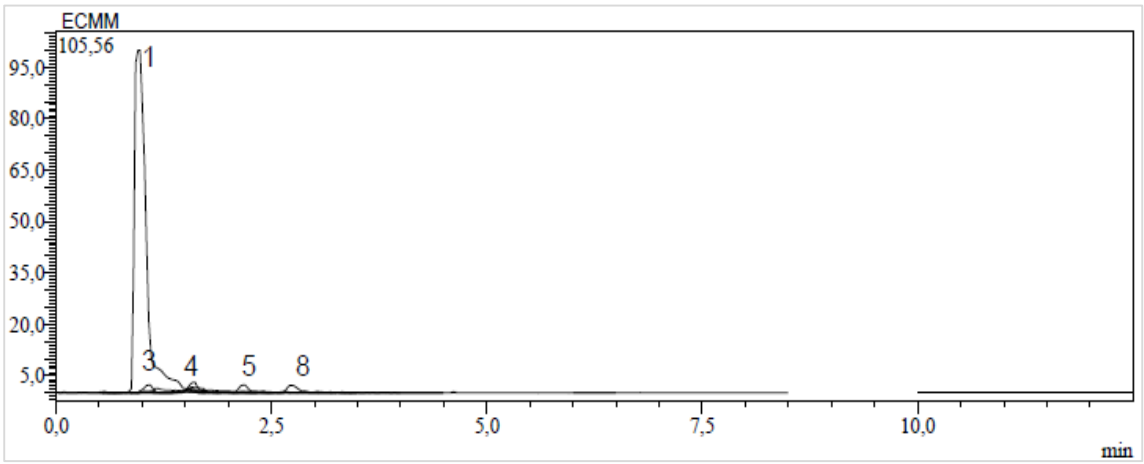
Ek 71. *E. craspedia*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



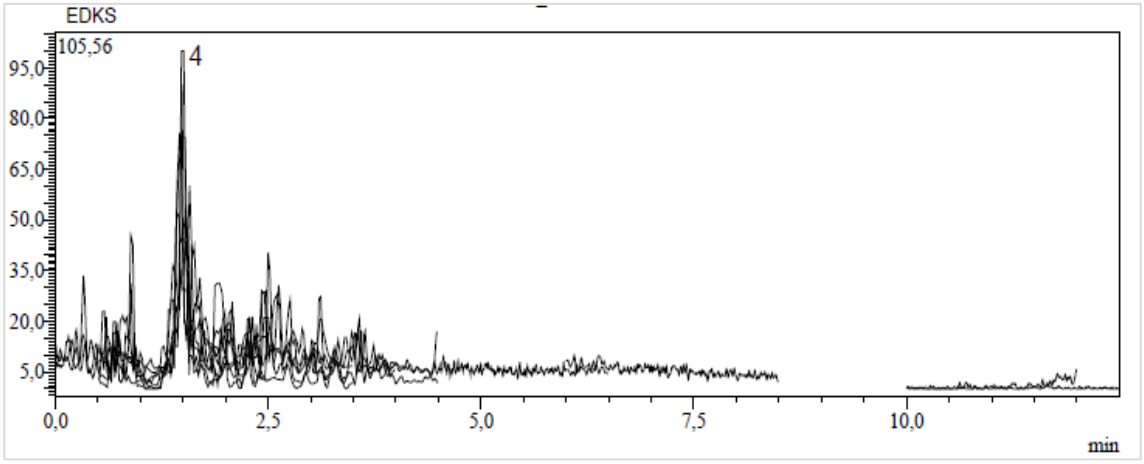
Ek 72. *E. craspedia*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



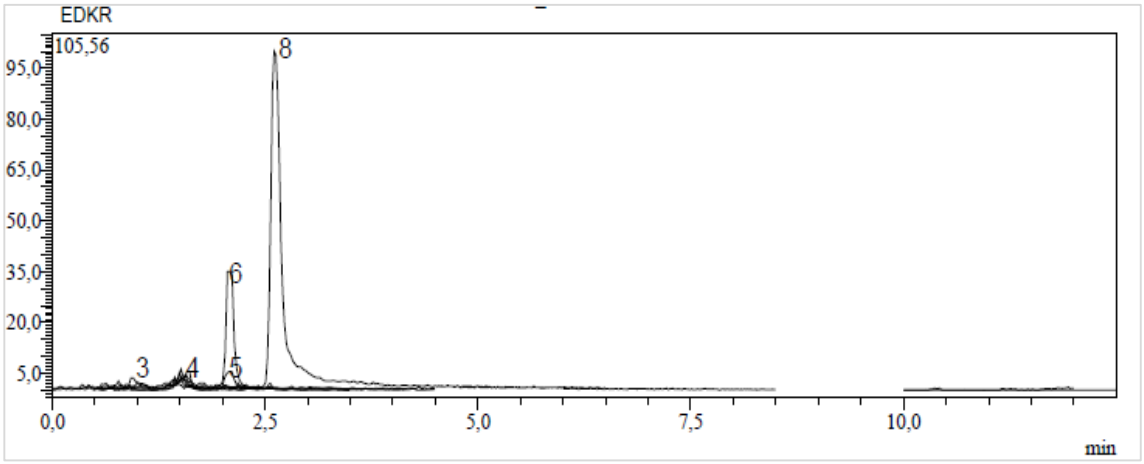
Ek 73. *E. craspedia*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



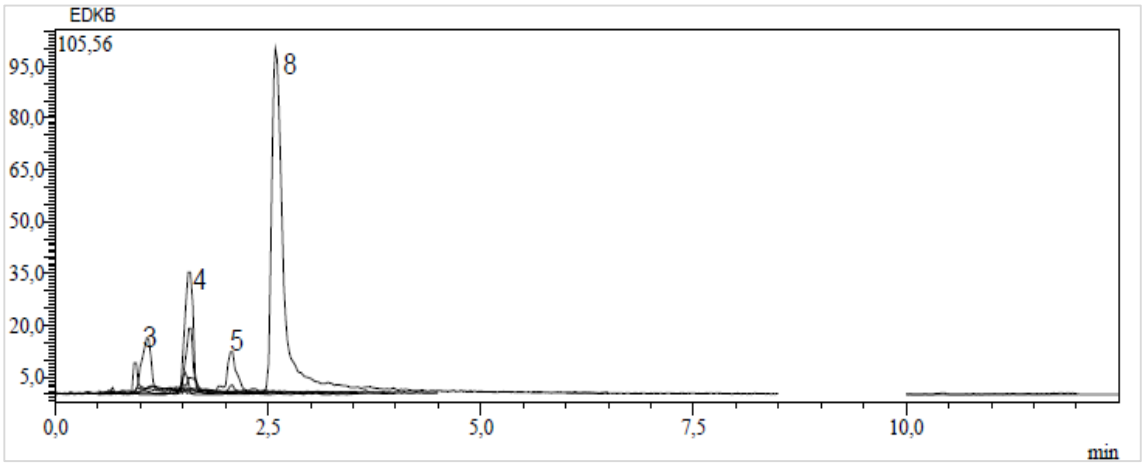
Ek 74. *E. craspedia*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



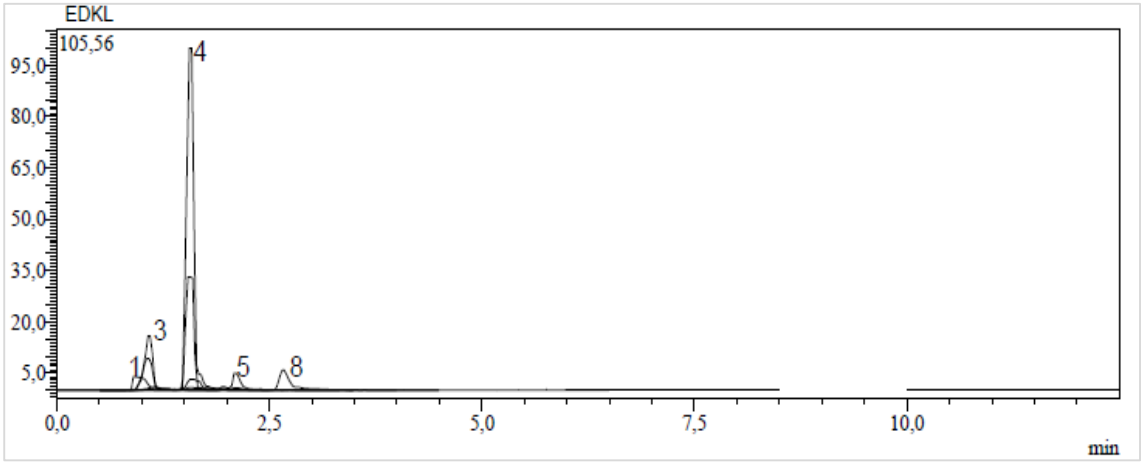
Ek 75. *E. denticulata*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



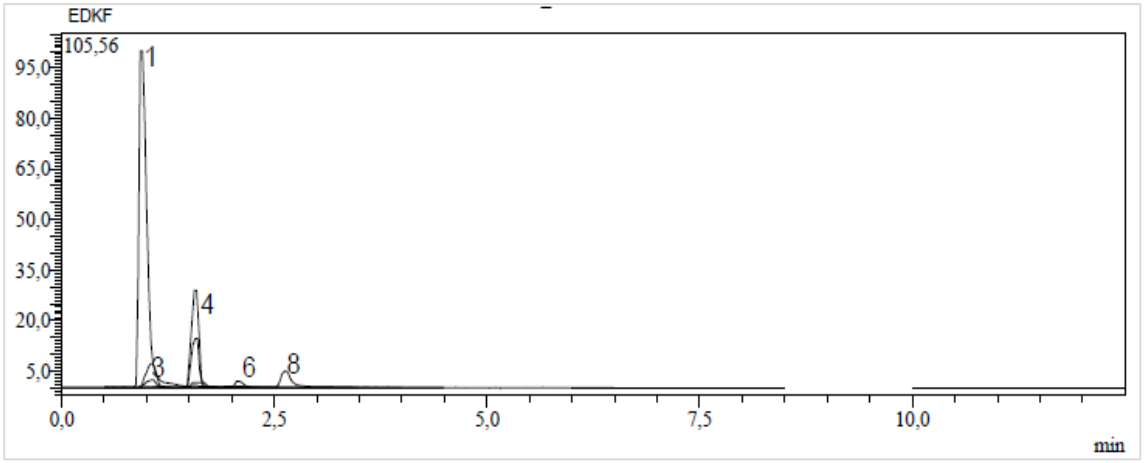
Ek 76. *E. denticulata*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



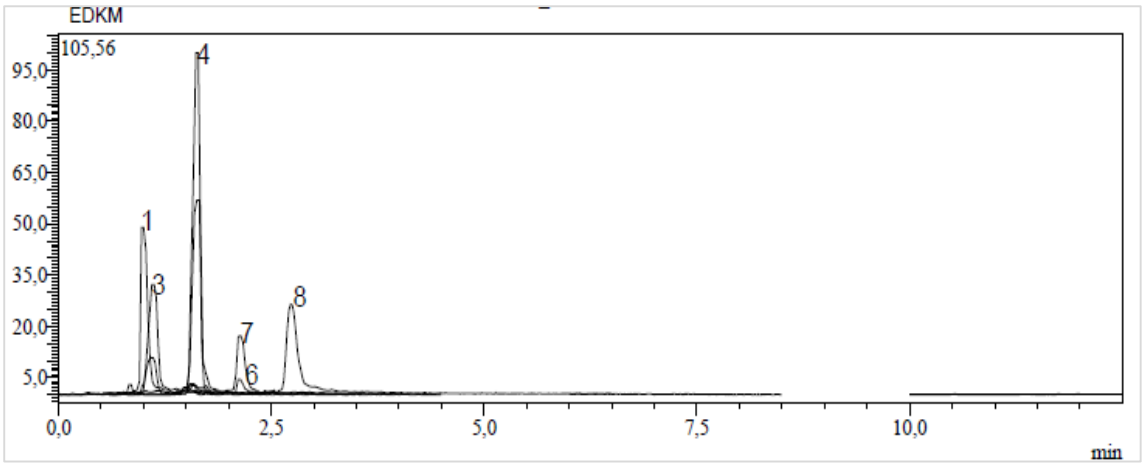
Ek 77. *E. denticulata*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



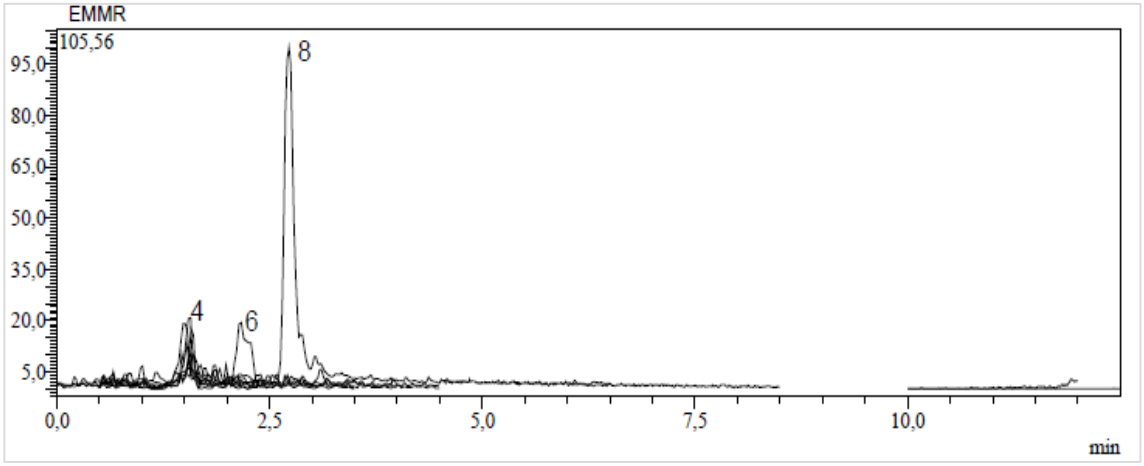
Ek 78. *E. denticulata*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



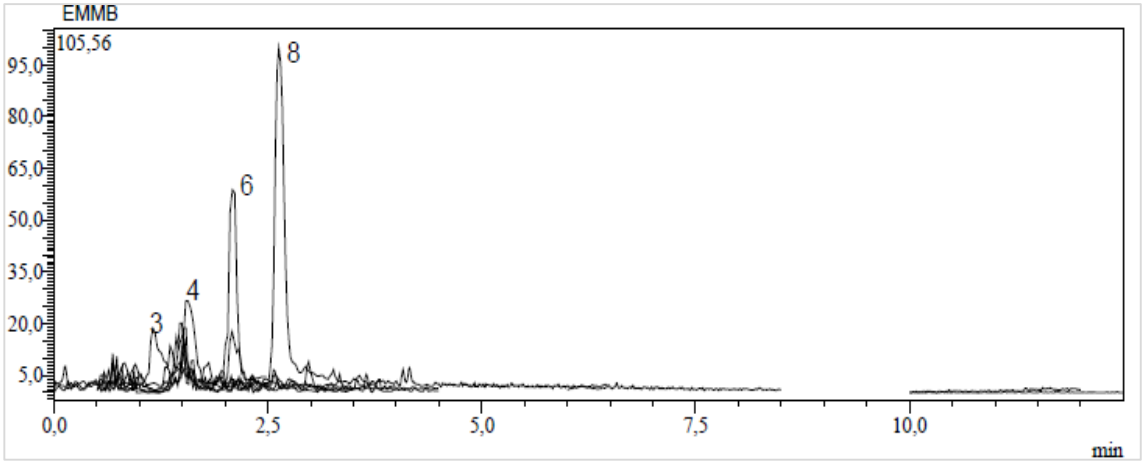
Ek 79. *E. denticulata*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



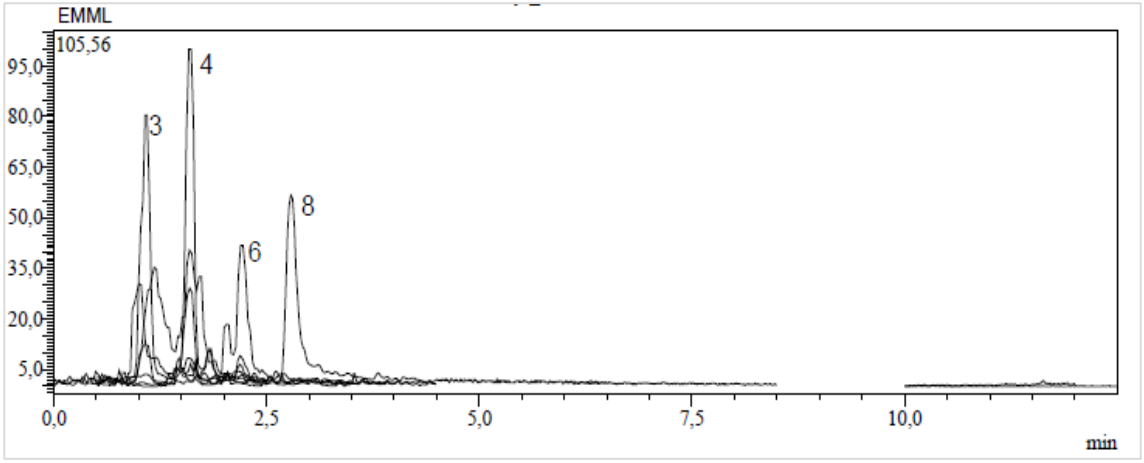
Ek 80. *E. denticulata*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



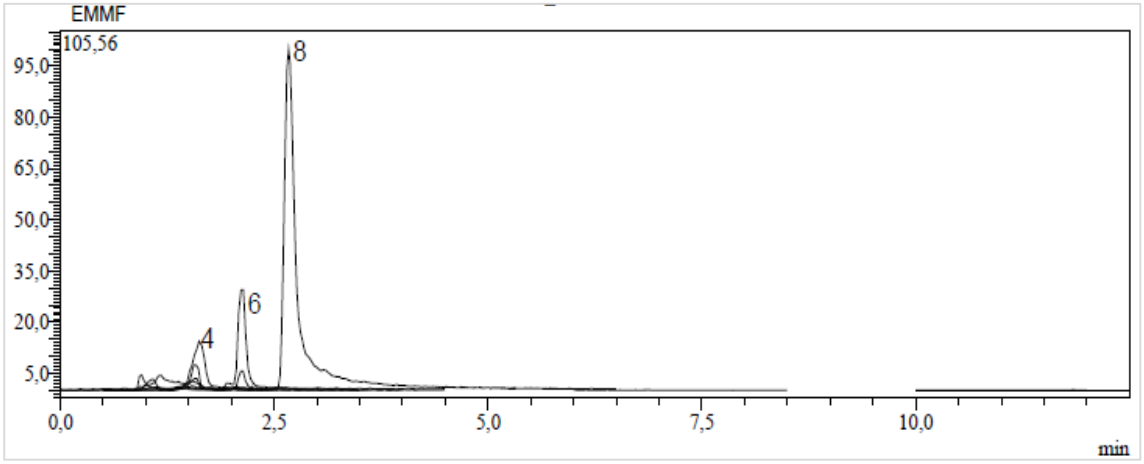
Ek 81. Malatya'dan toplanan *E. macroclada*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



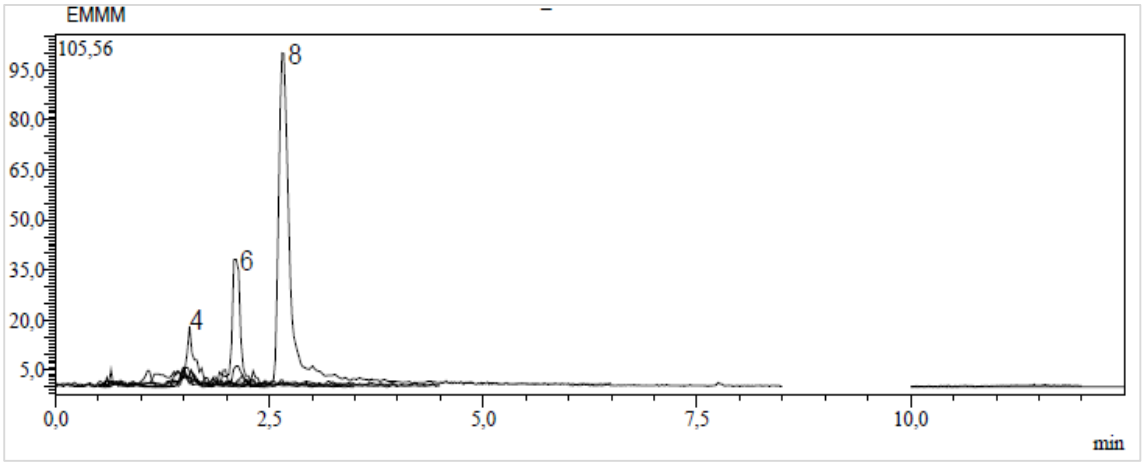
Ek 82. Malatya'dan toplanan *E. macroclada*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



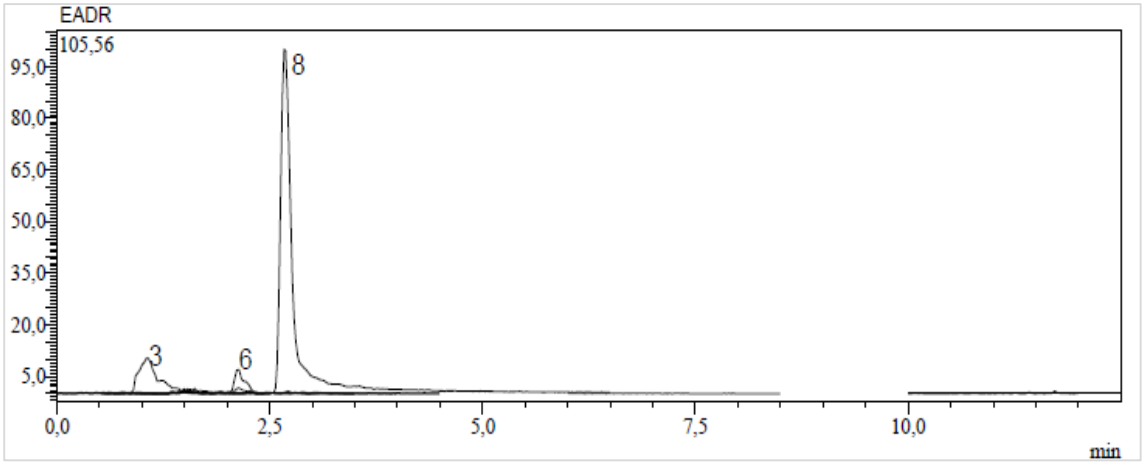
Ek 83. Malatya'dan toplanan *E. macroclada*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



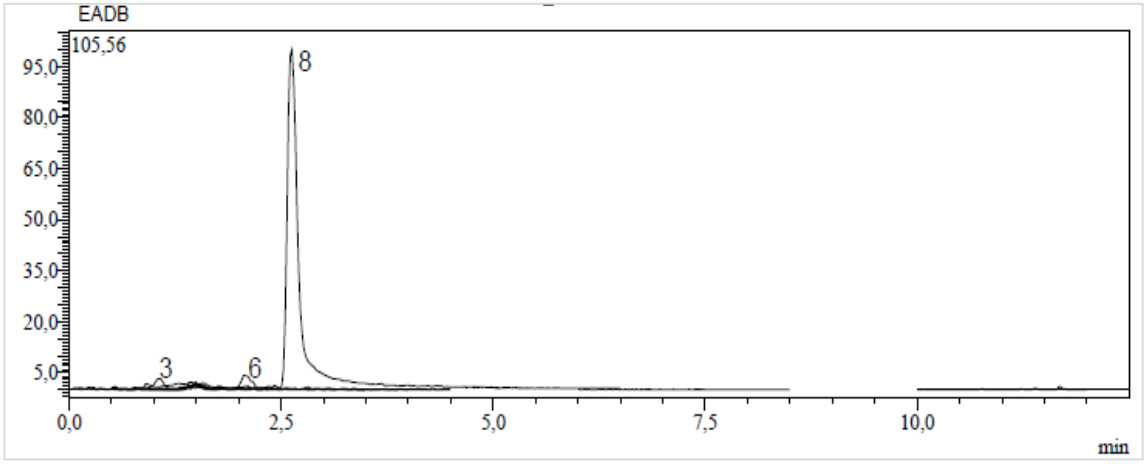
Ek 84. Malatya'dan toplanan *E. macroclada*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



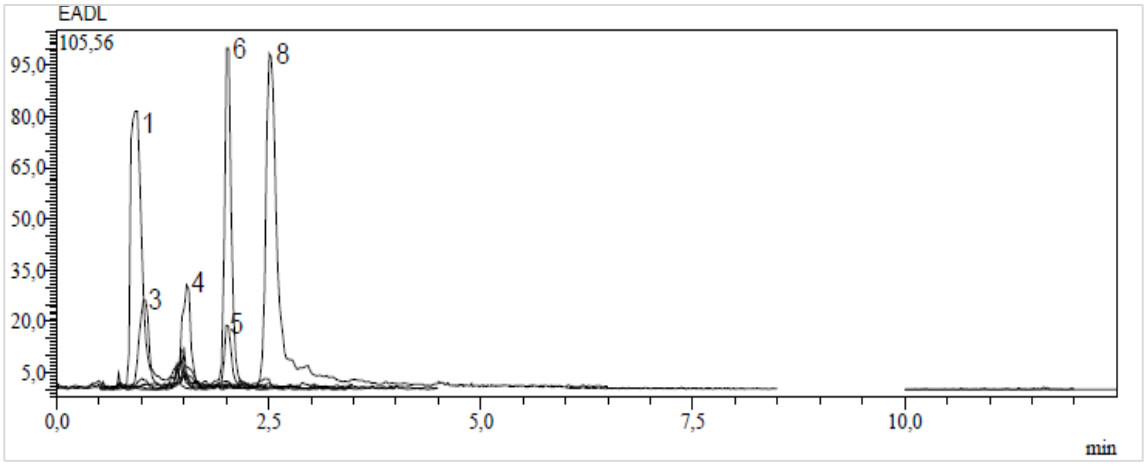
Ek 85. Malatya'dan toplanan *E. macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



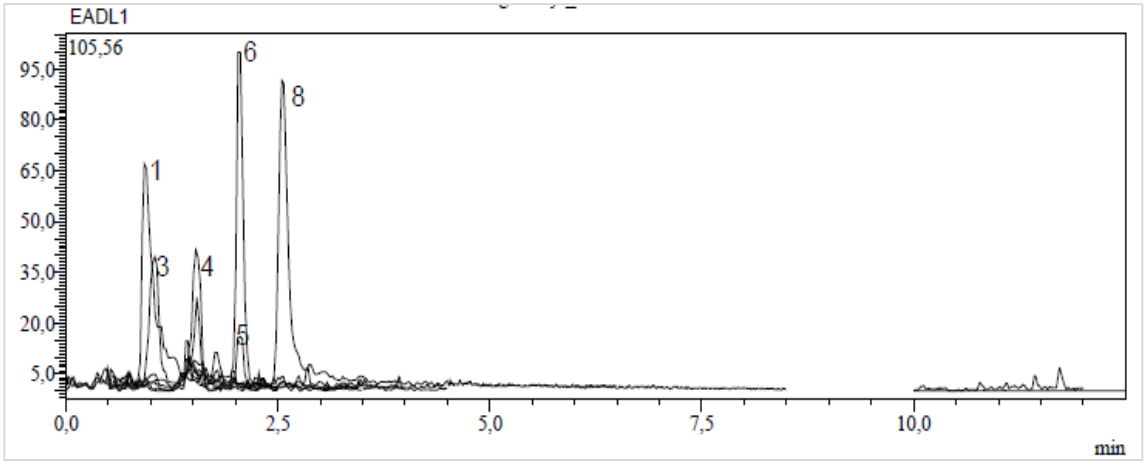
Ek 86. *E. aleppica*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



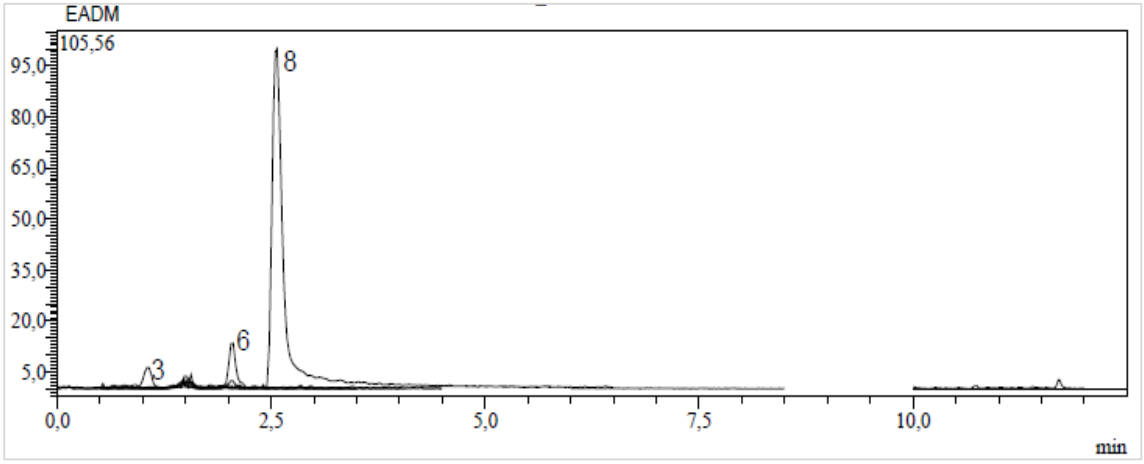
Ek 87. *E. aleppica*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



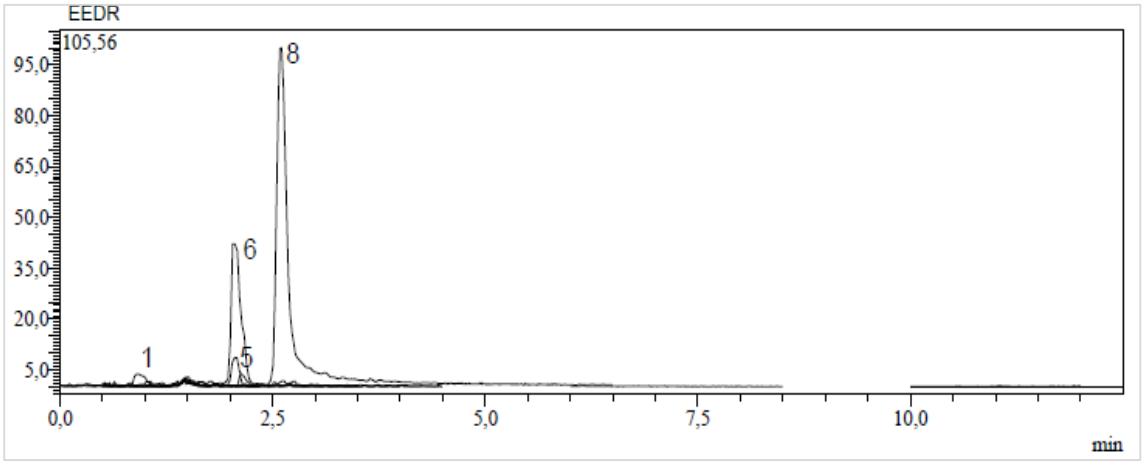
Ek 88. *E. aleppica*'nın olgunlaşmış yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



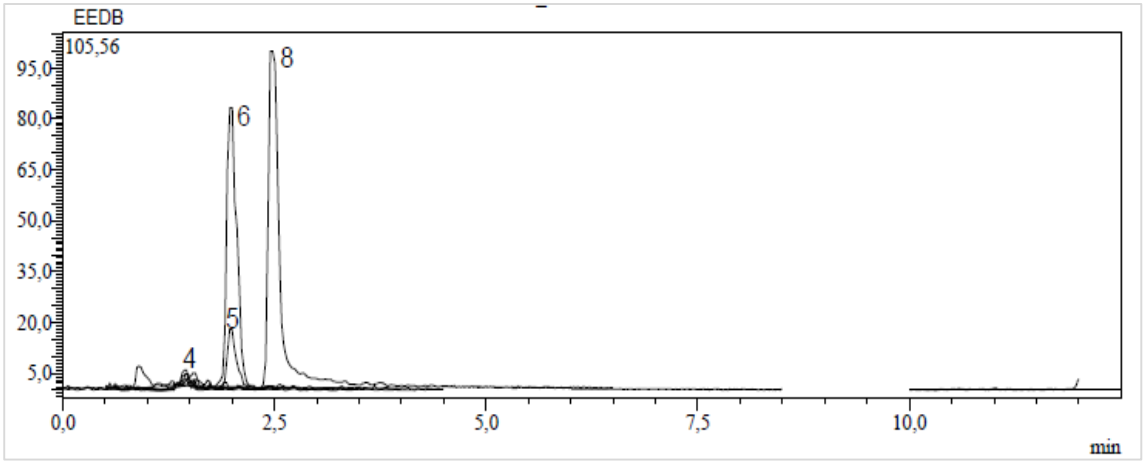
Ek 89. *E. aleppica*'nın olgunlaşmamış yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



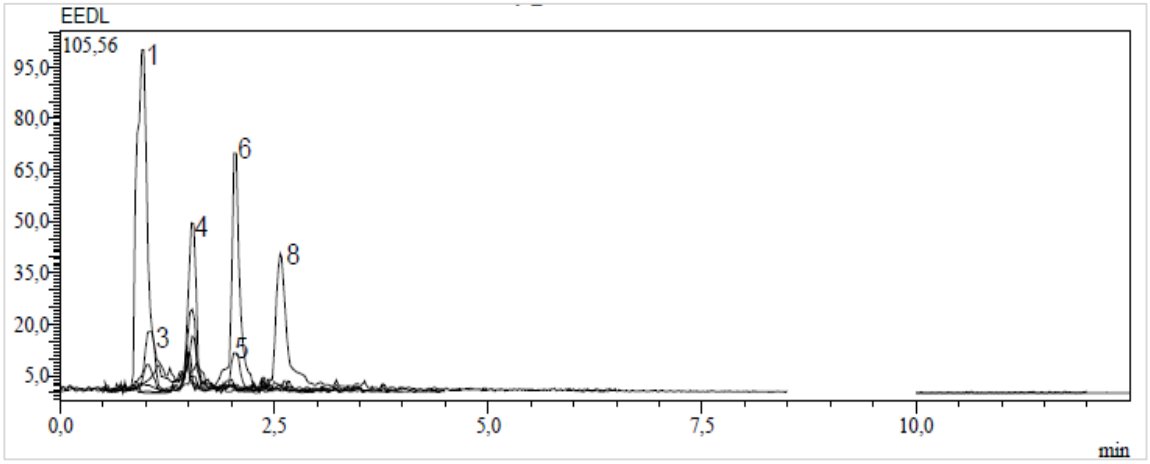
Ek 90. *E. aleppica*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



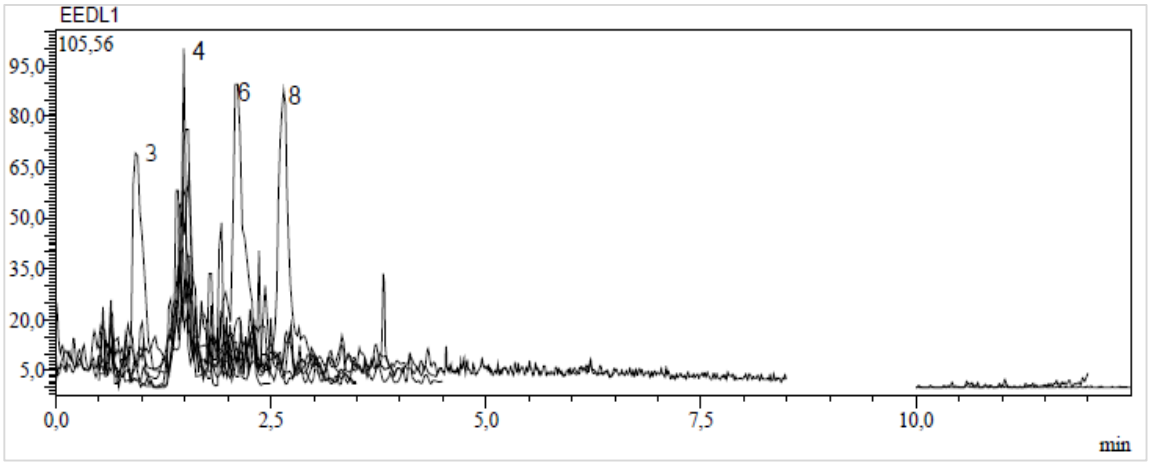
Ek 91. *E. eriophora*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



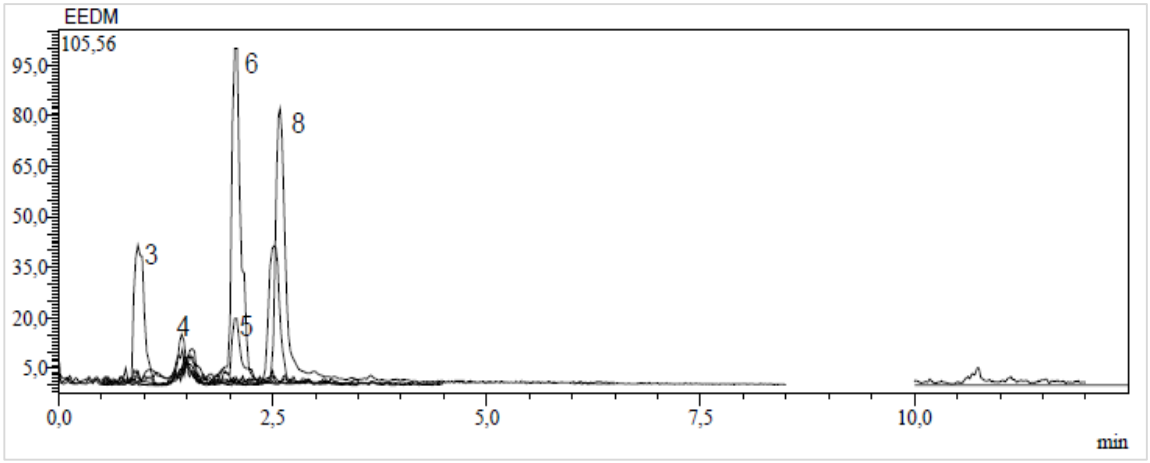
Ek 92. *E. eriophora*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



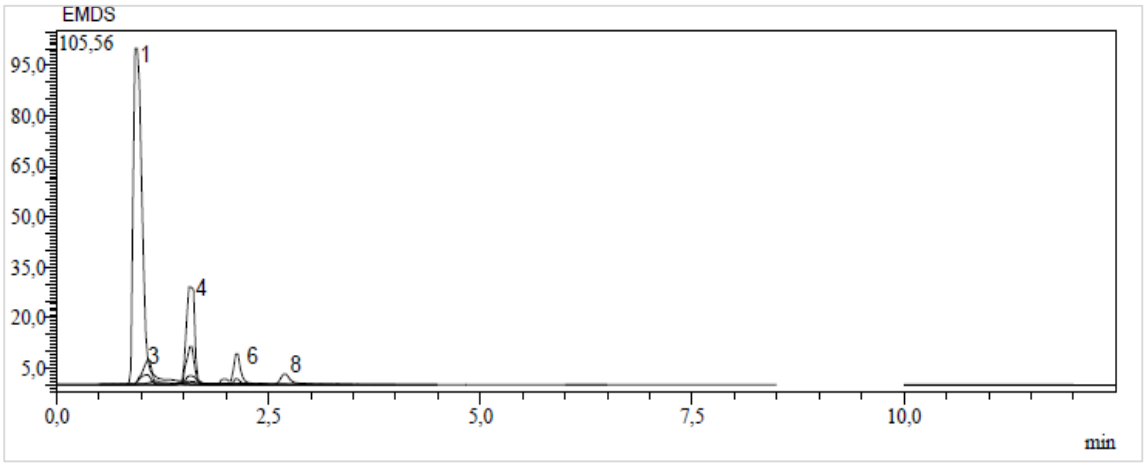
Ek 93. *E. eriophora*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



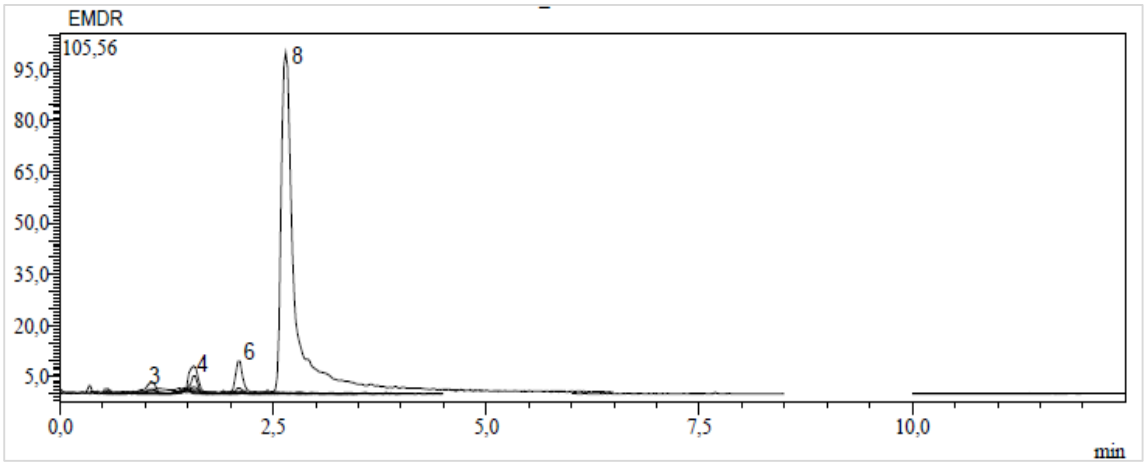
Ek 94. *E. eriophora*'nın yaprak tozu kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



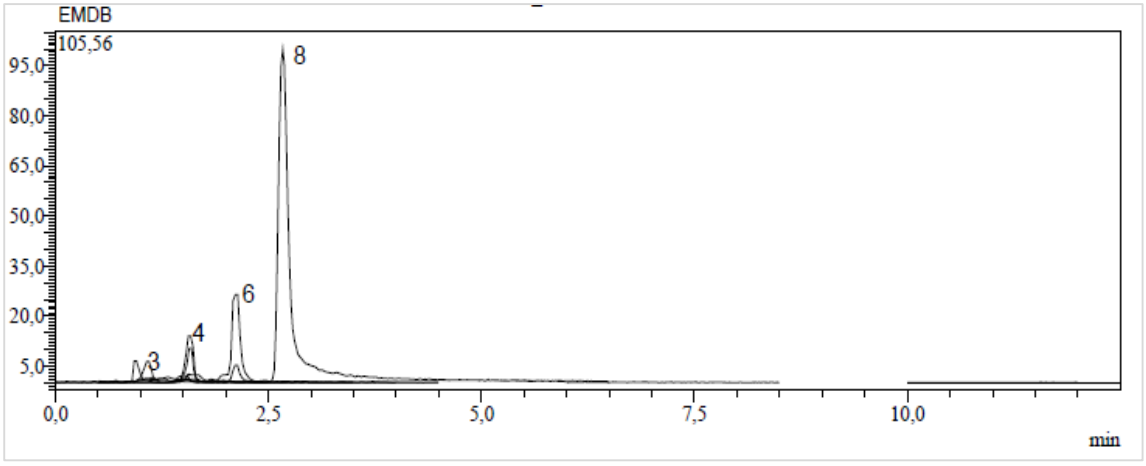
Ek 95. *E. eriophora*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



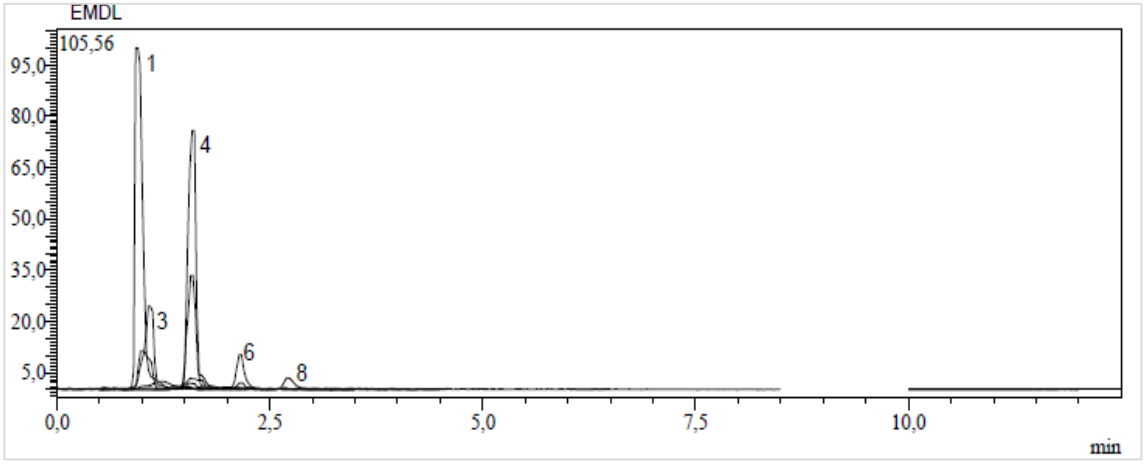
Ek 96. Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



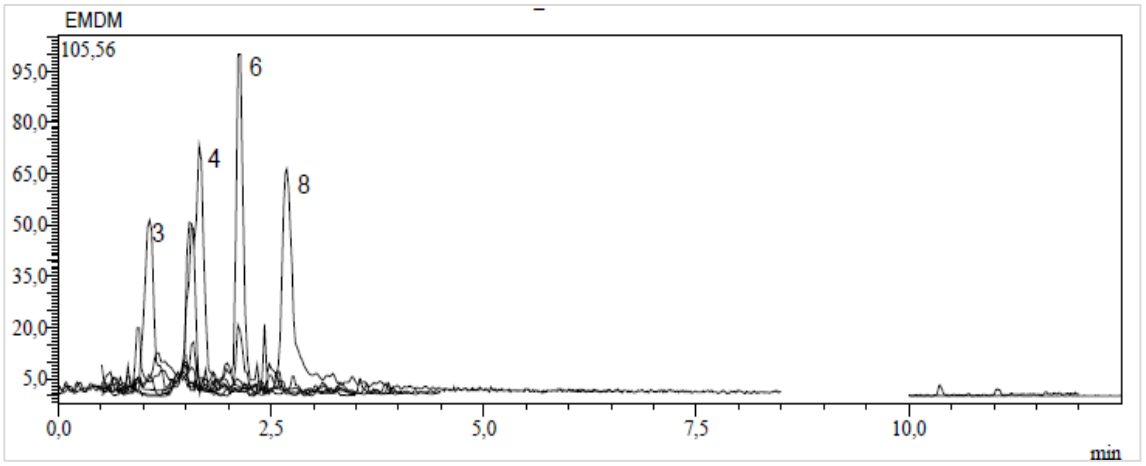
Ek 97. Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



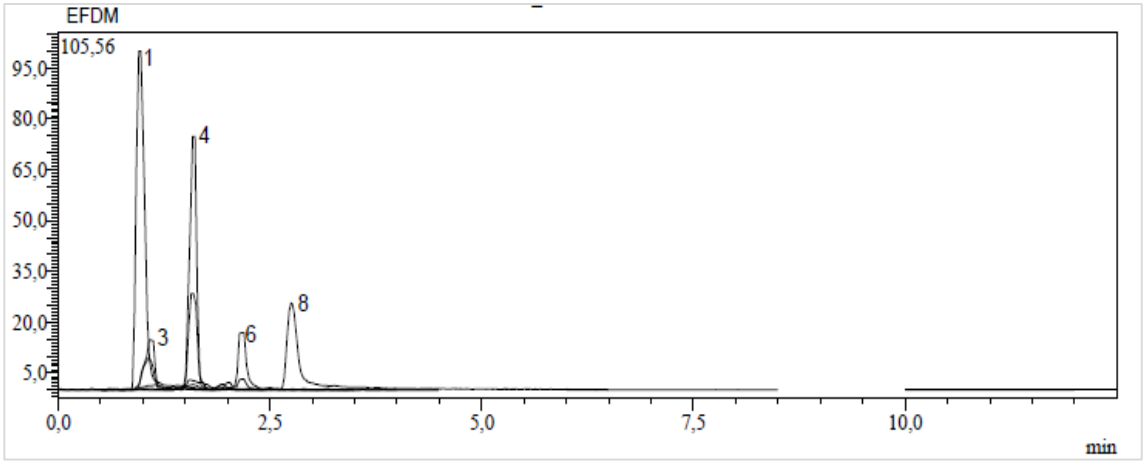
Ek 98. Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



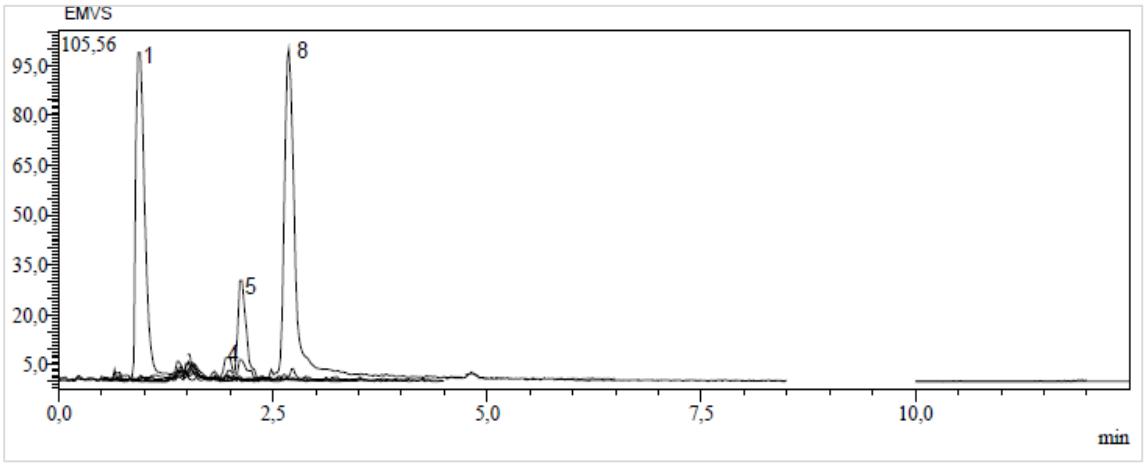
Ek 99. Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



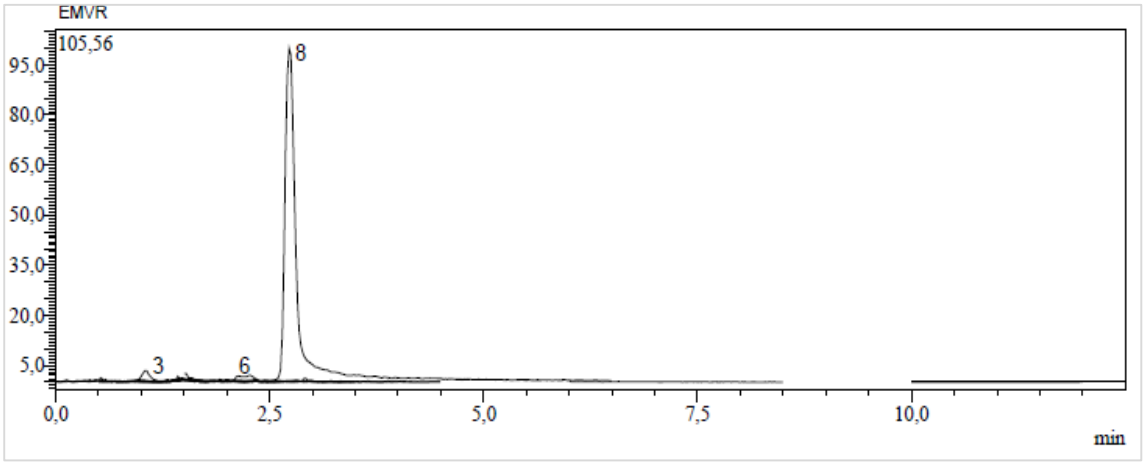
Ek 100. Diyarbakır'dan toplana *E. macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



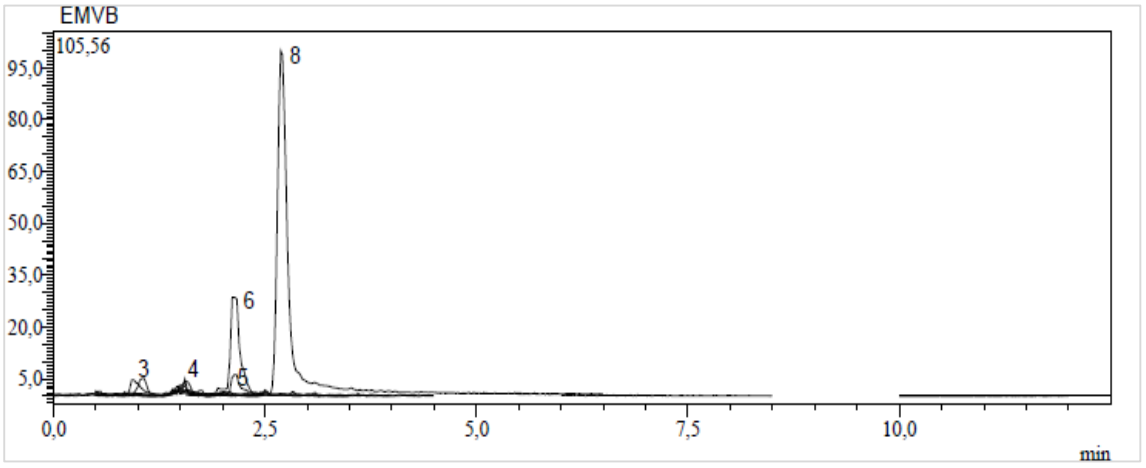
Ek 101. *E. falcata*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



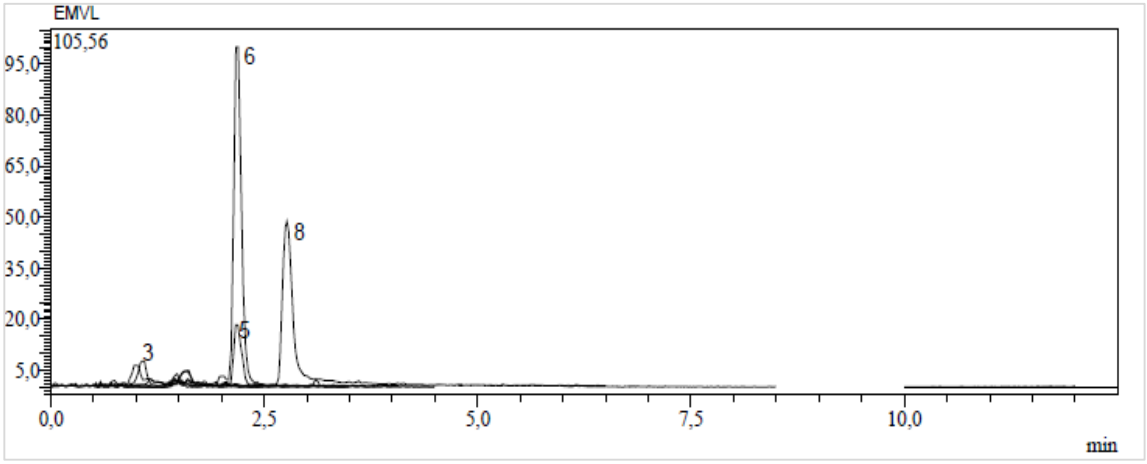
Ek 102. Van'dan toplanan *E. macroclada*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



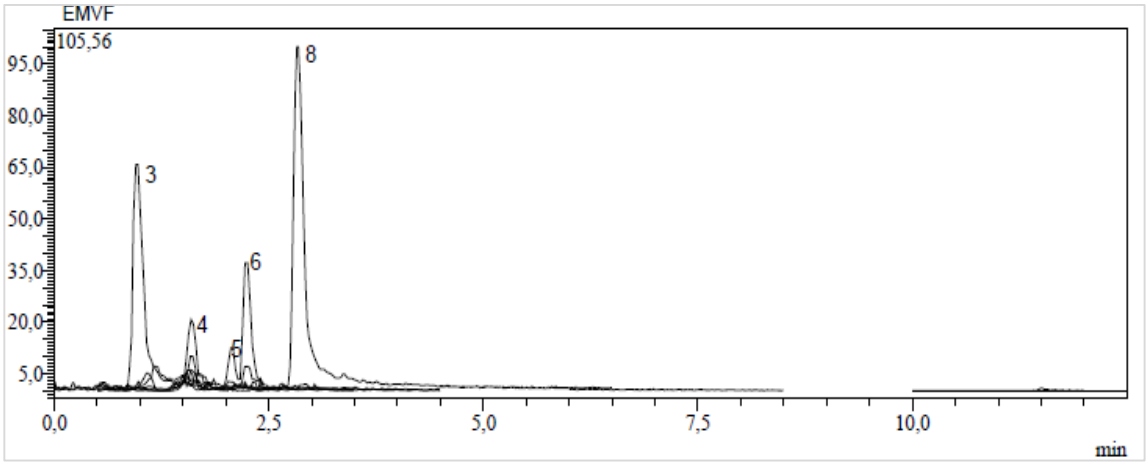
Ek 103. Van'dan toplanan *E. macroclada*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



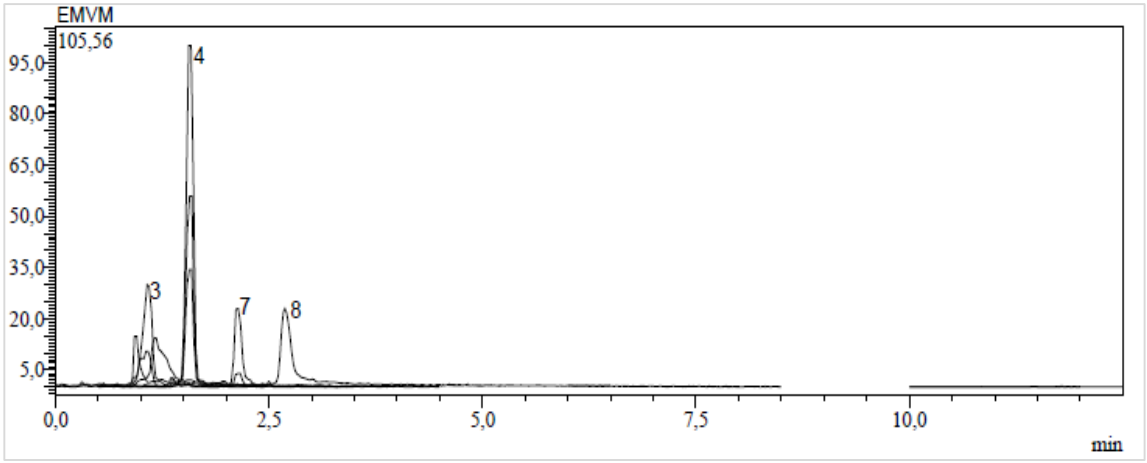
Ek 104. Van'dan toplanan *E. macroclada*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



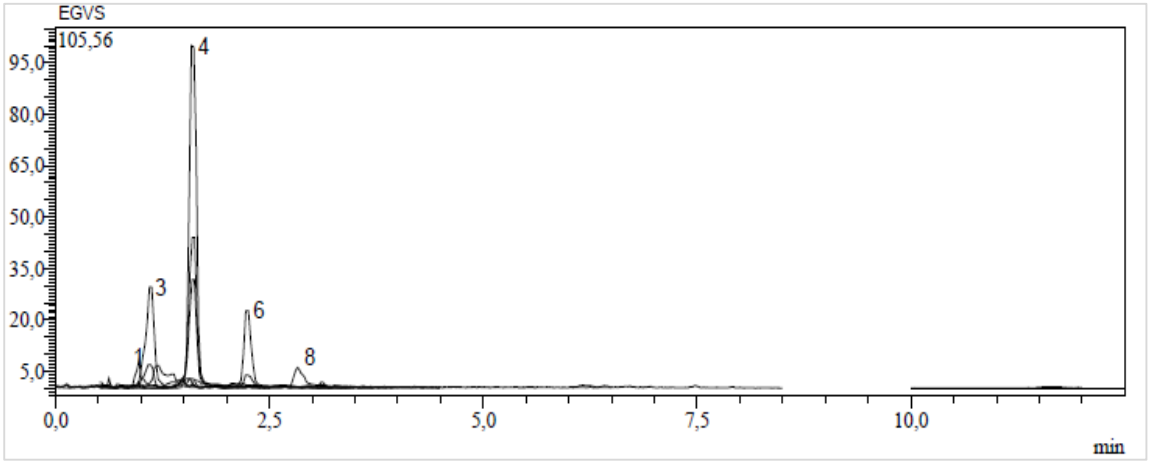
Ek 105. Van'dan toplanan *E. macroclada*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



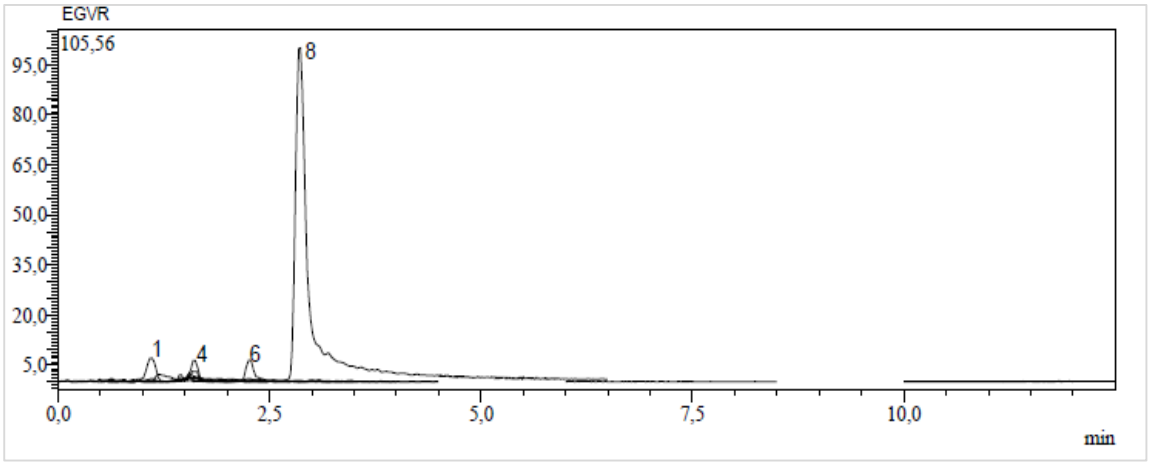
Ek 106. Van'dan toplanan *E. macroclada*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



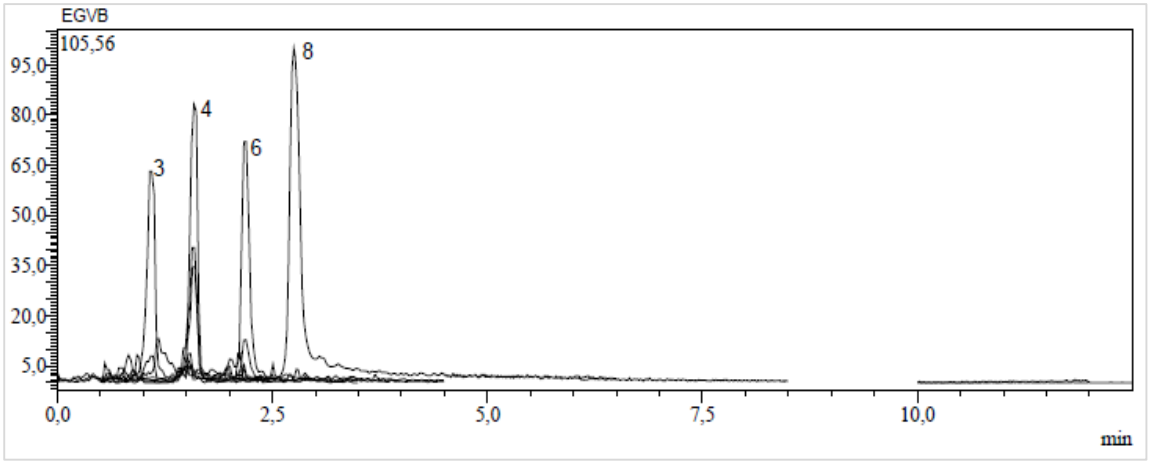
Ek 107. Van'dan toplanan *E. macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



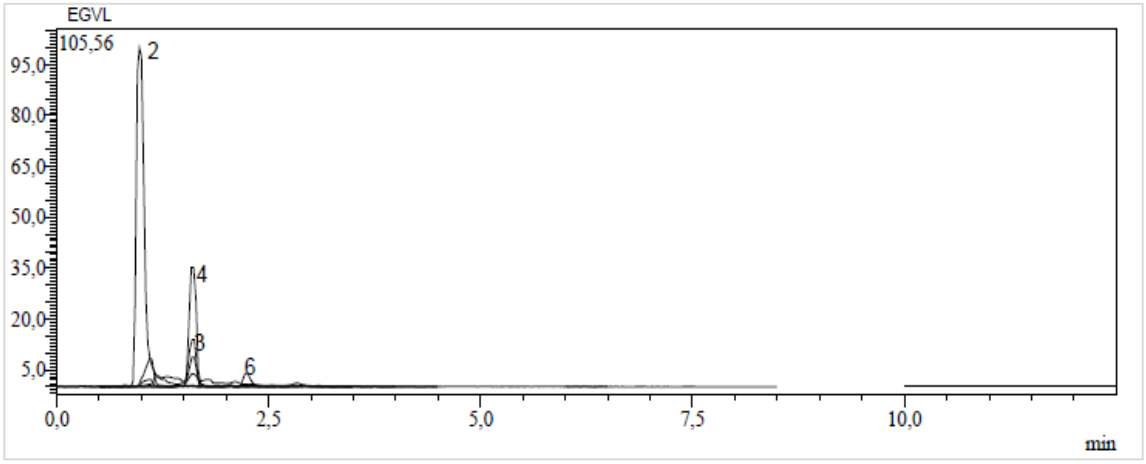
Ek 108. *E. grisophylla*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



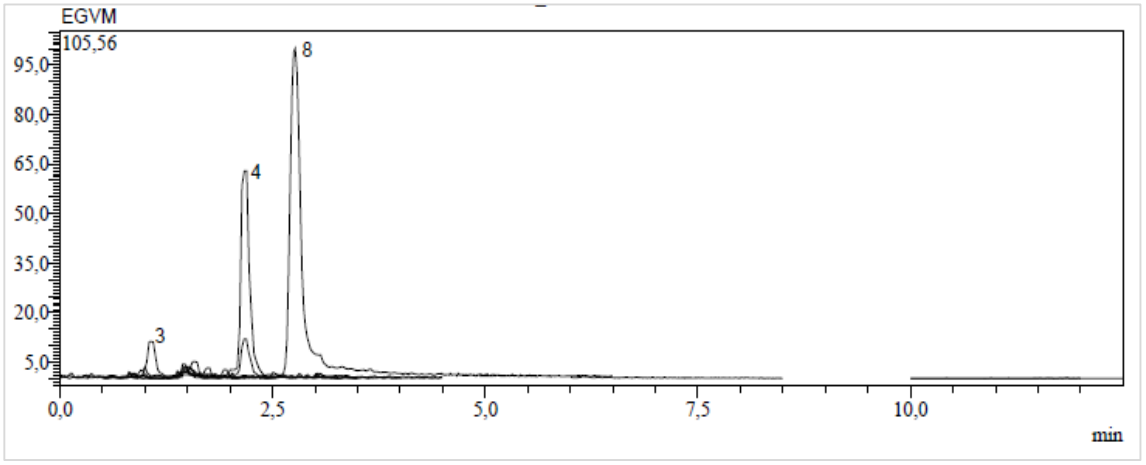
Ek 109. *E. grisophylla*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



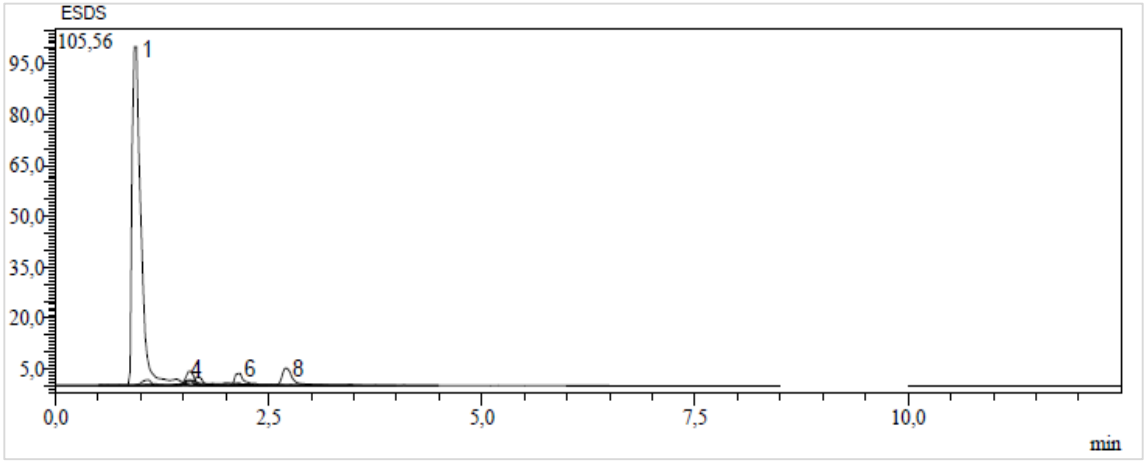
Ek 110. *E. grisophylla*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



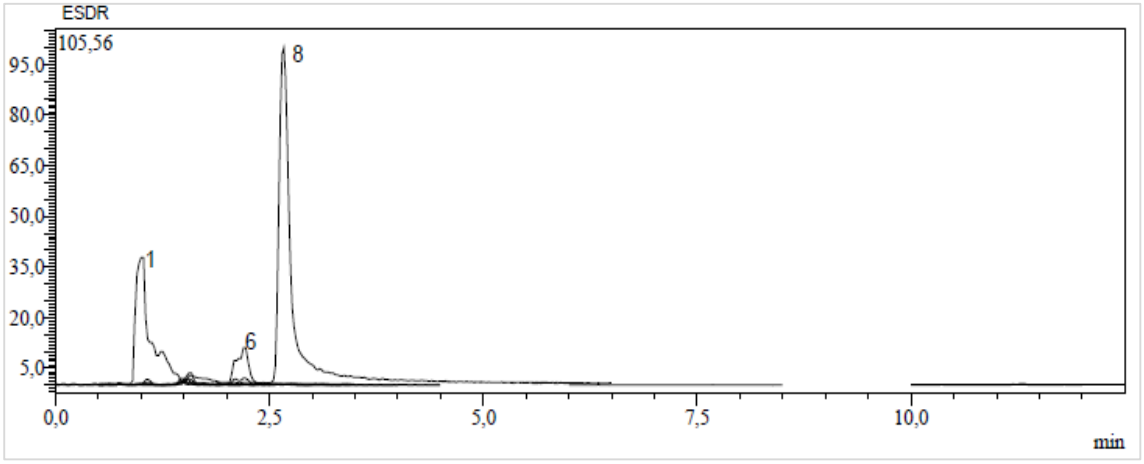
Ek 111. *E. grisophylla*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



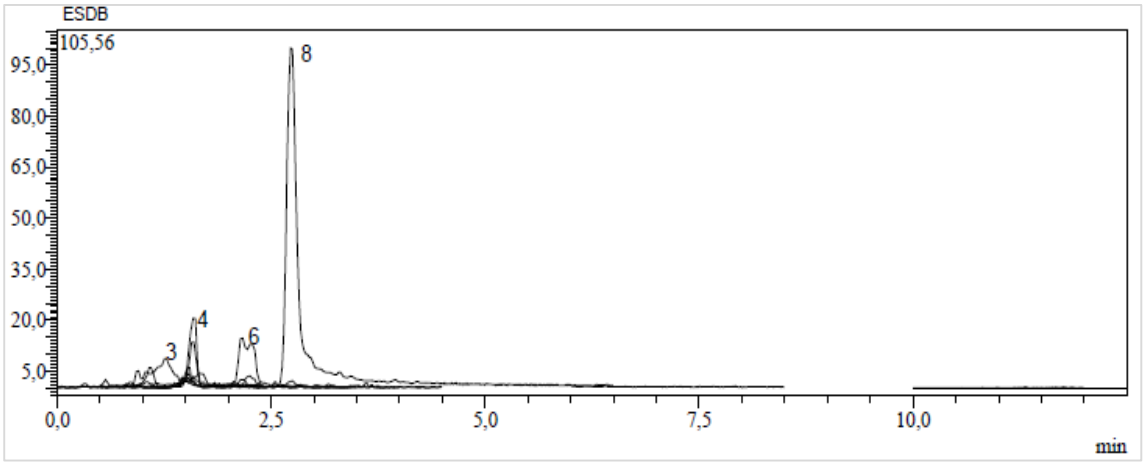
Ek 112. *E. grisophylla*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



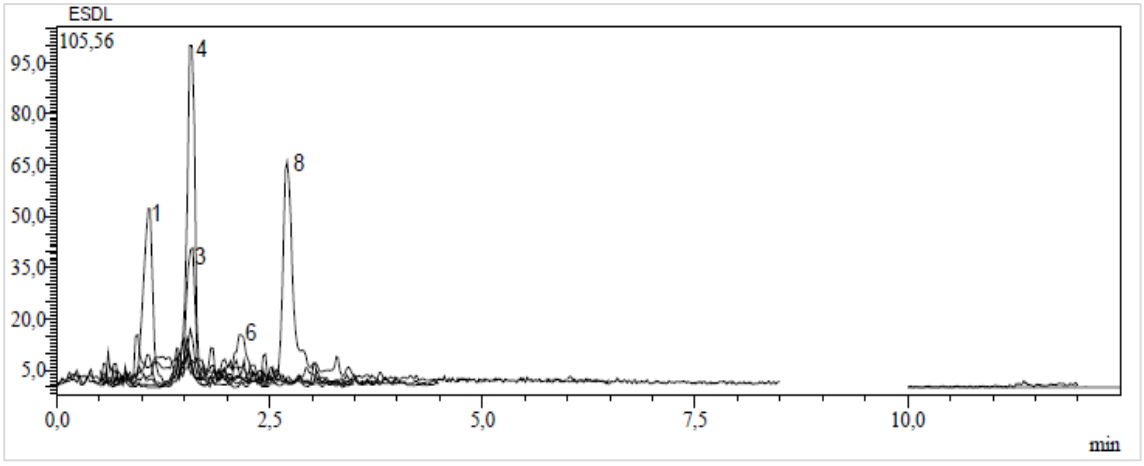
Ek 113. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



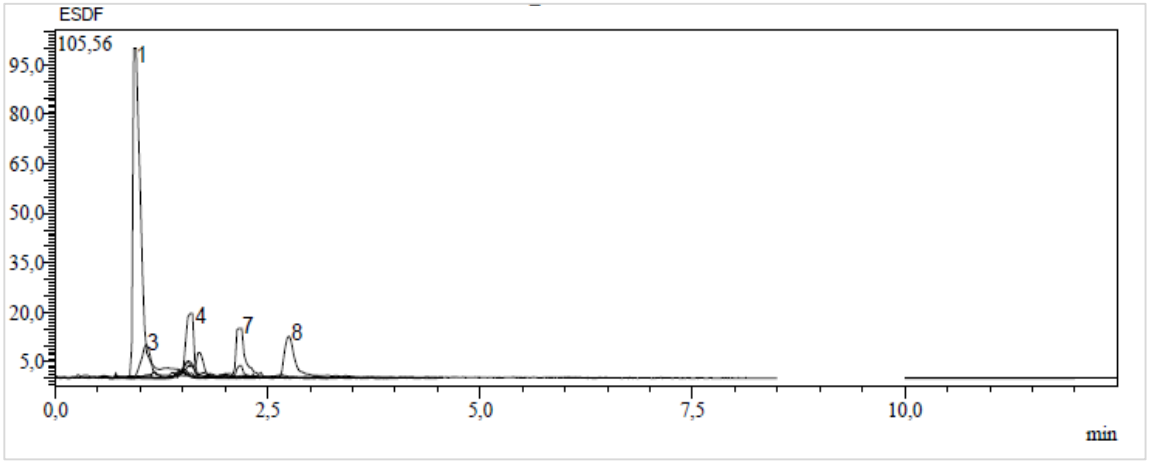
Ek 114. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana*'nın kök kısmının metanol ekstresinin



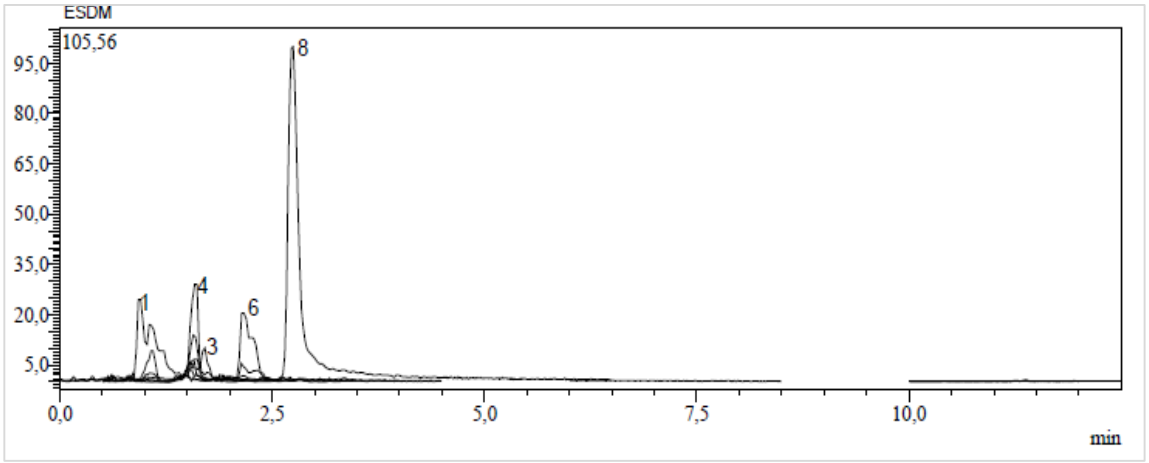
Ek 115. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



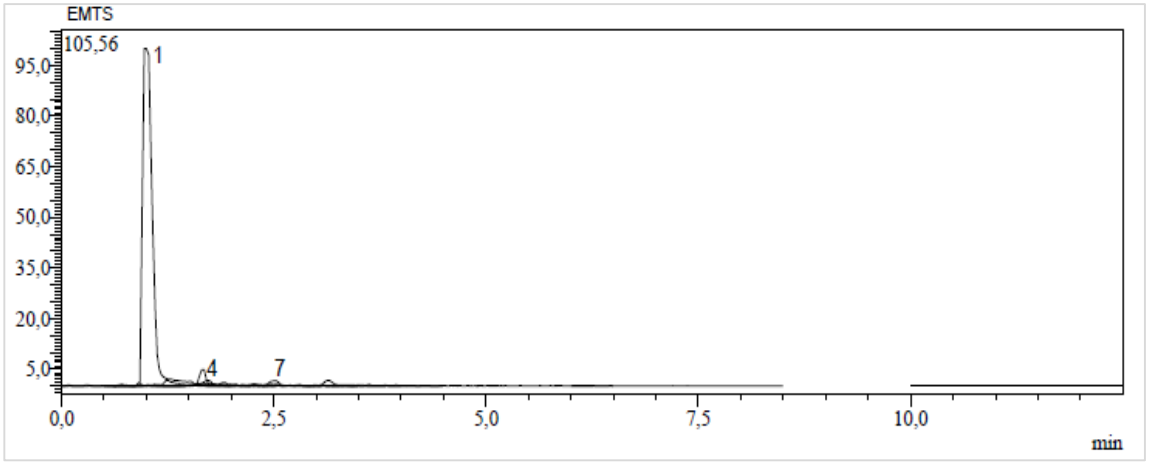
Ek 116. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



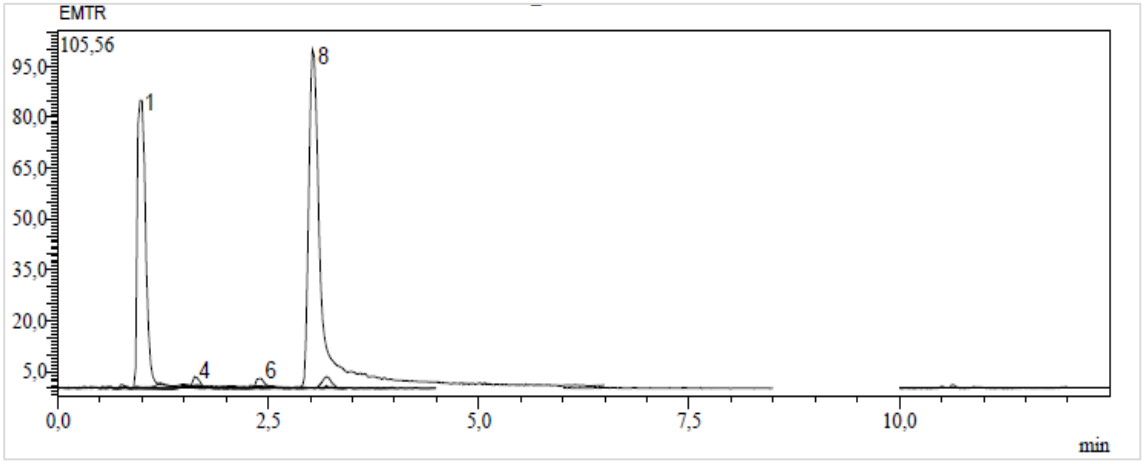
Ek 117. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



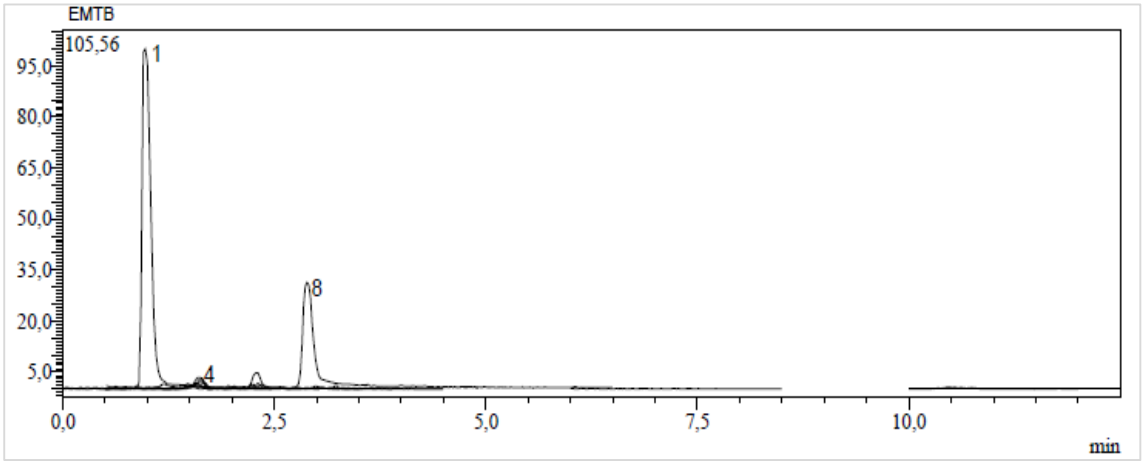
Ek 118. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



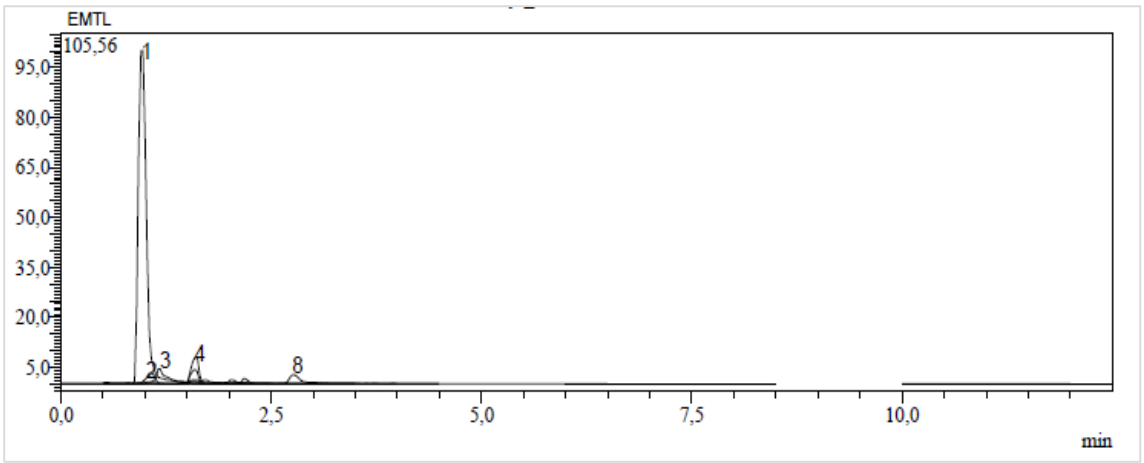
Ek 119. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada*'nın tohum kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



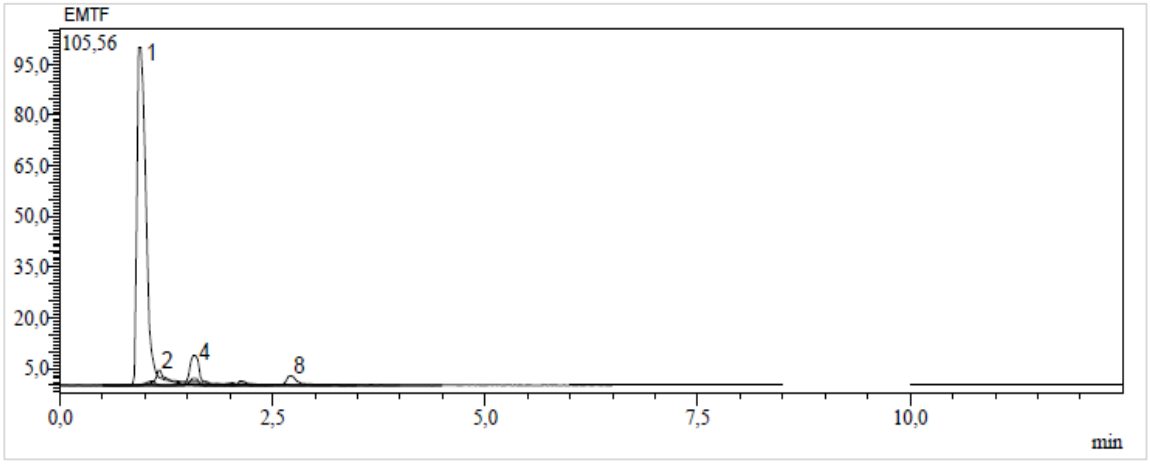
Ek 120. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



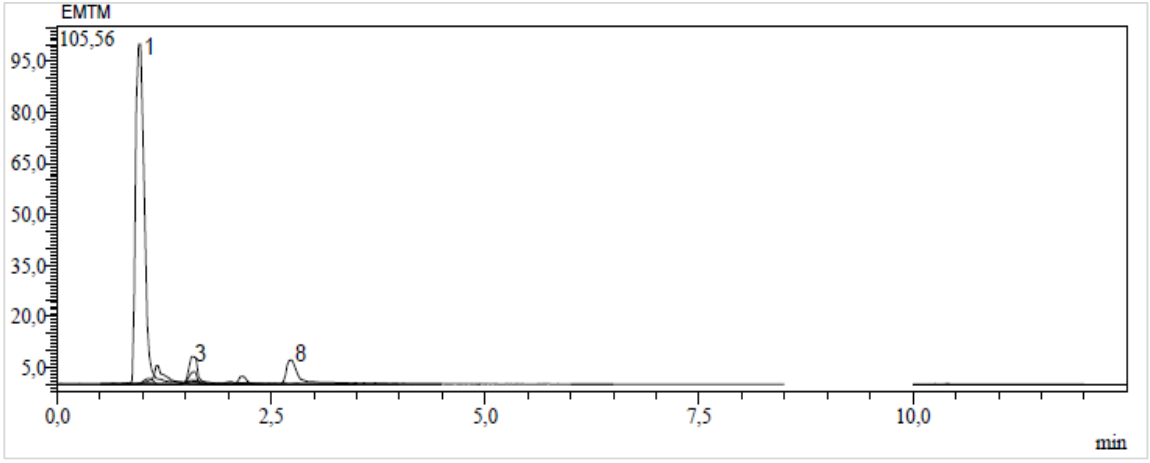
Ek 121. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



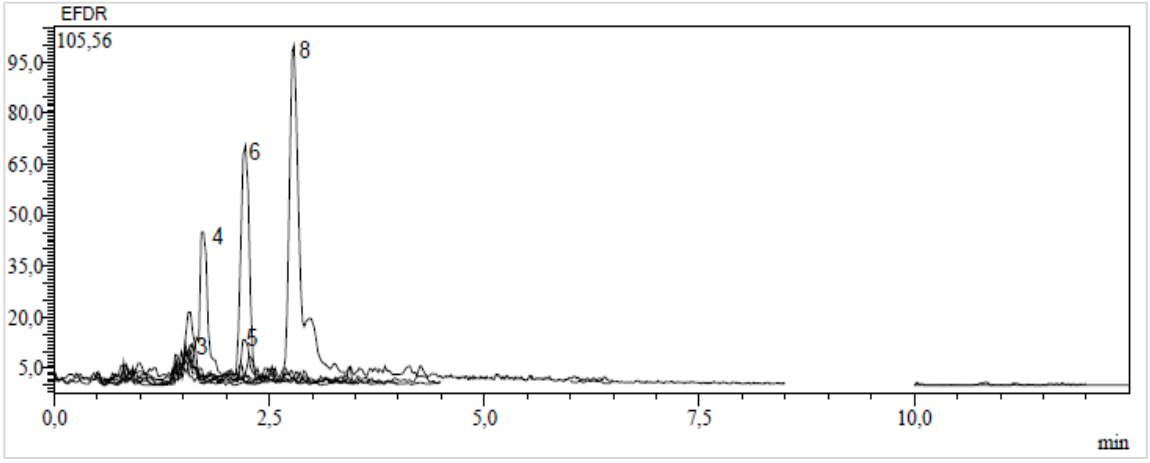
Ek 122. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



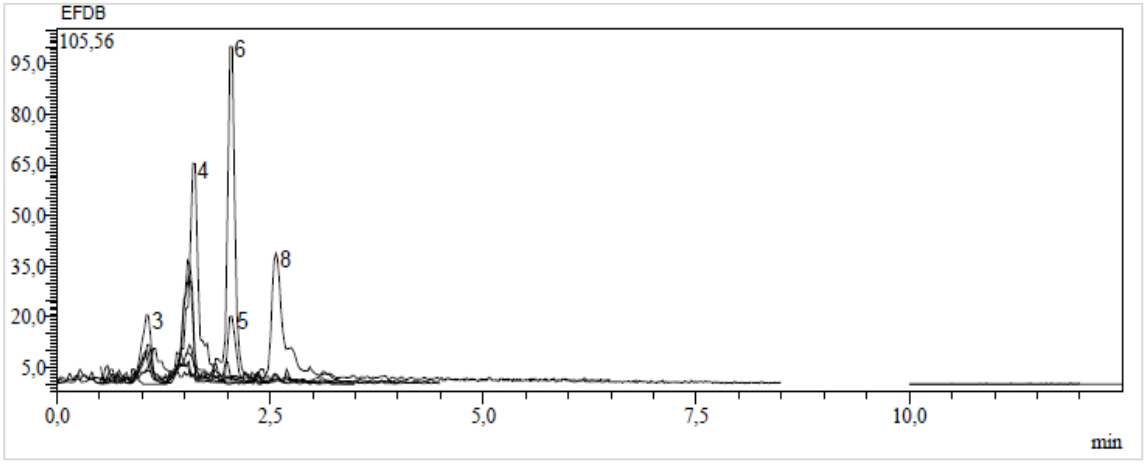
Ek 123. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



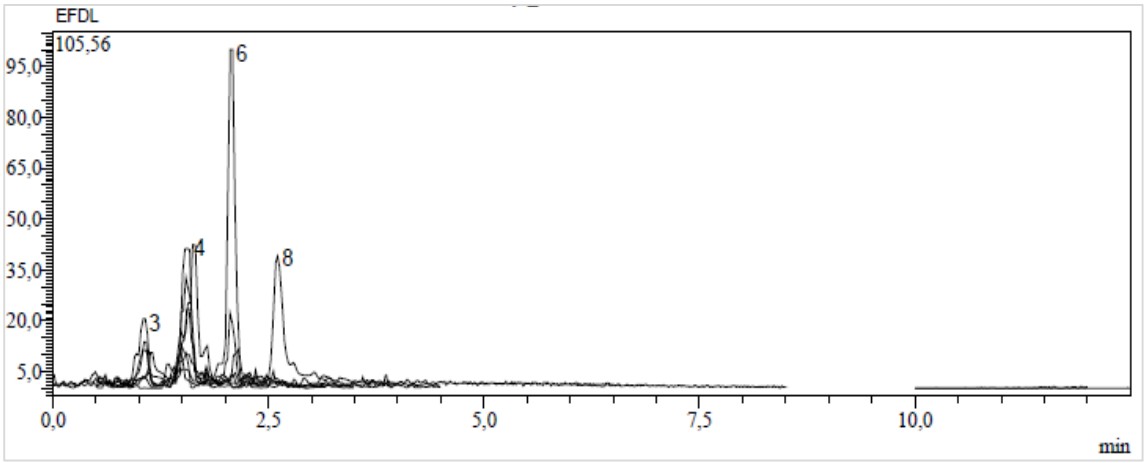
Ek 124. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



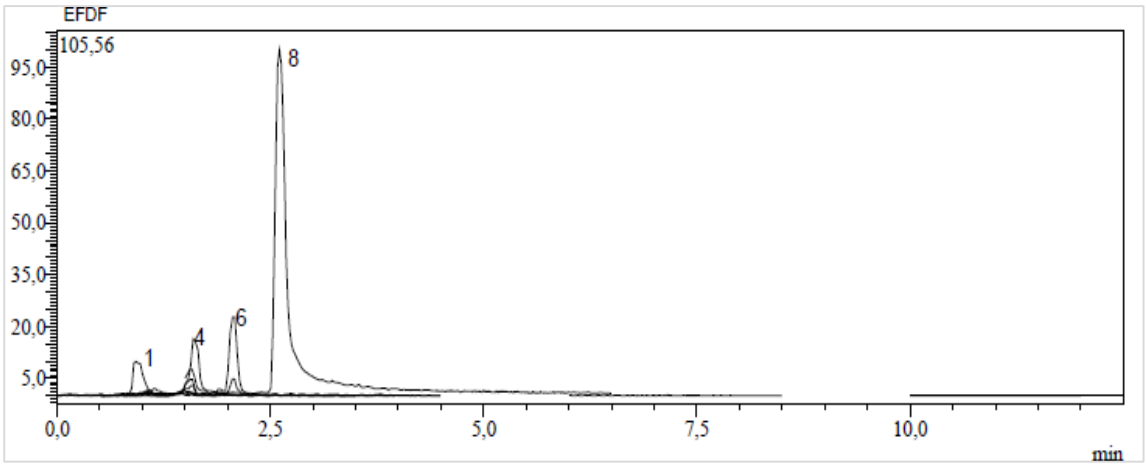
Ek 125. *E. fistulosa*'nın kök kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



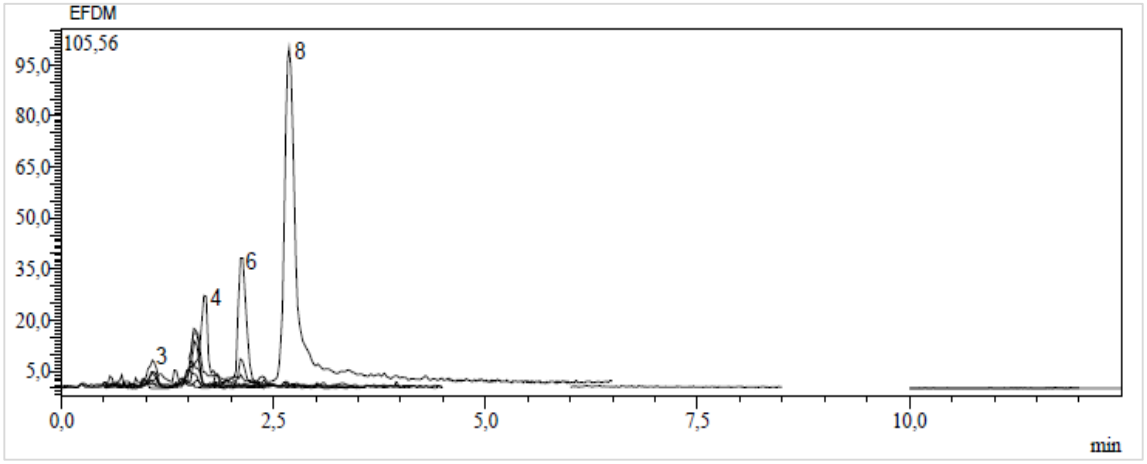
Ek 126. *E. fistulosa*'nın dal kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



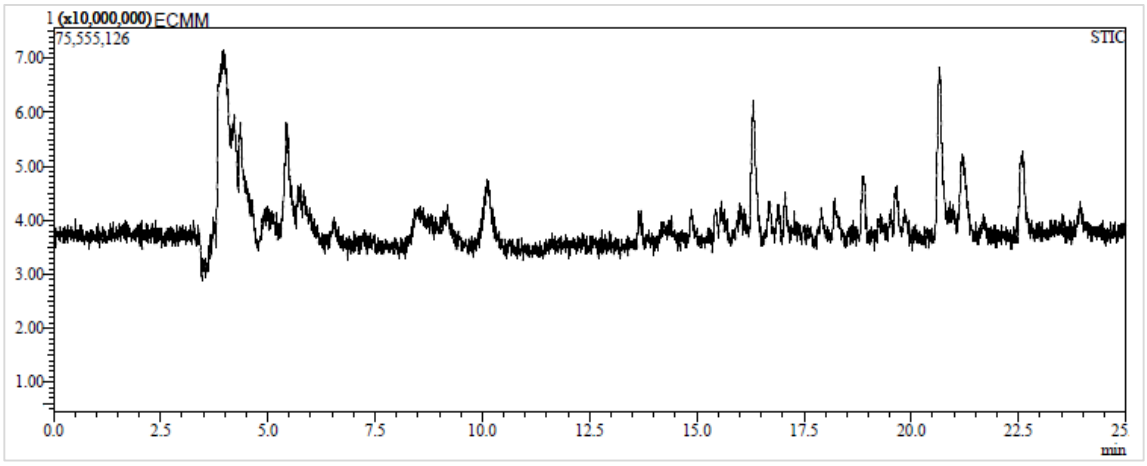
Ek 127. *E. fistulosa*'nın yaprak kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



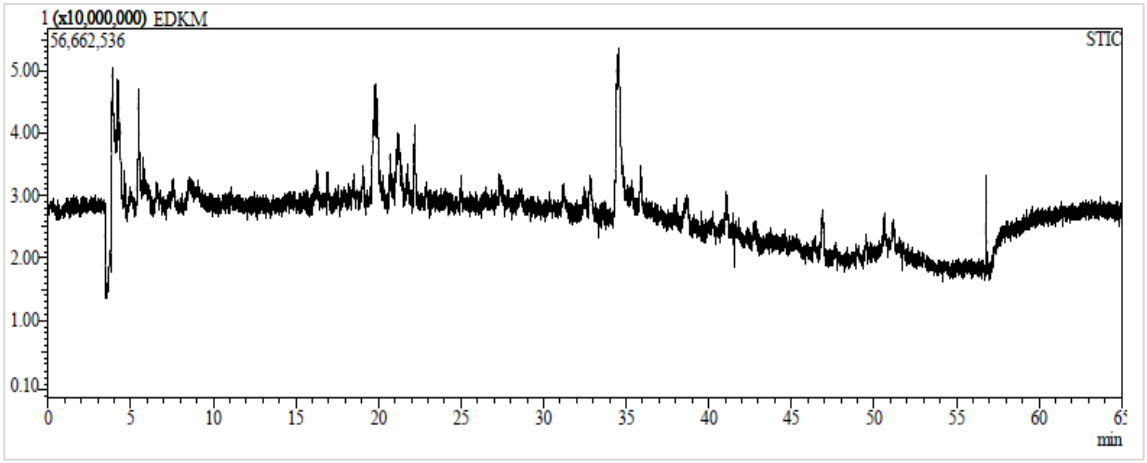
Ek 128. *E. fistulosa*'nın çiçek kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



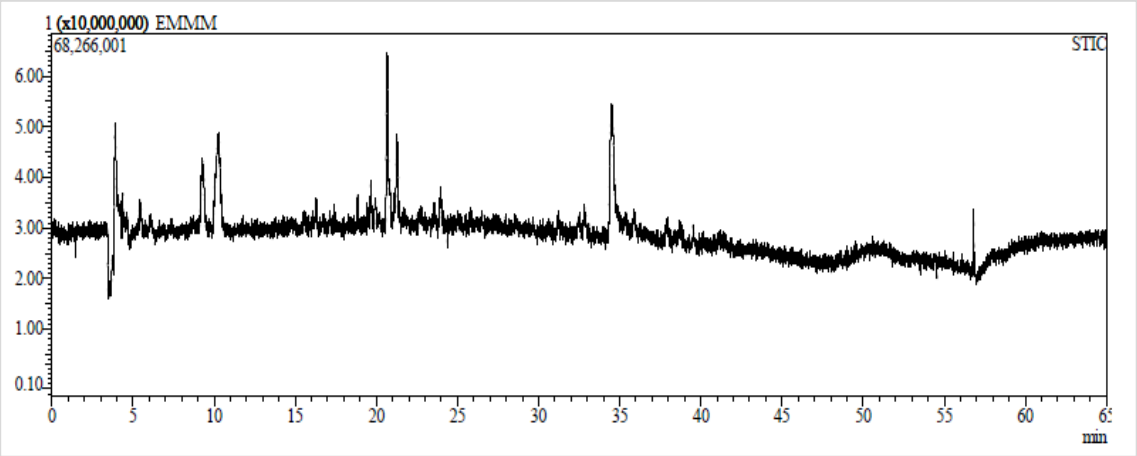
Ek 129. *E. fistulosa*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin kromatogramı



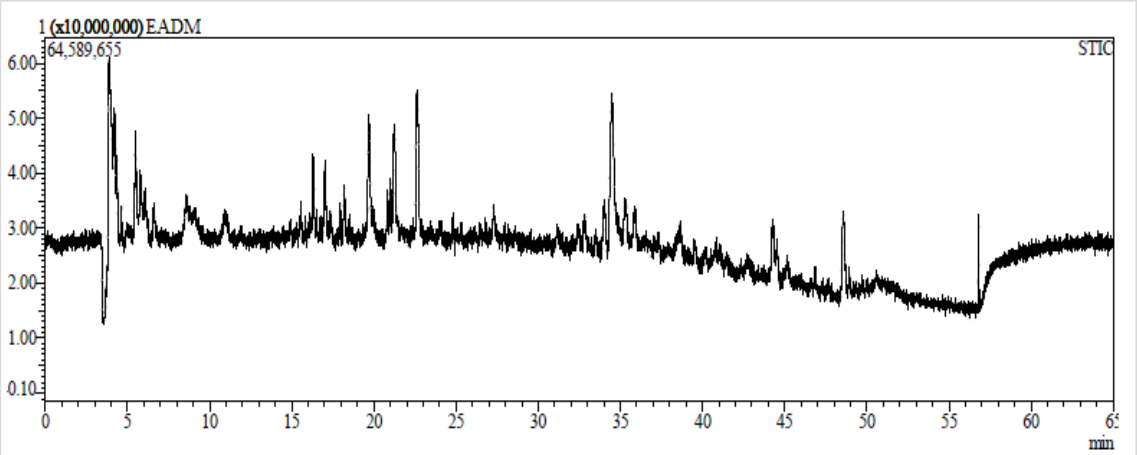
Ek 130. *E. craspedia*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı



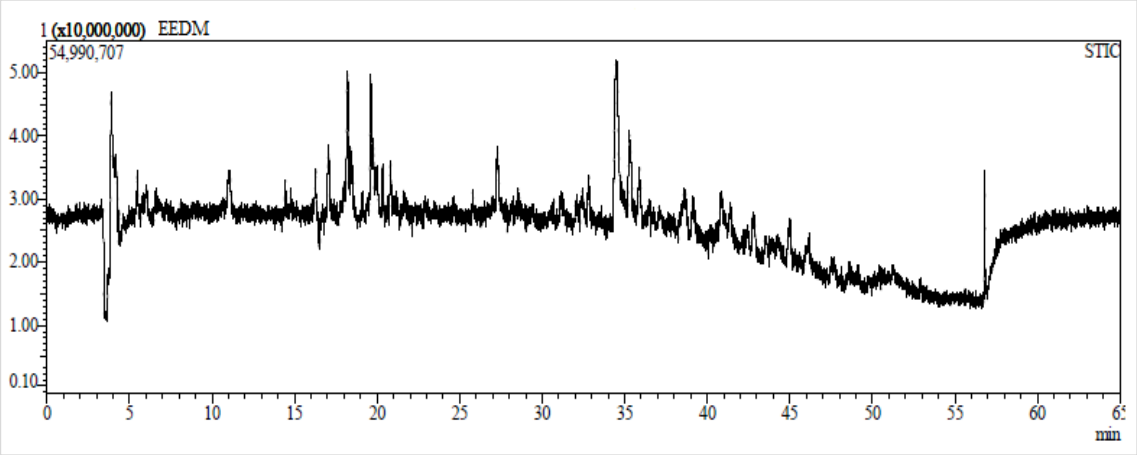
Ek 131. *E. denticulata*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı



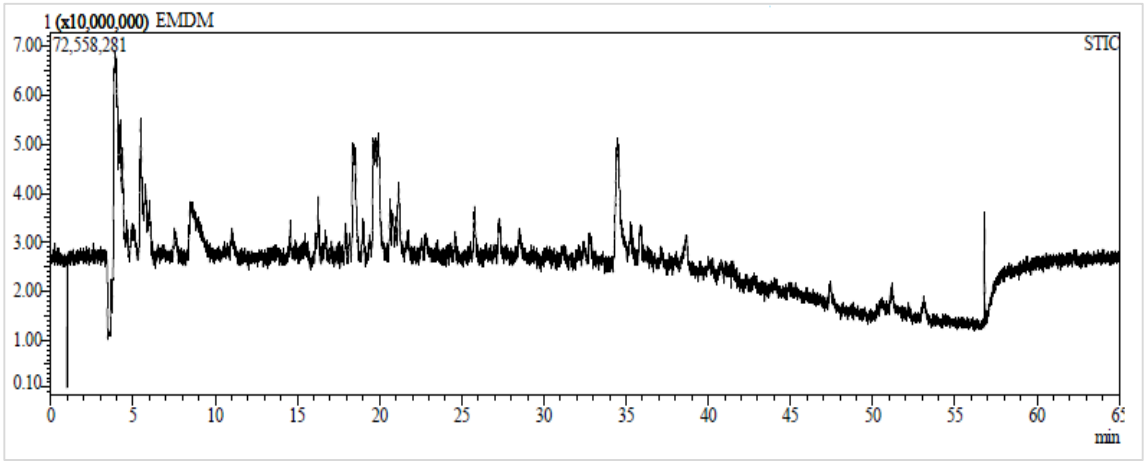
Ek 132. Malatya'dan toplanan *E. macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı



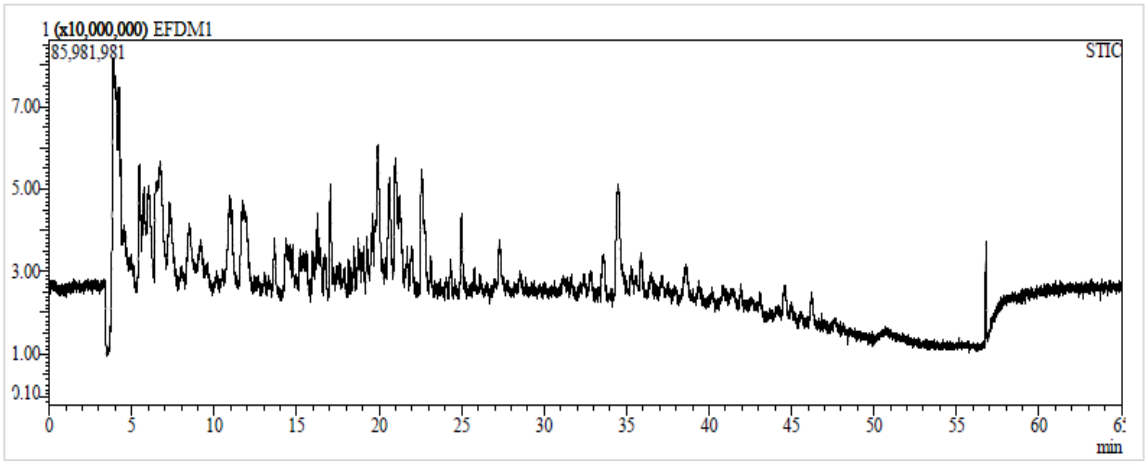
Ek 133. *E. aleppica*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı



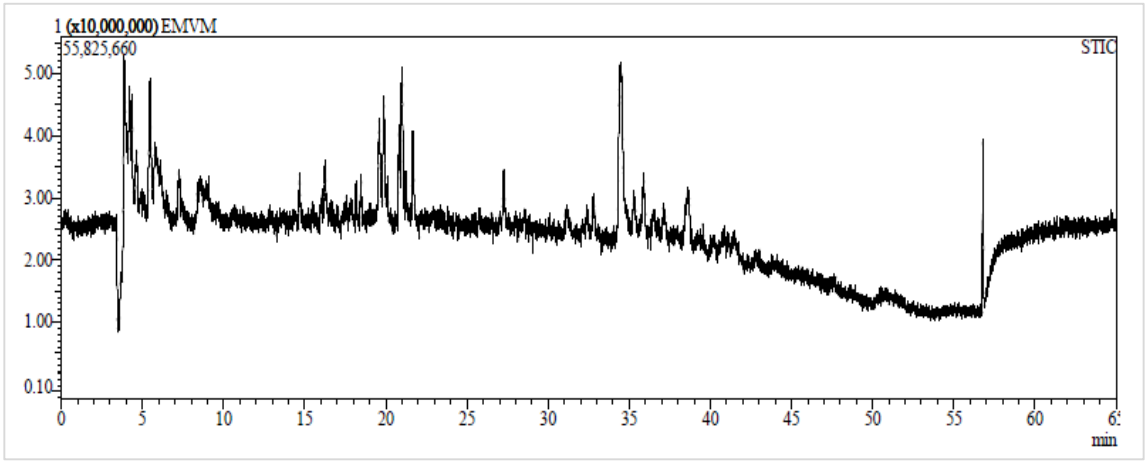
Ek 134. *E. erophora*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı



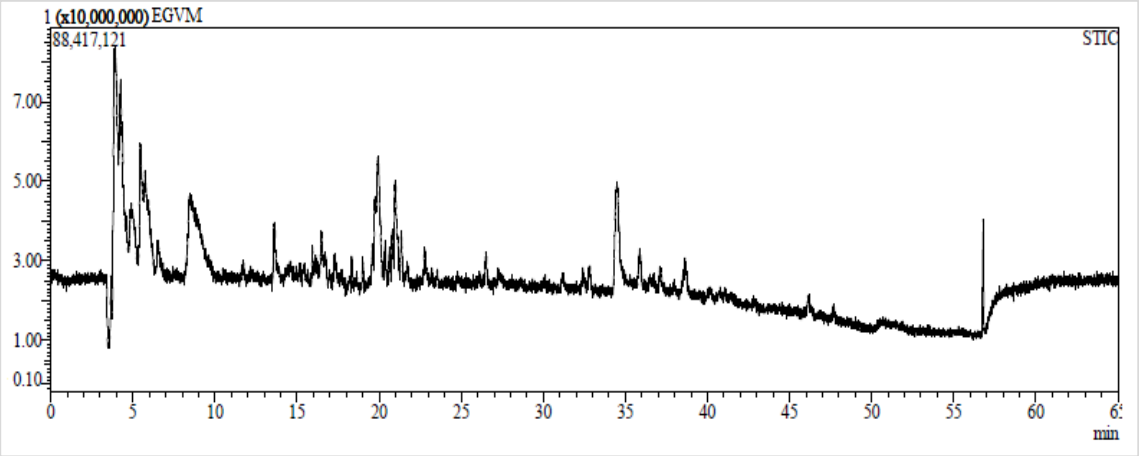
Ek 135. Diyarbakır'dan toplanan *E. macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı



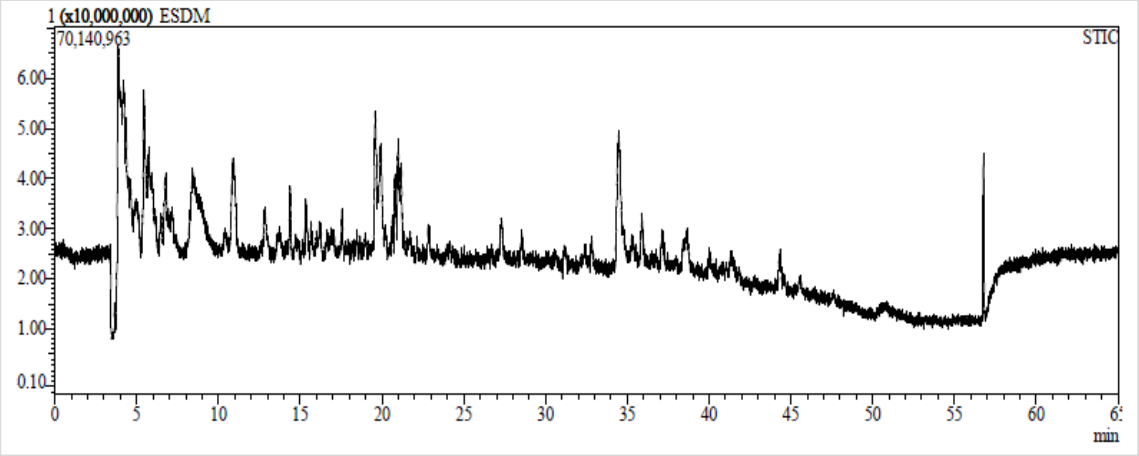
Ek 136. *E. falcata*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı



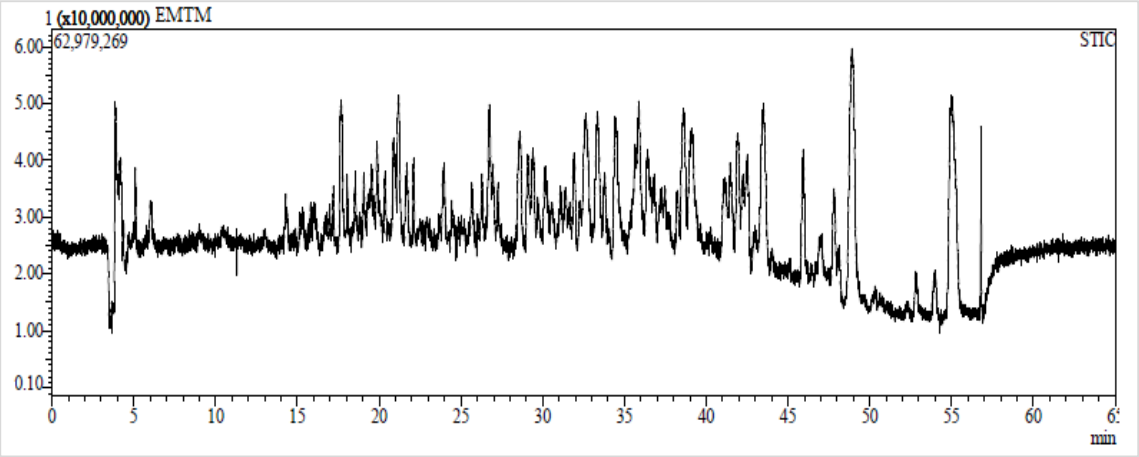
Ek 137. Van'dan toplanan *E. macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı



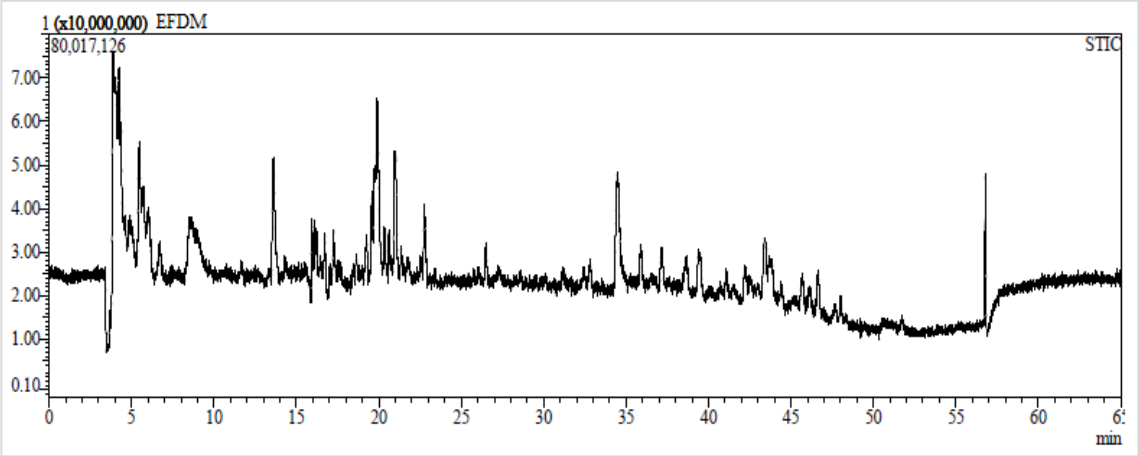
Ek 138. *E. grisophylla*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı



Ek 139. *E. seguieriana* subsp. *seguieriana*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı



Ek 140. Trabzon'dan toplanan *E. macroclada*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı



Ek 141. *E. fistulosa*'nın karışık kısmının metanol ekstresinin LC- MS IT- TOF kromatogramı

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İsmail YENER

Doğum Tarihi : 16 Ağustos 1983

Adres : Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya, 21280 Sur / Diyarbakır

E-mail : ismailyener84@gmail.com, ismail.yener@dicle.edu.tr

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Doktora	Kimya-Analitik Kimya	Dicle Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü	2012-
Y. Lisans	Kimya-Analitik Kimya	Dicle Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü	2009-2011
Lisans	Kimya	Dicle Üni. Fen Fakültesi	2004-2008

Yüksek Lisans Tezi: *Anoxybacilus sp*. SO-B1 Bakterisi İle Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16 Reçinesi Kullanılarak Th(IV) VE Ce(III) İyonlarının Katı Faz Ekstraksiyonu, Zenginleştirilmesi ve ICP-OES ile Tayini

Danışmanı: Prof. Dr. Recep ZİYADANOĞULLARI

Doktora tezi: Bazı *Euphorbia* Türlerinin Ağır Metal ve Türe Özgü Sekonder Metabolit İçeriklerinin ICP-MS, LC-MS/MS ve LC-MS-IT-TOF ile Metot Validasyonu; Antioksidan ve Antikanser Özelliklerinin Belirlenmesi

Danışmanı: Prof. Dr. Hamdi TEMEL

Görevler:

Görevi	Kurum	Süre
Kimyager	Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Kimyasal Analiz Labrotuvarı	2010-2012
Uzman	Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi	2012-2015
Uzman	Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı	2013-

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI İNTİHAL RAPORU FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	İsmail YENER
ÖĞRENCİ NO	13803511
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2016-2017
YARIYIL	☐ Güz ☒ Bahar
ANABİLİM DALI	KİMYA
PROGRAM	DOKTORA
TEZ KONUSU	Bazı *Euphorbia* Türlerinin Ağır Metal ve Türe Özgü Sekonder Metabolit İçeriklerinin LC-MS/MS, LC-MS-IT-TOF ve ICP-MS ile Metot Validasyonu; Antioksidan ve Antikanser Özelliklerinin Belirlenmesi
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	208
BENZERLİK ORANI	% 7
RAPORLAMA TARİHİ	06/04/2017

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 208 sayfalık kısmına ilişkin, 06/04/2017tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından "Turnitin" adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 7'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

☒ Kabul/Onay sayfaları hariç,
☒ Kaynakça hariç
☐ Alıntılar hariç/dâhil
☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve bu Uygulama Esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

(İmza)
İsmail YENER

(İmza) 06/04/2017 Prof. Dr. Hamdi TEMEL **Tez Danışmanı**	(İmza) 06/04/2017 Prof. Dr. Ömer YAVUZ **Anabilim Dalı Başkanı**