T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

TÜRKİYE'DE ÇAY VE BAHARAT OLARAK TÜKETİLEN BAZI TIBBİ BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Proje No: FBA-09-857

Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Yrd. Doç.Dr. Sevil ALBAYRAK
Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Prof.Dr. Ahmet AKSOY/ Fen Fakültesi, Biyoloji
Doç.Dr. Osman SAĞDIÇ/Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği
Songül ALBAYRAK/Ordu Ün. Ulubey Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi

Nisan 2011

KAYSERİ

TÜRKİYE'DE ÇAY VE BAHARAT OLARAK TÜKETİLEN BAZI TIBBİ BİTKİLERİN ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

FBA-2009-857
Araştırma Projesi, Haziran 2011
Proje Yürütücüsü: Yrd. Doç. Dr. Sevil ALBAYRAK
Yardımcı Araştırmacılar: Prof. Dr. Ahmet AKSOY
Doç. Dr. Osman SAĞDIÇ
Öğr. Gör. Songül ALBAYRAK

ÖZET

Türkiye'de geleneksel tıpta çeşitli hastalıklara karşı sıklıkla kullanılan onbeş bitkiden elde edilen metanollü ekstre, infüzyon, dekokşın ve hidrosollerin toplam fenolik madde miktarı, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır: **Mentha piperita** (nane), **Thymus vulgaris** (kekik), **Melissa officinalis** (oğul otu), **Ocimum basilicum** (fesleğen), **Rosmarinus officinalis** (biberiye), **Salvia officinalis** (adaçayı), **Cassia angustifolia** (sinameki), **Foeniculum vulgare** (rezene), **Pimpinella anisum** (anoson), **Laurus nobilis** (defne), **Tilia vulgaris** (ıhlamur), **Urtica dioica** (ısırgan), **Petroselinum crispum** (maydonoz), **Nigella sativa** (çörek otu) and **Anethum graveolens** (dere otu). Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenen toplam fenolik madde miktarları 111.03 ± 0.6 (ada çayı metanollü ekstresi) ile 9.07 ± 0.0 mg (çörek otu infüzyonu) gallik asit eşdeğeri /g arasında bulunmuştur. Antioksidan aktivite DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Biberiye'den elde edilen dekokşın en yüksek (IC_{50} = 8.36 µg/mL) DPPH radikal süpürücü aktivite göstermiştir.Bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri sekiz bakteri ve iki mayaya karşı agar difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Metanollü ekstre, infüzyon, dekokşın ve hidrosollerin hiçbirinin *E. coli, C. albicans* ve *S. cerevisiae*'ya karşı etkili olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tıbbi bitkiler, Fenolik, Antioksidan aktivite, Antimikrobiyal aktivite, DPPH

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF SOME MEDICINAL PLANTS CONSUMED AS TEA AND SPICES AT TURKEY

FBA-2009-857
Project Supervisor: Assist. Prof. Dr. Sevil ALBAYRAK
Assistant Researchers: Prof. Dr. Ahmet AKSOY
Assoc. Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ
Lecturer Songül ALBAYRAK

ABSTRACT

The methanolic extracts, infusions, decoctions and hydrosols of fifteen plants, mostly used as remedies against various diseases in Turkish traditional medicine, were investigated for their total phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activities: **Mentha piperita** (pepermint), **Thymus vulgaris** (thyme), **Melissa officinalis** (lemon balm), **Ocimum basilicum** (basil), **Rosmarinus officinalis** (rosemary), **Salvia officinalis** (sage), **Cassia angustifolia** (senna tea), **Foeniculum vulgare** (fennel), **Pimpinella anisum** (anise), **Laurus nobilis** (laurel), **Tilia vulgaris** (linden tea), **Urtica dioica** (nettle), **Petroselinum crispum** (parsley), **Nigella sativa** (black cumin) and **Anethum graveolens** (dill). Total phenolic contents were determined by Folin-Ciocalteu procedure and ranged from 111.03 ± 0.6 (sage methanolic extract) to 9.07 ± 0.0 mg (black cumin infusion) gallic acid equivalent /g. The antioxidant activity was evaluated by DPPH assays. The decoction of rosemary showed the highest DPPH radical scavenging activity (IC_{50} = 8.36 µg/mL). The antimicrobial activities of herbs were tested against eight bacteria and two yeasts using the agar diffusion method. It has been determined that all of methanolic extracts, infusions, decoctions and hydrosols were inactive against *E. coli, C. albicans* and *S. cerevisiae*.

Keywords: Medicinal plants, Phenolic, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, DPPH

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	I
ABSTRACT	II
İÇİNDEKİLER	III
KISALTMALAR VE SİMGELER	V
TABLOLARIN LİSTESİ	VI
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER	16
3.1. Araştırma Materyallerinin Temini	16
3.2. Ekstrelerin Hazırlanması	16
3.2.1. İnfüsyon	16
3.2.2. Dekokşın	16
3.2.3. Hidrosol	17
3.2.4. Metanollü Ekstre	17
3.3. Toplam Fenolik Bileşiklerin Miktarının Belirlenmesi	17
3.4. Antioksidan Aktivitenin belirlenmesi	18
3.5. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	18
3.6. Minumum İnhibe Edici Konsantrasyon (MIC) 'un Belirlenmesi	20
3.7. İstatistiksel Analizler	20
4. BULGULAR	21
4.1. Çalışılan Bitkilerin Metanollü Ekstre Verimleri	21
4.2. Metanollü ekstre, İnfüzyon ve Dekokşınların Toplam Fenolik Madde İçeriği	22
4.3. Metanollü Ekstrelerin Antioksidan Aktiviteleri	23
4.4. İnfüzyonların Antioksidan Aktiviteleri	26
4.5. Dekokşınların Antioksidan Aktiviteleri	27
4.6. *M. piperita*'nın Antioksidan Aktivitesi	29

4.6. *T. vulgaris*'in Antioksidan Aktivitesi 29
4.7. *M. officinalis*'in Antioksidan Aktivitesi 30
4.8. *C. angustifolia*'nın Antioksidan Aktivitesi 31
4.9. *F. vulgare*'nin Antioksidan Aktivitesi 31
4.10. *P. anisum*'un Antioksidan Aktivitesi 32
4.11. *O. basilicum*'un Antioksidan Aktivitesi 33
4.12. *R. officinalis*'in Antioksidan Aktivitesi 34
4.13. *L. nobilis*'in Antioksidan Aktivitesi 34
4.14. *S. officinalis*'in Antioksidan Aktivitesi 35
4.15. *Tilia vulgaris*'in Antioksidan Aktivitesi 35
4.16. *U. dioica*'nın Antioksidan Aktivitesi 36
4.17. *P. crispum*'un Antioksidan Aktivitesi 37
4.18. *A. graveolens*'in Antioksidan Aktivitesi 37
4.19. Bitki Metanollü Ekstre, İnfüzyon ve Dekokşınlarının IC_{50} Değerleri 38
4.20. Bitki Metanollü Ekstre, İnfüzyon ve Dekokşınlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri 39
4.21. MIC(Minumum İnhibe Edici Konsantrasyon) 'in Belirlenmesi 42
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 45
KAYNAKLAR 53

KISALTMALAR VE SİMGELER

%	Yüzde
^{o}C	Santigrat Derece
m	Metre
g	Gram
mg	Miligram
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mM	Milimolar
Tris-HCL	Tris Hidroklorik Asit
ANOVA	Tekrarlı ölçümlerde Varyans Analizi
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
GAE	Gallik asit eşiti
MIC	Minumum inhibe edici konsantrasyon

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Antimikrobiyal ve antioksidan aktivite için taranan bitki türleri ve kullanım şekilleri……..12
Tablo 4.1. Çalışılan bitkilerin metanollü ekstre verimleri (g ekstre/100 g bitki)……...21
Tablo 4.2. Çalışılan bitkilerin metanollü ekstrelerinin toplam fenolik içerikleri……...……...……..22
Tablo 4.3. Çalışılan bitkilerin infüzyonlarının toplam fenolik içerikleri ….……...23
Tablo 4.4. Çalışılan bitkilerin dekokşınlarının toplam fenolik içerikleri ……...……24
Tablo 4.5. Bitkilerin metanollü ekstrelerinin 0.25- 2 mg/ml konsantrasyonlarında % inhibisyon değerleri .....…….……26
Tablo 4.6. Bitki infüzyonlarının 0.25- 2 mg/ml konsantrasyonlarında % inhibisyon değerleri ……...…...27
Tablo 4.7. Bitki dekokşınlarının 0.25- 2 mg/ml konsantrasyonlarında % inhibisyon değerleri ……..…….…….……..…28
Tablo 4.8. Bitkilerden elde edilen ekstrelerin IC_{50} değerleri ……..……....39
Tablo 4.9. Bitkilerden elde edilen ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi (mm, İnhibisyon çapı*) …...……..……..41
Tablo 4.10. On iki farklı antibiyotiğin test edilen mikroorganizmalar üzerine etkisi ……....…42
Tablo 4.11. Bitkilerden elde edilen ekstrelerin MIC (mg/ml) değerleri …….44

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 4.1. *M .piperita* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi ……...29
Şekil 4.2. *Thymus vulgaris* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi ……..30
Şekil 4.3. *M. officinalis* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi ……..30
Şekil 4.4. *C. angustifolia* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi ……...31
Şekil 4.5. *F. vulgare* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi …….....32
Şekil 4.6. *P. anisum* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi ……..32
Şekil 4.7. *O. basilicum* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi ……...33
Şekil 4.8. *R. officinalis* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi …….....34
Şekil 4.9. *L. nobilis* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi ……34
Şekil 4.10. *S. officinalis* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi ……35
Şekil 4.11. *Tilia vulgaris* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi ……....36
Şekil 4.12. *U. dioica* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi …….....36
Şekil 4.13. *P. crispum* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi ……37
Şekil 4.14. *A. graveolens* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi ……38

1. BÖLÜM

GİRİŞ

Bu gün dünyanın her yerinde insanlar stres, kirlilik ve sentetik ilaçlardan uzak durmaya çalışıyor. Sentetik ilaçları doğa ve insanlardan uzak tutmak oldukça zordur. Bu ilaçlar oldukça pahalı ve günden güne mikroorganizmalar bu ilaçlara karşı direnç geliştirmektedir. Bu olumsuzluklardan dolayı doğal ajanlara, alternatif ve tamamlayıcı tıp'a olan ilgi artmaktadır. Halk arasında ve bilim çevresinde yaygın görüş doğal ajanların sentetik ürünlere kıyasla daha sağlıklı, zararsız ve daha güvenilir olduğudur [1].

Tüm dünyada çeşitli tıbbi bitkiler günlük yaşamda birçok hastalığı tedavi etmek için kullanılmaktadır. Bitkilerin mikroorganizmaları engelleme özellikleri ve insan sağlığı için faydaları 1926'dan beri araştırılmaktadır. Birçok bitkinin kök, gövde, yaprak, çiçek, tohum ve meyvesinin antimikrobiyal ve antioksidan özelliğe sahip olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar yapılmıştır [1-4]. Türkiye'de hem kültür hem de doğal kaynaklardan elde edilen bitkiler ticari bakımdan gıda endüstrisi ve geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır [5].

Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif nitrojen türleri (RNS) ve serbest radikaller insan vücudunda normal metabolik reaksiyonlar sırasında sürekli oluşturulmaktadır. Serbest radikallerin kanser, kardiyovasküler hastalıklar, bağışıklık sistem hasarı, beyin fonksiyon bozukluğu gibi birçok rahatsızlıklara ve yaşlanmaya neden olduğu belirtilmektedir [6-8].

Antioksidanlar düşük konsantrasyonlarda serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonu engelleyen ya da geciktiren maddelerdir. Antioksidanlar serbest radikalleri hücre ve

biyolojik hedeflere zarar vermeden etkisiz hale getirebilirler. İnsanları da içeren tüm aerobik organizmalar oksidatif hasara karşı korunmak için antioksidan savunma mekanizmasına sahiptir. Fakat bu doğal antioksidan mekanizması yetersiz olabilir. Bu dengenin bozulması oksidatif strese neden olmaktadır. Bu da hücre hasarı ve ölümle sonuçlanmaktadır [7, 9]. Bu nedenle gıdalarla antioksidan bileşiklerin alınması oldukça önemlidir.

Bazı hastalıklardan korunmada gıdaların önemli olduğu bilinmektedir [10]. Serbest radikaller ile ilgili yapılan çalışmalar antioksidanlarca zengin besinlerin kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve nörodejeneratif hastalıklara karşı koruma da önemli rol oynağını göstermiştir [11]. Gıdalardaki antioksidanlar, organizmada doku ve hücrelerde serbest radikallerin neden olduğu hasarı azaltabilme özelliklerinden dolayı oldukça önemlidir. Sebze ve tahıllar önemli antioksidan kaynaklarıdır. Aynı zamanda bitkisel infüsyonlar (özellikle çay) da önemli antioksidan kaynaklarıdır [12]. Doğal antioksidanlar vitamin C, α-tokoferol, karotenoid ve fenolikleri içeren çok geniş aralıktaki bileşikleri içermektedir [13]. Yüksek bitkilerden izole edilen antioksidanların birçoğu polifenollerdir [14]. Polifenoller antibakteriyel, antikarsinojenik, anti-inflamatuvar, antiviral, antialerjik, östörojenik ve immun stimulatik gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir. Bitkisel çayların hastalıkları önleme ve iyileştirmedeki rolleri lipitte çözünebilen vitamin A ve E, suda çözünebilen vitamin C ve fenolik bileşikleri içermelerinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Fenoliklerin antioksidan aktivitesi onların, singlet oksijen tutucu, hidrojen verici, indirgeyici ajanlar gibi hareket etmesini sağlayan redoks özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca metal şelatlama potansiyeline sahiptirler [7, 8, 15].

Bitkilerin içerdiği çeşitli fitokimyasallar arasında en iyi bilinen antioksidan bileşikler ve flavonoidler beta karoten (rezene, civanperçemi, ısırgan, ada çayı, kekik), kersetin ve rutin (rezene, civanperçemi), klorejenik, kafeik, ferulik ve kumarik asit gibi hidrosinnamik asitler (rezene, sinir otu, civanperçemi), rosmarinik asit, gallik asit, tiymol ve tanin (ada çayı ve kekik), ve kamferol (rezene, kekik)'dur [16].

Lipit peroksidasyonu depolama ve işleme sürecinde gıdalarda bozulmaya neden olan en büyük faktörlerden biridir. Yağların otoksidasyonu gıdaların besinsel değerlerini düşürdüğü gibi canlı organizmada yaşlanma, membran hasarı, kalp hastalıkları ve

kansere neden olmaktadır. Gıdalara eklenen antioksidanlar yağların oksidasyonunu geciktirir. Lipit peroksidasyonunu önleyen Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT) ve Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA) gibi birçok sentetik bileşik bulunmaktadır. Sentetik antioksidanların neden olduğu toksik etkilerden dolayı yenilebilir bitkilerdeki antioksidan bileşiklere olan ilgi artmaktadır [17,18].

İnsanlarda görülen mikrobiyal enfeksiyonlar özellikle deri ve kas yüzeylerindeki enfeksiyonlar tropikal ve subtropikal gelişmekte olan ülkelerde ciddi problemler oluşturmaktadır. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*, *S. aureus*, *Escherichia coli*, ve *Candida albicans* en yaygın patojenlerdir. İlaç dirençli bakteri ve fungal patojenler, özellikle AIDS ve kanser hastalarında daha kompleks tedavi gerektirmektedir [19]. Enfeksiyon hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ticari antimikrobiyal ilaçların bilinçsizce kullanımı insanlarda patojenik mikroorganizmalara karşı çoklu direncin gelişmesine neden olmuştur. Aynı zamanda antibiyotiler bazen bağışıklık sistem baskılanması, hipersensivite ve alerji gibi istenmeyen yan etkilere neden olmaktadır [18]. Çoklu ilaç direncinin ortaya çıkması bitkileri de içeren başka kaynaklardan yeni antimikrobiyal maddelerin araştırılmasını gerektirmiştir. Tıbbi bitki ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması ile ilgili çalışmalarda artmaktadır [18, 20]. Mevcut antibiyotikleden farklı hedef bölgesine sahip ekstrelerin ilaç dirençli mikroorganizmalara karşı etkili olacağı belirtilmiştir.

Eski zamanlardan beri birçok hastalık bitkilerle tedavi edilmektedir. Tıbbi bitkiler gelişmekte olan ülkelerde temel sağlık ihtiyaçlarını karşılamada hala önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle bitkiler terapötik ajanların zengin kaynakları olmaya devam etmektedir Birçok ilacın aktif bileşeni bitkilerde bulunmaktadır. Halk tıbbında kullanılan bitkisel tedavi oldukça ilginçtir ve ticari antibiyotiklerin neden olduğu toksite ile direnç problemlerini aşmaya yardımcı olabilecek potansiyel yeni ilaçların geliştirilmesi için araştırılmamış önemli bir kaynağı oluşturmaktadır [19].

Çay ve bitkisel infüsyonlar gıdalardaki fenolik bileşiklerin esas kaynaklarıdır [7, 21]. Bitkisel çaylar hemen hemen tüm bitkilerden ve aktif bileşiğe bağlı olarak kök, çiçek ve tohumu da içeren bitkinin birçok parçasından yapılabilir. Bitkisel çay (infüsyon) cam veya seramik bir bardak içinde bitki parçasının üzerini örtecek kadar kaynamış su ilavesi ile hazırlanır. Belirli bir zaman demlenir [16]. Campanella ve ark. [10],

antioksidanların ekstraksiyonu için sıcak su ile 5 dakika infüsyon süresinin en uygun olduğunu belirtmişlerdir. Çay ve bitkilerde antioksidanların varlığı ve aktivitesi ile ilgili çalışmalar hızla artmaktadır [22]. Ancak bu çalışmalar kuru yapraklardan izole edilen organik çözücü ekstreleri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bitkilerin infüzyonlarındaki antioksidan aktivite ve fenolik içerikleri hakkında çok az bilgi mevcuttur [14].

Dünyada yaklaşık 300 bin tohumlu bitkinin olduğu tahmin edilmektedir. 91 ülkede farmakopediler ve tıbbi bitkiler üzerine yapılan yayınlara dayanarak Dünya Sağlık Organizasyonu (WHO) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmaya göre yaklaşık 20.000 tıbbi bitki bulunmaktadır [2]. Bunlardan 500 tanesi kültüre alınmıştır ve doğada yabani olarak bulunmaktadır [1].

Türkiye çok zengin floraya sahiptir. Türkiye, coğrafik lokasyonu, iklim ve yaklaşık 10.000 doğal bitki türünün varlığı ile uluslar arası önemli bir floristik merkezdir. Tıbbi bitkiler floranın önemli bir kısmını oluşturmaktadır ve farklı floristik bölgelerde yayılış göstermektedir [19]. Anadolu birçok türün çıkış ve farklılaşma merkezidir. Çünkü üç farklı fitocoğrafik bölgeyi içermektedir. Güney Avrupa ile Güneybatı Asya arasında bir köprü oluşturmaktadır. Fitocoğrafik ve ekolojik farklılığın bir sonucu olarak türlerin endemizmi de oldukça yüksektir [1]. Türkiye'de hem kültür hem de doğal kaynaklardan elde edilen bitkiler ticari bakımdan gıda endüstrisi ve geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır [5].

Günümüz insanının sağlıklı ve uzun yaşam isteği, pek çok hastalığın tedavisinde alternatif tedavilere yöneltmiştir. Son yıllarda doğa kirliliği, stres ve hazır gıdaların alınması, serbest radikallerin oluşumunu artırmaktadır. Serbest radikallere karşı antioksidanlar en etkili bileşiklerdir. Doğada çeşitli kaynaklarda bulunan antioksidanların vücutta antioksidan özellikleri yanı sıra birçok fonksiyonu olduğu çeşitli araştırmalarla saptanmıştır. Doğal antioksidan kaynaklarını saptayıp, bunların gerek günlük diyette gerekse de izole edilip klinik uygulamalarda uygun miktarda tüketilmesinin sağlıklı bir yaşam için yararlı olacağı düşünülmektedir.

Ayrıca antimikrobiyal maddelerin birçoğunun gıdalara katılımı sağlıkla ilgili riskler taşıdığı için bu maddelerin kullanımı çeşitli mevzuatlarla sınırlandırılmıştır. Fakat bitkisel maddeler doğal olmaları nedeniyle daha geniş sınırlarda kullanılmaktadır.

Bitkisel maddeler tüketicilerin daha çok güvenini kazanmakta ve tüketici tarafından kabul edilmektedir. Çok zengin floraya sahip ülkemizde bitkilerin antimikrobiyal etkilerinden faydalanılmalı, yapay kimyasalların getirdiği sağlık riskleri ve ekonomik yük azaltılmalıdır.

Çay ve bitkilerde bulunan antioksidanların varlığı ve aktivitesi ile ilgili birçok çalışma gerçekleştirilmesine rağmen, bu çalışmalar daha çok kuru yapraklardan organik çözücülerle elde edilen ekstrelere yoğunlaşmaktadır [7].Bitkisel infüzyonların fenolik içerikleri, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri ile ilgili çok az bilgi mevcuttur. Bu çalışma ile Türkiye'de baharat ve bitkisel çay olarak kullanılan bazı bitkilerden elde edilen metanollü ekstre, infüzyon, dekokşın ve hidrosollerin biyoaktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bu çalışma sonuçlarının son günlerde fonksiyonel gıda katkı maddesi olarak doğal antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin kullanımı ile ilgili artan araştırmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

Antibiyotiklere direncin artması ile alternatif antimikrobiyal maddelerin bulunmasına yönelik çalışmalar her geçen gün artmaktadır [49]. Tıbbi bitkiler ile baharatlardan elde edilen bileşikler ve doğal ürünler çeşitli infeksiyonlar için tedavi edici yeni bileşiklerin kaynağını oluşturmaktadır [23]. Benzoin ve emetine gibi mikroorganizmaların gelişimini engelleyen bileşikler bitkilerden izole edilmiştir [24].

Dünya üzerinde halen 300.000 civarında çiçekli ya da tohumlu bitki türü kayıtlı iken, bu rakamın aslında 750.000 olması gerektiğine dair tahminler yapılmaktadır. Tıbbi bitki sayısının ise 30 ila 75.000 olduğu tahmin edilirken, Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nce yapılan bir çalışmaya göre tüm dünyada 20.000 civarında bitki türünün tıbbi amaçlarla kullanıldığı saptanmıştır. 4.000 bitkisel drog yoğun olarak kullanılmakta, Batı Avrupa'da ise 400 kadar bitkisel droğun ticareti yapılmaktadır. Bu rakamlardan tıbbi bitkilerin nadir olduğu anlamı çıkarılabilir, ancak unutulmamalıdır ki dünyada kayıtlı bitki türlerinden sadece yaklaşık % 20'si az ya da çok bilimsel incelemeye tabi tutulmuştur. Çok zengin bir bitki örtüsü ve endemik türlere sahip olan ülkemizde yöresel olarak yenilen, suyu içilen ve ilaç olarak kullanılan birçok bitki bulunmaktadır [25]. Türkiye Florası'nın son 11 cildi ve yeni kayıt edilen türler itibariyle yaklaşık 12.006 taksona (tür ve türaltı) sahip olduğu ve bunların 3.778'i endemiktir (% 31). Son yıllarda yapılan etnobotanik (değişik yörelerdeki halkın kullandığı bitkileri inceleyen botaniğin alt dalı) çalışmalardan elde edilen bilgilere göre bu bitkilerin birçoğu halk arasında şifa, gıda vb. amaçlar doğrultusunda kullanılmaktadır [26].

Soluduğumuz oksijenin %85-90'ı ATP üretiminin temel kaynağı olan mitokondri tarafından kullanılır. Bu reaksiyonlar sonucunda reaktif oksijen türleri oluşur. İnsan yaşamı için birinci derecede önemli kaynak olmasına rağmen oksijen, normal

metabolizma sırasında üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) nedeniyle vücuda zarar verebilmektedir [27]. Reaktif oksijen türleri veya pro-oksidanlar, oksijen radikalleri ile bazı radikal olmayan oksijen türevleri için kullanılan ortak bir terimdir [28]. ROS'lardan biri olan serbest radikallerin en önemlileri; süperoksit radikali, hidroksil radikali ve peroksil radikalidir. Diğerleri ise nitrojen ürünleridir (NO, NO^+, NO^-) [29,30].

Aynı zamanda oksijen aşırı miktarda olduğunda veya redüksiyonu yetersiz ise süperoksid anyonlar, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri oluşmaktadır [30]. Normal metabolizmada serbest radikaller oluşmaktadır. Fakat reaktif oksijen türlerinin üretimi kontrol edilmez ise bunlar makromoleküllere ve böylece hücrelerin yapı ve fonksiyonlarına zarar verebilir, özelliklerini değiştirebilir [31]. Reaktif oksijen türlerinin astım, yangı, eklem yangısı, sinir dejenerasyonu, parkinson hastalığı ve mongolizm ile ilgili olabileceği kaydedilmiştir [32,33].

Bu çeşit radikallerin besin bozulması, organizma yaşlanması ve kansere neden olan lipit peroksidasyonunda rol oynadığı belirtilmiştir. Lipit peroksidasyonu aerobik hücrelerde gerçekleşen kompleks bir süreçtir [34,35]. Lipit peroksidasyonu hücre membranı ve yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonudur. Bu yağ asitlerinin peroksidasyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkan 4-hidroksinonenal ve malondialdehit gibi sitotoksik aldehitler DNA ve proteinlere de zararlı etki göstermektedir. Sonuç olarak hücrenin fonksiyonunu kaybetmesine ve ölmesine neden olmaktadır [28].
Çoklu doymamış yağ asitleri içeren lipitler, moleküler oksijenle hızla oksijenlendirilir ve bu oksidasyon serbest radikal zincir mekanizması ile devam etmektedir [30,36]. Lipit peroksidasyonu sırasında aldehit, peroksit ve serbest radikaller gibi birçok farklı ürünler oluşmaktadır. Lipit peroksidasyonunun direkt etkisi membran tahribidir. Sekonder etkisi ise reaksiyon ürünlerinin diğer hücresel bileşenler ile (DNA ile aldehitlerin reaksiyonu gibi) etkileşime girmesidir. Bu etkileşimler kanser ve mutasyona neden olabilir [37].

Lipit peroksidasyonu, depolama ve işleme süreci boyunca yağ içeren besinlerin bozulmasına neden olmaktadır. Bu nedenle oksidasyona duyarlı gıdaların korunmasında ve raf ömrünün artırılmasında antioksidan özelliğe sahip gıda katkıları kullanılmaktadır Bütillenmiş Hidroksianisol (BHA), Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT), Propil galat

(PG) ve Tert-bütilhidroquinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanları ucuz olması, hayli stabil olması ve etkinliğinden dolayı serbest radikal oksidasyonunu engellemek için geniş oranda kullanılmaktadır. Fakat bu sentetik antioksidanların insan sağlığına toksikolojik yan etkilerinin olabileceği kaydedilmiştir [38]. Bu nedenle son yıllarda besin işlemede etkili ajan olarak birçok doğal bileşikler araştırılmaktadır. Bunlar arasında bitkiler, özellikle baharatlar antioksidan ve antimikrobiyal bileşikler olarak en yaygın kullanılanlardır [39]. Birçok bitkide bulunan antioksidan özellikli fitokimyasalların (polifenoller, flavonoidler v.s.) serbest radikallerin oluşturduğu patolojilerin engelenmesinde kullanılabilir ajanlar oldukları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [40].

Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri, vücutta normal metabolizma sonucunda sürekli olarak oluşan ve dokulara zarar veren bileşiklerdir. Serbest radikaller, en dış elektron zarfında bir elektron kaybetmiş ve dolayısıyla bu elektron açığını kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşmaya çalışan, hızlı bir şekilde reaksiyona girme özelliği olan atomlardır. Serbest radikaller etkilediği atomun dolayısıyla o atomun bulunduğu maddenin görevini yapamamasına neden olur. Sonuç olarak, etkilenen maddenin biyolojik önemine ve onun tamir edilip edilmemesine bağlı olarak DNA, nükleotid, koenzimler, proteinler, lipitler ve karbonhidratlar gibi birçok moleküle kalıcı veya geçici etkiler göstermektedir [41]. Serbest radikaller DNA'ya hasar verebilmekte, hücrelerin ölümüne neden olmakta, kanser, akciğer ve kalp hastalıkları ve katarakt gibi sorunların gelişmesinde önemli rol oynadıklarına inanılmaktadır. Birçok araştırmacı serbest radikallerin toplam etkilerini yaşlılık nedeni olarak göstermektedir. Vücudun bu bileşiklere karşı geliştirdiği bazı savunma mekanizmaları, serbest radikal zararlarına karşı çoğu kez yetersiz kalmaktadır [42]. Günümüzde romatoid artirit, serebral travma veya iskemi, ümmin sistem hasarı gibi bir çok hastalığın patolojisinde süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, alkoksi ve lipit peroksidleri gibi aktif oksijen radikallerinin rolünün olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir [43].

Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta şu gibi ciddi hasarlara neden olabilirler;

- Hücre membranı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek,

- Membran lipit ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellemek,
- Nukleus membranını yararak nukleustaki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek,
- Bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sisteminin etkisini azaltmak [41].

Antioksidanlar, gıdalarda okside olabilen substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya engelleyen maddelerdir [41]. Antioksidanlar; lipit peroksidasyonu ve diğer serbest radikal aracılı süreçleri engelleyen, serbest radikalleri nötralize eden serbest radikal temizleyicileri gibi hareket ederler. Bu nedenle antioksidanlar, radikal reaksiyonlarının neden olduğu hastalıklardan insanları koruyabilir [44].

Tüm bu oksidasyon süreci içinde antioksidanlar; ilk radikalleri saptarlar, metal iyonlarına bağlanırlar, peroksil radikallerini bulurlar ve okside olarak hasar gören biyomolekülleri yok ederek vücudu koruma işlevlerini yerine getirirler [43]. Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler:

1) Serbest radikal oluşumunun engellenmesi:
   Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki,
   Oksijen uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki,
   Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.
2) Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi:
   Toplayıcı (Scavenging etki): ROS'lerini etkileyerek onları tutma veya çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme (Örn. Enzimler)
   Bastırıcı (Quencher) etki: ROS'leri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olma (Örn. Flavinoidler, vitaminler)
   Onarıcı (Repair) etki
   Zincir kırıcı (Chain Breaking) etki: ROS'lerini ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki (Örn. Hemoglobin, seruloplazmin, mineraller) [45].

İnsan vücudu birçok önemli antioksidan üretmektedir. Serbest radikallere karşı doğal antioksidan savunma sistemleri arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon, glutatyon peroksit, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz, ubikinol, α-lipoik asit ve

melatonin vardır. Bunların yanı sıra E vitamini (alfa tokoferol), C vitamini, beta karoten, flavanoidler, koenzim Q ve A vitamini de önemli antioksidan faktörlerdir. Demir taşıyıcı protein olan transferin, laktoferrin ve seruloplazmin vücut sıvılarında demir ve bakırı bağlayarak oksidatif hasarı önler [43].
Aynı zamanda antioksidan özellikleri olan askorbik asit, beta-karoten, E-vitamini ile selenyum, çinko, bakır ve demir gibi bazı elementlerin gıdalarla alımı gerekmektedir [43].

Serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki hassas dengenin, prooksidan ve oksidan maddelerin lehine kayması oksidan stresin gelişmesine yol açar. Oksidatif stresin doku hasarına yol açtığı, kanser, diyabet ve arteroskleroz gibi patolojik durumların gelişmesinde etkin olduğu gösterilmiştir [41].

Antioksidanlar mekanizmalarına göre genel olarak iki sınıfa ayrılmaktadır:

- Birincil Antioksidanlar
- İkincil Antioksidanlar

Birincil antioksidanlar, radikalerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, peroksidaz ve transferin gibi birincil antioksidanlar reaktif oksijen türlerinin oluşumunu inhibe etmektedir. İkincil antioksidanlar ise oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran askorbik asit, E vitamini, bilurubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir [41]. Normal fizyolojik koşullar altında insanlar serbest radikallerden korunmak için antioksidan sistemlere sahiptirler. Bu sistemler vücutta üretilen (endogenous) ve dışarıdan besinle alınan (exogenous) bazı antioksidanları içermektedir. Vücutta üretilen antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayanlar diye iki gruba ayrılabilir. Vücutta doğal olarak bulunan başlıca antioksidanlar enzim sistemleri, vitaminler, fenolik bileşikler ve azotlu bileşikler olarak gruplandırılabilirler. Ayrıca Fe, Cu, Mn, Co, Se gibi makro ve mikro elementlerde bu süreçte önemlidir. Bu elementlerin yokluğu antioksidan sistemin fonksiyonunu bozabilmektedir [46].

Doğal antioksidanların araştırılması esas olarak karasal bitkilerin sekonder bileşikleri arasında yapılmaktadır [47,48]. Fenolik bileşikler**,** bitkilerde aromatik aminoasit

metabolizması sırasında sentezlenen ikincil bileşiklerdir. Gıda bileşeni olarak bu bileşikler, insan sağlığı açısından işlevleri, tat ve koku oluşumundaki etkileri, renk oluşumu ve değişimine katılmaları, antimikrobiyal ve antioksidan etki göstermeleri, enzim inhibisyonuna neden olmaları, değişik gıdalarda saflık kontrol kriteri olmaları gibi birçok açıdan önem taşımaktadırlar [49].

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Fenolik asitler, C6-C3 iskeletine dayanan sinamik asitlerle, C6-C1 iskeletine dayanan benzoik asitlerden oluşmaktadır. Flavonoidler ise C6-C3-C6 iskeletine dayanan difenilpropan yapısındadırlar. Bunlar antosiyaninler, flavonlar, flavonollar, flavanon, kateşin, antosiyanin ve proantosiyanidinler olmak üzere değişik alt grubları kapsamaktadır [50].

Fenolikler aktif doğal antioksidanlar olup, antioksidan etkileri serbest radikalleri bağlamaları, metallerle şelat oluşturmaları ve lipoksigenaz enzimini inaktive etmeleriyle gerçekleşmektedir [41].

Son on yılda flavonoid, fenolik asit, kumarin, tanin ve lignan gibi bitki polifenollerinin antioksidan savunma sisteminde önemli bileşenler olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [31]. Bu bileşikler bitkisel gıda (sebze, tahıl, baklagil, meyve) ve içeceklerin (şarap, bira, çay, bitkisel çaylar, kakao, elma şırası) hemen hemen hepsinde bulunmaktadır [51]. Flavonoidler, tanninler, kumarinler, ksantonlar ve prosiyanidinler gibi çeşitli fenolik antioksidanların doza bağlı olarak radikal temizleyici oldukları gösterilmiştir ve bu nedenle serbest radikal patolojisinde ümit verici tedavi edici ajanlar olarak incelenmişlerdir [52,53].

Bu çalışmada günlük yaşamda en çok kullanılan 15 tür seçilmiştir (Tablo 2.1). Geleneksel kullanımlarına göre çalışmada seçilen bitkilerin bazıları aynı zamanda estetik açıdan süs bitkisi olarak ve baharat şeklinde gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Seçilen bitkilerin hepsi farklı hastalıkların tedavisinde kullanılmakta ve reçetesiz olarak satılarak çay şeklinde tüketilmektedir [5, 54].

Tablo 2.1. Antimikrobiyal ve antioksidan aktivite için taranan bitki türleri ve kullanım şekilleri

Bitki İsmi (Familya)	Türkçe İsmi	Kullanılan Parçası	Geleneksel Kullanımı	Kaynaklar
Petroselinum crispum (Mill.)(Apiaceae)	Maydonoz	Yaprak	Kramp çözücü, idrar söktürücü, anne sütünü artırıcı, gaz giderici, hazım ettirici, safra akımını sağlayıcı, mide şişliği, sinirsel mide ve kalp rahatsızlıkları, öksürükte, balgam söktürücü, küçük bebeklerde gaz problemini giderici olarak kullanılır.	5, 54
Foeniculum vulgare L. (Apiaceae)	Rezene	Meyve	Analjesik, antidepresif, anti-inflammatuar, bağırsak ve mide gazını söktürür, kandaki yüksek üre konsantrasyonunu düşürür, karaciğerdeki tıkanık damarları açıcı, anne sütünü artırıcı, iştah açıcı, sancı kesici, yağı haricen yara iyi edici ve cildi besleyici olarak kullanılır	5, 54, 55
Anethum graveolens L. (Apiaceae)	Dereotu	Yaprak, meyve	Meyveler yatıştırıcı, mide ve bağırsak gazlarını önleyici olarak kullanılır. Hazımsızlık ve hıçkırığa da tesiri iyidir. Yaprakları da yemek ve salatalarda kullanılır.	56
Pimpinella anisum L. (Apiaceae)	Anason	Yaprak, meyve	Kusmaları ve ishali keseri, migren ağrılarını keser , uyku verir kalbi kuvvetlendirir. Kan dolaşımını düzenler. Sindirimi uyararak bağırsak gazlarını ve hazımsızlığı giderir. Anne sütünü artırır, hafif uyuşturur, astım,nefes darlığı, bronşit, öksürük, kalp çarpıntısına iyi gelir. Göğsü yumuşatır. Üst solunum yolu rahatsızlıkları ve astımda kullanılır. Mide ve bağırsak sancılarını giderir, mesane, böbrek, karaciğer ve dalaktaki tıkanık damarları açar idrarı artırır, iştah açar.	5
Ocimum basilicum (Lamiaceae)	Fesleğen	Yaprak, çiçek	Yatıştırıcı, midevi, gaz söktürücü ve idrar arttırıcı etkilere sahiptir. Halk tıbbında romatizma (yel), kalp çarpıntısı ve basur üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir.	57
Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae)	Biberiye, Kuşdili	Yaprak	Kan dolaşımını hızlandırır, hormon ve salgı bezlerinin düzenli çalışmasını sağlar, sinir sistemi üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Uykusuzluğa karşı, kandaki yüksek kolesterol ve lipitte, karaciğeri besler, safra salgılarını artırır, kalp damar rahatsızlıklarında, kanı temizler ve sulandırır, damar tıkanıklığında, mesane ve böbrek kumlarında, sarılık ve hepatitte, yorgunluk, halsizlik ve hazımsızlık durumlarında kullanılır.	5, 54
Mentha piperita (Lamiaceae)	Nane	Yaprak, çiçek	Mide bağırsak üşümesi ve sancılarında, antiseptik, soğuk algınlığı, nezle, grip, anjin, ateş düşürücü, terletici, kusmayı önler, iç kanamalarda, karaciğer ve pankreası çalıştırır, baş dönmesinde, baş ağrısında, sindirimi uyararak hazmı kolaylaştırır, kanı temizler, sarılıkta, süt birikmesi sonucu göğüste oluşan sancıları keser.	5, 54
Melissa officinalis L. (Lamiaceae)	Oğul otu Melisa	Yaprak	Stres, kalp çarpıntısında, kalp spazmında, baş ağrısı, migren ve baş dönmesine faydalıdır. Sinirsel bozukluklarda, yatıştırıcı, kulak uğultusunda, özellikle beyin damarları olmak üzere damar tıkanıklığında kullanılır. Kolesterolde, karaciğeri besler, mide ülserinde, terletici, astım krizlerinde, nefes darlığında kullanılır.	5
Nigella sativa L. (Ranunculaceae)	Çörek otu	Tohum	İdrar ve süt artırıcı, iştah açıcı, kuvvet verir, kansere iyi gelir, böbrek ve mesane yollarını temizler, yağı saç dökülmesi ve kepeği önler ayrıca burna damlatılırsa sinüziti giderir. Astıma faydalıdır, basura iyi gelir, bronşit nöbetlerini engeller, öksürüğü	5

			keser, yağı kulağa damlatılırsa iltihabı kurutur, kuvvetli antiseptiktir, bağışıklık sistemini kuvvetlendirir.	
Laurus nobilis L. (Lauraceae)	Defne	Yaprak	Terletici, antiseptik, sindirimi kolaylaştırıcı, hazımsızlık, özellikle romatizma ve diğer ağrıları keser, rahim iltihabı ve akıntısında, basurda, nefes darlığı astım ve bronşitte, saç dökülmesinde, pankreas hastalıklarında kullanılır	5
Salvia officinalis (Lamiaceae)	Ada çayı	Yaprak, çiçek	Diş sağlığında, virüs ve bakterilere karşı, anti-inflammatuar ve rahatlatıcı	55
Thymus vulgaris L. (Lamiaceae)	Kekik	Yaprak, çiçek	Balgam söktürür, antiseptik, krampları çözer, öksürük ve üst solunum yolu iltihabında kullanılır. Bağırsak parazitlerini öldürür, hazmı kolaylaştırır, mide ve bağırsak gazlarını giderir. Sinüzitte, yüksek kan şekerinde, kas erimesinde, ağrı kesici, kolesterol düşürür, zayıflatıcı, kan dolaşımını artırıcı, safra artırıcıdır ve sara krizlerinde kullanılır.	5
Tilia vulgaris (Tiliaceae)	Ihlamur	Çiçek	Antidepresif, diüretik, soğuk algınlığına karşı	55
Urtica dioica (Urticaceae)	Isırgan	Yaprak	İdrar yolları inflamasyonu, mide rahatsızlıklarına ve kansere karşı kullanılır	55
Cassia angustifolia (Caesalpiniaceae)	Sinamiki	Yaprak	Kabızlık gidericidir	55

Du Toit ve ark. [58], siyah ve yeşil çaydan hazırlanan infüsyonların diğer bitkisel infüsyonlardan önemli derecede daha yüksek radikal temizleyici kapasiteye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Du Toit ve ark. [58], siyah ve yeşil çayların Vitamin C içeriğinin 170-250 mg/g arasında olduğunu, rezenenin ise sadece 8 mg/g Vitamin C içerdiğini belirtmişlerdir. Diğer taraftan, Oktay ve arkadaşları [59] α-tokoferol'e kıyasla rezene sulu ekstresinin daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Lamiaceae familyasından seçilmiş bitkilerin sulu ekstrelerinin Fe (III) indirgeme kapasitesi ve nitrojen merkezli radikalleri temizleme aktivitesi yönünden ada çayının kekikten daha aktif olduğu belirtilmiştir [16].

Apak ve arkadaşları [16] test edilen bitkisel infüzyonların arasında en yüksek ABTS (2,2'azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulponic acid)) toplam antioksidan kapasite gösterenlerin 1.02, 0.86, 0.77 ve 0.63 mmol troloks/g değerleri ile sırasıyla *Anagallis arvensis*, *Camellia sinensis*, *Ocimum basilicum* ve *Melissa officinalis* olduğunu kaydetmişlerdir.

Karakaya ve El [60] ada çayı, ıhlamur ve ısırgan yaprak infüszyonlarının ABTS radikal katyon oksidasyonunu % 39.61, 96.70 ve 95.50 oranında engellediğini, bu infüzyonların

toplam fenolik maddelerinin sırası ile 44.96, 32.22 ve 29.09 mg/l olduğunu bildirmişlerdir. Aoshima ve arkadaşları [8], Japonya'da marketlerde satılan *Salvia officinalis* (ada çayı), *Rosmarinus officinalis* (biberiye), *Thymus vulgaris* (kekik), *Mentha piperita* (nane) infüzyonlarının DPPH radikal tutma aktivitelerinin sırasıyla %19.8 ± 1.8, 23.0 ± 1.1, 21.5 ±1.1, 30.3 ±1.3 olduğunu belirtmişlerdir.

Atoui ve arkadaşları [7], *Mentha piperita*, *Salvia fructicosa* ve *Tilia sp*. infuzyonlarında toplam fenolik maddelerinin sırasıyla 106 ± 0.18, 124 ± 1.57 ve 184 ± 1.72 mg gallik asit/240 ml olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada infüzyonların DPPH radikallerinin %50'sini inhibisyon için gerekli konsantrasyonları sırasıyla 0.46, 0.35 ve 0.35 mg ekstre/mg DPPH olarak belirlemişlerdir.

Chen ve ark. [9], *Rosmarinus officinalis* sulu ekstresinin toplam fenolik madde miktarını185. 04 mg gallik asit/g ekstre olarak belirlerken, DPPH yönteminde 100 ve 500 µg/ml konsantrasyonlarında % inhibisyon değerlerini sırası ile 39.41 ± 0.51 ve 55.32 ± 0.52 olarak belirlemişlerdir.

Katalinic ve arkadaşları [22], *Melissa folium* fenoliklerinin yüksek antioksidan aktivitesi ile önemli bir besinsel fenolik bileşik kaynağı olduğunu bildirmişlerdir. *Thymus vulgaris* infüzyonunun toplam fenolik madde miktarının 200 mg gallik asit/l olduğu, 0.05 ve 0.5 g/l konsantrasyonlarında DPPH radikal inhibisyon değerlerinin ise sırasıyla %12.90 ve69.05 olduğu belirtilmiştir [61].

Rosmarinus officinalis (biberiye)'in antioksidan aktiviteye sahip olduğu, bu aktivitenin içerdiği karnosol, karnosik asit, rosmarinik asit ve rosmanolden kaynaklandığı belirtilmiştir [62]. Ada çayı ekstrelerinin de antioksidan aktiviteye sahip olduğu, antioksidan aktiviteden sorumlu esas bileşiklerin karnosol ve karnosik asit olduğu belirtilmiştir [62]. Ayrıca kekikte bulunan tiymol ve karvakrol'ün antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [62].

Trouillas ve ark. [63], *R. officinalis* ve *U. dioica* ekstrelerinin suda çözünebilen fraksiyonlarının DPPH yönteminde IC_{50} değerlerini sırasıyla 0.11 ve 3.48 mg/ml, toplam fenolik miktarlarını da sırasıyla7.94 ve 0.88 g pyrogallol /100 g ekstre olarak belirlenmiştir.

Oktay ve ark [59], *Foeniculum vulgare* (rezene) tohumlarının sulu ve etanollü ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarını sırasıyla 21.25 ve 90.00 µg gallik asit/mg ekstre olduğunu, ekstrelerin konsantrasyonları arttıkça DPPH radikal tutucu aktivitelerinin de arttığını bildirmişlerdir.

Oskay ve Sarı [19], *Rosmarinus officinalis* etanollü ekstresinin *Staphylococcus aureus*; metisilin-dirençli *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *B.subtilis, Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloaceae, Enterobacter aerogenes* ve *Candida albicans*'a karşı antibakteriyel ve antikandidal, aktiviteye sahip olduğunu kaydetmişlerdir.

Ocimum basiculum (fesleğen) metanollü, etonollü ve hekzanlı ekstrelerinin test edilen 55 bakteri ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir [64]. Diğer bir çalışmada *Pimpinella anisum* (anoson) tohumlarının alkollü ekstresinin *Micrococcus luteus* ve *Mycobacterium smegmatis*'e karşı antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir [2]. Sağdıç [65], *Thymus vulgaris* hidrosolünün *S. aureus*, *E.coli*, *E. coli* O157/:H7 ve *Yersinia enterocolitica*'ya karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğunu kaydetmiştir. Benzer şekilde anoson hidrosolünün *S. aureus*, *E.coli*'ye karşı etkili olduğu bildirilmiştir [66].

Halk arasında tedavi amacı ile bitkiler daha çok dekokşın ve infüsyon (çay formunda) şeklinde tüketilmektedir. Yapılan literatür araştırmasında baharat ve tıbbi bitkilerden organik çözücülerle elde edilen ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili çok sayıda çalışma [1, 2, 3, 19, 64] bulunmasına rağmen bitkilerin dekokşın, hidrosol ve infüzyonlarının antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır [65-69]. Bu çalışma ile Türkiye'de, Kayseri İl'inde aktar ve marketlerde satılan ve yaygın olarak kullanılan birçok tıbbi bitkinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi belirlenmiş olacaktır.

3. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Araştırma Materyallerinin Temini

Çalışmamız kapsamında yer alan bitkiler (*Anethum graveolens* L., *Cassia angustifolia, Foeniculum vulgare* L., *Laurus nobilis* L., *Mentha piperita, Melissa officinalis* L., *Nigella sativa* L., *Ocimum basilicum, Rosmarinus officinalis, Petroselinum crispum* Mill., *Pimpinella anisum* L., *Salvia officinalis, Thymus vulgaris* L., *Tilia vulgaris, Urtica dioica*) Kayseri İlinde değişik market ve aktarlardan kuru ot şeklinde satın alınmıştır. En az üç faklı yerden alınan bitkiler bire bir oranında homojen olacak şekilde karıştırılmıştır.

3.2. Ekstrelerin Hazırlanması

3.2.1. İnfüsyon

10 gr toz halindeki bitkilerin üzerine 100 ml kaynamış distile su dökülerek 5 dk beklenmiştir. Daha sonra filtreden geçirilmiştir [22, 69].

3.2.2. Dekokşın

10 gr bitki üzerine 100 ml distile su konarak Clevenger hidrodistilasyon cihazında 1 saat boyunca kaynatılmıştır. Daha sonra filtre edilmiştir [67].

3.2.3. Hidrosol

10 gr bitki üzerine 100 ml distile su konarak Clevenger hidrodistilasyon cihazında 1 saat boyunca kaynatılmıştır. Distilasyon sonrasında yağ musluktan alınmıştır. Yağı aldıktan sonra dar boyunlu kısımda kalan sıvı hidrosol olarak adlandırılmaktadır. Toplanan hidrosol filtre edilerek temiz koyu renkli kapaklı şişelere alınmıştır [65].

3.2.4. Metanollü Ekstre

Kurutulmuş bitkiden 10 g alınarak, öğütülüp toz haline getirildikten sonra Soxhlet ekstraksiyon cihazında, 300 ml saf metanol ile 70 ^{o}C 'de ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon işleminden sonra, solvent-ekstre karışımı bulunan balon, Soxhlet düzeninden çıkarılarak, rotary evaporatöre yerleştirilmiştir. Burada da 70 ^{o}C 'de 20 dakika süreyle tutularak solvent-ekstre karışımından, solvent tamamen uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan ekstre, renkli ve kapaklı cam şişelerde kullanılıncaya kadar buzdolabında saklanmıştır [70,71].

3.3. Toplam Fenolik Bileşiklerin Miktarının Belirlenmesi

Ekstrelerdeki toplam fenolik bileşiklerin miktarı Folin- Ciocalteu kolorimetrik yöntemi ile Shimadzu Marka spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir [72]. Kurutulmuş ekstrelerin her birinden 1 mg alınarak 1 ml çözücüde çözülmüştür. Hazırlanan çözeltilerden 40 µl deney tüplerine aktarılmıştır. Ekstrelerin üzerine sırasıyla 2.4 ml distile su, 200 µl Folin-Ciocalteu reagenti, 600 µL doymuş sodyum karbonat (%20 Na_2CO_3) ve tekrar 760 µl distile su eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra 765 nm dalga boyundaki absorbans değerleri köre karşı okunmuştur. Kör'de ekstre yerine çözgen kullanılmıştır. İşlem üç tekrar şeklinde uygulanmıştır. Sonuçlar gallik asitle elde edilen kalibrasyon eğrisinden hesaplanmıştır. Çalışılan ekstrelerdeki toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri olarak (mg GAE/g ekstre) belirtilmiştir.

3.4. Antioksidan Aktivitenin belirlenmesi

Antiradikal aktivite DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemine göre Shimadzu Marka spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir [73]. Bu yöntem ortamdaki antioksidan etkiye sahip bileşikler tarafından DPPH stabil serbest radikalin karakteristik mor renginde meydana getirilen renk değişikliğinin spektrofotometre ile ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Kuru ekstrelerin çözgenleri ile bir seri konsantrasyonlarda çözeltileri oluşturulmuştur. Hazırlanan çözeltilerden 50 µl alınarak deney tüplerine aktarılmıştır. Üzerlerine 450 µl Tris-HCL ve 1 ml 0.1 mM DPPH radikalinin metanol ile hazırlanan çözeltisi eklendikten sonra vorteks ile karıştırılıp oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Aynı işlem ekstre yerine çözgen içeren bir kör tüpü için eş zamanlı olarak tekrarlanmıştır. Karışımların absorbans değerleri 517 nm dalga boyunda okunmuştur. Her ekstre için ölçümler üç kez tekrarlanmıştır ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Ekstre çözeltilerinin serbest radikal temizleyici etkisi DPPH absorbsiyonunun % inhibisyonu olarak belirtilmiştir. Bu değer aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

Antiradikal Aktivite (% İnhibisyon) = 100 x (1-Örnek Çözelti Absorbansı/Kör Çözelti Absorbansı)

Her bir ekstre için % 50 inhibisyona neden olan konsantrasyon (IC_{50}) belirlenmiştir. Aynı işlemler pozitif kontrol olarak kullanılan sentetik antioksidan olan bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) için tekrarlanmıştır.

3.5. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Bitki ekstrelerinin antimikrobiyal aktivite denemeleri agar difüzyon yöntemi ile yapılmıştır [71]. Bu çalışmada test organizması olarak 8 adet bakteri ve 2 adet mayayı içeren toplam 10 mikroorganizma kullanılmıştır. Bu mikroorganizmalar Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nden sağlanmıştır. Çalışmada *Bacillus cereus* RSKK 863, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736, *Morgenella morganii, Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Yersinia*

enterocolitica ATCC 1501 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 1223, *Saccharomyces cerevisiae* BC 5461 mayaları kullanılmıştır.

Bitki ekstrelerinin antimikrobiyal etkisi hakkında fikir vermesi amacıyla 12 adet de antibiyotik disk kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskler 6 mm çapında olup, antibiyotik diskler ve kısaltılmış adları şöyledir: Ampicillin (AMP-10), Amoxycillin (AML-25), Carbenicillin (CAR-100), Chloramphenicol (C-30), Erytromycin (E-15), Gentamisin (CN-10), Kanamycin (K-30), Oxacillin (OX-5), Rifambisin (RD-5 μg), Streptomycin (S-10 μg), Tetracyclin (TE-30), Vancomisin (VA-30 μg).

Stok kültürlerden, bakteriler Nutrient sıvı besiyerine, mayalar ise Malt ekstrakt sıvı besi yerine aşılanarak, mayalar ve *Y. enterocolitica* 27 ^{o}C 'de, diğer mikroorganizmalar ise 35 ^{o}C 'de 24 saat inkübasyona bırakılarak üretilmiştir. Sıvı ortamlarda geliştirilen her mikroorganizma kültüründen, tekrar yukarıdaki sıvı ortamları içeren tüplere, %1 oranında bakteri kültürü aşılanarak 18 saat inkübe edilmiştir. Gelişen bu mikroorganizmaların gelişme eğrileri belirlenerek 10^{6}-10^{7} kob/ml mikroorganizma içerecek şekilde gerekirse aynı steril sıvı besiyeri ile seyreltilmiştir.

Her mikroorganizma, içerisinde 25 ml steril besiyeri (Bakteriler için Nutrient Broth agar ve mayalar için Malt Ekstrakt agar) içeren 43-45 ^{o}C sıcaklıkta bulunan erlenmayerdeki besiyerine %1 oranında aşılanmıştır. Mikroorganizma kültürüyle aşılama yapılmış agarlar, 9 cm 'lik petri plaklarına dökülerek, katılaştıktan sonra 4 ^{o}C 'de yaklaşık 1 saat bekletilmiştir. Hazırlanan bu besiyerleri, ekstrelerin ve antibiyotik disklerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır.

Bitki ekstrelerinin metanol ile %1, 2.5, 5 ve10 konsantrasyonlarında çözeltileri hazırlanmıştır. Antimikrobiyal etkinin belirlenmesi amacıyla Agar Difüzyon Yöntemi uygulanmıştır. Agar Difüzyon Yöntemi için, bakteri aşılanarak buzdolabında bir saat süreyle bekletilen petri kutularındaki taze besiyerine, korkborla (mantar delici) 4 mm çapında 4 adet kuyucuk açılarak bu kuyucuklara, yukarıda belirtilen yüzdelerde hazırlanmış bitki ekstrelerinden 50 μl pipetlendikten sonra *Y. enterocolitica* ve mayalar

27 ^{o}C 'de, diğer mikroorganizmalar ise 35 ^{o}C 'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Meydana gelen inhibisyon zonlarının çapı mm cinsinden ölçülmüştür.

Antibiyotik diskler steril şartlarda pensle alınarak hazırlanan besiyeri üzerine konduktan sonra üzerinden hafifçe bastırılarak yukarıda belirtilen şartlarda inkübasyona bırakılmıştır. Antibiyotik disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapı mm cinsinden ölçülmüştür. Her deneme iki tekrar şeklinde gerçekleştirilmiştir.

3.6. Minumum İnhibe Edici Konsantrasyon (MIC) 'un Belirlenmesi

Agar difüzyon yönteminde etkili bulunan ekstrelerin en düşük etkili dozları microwell dilüsyon yöntemine göre belirlenmiştir. Ekstrelerin azalan konsantrasyonlarda iki kat seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstreler 10^{6}-10^{7} cfu/ml bakteri ve maya içeren 100 µl süspansiyonlar ile aşılanmıştır. Test pleytlerinde bakteriler 37 ^{o}C'de 24 saat, mayalar ise 27 ^{o}C'de 44 saat inkübe edilmiştir. Her bir ekstre için şeffaf olan en düşük konsantrasyon MIC olarak belirlenmiştir. Her bir deneme iki tekerrürlü yapılmıştır [74].

3.7. İstatistiksel Analizler

Denemelerden elde edilen verileri değerlendirmek için ortalamalar arasındaki farkları belirlemede Varyans analizi, uygulamalar arasında fark olduğu durumlarda ise Duncan testi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, SPSS 10.0 istatistik programı kullanılarak varyans analizi ile değerlendirilmiştir [75].

4. BÖLÜM

BULGULAR

4.1. Çalışılan Bitkilerin Metanollü Ekstre Verimleri

Kayseri İlinde, değişik market ve aktarlardan kuru ot şeklinde satın alınan on beş farklı bitki (*A. graveolens*, *C. angustifolia, F. vulgare*, *L. nobilis*, *M. piperita, M. officinalis*, *N. sativa*, *O. basilicum, R. officinalis, P. crispum*, *P. anisum*, *S. officinalis, Thymus vulgaris*, *Tilia vulgaris, U. dioica*) birebir oranında homojen olacak şekilde karıştırılmıştır. Bitkilerin, Soxhlet ekstraksiyon cihazında metanol ile ekstreleri elde edilmiştir. Rotary evaporatörde solvent uzaklaştırılarak kuru ekstreler elde edilmiştir. Elde edilen kuru ekstrelerin verimleri hesaplanmış ve %verim (g ekstre/100 g bitki) olarak Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Metanollü ekstrelerin verimleri %5.00-33.00 arasında değişmektedir. Çalışılan bitkiler arasında *P. crispum* en yüksek ekstre verimine sahipken *N. sativa* en düşük ekstre verimine sahiptir.

Tablo 4.1. Çalışılan bitkilerin metanollü ekstre verimleri (g ekstre/100 g bitki)

Bitki Adı		Verim (%)
A. graveolens	Dereotu	19.0
C. angustifolia	Sinameki	21.0
F. vulgare	Rezene	11.0
L. nobilis	Defne	22.0
M. piperita	Nane	16.0
M. officinalis	Oğulotu	11.0
N. sativa	Çörekotu	5.0
O. basilicum	Fesleğen	12.0
R. officinalis	Biberiye	23.0
P. crispum	Maydonoz	33.0
P. anisum	Anoson	9.0
S. officinalis	Adaçayı	26.0
Thymus vulgaris	Kekik	9.0
Tilia vulgaris	Ihlamur	15.0
U. dioica	Isırgan otu	15.0

4.2. Metanollü ekstre, İnfüzyon ve Dekokşınların Toplam Fenolik Madde İçeriği

Çalışılan bitkilerin metanollü ekstrelerinin Folin-Ciocalteu yöntemi ile ölçülen toplam fenolik madde içeriği gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirtilmiş ve sonuçlar Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Çalışılan bitkilerin metanollü ekstrelerinin toplam fenolik madde içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli farklar bulunmaktadır ($F = 1752.640$, $df = 14$, $p = 0.0$). *S. officinalis* metanollü ekstresi 111.03 ± 0.6 mg GAE/g ekstre değeri ile en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip iken *P. crispum* 11.06 ± 1.5 mg GAE/g ekstre değeri ile en düşük toplam fenolik içeriğe sahiptir.

Tablo 4.2. Çalışılan bitkilerin metanollü ekstrelerinin toplam fenolik içerikleri

No	Bitki Adı	Toplam Fenolik İçerik (mg GAE/g ekstre)
1	*M. piperita*	91.42 ± 0.6 c*
2	*T. vulgaris*	69.44 ± 2.1 d
3	*M. officinalis*	93.4 ± 2.1 c
4	*C. angustifolia*	24.14 ± 1.0 i
5	*F. vulgare*	49.50 ± 0.0 f
6	*P. anisum*	32.93 ± 0.6 g
7	*O. basilicum*	19.07± 0.0 j
8	*R. officinalis*	64.71 ± 1.7 e
9	*N. sativa*	71.5 ± 2.5 d
10	*L. nobilis*	30.9 ± 0.5 h
11	*S. officinalis*	111.03 ± 0.6 a
12	*Tilia vulgaris*	106.97 ± 1.5 b
13	*U. dioica*	14.61 ± 0.5 k
14	*P. crispum*	11.06 ± 1.5 l
15	*A. graveolens*	31.34 ± 1.0 gh

(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.

Çalışılan bitkilerin infüzyonlarının Folin-Ciocalteu yöntemi ile ölçülen toplam fenolik madde içerikleri gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirtilmiş ve sonuçlar Tablo 4.3'de gösterilmiştir.

Çalışılan bitkilerin infüzyonlarının toplam fenolik madde içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli farklar bulunmaktadır ($F = 4815.861$, $df = 14$, $p = 0.0$). *M. officinalis* infüzyonu 51.08 ± 0.6 mg GAE/g değeri ile en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip iken *N. sativa* 9.71± 0.0 mg GAE/g değeri ile en düşük toplam fenolik içeriğe sahiptir.

Tablo 4.3. Çalışılan bitkilerin infüzyonlarının toplam fenolik içerikleri

No	Bitki Adı	Toplam Fenolik İçerik (mg GAE/g ekstre)
1	*M. piperita*	22.55 ± 0.1 f*
2	*T. vulgaris*	22.40 ± 0.2 f
3	*M. officinalis*	51.08 ± 0.6 a
4	*C. angustifolia*	17.19 ± 0.0 h
5	*F. vulgare*	16.13 ± 0.3 ij
6	*P. anisum*	16.51 ± 0.0 i
7	*O. basilicum*	23.15 ± 0.3 e
8	*R. officinalis*	49.80 ± 0.2 b
9	*N. sativa*	9.71± 0.0 m
10	*L. nobilis*	18.77± 0.8 g
11	*S. officinalis*	34.40 ± 0.2 c
12	*Tilia vulgaris*	32.36 ± 0.2 d
13	*U. dioica*	16.06 ± 0.0 j
14	*P. crispum*	14.70 ± 0.0 k
15	*A. graveolens*	12.13 ± 0.1 l

(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.

Çalışılan bitkilerin dekokşınlarının Folin-Ciocalteu yöntemi ile ölçülen toplam fenolik madde içerikleri gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirtilmiş ve sonuçlar Tablo 4.4'de gösterilmiştir.

Çalışılan bitkilerin dekokşınlarının toplam fenolik madde içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli farklar bulunmaktadır (F = 6824.128, df = 14, p = 0.0). *R. officinalis* dekokşını 59.23 ± 0.1 mg GAE/g değeri ile en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip iken *F. vulgare* dekokşını 10.39 ± 0.0 mg GAE/g değeri ile en düşük toplam fenolik içeriğe sahiptir. Dekokşınlar arasında, *N. sativa*'dan elde edilen dekokşının toplam fenolik madde miktarı düşük olduğu için belirlenememiştir.

Tablo 4.4. Çalışılan bitkilerin dekokşınlarının toplam fenolik içerikleri

No	Bitki Adı	Toplam Fenolik İçerik (mg GAE/g ekstre)
1	*M. piperita*	20.06 ± 0.1 h*
2	*T. vulgaris*	39.68 ± 0.1 c
3	*M. officinalis*	50.25 ± 0.6 b
4	*C. angustifolia*	15.15 ± 0.2 j
5	*F. vulgare*	10.39 ± 0.0 m
6	*P. anisum*	17.41 ± 0.0 i
7	*O. basilicum*	28.89 ± 0.3 f
8	*R. officinalis*	59.23 ± 0.1 a
9	*N. sativa*	-
10	*L. nobilis*	26.32 ± 0.3 g
11	*S. officinalis*	37.34 ± 0.2 d
12	*Tilia vulgaris*	33.49 ± 0.5 e
13	*U. dioica*	11.07 ± 0.2 l
14	*P. crispum*	14.09 ± 0.5 k
15	*A. graveolens*	15.45± 0.1 j

(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.

M. officinalis, *P. anisum*, *O. basilicum*, *U. dioica*, *P. crispum* hariç bitkilerin metanollü ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları infusyonların toplam fenolik madde miktarlarından daha yüksektir. *O. basilicum* ve *P. crispum* hariç metanollü ekstrelerin toplam fenolik madde miktarlarının dekokşınlardan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bitkilerden elde edilen infusyon ve dokoşınların toplam fenolik madde miktarları birbirine yakındır. Çalışılan bitkiler arasında *R. officinalis* en yüksek fenolik madde miktarına sahiptir. Bu çalışmadan bitkilerden fenolik maddeleri elde etmek için çözgen olarak metanolün daha uygun olduğu sonucu çıkarılabilir.

4.3. Metanollü Ekstrelerin Antioksidan Aktiviteleri

Çalışılan bitkilerin metanollü ekstrelerinin 0.25- 2 mg/ml konsantrasyonlarında antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile ölçülmüş, sonuçlar % inhibisyon olarak belirtilmiştir ve sentetik antioksidan olan BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen)'nin % inhibisyon değerleri ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4.5).

Tablo 4.5'de görüldüğü gibi test edilen bitkilerin hepsi önemli miktarda antiradikal aktiviteye sahiptir. Her bitki ekstresinde konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite artmaktadır. 2 mg/ml konsantrasyonda, %93.61 inhibisyon ile *R. officinalis* metanollü ekstresi en yüksek antioksidan aktiviteye sahipken, %13.65 inhibisyon ile *N. sativa* metanollü ekstresi en düşük antioksidan aktiviteye sahiptir. 2 mg/ml konsantrasyonunda, *M. officinalis, R. officinalis, L. nobilis, S. officinalis* ve *Tilia vulgaris*'in antioksidan aktivitesi standart BHT'nin antioksidan aktivitesinden (%92.15) daha yüksektir. 0.25 mg/ml konsantrasyonunda, *F. vulgare, N. sativa, U. dioica* ve *P. crispum*'un mmetanollü ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri çok düşük olduğu için belirlenememiştir.

Tablo 4.5. Bitkilerin metanollü ekstrelerinin 0.25- 2 mg/ml konsantrasyonlarında % inhibisyon değerleri

Bitkiler	Konsantrasyon (mg/ml)			
	0.25	0.5	1	2
M. piperita	19.35 ± 0.5	46.76 ± 0.8	88.1 ± 0.1	89.68 ± 0.0
T. vulgaris	9.19 ± 0.4	36.82 ± 0.4	78.3 ± 0.0	91.20 ± 0.2
M. officinalis	10.14 ± 0.7	38.99 ± 0.2	90.69 ± 0.2	92.98 ± 0.0
C. angustifolia	21.26 ± 0.2	31.67 ± 0.2	43.85 ± 0.1	57.17 ± 0.7
F. vulgare	-	-	9.9 ± 0.1	36.84 ± 0.0
P. anisum	3.78 ± 0.2	18.61 ± 0.5	47.02 ± 0.3	78.98 ± 0.3
O. basilicum	9.01 ± 0.3	20.94 ± 0.3	40.19 ± 0.4	78.60 ± 0.2
R. officinalis	21.47 ± 0.4	56.03 ± 0.5	92.94 ± 0.3	93.61 ± 0.1
N. sativa	-	3.37 ± 0.2	12.58 ± 0.4	13.65 ± 0.4
L. nobilis	2.17 ± 0.1	27.2 ± 0.4	55.51 ± 0.3	93.09 ± 0.1
S. officinalis	25.69 ± 0.4	53.58 ± 0.4	91.81 ± 0.1	92.65 ± 0.0
Tilia vulgaris	34.74 ± 0.0	68.25 ± 0.1	92.58 ± 0.3	92.94 ± 0.0
U. dioica	-	-	6.38 ± 0.5	21.18 ± 0.2
P. crispum	-	1.6 ± 0.1	6.36 ± 0.2	19.31 ± 0.5
A. graveolens	11.15 ± 0.1	17.31 ± 0.2	30.4 ± 0.4	54.16 ± 0.2
BHT	89.01 ± 0.1	89.13 ± 0.3	91.47 ± 0.2	92.15 ± 0.1

-: Düşük İnhibisyon Değeri

4.4. İnfüzyonların Antioksidan Aktiviteleri

Çalışılan bitkilerin infüzyonlarının 0.25- 2 mg/ml konsantrasyonlarında antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile ölçülmüş, sonuçlar % inhibisyon olarak belirtilmiştir ve sentetik antioksidan olan BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen)'nin % inhibisyon değerleri ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4.6).

Tablo 4.6'da görüldüğü gibi. 2 mg/ml konsantrasyonda, % 92.91 inhibisyon ile *R. officinalis* infüzyonu en yüksek antioksidan aktiviteye sahipken, %20.21 inhibisyon ile *P. crispum* infüzyonu en düşük antioksidan aktiviteye sahiptir. *N. sativa* infüzyonunun bu konsantrasyonlarda antioksidan aktivitesi belirlenememiştir. 2 mg/ml

konsantrasyonunda, *M. officinalis, R. officinalis* ve *S. officinalis*'in antioksidan aktivitesi BHT'nin antioksidan aktivitesinden (%92.15) daha yüksektir.

Tablo 4.6. Bitki infüzyonlarının 0.25- 2 mg/ml konsantrasyonlarında % inhibisyon değerleri

Bitkiler	Konsantrasyon (mg/ml)			
	0.25	0.5	1	2
M. piperita	8.29 ± 0.4	20.05 ± 0.3	46.92 ± 0.1	88.72 ± 0.1
T. vulgaris	10.57 ± 0.1	22.2 ± 0.3	43.92 ± 0.5	78.24 ± 0.1
M. officinalis	41.14 ± 0.1	80.6 ± 0.0	91.94 ± 0.0	92.57 ± 0.1
C. angustifolia	4.71 ± 0.3	8.2 ± 0.2	14.18 ± 0.1	24.32 ± 0.1
F. vulgare	9.02 ± 0.2	13.69 ± 0.2	23.31 ± 0.5	41.78 ± 0.1
P. anisum	5.99 ± 0.4	13.69 ± 0.1	30.82 ± 0.6	60.68 ± 0.2
O. basilicum	6.02 ± 0.3	13.69 ± 0.5	64.35 ± 0.0	90.75 ± 0.0
R. officinalis	36.29 ± 0.3	76.40 ± 0.5	91.95 ± 0.0	92.91 ± 0.0
N. sativa	-	-	-	-
L. nobilis	11.99 ± 0.6	21.3 ± 0.7	37.26 ± 0.4	66.89 ± 0.2
S. officinalis	26.59 ± 0.1	50.44± 0.2	90.08 ± 0.3	92.86 ± 0.0
Tilia vulgaris	23.68 ± 0.2	46.34± 0.3	76.01 ± 0.2	91.75 ± 0.1
U. dioica	7.19 ± 0.1	11.84 ± 0.0	21.67 ± 0.1	36.14 ± 0.5
P. crispum	-	7.06 ± 0.0	9.86 ± 0.0	20.21 ± 0.4
A. graveolens	1.94 ± 0.1	4.49 ± 0.6	13.66 ± 0.3	23.29 ± 0.2
BHT	89.01 ± 0.1	89.13 ± 0.3	91.47 ± 0.2	92.15 ± 0.1

-: Düşük İnhibisyon Değeri

4.5. Dekokşınların Antioksidan Aktiviteleri

Çalışılan bitkilerin dekokşınlarının 0.25- 2 mg/ml konsantrasyonlarında antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile ölçülmüş, sonuçlar % inhibisyon olarak belirtilmiştir ve sentetik antioksidan olan BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen)'nin % inhibisyon değerleri ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4.7).

Dekokşınların % inhibisyon değerleri ise Tablo 4.7'de verilmiştir. Tablodan da görüldüğü gibi 2 mg/ml konsantrasyonda %94.24 inhibisyonla *R. officinalis* dekokşını en yüksek antioksidan aktiviteye sahipken, %17.88 inhibisyonla *C. angustifolia* dekokşını en düşük antioksidan aktiviteye sahiptir. *N. sativa* dekokşınının bu konsantrasyonlarda antioksidan aktivitesi belirlenememiştir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite artmaktadır. *M. officinalis*, *O. basilicum*, *R. officinalis*, *L. nobilis*, *S. officinalis* and *Tilia vulgaris* dekokşınlarının 2 mg/ml konsantrasyonunda antioksidan aktivitesi standart olarak kullanılan sentetik BHT'nin (%92.15) antioksidan aktivitesinden daha yüksektir.

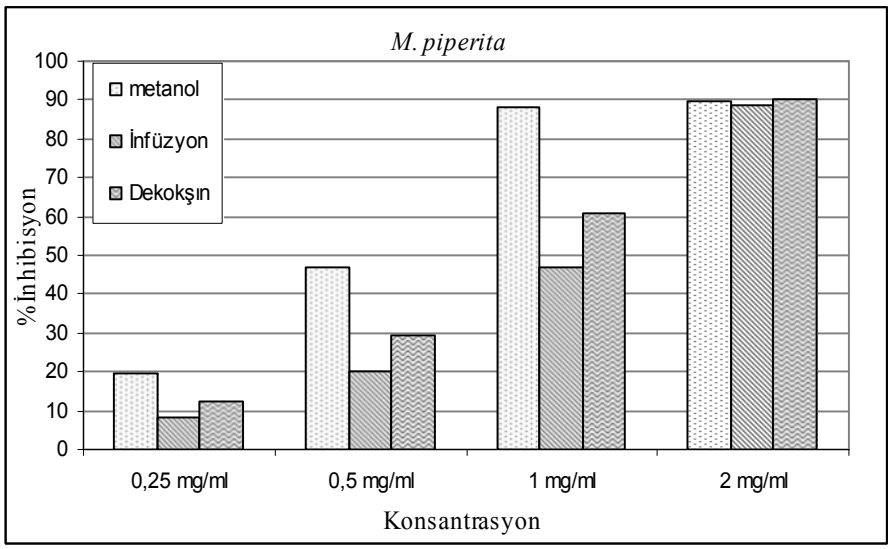
Tablo 4.7. Bitki dekokşınlarının 0.25- 2 mg/ml konsantrasyonlarında % inhibisyon değerleri

Bitkiler	Konsantrasyon (mg/ml)			
	0.25	0.5	1	2
M. piperita	12.14 ± 0.3	29.4 ± 0.3	60.74 ± 0.3	90.26 ± 0.0
T. vulgaris	36.76 ± 0.2	69.22 ± 0.1	86.79 ± 0.0	89.99 ± 0.2
M. officinalis	47.21 ± 0.5	77.47 ± 0.2	91.43 ± 0.0	92.32 ± 0.1
C. angustifolia	1.57 ± 0.0	4.56 ± 0.0	9.42 ± 0.0	17.88 ± 0.1
F. vulgare	5.04 ± 0.1	9.34 ± 0.0	17.81 ± 0.2	33.25 ± 0.4
P. anisum	6.7 ± 0.1	11.89 ± 0.3	31.53 ± 0.2	59.62 ± 0.2
O. basilicum	19.92 ± 0.3	42.1 ± 0.2	76.29 ± 0.3	92.43 ± 01
R. officinalis	49.7 ± 0.1	92.27 ± 0.3	93.42 ± 0.0	94.24 ± 0.0
N. sativa	-	-	-	-
L. nobilis	20.33 ± 0.5	34.11 ± 0.6	65.53 ± 0.2	92.67 ± 0.2
S. officinalis	29.7 ± 0.5	55.51 ± 0.1	93.38 ± 0.1	93.64 ± 0.0
Tilia vulgaris	21.42 ± 0.3	47.42 ± 0.2	86.25 ± 0.9	93.01 ± 0.1
U. dioica	4.08 ± 0.2	7.11 ± 0.2	12.71 ± 0.7	29.21 ± 0.3
P. crispum	2.7 ± 0.2	8.39 ± 0.1	9.5 ± 0.1	22.58 ± 2.1
A. graveolens	2.7 ± 0.3	15.58 ± 0.1	28.32 ± 0.0	53.66 ± 0.0
BHT	89.01 ± 0.1	89.13 ± 0.3	91.47 ± 0.2	92.15 ± 0.1

-: Düşük İnhibisyon Değeri

4.6. *M. piperita*'nın Antioksidan Aktivitesi

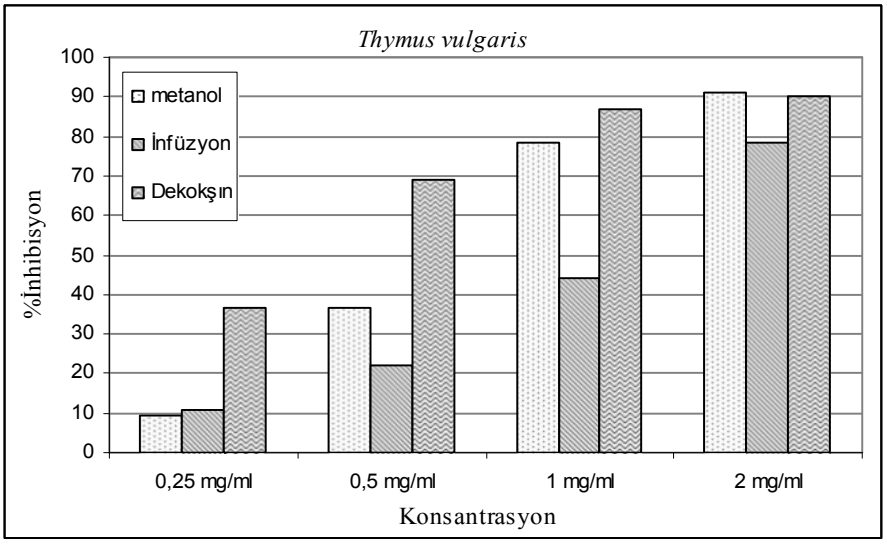
M. piperita'dan elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.1'de gösterilmektedir. % 0.25, 0.5 ve 1 mg/ml konsantrasyonlarındaki antioksidan aktivite sıralaması metanollü ekstre > dekokşın >infüzyon şeklindedir. 2 mg/ml konsantrasyonlarında her birinin antioksidan aktivitesi birbirlerine yakın değerdedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.1. *M. piperita* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.6. *T. vulgaris*'in Antioksidan Aktivitesi

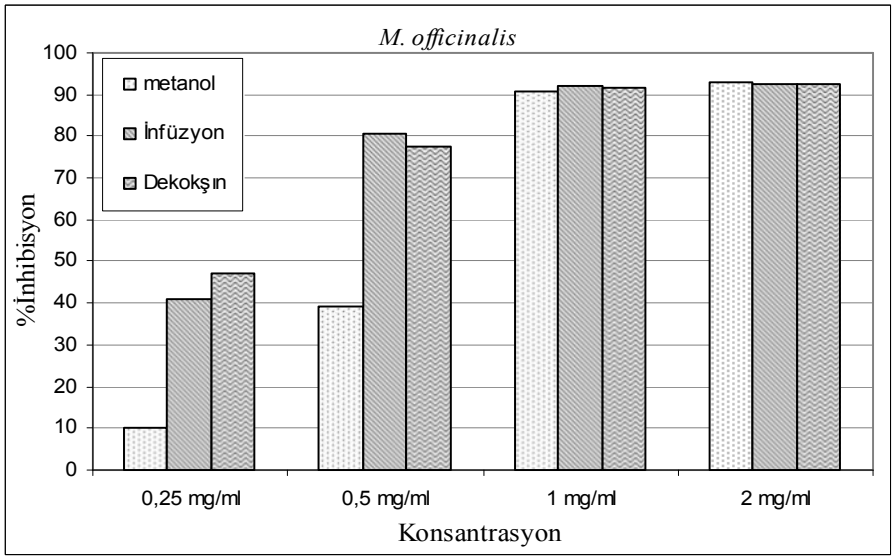
Thymus vulgaris'den elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.2'de gösterilmektedir. % 0.5 ve 1 mg/ml konsantrasyonlarındaki antioksidan aktivite sıralaması dekokşın > metanollü ekstre >infüzyon şeklindedir. 2 mg/ml konsantrasyonlarında metanollü ekstre ve dekokşının antioksidan aktivitesi birbirlerine yakın değerdedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.2. *Thymus vulgaris* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.7. *M. officinalis*'in Antioksidan Aktivitesi

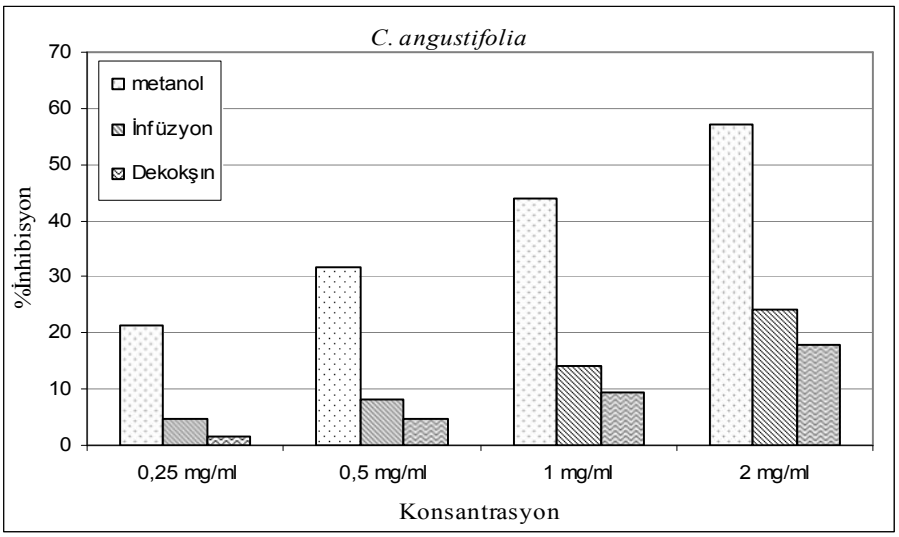
M. officinalis'den elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.3'de gösterilmektedir. % 0.5 ve 1 mg/ml konsantrasyonlarındaki infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi metanollü ekstreden daha yüksektir. 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarında her birinin antioksidan aktivitesi birbirlerine yakın değerdedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.3. *M. officinalis* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.8. *C. angustifolia*'nın Antioksidan Aktivitesi

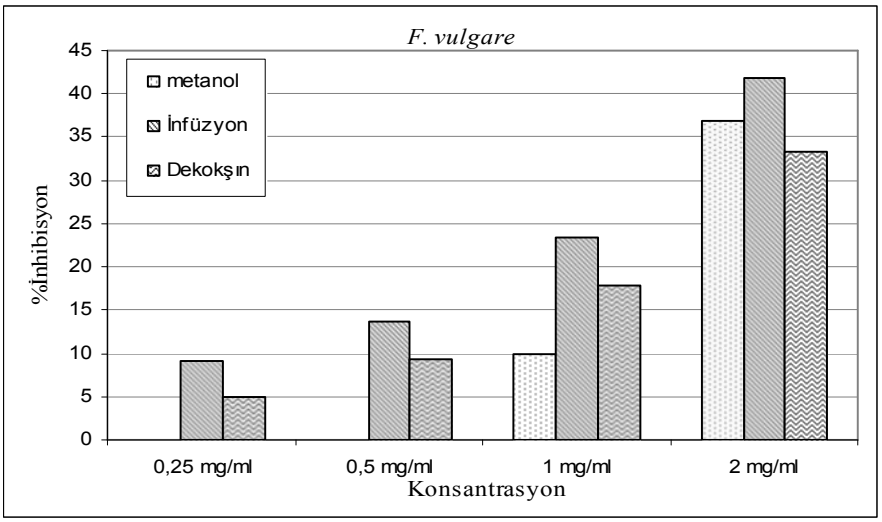
C. angustifolia'dan elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.4'de gösterilmektedir. % 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarındaki antioksidan aktivite sıralaması metanollü ekstre > infüzyon > dekokşın şeklindedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.4. *C. angustifolia* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.9. *F. vulgare*'nin Antioksidan Aktivitesi

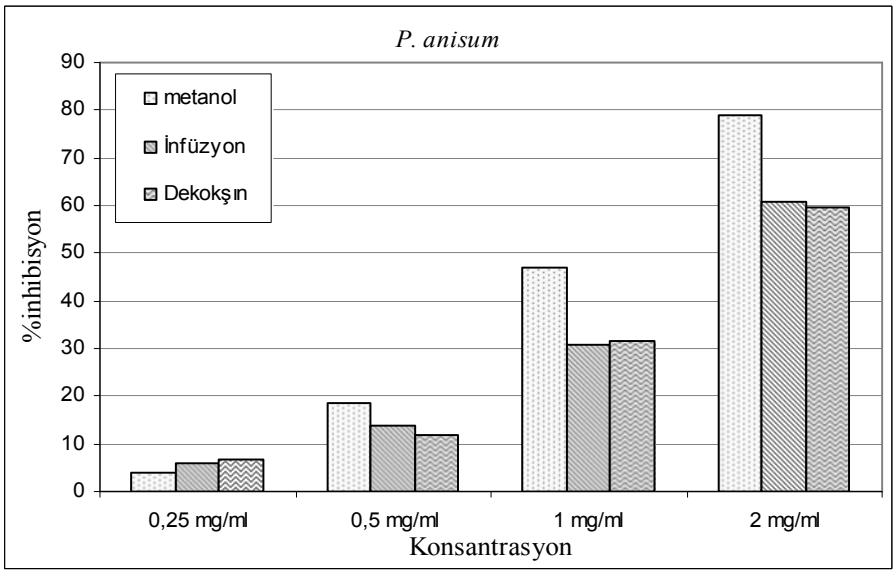
F. vulgare'den elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.5'de gösterilmektedir. % 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarında, dekokşının antioksidan aktivitesi infüzyon ve metanollü ekstreden daha yüksektir. % 0.25 ve 0.5 mg/ml konsantrasyonlarında metanollü ekstrenin inhibisyon değeri düşük olduğu için tespit edilememiştir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.5. *F. vulgare* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.10. *P. anisum*'un Antioksidan Aktivitesi

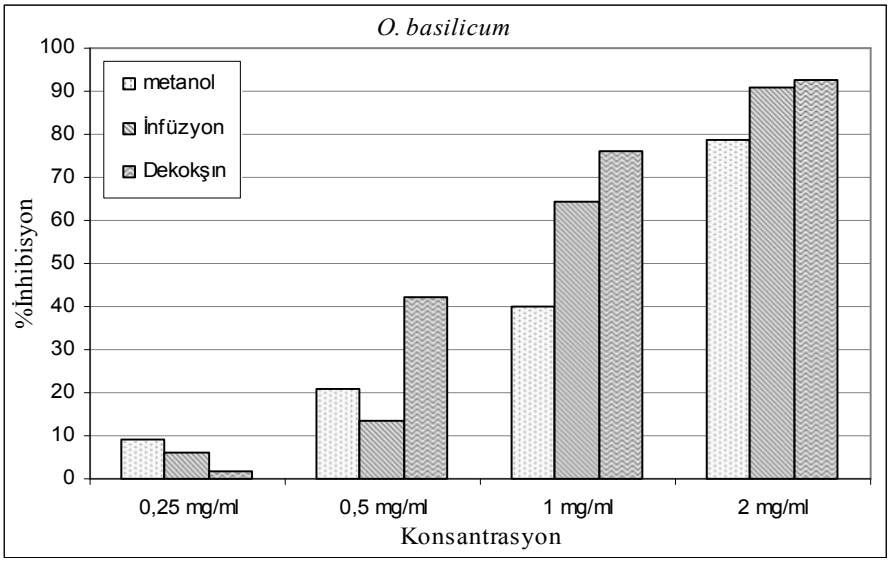
P. anisum'dan elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.6'de gösterilmektedir. % 0.5, 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarında, metanollü ekstrenin antioksidan aktivitesi infüzyon ve dekokşınınkinden daha yüksektir. % 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarında infüzyon ve dekokşının inhibisyon değeri birbirine yakın değerdedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.6. *P. anisum* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.11. *O. basilicum*'un Antioksidan Aktivitesi

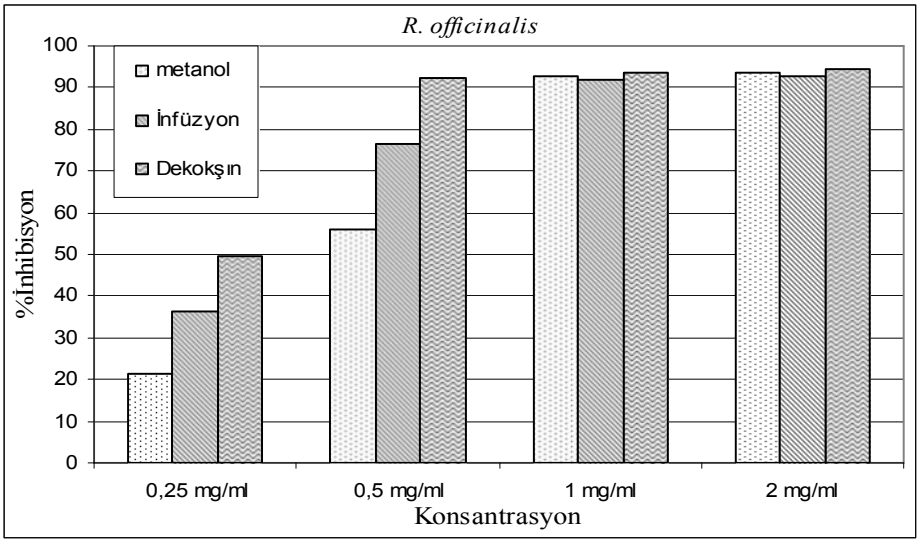
O. basilicum'dan elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.7'de gösterilmektedir. % 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarındaki antioksidan aktivite sıralaması metanollü ekstre > infüzyon > dekokşın şeklindedir. % 0.25 ve 0.5 mg/ml konsantrasyonlarında, metanollü ekstrenin antioksidan aktivitesi infüzyonunkinden daha yüksektir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.7. *O. basilicum* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.12. *R. officinalis*'in Antioksidan Aktivitesi

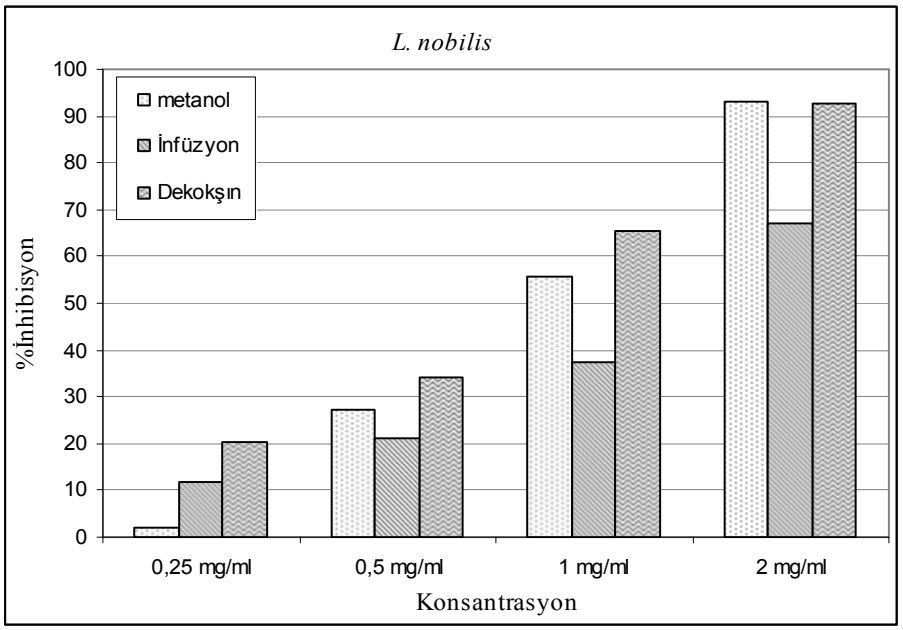
R. officinalis'den elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.8'de gösterilmektedir. % 0.25 ve 0.5 mg/ml konsantrasyonlarındaki antioksidan aktivite sıralaması metanollü ekstre > infüzyon > dekokşın şeklindedir. % 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarında, herbirinin antioksidan aktivitesi birbirine ykın değerdedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.8. *R. officinalis* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.13. *L. nobilis*'in Antioksidan Aktivitesi

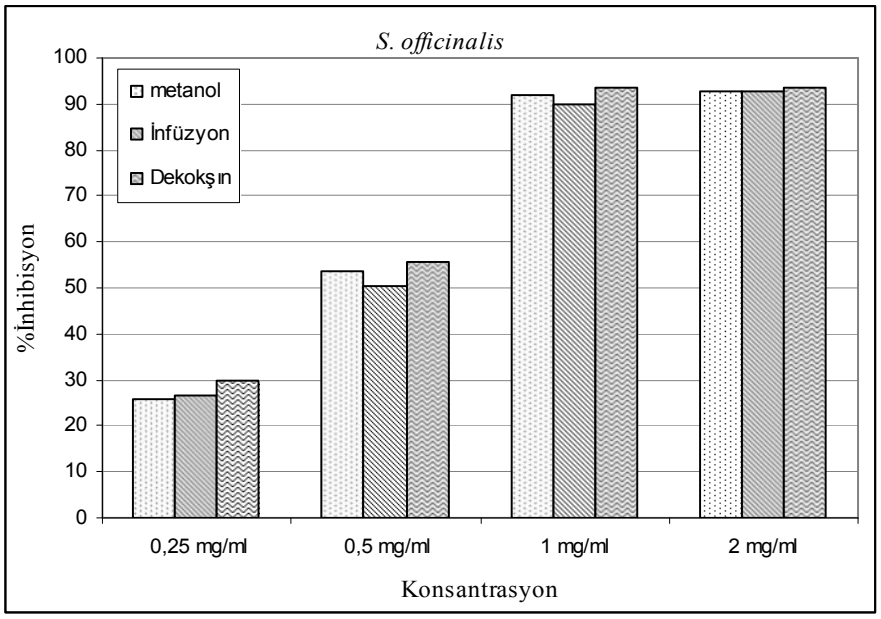
L. nobilis'den elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.9'de gösterilmektedir. % 0.5 ve 1 mg/ml konsantrasyonlarındaki antioksidan aktivite sıralaması dekokşın > metanollü ekstre > infüzyon şeklindedir. % 2 mg/ml konsantrasyonunda, metanollü ekstre ve dekokşının antioksidan aktivitesi birbirine ykın değerdedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.9. *L. nobilis* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.14. *S. officinalis*'in Antioksidan Aktivitesi

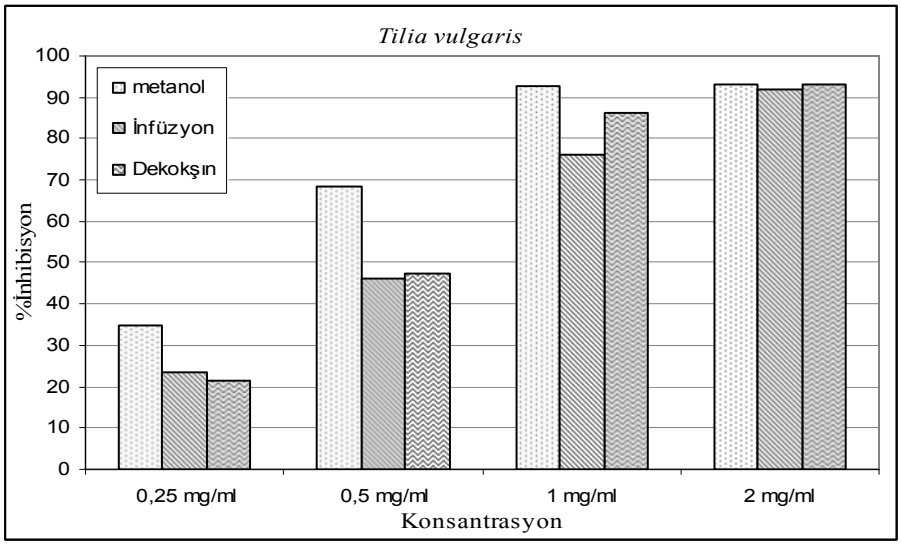
S. officinalis'den elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.10'de gösterilmektedir. % 0.25 konsantrasyonlarındaki antioksidan aktiviteleri metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşın için sırasıyla %25.69, 26.59 ve 29.70'dir. % 0.5 konsantrasyonlarındaki antioksidan aktiviteleri metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşın için sırasıyla %53.58, 50.44 ve 55.51'dir. % 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarında, herbirinin antioksidan aktivitesi birbirine ykın değerdedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.10. *S. officinalis* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.15. *Tilia vulgaris*'in Antioksidan Aktivitesi

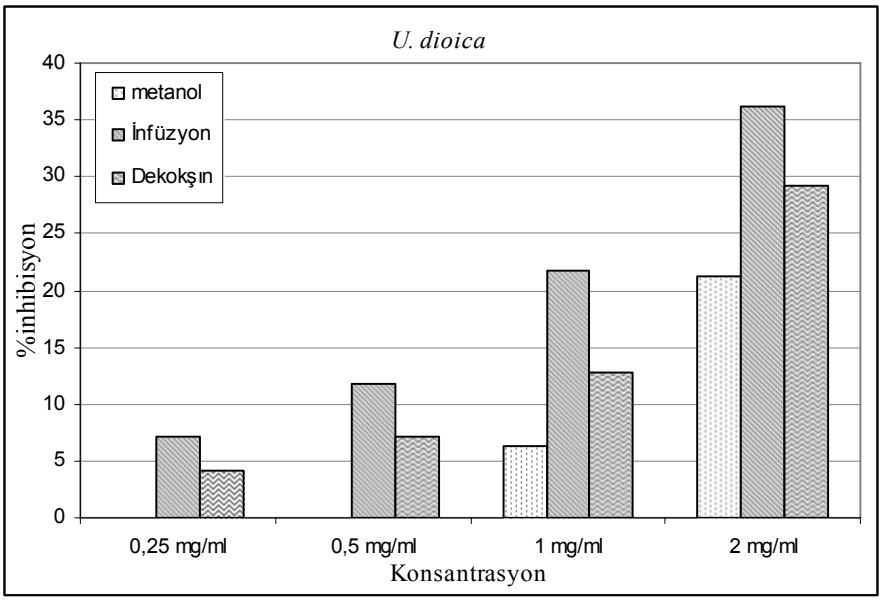
Tilia vulgaris'den elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.11'de gösterilmektedir. % 0.25, 0.5 ve 1 mg/ml konsantrasyonlarında metanollü ekstrenin antioksidan aktivitesi diğerlerinden daha yüksek iken % 2 mg/ml konsantrasyonunda, herbirinin antioksidan aktivitesi birbirine ykın değerdedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.11. *Tilia vulgaris* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.16. *U. dioica*'nın Antioksidan Aktivitesi

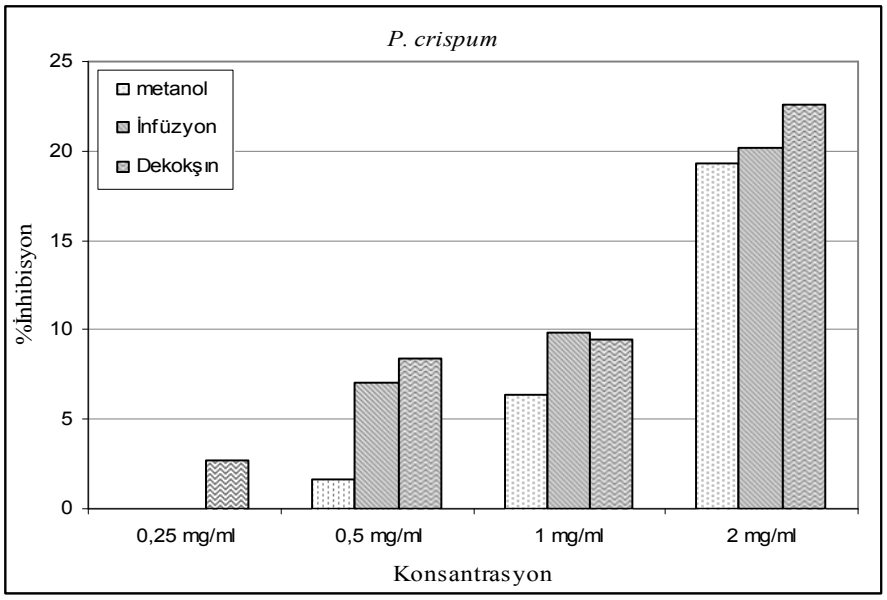
U. dioica'dan elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.12'de gösterilmektedir. % 0.25 ve 5 mg/ml konsantrasyonlarındaki antioksidan aktivite sıralaması infüzyon > dekokşın > metanollü ekstre şeklindedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.12. *U. dioica* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.17. *P. crispum*'un Antioksidan Aktivitesi

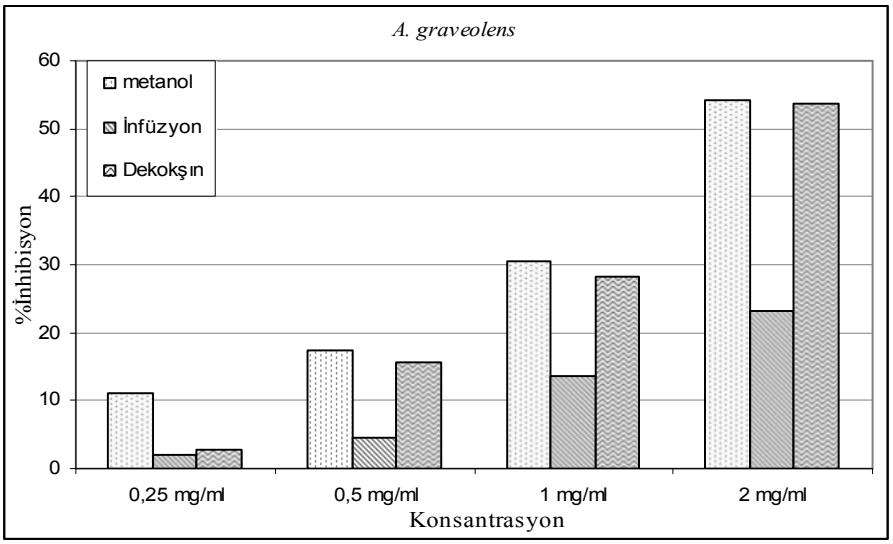
P. crispum'dan elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.13'de gösterilmektedir. Test edilen tüm konsantrasyonlarında metanollü ekstrenin antioksidan aktivitesi infüzyon ve dekokşından daha düşüktür. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.13. *P. crispum* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.18. *A. graveolens*'in Antioksidan Aktivitesi

A. graveolens'den elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının % inhibisyon değerleri Şekil 4.14'de gösterilmektedir. % 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarındaki antioksidan aktivite sıralaması metanollü ekstre > dekokşın > infüzyon şeklindedir. Konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır.



Şekil 4.14. *A. graveolens* metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi

4.19. Bitki Metanollü Ekstre, İnfüzyon ve Dekokşınlarının IC_{50} Değerleri

Her bir metaanollü ekstre, infüzyon ve dekokşın için konsantrasyonlara karşı yüzde inhibisyon değerlerinin yer aldığı grafik çizilerek % 50 inhibisyona neden olan konsantrasyon (IC_{50}) belirlenmiştir. Tablo 4.8'de görüldüğü gibi metanollü ekstrelerin IC_{50} değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklar bulunmaktadır (F = 3494.917, df = 14, p = 0.0). *Tilia vulgaris* IC_{50} = 12.08 µg/ml değeri ile en yüksek antioksidan aktivite gösterirken, *P. crispum* IC_{50} = 163.42 µg/ml değeri ile en düşük antioksidan aktivite göstermektedir.

İnfüzyonların IC_{50} değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklar bulunmaktadır (F = 4344.313, df = 14, p = 0.0). *M. officinalis* IC_{50} = 10.16 µg/ml değeri ile en yüksek antioksidan aktivite gösterirken, *A. graveolens* IC_{50} = 156.16 µg/ml değeri ile en düşük antioksidan aktivite göstermektedir. *N. sativa* infüzyonunun antioksidan aktivitesi düşük olduğu için IC_{50} değeri belirlenememiştir (Tablo 4.8).

Dekokşınların IC_{50} değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklar bulunmaktadır (F = 3350.635, df = 14, p = 0.0). *R. officinalis* IC_{50} = 8.36 µg/ml değeri ile en yüksek antioksidan aktivite gösterirken, *C. angustifolia* IC_{50} = 198.71 µg/ml değeri ile en düşük antioksidan aktivite göstermektedir. *N. sativa* infüzyonunun antioksidan aktivitesi düşük olduğu için IC_{50} değeri belirlenememiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Bitkilerden elde edilen ekstrelerin IC_{50} değerleri

No	Bitkiler	IC_{50} (µg/ml) *		
		Metanollü ekstre	İnfüzyon	Dekokşın
1	*M. piperita*	17.91 l	35.75 h	27.58 f
2	*T. vulgaris*	21.91 j	39.2 g	11.69 k
3	*M. officinalis*	20.16 k	10.16 l	9.07 l
4	*C. angustifolia*	48.65 f	151.25 b	198.71 a
5	*F. vulgare*	83.7 d	95.76 d	98.21 c
6	*P. anisum*	36.4 h	54.69 e	55.2 e
7	*O. basilicum*	41.8 g	26.37 i	20.46 h
8	*R. officinalis*	15.15 m	11.14 l	8.36 l
9	*N. sativa*	159.22 b	-	-
10	*L. nobilis*	30.05 i	47.62 f	25.05 g
11	*S. officinalis*	15.04 m	16.45 k	14.83 j
12	*Tilia vulgaris*	12.08 n	18.66 j	17.71 i
13	*U. dioica*	123.67 c	130.01 c	142.84 b
14	*P. crispum*	163.42 a	149.54 b	166.6 i
15	*A. graveolens*	60.77 e	156.16 a	61.79 d

(*) Her bir sütunda aynı küçük harflerle gösterilen değerlerin ortalamaları varyans analizi ve Duncan testine göre % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli değildir.

4.20. Bitki Metanollü Ekstre, İnfüzyon ve Dekokşınlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri

Çalışılan bitkilerin metanollü ekstre, infüzyon, dekokşın ve hidrosollerinin antimikrobiyal aktiviteleri aynı solvent ile hazırlanmış 50 mg/ml konsantrasyonlarında agar difüzyon yöntemi ile 10 farklı mikroorganizmaya karşı denenmiştir.

Çalışmada *Bacillus cereus* RSKK 863, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736, *Morgenella morganii, Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Yersinia*

enterocolitica ATCC 1501 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 1223, *Saccharomyces cerevisiae* BC 5461 mayaları kullanılmıştır.

Elde edilen ekstre, infüzyon, dekokşın ve hidrosollerinin antimikrobiyal aktivite analizlerinden elde edilen inhibisyon zonu çapları Tablo 4.9'da mm cinsinden verilmiştir. Tablo 4.9'da sadece mikroorganizmalar üzerine etkili olan ekstreler verilmiştir. Elde edilen ekstrelerin hiçbirinin test edilen konsantrasyonlarda *E. coli, C. albicans* ve *S. cerevisiae*'ya karşı etkili olmadığı gözlenmiştir. Çalışılan mikroorganizmalar arasında en hassas olan *B. cereus*'tur. *O. basilicum*'dan elde edilen ekstrelerin aynı konsantrasyonlarda test mikroorganizmalarının hiçbirinde etkili olmadığı belirlenmiştir. *Y. enterocolitica* üzerine sadece *T. vulgaris*'den elde edilen hidrosol etkili olmuştur. Elde edilen inhibisyon çapları 6 ile 19 mm arasında değişmektedir. *B. cereus*'a karşı en etkili olan *S. officinalis* metanollü ekstresidir (15 mm). *B. subtilis*'e karşı en etkili olan *R. officinalis* metanollü ekstresidir (19 mm). *K. pneumoniae*'ye karşı *N. sativa* metanollü ekstresi, *S. officinalis* metanollü ekstresi, *Tilia vulgaris* metanollü ekstresi ve dekokşınının etkili olduğu belirlenmiştir. *M. morganii*'ye karşı *S. officinalis, Tilia vulgaris*, *U. dioica* ve *P. crispum* metanollü ekstrelerinin etkili olduğu belirlenmiştir. *S. aureus*'a karşı *N. sativa* metanollü ekstresi, *S. officinalis* metanollü ekstresi, *Tilia vulgaris* metanollü ekstresi ve dekokşınının etkili olduğu belirlenmiştir. Antimikrobiyal analiz sonuçlarından, metanollü ekstrelerin infüzyon, dekokşın ve hidrosollere göre daha etkili olduğu görülmektedir.

Test edilen hidroseller arasında, sadece *Thymus vulgaris*'in hidrosolü mikroorganizmalardan sadece *B. subtilis* ve *Y. enterocolitica*'ya karşı etki göstermiştir.Test edilen infüzyonlara arasında, sadece *C. angustifolia* ve *S. officinalis* büyümeyi inhibe edici etki göstermiştir. *C. angustifolia* infüzyonu sadece *B. cereus*'e karşı, *S. officinalis* infüzyonu ise sadece *B. cereus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı etkili olmuştur. Aynı şekilde test edilen dekokşınlar arsında, sadece *S. officinalis* ve *Tilia vulgaris* dekokşınları antimikrobiyal etkiye sahiptir. *S. officinalis* dekokşını sadece *B. cereus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı etkili olmuştur. *Tilia vulgaris* dekokşını ise sadece *B. cereus*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus*'a karşı etkili olmuştur (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Bitkilerden elde edilen ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi (mm, inhibisyon çapı *)

No	Ekstre	*B. cereus*	*B. subtilis*	*K. pneumoniae*	*M. morganii*	*P. aeruginosa*	*S. aureus*	*Y. enterecolitica*
1	Metanol	-	-	-	-	7.0	-	-
2	Hidrosol	-	6.0	-	-	-	-	7.0
	Metanol	13.0	-	-	-	10.0	-	-
3	Metanol	12.0	-	-	-	8.0		
4	İnfusyon	10.0	-	-	-	-	-	-
	Metanol	11.0	-	-	-	9.0	-	-
5	Metanol	-	-			7.0	-	-
6	Metanol	-	9.0	-	-	-	-	-
8	Metanol	-	19.0	-		10.5	-	-
9	Metanol	8.0	6.0	7.0		8.0	8.0	-
10	Metanol	-	10.0	-		6.5	-	-
11	İnfusyon	7.0	-	-		7.0	-	-
	Dekokşın	8.0		-		7.0	-	-
	Metanol	15.0	-	10.0	10.0	12.0	8.0	-
12	Dekokşın	10.0	-	7.0	-	-	8.0	-
	Metanol	12.0	8.0	9.0	7.0	8.0	11.0	-
13	Metanol	8.0	-	-	8.0	8.0	-	-
14	Metanol	9.0	-	-	6.0	7.0	-	-
15	Metanol	8.0	-	-	-	-	-	-

-: Antimikrobiyal aktivite yok;
*: 5 mm delik çapı dahil
1: *M. piperita*, 2: *T. vulgaris*, 3: *M. officinalis*, 4: *C. angustifolia*, 5: *F. vulgare*, 6: *P. anisum*, 7: *O. basilicum*, 8: *R. officinalis,* 9: *N. sativa,* 10: *L. nobilis*, 11: *S. officinalis*, 12: *Tilia vulgaris*, 13: *U. dioica*, 14: *P. crispum*, 15: *A. graveolens*.

Bitki metanollü ekstre, infüzyon, dekokşın ve hidrosollerinin antimikrobiyal etkisi hakkında fikir vermesi amacıyla 12 adet de standart antibiyotik disk kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskler 6 mm çapında olup, antibiyotik diskler ve kısaltılmış adları şöyledir: Ampicillin (AMP-10), Amoxycillin (AML-25), Carbenicillin (CAR-100), Chloramphenicol (C-30), Erytromycin (E-15), Gentamisin (CN-10), Kanamycin (K-30), Oxacillin (OX-5), Rifambisin (RD-5), Streptomycin (S-10), Tetracyclin (TE-30), Vancomisin (VA-30). Kullanılan standart antibiyotiklerin mikroorganizmalar üzerine etkisi mm cinsinden ölçülmüş ve Tablo 4.10'da gösterilmiştir. Antibiyotik ve mikroorganizma çeşidine göre elde edilen inhibisyon zonları değişmektedir.

Tablo 4.10. On iki farklı antibiyotiğin test edilen mikroorganizmalar üzerine etkisi

	Antibiyotikler (µg)											
Mikroorganizmalar	VA	K	AML	CN	E	OX	AMP	C	RD	CAR	TE	S
B. cereus	19.0*	15.0	34.0	11.0	18.0	20.0	31.0	21.0	17.0	38.0	25.0	15.0
B. subtilis	20.0	15.0	25.0	12.0	20.0	19.0	24.0	25.0	18.0	24.0	27.0	16.0
E. coli	7.0	7.0	12.0	9.0	-	-	6.5	17.0	10.0	6.5	21.0	11.0
K. pneumoniae	17.0	11.0	16.0	6.5	11.0	-	14.0	13.0	11.0	12.0	15.0	8.0
M. morganii	7.0	6.5	-	-	-	-	-	11.0	10.0	18.0	6.5	6.5
P. aeruginosa	6.5	12.0	30.0	12.0	-	-	25.0	15.0	13.0	31.0	7.0	12.0
S. aureus	13.0	12.0	17.0	7.0	12.0	-	16.0	15.0	11.0	13.0	15.0	8.0
Y. enterocolitica	8.5	14.0	13.0	9.0	7.0	-	8.0	17.0	12.0	9.0	22.0	13.0
C. albicans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S. cerevisiae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: İnhibisyon yok
*: inhibisyon zonu, mm (6mm disk çapı ile birlikte)
Vancomisin (VA-30 µg), Kanamycin (K-30 µg), Amoxycillin (AML-25 µg), Gentamisin (CN-10 µg), Erytromycin (E-15 µg), Oxacillin (OX-1 µg), Ampicillin (AMP-10 µg), Chloramphenicol (C-30 µg), Rifambisin (RD-5 µg), Carbenicillin (CAR-100 µg), Tetracyclin (TE-30 µg), Streptomycin (S-10 µg).

4.21. MIC(Minumum İnhibe Edici Konsantrasyon) 'in Belirlenmesi

Agar difüzyon yönteminde etkili bulunan metanollü ekstre, infüzyon, dekokşın ve hidrosollerin etkili olan en düşük konsantrasyonları (MIC) microwell dilüsyon yöntemine göre belirlenmiştir. Ekstrelerin azalan konsantrasyonlarda iki kat seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstreler 10^6-10^7 cfu/ml bakteri ve maya içeren 100 µl süspansiyonlar ile aşılanmıştır. Test pleytlerinde bakteriler 37 ^oC'de 24 saat, mayalar ise 27 ^oC'de 44 saat inkübe edilmiştir. Her bir ekstre için şeffaf olan en düşük konsantrasyon MIC olarak belirlenmiştir.

Bitkilerden elde edilen metanollü ekstre, infüzyon, dekokşın ve hidrosollerin en düşük inhibe edici konsantrasyonları (MIC) mg/ml olarak belirlinmiştir. *M. piperita*, *T. vulgaris*, *M. officinalis*, *C. angustifolia* ve *F. vulgare*, *P. anisum*; *R. officinalis*; *N. sativa*; *L. nobilis, S. officinalis; Tilia,. vulgaris; U. dioica; P. crispum; A. graveolens*'den elde eilen metanollü ekstrelerin, *T. vulgaris* hidrosolünün, *C. angustifolia* infsyonunun, *S. officinalis* infuzyon ve dekokşınının ve *Tilia vulgaris* dekokşınının agar diffüsyon yönteminde etkili oldukları bakterilere karşı MIC

konsantrasyonları belirlenmiş ve Tablo 4.11'de gösterilmiştir. Tablodan da görüldüğü gibi metanollü ekstre, infüzyon, dekokşın ve hidrosollerin MIC değerleri 25-50 mg/ml arasında değişmektedir. MIC değerlerinden test edilen mikroorganizmalar arasında en hassas olanının *B. cereus* olduğu görülmektedir. *P. aeruginosa*'ya karşı, *S. officinalis*'den elde edilen infuzyonun metanollü ekstresine göre daha düşük konsantrasyonda etkili olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde *S. officinalis*'den elde edilen metanollü ekstre, diğer bakterilere göre *B. cereus*'a karşı daha düşük konsantrasyonlarda etkili olmuştur. *Tilia vulgaris*'den elde edilen dekokşın, metanollü ekstresine göre daha düşük konsantrasyonlarda *B. cereus* ve *K. pneumoniae*'ye karşı inhibe edici etki göstermiştir. Test edilen metanollü ekstreler arasında, *S. officinalis* ve *P. crispum*'dan elde edilen metanollü ekstreler *B. cereus*'a karşı daha düşük konsantrasyonlarda etkili olmuştur. *T. vulgaris*'den elde edilen hidrosol metanollü ekstrelere göre *B. subtilis*'e karşı daha etkilidir. *Tilia vulgaris*'den elde edilen dekokşın diğer metanollü ekstrelere göre *K. pneumoniae*'ya karşı daha düşük konsantrasyonlarda etkili olmuştur. *Y. enterocolitica* üzerine sadece *T. vulgaris*'den elde edilen hidrosol etkili olmuştur.

Tablo 4.11. Bitkilerden elde edilen ekstrelerin MIC (mg/ml) değerleri

No	Ekstre	*B. cereus*	*B. subtilis*	*K. pneumoniae*	*M. morganii*	*P. aeruginosa*	*S. aureus*	*Y. enterecolitica*
1	Metanol	-	-	-	-	50.0	-	-
2	Hidrosol	-	25.0	-	-	-	-	25.0
	Metanol	50.0	-	-	-	50.0	-	-
3	Metanol	50.0	-	-	-	50.0		
4	İnfusyon	25.0	-	-	-	-	-	-
	Metanol	50.0	-	-	-	50.0	-	-
5	Metanol	-	-			50.0	-	-
11	Metanol	25.0	-	50.0	50.0	50.0	50.0	-
	İnfusyon	25.0	-	-		25.0	-	-
	Dekokşın	50.0		-		50.0	-	-
6	Metanol	-	50.0	-	-	-	-	-
8	Metanol	-	50.0	-	-	50.0	-	
9	Metanol	50.0	50.0	50.0	-	50.0	50.0	-
10	Metanol	-	50.0	-	-	50.0	-	-
12	Dekokşın	25.0	-	25.0	-	-	50.0	-
	Metanol	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0	-
13	Metanol	50.0	-	-	50.0	50.0	-	-
14	Metanol	25.0	-	-	-	-	-	
15	Metanol	50.0	-	-	-	-	-	-

-: Antimikrobiyal aktivite yok

1: *M. piperita*, 2: *T. vulgaris*, 3: *M. officinalis*, 4: *C. angustifolia*, 5: *F. vulgare*, 6: *P. anisum*; 8: *R. officinalis*; 9: *N. sativa*; 10: *L. nobilis,* 11*: S. officinalis;* 12: *Tilia vulgaris;* 13: *U. dioica;* 14: *P. crispum;* 15: *A. graveolens.*

5. BÖLÜM

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kayseri İlinde, değişik market ve aktarlardan kuru ot şeklinde satın alınan on beş farklı bitkiden elde edilen metanollü ekstre, infüsyon, dekokşın ve hidrosollerin toplam fenolik madde miktarı, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiş ve bu sonuçlar diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırılarak detaylı bir şekilde tartışılmıştır.

Bitkilerin Soxhlet ekstraksiyon cihazında metanol ile ekstreleri çıkartılmıştır. Metanollü ekstrelerin verimleri %5.00 - %33.00 arasında değişmektedir. *P. crispum* en yüksek ekstre verimine sahipken *N. sativa* en düşük ekstre verimine sahiptir.

Metanollü ekstrelerinin toplam fenolik madde içerikleri 11.06 - 111.03 mg GAE/g ekstre arasında değişmektedir. *S. officinalis* metanollü ekstresi en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip iken *P. crispum* en düşük toplam fenolik içeriğe sahiptir.

İnfüzyonların toplam fenolik madde içerikleri 9.71 - 51.08 mg GAE/g arasında değişmektedir. *M. officinalis* infüzyonu en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip iken *N. sativa* infüzyonu en düşük toplam fenolik içeriğe sahiptir.

Dekokşınların toplam fenolik madde içerikleri 10.39 -59.23 mg GAE/g arasında değişmektedir. *R. officinalis* dekokşını en yüksek toplam fenolik içeriğe sahip iken *F. vulgare* dekokşını en düşük toplam fenolik içeriğe sahiptir. Dekokşınlar arasında, *N. sativa*'dan elde edilen dekokşının toplam fenolik madde miktarı düşük olduğu için belirlenememiştir.

M. officinalis, *P. anisum*, *O. basilicum*, *U. dioica*, *P. crispum* hariç bitkilerin metanollü ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları infusyonların toplam fenolik madde

miktarlarından daha yüksektir. *O. basilicum* ve *P. crispum* hariç metanollü ekstrelerin toplam fenolik madde miktarlarının dekokşınlardan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bitkilerden elde edilen infusyon ve dokoşınların toplam fenolik madde miktarları birbirine yakındır. Bu çalışmadan bitkilerden fenolik maddeleri elde etmek için çözgen olarak metanolün daha uygun olduğu sonucu çıkarılabilir. Çalışılan bitkiler arasında *R. officinalis* en yüksek fenolik madde miktarına sahiptir.

Bitkilerin antioksidan aktivitelerinden fenoliklerin (fenolik asit ve flavonoidler) sorumlu olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [76]. Bu nedenle ekstrelerdeki toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Bitkisel çayların hastalıkları önleme ve tedavi etmedeki rolleri vitamin C, vitamin A ve E ve fenolik bileşikler olarak adlandırılan çok sayıdaki amfipatik molekülleri gibi antioksidan özelliğe sahip bileşikleri içermelerine bağlanmaktadır. Fenoliklerin antioksidan aktiviteleri, metal şelatör, singlet oksijen süpürücü, hidrojen verici ve indirgeyici ajan gibi hareket etmelerini sağlayan redoks özelliklerinden kaynaklanmaktadır [15].

Ekstrelerin antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Test edilen bitkilerin hepsi önemli miktarda antioksidan aktiviteye sahiptir. Her bitki ekstresinde konsantrasyon arttıkça antioksidan aktivite artmaktadır.

2 mg/ml konsantrasyonda, %93.61 inhibisyon ile *R. officinalis* metanollü ekstresi en yüksek antioksidan aktiviteye sahipken, %13.65 inhibisyon ile *N. sativa* metanollü ekstresi en düşük antioksidan aktiviteye sahiptir. Aynı konsantrasyonda, *M. officinalis, R. officinalis, L. nobilis, S. officinalis* ve *Tilia vulgaris*'in antioksidan aktivitesi standart BHT'nin antioksidan aktivitesinden (%92.15) daha yüksektir.

2 mg/ml konsantrasyonda, % 92.91 inhibisyon ile *R. officinalis* infüzyonu en yüksek antioksidan aktiviteye sahipken, %20.21 inhibisyon ile *P. crispum* infüzyonu en düşük antioksidan aktiviteye sahiptir. Aynı konsantrasyonda, *M. officinalis, R. officinalis* ve *S. officinalis*'in antioksidan aktivitesi BHT'nin antioksidan aktivitesinden (%92.15) daha yüksektir. *N. sativa* infüzyonunun test edilen konsantrasyonlarda antioksidan aktivitesi belirlenememiştir.

Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde çok farklı yöntemler kullanılmaktadır. Hidrojen radikal süpürücü etkinin antioksidan aktivitenin belirlenmesinde önemli bir mekanizma olduğu bilinmektedir. DPPH serbest radikal bileşiktir ve serbest radikal süpürücü aktivitenin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [9].

Çay ve bitkisel infüzyonlar besinlerimizdeki antioksidan özellikteki fenolik bileşiklerin önemli kaynaklarını oluşturmaktadır. Fakat araştırmalar genellikle siyah ve yeşil çay üzerine yoğunlaşmıştır. Son zamanlarda, diğer bitkisel ekstreler de antioksidan özellikleri bakımından dikkat çekmektedir. Geleneksel bitki ekstrelerinin birçoğu genellikle Lamiaceae familyasına ait bitkilerden hazırlanmaktadır [21]. Aynı zamanda, aromatik bitkilerden organik çözücülerle elde edilen ekstreler ve uçucu yağların lipit substratlardaki antioksidan aktiviteleri yaygın olarak çalışılmıştır. Ancak dekokşın ve infüzyon şeklinde kullanılan bitkilerden elde edilen olar ekstrelerdeki antioksidanların varlığı ile ilgili çok az bilgi bulunmaktadır [14]. Bu nedenle, bu çalışmada Türkiye'de çay ve baharat olarak kullanılan on beş bitkiden elde edilen infüzyon ve dekokşının antioksidan aktivitesi belirlenmiştir.

Nanenin önemli derecede antimikrobiyal ve antiviral aktiviteye sahip olduğu, güçlü antioksidan ve antitümör etki gösterdiği ve bazı antiallerjenik potansiyele sahip olduğu McKay ve Blumberg [77] tarafından belirtilmiştir. Bu araştırmacılar, daha önceki çalışmalarında nane yapraklarında bulunan fenolik bileşiklerin rosmarinik asit, eriositrin, luteolin ve hesperidin gibi flavonoidler içerdiğini belirtmişlerdir. Nane ve oğul otunun yüksek miktarda toplam fenolik madde içerdiği ve DPPH radikal süpürücü etkiye sahip olduğu belirtilmiştir [78]. Fesleğen ve oğul otundan elde edilen infüzyonun toplam fenolik madde miktarı 1.10 ve 1.04 mmoL trolox /g olarak belirlenmiştir [16].

Katalinic ve ark. [22] oğul otu, kekik, nane ve ada çayından elde ettiği infüzyonların toplam fenolik madde miktarlarını kateşin eşiti olarak belirlemiş ve DPPH radikal süpürücü etkiye sahip olduklarını belirlemişlerdir. Kekikten elde edilen infüzyonun toplam fenolik madde miktarı (200 mg/L GAE) ve DPPH radikal süpürücü aktivitesi (IC_{50} = 0.30 g/L) Kulišić, Dragović-Uzelac ve Miloš [61] tarafından belirlenmiştir. Hinneburg ve ark. [76]'nın fesleğenden elde ettiği hidrodistile ekstrenin DPPH radikal süpürücü aktivitesinin bizim çalışmamızda elde edilenden daha düşük olduğu fakat

bizim çalışmamızdaki fesleğenden elde edilen dekokşından daha yüksek fenolik madde içerdiği belirlenmiştir.

Atoui ve ark. [7] tarafından nane infüzyonu (106 mg GAE /240 mL) ve ada çayı infüzyonu (124 mg GAE/240 mL) için kaydedilen toplam fenolik madde miktarı bizim çalışmamızda belirtilen değerlerden daha yüksektir. Oğul otundan elde edilen infüzyon yüksek fenolik içeriği ile ABTS (2,2 –azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonik asit)) radikal dekolorizasyon yönteminde antioksidan aktivite göstermiştir [15].

Mencherini, Picerno, Scesa ve Aquino [79] oğul otu etanollü ekstresinin ve oğul otunun önemli bir bileşenini oluşturan rosmarinik asitin serbest radikal süpürücü ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Daha önceki bir çalışmada anoson tohumlarının su ve etanol ile elde edilen ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 30.0 ve 77.5 mg GAE/g ekstre olarak belirlenmiştir [80]. Rezenenin infüzyon, dekokşın ve metanollü ekstresindeki toplam fenolik madde miktarları Oktay ve ark. [59] tarafından belirlenen değerlerden (su ve etanol ekstreleri için sırasıyla, 21.25 ve 90 mg GAE/g) daha düşüktür. Aynı zamanda, bu değerler Mata ve ark. [81] tarafından belirtilen değerlerden de düşüktür. Mata ve ark. [81], rezenenin etanollü ve sulu ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarlarını sırasıyla 63.1 ve 63.8 mg olarak belirlemişlerdir.

Fesleğenden elde edilen metanollü ekstrenin DPPH radikal süpürücü aktivitesi Jayasinghe, Gotoh, Aoki ve Wada [82] tarafından belirlenmiştir. Aoshima, Hirata, ve Ayabe [8] tarafından gerçekleştirilen önceki çalışmada ada çayı, biberiye, kekik ve naneden elde edilen infüzyonların toplam polifenolik içerikleri (1.81, 2.29, 2.08 ve 2.63 mM GAE, sırasıyla) ve DPPH radikal süpürücü aktiviteleri kaydedilmiştir. Fakat bu araştırmacılar %50 (v/v) etanol ile iki yüz kat sulandırılmış bitki çayı ekstrelerini kullanmışlardır. Biberiye, kekik, nane ve fesleğenden elde edilen infüzyonların DPPH radikal süpürücü aktivitesi du Toit, Volsteedt ve Apostolides [58] tarafından kaydedilen değerlerden önemli derecede daha yüksek bulunmuştur. Bu aratırmacıların çalışmasında infüzyonların IC_{50} değerleri sırasıyla 300, 900, 1200 ve 1300 µg/ mL olarak bulunmuştur.

Shyu ve ark. [83], dere otundan elde ettikleri etanollü ekstrelerinin n-hegzan, etil asetat ve etanollü fraksiyonlarını hazırlamış ve bunların DPPH radikal süpürücü aktivitelerinin sırasıyla etil asetat > etanol fraksiyon > çiçek ekstresi > n-hegzan fraksiyonu şeklinde olduğunu kaydetmişlerdir.

Anoson tohumlarının sulu ve etanollü ekstrelerini antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri Gülçin ve ark. [80] tarafından belirlenmiştir. Rezene tohumlarından elde edilen sulu ve etanollü ekstrelerin antioksidan aktiviteleri DPPH radikal süpürücü yöntem kullanılarak kaydedilmiştir [59]. Sulu ve etanollü ekstreler için kaydedilen değerler (0.25 mg dozda sırasıyla, %47.49 ve % 36.46) bizim çalışmamızda rezene infüzyoni dekokşın ve metanollü ekstresi için kaydettiğimiz değerlerden önemli derecede yüksektir.

Aynı zamanda rezene uçucu yağ ve aseton ekstresinin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu kaydedilmiştir [84]. Mata ve ark. [81] rezenenin serbest radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğunu belirlemiş ve rezenenin etanollü ekstresinin (IC_{50} = 12.0 ± 0.1 µg/mL) sulu ekstresinden (IC_{50} = 31.6 ±0.8 µg/mL) daha fazla aktif olduğunu kaydetmişlerdir. Atoui ve ark. [7], ıhlamur infüzyonunun toplam fenolik madde miktarını ve IC_{50} değerini sırasıyla 184 ± 1.72 mg GAE/bardak ve 0.35 mg/mg DPPH olarak kaydetmişlerdir.

Bitkilerden elde edilen ekstre, infüzyon, dekokşın ve hidrosollerinin 10 farklı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılan saf metanolün mikroorganizmalara karşı etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir. Çalışılan tüm ekstrelerde konsantrasyon azaldıkça antimikrobiyal etkinin azaldığı belirlenmiştir. Çalışılan mikroorganizmalar arasında en hassas olan *B. cereus*'tur. *O. basilicum*'dan elde edilen ekstrelerin aynı konsantrasyonlarda test mikroorganizmalarının hiçbirinde etkili olmadığı belirlenmiştir. *Y. enterocolitica* üzerine sadece *T. vulgaris*'den elde edilen hidrosol etkili olmuştur. Elde edilen ekstrelerin hiçbirinin test edilen konsantrasyonlarda *E. coli, C. albicans* ve *S. cerevisiae*'ya karşı etkili olmadığı gözlenmiştir. Antimikrobiyal analiz sonuçlarından, metanollü ekstrelerin infüzyon, dekokşın ve hidrosollere göre daha etkili olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda ekstre, infüzyon, dekokşın ve hidrosollerinin antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirilmesinde pozitif kontrol olarak 12 adet antibiyotik disk [Ampicillin (AMP-10), Amoxycillin (AML-25), Carbenicillin (CAR-100), Chloramphenicol (C-30), Erytromycin (E-15), Gentamisin (CN-10), Kanamycin (K-30), Oxacillin (OX-5), Rifambisin (RD-5), Streptomycin (S-10), Tetracyclin (TE-30) ve Vancomisin (VA-30)] kullanılmıştır.

Adıgüzel ve ark. [64], *O. basilicum*'dan elde ettiği etanol, metanol ve hegzan ekstrelerinin antimikrobiyal özelliğini 55 bakteri, 4 fungus ve mayadan oluşan toplam 146 mikroorganizmaya karşı disk difüzyon yöntemi ile belirlemişler, ekstrelerin hiçbirinin antifungal aktiviteye sahip olmadığını, ancak antibakteriyel ve antikandidal aktiviteye sahip olduğunu, hegzan ekstresinin diğerlerine göre daha güçlü ve geniş oranda antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bizim sonuçlarımıza benzer olarak *O. basilicum* metanollü ekstresinin *B. cereus* ve *B. subtilis*, *K. pneumonieae*, *P. vulgaris* ve *P. aeruginosa*'ya karşı etkisiz olduğunu belirtmiştir. *E. coli* (11-12 mm), *S. aureus* (9 mm) ve *C. albicans* (9-11 mm)'a karşı etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise fesleğen metanollü ekstresinin *S. aureus* ve *C. albicans*'a karşı etkili olmadığı belirlenmiştir.

Naneden elde edilen uçucu yağın *E. coli*, *S. aureus* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu kaydedilmiştir [85]. Önceki çalışmada nane yapraklarından su ve organik çözücülerle elde edilen ekstrelerin *B. subtilis, P. aureus, P. aerogenosa, Serratia marcesens* and *Streptococcus aureus*'a karşı güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur [86]. Bizim sonuçlarımız bu çalışmanın sonuçlarına uymamaktadır. Fakat bizim sonuçlarımıza benzer olarak Gulluce ve ark. [87] nane metanollü ekstresinin *B. subtilis*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans'*ı içeren 30 farklı mikroorganizmaya karşı inaktif olduğunu belirtmiştir. Bu farklılıklar, genotipik varyasyon, iklim koşulları, kullanılan bakteri suşlarının farklılığı, antimikrobiyal aktivite yöntemlerin farklılığı ve ekstre konsantrasyonlarının farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

Biberiyenin antimikrobiyal aktivitesi için benzer sonuçlar Celiktas, Kocabas, Bedir, Sukan, Ozek, ve Baser [88], tarafından bulunmuştur. Bu araştırmacılar çalışmalarında biberiye metanollü ekstresinin *S. aureus*'a karşı düşük antimikrobiyal aktivite

gösterdiğini, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Enterococcus fecalis*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *B. subtilis* ve *C. albicans*'a karşı etkili olmadığını belirtmişlerdir.

Bir diğer çalışmada, biberiye kestresinde bulunan başlıca biyoaktif antimikrobiyal bileşikler karsonik asit ve rosmarinik asit olarak belirlenmiştir ve biberiye metanollü ekstresinin Gram (+), Gram (-) bakteri ve mayalara karşı etkili iken sulu ekstresinin daha dar aralıkta aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir [89]. Oskay ve Sarı [19], biberiye etanollü ekstresinin Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Gülçin ve ark. [80], anoson tohumlarından elde ettiği sulu ve etanollü ekstrelerin dokuz farklı bakteri ve bir küf türüne karşı antimikrobiyal aktivitesini çalışmış ve sulu ekstrenin *P. aeruginosa* ve *E. coli*'ye karşı aktiviteye sahip olmadığını kaydetmişlerdir.

Anoson tohumlarının antibakteiyel aktivitesi Al-Bayati [90] tarafından çalışılmış ve anoson uçucu yağ ve metanollü ekstresinin birçok patojene karşı özellikle *S. aureus*, *B. cereus* ve *P. vulgaris*'e karşı önemli derecede antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu kaydedilmiştir.

Bitki ve baharatlardan organik çözücülerle elde edilen ekstrelerin ve uçucu yağların antimikrobiyal potansiyellerinin belirlenmesi için çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir [14]. Ancak bizim çalışmamızda test edilen ve Türkiye'de halk arasında çeşitli amaçlarla kullanılan bitkilerden elde edilen infüzyon ve dekokşınlarının antibakteriyel aktivitesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada Türkiye'de çay ve baharat olarak tüketilen on beş farklı bitki türünden elde edilen metanollü ekstre, infüzyon ve dekokşınlarının toplam fenolik madde miktarları, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Yapılan anazlizlerde test edilen bitkilerin yüksek fenolik içerikleri ile antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları kaydedilmiştir. Sonuçlar, bitki örneklerinden DPPH radikal süpürücü ve antioksidatif özellikteki bileşnelerin ekstraksiyonu içn metanol ile ekstraksiyonun infüzyon ve dekokşından daha etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca, bu çalışma sonuçlarının fonksiyonel gıda katkı maddesi olarak doğal antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin kullanılmasına yönelik son zamanlarda

artan çalışmalara katkı sağlayacağına inanılmaktadır. Çalışmamızda test edilen bitki türleri sahip oldukları biyoaktif bileşenlerden dolayı ham ve işlenmiş besin korunması, eczacılık, alternatif tıp ve doğal terapi gibi bir çok alanda kullanılabilir. Ayrıca bu analizden sonra antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye neden olduğu düşünülen bileşiğin izolasyonu ve teşhisi gerçekleştirildikten sonra etki mekanizmaları ile ilgili *in vivo* çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. Benli, M., Bingol, U., Geven F., Guney, K., Yigit, N., An Investigation on the antimicrobial activity of some endemic plant species from Turkey, African Journal of Biotechnology, 7(1), 001-005, 2008.
2. Ateş, D.A., Erdogrul, Ö.T., Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts, Turk J Biol, 27, 157-162, 2003.
3. Sagdic, O., Aksoy, A., Ozkan, G., Ekici, L., Albayrak, S., Biological activities of the extracts of two endemic *Sideritis* species in Turkey, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9, 80–84, 2008.
4. Albayrak, S., Sagdic, O., Aksoy, A., Hamzaoglu, H., Antimicrobial and antioxidant activities of *Helichrysum* species from the mediterranean region of Turkey, Asian Journal of Chemistry, 20(4), 3143-3152, 2008.
5. Baytop, T., Therapy with Medicinal Plants in Turkey; Today and in Future, Istanbul, Istanbul University Press, pp. 166–167, 1999.
6. Moskovitz, J., Yim, M.B., Chock, P.B., Free radicals and disease, Archives of Biochemistry and Biophysics, 397, 354–359, 2002.
7. Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P., Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile, Food Chemistry, 89, 27–36, 2005.
8. Aoshima, H., Hirata, S., Ayabe, S., Antioxidative and anti-hydrogen peroxide activities of various herbal teas, Food Chemistry, 103, 617–622, 2007.
9. Chen, H.Y., Lin, Y.C., Hsieh, C.L., Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs, Food Chemistry, 104, 1418–1424, 2007.
10. Campanella, L., Bonanni, A., Tomassetti, M., Determination of the antioxidant capacity of samples of different types of tea, or of beverages based on tea or other herbal products, using a superoxide dismutase biosensor, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 32 725-736, 2003.
11. Di Matteo, V., Esposito, E., Biochemical and therapeutic effects of the antioxidants in the treatment of Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis, Current Drug Targets CNS Neurological Disorder, 2, 95–107, 2003.

12. Almajano, M.P., Carbo, R., Jiménez, J.A.L., Gordon, M.H., Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions, Food Chemistry, 108, 55–63, 2008.
13. Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D., Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products, J Agric Food Chem., 46, 4113–4117, 1998.
14. Triantaphyllou, K., Blekas, G., Boskou, D., Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 52, 313–317, 2001.
15. Ivanova, D., Gerova, D., Chervenkov, T., Yankova, T., Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants, Journal of Ethnopharmacology, 96, 145-150, 2005.
16. Apak, R., Güçlü; K., Özyürek, M., Karademir, S.E., Erçağ, E., The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 57(5/6), 292-304, 2006.
17. Duha, P.D., Yed, G.C., Antioxidative activity of three herbal water extracts, Food Chemistry, 60 (4), 639-645, 1997.
18. Unal, E.L., Mavi, A., Kara, A.A., Cakir, A., Şengül, M., Yildirim, A., Antimicrobial and antioxidant activities of some plants used as remedies in Turkish traditional medicine, Pharmaceutical Biology, 46(3), 207–224, 2008.
19. Oskay, M. Sarı, D., Antimicrobial screening of some Turkish medicinal plants, Pharmaceutical Biology, 45(3), 176–181, 2007.
20. Ozturk, S., Ercilsi, S., Broad-spectrum antibacterial properties of *Thymus fallax*, Pharm Biol, 43, 609–613, 2005.
21. Dimitrios, B., Sources of natural phenolic antioxidants, Trends in Food Science & Technology,17, 505–512, 2006.
22. Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M., Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols, Food Chemistry, 94, 550–557, 2006.
23. Clardy, J., Walsh, C., Lessons from natural molecules, Nature, 432, 829–837, 2004.
24. Cox, P.A., The ethnobotanical approach to drug discovery: strengths and limitations, In: G.T. Prance, (Ed.), Ethnobotany and the Search for New Drugs, Ciba Foundation Symposium 185, Wiley, Chichester, pp. 25–41, 1994.

25. Baytop, T., Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi: Geçmişte ve Bugün, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1999.
26. Aksoy, A., Kayseri ve Çevresinde Halk Tarafından Kullanılan Bitkilerin Yöresel Adları ve Kullanım Amaçları, Erciyes Üniversitesi Araştırma Projesi, EUBAP 00-052-4 Kayseri, 2002.
27. Stone, W.L., Papas, A.M., Tocopherols and the etiology of colon cancer. Journal of the Natural Cancer Institute, 89, 1006-1014, 1997.
28. Özgen, U., Terzi, Z., Çoşkun, M., Halk ilacı olarak kullanılan bazı türlerde lipit peroksidasyonunu inhibe edici etkinin araştırılması, 14. Bitkisel Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir, 139-143, 29-31 Mayıs 2002.
29. Schoneich, C., Reactive oxygen species and biological aging: a mechanistic approach, Experimental Gerontology, 34 (1), 19-34, 1999.
30. Aruoma, O.I., Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease, Journal of the American Oil Chemists Society, 75(2), 199–212, 1998.
31. Potterat, O., Antioxidants and free radical scavengers of natural origin, Current Organic Chemistry, 1, 415–440, 1997.
32. Adams, J.D., Odunze, I.N., Oxygen free radicals and Parkinson disease, Free Radical Biology and Medicine, 10, 161–169, 1991.
33. Perry, G., Raina, A.K., Nonomura, A., Wataya, T., Sayre, L.M.,Smith, M.A., How important is oxidative damage, lessons from alzheimer's disease, Free Radical Biology and Medicine, 28, 831–834, 2000.
34. Ashok, B.T., Ali, R., The aging paradox: Free radical theory of aging, Experimental Gerontology, 34, 293–303, 1999.
35. Cerruti, P. A., Oxy-radicals and cancer, Lancet, 344, 862–863, 1994.
36. De Groot, H., Noll, T., The role of physiological oxygen partial pressures in lipid peroxidation, theorical considerations and experimental evidence, Chemistry and Physics of Lipids, 44, 226-290, 1987.
37. Kappus, H., Oxidative stress in chemical toxicity, Archives of Toxicology, 60 (1-3), 144-149, 1987.
38. Barlow, S.M., Toxicological aspects of antioxidants used as food additives, In: Food Antioxidants, B.J.F. Hudson (ed.), Elsevier, London (UK), pp. 253-307, 1990.

39. Özkan, G., Sağdıç, O., Özcan, M., Inhibition on pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations, Food Science and Tecnology International, 9 (2), 85-88, 2003.
40. Lahiri-Chatterjee, M., Katiyar, S. K., Mohan R.R., Agarwal R., A flavonoid antioxidant, silymarin, affords exceptionally high protection against tumor promotion in the SENCAR mouse skin tumorgenesis model, Cancer Research, 59, 622–632, 1999.
41. Serteser, A., Gök, V., Doğal Antioksidanların Biyoyararlılığı, 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara, 83-98, 2-4 Ekim, 2003.
42. Rao, G., Berk, B.C., Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogene expression, Circulation Research, 70 (3), 593-599, 1992.
43. Altıniğne, N., Beslenmede serbest radikaller ve antioksidanların etki mekanizmaları, Türkiye 7. Gıda Kongresi, Ankara, 646, 22-24 Mayıs, 2002.
44. Nizamuddin, A., NADPH-dependent and O_2-dependent lipid peroxidation, Biochemical Education, 15 (2), 58–62, 1987.
45. Peter, A.M., Yağda çözünen Vitaminlerin Yapı ve Fonksiyonu, In: Murray R.K., Darly K.G., Peter, A.M., Victor, W.R., (ed.), Harper'in Biyokimyası, Barış Kitabevi, İstanbul, s. 704-714, 1993.
46. Larson, R.A., The antioxidant of higher plants, Phytochem., 27 (4), 969-978, 1988.
47. Hagymási, K., Blázovics, A., Fehér, J., Lugasi, A., Kristó, Sz. T. Kéry Á. The in vitro effect of dandelions antioxidants on microsomal lipid peroxidation, Phytotherapy Research, 13, 1–2, 1999.
48. Fejes, S., Blázovics, A., Lugasi, A., Lemberkovics, E., Petri, G., Kéry, A., In vitro antioxidant activity of *Anthriscus cerefolium* L. (Hoffm.) extracts, Journal of Ethnopharmacology, 69, 259–265, 2000.
49. Acar, P.M., Gıdalarda Doğal Olarak Bulunan Lezzet Bileşenleri, ''Gıda Kimyası'', İ. Saldamlı (ed.), Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Bölüm 9, s. 435-452, 1998.
50. Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A., Özkan, M., Antosiyaninler, Meyve ve Sebzelerin Bileşimi Soğukta Depolanmaları, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Yayın No: 24, Ankara, s. 95, 2001.

51. Gorinstein, S., Caspi, A., Zemser, M., Trakhtenberg, S., Comparative contents of some phenolics in beer, red and white wines, Nutrition Research, 20(1), 131–139, 2000.

52. Yokozawa, T., Dong, E., Liu, Z.W., Shimizu, M., Antioxidative activity of flavones and flavonols in vitro, Phytotherapy Research, 11, 446–449, 1997.

53. Saint-Cricq de Gaulejac, N., Provost, C., Vivas, N., Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 425–431, 1999.

54. Ivancheva, S., Stantcheva, B., Ethnobotanical inventory of medicinal plants in Bulgaria, Journal of Ethnopharmacology, 69, 165–172, 2000.

55. Başgel, S., Erdemoğlu, S.B., Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey, Science of the Total Environment, 359, 82– 89, 2006.

56. Öztürk, N., Tunalıer, Z., Koşar, M., Başer, K.H.C., *Petroselinum crispum*, *Anethum graveolens* ve *Eruca sativa*'nın Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir, 376-384, 2002.

57. Özbek, H., Bahadır, Ö., Kaplanoğlu, V., Öntürk, H., Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) uçucu yağının antienflamatuvar aktivitesinin araştırılması, Genel Tıp Derg., 17(4), 201-204, 2007.

58. Du Toit, R., Volsteedt, Y., Apostolides, Z., Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents, Toxicology , 66, 63-69, 2001.

59. Oktay, M., Gulcin, I., Kufrevioglu, O.I., Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts, Lebensm-Wiss Technol., 36, 263-271, 2003.

60. Karakaya, S., El, S.N., Total phenols and antioxidant activities of some herbal teas and *in vitro* bioavailability of black tea polyphenols, GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 23 (1), 1-8, 2006.

61. Kulišić, T., Dragović-Uzelac, V., & Miloš, M., Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from oregano, Thyme and Wild Thyme. Food Technol. Biotechnol., 44 (4), 485–492, 2006.

62. Yanishlieva, N.V., Marinova, E., Pokorny, J., Natural antioxidants from herbs and spices, Eur. J. Lipid Sci. Technol., 108, 776–793, 2006.

63. Trouillas, P., Calliste, C.A., Allais, D.P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C., Duroux, J.L., Antioxidant, antiinflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal tea, Food Chem., 80, 399-407, 2003.

64. Adıgüzel, A., Güllüce, M., Şengül, M., Öğütcü, H., Şahin, F., Karaman, İ., Antimicrobial effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae) extract, Turk J Biol., 29, 155-160, 2005.

65. Sağdıç, O., Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols, Lebensm.-Wissu.-Technol., 36, 467–473, 2003.

66. Sağdıç, O., Özcan, M., Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols, Food Control, 14, 141–143, 2003.

67. Özcan, M., Boyraz, N., Antifungal properties of some herb decoctions, Eur Food Technol., 212, 86-88, 2000.

68. Boyraz, N., Özcan, M., Antifungal effect of some spice hydrosols, Fitoterapia, 76, 661-665, 2005.

69. Stege, P.W., Davicino, R.C., Vega, A.E., Casali, Y.A., Correa, S., Micalizzi, B., Antimicrobial activity of aqueous extracts of *Larrea divaicata* Cav (jarilla) against *Helicobacter pylori*, Phytomedicine, 13, 724-727, 2006.

70. Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M., Özçelik, S., Effect of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of Escherichia coliO157:H7, Food Microbiology 19, 473-480, 2002.

71. Sağdıç, O., Karahan, A.G., Özcan, M., Özkan, G., Effect of some spice extracts on bacterial inhibition, Food Science and Technology International, 9(5), 353-356, 2003.

72. Singleton, V.L., Rossi, J.R., Colorimetry of total phenolics with Phosphomolibdic phosphothungstic acid, American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144-158, 1965.

73. Lee, S.K., Mbwambo, Z.H., Chung, H.S., Luyengi, L., Games, E.J.C., Mehta, R.G., Kinghorn, A.D., Pezzuto, J.M., Evaluation of the antioxidant potential of natural products, Combinatorial High Throughput Screening, 1, 35-46, 1998.

74. Unal, E.L., Mavi, A., Kara, A.A., Cakir, A., Şengül, M., Yildirim, A., Antimicrobial and antioxidant activities of some plants used as remedies in Turkish traditional medicine, Pharmaceutical Biology, 46(3), 207–224, 2008.

75. SPSS; SPSS Version 10.0., SPSS Inc, 233 S. Wacker Drive, Chcago, Illinois, 2001.

76. Hinneburg, I., Dorman, H. J. D., Hiltunen, R., Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices, Food Chemistry, 97, 122–129, 2006.

77. McKay, D.L., Blumberg, J.B., A Review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.), Phytotherapy Research, 20, 619-633, 2006.

78. Capecka, E., Mareczek, A., Leja, M., Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species, Food Chemistry, 93, 223–226, 2005.

79. Mencherini, T., Picerno, P., Scesa, C., Aquino, R., Triterpene, antioxidant, and antimicrobial compounds from *Melissa officinalis*, Journal of Natural Products, 70, 1889–1894, 2007.

80. Gülçin, I., Oktay, M., Kireçci, E., Küfrevioglu, O.I., Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts, Food Chemistry 83, 371–382, 2003.

81. Mata A.T., Proença C., Ferreira A.R., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Araújo M.E.M., Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices, Food Chemistry 103, 778–786, 2007.

82. Jayasinghe, C., Gotoh, N., Aoki, T., Wada, S., Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum* basilicum L.), Journal of Agriculture and Food Chemistry, 51, 4442-4449, 2003.

83. Shyu Y.S., Lin J.T., Chang Y.T., Chiang C.J., Yang D.J., Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower, Food Chemistry 115, 515–521, 2009.

84. Singh G., Maurya S., de Lampasona M.P., Catalan C., Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract, Food Control 17, 745–752, 2006.

85. Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., Rasooli, I., Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils, Phytochemistry, 67, 1249–1255, 2006.

86. Bupesh, G., Amutha, C., Nandagopal, S., Ganeshkumar, A., Sureshkumar P., Murali K. S., Antibacterial activity of *Mentha piperita* L. (peppermint) from leaf extracts – a medicinal plant, Acta Agriculturae Slovenica, 89*(1*), 73-79, 2007.

87. Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adiguzel, A., Ozkan, H., Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. Food Chemistry, 103, 1449–1456, 2007.

88. Celiktas, O. Y., Kocabas, E. E. H., Bedir, E., Sukan, F. V., Ozek, T., Baser K. H. C., Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations, Food Chemistry, 100, 553–559, 2007.

89. Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C. S., Vojnov, A.A., Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition, Free Radical Research, 40(2), 223–231, 2006.

90. Al-Bayati, F.A., Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts, Journal of Ethnopharmacology, 116, 403–406, 2008.

EK

Proje kapsamında iki adet yayın hazırlanmış. Bunlardan "ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF DİFFERENT EXTRACTS OF SOME MEDICINAL HERBS CONSUMED AS TEA AND SPICES IN TURKEY" başlıklı yayın "Journal of Food Biochemistry" adlı dergide yayına kabul edilmiştir. Yayının bir kopyası aşağıda verilmiştir. Ayrıca "*IN VITRO* ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME LAMIACEAE SPECIES" başlıklı bir yayın hazırlanmış ve "Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A" adlı dergiye sunulmuştur. Çalışma değerlendirme aşamasındadır.

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF DİFFERENT EXTRACTS OF SOME MEDICINAL HERBS CONSUMED AS TEA AND SPICES IN TURKEY

SEVIL ALBAYRAK[1], AHMET AKSOY[1], OSMAN SAGDIC[2], SONGUL ALBAYRAK[3*]

[1] *Department of Biology, Science Faculty, Erciyes University, 38039 Kayseri-Turkey*

[2] *Department of Food Engineering, Engineering Faculty, Erciyes University, 38039 Kayseri-Turkey*

[3] *Ulubey Vocational College, Ordu University, 52850 Ordu-Turkey*

Running title: Bioactivities of some medicinal herbs consumed in Turkey

ABSTRACT

Methanol extracts, infusions and decoctions of eight plants were investigated for their antioxidant activity using phosphomolybdenum and DPPH assays: *Cassia angustifolia* (Senna tea), *Foeniculum vulgare* (Fennel), *Pimpinella anisum* (Anise), *Laurus nobilis* (Laurel), *Tilia vulgaris* (Linden tea), *Urtica dioica* (Nettle), *Petroselinum crispum* (Parsley) and *Anethum graveolens* (Dill). The results showed that the highest antioxidant activity was found in methanol extract of linden. Linden methanol extract also contained the highest amount of phenolic compound. The antimicrobial activities of methanol extracts, infusions, decoctions and hydrosols were tested against eight bacteria and two yeasts using the agar diffusion method. Correlations between the phenolic content of each plant and the antioxidant activity were observed.

Keywords: Antioxidant activity, Antimicrobial activity, DPPH, phenolics

[*]Corresponding author: Songül Albayrak, Tel: +90 452 8612005, Fax: +90 452 8612010,
E-mail: songulalbayrak@odu.edu.tr

PRACTICAL APPLICATIONS

Senna, fennel, anise, laurel, linden, nettle, parsley and dill are mostly consumed as tea and spices. Also, they are widely used as remedy against various diseases in Turkish traditional medicine. Tea, herbal infusions and plants are the major source of phenolic compounds in our diet. It is known that phenolic compounds have many biological activities such as antioxidant, free radical scavenging and antimicrobial activity. Observed activities contribute to the recent increase in research on using natural products in many areas such as food, pharmacy, alternative medicine and natural therapy.

INTRODUCTION

In recent years, indiscriminate use of commercial antimicrobial drugs commonly used in the treatment of infectious diseases has caused the pathogenic microorganisms to indicate multiple-drug resistance (Unal *et al*. 2008). Therefore, research into biologically active compounds from natural sources including plants has been of great interest to scientists (Ozturk and Ercisli 2005). Various medical plants have been used for years in daily life to treat disease all over the world (Ateş and Erdogrul 2003). Turkish native herbs from both natural and cultivated sources are being more widely used on a commercial scale in the food industry, in traditional medicine, and for their flavoring properties (Unal *et al*. 2008).

Free radicals and other reactive oxygen species such as superoxide anion, hydroxyl radical and hydrogen peroxide are an entire class of highly reactive molecules derived from the normal metabolism of oxygen (Wang *et al*. 2007). These molecules have been linked to many degenerative diseases such as cancer, cardiovascular disease, cataracts, immune system decline, and brain dysfunction (Atoui *et al*. 2005). Current research into free radicals has confirmed that foods rich in antioxidants play an essential role in the prevention of

cardiovascular diseases, cancers and neurodegenerative diseases (Chen *et al*. 2007). Antioxidant compounds in foods are very important because of their ability to reduce free radical mediated degradation of cells and tissues in an organism. Vegetables, legumes and whole grain cereals are good sources of antioxidants. Herbal infusions are also important sources (Almajano *et al*. 2008). Tea and herbal infusions contribute to the major source of phenolic compounds in our diet (Atoui *et al*. 2005). Many scientific studies on antioxidant and antimicrobial activities of various plants have been performed but emphasis has been given to essential oils or to hexane, acetone, ethanol, methanol and carbon dioxide extracts (Triantaphyllou *et al*. 2001). The current focus is directed toward to investigate the antioxidant properties of herbal infusions especially those traditionally used in folk medicine (Katalinic *et al*. 2006).

The objective of this study was to investigate the antioxidant and antimicrobial potencies of *Cassia angustifolia* (Senna tea), *Foeniculum vulgare* (Fennel), *Pimpinella anisum* (Anise), *Laurus nobilis* (Laurel), *Tilia vulgaris* (Linden tea), *Urtica dioica* (Nettle), *Petroselinum crispum* (Parsley) and *Anethum graveolens* (Dill) which are currently used in Turkish folk medicine.

MATERIAL AND METHODS

Chemicals

Folin-Ciocalteu reagent, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), sodium carbonate, gallic acid, ascorbic acid, nutrient agar, nutrient broth, malt extract agar and malt extract broth were purchased from Merck. The other chemicals and solvents used in this experiment were of analytical grade, purchased from Merck.

Preparation of herbal extracts

Plants were purchased from local markets at Kayseri, Turkey, as dried material. They were identified botanically by Prof. Dr. Ahmet Aksoy, Biology Department of Erciyes University, Kayseri. Plants used in this study are *C. angustifolia* (Sena tea), *F. vulgare* (Fennel), *P. anisum* (Anise), *L. nobilis* (Laurel), *T. vulgaris* (Linden tea), *U. dioica* (Netle), *P. crispum* (Parsley) and *A. graveolens* (Dill).

Preparation of methanol extracts

The plants were ground to obtain a fine powder using a grinder. Then the powdered plant material (10 g) was extracted using a Soxhlet type extractor with 100 mL methanol (MeOH) at 60 ^{o}C for 6 h. Thereafter, the extract was filtered and evaporated (Rotavator, Buchi, Switzerland) to dryness under vacuum at 40 ^{o}C with a rotary evaporator. After the yield was determined, the extract was stored at 4 ^{o}C until use (Albayrak *et al*. 2010).

Preparation of infusions

The procedure adopted was as follows: 100 mL of boiling water was added to 5 g powdered plant material. Infusion was left to stay at room temperature without additional heating for 5 min.. Supernatants were then filtered with Whatman No. 1 paper. Infusions were stored at 4 ^{o}C until use (Katalinic *et al*. 2006).

Preparation of hydrosols

Hydrosols of the plants were produced by the Clevenger hydrodistillation method. Plant materials (10 g), cut into small pieces, were placed in a flask with 100 mL of double distilled water and hydrodistilled for 1 h. After hydrodistillation, the oil was collected in cooling vapour to separate the essential oil of the plant. The mixture without essential oil in the flask

was identified as hydrosol. The hydrosol was then filtered and preserved in sterile dark bottles at 4 ^{o}C until use (Sağdıç 2003).

Preparation of decoctions

Plant materials (10 g), cut into small pieces, were boiled in water (100 mL) by using an apparatus to re-cool for 1 h and were filtered. This mixture is called a decoction. The decoction was then cooled and stored at 4 ^{o}C until use (Özcan and Boyraz 2000).

Determination of total phenolics in the plant extracts

The total phenolic contents in the plant extracts were estimated by a colorimetric assay based on procedures described by Singleton and Rossi (1965). Briefly, a 40 µL aliquot of plant extract dissolved in the same solvent was pipetted into a test tube containing 2.4 mL of distilled water. After mixing the contents, 200 µL of the Folin and Ciocalteu's phenol reagent, 600 µL of a saturated sodium carbonate solution and 760 µL of distilled water were added. The contents were vortexed for 15 s and then left to stand at room temperature for 2 h. Absorbance measurements were recorded at 765 nm using a spectrophotometer (Shimadzu, UV–Vis Spectrophotometer, Model 1240) and gallic acid was used to construct the standard curve. The analysis was carried out in triplicate. The results are mean values and expressed as mg of gallic acid equivalents/g extract.

Determination of total antioxidant capacity by the phosphomolybdenum method

The antioxidant activity of the plant extracts was evaluated by the phosphomolybdenum method of Prieto *et al*. (1999). An aliquot of 0.4 mL of sample solution (1 mg/mL) was combined with 4 mL of reagent solution (0.6 M sulfuric acid, 28 mM sodium phosphate, and 4 mM ammonium molybdate). In the case of the blank, 0.4 mL of the solvent was used in

place of sample. The tubes were capped and incubated in water bath at 95 ^{o}C for 90 min. After the samples were cooled to room temperature, the absorbance of the aqueous solution of each was measured at 695 nm. The antioxidant capacity was expressed as an equivalent of ascorbic acid (mg ascorbic acid/g extract).

DPPH radical scavenging activity

The free radical scavenging activity was determined by the DPPH assay described by Lee *et al*. (1998). 50 µL aliquots of the extract dilution at a concentration range of 0.1–2 mg/mL was mixed with 450 µL Tris–HCl buffer (pH = 7.4) and 1 mL of the methanolic DPPH solution (0.1 mM). The mixtures were left for 30 min at room temperature in the dark and the absorbance at 517 nm measured using methanol as blank. Extract concentration providing 50% inhibition (IC_{50}) was calculated using the graph by plotting inhibition percentage against extract concentration. Synthetic antioxidant reagent butylated hyroxytoluene (BHT) was used as a positive control. The measurements were performed in triplicate and the results were averaged. Radical scavenging activity was expressed as percentage inhibition of DPPH radical and was calculated by following equation:

% Inhibition = (Absorbance of control - Absorbance of sample /Absorbance of control) x 100

Determination of antimicrobial activity

Strains were obtained from type culture collections of the Food Engineering Department, Engineering Faculty at Erciyes University, Turkey. The microorganism strains used in this study were *Bacillus cereus* RSKK 863, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27736, *Morganella morganii, Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501, *Candida albicans* ATCC 1223, *Saccharomyces cerevisiae* BC 5461.

The agar-well diffusion method (Albayrak *et al*. 2010) was conducted to detect antimicrobial activity. All microorganisms were grown at 37 ^{o}C for 18 h in nutrient broth, except for *C. albicans*, *S. cerevisiae* that were grown in malt extract broth at 27 ^{o}C. Suspensions of microorganisms, adjusted to 10^{6}-10^{7} colony-forming units (cfu)/mL, were placed in flasks containing 25 mL sterile nutrient broth or malt extract broth at 45 ^{o}C and poured into Petri dishes (9 cm in diameter). When the agar was solidified, the equidistant wells (5 mm in diameter) were cut from the agar. The dried plant extracts were dissolved in the same solvent to a final concentration of 50 mg/mL and sterilized by filtration by 0.45 µm Millipore filters. 50 µL of solution of each extract were transferred to the wells. Absolute methanol and water without extract was used as a control. The inoculated plates were incubated at 37 ^{o}C (27 ^{o}C for yeasts) for 18-24 h for bacterial strains, 24-48 h for yeast in the inverted position. Antimicrobial activity was evaluated by measuring the zone of inhibition against the test organisms. The diameters of these zones were measured in millimeters.

Statistical analysis

SAS (1988) statistical software was used for data analysis. The comparative analyses between means were conducted using the Tukey multiple range test. Data were subjected to analysis of variance (Two-way ANOVA). Bivariate correlations were analyzed by Pearson's test using SPSS 10.0 (2001) on Windows.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The total phenolic compounds

The total phenolic contents in the methanol extracts, infusions and decoctions were determined by a colorimetric assay, using the Folin-Ciocalteu reagent. Results expressed as gallic acid equivalents (mg GAE/g) are presented in Table 1. The values of total phenolic

varied between 10.39 ± 0.0 and 106.97 ± 1.5 mg GAE/g ($p < 0.05$). Total phenolic contents of the methanol extracts were higher than those of the infusions and decoctions except nettle and parsley. The highest phenolic content was found in methanol extract of linden, which might be responsible for its enhanced antioxidative activity, compared to those of the other plants. The infusions of senna, fennel and nettle had higher phenolic contents than the corresponding decoctions. However, the phenolic contents of infusions of anise, laurel, linden and dill were lower than those of the corresponding decoctions. The infusion and decoction of parsley had the same phenolic content.

The roles of herbal tea for disease prevention and the cure were attributed, to some extent, to antioxidant properties of their constituents-liposoluble vitamins A and E, the water soluble vitamin C, and a wide range of amphipathic molecules, broadly termed phenolic compounds. The antioxidant activity of phenolics is mainly due to their redox properties, which allow them to act as reducing agents, hydrogen donators, singlet oxygen quenchers, and metal chelators (Ivanova *et al*. 2005).

It was previously detected that the total phenolic contents in water and ethanol extracts of anise seed extract was 30.0 and 77.5 mg GAE/g extract, respectively (Gülçin *et al*. 2003). The total phenolic contents obtained for infusion, decoction and methanol extract of fennel were lower than those of water and ethanol extract (21.25 and 90 mg GAE/g, respectively) determined in the literature (Oktay *et al*. 2003). Also, these values were slightly below that reported in Mata *et al*.'s report (2007) which determined that total phenolic contents of ethanol and water extracts of fennel were 63.1 and 63.8 mg, respectively).

Total antioxidant activity

The total antioxidant activities of methanolic extracts, infusions and decoctions were investigated using the phosphomolybdenum assay. Results expressed as ascorbic acid

equivalents (mg AAE/g extract) are presented in Table 2. The total antioxidant activities of eight plants were determined to range between 14.76 ± 0.1 and 229.98 ± 0.6 mg AAE/g. The methanol extract of linden had the highest antioxidant activity compared to those of the plants which was probably due to its higher polyphenolic content. The total antioxidant activity of plants tested can be ranked as methanol extracts > infusions > decoctions. Significantly higher results for the methanolic extracts were found in the order linden> laurel = fennel > senna > anise > nettle > parsley > dill ($p < 0.05$). For infusions, total antioxidant activity of linden was the highest (85.42 ± 0.3 mg AAE/g) whereas that of dill was the least (22.46 ± 0.2 mg AAE/g). For decoctions, the highest antioxidant activity was found in fennel (52.43 ± 0.3 mg AAE/g), whereas the least activity was found in dill (14.76 ± 0.1 mg AAE/g). No references concerning the total antioxidant activities of plants tested in this study could be found despite the through literature survey.

Free radical scavenging activity

The results from the radical scavenger assays for methanol extracts, infusions and decoctions are presented in Table 3 and Figure 1. The methanol extracts, infusions and decoctions of herbs studied have potent free radical scavenging activities. Figure 1 shows that antiradical activity increased with concentration of each sample. At 2 mg/mL, the methanol extracts of laurel and linden had highest antiradical activity (93.09% and 92.94%, respectively) ($p < 0.05$). These values were higher than those of the antioxidant standard, BHT (92.15%) at same concentration. At 2 mg/mL, the extracts of anise, senna and dill were the effective radical scavengers with the inhibition of 78.98%, 57.17% and 54.16%, respectively. The extracts of fennel (36.84%), nettle (21.18%) and parsley (19.31%) contained remarkably lower amounts of radical scavenging compounds. The effectiveness of infusions and decoctions were considerably lower than those of the methanol extracts. Also, decoctions

of laurel (92.67%) and linden (93.01%) showed a high inhibitory effect, compared to the BHT at 2 mg/mL.

For further DPPH scavenging assessment, IC_{50} values (the amount of extract providing 50% inhibition of DPPH radical) were calculated and are given in Table 4. Lower IC_{50} value reflects better protective action of the methanol extracts, infusions and decoctions. As shown in Table 3, methanol extracts were the most effective DPPH radical scavengers ($p < 0.05$). However, the decoction of laurel (IC_{50} = 25.05 µg/mL) was more effective than its methanol extract (IC_{50} = 30.05 µg/mL). The infusions of senna, fennel, anise, nettle and parsley were the more active than decoction ones. The results provided in Table 3 demonstrated that the most active radical scavenger was the methanol extract of linden (IC_{50} = 12.08 µg/mL), while decoction of senna (IC_{50} = 198.71 µg/mL) was the most weak radical scavenger. The results showed that methanol was the best solvent to extract the DPPH radical scavenging components from the plant samples.

Shyu *et al.* (2009) prepared n-hexane, ethyl acetate and ethanol soluble fractions from ethanolic extract of dill flower, and found that the sequence for DPPH radical scavenging ability was in the order of ethyl acetate fraction > ethanol fraction > original flower extract > n-hexane fraction. Moreover, antioxidant and antimicrobial activities of water and ethanol extracts of anise seed were described by Gülçin *et al.* (2003). Antioxidant activities of the fennel seed water and ethanol extracts have already been reported using DPPH radical scavenging assay (Oktay *et al.* 2003). The values reported for water and ethanol extracts (47.49% and 36.46% at the dose of 0.25 mg) are significantly higher than that of obtained for fennel infusion, decoction and methanol extract in present study. It was also reported that fennel essential oil and acetone extract showed strong antioxidant activity (Singh *et al.* 2006). Mata *et al.* (2007) determined that fennel had radical scavenging activity and ethanol extract of fennel (IC_{50} = 12.0 ± 0.1 µg/mL) were more active than were the corresponding water

extracts (IC_{50} = 31.6 ±0.8 μg/mL). Atoui *et al.* (2005) reported that total phenolic content and IC_{50} value of linden infusion was 184 ± 1.72 mg GAE/cup and 0.35 mg/mg DPPH, respectively.

The phenolic contents of methanol extracts, infusions and decoctions exhibited good correlation with IC_{50} values of DPPH assay (R^2 = -0.622, -0742 and -0.704, respectively). The results suggest that phenolic compounds are the contributors to antioxidant activity in the herbs.

Antimicrobial activity

The *in vitro* antimicrobial activities of the methanol extracts, infusions, decoctions and hydrosols are shown in Table 4. The extracts, infusions, decoctions and hydrosols obtained from the plants studied had no effect against *E. coli* and *Y. enterocolitica*. Also, all of them had no antifungal effect against *C. albicans* and *S. cerevisiae*. *K. pneumoniae* and *S. aureus* were only inhibited by the methanol extract and decoction of linden. Hydrosols of herbs tested did not showed antimicrobial activity against microorganisms. Among the infusions, senna was only effective against *B. cereus*. Among the decoctions, linden had only inhibitory effect against *B. cereus*, *K. pneumoniae* and *S. aureus*.

Gülçin *et al*. (2003) studied the antimicrobial activities of water and ethanol extract of anise seed against nine different microbial and one fungi species and they found that the antimicrobial activity of water extract was not effective against *P. aeruginosa* and *E. coli*. The antibacterial activities of anise seed were also determined by Al-Bayati (2008), who showed the anise oil and methanol extract had promising antibacterial activities against most pathogens, especially against *S. aureus*, *B. cereus* and *P. vulgaris*.

CONCLUSION

The antioxidant and antimicrobial activities of the infusions and decoctions of various plant used folk medicine in Turkey was determined in this study. These results indicated that methanol extracts, infusions and decoctions of senna, fennel, anise, laurel, linden, nettle, parsley and dill had potential antioxidant and antimicrobial activity. In addition, they exhibited different activity because of the differences among the species and extraction processes. Among the plants tested in our study, linden methanol extract had the highest phenolic content, antioxidant, antiradical and antibacterial activity. It was also determined that methanol extraction was better than infusion and decoction for extracting the DPPH radical scavenging, antioxidative and antibacterial components from the plant samples. The results reported here can be considered as the first information on the phenolic compositions, antioxidant and antimicrobial activities of infusions, decoctions and hydrosols of herbs studied in our study.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financially supported by the Research Fund of the University of Erciyes. (Project No. EU-BAP-09-857).

REFERENCES

AL-BAYATI, F.A. 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. J.Ethnopharmacol. *116*, 403–406.

ALBAYRAK, S., AKSOY, A., SAGDIC, O. and HAMZAOGLU, E. 2010. Compositions, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Helichrysum* (Asteraceae) Species Collected from Turkey. Food Chem. *119*, 114-122.

ALMAJANO, M.P., CARBO, R., JIMÉNEZ, J.A.L. and GORDON, M.H. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. Food Chem. *108*, 55–63.

ATEŞ, D.A. and ERDOGRUL, O.T. 2003. Antimicrobial Activities of Various Medicinal and Commercial Plant Extracts. Turk. J. Biol. *27*, 157-162.

ATOUI, A.K., MANSOURI, A., BOSKOU, G. and KEFALAS, P. 2005. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. Food Chem. *89*, 27–36.

CHEN, H.Y., LIN, Y.C. and HSIEH, C.L. 2007. Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. Food Chem. *104*, 1418–1424.

GULÇIN, I., OKTAY, M., KIREÇCI, E. and KUFREVIOGLU, O.I. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. Food Chem. *83*, 371–382.

IVANOVA, D., GEROVA, D., CHERVENKOV, T. and YANKOVA, T. 2005. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. J. Ethnopharmacol. *96*, 145–150.

KATALINIC, V., MILOS, M., KULISIC, T. and JUKIC, M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food Chem. *94*, 550–557.

LEE, S.K., MBWAMBO, Z.H., CHUNG, H.S., LUYENGI, L., GAMES, E.J.C., METHA, R.G., KINGHORN, A.D. and PEZZUTO, J.M. 1998. Evaluation of the antioxidant potential of natural products. Comb. Chem. High T. Scr. *1*, 35-46.

MATA, A.T., PROENÇA, C., FERREIRA, A.R., SERRALHEIRO, M.L.M., NOGUEİRA, J.M.F. and ARAÚJO M.E.M. 2007. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. Food Chem. *103*, 778–786.

OKTAY, M., GULÇIN, I. and KUFREVIIOĞLU O.I. 2003. Determination of in vitro antioxidant activity of fennel, (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. Lebensm.-Wiss.-Technol. *36*, 263–271.

OZCAN, M. and BOYRAZ, N. 2000. Antifungal properties of some herb decoctions. Eur. Food Res. Technol. *212*, 86-88.

OZTURK, S. and ERCISLI, S. 2005. Broad-spectrum antibacterial properties of *Thymus fallax*. Pharm. Biol. *43*, 609–613.

PRIETO, P., PINEDA, M. and AGUILAR, M. 1999. Spectrofotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: specific application to the determination of vitamin E. Anal. Biochem. *269*, 337-341.

SAĞDIÇ, O. 2003. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. Lebensm.-Wiss.- Technol. *36*, 467–473.

SAS. 1988. SAS/ STAT User's guide (6, 03); SAS Institue, Inc.: Cory, New York.

SHYU, Y.S., LIN, J.T., CHANG, Y.T., CHIANG, C.J. and YANG, D.J. 2009. Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower. Food Chem. *115*, 515–521.

SINGH, G., MAURYA, S., DE LAMPASONA, M.P. and CATALAN, C. 2006. Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. Food Control *17*, 745–752.

SINGLETON, V.L. and ROSSI, J.A.Jr. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. *16*, 144-158.

SPSS 2001. SPSS Version 10.0. SPSS Inc, 233 S. Wacker Drive, Chicago, Illinois.

TRIANTAPHYLLOU, K., BLEKAS, G. and BOSKOU, D. 2001. Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. Int. J.Food Sci. Nutr. *52*, 313–317.

UNAL, E.L., MAVI, A., KARA, A.A., CAKIR, A., ŞENGUL, M. and YILDIRIM, A. 2008. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Plants Used as Remedies in Turkish Traditional Medicine. Pharm. Biol. *46*, 207–224.

WANG, J., YUAN, X., JIN, Z., TIAN, Y. and SONG, H. 2007. Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. Food Chem. *104*, 242–250.

TABLE 1. PHENOLIC CONTENTS OF THE METHANOL EXTRACTS, INFUSIONS AND DECOCTIONS OF EACH PLANT TESTED

Plants	Total phenolic content (mg GAE/g)		
	Methanol extract	Infusion	Decoction
Senna	$24.14 \pm 1.0^{Ad*}$	17.19 ± 0.0^{Bc}	15.15 ± 0.2^{Cd}
Fennel	49.50 ± 0.0^{Ab}	16.13 ± 0.3^{Bd}	10.39 ± 0.0^{Cf}
Anise	32.93 ± 0.6^{Ac}	16.51 ± 0.0^{Ccd}	17.41 ± 0.0^{Bc}
Laurel	30.9 ± 0.5^{Ac}	18.77 ± 0.8^{Cb}	26.32 ± 0.3^{Bb}
Linden	106.97 ± 1.5^{Aa}	32.36 ± 0.2^{Ba}	33.49 ± 0.5^{Ba}
Nettle	14.61 ± 0.5^{Be}	16.06 ± 0.0^{Ad}	11.07 ± 0.2^{Cf}
Parsley	11.06 ± 1.5^{Bf}	14.70 ± 0.0^{Ae}	14.09 ± 0.5^{Ae}
Dill	31.34 ± 1.0^{Ac}	12.13 ± 0.1^{Cf}	15.45 ± 0.1^{Bd}

*: Results are reported as means ± standard deviation (n = 3). Total phenolic content expressed as gallic acid equivalent (GAE).
^{AB} Capital letters in the same row represent the statistical differences between extracts $p < 0.05$,
^{ab} Lowercase letters in the same column represent the statistical differences between plants tested at $p < 0.05$.

TABLE 2. TOTAL ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF THE METHANOL EXTRACTS, INFUSIONS AND DECOCTIONS OF EACH PLANT TESTED IN PHOSPHOMOLYBDENUM ASSAY

Plants	Total antioxidant activity (mg AAE/g)		
	Methanol extract	Infusion	Decoction
Senna	$170.05 \pm 0.2^{Ac*}$	39.26 ± 0.1^{Bf}	16.07 ± 0.2^{Ce}
Fennel	195.92 ± 0.4^{Ab}	41.33 ± 0.1^{Ce}	52.43 ± 0.3^{Ba}
Anise	139.57 ± 1.7^{Ad}	43.23 ± 0.2^{Bc}	22.60 ± 0.3^{Cd}
Laurel	196.98 ± 2.1^{Ab}	69.50 ± 0.0^{Bb}	35.65 ± 0.1^{Cc}
Linden	229.98 ± 0.6^{Aa}	85.42 ± 0.3^{Ba}	36.78 ± 0.1^{Cb}
Nettle	132.66 ± 2.1^{Ae}	42.57 ± 0.1^{Bd}	13.49 ± 0.0^{Cg}
Parsley	105.04 ± 0.3^{Af}	35.77 ± 0.3^{Bg}	22.99 ± 0.9^{Cd}
Dill	82.27 ± 0.9^{Ag}	22.46 ± 0.2^{Bh}	14.76 ± 0.1^{Cf}

*: Results are reported as means ± standard deviation (n = 3). Total antioxidant activity expressed as ascorbic acid equivalent (AAE).

^{AB} Capital letters in the same row represent the statistical differences between extracts $p < 0.05$,

^{ab} Lowercase letters in the same column represent the statistical differences between plants tested at $p < 0.05$.

TABLE 3. FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITIES, REPRESENTED BY IC_{50} OF THE METHANOL EXTRACTS, INFUSIONS AND DECOCTIONS OF EACH PLANT TESTED IN DPPH ASSAY

Plants	IC_{50} (µg/mL)		
	Methanol extract	Infusion	Decoction
Senna	48.65 ^{Ce*}	151.25 ^{Bb}	198.71 ^{Aa}
Fennel	83.7 ^{Cc}	95.76 ^{Be}	98.21 ^{Ad}
Anise	36.4 ^{Cf}	54.69 ^{Bf}	55.2 ^{Af}
Laurel	30.05 ^{Bg}	47.62 ^{Ag}	25.05 ^{Cg}
Linden	12.08 ^{Ch}	18.66 ^{Ah}	17.71 ^{Bh}
Nettle	123.67 ^{Cb}	130.01 ^{Bd}	142.84 ^{Ac}
Parsley	163.42 ^{Ba}	149.54 ^{Cc}	166.6 ^{Ab}
Dill	60.77 ^{Cd}	156.16 ^{Aa}	61.79 ^{Be}

*: Results are reported as means ± standard deviation (n = 3).

^{AB} Capital letters in the same row represent the statistical differences between extracts at $p < 0.05$,

^{ab} Lowercase letters in the same column represent the statistical differences between plants tested at $p < 0.05$.

TABLE 4. ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF THE METHANOL EXTRACTS, INFUSIONS AND DECOCTIONS OF EACH PLANT TESTED (DIAMETER OF THE INHIBITION ZONE MEASURED IN MM*)

Microorganisms		Senna	Fennel	Anise	Laurel	Linden	Nettle	Parsley	Dill
B. cereus	Infusion	10.0 ^{Aa}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Bb}	- ^{Bb}	- ^{Bb}	- ^{Bb}
	Decoction	- ^{Bb}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	10.0 ^{Aa}	- ^{Bb}	- ^{Bb}	- ^{Bb}
	Hidrosol	- ^{Ba}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}
	Methanol	11.0 ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	12.0 ^{Aa}	8.0 ^{Aa}	9.0 ^{Aa}	8.0 ^{Aa}
B. subtilis	Infusion	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}
	Decoction	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}
	Hidrosol	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}
	Methanol	- ^{Ab}	- ^{Ab}	9.0 ^{Aa}	10.0 ^{Aa}	8.0 ^{Aa}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}
K. pneumoniae	Infusion	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}
	Decoction	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	7.0 ^{Aa}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}
	Hidrosol	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}
	Methanol	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	9.0 ^{Aa}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}
M. morganii	Infusion	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Aa}
	Decoction	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Aa}
	Hidrosol	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Aa}
	Methanol	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	7.0^{Aa}	8.0 ^{Aa}	6.0 ^{Aa}	- ^{Ab}
P. aeruginosa	Infusion	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Aa}
	Decoction	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Aa}
	Hidrosol	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	- ^{Ba}	Ba	- ^{Aa}
	Methanol	9.0 ^{Aa}	7.0 ^{Aa}	- ^{Ab}	6.5^{Aa}	8.0 ^{Aa}	8.0 ^{Aa}	7.0 ^{Aa}	- ^{Ab}
S. aureus	Infusion	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Aa}	Aa	- ^{Aa}
	Decoction	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	8.0 ^{Aa}	- ^{Ab}	Ab	- ^{Ab}
	Hidrosol	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Aa}	- ^{Ba}	- ^{Aa}	Aa	- ^{Aa}
	Methanol	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	- ^{Ab}	11.0 ^{Aa}	- ^{Ab}	Ab	- ^{Ab}

*: inhibition zones include diameter of hole (5 mm) and disc (6 mm).

-: Not detected

^{AB} Capital letters in the same column represent the statistical differences between extracts,

^{ab} Lowercase letters in the same row represent the statistical differences between plants tested at $p < 0.05$.

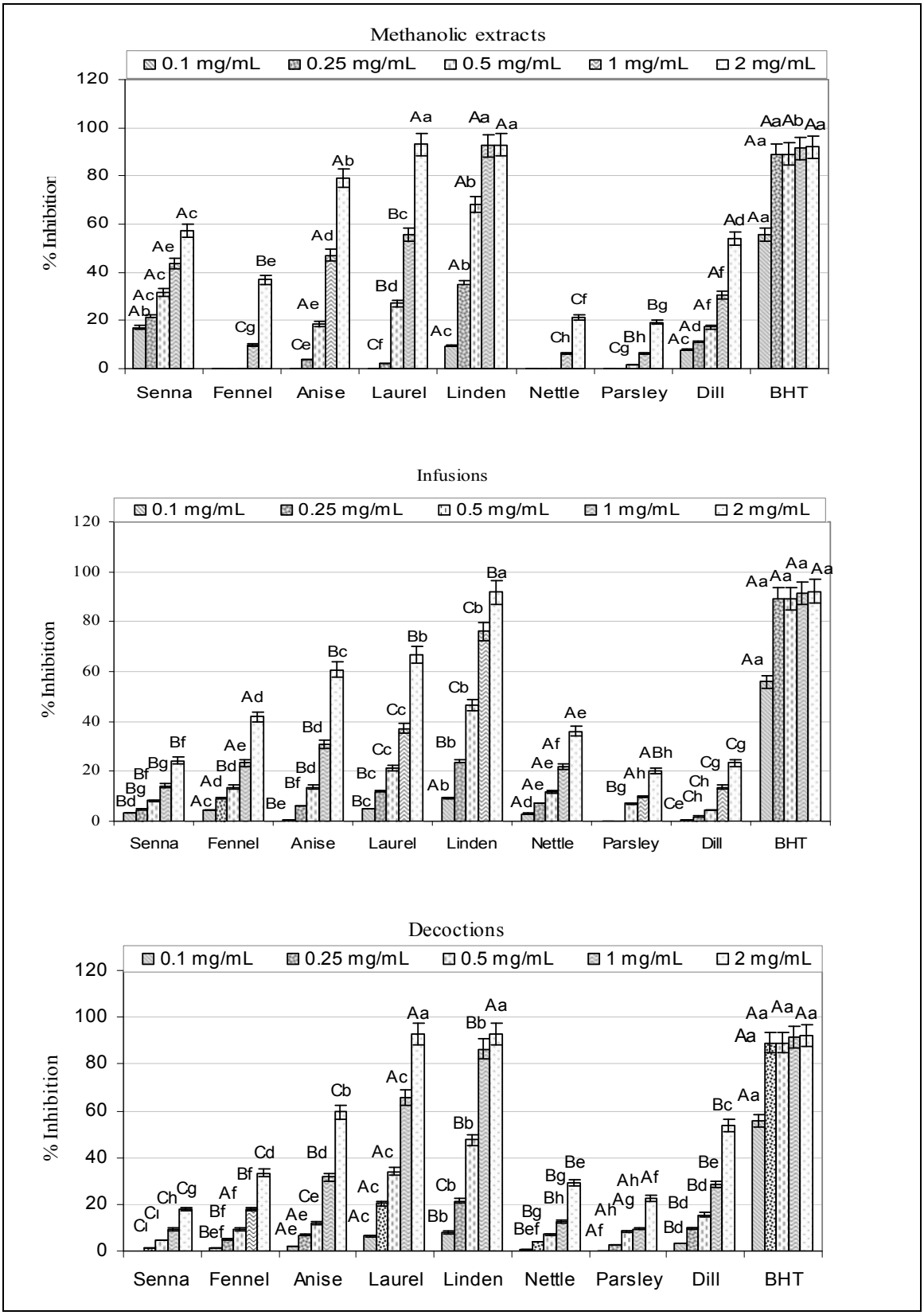


FIG.1. DPPH ABSORPTION INHIBITION (%) OF METHANOL EXTRACTS, INFUSIONS AND DECOCTIONS OF EIGHT PLANTS TESTED AND BHT AS STANDARD ANTIOXIDANT

(Capital letters represent the statistical differences between extracts; lowercase letters represent the statistical differences between plants tested for the same concentrations at $p < 0.05$)