

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



LUPINUS ANGUSTIFOLIUS L. SUBSP. ANGUSTIFOLIUS
(FABACEAE) TAKSONUNUN ANTIOKSİDAN, ANTI-TÜBERKÜLOZ
VE ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

GAMZE AYDIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Tülin AŞKUN (Tez Danışmanı)
Prof. Dr. Selami SELVİ
Doç. Dr. Duygu KADAİFÇİLER

BALIKESİR, MART - 2021

ETİK BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak tarafımda hazırlanan “*Lupinus angustifolius* L. subsp. *angustifolius* (Fabaceae) Taksonunun Antioksidan, Antitüberküloz ve Antifungal Aktivitelerinin Belirlenmesi” başlıklı tezde;

- Tüm bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Kullanılan veriler ve sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tüm bilgi ve sonuçları bilimsel araştırma ve etik ilkelere uygun şekilde sunduğumu,
- Yararlandığım eserlere atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Gamze AYDIN

Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi (BAP) tarafından 2017/076 nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

***LUPINUS ANGUSTIFOLIUS* L. SUBSP. *ANGUSTIFOLIUS* (FABACEAE) TAKSONUNUN ANTIOKSİDAN, ANTI-TÜBERKÜLOZ VE ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GAMZE AYDIN
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF.DR. TÜLİN AŞKUN)**

BALIKESİR, MART - 2021

Bu çalışma; Fabaceae familyasından *Lupinus* cinsine ait *Lupinus angustifolius* L. subsp. *angustifolius* taksonundan elde edilen ekstraktlarının antifungal, antioksidan ve antitüberküloz aktivitesinin belirlenmesini esas alır. Biyolojik aktivitelerinin araştırılmasıyla, bitki ekstraktlarından elde edilen verilerin farmakolojik olarak önemli olduğu ve özellikle tohumlarının; besin kaynağı açısından yüksek enerjili maddeler içerdiği ortaya konulmuştur. Bitki ekstrelerinin farklı kısımlarından antioksidan içeriğinin belirlenmesi için Total Fenol Miktar Tayini (TPC), Toplam flavonoid içeriği ve DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini yöntemleri kullanılmış ve sırasıyla TPC (37,5–42,7 mg/gr), Flavonoid (11±1.4- 14,2±5.3) ve DPPH tayin yönteminde tüm ekstraktlarının % inhibisyonları 0-100 mg/ml'lik konsantrasyonlar da radikal giderme aktivitesi yönünden standartlarla karşılaştırılabilir yükseklikte değerler elde edilmiştir. Yaprak, gövde ve tohum ekstrelerinin 100 mg/ml'lik konsantrasyonlar da ise sırasıyla % 50 % 54 ve % 39 aktivite gözlenmiştir. Antitüberküloz aktivite çalışmalarında *Mycobacterium tuberculosis*'in H37Ra, H37Rv, 16/6 hasta suşları ve TB-05 için MİK ve MBK belirlenmiştir. Antitüberküloz aktivite çalışmalarında bitki ekstrelerindeki gövde örneği için RV ve RA suşa karşı 80mg/ml ve 160mg/ml değerlerinde MİK değerleri ve MBK değerleri gövde örneği için RV ve RA 640mg/ml 160mg/ml ve etki gösterirken hasta suşlarına karşı MİK 160-80mg/ml MBK 640mg/ml değerinde antitüberküloz aktivite değerleri elde edilmiştir. Antifungal aktivite çalışmalarında ise *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Fusarium proliferatum* mikroorganizmaları kullanılmıştır. Fungus türleri üzerinde bitki ekstrelerinin önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda; bütün bulgular birlikte değerlendirilmiş ve literatürde yapılan çalışmalara ek olarak önemli verilerle desteklenmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: *Lupinus angustifolius*, antifungal, antitüberküloz, antioksidan
Bilim Kod / Kodları : 20325 Sayfa Sayısı : 61

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT, ANTI-TUBERCULOSIS AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF *LUPINUS ANGUSTIFOLIUS* L. SUBSP. *ANGUSTIFOLIUS* (FABACEAE)

MSC THESIS

GAMZE AYDIN

BALIKESIR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOLOGY

(SUPERVISOR: PROF.DR. TÜLİN AŞKUN)

BALIKESİR, MARCH– 2021

This work; *Lupinus angustifolius* L. subsp. *angustifolius* it is based on the determination of the antifungal, antioxidant and antituberculosis activity of the extracts obtained from *angustifolius*. By investigating the biological activities, the data obtained from plant extracts are pharmacologically important and especially seeds; It has been demonstrated that it contains high-energy substances in terms of food source.

Total Phenol Assay (TPC), Total Flavonoid Content and Free Radical Scavenging Effect Determination on DPPH were used to determine the antioxidant content of different parts of plant extracts, and TPC (37.5--42.7 mg / gr), Flavonoid (11 ± 1.4 - 14.2 ± 5.3) and% inhibition of all extras in DPPH determination method, at concentrations of 0-100 mg / ml, values comparable to the standards were obtained in terms of radical scavenging activity. An activity of 50%, 54% and 39% was observed at concentrations of 100 mg / ml of the extras of the leaf, stem seed, respectively.

MIK and MBK could not be determined for H37Ra, H37Rv, 16/6 patient strains of *Mycobacterium tuberculosis* and TB-05 in antituberculosis activity studies. In antituberculosis activity studies, for the sap sample of plant extracts, the MIK values and MBK values of 80mg / ml and 160mg / ml against the RV and RA strain and the MBK values for the stem sample, RV and RA 640mg / ml 160mg / ml and the patient Antituberculosis activity values were obtained against MIK 160-80mg / ml MBK 640mg / ml.

In antifungal activity studies, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Fusarium proliferatum* microorganisms were used. It was observed that the plant extracts had no effect on the fungal. In addition, HPLC analyzes were performed to determine the phenolics in the extracts, all of these findings were evaluated together and additional data were presented to the studies in the literature.

KEYWORDS: *Lupinus angustifolius*, antifungal, antituberculosis, antioxidant.

Science Code / Codes : 20325

Page Number : 61

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vii
SEMBOL LİSTESİ	viii
ÖNSÖZ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Bitkilerden Elde Edilen Bileşiklerin Temel Grupları	2
1.1.1 Sekonder Metabolitler	3
1.1.2 Fenolik Bileşikler	4
1.1.2.1 Fenolik Asitler	5
1.1.2.2 Flavonlar, Flavanoidler	7
1.1.3 Terpenler	8
1.2 Serbest Radikaller	9
1.3 Antioksidanlar	12
1.4 <i>Lupinus angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> ' un Sistematik Kategorisi	15
1.4.1 Fabaceae (Leguminosae) Familyası Genel Özellikleri	15
1.4.2 <i>Lupinus</i> Cinsinin Genel Özellikleri.....	16
1.4.2.1 Kullanım Alanları.....	16
1.4.3 Yayılışı ve Morfolojik Özellikleri.....	17
1.4.3.1 Kimyasal İçerikleri ve Kullanım Alanları	19
1.4.3.2 <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> Üzerinde Yapılmış Literatür Çalışmaları	20
2. MATERYAL VE METOT	22
2.1 Bitki Materyallerinin Hazırlanışı	22
2.2 Bitki Ekstralarının Hazırlanışı	22
2.3 Kullanılan Kimyasal Çözeltiler.....	23
2.4 Kullanılan Mikroorganizmalar.....	23
2.5 Kullanılan Besiyerleri	24
2.5.1 Antifungal Aktivitede Kullanılan Besiyerleri	24
2.5.2 Antitüberküloz Aktivitede Kullanılan Besiyerleri	24
2.6 Serum Fizyolojik Hazırlanışı	24
2.7 İnokulum Süspansiyonunun Hazırlanışı	24
2.8 Antioksidan Tayin Yöntemleri	24
2.8.1 Total Fenol Miktar Tayini	24
2.8.2 DPPH Radikal Süpürücü Etki Tayini	25
2.8.3 Toplam Flavonoid İçeriği.....	26
2.9 Antifungal Aktivite	26

2.10 Antitüberküloz Aktivite.....	27
2.10.1 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunu Belirleme (MİK).....	28
2.10.2 Minimum Bakterisit ve Fungisit Konsantrasyonunu Belirleme (MBK ve MFK)....	28
2.11 Kullanılan Cihazlar.....	28
3. BULGULAR.....	29
3.1 Total Fenol Miktar Tayini Sonuçları	29
3.2 DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Sonuçları.....	31
3.3 Toplam Flavonoid İçeriği Sonuçları	34
3.4 Antifungal, Antitüberküloz Aktivite Bulguları.....	35
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
5. KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	61



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Kafeik asit.	5
Şekil 1.2: Fenolik asitlerin kimyasal yapısı.	7
Şekil 1.3: Flavonların genel yapısı.	8
Şekil 1.4: Terpenin yapısı.	9
Şekil 1.5: Antioksidanların çalışma mekanizması ve oksidatif stres.	14
Şekil 1.6: Ülkemizde yayılış gösteren <i>Lupinus</i> taksonları [67].	17
Şekil 1.7: <i>L. angustifolius</i> subsp. <i>angustifolius</i> ' un genel görünüşü.	18
Şekil 1.8: <i>L. angustifolius</i> subsp. <i>angustifolius</i> ' un meyveleri.	19
Şekil 2.1: Döner buharlaştırıcı.	23
Şekil 3.1: Gallik asit standart grafiği.	30
Şekil 3.2: Bitki ekstratlarının gallik asit eşdeğeri olan fenolik madde içerikleri.	30
Şekil 3.3: Bitki ekstratlarının DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçları.	31
Şekil 3.4: Bitki ekstratlarının ve standartın DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçları karşılaştırılması.	32
Şekil 3.5: Farklı konsantrasyonlarda ki tohum örneğinin % inhibisyon değerleri.	32
Şekil 3.6: Farklı konsantrasyonlarda ki gövde örneğinin % inhibisyon değerleri.	33
Şekil 3.7: Farklı konsantrasyonlarda ki yaprak örneğinin % inhibisyon değerleri.	33
Şekil 3.8: Rutin Eşdeğer (Kalibrasyon eğrisi) standart grafiği.	35
Şekil 3.9: <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> bitkisi (gövde, tohum, yaprak örneğine) ait <i>Aspergillus niger</i> ' e karşı MİK aktivite testi. 1- AB-gövde, 2- DE-yaprak, 3- GH-tohum örneklerine ait <i>Aspergillus niger</i> 11 pozitif -12-negatif kontrol. ...	36
Şekil 3.10: <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> Bitkisi (Gövde, tohum, yaprak örneğine) ait <i>Fusarium proliferatum</i> ' a karşı MİK aktivite testi 1- AB-gövde, 2- DE-yaprak, 3- GH-tohum örneklerine ait 11 pozitif 12 negatif kontrol.	36
Şekil 3.11: <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> Bitkisi (gövde, tohum, yaprak örneğine) ait <i>Aspergillus flavus</i> 'a karşı MİK aktivite testi 1- AB-Gövde, 2- DE-yaprak, 3- GH-tohum örneklerine ait <i>Aspergillus flavus</i> 11 pozitif 12 negatif kontrol.	37
Şekil 3.12: <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> Bitkisi (Gövde, tohum, yaprak örneğine) ait <i>Aspergillus ochraceus</i> ' a karşı MİK aktivite testi 1- AB-Gövde, 2- DE-yaprak, 3- GH-tohum örneklerine ait <i>Aspergillus ochraceus</i> 11 pozitif 12 negatif kontrol.	37
Şekil 3.13: <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> bitkisi (gövde örneğine) ait MİK fotoğrafları, 1) ABC sırası; <i>M. tuberculosis</i> (RV) FGH sırası; 16/6 Hasta suşu 11 pozitif 12 negatif kontrol.	38
Şekil 3.14: <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> bitkisi (gövde örneğine) ait MİK fotoğrafları, 2) ABC sırası; TB-05 FGH sırası; <i>M. tuberculosis</i> (RA) 11 pozitif 12 negatif kontrol.	38
Şekil 3.15: <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> bitkisi (yaprak örneğine) ait MİK fotoğrafları, 1) ABC sırası; <i>M. tuberculosis</i> (RV) FGH sırası; 16/6 Hasta suşu 11 pozitif 12 negatif kontrol.	39
Şekil 3.16: <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> Bitkisi (yaprak örneğine) ait MİK fotoğrafları, 2) ABC sırası; TB-05 FGH sırası; <i>M. tuberculosis</i> (RA) 11 pozitif 12 negatif kontrol.	40

- Şekil 3.17:** *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* Bitkisi (tohum örneğine) ait MİK fotoğrafları, 1) ABC sırası; *M. tuberculosis* (RV) FGH sırası; 16/6 Hasta suşu 11 pozitif 12 negatif kontrol. 41
- Şekil 3.18:** *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* Bitkisi (tohum örneğine) ait MİK fotoğrafları, 2) ABC sırası; TB-05 FGH sırası; *M. tuberculosis* (RA) 11 pozitif 12 negatif kontrol..... 41



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Sekonder metabolitlerin sınıflandırılması.....	4
Tablo 1.2: Endojen ve eksojen kaynakların sınıflandırılması.....	11
Tablo 2.1: Bitki veri tablosu.....	22
Tablo 3.1: Yaprak, tohum, gövde ekstraktlarının metanol çözücülerdeki % ekstraksiyon verimi.....	29
Tablo 3.2: Bitki ekstratlarının toplam fenolik madde miktarları.....	30
Tablo 3.3: Lupinus ekstratlarının EC50 değerleri tablosu.....	34
Tablo 3.4: Bitki özütlerinin toplam flavonoid madde miktarı.....	35
Tablo 3.5: <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> metanol ekstrelerinin Antitüberküloz Aktivite Değerleri (mg/mL).....	38
Tablo 3.6: <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> metanol ekstralarının antitüberküloz Aktivite Değerleri (mg/mL).....	39
Tablo 3.7: <i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> metanol ekstrelerinin Antitüberküloz Aktivite Değerleri (mg/mL).....	40

SEMBOL LİSTESİ

ASL	:Avustralya acı bakla
BHT	:Bütillenmiş hidroksi toluen
BHA	:Bütillenmiş hidroksi anisol
DNA	:Deoksiribonükleik asit
DPPH	:1,1-difenil-2-pikril hidrazil
FCR	:Folin-ciocalteu-reaktifi
GSH-Px	:Glutasyon Peroksidaz
GAE	:Fenolik madde miktarı
GPX	:Glutasyon peroksidaz
HPLC	:Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
MBK	:Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu
MIK	:Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MFK	:Minimum Fungisidal Konsantrasyonu
NSP	:Hücre duvarı
PG	:Propilgallat
PDCAAS	:Protein sindirilebilirliği düzeltilmiş antioksidan skoru
RNS	:Reaktif azot türleri
RV	:Virülant
RA	:Avirülant
ROT	:Reaktif oksijen türleri
ROS	:Reaktif oksijen türleri
RNA	:Ribonükleik asit
SOD	:Süperoksit Dismutaz
TPC	:Fenol Miktar Tayini
TBHQ	:Tersiyer butil hidrokinan
TRAP	:Toplam peroksil radikal yakalama potansiyeli
UV	:Ultraviyole
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü

ÖNSÖZ

Bu tezin oluşum sürecinde bana bilgi birikimini ve bilimsel görüşünü aktaran her zaman en iyisini öğretmek için yol gösteren değerli zamanını paylaşan her aşamasında ve tüm konularda anlayışını ve yardımını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Tülin AŞKUN'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans sürecimde danışman değişikliği yaptığım süreçte beni yönlendiren kıymetli hocam Prof. Dr. Gülendam TÜMEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmasını yaptığım *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius*. bitki materyalinin toplanması ve teşhisinde yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Selami SELVİ hocama teşekkürlerimi sunarım.

Balıkesir Üniversitesi Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvar'ında çalışma sürecimde birlikte zaman geçirdiğim bana destek olan arkadaşlarıma ve Fen Bilimleri Enstitüsü Bilimsel Araştırma Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

İdeallerimi gerçekleştirmem için hiçbir zaman bana inancını kaybetmeyen azmi ve sabrı bana öğreten destekleyen bugünlere gelmemde büyük emeği olan canım ailem annem, Necla KORKMAZ babam Ahmet KORKMAZ ve kardeşim Yunus KORKMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tanıştığım günden bugüne hayatta ki şansımı tek bir yerde kullandığıma beni inandıran ve hayatıma ortak olan her konuda beni cesaretlendiren bu süreci en iyi şekilde geçirmemi sağlayan her türlü desteğini esirgemeyen sevgilim eşim Ömer Arif AYDIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Ve son olarak inanıyorum ki bu tezi bitirme gücünü varlığından aldığım kızım, yaşadığım her zorluğa benimle birlikte fedakarlık gösteren bebeğim Halime Doğa AYDIN 'ın o küçük kalbine teşekkür ederim.

Balıkesir, 2021

Gamze AYDIN

1. GİRİŞ

Bitkilerden dünyada ve ülkemizde uzun yıllardır çeşitli amaçlar için kullanıldığı biliniyor, gerek insanlar tarafından besin ya da sağlık açısından tedavi nedeniyle kullanılmaktadır. Bulduğumuz konum gereği ülkemiz bitki florası tarafından zengin bir yapıya sahiptir, bu özelliği kazanmasına sebep olan Güney Avrupa ve Güney Asya floralarında bulunmasıdır. Pek çok cins ve tür çeşitliliği ülkemizin endemizminin yüksek olmasını sağlamaktadır [1,2]. Bu sayı gün geçtikçe artış göstermektedir. Ülkemizde 13.138 bulunan doğal bitki türlerinden 3754'ü endemik olarak bilinmektedir. Yeterince yararlanamadığımız ve bu zenginliği kullanamadığımız düşünülmektedir [3]. Tarihin eski zamanlarından günümüze kadar dünyanın çoğu yerinde insanların beslenme ve çeşitli ihtiyaçlar için bitkileri kullanımı söz konusudur. Bunun yanında şifalı bitkilerden sağlık tedavi uygulama yönünden ilaç arayışı insanlık kadar eskiye dayanmaktadır. Çeşitli kaynaklardan elde edilen kanıtların olduğu çeşitli reçetelerin korunmuş eserlerin ve birçok yazılı belge bulunmaktadır. İnsanoğlu hastalıklarla mücadele içerisindeyken geçmiş eski çağlarda bitkilerin birçok kısmını kullanarak şifa aramış ve bitkilerden hangi hastalığa iyi geldiğini uzun uğraşlar sonucu ortaya çıkarmıştır, daha sonra ki yıllarda çağdaş bilim de tıbbi olarak bu yapılan çalışmalar ve bitkilerin özellikleri onaylanmıştır. Şifalı bitkilerin doktorlar ve eczacıların ortak çalışmalarıyla birlikte hastalıklar için kullanımı artmıştır ve bu iyileşme oranını arttırmıştır [4]. Şifalı bitkilerin kullanımının ilk evresi düşünülürse hayvanların içgüdüsel olarak bunu keşfettiği kanıtlanmıştır [5]. Bu aşamadan sonra da deneysel deneme yanılma yöntemleriyle hangi bitkinin hangi hastalığa iyi geldiğinin araştırılmıştır. Etkilerinin keşfedilmesiyle daha sonra bitkilerin faydalarının deneysel olmaktan çıkarak hastalıklar için tedavi ve korunma amaçlı kullanılmaya başlanmıştır. 16.yüzyıla kadar bitkiler sadece hastalıklar için kullanılsa da sentetik olarak ilaç üretimine doğrudan bir değişim gerçekleşti [6]. Son zamanlarda sentetik ilaçların etkinliğinin ve yan etkilerinin bazı sorunlar doğurması ile tekrar doğal kaynaklardan biri olan bitkilerin önemi artmıştır. Bitkiler üzerine odaklanılmasının temel nedeni, bitkilerin içerdiği tanenler, alkaloidler, fenolikler ve terpenler gibi farmakolojik etki ortaya koyabilecek sekonder metabolitlerdir [7].

Antimikrobiyal aktivite için bitkilerdeki sekonder metabolitlerin içerdiği birçok gruptan faydalandığı ortaya çıkmıştır. Bunlar flavonoidler, terpenoidler, alkaloidlerdir. Bitkilerde özellikle hayatını sürdürebilmesi için gerekli işlevsel faaliyetlerde ilişkisi olmayan sekonder metabolitlerdir. Yüksek yapıli bitkilerin ürettiği yapılar olarak bilinmektedir. Fonksiyonun

eksiksiz olarak bilinmediği sekonder metabolitler herbivorlardan, zararlı mikroorganizmalar, UV ışığı gibi çeşitli çevresel stres oluşturacak faktörlerden korunmak için ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bitkilerin ilaçlara alternatif olarak kullanımına neden olmakta ve antimikrobiyal aktivite etkisini sağlayan yapıları içermektedir. İnsan sağlığı için bitkilerin özelliklerinin araştırılması 1926 yılına dayanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) incelemelerine göre tedavi maksatlı uygulama da kullanılan tıbbi bitkilerinin sayısı yaklaşık 20.000 civarında bildirilmiştir [1]. WHO tarafından verilen bilgilere göre nüfusun gelişmemiş ülkeler tarafından bitkilerin geleneksel tedavi amaçlı olarak kullanım oranı % 80'dir. Bu oranın gelişmiş ülkelerde karşılık geldiği kısım % 40 olduğu bu durumun dünya üzerinde değişeceği ve gelecekte bitkilerden yararlanma oranının artışı gerçekleşeceği beklenmektedir [7]. Antibiyotiklere direnç geliştiren bakteriler artmakta ve yayılmaktadır [8]. Bu antibiyotiklere karşı direncin artışı, son zamanlarda önemli bir hale gelmiştir. Bu problem, nedeniyle artan sağlık sorunlarının ölümlere neden olması ve ilerlemekte olan ülkelerde büyük sorunlara sebep olduğu bilinmektedir. Doğal kaynaklardan yani bitkilerden oluşturulan antimikrobiyal elementlerin gıda güvenliğini yüksek oranlarda korumayı sağladığı araştırılarak bulunmuştur [9]. Doğal bitki ekstraktlarından elde edilen maddelerin mantarlar, bakteriler çeşitli patojenlere karşı içerdikleri yapılar sayesinde biyolojik mücadele için kullanılabilir olması ve diğer taraftan toprağa, suya, havaya ve canlılara karşı olumsuz etkisinin yok oluşu sebebiyle dünyada tüm ülkeler için üzerinde çalıştığı bir konudur [10]. İlaçlara seçenek olabilecek geleneksel antimikrobiyal özellikte ki bitkilerin kullanılabilirliğini birçok kaynakta bildirmişlerdir [3].

1.1 Bitkilerden Elde Edilen Bileşiklerin Temel Grupları

Aktif bileşikler içeren bütün bitkiler çeşitli nedenlerden dolayı önemli kabul edilmektedir. Bu bileşikler, genel olarak bitkilerin belirli yapılarından ya da tüm bölümlerinden sentezlenen ve biriktirilen alkaloidler, steroidler, tanenler ve fenolik bileşikler gibi sekonder metabolitlerdir. Bitkilerde üretilen bu sekonder metabolitler karmaşık olabildikleri gibi, çoğu zaman familya, cins, tür gibi belirli taksonlara ayrıcalıklı olarak bulunur. Diğer bir açıdan sekonder metabolitlerin çeşitliliğinin yabani türle de daha fazla olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur. Bazı sekonder metabolitlerin, bazı bitki taksonlarında belirgin bir şekilde bulunmasıyla tutarlı olarak; bitkilerin farmasötik etkileri, o taksona özgül bir şekilde gözlenebilir. Bitkilerin ürettiği bu sekonder metabolitler; insanlarda bulunan endojen metabolitlere, ligandlara, hormonlara, sinyal iletimi moleküllerine ya da nörotransmitterlere benzer şekilde etki gösterebilir ve bu nedenle potansiyel hedef bölgelerindeki

benzerliklerden dolayı insanlarda faydalı tıbbi etkilere yol açabilir. Bu sebeple, bitkilerin sekonder metabolitlerinin taranması önemlidir [11].

1.1.1 Sekonder Metabolitler

Bitkiler, insanoğlunun yaşamını sürdürebilmesi için gerekli olan karbonhidrat, protein ve yağların, primer metabolitleri oluşturan temel kaynaklarıdır. Bazı bitkilerden elde edilen, sekonder metabolitler ilaç, kimya, gıda, tekstil, kozmetik sanayi ve tarımsal mücadele sektörlerinde ekonomik açıdan önemli ve başka kaynaklardan elde edilmesi mümkündür [12]. Sekonder metabolit tanımı primer metabolitlerin tam zıt kavramı olarak yapılmıştır. Sekonder metabolitleri bitkiler tarafından üretilen, birçok fizyolojik mekanizmaların fonksiyonlarıyla oluşan fotosentez ya da solunum gibi hayati fizyolojik olaylar için şart sayılmayan maddeler olarak tanımlanmıştır [13].

Bazı metabolizma yollarının birincil ana ürünlerinden oluşan sekonder metabolitler özel metabolik yollarla üretilmektedir ve genellikle biyosentez yollarına göre sınıflandırılırlar [14]. Sekonder metabolitler, bitkinin büyüme ve gelişmesinde fotosentez, solunum, çözünmüş madde transferi, translokasyon, besin özümleme ve farklılaşma süreçlerinde genellikle bilinen bir görevi olmayan bitkide savunma, korunma, hayatta kalma, kuşaktan kuşağa ileme gibi çevresel koşullara uyum gibi faaliyetleri sırasında ortaya çıkan organik bileşenlerdir. Bitkilerin sahip olduğu primer metabolitlerin sınırlı bir yayılımı vardır, çoğunlukla bir bitki türünde veya türlerin taksonomik olarak yakın gruplarında görünmektedir [13].

Genellikle bitkilerin belirli kısımlarında bulunurlar ve bitkinin belli bir gelişim dönemi süresince üretilirler [14,15]. Sekonder metabolitlerin yüksek konsantrasyonları bitkinin daha dirençli olması sağlayan yapılardır. Sekonder metabolitlerin üretimlerinin maliyetli olduğu ve bitki büyüme ve üremesini sınırladığı düşünülmektedir [16]. Sekonder metabolitler (Tablo 1.1) terpenler, fenoller ve azot ve/veya kükürt içeren bileşikler olarak üzere 3 kısma ayrılırlar [17].

Tablo 1.1: Sekonder metabolitlerin sınıflandırılması.

TERPENLER	
Tip	Örnek
Seskiterpenler	Limonen
Diterpenler	Taksol
Triterpenler	Digitanin
Tetraterpenler	Karoten
Meroterpenler	Klorofil
Politerpenler	Dolikol

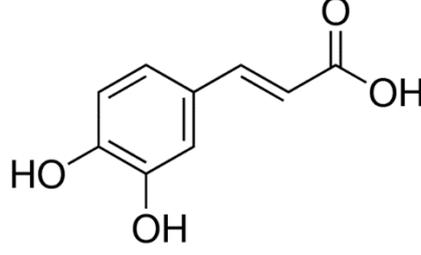
AZOT ve KÜKÜRT İÇEREN BİLEŞİKLER	
Tip	Örnek
Heterosiklik Alkaloidler	Nikotin
Non-heterosiklik Alkaloidler	Efedrin
Glukozinolatlar	Sinigrin
Non-protein Amino asitler	Mimozin

FENOLİK BİLEŞİKLER	
Tip	Örnek
Fenilpropanoidler	Kumarin
Naftokinonlar	Juglon
Antrasenler	Antranol
Flavonlar	Apigenin
Flavonoller	Kuersetin
İzoflavonlar	Genistein
Antosiyaninler	Petunidin

1.1.2 Fenolik Bileşikler

Bitki metabolizmalarının da, sekonder metabolit olarak bilinen bitkileri bazı zararlılara karşı korumada görevli olduğu düşünülen çok sayıda değişik çeşit ve miktarlarda farklı tip fenolik bileşikler bulunmaktadır [18]. Bitkiler de en yaygın olarak bulunan fenolik bileşikler ikincil metabolizma ürünlerinin en geniş grubudur, günümüzde birçok fenolik bileşiğin yapısı tanımlanmıştır. Fenolik halka yapısını en basit biyoaktif fitokimyasallardan bazıları bulundurmaktadır.

Örneğin, kafeik asitler (Şekil 1.1), fenil propan türevi bileşiklerin en yüksek oksidasyon durumunda olanıdır ve geniş bir grubun ortak temsilcileridir [19].



Şekil 1.1: Kafeik asit.

Örneğin, oldukça yaygın olan bitkilerden *Artemisia dracunculus* ve *Thymus vulgaris* virüslere, bakterilere ve mantarlara karşı etkili olan kafeik asit üretilir [20]. Genelde bilinenlerin yanı sıra yeni tanımlanan fenolikler katılmaktadır. Bitki kısımlarında meyve, sebze, tohum, çiçek, yaprak, dal ve gövde yapılarında fenolik bileşikler bulunabilirler [21].

Fenolik bileşikler birçok meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşumunda, özellikle ağızda acılık ve mayhoşluk gibi iki önemli tat öğesinin oluşmasında görev alırlar. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, kırmızı, mavi tonlardaki renklerinin belirlenmesi sağlamaktadırlar. Meyve ve sebzeler ile bunlardan elde edilen ürünler düşünülürse bu özellik son derece önem taşır [21]. Meyveler, fonksiyonel gıdada bazı içerdikleri fenolik bileşiklerin antioksidatif ve antimikrobiyal etkilerine bağlı olarak sağlık üzerine olumlu etkiler oluştururlar.

Fenol grubunun ve hidroksil gruplarının, mikroorganizmaların toksisitesi ile bağlantısının bilim insanları tarafından yüksek derecede oksitlenmiş fenollerin daha yüksek inhibitör etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır [22].

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki grup içerisinde değerlendirilir. Flavonoidler, bitkilerin ve bitkilerden elde edilen doğal çayların yapılarında bulunan polifenolik antioksidanlar olarak bilinir [23]. Fenolik bileşiklere, beslenme fizyolojisi tarafından bakıldığında olumlu etkileri sebebiyle "biyoflavonoid" adı da verilmektedir [18,21].

1.1.2.1 Fenolik Asitler

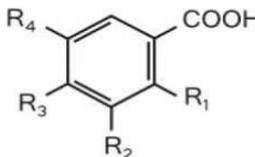
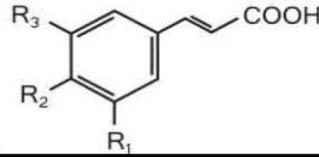
Fenolik asitler, hidroksibenzoik asit ve hidroksisinnamik asit olarak bilinen iki ana sınıftan oluşmaktadır [15]. Hidroksibenzoik asitler C₆-C₁ fenilmetan yapısında olup, bitkilerin içeriklerinde küçük miktarla da bulunur. Bunlar salisilik asit, m-hidroksibenzoik asit, gallik

asit, vanilik asitler gibi asitlerdir. Hidroksisinnamik asitler ise C6-C3 fenilpropan yapısındadırlar. Yapısına göre farklılık gösteren Fenilpropan halkasına bağlanan OH grubunun konumudur. Benzoik asit türevlerine, protokatesuik asit, phidroksibenzoik asit, vanilik asit, salisilik asit ve gensitik asit örnek olarak gösterilir. Kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit ise sinamik asit türevlerindedir [23].

Benzoik asitlerde karboksilat grubunun elektron-çekme yetenekleri, hidroksibenzoatların hidrojen atomu verme özelliğine yapacağı tesir negatiftir. Aynı değerdeki benzoatlarından daha etkili olan hidroksisinnamik asitler fenil-propanoid türevleridir genel anlamda bitkisel gıdalarda bulunur [24].

Hidroksisinnamik asitler, bitkilerin fenolik metabolizmalarında merkezi görev alan ve fenil alaninin biyosentetik türevi olan fenolik bileşenlerdir. Bu bileşikler aynı zamanda flavonoidleri oluşturan öncü yapıdır ve bitkilerde hücre duvarının yapısına katılırlar. Genellikle bu tür fenolik asitler bitkilerde ester halinde ya da şekerler ile organik asitlerle veya yağlarla birleşerek hücre duvarında bulunurlar [25]. Hidroksisinnamik asitler kararlı olduğu trans konumunda olduğu durumdur. Ama bu durum UV ışınlarına maruz kaldığında trans izomerinden cis izomerine gelmektedir [26,27]. Bu bileşenler örnek olarak meyve, sebze, çiçek, tohum, çay, kahve ve zeytinyağı gibi bitkilerden oluşan ürünler de görülür [28,29]. En fazla Kafeik asit, p-kumarik asit ve kafeik asidin kuinik asit esteri olan klorojenik asitin görüldüğü erik, elma, armut ve üzüm gibi bitkilerde bulunan hidroksisinnamik asitlerdir. Klorojenik asit, kafeik asidin depolanma şekli olarak düşünülmektedir, çünkü klorojenik asidin biyosentezi sırasındaki tersinirdir [29,30].

Hidroksibenzoik asitlere örnek gösterilen (Şekil 1.2)'de hidroksi ve metoksi gruplarının çeşitlenmesinin de önemli olan sayıların yerleşimidir. Örnek olarak bunlara gallik, vanilik ve protokateşuik asit verilmiştir. Monohidroksibenzoatlar etkili hidroksil radikal süpürücülerdir çünkü hidroksillenmeye ve hidroksil radikallerine yüksek reaktivite göstermeye eğilimlidirler. Dihidroksibenzoik asit türevlerinin antioksidan aktiviteleri hidroksil gruplarının pozisyonlarına bağlı olup, m-p pozisyonlarına sahip olanlarda (3,4-dihidroksibenzoik asit-protokateşuik asit gibi) aktivite azalır ama diğer pozisyon o- ve m-pozisyonlarında aktivite yüksek olur. (2,3- dihidroksibenzoik asit gibi) en çok aktivite Gallik asitin üç hidroksil grubuna sahip olmasından kaynaklıdır hidroksibenzoik asitler için örnek verilebilir Fakat karboksilat grubu esterlendiğinde aktivite düşer [31].

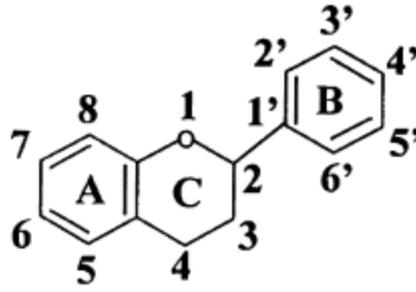
	Benzoik Asit	R₁	R₂	R₃	R₄
	<i>p</i> -hidroksibenzoik asit	H	H	OH	H
	protokateşuik asit	H	OH	OH	H
	vanilik asit	H	OCH ₃	OH	H
	gallik asit	H	OH	OH	OH
	şirincik asit	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	salisilik asit	OH	H	H	H
gentsik asit	OH	H	H	OH	
	Hidroksisinamik Asit	R₁	R₂	R₃	
	<i>p</i> -kumarik asit	H	OH	H	
	kafeik asit	OH	OH	H	
	ferulik asit	OCH ₃	OH	H	
	sinapik asit	OCH ₃	OH	OCH ₃	

Şekil 1.2: Fenolik asitlerin kimyasal yapısı.

1.1.2.2 Flavonlar, Flavanoidler

Flavonlar bir tane karbonil grubu içeren fenolik yapılarıdır (Şekil 1.3). Flavonoidlerde Flavonların genel yapısında olan, ancak hidroksillenmiş fenolik maddelerdir. Flavonoidler, temel yapısı C6-C3-C6 difenilpropan iskeletinden oluşmaktadır. Flavanoidler, bitkilerde bulunan bileşiklerin en önemli grubunu oluşturmaktadır. Mikrobiyal enfeksiyona karşı olarak bitkiler tarafından sentezlendikleri bilindiğinden, çeşitli mikroorganizmalara karşı *in vitro* antimikrobiyal etkilerinin bulunması beklenmedik bir durum değildir. Daha çok lipofilik olan flavonoidler, mikrobiyal membranları da bozabilir [32]. Flavonoid bileşiklerdeki C3 ögesinin en indirgenmiş şekli olan kateşinlerden özel olarak ele alınabilir. Flavonoid yapıları kokulu yeşil çaylarda bulunması nedeniyle çok fazla araştırılmıştır ve bu çayların antimikrobiyal faaliyet gösterdiği ve kateşin bileşiklerinin bir karışımını içerdikleri çok zaman önce bulunmuştur. Meyve, sebze, şarap, kakao ve çayda çok miktarda bulunurlar.

Antioksidan aktivitelerini belirleyen ve aromatik halkalara bağı olan birçok fenolik hidroksil grubu içerirler. Bu bileşiklerin *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans*, *Shigella*, diğer bazı bakteriler ve mayalara karşı aktivite göstermişlerdir. İnsan ve hayvanlarda mide-bağırsak sisteminden emilirler veya değişmeden ya da metabolitleri halinde idrar ve dışkı ile atılırlar. Lipid peroksidasyonunu inhibe eden flavonoidler etkili antioksidan, serbest radikal süpürücü, metal kelatlayıcıdır. Diğer bir taraftan, flavonoid bileşikler, bir veya daha fazla virüse karşı inhibisyon etkisi göstermektedir. Birçok çalışma, glisirizin (meyan kökünden) ve krisin gibi flavonoidlerin HIV'e karşı etkinliğini ortaya koymaktadır [33].



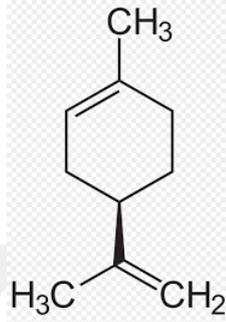
Şekil 1.3: Flavonların genel yapısı.

Flavonoidler; antosiyaninler ve antoksaninler olarak sınıflandırılır. Antoksaninler, renksiz veya beyazdan sarıya dönük renkte görünürler ve flavonol, flavanol, flavon, flavanon ve izoflavonlar olarak gruplandırılır. Antosiyaninler, antosiyanidinlerin glikozitleri olup çiçeklere ve meyvelere renklerini veren kırmızı, mavi ve mor, gibi ve suda çözülebilen en önemli bitki pigment sınıfıdır [34]. Flavanonlar ve flavonlar genellikle bir arada bulunur ve belirli enzimlerle bağıdırlar. Bitki familyasının da flavonlar ve flavonoller arasında karşılıklı zıt bir durum vardır ve flavanon olarak zengin bitkilerde antosiyaninler yok denecek kadar azdır [35].

1.1.3 Terpenler

Terpenler, izopren yapısında olan bileşiklerdir. Terpenlerin kimyasal yapıları (Şekil 1.4)'te gibi C₁₀H₁₆'dır ve diterpenler, triterpenler ve tetraterpenlerin (C₂₀, C₃₀ ve C₄₀) yanı sıra hemiterpenler (C₅) ve seskiterpenler (C₁₅) olarak gruplandırılır. Genellikle bileşikler oksijen olmak üzere ek elementler bulundurduğundan, terpenoitler olarak adlandırılırlar [19]. Terpenoitler, asetat ögelerinden sentezlenir ve yağ asitleriyle aynı kökene sahiptirler. Yağ asitlerinden; dallanma düzeyleri sıklığına göre farklılık gösterirler. Bilinen örnekler terpenoit için; mentol kâfur (monoterpen), farnesol ve artemisindir (seskiterpen). Terpenler

ya da terpenoitler bakteri, mantar, virüs ve tek hücrelilere karşı aktivite gösterirler. Geçmiş zamandan bugüne kadar incelenen uçucu yağ türevlerinin % 60'ı antifungal, % 30'u ise antibakteriyeldir. Örneğin *Oxalis triangularis* 'purpurea' etanolle ekstraktesinin *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*'a için yüksek; *Candida albicans* ve gram-negatif bakterilerde ise görülen daha düşük aktivite petalostemumol adı verilen bir terpenoit içerdiği gösterilmiştir [19].



Şekil 1.4: Terpenin yapısı.

1.2 Serbest Radikaller

Vücudumuz devamlı bir oksidatif strese maruz kalmaktadır. Vücutta ki oksijen çiftlenmiş elektronu olmayan iki farklı atoma ayrılarak elektronlar çiftler halinde bulunmak isterler. Bu sebeple serbest radikal diye bahsettiğimiz bu atomlar, elektronlarını çiftlemek istedikleri için vücutta atom bulmak için uğraşırlar. Bu da hücrelere, proteinlere ve DNA'ya zarar verir.

Radikaller, dış orbitallerinde bir daha çok elektron içeren paylaşılmamış kimyasal yapılar olarak bilinirler. Dış orbitallerde çiftlenmemiş elektron bulunması, bahsedilen kimyasal türün reaktivitesini çok fazla bir şekilde arttırdığı için, radikaller reaktivitesi yüksek olan kimyasal türlerdir [36].

Biyolojik sistemlerdeki oksijen kaynaklı olan serbest radikaller en önemlileridir. Bu radikaller, süperoksit tek elektron aktarması oksijenin suya indirgenmesi sonucunda oluşan radikalidir iki elektron aktarması sonucunda hidrojen peroksit radikali, üç elektron aktarması sonucunda hidroksil radikali oluşur [37]. Fizyolojik şartlar normal olduğunda oksijenin %2-5'i reaktif oksijen türlerine (ROT) dönüşmekte ve antioksidan sistemiyle ortadan yok edilmektedir [38]. Reaktif oksijen türlerinin temel ana kaynağının süperoksit radikali olarak bilinir ve onun da ana kaynağının mitokondri olduğu düşünülür [39].

Sebebi mitokondride oksijene her defasında sadece bir elektron transfer edilebilmesinden kaynaklı, elektron transferi sırasında süperoksit radikali oluşumu mecburiyet içerebilir. Şaşırtıcı olan ise mitokondride yaşla kararlı bir şekilde O_2 ve H_2O_2 üretim hızı da artış gösterir [40]. Reaktif oksijen türleri (ROT), pek çok redoks işlemlerinde ortaya çıkan başlıca serbest radikallerdir.

Serbest radikaller, damar tıkanıklığı, kanser, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve diğer hastalıklarla da ilişkilidir. Serbest radikallerin bir diğer hastalık kademeli serbest radikal hasarı birikimi olarak açıklanan hücrelerin genetik kodları değiştiğinde ölmekte, aşırı hücre ölümü ise yaşlanmayla da bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Serbest radikallerin dokulardaki zararının, damar sertliği ve kalp hastalıklarının başlıca sebebi olduğu düşünülmektedir. Oksidatif zararlar dağılan kan hücrelerinin arter duvarına yapışması ve kolesterolün yükselmesi arterlere zarar verir. Bu oluşumların tamamı damar sertliğinin ilerlemesine neden olduğu görülmektedir. Daha ileri aşamalarda ise kalp ile beyne giden kan ve oksijen azalmakta oksijenden eksik kalan dokular hastalığın ilerlemesine ve kalp krizi riskine artırmaktadır. Ayrıca hücrelerin genetik kodları değiştiğinde kanser ve benzeri hastalıkları destekleyen hücre grupları meydana gelebilmektedir [41].

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu normal metabolik olaylar esnasında meydana gelebildiği gibi organizmanın çeşitli dış etkenlere maruz kalmasıyla da meydana gelebilir. Bu nedenle serbest radikal kaynakları endojen ve ekzojen olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır (Tablo 1.2) [42].

Tablo 1.2: Endojen ve eksojen kaynakların sınıflandırılması.

Endojen kaynaklar

- Mitokondrial sızıntı
- Solunumsal patlama
- Enzim reaksiyonları
- Otoksidasyon reaksiyonları

Eksojen kaynaklar

- Sigara dumanı,
 - Alkol
 - UV ışını
 - İyonize radyasyon
 - Ksenobiyotikler
 - Çevresel kirlenme
 - İlaçlar
 - Diğer faktörleri
-

Bulduğumuz konumda çeşitli fiziksel ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Nerede ve ne şekilde oluştuğuna bakılmaksızın, radikaller başlıca üç temel mekanizma ile oluşurlar [36].

Kovalent Bağların Homolitik Kırılması: Kimyasal bağların kırılmasına sebebiyet veren yüksek enerji ve yüksek sıcaklık 500 - 600 °C yüksek enerjili elektromanyetik dalgalardır. Kırılma esnasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa bu tür kırılmaya homolitik kırılma olarak adlandırılır. Atom üzerinde de paylaşılmamış iki tane elektron kalır. Paylaşılmamış elektron taşıyan türler radikalik özellik gösterirler.

Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi: Elektron kaybı sonucu dış orbitalinde paylaşılmamış elektron duruyor ve radikal özellik göstermiyor ise radikal formu oluşur.

Normal Bir Moleküle Elektron Transferi: Dış orbitalinde paylaşılmamış elektron tek elektron transferi oluşturuyorsa ve radikal özelliği taşımayan bir molekülün yaptığı bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olur.

Canlının yaşamını geçirdiği çevrede bulunan çeşitli fiziksel etkenler ile fizyolojik ya da patolojik reaksiyonlar sebebiyle sürekli bir radikal yapımından söz edilebilir [43]. Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en önemli olan radikaller oksijen ve azottan oluşan radikallerdir. Hücresel koşullarda önemli olarak etkileyen miktar ve çeşitlilikte serbest radikal üretilir. Serbest radikaller çok fazla ortaklanmamış elektron içerirler. Çok fazla ortaklanmamış olması serbest radikali manyetik alanda paramanyetik kılarken kimi zaman bu türlerin kimyasal reaktivitesi fazla yüksek olur. Biyoloji ve kimya alanlarında pek çok serbest radikalın var olabileceği düşünülmektedir [44]. Radikalik ve radikalik olmayan iki reaktif türler bulunmaktadır. En önemlileri reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) olarak tanımlanır [44].

1.3 Antioksidanlar

Dokular ve hücre, radikal ürünleri ve çeşitli reaksiyonları yok eden bir sisteme sahiptir. Radikallerle çeşitli reaksiyonlara girerek otooksidasyon ilerlemesini önleyen maddeler antioksidanlardır. Antioksidan savunma sistemi radikal metabolit üretiminin engellenmesi, üretilmiş radikallerin yok edilmesi, oluşan hücre onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının bekletilerek durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması olarak ayırabildiğimiz beş değişik konu başlığı oluşturur [45]. Antioksidanlar, yiyeceklerde veya vücutta düşük derişimlerde bulunduğu zaman, oksidasyonu önemli derecede engelleyen veya geciktiren maddelerdir [38]. Bazı çalışmalar antioksidan savunma sisteminin bileşenlerin enzimsel olarak görülüp görülmemesine, atalaz, SOD ve GSH-Px''ın rol aldığı antioksidan aktiviteleri, enzimatik antioksidan savunma tokoferol, askorbat, glutatyon, ürik asit, glikoz gibi maddelerle oluşturulan deoksidasyon işlemlerini nonenzimatik savunma olarak adlandırılır. Ve antioksidan çalışma mekanizması ve prensipleri (Şekil 1.5)'te gösterildi [46,52]. Öte yandan, antioksidanlara daha çok özel rollerin yüklendiği çalışmalarda, antioksidan savunmasının selüler, membransel ve ekstraselüler olarak sınıflandırıldığı bilinmektedir oksidatif stresin etkilerinin yok edilmesinin endojen kaynaklı antioksidanlara destek olmaktadır. Antioksidanların bir başka üretim yolu ise bunların endüstriyel olarak sentezlenerek bu şekilde üretilen antioksidanlar sentetik antioksidanlardır. Doğal antioksidanların aksine sentetik antioksidanların insan sağlığı düşünüldüğünde güvenilirliği tartışma altındadır [47]. Sentetik antioksidanlar özellikle hazır gıdalarda daha çok kullanılmaktadır. Bunun temel nedeni deodorizasyon veya kızartma gibi sıcaklık işlemleri ve uzun depolama koşulları altında gıdalarda oluşan lipid oksidasyonu ve serbest radikal oluşumunun önlenmesi ve beslenmeyle alınan gıdalar aracılığıyla

organizmada oluşabilecek serbest radikal düzeyini azaltarak ortaya gelebilecek hastalıklara karşı önlem almaktır [48]. Sentetik antioksidanlardan en önemlileri BHA (bütillenmiş hidroksianisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), TBHQ (tersiyerbutil hidrokinon) ve PG (propilgallat)'dır. Ancak günümüzde sentetik antioksidanların bazı toksik etkilere neden olduğunun belirlenmesi sonucu doğal antioksidanlara olan ilgi giderek artmaktadır [49].

Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler. Bunlar;

Endojen antioksidanlar: Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

Enzim olan endojen antioksidanlar: 1) Süperoksit dismutaz (SOD). 2) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px). 3) Glutasyon S-Transferazlar (GST). 4) Katalaz (CAT). 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi. 6) Hidroperoksidaz.

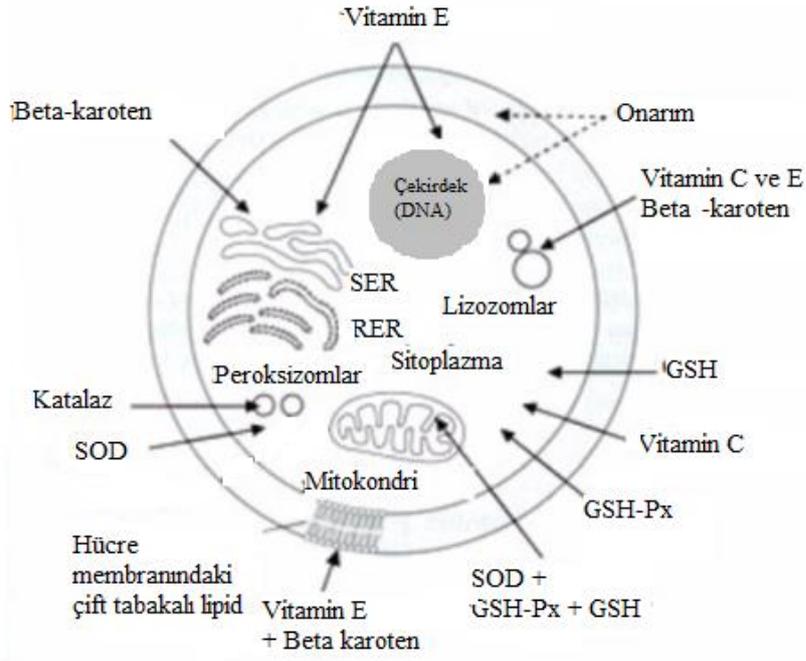
Enzim olmayan endojen antioksidanlar: 1) Melatonin. 2) Seruloplazmin. 3) Transferrin. 4) Miyogloblin. 5) Hemogloblin. 6) Ferritin. 7) Bilirubin. 8) Glutasyon. 9) Sistein. 10) Metiyonin. 11) Ürat. 12) Laktoferrin. 13) Albümin.

Eksojen antioksidanlar: Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

Vitamin eksojen antioksidanlar: 1) α -tokoferol (vitamin E). 2) β -karoten. 3) Askorbik asit (vitamin C). 4) Folik asit.

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar: 1) Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten). 2) NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokları, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, diphenylene iodonium). 3) Rekombinant süperoksit dismutaz. 4) Trolox-C (vitamin E analogu). 5) Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein). 6) Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin). 7) Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin). 8) Nötrofil adezyon inhibitörleri. 9) Sitokinler (TNF ve IL-1). 10) Barbitüratlar. 11) Demir şelatörleri.

Gıdalardaki eksojen antioksidanlar şunlardır: 1) Butylated hydroxytoluene (BHT). 2) Butylated hydroxyanisole [50,51].



Şekil 1.5: Antioksidanların çalışma mekanizması ve oksidatif stres.

Bu nedenle doğal olarak üretilen organik antioksidanların izole edilmesiyle ilgili araştırmalar artmıştır. Sebzeler, meyveler, yağlı tohumlar, tahıl ürünleri, ağaç kabukları, kökler, baharatlar ve bitkilerin potansiyel antioksidan kaynakları olduğu kayıt altına alınmıştır [49]. Doğal antioksidanların çoğu özellikle flavonoidler antibakterial, antiviral, antiinflamatuvar, antialerjik ve antitrombotik özellikleri de içine alan, geniş bir biyolojik etki durumu oluşturur [53]. Antioksidan aktivitesi yaşam için temel bir özelliktir antimitojenik, antikarsinojenik’de aralarında bulunduğu çok fazla biyolojik fonksiyon bu özellikten meydana gelmektedir. Antioksidan ajanlar oksidan moleküllere karşı etki dört yolla gösterirler. Bunlar:

1. Süpürme (Scavenging) etkisi gösterenler: Radikal oluşumunu engellemeye sebep olur ve oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Örnek olarak, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimler ve metal bağlayıcı bazı proteinlerdir.

2. Giderme/Söndürme (Queching) etkisi gösterenler: Oksidanlarla etkileşip, bir hidrojen aktararak aktivitelerini engelleyen ve inaktif hale getiren bileşikler olarak tanımlanır. Örnek olarak, vitaminler (A, C ve E vitaminleri), flavonoidler, mannitol ve antosiyanidinler verilebilir.

3. Zincir reaksiyonlarını kırma (Chain Breaking) etkisi gösterenler: Zincirleme olarak devam eden tepkimeleri belli yerlerinden parçalayarak, oksidan molekülleri kendilerine bağlayarak etkisiz hale getirirler. Örnek olarak ürik asit, bilirubin ve albümin gösterilebilir.

4. Onarma (Repair) etkisi gösterenler: Zarara uğramış olan biyomolekülü onararak oksidan moleküllerin zararlı etkilerini ortadan yok eder. Örnek olarak DNA tamir enzimleri, metionin sülfoksit redüktaz gösterilebilir. Canlılarda mekanizmalar sonucu oluşan serbest radikaller, genelde lipid oksidasyonuna ve buna bağlı olarak da hücre ölümlerinin sebep oluşturur. Antioksidan bir madde bu oksidasyonun çeşitli aşamalarında yukarıda özetlenen mekanizmalar yoluyla koruyucu özelliğe sahip maddelerdir [54].

1.4 *Lupinus angustifolius* L. subsp. *angustifolius* ' un Sistematik Kategorisi

Alem: Plantae

Bölüm: Spermathophyta

Altbölüm: Angiospermae

Sınıf: Dicotyledonae

Altsınıf: Rosidae

Takım: Fabales

Familya: Fabaceae

Altfamilya: Faboideae

Oymak: *Genistae*

Altoymak: *Lupininae*

Cins: *Lupinus* L.

Tür: *Lupinus angustifolius*

Alttür: *Lupinus angustifolius* L. subsp. *angustifolius*

1.4.1 Fabaceae (Leguminosae) Familyası Genel Özellikleri

Fabaceae familyası ekonomik yönden önemli taksonları barındıran; odunsu ve otsu bitkilerden oluşmaktadır. Beslenme amaçlı olarak kullanılmasının yanında topraktaki serbest azotu özümlemesi bu grubun değerini bir kat daha arttırmaktadır [55]. Fabaceae familyasının çoğu üyesi besin maddesi bakımından fakir topraklarda azot fikse eden *Rhizobium* bakterisi ile simbiyotik olarak yaşar [56]. Dikotiledonlar içinde ekonomik önemi olan Fabaceae familyasının tohumları, yüksek protein miktarı (%20-50) nedeniyle insan ve hayvan beslenmesinde önemli kullanım alanına sahiptir. Türkiye coğrafi konumu, jeomorfolojik yapısı ve değişik iklim tiplerinin altında bulunması nedeniyle son derece zengin bir floraya

sahiptir. Fabaceae familyasının ülkemizde 69 cinsi vardır ve bunlara ait takson sayısı 1128 olup, endemik takson sayısı 375, endemizm oranı % 39.1'dir [57]. Fabaceae familyasının üyeleri; insan ve hayvan beslenmesi, süs ve tıbbi özelliğe sahip çeşitli türleri bünyesinde bulundurması bakımından da oldukça önemlidir [57].

1.4.2 *Lupinus* Cinsinin Genel Özellikleri

Lupinus cinsinin üyeleri ülkemizde; acı bakla, delice bakla, gâvur baklası, koyun baklası, kurt baklası, mısır baklası, yaban baklası, yahudi baklası, termiye ve acıbakla ve gibi farklı isimlerle bilinmektedir. Bu cinsin üyeleri tek yıllık otsu bitkilerden oluşmaktadır. Acıbakla, baklagiller (Fabaceae veya Leguminosae) familyasının tek yıllık otsu bitki [59]. Bitkinin boyu yaklaşık bir metreye kadar uzamaktadır. Yaprakları parçalı bir yapıya sahip olup ince tüylerle kaplıdır. Mayıs-Temmuz aylarında çiçek açan acıbakla meyvelerinin sonbahara doğru olgunlaşmaktadır [60]. Kirli sarı renge sahip meyvenin şekli yassı ve yuvarlağa yakındır. Türkiye’de *Lupinus*; acı bakla, delice bakla, gâvur baklası, koyun baklası, kurt baklası, mısır baklası, yaban baklası, Yahudi baklası ve en yaygın olarak da “termiye” gibi farklı isimlerle bilinmektedir [60].

1.4.2.1 Kullanım Alanları

Lupinus albus, *L. angustifolius* ve *L. luteus* pek çok ülkenin tarımsal alanda en çok ürettiği *Lupinus* türlerindedir. *Lupinus* üretiminde; Akdeniz ülkeleri ve Afrika birinci; Amerika ise ikinci bölge konumundadır. *Lupinus* türlerinin tarımda kullanılması çok eski tarihlere dayanır ve Akdeniz tarım sisteminin önemli bir elementidir. Akdeniz bölgesindeki *Lupinus* türleri çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Yeşil gübre, toprak koruma ve hayvancılıkta doğrudan otlak olarak kullanımı mevcuttur. Pek çok *Lupinus* türü eski tarımcılar tarafından tohumları için, yeşil gübre ve yem olarak kullanılmıştır. Eski Romalılar ve Yunanlılar *L.albus*’u toprak ıslahı için kullanırlardı. *Lupinus* tohumları hala Akdeniz bölgesindeki pek çok ülkede tüketilmektedir. 20. yüzyılın ikinci yarısından sonra bazı *Lupinus* türleri önemli tarım bitkisi gelmiştir. Bu yüzyılda bazı *Lupinus* türleri (*L. albus*, *L. angustifolius* ve *L. luteus*) kültüre alınmıştır [61].

Modern *Lupinus* türlerinin yetiştiriciliği 1920’lerde Almanya’da başlamıştır. Almanya’da Dr. von Sengbusch çeşitli, alkaloid içermeyen *Lupinus* türleri geliştirdi [62]. *Lupinus* cinsine ait türlerin azotlu gübreye ihtiyacı yoktur. Bu da bu türleri tarım için elverişli hale getirmektedir *Lupinus albus* subsp. *albus* insan besini olarak tüketilmesi açısından uzun bir

geçmişe sahiptir [62]. Bu taksonun tohumları diyabet ve intestinal parazitlerin tedavisinde tıbbi bitki olarak da kullanılmaktadır [62].

Alkaloid oranı düşük olan *Lupinus* türleri insan ve hayvan beslenmesinde güvenle kullanılmaktadır. *Lupinus* tohumları çok değerli içerik maddelere sahiptir [63]. *Lupinus* tarımının toprak yapısını düzeltmesi, derine inen kazık kökleri ile alımı zor olan fosfordan faydalanma, daha sonra gelecek olan bitkilere ideal yapıda bir ortam bırakma gibi avantajları vardır [64].

Lupinus protein kaynağı, lif ve mevcut yan ürünleri takviyesi için kullanılabilir. Aynı zamanda ekmek, bisküvi, makarna ürünleri ve diğer gıda ürünlerinde de kullanılabilirler [65]. *Lupinus* yüksek protein oranına sahip (%28-47.6) ve diğer baklagillerin yetişemediği alanlarda yetişebilen özel bir bitkidir.

Lupinus türleri uzun senelerdir yeşil gübre, yem bitkisi ve tohumlarından insan ve hayvan beslenmesinde faydalanmasıyla bilinen bitkilerdir. *Lupinus*'un farklı türleri süs bitkisi olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca son yıllarda mevsimlik çiçek olarak önerilmekte ve kesme çiçek kataloglarında bulunmaktadır [66].

1.4.3 Yayılışı ve Morfolojik Özellikleri

Lupinus cinsi ülkemizde 1' i endemik 6 tür (8 takson) le temsil edilmektedir. (Şekil 1.6)' de ülkemizde görülen taksonlar liste halinde sunulmuştur [67].

Familya	Ad	Türkçe	Endemizm
Fabaceae	<i>Lupinus albus</i> L.	termiye	
Fabaceae	<i>Lupinus albus</i> subsp. <i>albus</i> L.	termiye	
Fabaceae	<i>Lupinus albus</i> subsp. <i>graecus</i> (Boiss. & Sprun.) Franco & Silva	tavşanbaklası	
Fabaceae	<i>Lupinus anatolicus</i> W.Swiecicki & W.K.Swiecicki	mısırbaklası	ENDEMİK
Fabaceae	<i>Lupinus angustifolius</i> L.	acıbakla	
Fabaceae	<i>Lupinus angustifolius</i> subsp. <i>angustifolius</i> L.	acıbakla	
Fabaceae	<i>Lupinus angustifolius</i> subsp. <i>reticulatus</i> (Desv.) Cout.	yahudibaklası	
Fabaceae	<i>Lupinus hispanicus</i> Boiss. & Reut.	delicebakla	
Fabaceae	<i>Lupinus micranthus</i> Guss.	domuzbaklası	

Şekil 1.6: Ülkemizde yayılış gösteren *Lupinus* taksonları [67].

Tek yıllık (annual), 20-80 cm arası boylanmaktadır. Yaprakçıkları 20-50 x 2-4 mm, düz, linear veya spatulat, çiçeklerin alternat dizilişli, korolla 11-13 mm ve mavi kaliksin üst dudağı iki parçalıdır. Meyve (legümen) 35-60 x (6-) 8-13 mm, kısa ve tüylüdür. Meyve rengi sarıdan siyaha doğru. Tohumlar 6-7 mm, düz ve çeşitli renklerde. Çiçeklenme zamanları Mart-Mayıs aylarındadır. Deniz seviyesinden 100 m yüksekte, hafif topraklarda yetişir. Türkiye’de; A1 (E) Çanakkale, A2 (E) İstanbul: Rumelihisarı, A2 (A) Kocaeli: Hereke, B1 İzmir: Emiralem, C1 Muğla: Bodrum, C2 Aydın: Yenipazar, C4 Adana: Anamur’ da rapor edilmiştir [64].



Şekil 1.7: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius*' un genel görünüşü.



Şekil 1.8: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius*'un meyveleri.

1.4.3.1 Kimyasal İçerikleri ve Kullanım Alanları

Acıbakla (*Lupinus sp.*) Leguminosae ailesinin üyesi olan genellikle Akdeniz bölgesinde yetiştirilen bir bitki olarak bilinmektedir. Lupinusun çok fazla türü olmasına rağmen en çok yetiştirilen 3 -4 çeşidi var. Bunlar; ak acıbakla (*Lupinus albus*), sarı acıbakla (*Lupinus luteus*), mavi acıbakla (*Lupinus angustifolius*), inci acıbakla (*Lupinus mutabilis*)'tir [68]. Şuan üretilen acıbakla çeşitleri alkaloid içeriği tarafından daha az %0.01'in altındadır. Genetik yapıları daha üstün durumdadır ve buşekilde ıslah edilmektedir bu yüzden tatlı acıbakla olarak anılmaktadırlar [69]. Tabiki farklı bölgelerde yetiştirilmiş acıbakla çeşitleri besin madde yapısı olarakdeğişkenlikler gösterebilmektedir. Üzerine çalışmaların yapıldığı ve kimyasal içeriği ve amino asit bileşimi en çok bilinen mavi acıbakla (*Lupinus angustifolius*), ak acıbakla (*Lupinus albus*) ve sarı acıbakla (*Lupinus luteus*) türleridir. Tohumlarında ki protein içerikleri oranları kuru maddede genellikle %28-45 arasında değişkenlik göstermektedir. Acıbakla tohumlarında ki protein yapıları ikiye ayrılır albumin ve globulin olarak bilinir. Toplam proteinin %85'ini globulinler geriye kalan kısmını albuminler %15'ini oluşturmaktadır. Globulinlerin tohumlarında farklı tipte α , β ve γ gibi üç tipi bulunmaktadır [72].

Acıbakla tohumlarının ıslah edilen türlerinde içeriğinin lizin ve metiyonin amino asidinin açısından düşük oranda bulunması başka farklı birçok baklagil proteinleri ile aynı olduğunu gösteriyor. Fakat acıbakla tohumlarının iyi bir arjinin kaynağı olduğu bilinmektedir. Tohumundaki kabukların karbonhidrat içeriği değişiklik gösterir ve embriyosu farklıdır. Acıbakla embriyosu yapısal polisakkaritlerden selüloz, hemiselüloz, pektin ve az miktarda

lignin içerirken kabukları ise yapısal olmayan hücre duvarı polisakkaritlerinden (NSP) galaktoz (%67), arabinoz (%13) ve üronik asit (%10) içerir [70]. Acıbaklanın içeriğinde bulunan ana polisakkarit β -(1-4)-galaktan; D-galaktoz, L-arabinoz, L-ramnoz ve galaktouronik asittir [71]. Acıbakla tohumları yüksek ham selüloz içeriğine sahip %12-18 arasında değişen bir miktardadır. Bu türlerde tohum kabuğunun kalınlığını etkileyen bir sonuçtur. *L. luteus* 'larda %30, *L. angustifolius* 'larda %25 ve *L. albus* 'larda %15'idir [73]. Tohumunda ki ve hücre duvarında bulunan galaktanlar ve pektik maddeler ham selüloz tayini tespit edilemez ve bu acıbaklanın kullanılabilir karbonhidrat içeriğinin düşük tespit edilmesine neden olur. Tohum (*Lupinus angustifolius*) 'nun yaklaşık %38'i NSP'lerden oluşur bununda yaklaşık %89'u suda çözünemeyen moleküllerden yapılardır [74]. Acıbakla tohumlarında nişasta (%0.4) yağ içeriği %4-11 arasında değişmektedir. *L. albus* (%8-11) Acıbakla türlerinin yağı ile soya yağı yağ asidi yapıları birbirine benzerlik gösterir fakat çevresel faktörlere göre farklı tür ve çeşitler arasında önemli ölçüde farklılıklar gözlenebilir. *L. albus* türünün toplam yağ içeriğinin %70- 80'ni doymamış yağlardan oluşmaktadır. Ve toplam yağ miktarı ile içerisinde ki oleik asit miktarının arasında bir bağ olduğu ve oleik asit yağ miktarı %53 olduğu bilinmektedir [78]. *L. angustifolius* ve *L. luteus* çeşitlerinde ise yağ asiti farklıdır genellikle dominantolan yağ asidi linoleik asittir. *L. angustifolius* çeşidinin linoleik asit içeriği %33.7-48.3 arasında farklılık göstermektedir [78]. Ancak bu yağ asidinin kendisi esansiyel olduğu gibi hayvan beslemede kullanımını sınırlayan en önemli etkenin içeriğinde bulundurduğu alkaloid ve glikozitlerdir. Hastalıklara sebep olan alkaloidler hayvanlar tarafından yüksek miktarda tüketildiklerinde *lupinose* denilen bir hastalığa sebep olurlar [78].

1.4.3.2 *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* Üzerinde Yapılmış Literatür Çalışmaları

L. angustifolius subsp. *angustifolius* (Fabaceae) *Lupinus* cinsinin önemli taksonlarından birisidir. Fabaceae ailesine ait otsu bitkilerin toprak verimliliği artırma, sanayi ve pek çok tıbbi ve farmakolojik alanda kullanılmaktadır. Bununla birlikte acıbakla tohumlarının çoğu hayvan yemi olarak kullanılır %4'ten azı insanlar tarafından tüketilmektedir [75]. *Lupinus* tohumlarının yüksek proteinli, yüksek lifli ve düşük yağ içeriğinden dolayı besin değeri mükemmel sanayi potansiyeli yüksektir [76]. *Lupinus* (acı bakla) baklagiller familyasından, 200 kadar türü içeren bitki cinsidir. Bu cinsin yabani çeşitleri vardır [77]. Bununla birlikte, dünya üzerinde sadece dört ana tür yetiştirilmektedir. *L.angustifolius* (mavi lupin), *Lupinus albus*(beyaz acıbakla), *Lupinus luteus* (sarı acıbakla) ve *Lupinus mutabilis* (inci acıbakla).

Bu türlere, sahip oldukları düşük alkaloid içeriği ve dolayısıyla daha az toksik olmalarından dolayı tatlı lupinler olarak adlandırılır. Acıbakla ürünlerinde toplam alkaloid miktarı için İngiltere, Fransa, Avustralya ve Yeni Zelanda sağlık yetkilileri tarafından belirlenen güvenlik limiti, kuru madde 0.2 g / kg'dır [79]. Yüksek konsantrasyon da tüketildiğinde alkaloidler zehirli olabilir [80]. Avustralya'da üretilen baskın çeşit acıbakla *L. angustifolius*. *Lupinus* esaslı gıdanın başlıca sağlık faydaları şunlardır: kan basıncının düşürülmesi, bağırsak fonksiyonunun iyileştirmesi, kolonik mikrobiyotik büyümenin uyarılması, kolon kanseri riskinin azalması, kan glikoz seviyelerinin kontrol edilmesi ve kardiyovasküler sağlığın iyileştirilmesini sağlar [81,83]. Sağlık yararları göz önüne alındığında acıbaklaya ait polisakkaritler biyolojik aktivitelerini araştırmak son derece önemlidir [84]. Doğal antioksidanlara olan ilgi önemli ölçüde artış göstermektedir. Ayrıca acıbakla alkaloid ekstresinin antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri standart bakteri suşlarına karşı test edilmiş ve önemli aktivite göstermiştir [85]. Son yıllarda önlem ve tedavi etkilerinden sebeple çeşitli hastalıklarda kullanımı araştırılmaktadır ve bu yüzden diğer bir konu olan antimutajenik, antibakteriyel, antifungal ve antikanser gibi biyolojik özelliklerin bitkiler üzerindeki etkileri de önem kazanmıştır [86].



2. MATERYAL VE METOT

2.1 Bitki Materyallerinin Hazırlanışı

Çalışmanın materyalini *L. angustifolius* subsp *angustifolius* taksonu oluşturmaktadır. Taksonun, meyve zamanında toprak üstü kısımları toplanmıştır. Bitkilerin toplanma lokalitesi aşağıda verilmiştir: B1 Balıkesir: Edremit, Altınoluk Şahinderesi mevki, zeytinlik üstleri, 120 m, 12.06.2017 SV1160.

Bitki örneklerinin teşhislerinde Türkiye Florası'ndan faydalanılmıştır. Teşhisi yapılan bitkilerin doğruluğu Prof.Dr. Selami SELVİ tarafından onaylanmıştır. Teşhisi yapılan ve onaylanan örnekler etiketlenerek herbartum örneği olarak Altınoluk Meslek Yüksekokulu Botanik laboratuvarı'nda muhafaza edilmektedir. (Tablo 2.1)'de bitkiye ait veri tablosu yer almaktadır.

Tablo 2.1: Bitki veri tablosu.

Bitkinin adı	Toplandığı yer	Tarih	Herbaryum numarası	Yükseklik(m)
<i>L. angustifolius</i> subsp <i>angustifolius</i>	B1 Balıkesir- Edremit Altınoluk	12.06.2017	SV1160	120 m

2.2 Bitki Ekstralarının Hazırlanışı

L. angustifolius subsp. *angustifolius* bitkisi kuru ortamda güneş görmeden kağıt üzerinde kurutuldu. Bitkiye ait yaprak, gövde ve tohum örneklerinden öğütülerek 4'er gr tartıldı 40 ml methanol eklenerek 1 saat buz banyosu içinde çalkalamalı inhibitörde bekletildi daha sonra 8750 rfm 5dk santrifüj edildi, ekstrakt için bu işlem 3 kez tekrarlandı. Süzgeç kâğıdından süzülerek ve çözücü rotary evaporatörün (döner buharlaştırıcı) (Şekil 2.1)'de 40° C'de uçuruldu. Bitki ekstralarının % verimlerinin belirlenmesi için bitki kısımlarının kuru ağırlıkları tartıldı. Daha sonra elde edilen ekstraların tartımı yapıldı ve yield % verimi denklemi ile (kuru ağırlık x ekstra verimi=100 x ekstra ağırlığı) bulundu ve +4° C'de saklanacak şekilde bitki ekstraktı hazırlandı. Deney de kullanılacak bitki ekstrakt konsantrasyonları için 1000 mg/ml olacak şekilde distile su ile çözüldü.



Şekil 2.1: Döner buharlaştırıcı.

2.3 Kullanılan Kimyasal Çözeltiler

%7 Na₂CO₃: 7gr Na₂CO₃ tartılıp distile suda çözüldü ve distile su ile balon jodede 100 ml'ye tamamlandı.

1 mM DPPH: 0,039432 gr DPPH tartılarak etanolde çözüldü ve balon jodede etanolle 100 ml'ye tamamlandı.

%5 NaNO₂: 5 gr tartılıp distile su ile 99,7 g/100'dan 100 ml suda çözüldü.

AlCl₃ : .% 10 AlCl₃ çözeltisi 133,34 g / mol 100 ml'ye kloroform ile tamamlandı.

NaOH: 1M 39,997 g/mol çözeltisi hazırlandı.

Gallik asit: Farklı derişimlerde 1ppm=1ml/kg olacak şekilde hazırlandı.

2.4 Kullanılan Mikroorganizmalar

Mikroorganizmaların antifungal aktivite testinde; *Aspergillus niger* van Tiegh (TA 47-3), *Aspergillus flavus* Link (TA 41-17), *Aspergillus ochraceus* K. Wilh. (MUCL 39534) ve *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg (TA 18-2) kullanılmıştır. Bitki ekstratlarının antitüberküloz aktivitede *Mycobacterium tuberculosis*' in H37Ra (ATCC 25177) ve H37Rv (ATCC 27294) suşlarına ve 16/6 ve TB05 iki hasta suşuna karşı denendi. Tüm mikroorganizmalar Balıkesir Üniversitesi, Fen – Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü 'nünde mikrobiyoloji laboratuvarında saklanmaktadır.

2.5 Kullanılan Besiyerleri

2.5.1 Antifungal Aktivitede Kullanılan Besiyerleri

Tüplerde Broth besiyerleri yatık agarlı ve petri kabında besiyeri hazırlanması için tüplere 6 ml olması için besiyeri eklenmiştir ve daha sonra 1.5 atm basınçlı 121 °C' de 20 dakika otoklavda sterilizasyon işlemi gerçekleştirildi. Sterilizasyon işlemi sonrasında tüpler yatık olarak daha sonra kullanılmak üzere + 4 °C' de buzdolabında saklandı.

2.5.2 Antitüberküloz Aktivitede Kullanılan Besiyerleri

Middlebrook 7H9 Broth Base (pH 6.6 ± 0.2) antitüberküloz aktivitesi için kullanılan *Mycobacterium tuberculosis* bakteri kültürü ve pasajlanması için özel besiyerisi kullanıldı. MGIT tüplerin dip kısımlarında bulunan silikon oksijene hassas floresans sensörü tüpün iç kısmında bakteriler üremeden önce bulunan oksijen varlığı floresansını görünmesini engelleyicidir. Fakat bakterilerin çoğalması sonucunda ortamda ki oksijenin azalması sebebiyle UV ışığında (Wood'un lambası) 365 nm' de floresansın gözükmesine olanak sağlar. Böylelikle bakteri üremesinin olduğu kontrol edilir.

2.6 Serum Fizyolojik Hazırlanışı

9 gr NaCl, 1 litre distile suda çözülerek hazırlandı. Tüplere paylaştırılarak otoklavda 20 dakika 121 °C' de steril edildi. İnokulum süspansiyonunun hazırlanmasında kullanıldı.

2.7 İnokulum Süspansiyonunun Hazırlanışı

Antifungal aktivitede ise fungus inokulumu 450 nm' de 0.6 absorbans değeri okunarak ayarlandı.

2.8 Antioksidan Tayin Yöntemleri

2.8.1 Total Fenol Miktar Tayini

Bitki ekstralarının da ki toplam çözünebilir fenolik madde Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) yöntemine göre tayin edildi. Folin-Ciocalteu içerisinde bulunan fosfotungistik ve fosfomolibidik asitlerin oksidasyon sonucunda elde edilen mavi renkli bileşiklerin konsantrasyonun 760 nm'de spektrofotometre cihazında okunmasına dayalı tekniktir. Yüksek absorbans, fenolik bileşiklerinin içeriğini yansıtır [92]. Genellikle sonuç eş değer gallik asit (mg/100g) cinsinde ifade edilir. Çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan bitki ekstralarından 0,125 ml alındı ve üzerine 0.5 distile su ilave edildi. 0,125 ml Folin-Ciocalteu

çözültisi eklendi. 3 dk inkübasyona bırakılır. 1,25 ml %7 NaCO₃ eklenir. 1ml distile su eklenir. Karışımın absorbandı 760nm'de ölçülür. Gallik aside göre kalibrasyon eğrisi çizildi. Gallik asit konsantrasyonu 0-100 µg /µl (R²= 0.99) arasında hazırlandı. Oluşan eğriden fenolik madde miktarı (GAE) eş değeri mg/100g olarak hesaplandı [88].

2.8.2 DPPH Radikal Süpürücü Etki Tayini

Serbest radikal süpürücü aktiviteleri 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) kullanılarak belirlendi. Yöntemim prensibi, özütlerin bir proton veya elektron verebilme yeteneği ile DPPH radikalinin indirgenmesine ve çözeltinin başlangıçta mor olan renginin kaybolmasına dayanır. Mor renkli çözeltinin 520 nm civarındaki absorbandsının azalması ölçülerek reaksiyon takip edilir. Absorbansının düşmesi yüksek serbest radikal giderme aktivitesinin göstergesidir. Bu yöntem ilk kez Blois (1958) tarafından 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) radikallerinin antioksidan moleküllerin tayininde kullanılabileceğinin önerilmesi ile ortaya çıkmıştır. Antioksidan aktivite ölçümlerinin yoğunlaştığı yıllarda Brand-Williams ve arkadaşları yöntemi geliştirmiş ve bu yöntem pek çok araştırmacı tarafından referans olarak kullanılmıştır.

Bu çalışmada bitki özütlerinden 1 mg/ml stok hazırlanmış ve stoktan farklı konsantrasyonlar ayarlanmıştır. Tüplere önce 1 ml istenilen konsantrasyonda ki özütler kondu ve 4 ml DPPH çözeltisi eklenmiştir 30 dk karanlıkta oda sıcaklığında bekletilmiştir. 30 dk sonra 517 nm de absorbands değerleri ölçülmüştür. Örnek ve standart madde yerine Kör olarak özüt çözücüsü ve diğer şartlar aynı olacak şekilde DPPH çözücüsü kullanılmıştır. Kontrol absorbandsı taze ölçülür. % DPPH Serbest radikali Giderme Aktivitesi değeri:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [AK - AÖ / AK] \times 100 \quad (2.1)$$

Denklemler ile hesaplanmıştır. %50 inhibisyonu sağlayan özüt ve standart madde konsantrasyon değeri (IC₅₀), özüt konsantrasyonuna karşılık gelen inhibisyon değeri grafiğinden hesaplanarak bulundu ve IC₅₀ = µg/ml olarak verildi [89].

2.8.3 Toplam Flavonoid İçeriği

Serbest radikal üreten enzimlerin inhibisyonu, serbest radikallerin süpürülmesi ve demir ve bakır iyonlarını şelatlanması gibi birçok farklı aktivitesinden dolayı flavonoidler antioksidan özellik göstermektedirler [93]. Toplam flavonoid madde miktarı, flavon ve flavonollerin C-4 keto grubu ve C-3 veya C-5 hidroksil grupları ile alüminyum klorürün asit içinde kararlı kompleksler oluşturması esasına dayanan, Alüminyum klorür (AlCl₃) kolorimetrik metodu kullanılarak tayin edilmektedir. Bu aktivitelerin açığa çıkarılması için belirli teknikler kullanılır. Bu teknik bitki ekstralarından 0.25 ml alınır ve üzerine 0,075 ml %5 NaNO₂ çözeltisi ilave edilir. %10 AlCl₃ çözeltisinden 150 ml eklenir (6 dk bekletildikten sonra) 5dk inkübasyona süresinden sonra 0,5 ml 1M NaOH çözeltisi ilave edilir. Hacim distile su ile 2.5 ml olacak şekilde ayarlandı. 510 nm'de spektrofotometre cihazında okutuldu [88]. 0,05-0,25 (mg/ml) standart çözeltileri kullanılarak rutin eşdeğer alınarak kalibrasyon eğrisi çizildi [90].

2.9 Antifungal Aktivite

Antifungal aktivitede fungus karışımı hazırlamak için serum fizyolojik süspansiyonu ile MacFarland standardına 0.5 olacak şekilde ayarlandı. İnokulumu değerini spektrofotometre 450 nm' de 0.6 absorbans okutulmuş olarak değerler belirlendi. Antifungal aktivite testlerinde standart suşlar (*Aspergillus niger*, *A. ochraceus*, *Aspergillus flavus* ve *Fusarium proliferatum*) kullanılarak funguslar için besiyerleri yatık agarda 72 – 96 saatlik bir süre de 28 °C' de inkübasyona da bekletilerek üreme gerçekleştirildi. Mikroorganizmaların taze kültürler için inokulum süspansiyonu hazırlandı ve tüm mikroorganizmalar için wellplate iki seri olarak çalışıldı. Öncelikle besiyeri olarak Sabouraud Dekstroz Broth, eklendi ve ilk kuyucuktan başlayarak kuyucuklara 100 µl besiyeri konuldu. 50 µl bitki ekstresi eklendi ve 10. kuyucuk kadar işlem devam etti ve bir önceki kuyucuktan 100 µl çözeltisi alınarak diğer kuyucuğa eklenerek seyreltme yapıldı ve bu işlem iki seri halinde yapıldı. Seyreltme tamamlandıktan sonra kuyucuklardaki ekstre karışımlarının konsantrasyonun 25mg/ml -0.05 mg/ml' e aralığında olacak şekilde tamamlanmış oldu. Negatif kontrol dışında tüm kuyucuklara 20 µl inokulum süspansiyonundan konuldu. Kuyucukların tamamına eklenen bitki ekstresi, besiyeri ve inokulum süspansiyonu tamamlanan well plateler, 28 °C' de 72 – 96 saat süresince inkübasyon için bekletildi. Sürenin bitiminden sonra çoğalmanın olduğu kuyucuktan önce ki yüksek olan üremesinin olduğu çukur konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir.[94]

2.10 Antitüberküloz Aktivite

MGIT tüpleri içerisine hazırlanmış olan 4 ml Middlebrook 7H9 Broth Base besiyeri konularak PANTA antibiyotiğinden 0,1 µl eklendi. Bu işlem yapılmadan önce besiyeri içerisinde her tüp için 0.5 ml OADC (oleik asit, albumin, dekstroz, katalaz) ile sulandırmak için antibiyotiğe eklendi. Tüm kuyucuklar (96 well-plate)' ların 100 µl besiyeri olarak şekilde konuldu. Daha sonra ekstreden ilk kuyucuğa, 100 µl eklenerek konsantrasyonun 1280mg/ml olması sağlandı. Dilüsyonların bitiminde seri dilüsyonların kuyucuklar da ki konsantrasyonları 1280-2.5 mg/ml olarak tamamlanmış oldu. Ekstreler *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra (ATCC 25177) ve H37Rv (ATCC 27294) suşlarına TB05 ve 16/6 iki tane olacak şekilde hasta suşuna karşı test yapıldı. Kuyucuklara İnokulumdan negatif kontrol kuyucuğu hariç her kuyucuğa 20 µl konuldu. Bu çalışma 3 seri halinde çalışıldı ve üremelerin gerçekleşmesi için 37 °C' de 7-8 gün boyunca inkübasyona bırakıldı [86].

MİK ve MBK değeri belirlemek için "Presto Blue" büyüme indikatörü kullanılarak tüm kuyucuklara 20 µl konuldu. İnkübasyon için 10 dk beklendi, bu aşamadan sonra üreme gerçekleşen çukurcuklar pembe-mor renkte boyanırken, üremenin gerçekleşmediği çukurcuklar mavi renkte kaldı.

Üremenin gerçekleştiği kuyucuktan bir önce olan kuyucuk konsantrasyonu belirlenerek MİK değeri olarak not edildi. Bir diğer üremelerin olmadığı kuyucuklardan 20 µl alındı ve 80 µl taze besiyerlerinden çukurlara konuldu ve tekrar inkübasyona için beklemeye bırakıldı. Bu değer MBK değeri olarak belirlendi ve üremenin gerçekleşmediği konsantrasyon değeri olarak kayıt edildi.

2.10.1 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunu Belirleme (MİK)

Funguslar ve Bakteriler için besiyerlerinde inkübasyona tabi tutularak yetiştirildikten sonra karışımın (bitki ekstresi, besiyeri ve inokulum süspansiyonu) 96 - well plateler funguslar için ise 28 °C' de 72 – 96 saat *Mycobacterium tuberculosis* 37 °C' de 7-8 gün bekletildikten sonra inkübasyon tamamlandıktan sonra, üremenin gerçekleştiği konsantrasyonlar belirlenerek yüksek konsantrasyona sahip olan kuyucuktan MİK değeri belirlendi. Bu minimum inhibisyon konsantrasyonu demektir. [91].

2.10.2 Minimum Bakterisit ve Fungisit Konsantrasyonunu Belirleme (MBK ve MFK)

MİK değeri olarak bilinen üremenin gerçekleştiği kuyucuktan elde edilen veriler ile mikroorganizmaların statik aktivitesini belirleyen yani mikroorganizmaların üremesini durduran konsantrasyonu olarak belirtirler değerdır, ancak MBK bakteri ve fungus mikroorganizmalarının üremenin gerçekleşmediği kuyucuktan alınan mikroorganizmalar ile elde edilen verilerin öldüren konsantrasyon değeri olarak ifade edilir.

2.11 Kullanılan Cihazlar

Ekstrelerin elde edilmesi aşamasında fazla içinde buldurduğu kimyasaldan uzaklaştırmak için kullanılan cihaz rotary evaporator (döner buharlaştırıcı) kullanıldı. Antitüberküloz aktivite çalışmalarının gerçekleştirilmesi için Bilser marka W-lamp hepafiltreli laminaflov cihazı kullanıldı. Mikroorganizmaların üremelerinin uygun sıcaklıklarda gerçekleşebilmesi için Elektro-Mag marka etüv tercih edildi. Karışımların yeterince homojen olmasını sağlama çözümleri, besiyerler, inokulumlar için tercih edilen cihaz Elektro-Mag marka vortex kullanıldı.

3. BULGULAR

Lupinus angustifolia L. bitkisinin gövde, tohum, yaprak kısımları kurutuldu ve öğütülerek 4'er gr olarak tartıldı, metanol çözücüsü ile ekstre elde edildi. Tüm ekstratların antioksidan, antifungal, antitüberküloz aktiviteleri verileri incelendi. Ekstraksiyonlar sonunda, örneklerden elde edilen ekstratların yüzde veriminin % 6,95 ile % 10,44 aralığında değiştiği gözlemlendi. Bitki kısımlarının ekstraksiyon verimleri tek tek hesaplandı. (Tablo 3.1)'de görüldüğü gibi; en yüksek değere sahip ekstraksiyon verimi % 10,44 ile tohumun ve en düşük %6,95 ile metanol ekstraktında ki gövde kısmından elde edildi.

Tablo 3.1: Yaprak, tohum, gövde ekstratlarının metanol çözücülerdeki % ekstraksiyon verimi.

<i>Lupinus angustifolia L.</i>	Yaprak	Tohum	Gövde
Bitki ekstratlarının kuru ağırlığı (gr)	4,30	4,02	4,60
Eksratların verimi (Yield %)	8,8	10,44	6,95

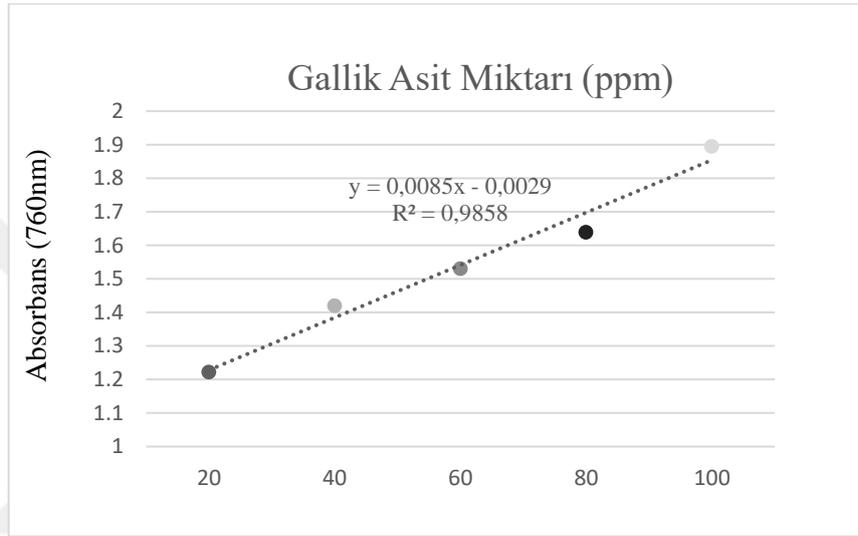
Lupinus bitkisine ait kısımlar gövde, tohum, yaprak ekstratlarının konsantrasyonları belirlemek için destile su ile 1000 mg/ml olarak hazırlandı. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örnekler, bu stok çözültiden seyretilerek gerçekleştirildi.

3.1 Total Fenol Miktar Tayini Sonuçları

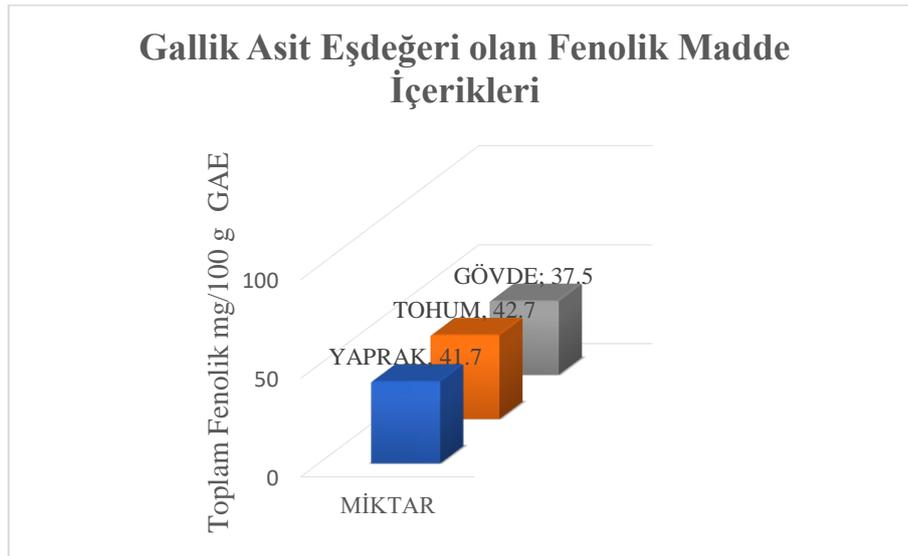
Bitki ekstratlarındaki toplam çözünebilir fenolik maddeler Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile tayin edildi. Gallik asit eş değeri alınarak hazırlanan standart grafik (Şekil 3.2) yardımıyla, tohum, gövde ve yaprak ekstratlarının toplam fenolik madde miktarları mg gallik asit (mg GAE/g taze ekstrakt) olarak hesaplandı.

Tablo 3.2: Bitki ekstratlarının toplam fenolik madde miktarları.

Fenolik Madde Bileşeni (µg/ml)	
Yaprak	41,7±8.1(µg/ml)
Gövde	37,5 ± 10.8(µg/ml)
Tohum	42,7 ±7.3(µg/ml)
Gallik asit	1,68 ±2,8 (µg/ml)



Şekil 3.1: Gallik asit standart grafiği.

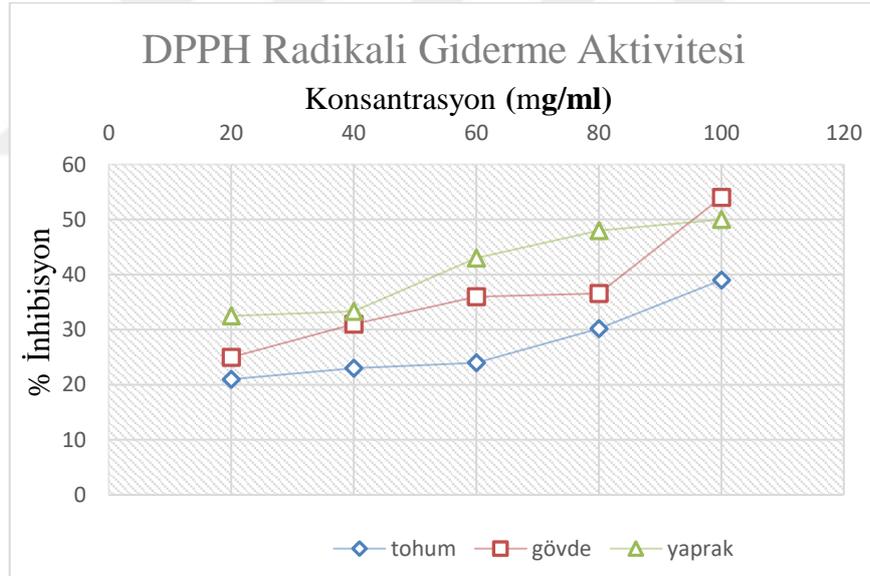


Şekil 3.2: Bitki ekstratlarının gallik asit eşdeğeri olan fenolik madde içerikleri.

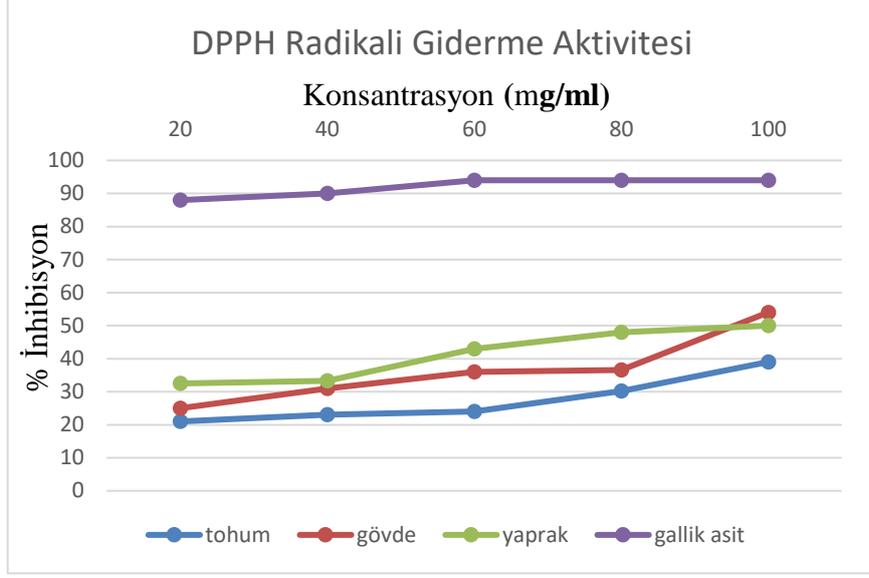
Gallik asit eşdeğer alınarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi grafiği sonucu elde edilen denklem yardımıyla belirlenen gallik asit eşdeğeri alınarak hesaplanan toplam fenolik madde miktarlarının değerleri; 37,5–42,7 mg/gr aralığında belirlendi. (Şekil 3.2)'de belirtildiği üzere; yaprak, tohum, gövdenin fenolik madde içeriğinde Acıbakla örneklerinden tohum örneğinin fenolik madde içeriği yaprak ve gövde örneğinden daha yüksek olarak belirlendi. Karşılaştırıldığında tohum>yaprak>gövde olarak görülmektedir.

3.2 DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Sonuçları

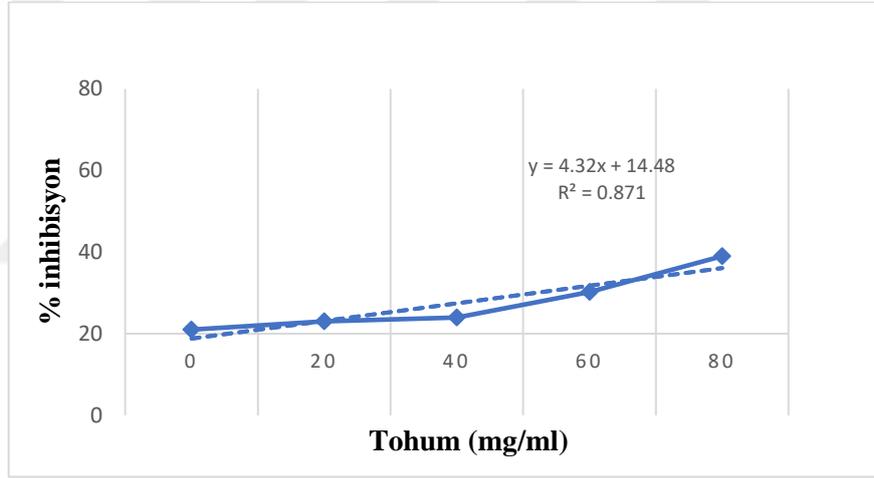
Serbest radikallerden biri olan DPPH radikali doğal antioksidanların giderme aktivitesini ölçmek için kullanılır. *Lupinus* bitkisinin gövde, tohum ve yaprak ekstratlarının serbest radikal giderici etkilerinin aktivitesi için kullanılan bir yöntemdir. Örneklerin ABS spektrofotometre sonuçlarından elde edilen değerler; % DPPH Serbest radikali Giderme Aktivitesi değeri: $(\text{Absorbans kontrol} - \text{Absorbans örnek}) / \text{Absorbans kontrol} \times 100$ formülü ile DPPH serbest radikal giderme aktivitesi bulundu. Ekstratların DPPH serbest radikali giderme aktivitelerine ait konsantrasyon -% inhibisyon grafikleri çizildi (Şekil 3.3).



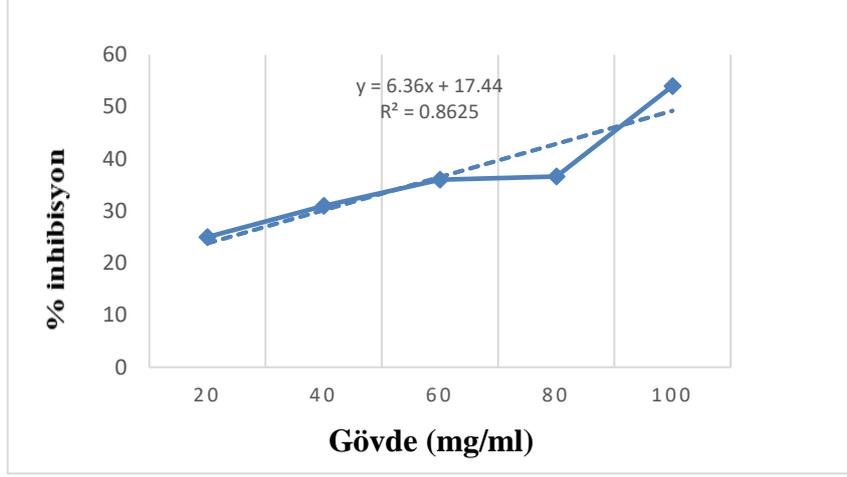
Şekil 3.3: Bitki ekstratlarının DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçları.



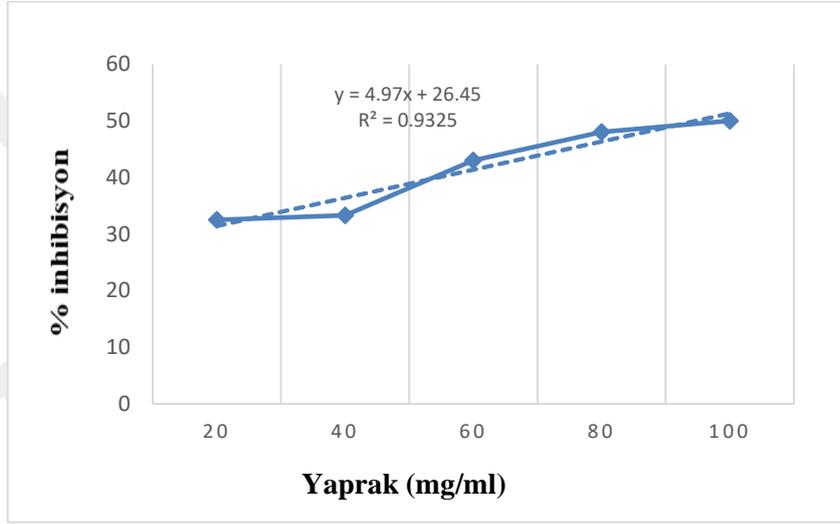
Şekil 3.4: Bitki ekstratlarının ve standartın DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçları karşılaştırılması.



Şekil 3.5: Farklı konsantrasyonlarda ki tohum örneğinin % inhibisyon değerleri.



Şekil 3.6: Farklı konsantrasyonlarda ki gövde örneğinin % inhibisyon değerleri.



Şekil 3.7: Farklı konsantrasyonlarda ki yaprak örneğinin % inhibisyon değerleri.

Şekillerde grafikler incelendiğinde; DPPH radikali giderme aktivitesi bakımından yaprak ekstralarının, gövde ve tohum ekstra örneklerinden daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi (Şekil 3.4). Tohum, yaprak ve gövde ekstralarının yükselişe geçen konsantrasyonları ile doğru orantılı olan DPPH radikali giderme aktivitelerinin arttığı açıklandı. Yapraktan elde edilen % inhibisyon değerleri standartlara göre en yakın aktivite yönünden gösterilebilir daha sonra sıralama gövde ve tohum olarak devam etmektedir. Tüm ekstralarının % inhibisyon değerleri (Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7)' de yukarıda belirtilen standartlarda olduğu gibi giderek oldukça yüksektir. 80 ve 100 mg/ml'lik konsantrasyonlar da radikal giderme aktivitesi yönünden standartlarla karşılaştırılabilir yükseklikte değerler elde edilmiştir. Yaprak, gövde tohumun ekstralarının 80 mg/ml'lik konsantrasyonların da sırasıyla %48 %36,6 ve %30,2 radikal giderme aktiviteleri gözlenirken 100 mg/ml'lik konsantrasyonlarda ise sırasıyla % 50 % 54 ve % 39 aktivite gözlenmiştir.

EC50 değeri belirlenmesinde tepkime ortamındaki radikalın %50'sinin yakalanması olması gereken antioksidan konsantrasyonu olarak açıklanabilir ve düşük EC50 değeri göstergesi yüksek radikal giderme aktivitesini bize açıklar. *Lupinus* ekstralarının radikal giderme aktivitelerinden çizilen % inhibisyon konsantrasyon grafiklerinden elde edilen denklemin formülüyle 50 değerine eşitlenmesi sonucu EC50 değerleri belirlendi (Tablo 3.3). Tüm ekstralar içinde en düşük EC50 değerini tohum ekstraktı, en yüksek değeri ise yaprağın ekstraktı vermiştir. Ör(tohum % inhibisyon denklemi):

$$y = 4,32x + 14,48 \quad (3.1)$$

$$x = IC50$$

$$50 - 14,48 = x4,32$$

$$35,52 = 4,32x$$

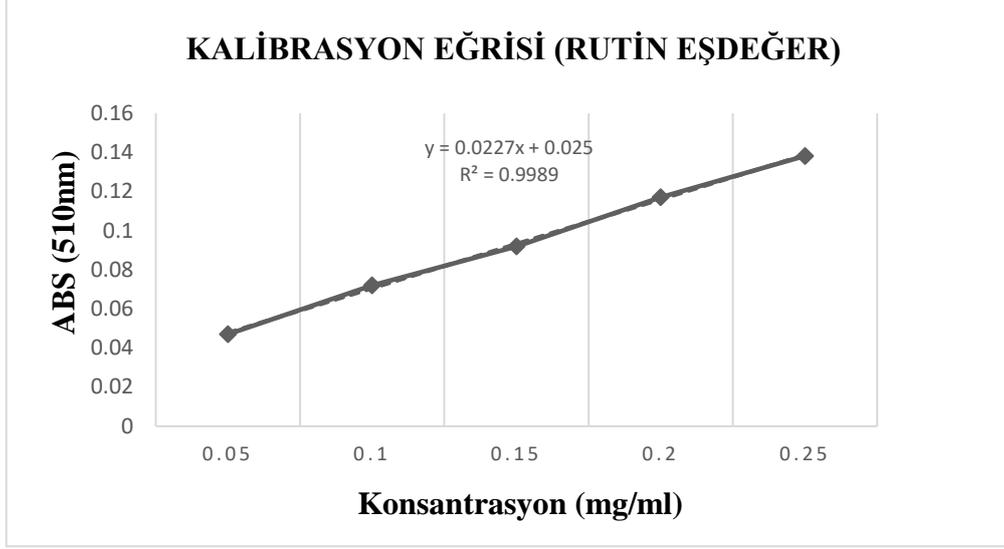
$$X = 8,22$$

Tablo 3.3: *Lupinus* ekstratlarının EC50 değerleri tablosu.

EC50 Değerleri (µg/ml)	
Yaprak	4,73(µg/ml)
Gövde	5,11(µg/ml)
Tohum	8,2(µg/ml)
Gallik asit	1,68(µg/ml)

3.3 Toplam Flavonoid İçeriği Sonuçları

Lupinus bitki özütlerinin toplam flavonoid madde miktarının tayini, alüminyum klorür klorometrik yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntem ile bitki özütlerin toplam flavonoid madde miktarlarının belirlenebilmesi için farklı konsantrasyonlardaki rutin eş değer alınarak farklı konsantrasyonlarda ki absorbanları kullanılarak kalibrasyon eğrisi (Şekil 3.8) çizilmiştir. Elde edilen eğri sonucu ABS değerleriyle flavonoid madde miktarı (Tablo 3.4) bulundu.



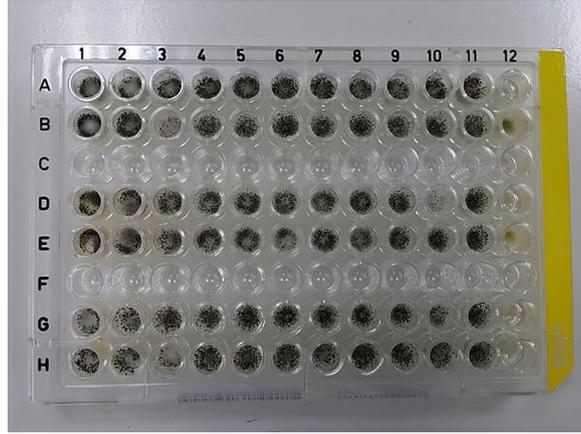
Şekil 3.8: Rutin Eşdeğer (Kalibrasyon eğrisi) standart grafiği.

Tablo 3.4: Bitki özütlerinin toplam flavonoid madde miktarı.

Flavonoid madde miktarı (mg/ml)	
Yaprak	11,6±1.4 (µg/ml)
Gövde	14,2±5.3 (µg/ml)
Tohum	13,6± 2 (µg/ml)

3.4 Antifungal, Antitüberküloz Aktivite Bulguları

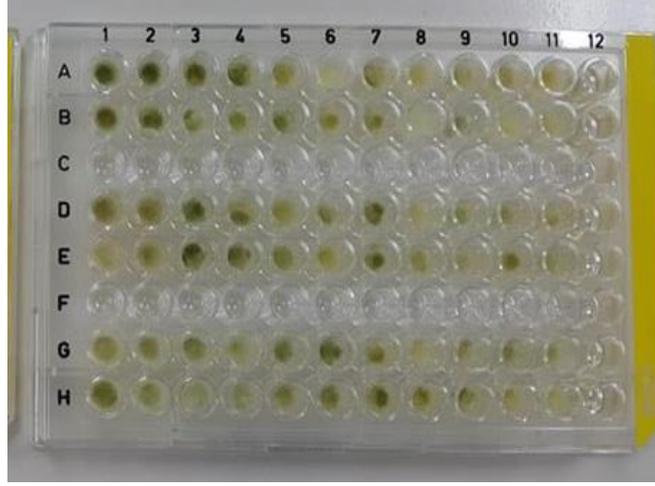
MİK minimum inhibisyon konsantrasyon değeri olan sonuçların, bitki metanol ekstralarında üremenin gerçekleşmediği konsantrasyonun yani inhibe eden konsantrasyon değeri olarak bilinen, MFK-MBK değerleri mg/ml olarak belirtildi. Antifungal aktivite testi sonucu bitkilerin yaprak, tohum, gövde kısımlarında elde edilen ekstraların fungus üremesini inhibe etmediği görüldü (Şekil 3.9, Şekil 3.10, Şekil 3.11, Şekil 3.12) bu yüzden MİK değeri hesaplanamadı ve antifungal aktivite gözlenmedi. Antitüberküloz aktivite testleri dört *Mycobacterium tuberculosis* suşu üzerinde denendi MİK ve MBK değerleri belirlendi. *L. angustifolius* subsp. *angustifolius*, bitkisinin antifungal aktivitesi sonuçları;



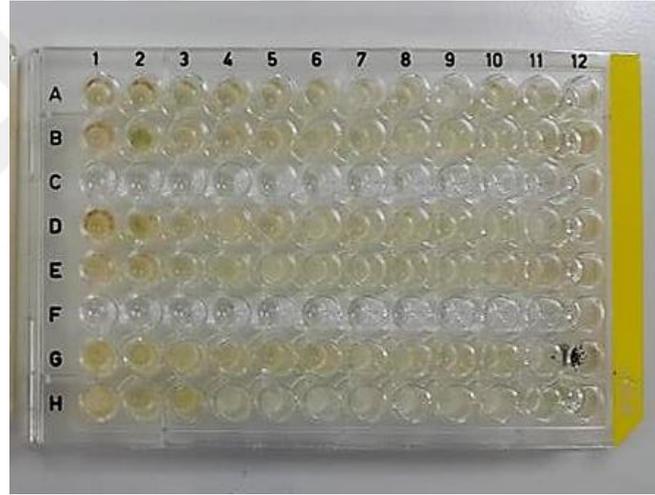
Şekil 3.9: *L. angustifolius* L.subsp. *angustifolius* bitkisi (gövde, tohum, yaprak örneğine) ait *Aspergillus niger*' e karşı MIK aktivite testi. 1- AB-gövde,2- DE-yaprak,3- GH-tohum örneklerine ait *Aspergillus niger* 11 pozitif -12-negatif kontrol.



Şekil 3.10: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* Bitkisi (Gövde, tohum, yaprak örneğine) ait *Fusarium proliferatum*' a karşı MIK aktivite testi 1- AB-gövde,2- DE-yaprak,3- GH-tohum örneklerine ait 11 pozitif 12 negatif kontrol.



Şekil 3.11: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* Bitkisi (gövde, tohum, yaprak örneğine) ait *Aspergillus flavus* 'a karşı MİK aktivite testi 1- AB-Gövde,2- DE-yaprak,3- GH-tohum örneklerine ait *Aspergillus flavus* 11 pozitif 12 negatif kontrol.



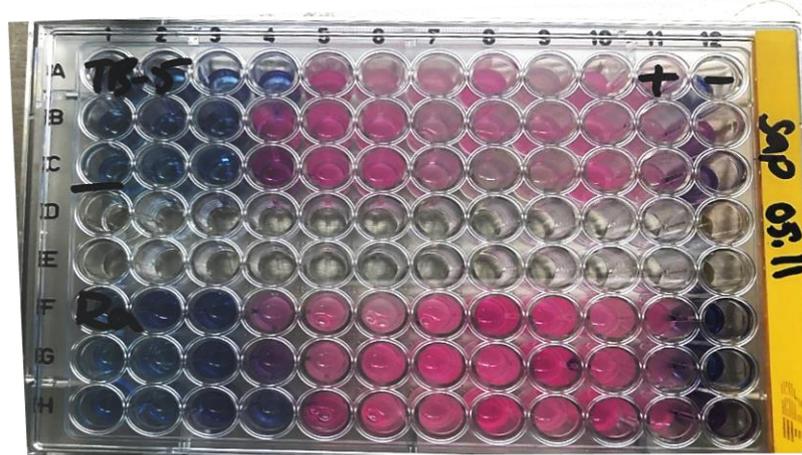
Şekil 3.12: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* Bitkisi (Gövde, tohum, yaprak örneğine) ait *Aspergillus ochraceus* 'a karşı MİK aktivite testi 1- AB-Gövde,2- DE-yaprak,3- GH-tohum örneklerine ait *Aspergillus ochraceus* 11 pozitif 12 negatif kontrol.

Tablo 3.5: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* methanol ekstralarının Antitüberküloz Aktivite Değerleri (mg/mL).

<i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> Bitkisinin (Gövde örneği)	MIK	MBK	POZİTİF(+) KONTROL	NEGATİF(-) KONTROL
TB-05	160	640	+	-
16/6 hasta suşu	80	640	+	-
Mycobacterium tuberculosis H37 Ra	160	160	+	-
Mycobacterium tuberculosis H37 Rv	80	640	+	-



Şekil 3.13: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* bitkisi (gövde örneğine) ait MİK fotoğrafları, 1) ABC sırası; *M. tuberculosis* (RV) FGH sırası; 16/6 Hasta suşu 11 pozitif 12 negatif kontrol.



Şekil 3.14: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* bitkisi (gövde örneğine) ait MİK fotoğrafları, 2) ABC sırası; TB-05 FGH sırası; *M. tuberculosis* (RA) 11 pozitif 12 negatif kontrol.

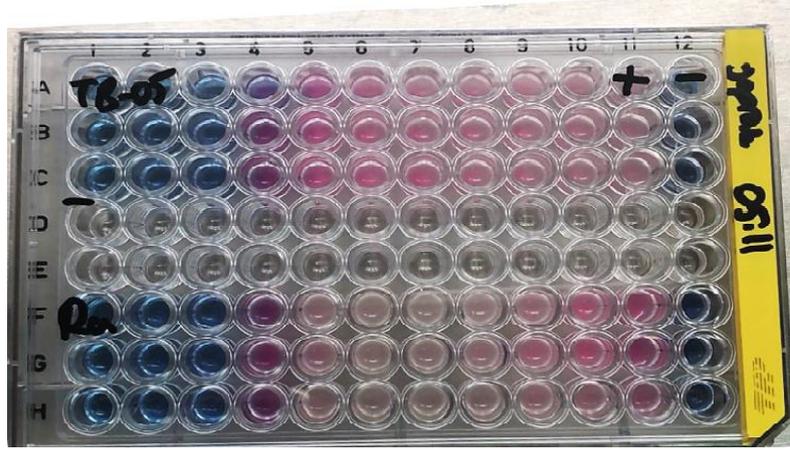
Antitüberküloz aktivite çalışmalarında bitki ekstraların de ki gövde örneği için virülant ve avirülant suşa karşı 80mg/ml ve 160mg/ml değerlerinde MİK değerleri ve MBK değerleri RV ve RA 640mg/ml 160mg/ml ve etki gösterirken hasta suşlarına karşı MİK 160-80mg/ml MBK 640mg/ml değerinde antitüberküloz etki gösterdi.

Tablo 3.6: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* metanol ekstralarının antitüberküloz Aktivite Değerleri (mg/mL).

<i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> Bitkisinin (yaprak örneği)	MIK	MBK	POZİTİF(+) KONTROL	NEGATİF(-) KONTROL
TB-05	160	640	+	-
16/6 hasta suşu	320	160	+	-
Mycobacterium tuberculosis H37 Ra	160	640	+	-
Mycobacterium tuberculosis H37 Rv	160	640	+	-



Şekil 3.15: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* bitkisi (yaprak örneğine) ait MİK fotoğrafları, 1) ABC sırası; *M. tuberculosis* (RV) FGH sırası; 16/6 Hasta suşu 11pozitif 12 negatif kontrol.

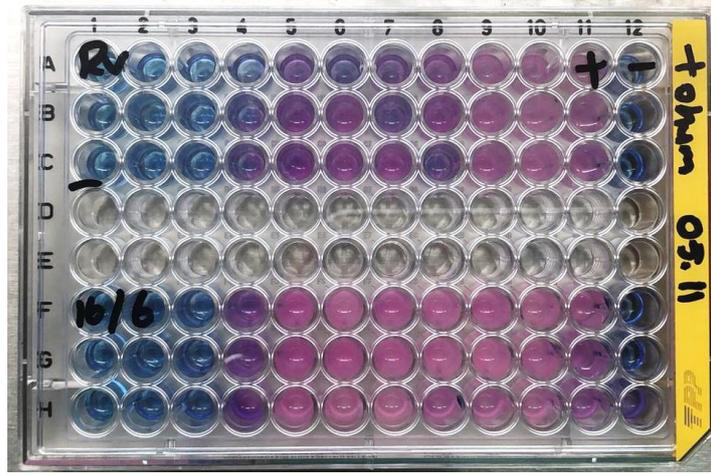


Şekil 3.16: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* Bitkisi (yaprak örneğine) ait MİK fotoğrafları, 2) ABC sırası; TB-05 FGH sırası; *M. tuberculosis* (RA) 11 pozitif 12 negatif kontrol.

Bitki ekstraların de ki yaprak örneği için RV ve avirülant RA suşa karşı 160mg/ml ve 640mg/ml değerlerinde MİK değerleri ve MBK değerleri yaprak örneği için (Tablo 3.6) RV ve RA 640mg/ml 160mg/ml ve etki gösterirken hasta suşlarına karşı MİK 160-320mg/ml MBK 640-160mg/ml değerinde antitüberküloz etki gösterdi.

Tablo 3.7: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* methanol ekstralarının Antitüberküloz Aktivite Değerleri (mg/mL).

<i>L. angustifolius</i> L. subsp. <i>angustifolius</i> Bitkisinin (tohum örneği)				
	MIK	MBK	POZİTİF (+) KONTROL	NEGATİF (-)) KONTROL
TB-05	160	640	+	-
16/6 hasta suşu	160	640	+	-
Mycobacterium tuberculosis H37 Ra	160	640	+	-
Mycobacterium tuberculosis H37 Rv	80	640	+	-



Şekil 3.17: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* Bitkisi (tohum örneğine) ait MİK fotoğrafları, 1) ABC sırası; *M. tuberculosis* (RV) FGH sırası; 16/6 Hasta suşu 11pozitif 12 negatif kontrol.



Şekil 3.18: *L. angustifolius* L. subsp. *angustifolius* Bitkisi (tohum örneğine) ait MİK fotoğrafları, 2) ABC sırası; TB-05 FGH sırası; *M. tuberculosis* (RA) 11 pozitif 12 negatif kontrol.

Bitki ekstrelerin de ki tohum örneği için RV ve RA suşa karşı 160mg/ml ve 640mg/ml bulgularında MİK değerleri ve MBK değerleri tohum örneği için (Tablo 3.7) RV ve RA 640mg/ml 160mg/ml ve 80mg/ml 160mg/ml etki gösterirken hasta suşlarına karşı MİK 640-160mg/ml MBK 640-160mg/ml değerinde antitüberküloz etki gösterdi.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Lupinus türleri için gerçekleştirilen çalışmaların taksonomik, anatomik ve morfolojik açıdan ele alınmasının yanında, bu cinse ait çeşitli türlerin fenolik bileşikler, fenolik asitler, flavonoid içerikleri, antifungal aktiviteleri araştırılmıştır bu çalışmalara ek olarak antitüberküloz aktivitesi araştırılarak literatüre *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* ait bu türün biyolojik özellikleri tanımlanması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* bitki türünün ekstrelerinin antifungal, antioksidan antitüberküloz aktiviteleri ve bu türe ait ekstraların sonuçları incelendi. *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* antioksidan aktiviteleri Total fenol miktarı tayini sonuçları (37,5mg/ml- 42,7mg/ml) aralığında belirlendi ve bir diğer DPPH tayin yöntemi % inhibisyon değerleri 80mg/ml konsantrasyonlarda yaprak, gövde tohum ekstralarının %48 %36,6 ve %30,2 olarak belirlendi. 100 mg/ml lik konsantrasyonlar da ise %50 %54 ve %39 gözlemlendi. Ve EC50 değerleri yaprak gövde tohum gallik asit sırasıyla 4,73- 5,11,-8,2- 1,68 olarak gösterdi. Toplam flavonoid tayini sonucu madde miktarı yaprak için 11,6 mg gövde için 14,2mg tohum için 13,6mg olarak bulundu. Antifungal aktivite sonucu yaprak (Şekil 3.15, Şekil 3.16), tohum (Şekil 3.17, Şekil 3.18) ve gövde (Şekil 3.13, Şekil 3.14) kısımlarında üreme gerçekleşmiştir. MİK ve MBK belirlenememiştir. Antitüberküloz aktivite çalışmalarında bitki ekstraların de ki gövde örneği için virülant ve avirülant suşa karşı 80mg/ml ve 160mg/ml değerlerinde MİK değerleri ve MBK değerleri gövde örneği için (Tablo 4.1) RV ve RA 640mg/ml 160mg/ml ve etki gösterirken hasta suşlarına karşı MİK 160-80mg/ml MBK 640mg/ml değerinde antitüberküloz etki gösterdi. Bitki ekstraların de ki yaprak örneği için RV ve avirülant RA suşa karşı 160mg/ml ve 640mg/ml değerlerinde MİK değerleri ve MBK değerleri yaprak örneği için (Tablo 4.6) RV ve RA 640mg/ml 160mg/ml ve etki gösterirken hasta suşlarına karşı MİK 160-320mg/ml MBK 640-160mg/ml değerinde antitüberküloz etki gösterdi. Bitki ekstraların de ki tohum örneği için RV ve RA suşa karşı 160mg/ml ve 640mg/ml bulgularında MİK değerleri ve MBK değerleri tohum örneği için (Tablo 4.7) RV ve RA 640mg/ml 160mg/ml ve 80mg/ml 160mg/ml etki gösterirken hasta suşlarına karşı MİK 640-160mg/ml MBK 640-160mg/ml değerinde antitüberküloz etki gösterdi *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* için gerçekleştirdiğimiz çalışmadan elde edilen sonuçlar türün antioksidan kaynağı olduğu ve antitüberküloz aktivite için üremeyi engelleyici konsantrasyonlarının olduğu ortaya koymaktadır.

Günümüze gelene kadar birçok acıbakla türleri için araştırmalarda bulunmuştur ve farklı çeşitli yöntemler ve fenolik maddeler kullanılmıştır. *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* bitkisini çeşitli kısımlarından bizim çalışmamız da metanol ekstrelerinin toplam antioksidan aktiviteleri, üç tayin yöntemiyle fenolik bileşikler Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak gallik asit eş değeri alınarak tayin edildi. (Tablo 3.2) ve (Şekil 3.1) incelendiğinde en yüksek antioksidan aktivite *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* metanol ekstresi için ekstraktların da en yüksek tohum kısmı ve sırasıyla yaprak ve gövde olarak onu takip etmiştir. *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* metanol ekstresinin diğer tayin yöntemi ekstraktlarının serbest radikal giderim aktivitesini DPPH metodu ile hesaplamışlardır ve sonuç olarak yüzde serbest radikal giderim aktivitesini bizim çalışmamızda (Tablo 3.4) ve (Şekil 3.3) incelendiğinde tüm ekstraktların derişimi artması ile serbest radikal giderim aktivitelerinin de arttığı görülmektedir. *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* metanol ekstresinin flavonoid madde miktarı (Şekil 3.4)'de gösterildiği gibi en küçük değeri gövde örneği için geçerlidir onu takip eden tohum ve yaprak ve belirtilen değerler varlığın göstergesidir. Bunların yanında lupin tohumlarında fenolik asitlerin ve flavonoidlerin varlığı birçok çalışmada rapor edilmiştir fakat fenolik asitler hakkında veriler Lupin tohumlarında meydana gelen ayrıntılar vardır fakat *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* için antitüberküloz, antifungal aktivite için detaylı değildir. Bu çalışmada türün antitüberküloz aktivitesi sonuçlarından elde edilen bu verilerle tür için yeni bilgiler elde etmemimizi sağlamıştır. *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* ait farklı türlerde yapılan çalışmaların benzer ve farklılıkları literatür de karşımıza çıkmıştır. Bunları ele aldığımızda bu tez için bu kaynaklar yol göstermiş ve yeni ek bilgiler sunularak katkı sağlanmıştır.

Villarino ve diğerleri (2015) buğday ekmeğine lupin *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* ASL(Avustralya acı bakla) ilavesinde bulunmuştur ve beslenme, fitokimyasal ve biyoaktif bileşim ve protein kalitesinin araştırılıp değerlendirilmesi üzerine çalışmalar gerçekleştirmişler. Rafine buğday ekmeğinin hacmi ve dokusal kalitesi boyutu ASL katılımına göre beslenme fitokimyasal ve biyoaktivite ve protein düzeyinde diyet lifi fenolik ve karotenoid içeriği antioksidan kapasitesi protein sindirilebilirliği düzeltilmiş antioksidan skoru (PDCAAS) ASL' de daha yüksektir. Total fenolik (mg/GAE/g)² 0,8± 00 ASL için en yüksek 0,5± 00 rafine buğday ekmeği için verilen değeri aralığında ve total antioksidan 1.5±0,1 en yüksek ASL 1.0±00 olarak bildirilmişlerdir. Karotenoid içerikleri ASL çeşidinin önemli etkisi olmuş, lutein, zeaksantin ve beta-karoten içeriği yüksek bildirilmiştir [92].

Biz çalışmalarımızda acıbakla örneğinin bu zengin içeriği düşünülerek antioksidan kapasitesi araştırılarak içerdiği total fenolik madde miktarının *Lupinus* bitki kısımlarına göre değerlendirdik antioksidan etkisinin var olduğu sonucu elde edildi. Bizim çalışmamızda total fenolik içeriği yüksek çıkmıştır ve eş değer aldığımız reaktif Gallik (GAE) asittir [92].

Hassen Mohamed ve Diğerleri (2013) çalışmasında, acı ve tatlı lupin (*Lupinus albus L.*) tohum yağları (BLO ve SLO), BLO ve SLO'nun fizikokimyasal özellikleri, yağ asidi bileşimleri, termal özellikleri, değerlendirildi [94]. Ayrıca acı ve tatlı bakla tohumlarının ve yağlarının antioksidan özellikleri de incelenmiştir, bizim kullandığımız TPC ve DPPH antioksidan kapasite tayin yöntemleri kullanılmıştır. BL ve SL tohumlarının antioksidan kapasitesi çiğ BL ve SL tohumlarının antioksidan kapasiteleri değerlendirilmişler. Radikal süpürme kapasitesi ve DPPH radikal süpürücü (242.35 ± 0.898 mg GAE / g DW ve 102.80 ± 0.900 mg GAE / g DW) sonucu ölçülmüştür. BL tohumunun antioksidan kapasitesi, SL tohumundan (219.92 ± 0.79 mg GAE / g DW ve 95.84 ± 2.577 mg GAE / g DW)daha yüksek gözlenmiştir. BL çiğ tohumundaki TPC ve TFC (1.151 ± 0.026 mg GAE / g DW ve 0.497 ± 0.015 mg GAE / g DW), SL çiğ tohumuyla (1.056 ± 0.011 mgGAE / g DW ve 0.453 ± 0.019 mg GAE / g DW) ile karşılaştırıldığında daha yüksekti. BL ve SL çiğ tohumları için antioksidan kapasiteleri, literatür de lupinin çiğ tohumları (Fernandez-Orozco ve diğerleri,(2006, 2008) börülce ve soya fasulyesi ile karşılaştırıldığında sıralama lupin, börülce ve soya fasulyesi olarak belirlenmiştir [93,94]. Bu türe ait antioksidan değerleri de bizim türümüzde olduğu gibi yüksektir bu türlerin antioksidan kapasitelerinin diğer türlere göre karşılaştırılması araştırılmaya değer bir tür olduğu gerçeğini ortaya koymaktadır.

Solomon ve diğerleri (2015) *L. angustifolius L. subsp. angustifolius* mavi lupin polisakkaritlerin izole etmişler ve biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Tüm fraksiyonların antioksidan aktiviteleri ABTS +* radikal süpürme kullanılarak araştırmışlar [95]. Mavi lupin polisakkaritlerin demir içeren şelat belirlenmişler mavi lupin polisakkarit fraksiyonlarının şelat aktivitesi. BLP-1 ve BLP-5 en yüksek değeri gösterdi metal şelatlama yeteneği BLP-1 ve BLP-5'in yüksek radikal temizleme faaliyeti ve ayrıca yüksek şelatlama aktivitesi sergiledi [95]. Bu arada radikal süpürme aktivitesi ve demirli şelatlama aktivitesi, potansiyel antioksidanlardır [97]. Varlığı biyolojik bir sistemdeki aşırı serbest radikaller hasar ve dolayısıyla ciddi hastalıklara neden olabilir kanser gibi, dolayısıyla, radikal süpürücü faaliyet, hangi oksidatif serbest radikaller uzaklaştırılabilir ve DNA hasarı önlenmelidir [97]. Ayrıca, biyolojik bir sistemdeki aşırı demir iyonları da DNA'ya hasara yol açabilir.

Polisakkaritlerin demir içeren şelatlama kabiliyeti bu nedenle serbest Fe²⁺ + iyonlarının varlığını azaltması ve dolayısıyla bu DNA hasar mekanizmasında mavi lupin polisakkaritler hem kök temizleyici hem de kenetleme faaliyetlerine sahiptir. Bu nedenle, doğal antioksidanlar olarak kullanılmak için güçlü potansiyele sahiptirler. Bilinen lupin çekirdeği lifinin muazzam sağlık yararları gözlemlenen antioksidan ile birlikte literatürde [98] lupin türü polisakkaritlerin aktiviteleri, onların yararlı kullanımı mavi lupin polisakkaritleri bu nedenle nutrasötik uygulamalar için güçlü adaylardır minimum toksisitesi bu polisakkaritler için ilave bir avantajdır. Bilinen tüm bu biyolojik aktivitelere ek çalışmamızda antitüberküloz aktivite çalışmalarımızda MIK ve MBK değerlerinin belirlenmesi ve türün çeşitli konsantrasyonlarda ki değerlerinin pozitif veriler elde etmemizi sağladı ve tüm sonuçlar doğrultusunda literatürü destekleyici çıkması bu türün sağlık yararları açısından önemi artıracaktır [95].

Aleksander ve diğerleri (2014) toplam fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoid içerikleri ve antioksidan aktiviteler *Lupinus albus*, *Lupinus luteus* ve *Lupinus angustifolius* çeşitlerinden elde edilen ekstrelerde ölçülmüştür. Toplam fenolik bileşik içeriği 491.51 ila 731.14 mg / 100 g dm arasında değişmiştir. Protocatechuic asit, sarı lupin tohumlarında en bol olanıydı 73.60 mg / kg dm, dar yaprak lupininde p-hidroksibenzoik asit yaklaşık 43 mg / kg dm olarak belirlemişlerdir. Toplam fenolik bileşiklerin içeriği, Folin – Ciocalteu yöntemi ile elde edilen sonuçlar vitexin ve gallik asit eş değeri olarak ifade edilmiştir. Toplam fenolik bileşiklerin en yüksek içeriği özellikleri *L. Luteus* 731.14 mg / 100 g olarak belirtilmiştir. Toplam fenolik bileşiklerin en düşük içeriği *L. Albus* 491.51 mg / 100 g incelenen lupin türleri ve toplam içerik arasındaki farkların yazarlar tarafından tohumlardaki fenoliklerin etkisi değişikliklere yol açabilir ya da kullanıla eş değer madde farklılıklara yol açabilir [97].

Wang ve Clements ve diğerleri (2008) Fenolik bileşikleri analizini lupin tohumlarında gallik asit eşdeğerleri olarak ifade etti. Bu yazarlara göre, fenolik içeriği beyaz lupin içindeki bileşikler 444.4 ila 1661.2 mg / 100 g, sarı ve dar yaprak lupinlerin de ise 369.2 ila 374.4 ve 535.1 ile 578.4 mg / 100 g arasında değişir [99].

Önceki çalışmalarda Lampart-Szczapa ve ark., (2003), fenolik bileşiklerin toplam içeriğinin kafeik asit eşdeğeri olarak tohumdan ve yapraktan En yüksek içeriğin iki acı çeşit olan *L. albus* ve *L. angustifolius* türleri için kayıt altına almışlardır bizim çalışmalarımızda bu çalışmalarla paralellik göstererek gallik asit eşdeğer alınarak yakın sonuçlar elde edildi [100], flavonoid içerikleri belirlenmesinde rutin eş değeri olarak ifade edildi ve bir diğer antioksidan yöntemi DPPH tayin yapıldı ve bu sonuçlarda antioksidan varlığını gösterdi [101].

Moore ve Yu, (2008) Toplam fenol içeriği tayini için kullanılan yöntem, fenoller için düşük özgüllük olmak üzere çeşitli dezavantajlar, biyolojik oksidatif süreçler ve müdahalelerle ilgisinin olmaması diğer bileşiklerle azaltma kapasitesini ölçer. Reaksiyona girebilen numunelerde bulunan fenoller veya diğer indirgeyici ajanlar Folin-Ciocalteu reaktifi ile (örn. nitrik bileşikler, sakkaritler) bitki materyalinde bulunan alkaloidler ayrıca elde edilen sonuçlar üzerinde kayda değer bir etkisi olabilir. Bununla birlikte, lupin çeşitler mevcut çalışma, alkaloid içeriğinin düşük olduğu tatlı çeşitlerdir. Lupin tohumlarının metanol ekstraktları yüksek oranda analiz edilmiştir bu bileşiklerin içeriği vitexin eşdeğeri olarak ifade edildi. Vitexin standarttır çünkü yapısal olarak analiz edilenle yakından ilişkilidir. 53.63-63.14 mg / 100 g olan *L. luteus* tohumları ve 70.98-87.69 mg / 100 g *L. angustifolius* seviyelerinde gözlenmiştir [101]. Apigenin-6,8-di-C-b-glukopiranosit için ve 40.96 ila 42,88 mg / 100 g apigenin 7-O-b-apiofuranosil-6,8-di-C-bglukopiranosid için (sırasıyla cv. Zeus ve Bojar için). En düşük apigenin C-glukozitlerin içeriği *L. albus*'ta bulundu [102]. En düşük gallik asit içeriği *L.angustifolius* yaklaşık 0.62 mg / kg dm diğer türlerde bu asidin içeriği 3.43 mg / kg, *L.albus* 4.21 mg / kg, *L. Luteus* için belirtilmiştir.

Moore ve Yu, (2008) DPPH radikal temizleme faaliyeti ve toplam peroksil radikal yakalama potansiyeli (TRAP) lupin çekirdeği özleri antioksidanlarını oluşturmaktadır. DPPH radikal süpürücü faaliyeti 3,51 mM Trolox Denk / g (*L. albus*) ile 9.03 mM Trolox Eq / g (*L. luteus*) durumunda antiradikal aktivite. *L.angustifolius* 6.89-7.47 mM Trolox Eq / g aralığındaydı. Elde edilen sonuçlar (Martı'nez -Villaluenga ve ark. 2009) [103] bu yazarlar 3,09 mM Trolox Eq / g (*L. angustifolius*), ve 2.83 mM Trolox Eq / g durumunda (*L. albus*) aksine, 71.4 mM Trolox Denk / g olarak belirtilmişken Frias ve ark. [103] *L. luteus*'un karşılaştırıldığında daha yüksekti. Elde edilen sonuçlar arasındaki farkların sebebi yazarlar tarafından yapılan çalışmaların tohum ekimi türün farklı kısımlarının çalışılması gibi özellikleri, iklim değişimleri ve saklama koşulları gibi faktörler gösterilebilir [104].

Lampart-Szczapa ve ark. (2012) çalıştıkları üç acı bakla türünün tohumlarından elde edilen sonuçlarda % 9,9 *L. albus* -% 12,2 *L. luteus* türlerinde toplam fenolik bileşiklerin içeriğine rastlamıştır. Ve folin – Ciocalteu yöntemiyle vitexsin ve gallik asit eş değeri alınarak elde edilen sonuçlarda toplam fenolik bileşiklerin en yüksek içeriği indirgeme özellikleri, *L. Luteus* türüne aittir. (731,14 mg / 100 g (317.88 mg / 100 g) Toplam fenolik bileşiklerin en düşük içeriği *L. albus* tohumlarında görülmüştür. (491,51 mg / 100 g (212.12 mg / 100 g) Önceki çalışmalarında (Lampart-Szczapa ve ark., 2003) fenolik bileşiklerin toplam içeriğinin kafeik asit eşdeğeri alınarak yapılan çalışmalarında yine tohumunda en yüksek içeriğin olduğu kanıtlandı. Diğer iki acı çeşitte olan *L. albus* ve *L. angustifolius* kotiledonlarında sırasıyla 131.9 mg/100 g ve 187.8 mg / 100 g ve tohumda sırasıyla 41.7 ve 28.8 mg / 100 g. olarak belirtilmiştir [105]. Bir diğer yöntemle flavonoid içeriğinin vitexin eşdeğerleri olarak ifade edildi. Yapısal olarak analiz edilenle bileşiklerden en çok bulunan aralık 53.63–63.14 mg / 100 g *L. Luteus* türüne aittir. *L. angustifolius* durumunda bu bileşikler 27.78 ila 30.25 mg / 100 g aralığındaydı. DPPH radikal temizleme faaliyeti ve toplam peroksil radikal yakalama potansiyeli (TRAP) teknikleri kullanılarak acıbakla tohumu özlerinin antioksidanlarını oluşturma aktiviteleri ölçülmüştür. DPPH radikal süpürme aktivitesi, 3,51 mM Trolox Eq / g *L. albus* için ve 9.03 mM Trolox Eq / g *L. luteus* olarak belirtilmiş *L. angustifolius* 6.89–7.47 mM Trolox Eq / g aralığında belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlar diğer bir çalışmada belirtilenlerden daha yüksekti [106].

Martínez-Villaluenga ve ark. (2009) elde edilen sonuçlar arasındaki farkların sebebi farklı yazarlar tarafından ilişkili faktörler bunu belirleyebilir örneğin: tohum ekimi, çeşitli iklim özellikleri, kullanılan yöntem ve kullanılan malzeme ve saklama koşulları ile faktörler bileşiklerin ilgili kısımlarında ki antioksidan aktivitelerini etkilemektedir [105].

Besleyici ve besleyici olmayan antioksidanların doğal kaynaklarını araştırmak için (E.Tsaliki ve arkadaşları) lupinin *Lupinus albus* metanol ekstraktları (alkaloidli ve alkaloidsiz) ve lupin protein izolatu ilk olarak antioksidan aktiviteleri açısından incelendi. Bu ekstraktların antioksidan aktivitesi, birleştirilmiş oksidasyona bağlı olarak hızlı bir spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Sonuçlar metanolün lupin özütleri, soya ekstraktlarından daha yüksek belirgin bir antioksidan aktivite sergiler [107].

Mikroorganizmaların büyümesini engelleyen yok edici etki oluşturan ajanlar olarak tanımlanan yapılardır antimikrobiyaller [108]. Sekonder metabolitler, çeşitli hastalıklara karşı doğal ürünlerin antimikrobiyal etkisine katkı sağlamaktadır. *Piliostigma thonningii* Schum. 133 cins sahip Fabaceae ve Caesalpinioideae ailelerine ait bir baklagil bitki türüdür. [109]. *P. thonningii*'nin ham ekstresi antilipidemik, antibakteriyel, antihelmintik ve antiinflamatuvar aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir. [110]. Biyoaktif bileşiklerden flavonoidler, tanenler, kauran diterpenler, alkaloidler, karbonhidratlar, saponinler, terpenler ve uçucu yağlar gibi varlığı, patojenlerin büyümesini engellemesini sağladığı bulunmuştur. [111].

Senna ve Cassia türlerinin özünün antimikrobiyal aktivitesi, bakteriyel ve fungal enfeksiyonları tedavi etmek amacıyla Senna ve Cassia türlerinin kullanımını destekleyen ağız bakteri ve mantar türlerine karşı değerlendirilmiştir. Test edilen türler arasında, *C. fistül*, *S. Macranthera*, *C. bakeriana*, ve *S. glabra* en az iki bakteri suşlarına karşı gösterdiği orta etkinliği (200.0 gelen 400.0 ug ml kadar MIC değerleri -1) ve *S.macranthera* çiçek etanol özütü çok düşük MIC değerleri sundu (5.9 ile 23.4 µg arasında mL- 1) antifungal tahlilde. *S.macranthera* çiçek etil asetat fraksiyonu (5.9 ve 23.4 ug ml arasında MIC değerleri belirlendi [112].

Antifungal aktivite bulguları değerlendirildiğinde farklı fungusların kullanımı aktivite göstermemesine sebep olduğu gibi kullanılan fungusların etki ve özellikle patojen etkileri yüksek olması da göz ardı edilmemelidir. Batı Kanada'da bir soya fasulyesi kök çürüklüğü araştırmasında dört *Fusarium* türü belirlendi. *Fusarium proliferatum*, bu türlerin en agresif patojeni idi. Kanada'da soya fasulyesi kökü çürümesine neden olan *F. proliferatum*'un ilk raporudur. *F. proliferatum* çoğaldıkça soya fasulyesi büyümesi azaldı ve hastalık arttı [113].

Acı bakla (*Lupinus termis*) tohumları yaygın olarak yenilebilir ve Sudan'da atıştırılabilir olarak kullanılır. Mevcut çalışma, Sudan acı bakla tohumlarının fitokimyasal gibi bazı biyolojik özelliklerini değerlendirmek için bileşenleri, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri incelendi. Çalışma, özüt acı bakla tohumları, test edilen tüm bakterilere (6 farklı Gram pozitif ve Gram negatif bakteri) ve mantarlara (2 mantar türü) karşı önemli bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı belirlendi.

(*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ve *Escherichia coli* ATCC 35218) iki mantar suşu; *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* kullanıldı [114].

Ayrıca antibakteriyel ve antifungal *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* alkaloid ekstresinin aktiviteleri standart bakteri türlerine karşı test edilmiştir; *B. subtilis*, *S. aureus* üzerinde önemli aktivite gösterdi. *P. aeruginosa*, 62,5 lg / ml MIC değerlerinde *E. coli* üzerinde zayıf bir şekilde aktifti. Diğer yandan, özüt, karşı orta düzeyde aktiviteye sahip *C. albicans* ve *C. krusei*, 250 mg / ml MIC değerlerinde verilmiştir [122].

Mycobacterium tuberculosis, önce *Mycobacterium* cinsinin patojenik bir bakteri türüdür. Tüberküloza (TB) neden olan bakteri Robert Koch tarafından 1882'de keşfedilmiştir [115]. 1980'lerin sonlarından sonra, tüberküloz hastalık ve ölüm oranları önemli bir sağlık durumu haline geldi merkezi sinir sistemine yayılabilir ve vereme neden olabilir. Menenjit, intrakraniyal tüberkülozlar veya apseler sanayileşmiş ülkeler için sorundur [113]. Çoklu ilaç-dirençli tüberküloz (MDR TB) ve geniş bir ilaç dirençli tüberküloz (XDR TB), ilaçların etkisiz kalmasına neden olan yaygınlaşan 1980'lerin sonlarından sonra, tüberküloz hastalığı ve ölüm oranları önemli bir artış ile önemli bir durumu haline geldi [116].

Tüberküloz, dünyada üzerinde dikkat çeken çok ciddi bir hastalıktır. 2011 yılında toplam 1,4 milyon kişi veremden hayatını kaybetti. Dünya nüfusunun önemli bir kısmı üçte biri kadarı özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerden *Mycobacterium tuberculosis* ile enfekte durumdadır. Tüm bunlara ek olarak, HIV'li insanlar arasındaki ölümlerin sebebinin yaklaşık dörtte biri bu hastalığı yapan bakteri TB'ye bağlıdır. Dünyada 630.000 kişiyi etkileyen MDR-TB, ve kullanılan ilaçların uygunsuz kullanımından kaynaklanıyor, pahalı ve tedavisi etki olmadığı için standart tedavilere yanıt vermez [117].

Doğal ürünler, yeni kimyasal bileşiklerin önemli bir kaynağıdır ve birçok bakteriyel hastalık için terapötik ajanlar olarak ifade edilmiş *Euclea natalensis*'in (Ebenaceae) naftokinonlardan zengindir [118]. Ve antimikobakteriyel aktivitesi ilaca duyarlı ve ilaca dirençli *M. tuberculosis* suşlarına karşı çalışılmış [119].

Diterpen, seskiterpen ve longifolen üzerinde ve diterpen, totarol ve Juniperus communis'in toprak üstü kısımlarından ve köklerinden elde edilen asittotarol, *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv'ye karşı en yüksek aktiviteyi gösterdi ve longifolene ve totarol, rifampisine dirençli varyantlara karşı en fazla aktiviteyi sergiledi. Fenolik bileşiklerin farklı konsantrasyonlar da mikrobiyal metabolizma ve büyüme üzerinde bazı etkileri vardır [120,121].

Şifalı bitkiler, tüberküloz ve benzeri çeşitli hastalıklarda tedavi etmek için geleneksel sağlık sistemlerinde uzun süredir kullanılmaktadır. Doğal bitkiler, antimikrobiyal ilaçların geliştirilmesinde önemli bir kaynak olmuştur. Daha önce çalışılmış olan birçok bitki özütünün *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı antimikobakteriyel aktivitesi test edilmiş ve bunların ışığında, bazı bitki özütlerinin antimikobakteriyel özelliklerinin test edilmesinin önemli olduğunu vurgulamaktadır [122].

Bu çalışmada daha önce lupin ve diğer bitki türlerine ait yapılan tüm çalışmaları göz önüne alarak farklı maddeler ve içeriklerin araştırılması hedeflenmiştir.

Tohum kabukları özgün bileşiklerden oluşan geniş bir çeşitliliğe sahiptir. Bir miktar kimyasal karışım, flavonoidler, proteinler, peptidler, amino asitler, alkaloidler, terpenoidler, steroidler tohum kabuğundan salınır. Bunlardan isoflavonoidler, antimikrobiyal fitoaleksinler ve fitoantisipinler kadar görevi en iyi bilinenlerdendir. Bilindiği üzere proantosiyeninler, isoflavonoid ve glisitinin baklagil bitinin üremesini engelleyerek onlara karşı oluşturulan dirençte katkıda bulunur. Buna ek olarak, tohum kabuğu dokularının bileşenleri gıda veya hayvan yemi ürünleri olarak kullanılan baklagil tohumunun toplam kalite ve değerini etkiler. Bu bileşenler endüstri ve ilaç sanayisi için özgün bileşiklerdir [123]. Tohumun bu kadar değerli olduğu araştırılmasının yanında bizimde çalışmamızda antitüberküloz aktivite bulguları ele alınarak çalışmada bitkinin tohum kısmı için en yüksek veriler elde edilmiştir. *L. angustifolius* subsp. *angustifolius* türü için çalışılmamış olan mikrobiyolojik tayin yöntemleri antifungal ve antitüberküloz aktivite analizleri ile sağlık endüstrisini ve bir diğer besin içeriği ve protein değerleri ile gıda endüstrisi için farklı alternatifler oluşturmaya aday ve daha çok üzerine çalışmalar yapılarak tür ve türlerinin yapısının aydınlatılmayı hedeflendirilmektedir.

5. KAYNAKLAR

- [1] T. Baytop, “Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi”, *İstanbul Üni. Yay. No:40* İstanbul, 1984.
- [2] A. Tan, “Türkiye’de Bitkisel Çeşitlilik ve Bitki Genetik Kaynakları,” *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, vol. 2. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, p. , 1992.
- [3] V. Acıbuca and D. Bostan Budak, “Dünya’da ve Türkiye’de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yeri ve Önemi,” *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, vol. 33. Çukurova Üniversitesi, Çukurova Tarım Gıda Bil. Der. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın Ünitesi Balcalı-Sarıçam 01330 Adana, pp. 37–44, 2018.
- [4] B. B. Petrovska, “Historical review of medicinal plants’ usage,” *Pharmacogn. Rev.*, vol. 6, no. 11, pp. 1–5, 2012.
- [5] N. Stojanoski, Development of health culture in Veles and its region from the past to the end of the 20th century. Veles Society of Science and Art. 13-34,1999
- [6] E. Birhane, E. Aynekulu, W. Mekuria, and D. Endale, “Management, use and ecology of medicinal plants in the degraded dry lands of Tigray, Northern Ethiopia,” *J. Med. Plant Res.*, vol. 5, no. 3, pp. 309–318, 2011.
- [7] W. J. Craig, “Health-promoting properties of common herbs,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 70, no. 3 SUPPL., 1999.
- [8] T. Baytop, Türkiye’de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün), 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., s.: 357, İstanbul, 1999.
- [9] G. W. Winston, “Oxidants and antioxidants in aquatic animals,” *Comp. Biochem. Physiol. Part C Comp. Pharmacol.*, vol. 100, no. 1, pp. 173–176, 1991.
- [10] K. Abascal and E. Yarnell, “Herbs and Drug Resistance: Part 1Herbs and Microbial Resistance to Antibiotics,” *Altern. Complement. Ther.*, vol. 8, pp. 237–241, 2002.
- [11] S. R. Rao and G. A. Ravishankar, “Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 20, no. 2, p. 101—153, May 2002.
- [12] F. Bourgaud, A. Gravot, S. Milesi, and E. Gontier, “Production of plant secondary metabolites: A historical perspective,” *Plant Sci.*, vol. 161, pp. 839–851, 2001.
- [13] F. Alaca and N. Arslan, “Sekonder Metabolitlerin Bitkiler Açısından Önemi,” *Ziraat Mühendisliği. Türk Ziraat Yüksek Mühendisleri Birliği, Sakarya Cad. 30/2 Kızılay Çankaya / Ankara*, pp. 48–55, 2012.

- [14] T. Çalışkan, R. Hatipoğlu, and S. Kırıcı, “Sekonder Bitki Metabolitlerinin In Vitro Koşullarda Üretimi,” *Turkish J. Agric. - Food Sci. Technol.*, vol. 7, no. 7, p. 971, 2019.
- [15] R. Verpoorte, R. Heijden, H. Hoopen, and J. Memelink, “Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals,” *Biotechnol. Lett.*, vol. 21, pp. 467–479, 1999.
- [16] C. D. Harvell, “The Ecology and Evolution of Inducible Defenses,” *Q. Rev. Biol.*, vol. 65, no. 3, pp. 323–340, 1990.
- [17] T. S. Agostini-costa, R. F. Vieira, H. R. Bizzo, D. Silveira, and M. A. Gimenes, “Secondary Metabolites.”
- [18] İ. Saldamlı Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 463-492, 2007.
- [19] M. M. Cowan, “Plant Products as Antimicrobial Agents,” vol. 12, no. 4, pp. 564–582, 1999.
- [20] W.A.R. Thomson, *Medicines from the Earth*. Maidenhead, United Kingdom: McGraw-Hill Book Co.; 1978.
- [21] B. Cemeroglu, *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1*. Gıda Teknolojisi Yayınları No:35, Ankara, 2004.
- [22] T. C. E Kafkas, A Bozdoğan, A Burgut, N Türemiş, S Paydaş Kargı, “Bazı üzüksü meyvelerde toplam fenol ve antosiyanin içerikleri,” II.Ulusal üzüksü meyveler sempozyumu,Tokat, pp. 309–312, 2006.
- [23] M. Pehlivan and M. Güteryüz, “Ahududu ve Böğürtlenlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi,” *Bahçe*, vol. 33. Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, p. , 2004.
- [24] G. Y. Ribéreau-Gayon,P., *Handbook of Enology, Volume 2, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments 2nd Edition*. Wiley. 2006.
- [25] G. Wallace and S. C. Fry, “Phenolic Components of the Plant Cell Wall,” vol. 151, K. W. Jeon and J. Jarvik, Eds. Academic Press, 1994, pp. 229–267.
- [26] G. A. Spanos and R. E. Wrolstad, “Phenolics of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage--a review,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 40, no. 9, p. 1478—1487, 1992.
- [27] G. Kahnt, “Trans-cis-equilibrium of hydroxycinnamic acids during irradiation of aqueous solutions at different pH,” *Phytochemistry*, vol. 6, no. 5, pp. 755–758, 1967.

- [28] K. Herrmann and C. W. Nagel, "Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 28, no. 4, pp. 315–347, 1989.
- [29] M. Rhodes and L. Woollorton, "The enzymic conversion of hydroxycinnamic acids to p-coumarylquinic and chlorogenic acids in tomato fruits," *Phytochemistry*, vol. 15, pp. 947–951, 1976.
- [30] L. Packer, *Handbook of Antioxidants*. Newyork, Basel, 2002.
- [31] C. Rice-Evans, N. Miller, and G. Paganga, "Antioxidant properties of phenolic compounds," *Trends Plant Sci.*, vol. 2, no. 4, pp. 152–159, 1997.
- [32] H. Tsuchiya *et al.*, "Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 50, no. 1, pp. 27–34, 1996.
- [33] J. W. Critchfield, S. T. Butera, and T. M. Folks, "Inhibition of HIV activation in latently infected cells by flavonoid compounds," *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, vol. 12, no. 1, p. 39–46, 1996.
- [34] J. B. Harborne, "Comparative biochemistry of the flavonoids-IV.: Correlations between chemistry, pollen morphology and systematics in the family plumbaginaceae," *Phytochemistry*, vol. 6, no. 10, pp. 1415–1428, 1967.
- [35] K. E. Heim, A. R. Tagliaferro, and D. J. Bobilya, "Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships," *J. Nutr. Biochem.*, vol. 13, no. 10, p. 572–584, 2002.
- [36] K. Kılınç, ve A. Kılınç, "Oksijen toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri," *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2): 110-118, 2002.
- [37] G. W. Winston, "Oxidants and antioxidants in aquatic animals," *Comp. Biochem. Physiol. Part C Comp. Pharmacol.*, vol. 100, no. 1, pp. 173–176, 1991.
- [38] K. Apel and H. Hirt, "Reactive oxygen species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction," *Annu. Rev. Plant Biol.*, vol. 55, no. 1, pp. 373–399, 2004.
- [39] E. R. Stadtman, "Importance of individuality in oxidative stress and aging 1, 2 1Guest Editor: Rajindar S. Sohal 2This article is part of a series of reviews on 'Oxidative Stress and Aging.' The full list of papers may be found on the homepage of the journal.," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 33, no. 5, pp. 597–604, 2002.
- [40] R. Sohal, "Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 33, pp. 37–44, 2002.

- [41] R. A. Floyd, "Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia," *FASEB J.*, vol. 4, no. 9, pp. 2587–2597, 1990.
- [42] Y. DüNDAR and R. Aslan, *Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar, Oxidative Stress and Antioxidants in Medicine*. 2000.
- [43] N. Delibaş and R. Özcankaya, "Serbest Radikaller," *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, vol. 2. Süleyman Demirel Üniversitesi, p. , 2009.
- [44] M. Nespolo, "Free Radicals in Biology and Medicine. Fifth Edition. by Barry Halliwell and John M. C. Gutteridge. Oxford University Press, 2015. Pp. xxxviii + 905. Price GBP 70.00 (paperback, ISBN 9780198717485), GBP 125.00 (hardback, ISBN 9780198717478)," *Acta Crystallogr. Sect. D Struct. Biol.*, vol. 73, pp. 384–385, 2017.
- [45] J. M. C. Gutteridge, "Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage," *Clin. Chem.*, vol. 41, no. 12 SUPPL., pp. 1819–1828, 1995.
- [46] B. P. Yu, "Cellular defenses against damage from reactive oxygen species," *Physiol. Rev.*, vol. 74, no. 1, p. 139—162, 1994.
- [47] S.J. Jadhav, SS Nimbalkar, AD Kulkarni, D.L Madhavi "Lipid oxidation in biological and food systems", (eds: Madhavi DL., Deshpande SS., Salunkhe DK.), Food antioxidants, New York: Marcel Dekker. p 5–64, 1996.
- [48] J. Pokorný, "Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants?," *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 109, no. 6, pp. 629–642, 2007.
- [49] T. M. Rababah, M. A. Al-Mahasneh, W. Yang, R. Esoh, M. N. Alhamad, and M. Al-u'datt, "optimizing the best concentration of additive flavors to corn chips by evaluating the physicochemical and sensory properties," *J. Food Process. Preserv.*, vol. 36, no. 3, pp. 225–231, 2012.
- [50] İ. Akkuş, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya, 1996.
- [51] Norbert W. Tietz Paul R. Finley, "Clinical Guide to Laboratory Tests, Second Edition," *Int. J. Gynecol. Pathol.*, vol. 10, no. 1, p. 105, 1991.
- [52] M.S. Engin Taflan (*Laurocerasus officinalis Roem.*) bitkisinin meyve çekirdek ve Yapraklarının mevsim değişikliğine göre göre antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve fenolik bileşik tayini, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat 2007.
- [53] N. Balasundram, K. Sundram, and S. Samman, "Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses," *Food Chem.*, vol. 99, no. 1, pp. 191–203, 2006.

- [54] Gök V ., Serteser A., “Doğal Antioksidanların Biyoyararlılığı”, 2-4 Ekim 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, Ankara, (2003).
- [55] A. Pandey, S. Chakraborty, A. Datta, and N. Chakraborty, “Proteomics Approach to Identify Dehydration Responsive Nuclear Proteins from Chickpea (*Cicer arietinum* L.),” *Mol. Cell. Proteomics*, vol. 7, pp. 88–107, 2008.
- [56] M. Fay, “Flowering Plant Families of the World - by V. H. Heywood, R. K. Brummitt, A. Culham and O. Seberg,” *Curtis’s Bot. Mag.*, vol. 24, pp. 198–200, 2007.
- [57] F. Güneş, “Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler),” 2012, pp. 466–470.
- [58] Pieter Baas, “Mabberley’s Plant-book – a portable dictionary of plants, their classification and uses.,” *Lawa*, vol. 38, no. 4, p. 22941932, 2017.
- [59] M. B. Erdoğan, E. Hakkı, M. Yorgancılar, E. Atalay, S. Uyar, “Basit tekrarlı diziler arası polimorfizm (BTDAP= ISSR) tekniği ile yerli lüpen genotiplerinde (*Lupinus albus* L.) genetik varyasyonun belirlenmesi’,” *Bitkisel Araştırma Derg.*, pp. 1–5, 2007.
- [60] M. Davulcu, “A Kind of Traditional snack food ‘ Tirmis ’ and a Traditional Profession ‘ Tirmişçilik ’ in Antalya Region,” vol. 8, pp. 347–360, 2013.
- [61] S. K. Johnson, V. Chua, R. S. Hall, and A. L. Baxter, “Lupin kernel fibre foods improve bowel function and beneficially modify some putative faecal risk factors for colon cancer in men,” *Br. J. Nutr.*, vol. 95, no. 2, p. 372—378, 2006.
- [62] F. Güneş and N. Ozhatay, “Flora of Turkey and the East Aegean Islands,” vol. 11, 2000, pp. 92–94.
- [63] S. C. Q. Magalhães, F. Fernandes, A. R. J. Cabrita, A. J. M. Fonseca, P. Valentão, and P. B. Andrade, “Alkaloids in the valorization of European *Lupinus* spp. seeds crop,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 95, pp. 286–295, 2017.
- [64] F. Okuyucu, B. Kır, H. Akdemir, B. R. Okuyucu, and M. Baygın, “Ödemiş Koşullarında Bazı Ak Acı (*Lupinus albus* L.), Sarı Tatlı (*Lupinus luteus* L.) ve Mavi Tatlı (*Lupinus angustifolius* L.) Lüpen Çeşitlerinin Verim ve Besin Madde İçerikleri Üzerine Bir Araştırma,” *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, vol. 41. Ege Üniversitesi, p. , 2004.
- [65] A. A. Mohamed, “Composition of *Lupinus albus* 1,” pp. 643–647, 1995.
- [66] O. Karagüzel, “Farklı Tuz Kaynak ve Konsantrasyonlarının Güney Anadolu Doğal *Lupinus varius* Tohumlarının Çimlenme Özelliklerine Etkisi,” *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, vol. 16. Akdeniz Üniversitesi, pp. 211–220, 2003.

- [67] A. Güner, S. Aslan, T. Ekim, M. Vural, ve M.T. Babaç, (edlr.), Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul, (2012).
- [68] N. Todorov, D. Pavlov, and K. Kostov, “Lupin (*Lupinus* spp.),” *Food and Feed from Legumes and Oilseeds.*, 1996, pp. 113–123.
- [69] S. Leeson and J.D. Summers, *Title Commercial Poultry Nutrition*. 1997.
- [70] A. J. Evans, P. C. K. Cheung, and N. W. H. Cheetham, “The carbohydrate composition of cotyledons and hulls of cultivars of *Lupinus angustifolius* from Western Australia,” *J. Sci. Food Agric.*, vol. 61, no. 2, p. 189—194, 1993.
- [71] G. J. M. van Kempen and A. J. M. Jansman, “Use of EC produced oilseeds in animal feeds.,” 1994, pp. 31–56.
- [72] S.S.T. İnan, “ Farklı oranlarda lupin.ruşeym ve tofu ilavesinin tavuk sosislerinin depolama sürecinde bazı fizikokimyasal,duyusal ve tekstürel özelliklerinin belirlenmesi”, Doktora tezi, Selçuk Üniv., Konya, 2014.
- [73] R. Raman, R. B. Cowley, H. Raman, and D. J. Lockett, “Analyses Using SSR and DArT Molecular Markers Reveal that Ethiopian Accessions of White Lupin (<i>Lupinus albus</i> L.) Represent a Unique Genepool,” *Open J. Genet.*, vol. 04, no. 02, pp. 87–98, 2014.
- [74] S. C. Smith, R. Choy, S. K. Johnson, R. S. Hall, A. C. M. Wildeboer-Veloo, and G. W. Welling, “Lupin kernel fiber consumption modifies fecal microbiota in healthy men as determined by rRNA gene fluorescent in situ hybridization,” *Eur. J. Nutr.*, vol. 45, no. 6, pp. 335–341, 2006.
- [75] J. B. Harborne, “Comparative biochemistry of the flavonoids-IV.: Correlations between chemistry, pollen morphology and systematics in the family plumbaginaceae,” *Phytochemistry*, vol. 6, no. 10, pp. 1415–1428, 1967.
- [76] K. E. Heim, A. R. Tagliaferro, and D. J. Bobilya, “Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships,” *J. Nutr. Biochem.*, vol. 13, no. 10, pp. 572–584, 2002.
- [77] T. Rababah, K. Ereifej, R. Esoh, M. Aludatt, M. Alrababah, and W. Yang, “Antioxidant activities, total phenolics and HPLC analyses of the phenolic compounds of extracts from common Mediterranean plants,” *Nat. Prod. Res.*, vol. 25, pp. 596–605, 2011.

- [78] C. Jiménez-Martínez, H. Hernández-Sánchez, G. Álvarez-Manilla, N. Robledo-Quintos, J. Martínez-Herrera, and G. Dávila-Ortiz, “Effect of aqueous and alkaline thermal treatments on chemical composition and oligosaccharide, alkaloid and tannin contents of *Lupinus campestris* seeds,” *J. Sci. Food Agric.*, vol. 81, no. 4, pp. 421–428, 2001.
- [79] J. Pokorný, “Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants?,” *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 109, no. 6, pp. 629–642, 2007.
- [80] F. Vella, “Basic medical biochemistry, a clinical approach: by D B Marks, A D Marks and C M Smith. pp 806. Williams and Wilkins, Baltimore. 1996. £29.95,” *Biochem. Educ.*, vol. 24, no. 4, pp. 238–239, 1996.
- [81] S. K. Johnson, V. Chua, R. S. Hall, and A. L. Baxter, “Lupin kernel fibre foods improve bowel function and beneficially modify some putative faecal risk factors for colon cancer in men,” *Br. J. Nutr.*, vol. 95, no. 2, p. 372–378, 2006.
- [82] Y. P. Lee *et al.*, “Effects of lupin kernel flour-enriched bread on blood pressure: A controlled intervention study,” *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 89, no. 3, pp. 766–772, 2009.
- [83] S. K. Johnson, V. Chua, R. S. Hall, and A. L. Baxter, “Lupin kernel fibre foods improve bowel function and beneficially modify some putative faecal risk factors for colon cancer in men,” *Br. J. Nutr.*, vol. 95, no. 2, p. 372–378, 2006.
- [84] S. C. Jeong, S. R. Koyyalamudi, Y. T. Jeong, C. H. Song, and G. Pang, “Macrophage immunomodulating and antitumor activities of polysaccharides isolated from *Agaricus bisporus* white button mushrooms,” *J. Med. Food*, vol. 15, no. 1, pp. 58–65, 2012.
- [85] N. Erdemoglu, S. Ozkan, and F. Tosun, “Alkaloid profile and antimicrobial activity of *Lupinus angustifolius* L. alkaloid extract,” *Phytochem. Rev.*, vol. 6, no. 1, pp. 197–201, 2007.
- [86] M. K. Khan, W. Karnpanit, S. M. Nasar-Abbas, Z. e. Huma, and V. Jayasena, “Phytochemical composition and bioactivities of lupin: A review,” *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 50, no. 9, pp. 2004–2012, 2015.
- [87] V. L. Singleton, R. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventós, “Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent,” in *Oxidants and Antioxidants Part A*, vol. 299, Academic Press, 1999, pp. 152–178.
- [88] D. Gajula *et al.*, “Determination of Total Phenolics, Flavonoids and Antioxidant and Chemopreventive Potencial of Basil,” *International Journal of Cancer Research*, vol. 5, no. 4, pp. 130–143, 2009.

- [89] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *Lebensm. Wiss. Technol.*, vol. 28, no. 1, p. 25–30, 1995.
- [90] A. Arvouet-Grand, B. Vennat, A. Pourrat, and P. Legret, "[Standardization of propolis extract and identification of principal constituents]," *J. Pharm. Belg.*, vol. 49, no. 6, p. 462–468, 1994.
- [91] M. P. Weinstein, J. B. Patel, C.-A. Burnhman, and B. L. Zimmer, "Clinical and Laboratory Standards Institute Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically Standard, Approval CDM-A.," *M07 Methods dilution Antimicrob. Susceptibility Tests Bact. That Grow Aerob.*, p. 91, 2018.
- [92] C. B. J. Villarino *et al.*, "The effects of lupin (*Lupinus angustifolius*) addition to wheat bread on its nutritional, phytochemical and bioactive composition and protein quality," *Food Res. Int.*, vol. 76, no. P1, pp. 58–65, 2015.
- [93] J. A. Benavente-Garcia, O. Castillo, J. Sabater, F. Del Rio, "characterization of a s-adenosyl-l-methionine: eriodictyol 4'-o-methyltransferase from *Citrus aurantium*: developmental changes in the levels of 4'-o-methoxyflavonoids and s-adenosyl-l-methionine: eriodictyol 4'-o-methyltransferase activity," *Plant Physiol. Biochem.*, 1995.
- [94] H. M. Sbihi, I. A. Nehdi, C. P. Tan, and S. I. Al-Resayes, "Bitter and sweet lupin (*Lupinus albus* L.) seeds and seed oils: A comparison study of their compositions and physicochemical properties," *Ind. Crops Prod.*, vol. 49, pp. 573–579, 2013.
- [95] S. R. Thambiraj, M. Phillips, S. R. Koyyalamudi, and N. Reddy, "Antioxidant activities and characterisation of polysaccharides isolated from the seeds of *Lupinus angustifolius*," *Ind. Crops Prod.*, vol. 74, pp. 950–956, 2015.
- [96] National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Reference method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard M27-A, Wayne, P.A. (1997).
- [97] C. Martínez-Villaluenga, H. Zieliński, J. Frias, M. Piskula, H. Kozłowska, and C. Vidal-Valverde, "Antioxidant capacity and polyphenolic content of high-protein lupin products," *Food Chem.*, vol. 112, no. 1, p. 84–88, 2009.
- [98] R. Belski *et al.*, "Effects of lupin-enriched foods on body composition and cardiovascular disease risk factors: A 12-month randomized controlled weight loss trial," *Int. J. Obes. (Lond)*, vol. 35, pp. 810–819, 2010.

- [99] B. Wolko, J. Clements, B. Naganowska, M. Nelson, and H. Yang, "Lupinus," in *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources: Legume Crops and Forages*, 2011, pp. 153–206.
- [100] N. Perron and J. Brumaghim, "A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding," *Cell Biochem. Biophys.*, vol. 53, pp. 75–100, 2009.
- [101] L. G. Ranilla, M. I. Genovese, and F. M. Lajolo, "Isoflavones and antioxidant capacity of Peruvian and Brazilian lupin cultivars," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 22, no. 5, pp. 397–404, 2009.
- [102] J. Moore and L. Yu, "Methods for Antioxidant Capacity Estimation of Wheat and Wheat-Based Food Products," in *Wheat Antioxidants*, John Wiley & Sons, Ltd, 2007, pp. 118–172.
- [103] J. Frias, M. Miranda, R. Doblado, and C. Vidal-Valverde, "Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa," *Food Chem.*, vol. 92, pp. 211–220, 2005.
- [104] R. Fernandez-Orozco *et al.*, "Fermentation as a bio-process to obtain functional soybean flours," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 55, no. 22, p. 8972–8979, 2007.
- [105] E. Lampart-Szczapa, A. Siger, K. Trojanowska, M. Nogala-Kalucka, M. Małecka, and B. Pacholek, "Chemical composition and antibacterial activities of lupin seeds extracts," *Food / Nahrung*, vol. 47, pp. 286–290, 2003.
- [106] A. Siger, J. Czubinski, P. Kachlicki, K. Dwiecki, E. Lampart-Szczapa, and M. Nogala-Kalucka, "Antioxidant activity and phenolic content in three lupin species," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 25, no. 2, pp. 190–197, 2012.
- [107] E. Tsaliki, V. Lagouri, and G. Doxastakis, "Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*)," *Food Chem.*, vol. 65, no. 1, pp. 71–75, 1999.
- [108] Mali, R.G. and A.A. Mehta, A review on anthelmintic plants. Natural product radiance, 2008. 7(5): p. 466-475.
- [109] Gilani, A., et al., Studies on antihypertensive and antispasmodic activities of methanol extract of *Acacia nilotica* pods. *Phytotherapy Research*, 1999. 13(8): p. 665-669.
- [110] Patel, S. and D.B. Shah, Phylogeny in Few Species of Leguminosae Family Based on matK Sequence. *Computational Molecular Biology*, 2014. 4(4).
- [111] F. Ahmad, F. Anwar, and S. Hira, "Review on medicinal importance of fabaceae family," *Pharmacologyonline*, vol. 3, pp. 151–156, 2016.
- [112] M. N. G. do Nascimento *et al.*, "Antimicrobial and cytotoxic activities of *Senna* and *Cassia* species (Fabaceae) extracts," *Ind. Crops Prod.*, vol. 148, no. March, p. 112081, 2020.

- [113] K. F. Chang *et al.*, “First report of *Fusarium proliferatum* causing root rot in soybean (*Glycine max* L.) in Canada,” *Crop Prot.*, vol. 67, pp. 52–58, 2015.
- [114] E. Mohamed Abdallah, K. Ahmad Qureshi, and K. Hamid Musa, “Antimicrobial, Antioxidant and Phytochemical Screening of Lupin Seeds (*Lupinus Termis* Forrsk.) From Sudan,” *Online) An Online Int. J. Available*, vol. 6, no. 1, pp. 1–8, 2017
- [115] M. G. Harisinghani, T. C. McLoud, J.-A. O. Shepard, J. P. Ko, M. M. Shroff, and P. R. Mueller, “Tuberculosis from Head to Toe,” *RadioGraphics*, vol. 20, no. 2, pp. 449–470, 2000.
- [116] P. Glaziou, K. Floyd, and M. C. Raviglione, “Global Epidemiology of Tuberculosis,” *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 39, no. 3, pp. 271–285, 2018.
- [117] T. Askun, E. M. Tekwu, F. Satil, S. Modanlioglu, and H. Aydeniz, “Preliminary antimycobacterial study on selected Turkish plants (Lamiaceae) against *Mycobacterium tuberculosis* and search for some phenolic constituents.,” *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 13, pp. 1–11, 2013.
- [118] N. Lall and J. J. Meyer, “In vitro inhibition of drug-resistant and drug-sensitive strains of *Mycobacterium tuberculosis* by ethnobotanically selected South African plants,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 66, no. 3, p. 347–354, 1999.
- [119] A. Y. Gordien, A. I. Gray, S. G. Franzblau, and V. Seidel, “Antimycobacterial terpenoids from *Juniperus communis* L. (Cupressaceae),” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 126, no. 3, pp. 500–505, 2009.
- [120] M. R. Alberto, M. E. Farías, and M. C. Manca de Nadra, “Effect of Gallic Acid and Catechin on *Lactobacillus hilgardii* 5w Growth and Metabolism of Organic Compounds,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 49, no. 9, pp. 4359–4363, Sep. 2001.
- [121] C. Reguant, A. Bordons, L. Arola, and N. Rozès, “Influence of phenolic compounds on the physiology of *Enococcus cœni* from wine,” *J. Appl. Microbiol.*, vol. 88, no. 6, pp. 1065–1071, 2000.
- [122] T. Askun, G. Tumen, F. Satil, S. Modanlioglu, and O. Yalci, “Antimycobacterial Activity Some Different Lamiaceae Plant Extracts Containing Flavonoids and Other Phenolic Compounds,” *Underst. Tuberc. - New Approaches to Fight. Against Drug Resist.*, 2012.
- [123] J. A. Moïse, S. Han, L. Gudynaitė-Savitch, D. A. Johnson, and B. L. A. Miki, “Seed coats: Structure, development, composition, and biotechnology,” *Vitr. Cell. Dev. Biol. - Plant*, vol. 41, no. 5, pp. 620–644, 2005.

