T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ORGANİK KİMYA BİLİM DALI

MANİSA MESİR MACUNU BAHARAT KARIŞIMLARININ TOPLAM FENOLİK VE FLAVONOİD İÇERİKLERİNİN ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Mustafa TEKOĞLU

Danışman
Doç. Dr. Kadir AY

II. Danışman
Öğr. Gör. Dr. Çinel KÖKSAL KARAYILDIRIM

MANİSA-2021

Mustafa TEKOğLU	**MANİSA MESİR MACUNU BAHARAT KARIŞIMLARININ TOPLAM FENOLİK VE FLAVONOİD İÇERİKLERİNİN ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ**	**2021**

Tez Sırtı Örneği

TEZ ONAYI

Mustafa TEKOĞLU tarafından hazırlanan **"Manisa Mesir Macunu Baharat Karışımlarının Toplam Fenolik ve Flavonoid İçeriklerinin Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi"**adlı tez çalışması 26/08/2021 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri önünde Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman: **Doç. Dr. Kadir AY**
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

II. Danışman: **Öğr. Gör. Dr. Çinel KÖKSAL KARAYILDIRIM**
Ege Üniversitesi

Jüri Üyesi: **Prof. Dr. Mehmet Sabih ÖZER**

Manisa Celal Bayar Üniversitesi

Jüri Üyesi: **Prof. Dr. Tamer KARAYILDIRIM**
Ege Üniversitesi

Jüri Üyesi: **Dr. Öğr. Üye. İsmail Cem KANTARLI**

Ege Üniversitesi

Jüri Üyesi: **Öğr. Gör. Dr. Çinel KÖKSAL KARAYILDIRIM**
Ege Üniversitesi

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Mustafa TEKOĞLU

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER I
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ III
ŞEKİLLER DİZİNİ IV
TABLO DİZİNİ V
TEŞEKKÜR VI
ÖZET VII
ABSTRACT VIII
1 GİRİŞ 1
1.1 Mesir Macunun Tarihi 2
1.1.1 Mithridatum Tarihi 2
1.1.2 Osmanlı Devleti'nde Mesir Macunu 3
1.2 Mesir Macununun İçeriği 4
1.2.1 Mesir Macununun Genel Özellikleri ve Üzerinde Yapılan Çalışmalar 8
1.3 Mesir Macunun İçeriğinde En Fazla Bulunan Bitkiler 14
1.3.1 Çörekotu 14
1.3.2 Zencefil 15
1.3.3 Tarçın 16
1.3.4 Yenibahar 17
1.3.5 Kakule 17
1.4 Mesir Macunu ve Farmakolojik Etkileri 17
1.5 Antioksidanlar 19
1.6 Bitkisel Formülasyonlar ve Antioksidan Aktiviteleri 22
1.7 Tezin Amacı 23
2 MATERYAL VE YÖNTEM 25
2.1 Materyal 25
2.2 Yöntem 25
2.2.1 Ekstraksiyon İşlemleri 25
2.2.2 Toplam Fenolik ve Flavonoid İçeriğinin Kromatografik Yöntemle Belirlenmesi 26
2.2.3 Termal Gravimetrik Analiz 27
2.2.4 DPPH Radikalini Giderme Aktivitesinin Kapasitesi 27
2.2.5 $ABTS^{+}$ Radikal Katyon Renksizleştirme Yöntemi 28

2.2.6 İstatistiksel Analizler 29
3 BULGULAR VE TARTIŞMA 30
3.1 Termal Gravimetrik Analiz 31
3.2 HPLC Analizleri 35
3.3 Aktivite Sonuçları 51
4 SONUÇ VE ÖNERİLER 56
5 KAYNAKLAR 59
ÖZGEÇMİŞ ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CİMM	Coğrafi İşaretlenmiş Mesir Macunu
DTG	Diferansyel Termal Analiz
EtOH	Etanol
HPLC	Yüksek Basınç Sıvı Kromotografisi
TG	Termogravimetrik analiz
TMM	Tarihi Mesir Macunu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Mesir Macunu Üretimi Genel Gösterimi 8
Şekil 1.2. Bitkisel Kaynaklı Bazı Fenolik Antioksidanlar 22
Şekil 3.1. CİMM Etanol Ekstresinin TG ve DTG Eğrileri 32
Şekil 3.2. CİMM Etanol:Su Ekstresinin TG ve DTG Eğrileri 33
Şekil 3.3. TMM Etanol Ekstresinin TG ve DTG Eğrileri 34
Şekil 3.4. TMM Etanol:Su Ekstresinin TG ve DTG Eğrileri 34
Şekil 3.5. TMM EtOH Ekstresinin HPLC Kromatogramı 35
Şekil 3.6. TMM EtOH:Su Ekstresinin HPLC Kromatogramı 35
Şekil 3.7. CİMM EtOH Ekstresinin HPLC Kromatogramı 36
Şekil 3.8. CİMM EtOH:SU Ekstresinin HPLC Kromatogramı 36
Şekil 3.9. TMM EtOH Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Piklerinin Ayrıntılı Gösterimi 44
Şekil 3.10. TMM EtOH:Su Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Piklerinin Ayrıntılı Gösterimi 45
Şekil 3.11. TMM EtOH ve EtOH:Su Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Yapıları 46
Şekil 3.12. CİMM EtOH Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Piklerinin Ayrıntılı Gösterimi 47
Şekil 3.13. CİMM EtOH:Su Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Piklerinin Ayrıntılı Gösterimi 48
Şekil 3.14. CİMM EtOH ve EtOH:Su Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Yapıları 49

TABLO DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Coğrafi İşaretlenmiş Mesir Macunu (CİMM) Üretiminde Kullanılan Bitkiler ve Miktarları 5

Tablo 1.2. Tarihi Mesir Macunu (TMM) Üretiminde Kullanılan Bitkiler ve Miktarları 6

Tablo 1.3. Manisa Mesir Macununun Genel Özellikleri 8

Tablo 1.4. Mesir Macununun Bileşimi ve Kimyasal Özellikleri 10

Tablo 1.5. Mesir Macununun Uçucu Bileşikleri 10

Tablo 1.6. Mesir macunu örneklerinin gallik asit eşdeğeri cinsinden toplam fenolik madde miktarları 13

Tablo 1.7. Mesir Macunu Örneklerinin Radikal Yakalama Aktiviteleri: IC_{50} Değerleri 13

Tablo 1.8. 100 g mesir macunu örneğindeki mg kuersetin eşdeğeri antioksidan miktarları (QEAC) ve mg askorbik asit eşdeğeri antioksidan miktarları (AEAC) 14

Tablo 2.1. HPLC Gradiyent Çözgen Sistemi Koşulları 26

Tablo 3.1. CİMM ve TMM Ekstrelerinin Fenolik İçerikleri 37

Tablo 3.2. CİMM ve TMM Ekstrelerinin İçerdiği Fenolik Bileşiklerin Yapıları 38

Tablo 3.3. CİMM ve TMM Ekstrelerinin DPPH İnhibisyon Sonuçları 52

Tablo 3.4. CİMM ve TMM Ekstrelerinin % $ABTS^{+}$ İnhibisyonu Sonuçları 53

TEŞEKKÜR

Çalışmam ve lisans eğtimim boyunca bana destek olan, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren danışman hocam Sayın Doç. Dr. **Kadir AY**'a,

Bilgi ve tecrübesi ile çalışmalarıma yardımcı olan, sevgili hocam Sayın Öğr. Gör. Dr. **Çinel KÖKSAL KARAYILDIRIM**'a,

Osmanlıca metinlerin çevirilerinde desteğini esirgemeyen Tarih bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. **Alpay BİZBİRLİK**'e

Hayatıma girip hayatımı anlamladıran, sevgisiyle güç veren sevgili eşim Yük. Kim. **Sedef YÜCEL TEKOĞLU**'na ve

Evimizin sevgi merkezi, neşe kaynağımız güzel kızım **Simya TEKOĞLU**'na öğrenim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen ve hep yanımda olan kocaman **aileme** yürekten teşekkür ederim.

Mustafa TEKOĞLU
Manisa, 2021

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Manisa Mesir Macunu Baharat Karışımlarının Toplam Fenolik ve Flavonoid İçeriklerinin Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi

Mustafa TEKOĞLU

Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Kadir AY

II. Danışman: Öğr. Gör. Dr. Çinel KÖKSAL KARAYILDIRIM

Binlerce yıldır ilaç olarak kullanılan bitkiler, günümüzde de çeşitli hastalıkların tedavisinde önemli kaynaklar olarak kabul edilmektedir (Rehman vd., 2015). Antioksidan olarak rol oynadığı bilinen fenolik bileşikler, sekonder metabolitlerin en geniş türünü oluşturmakta, hücresel ve fizyolojik seviyelerde oksidasyondan etkili bir koruma sağlayabilmekte ve ayrıca anti-kanser, anti-inflamatuvar, antimikrobiyal vb. etkileri ortaya koymaktadırlar (Oh vd., 2015, Larson, 1988; Cuvrelier vd., 1992).

Günümüzde coğrafi işaretlenmiş ürün olduktan sonra Manisa Mesir macunu adını alan Mesir macunu denilince akla ilk gelen isim Ayşe Hafsa Sultan'ın hastalığını iyileştirmek için 41 çeşit bitkiyi karıştırıp macun yapan Merkez Efendi'dir. Mesir macunu üzerinde bugüne kadar çok farklı çalışmalar yapılmış, invert şeker, asitlik gibi temel kimyasal özellikleri (Artık vd., 1993), nem ve uçucu madde miktarı, 5-HMF, pH, asitlik, kül, refraktif indeks, çözünebilir katı madde, invert şeker (Oskay vd., 2010) gibi kimyasal analizlerinin yanı sıra reolojik ve antioksidan özellikleri de incelenmiştir (Güven N., 2010).

Bu çalışmada, coğrafi işaretlenmiş Mesir macunu ile tarihi Mesir macunu üretiminde kullanılan bitki karışımlarının kimyasal içeriklerinin ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için bitki karışımları farklı polaritedeki çözgenlerle ekstrakte edilmiş ve elde edilen ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin belirlenmesinin yanı sıra hem kimyasal hem de antioksidan kapasiteleri ortaya konulmuştur. Ekstrelerde en fazla bulunan fenolik bileşikler apigenin 7-glukozit, gallik asit, hesperidin, rosmarinik asit, vanilin, verbaskozit şeklinde bulunurken, CİMM EtOH:su ekstresi sırasıyla %49,39 ve %73,41 inhibisyon değerleri ile hem DPPH göre hem de ABTS+ radikal katyon renksizleştirme yöntemine göre en aktif ekstre olarak gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, Flavonoidler, Mesir macunu, Toplam fenolik madde

2021, 69 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Determination of Antioxidant Capacities, Total Phenolic and Flavonoid Contents of Manisa Mesir Paste Spices

Mustafa TEKOĞLU

Manisa Celal Bayar University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kadir AY

Co-Supervisor: Dr. Çinel KÖKSAL KARAYILDIRIM

Plants have been used as medicine for thousands of years, even todays they are accepted as a source of treatment against different kind of illness (Rehman vd., 2015). It is well known knowledge that phenolic compounds that are the largest family of secondary metabolites are good antioxidants by blocking oxidation in cell and physiological levels. Moreover, phenolic compounds show anti-cancer, anti-inflammatory, anti-microbial etc. activity in wide range (Oh et al., 2015, Larson, 1988; Cuvrelier et al., 1992).

Merkez Efendi is the first man come to mind when Mesir paste is spoken because he made an herbal paste with 41 plants in order to cure Ayşe Hafsa Sultan. Up to now, there are difference studies on Mesir paste, and a part of these studies on its chemical properties such as invert sugar, acidity (Artık et al., 1993) humidity, volatile contents, 5-HMF, pH, ash content, refractive index, soluble brick materials (Oskay et al., 2010) were investigated. Other parts of these studies are focused on its rheological properties and biological activity (Güven N., 2010).

In this thesis, herbal mixture has been prepared according to the historical and geographically indicated Mesir paste then these mixtures were extracted with different solenvt in different polarity. Total phenolic and flavonoids contents of obtained extracts were examined and also their antioxidant capacities will be investigated by different methods including chemical and biological methods. The phenolic compounds in extract were determined as apigenin 7-glucoside, gallic acid, hesperidin, rosmarinic acid, vanillin, verbascoside. The most active extract for DPPH and ABTS activities was CİMM EtOH:water extract with 49.39% and 73.41% inhibition values.

Keywords: Antioxidant activity, Flavonoids, Mesir paste, Total phenolic compounds

2021, 67 pages

1 GİRİŞ

Binlerce yıldır ilaç olarak kullanılan bitkiler, günümüzde de çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan önemli kaynaklar olarak kabul edilmektedir [1]. Özellikle ilerleyen teknolojiye bağlı olarak gelişen analitik cihazlar ve spektral yöntemler ile bitkilerin bileşiminde bulunan sekonder bileşiklerin yapılarının aydınlatılması ve biyolojik aktivitelerinin araştırılması sonucu, çok sayıda bitki kökenli herbal formülasyon alternatif/destekleyici tedavide yerini almıştır [2]. Bitkilerden elde edilen bu bileşikler, başta gıda takviyesi olarak kullanımlarının yanı sıra kanser gibi tedavisi zor olan hastalıklarda sitotoksik ve kanseri engelleyici etkileri de kapsayan farmakolojik özelliklerinden ötürü dikkate değer bir öneme sahip olmuşlardır [3]. Son yıllarda doğal kaynaklı ilaçlarla tedaviye yönelimin artması ile birlikte bu konuda yapılan araştırmaların ivme kazandığı görülmektedir [4]. Bitkisel türevli doğal ürünler çeşitli işlevsel grupları içerdikleri için büyük bir çoğunluğu güçlü antioksidan özelliğe sahip olmalarının yanı sıra kimyasalların zararlı etkilerine karşı koruyucu etki gösterdikleri de bilinmektedir [5]. Antioksidan olarak rol oynadığı bilinen fenolik bileşikler, sekonder metabolitlerin en geniş türünü oluşturmakta, hücresel ve fizyolojik seviyelerde oksidasyondan etkili bir koruma sağlayabilmekte ve ayrıca anti-kanser, anti-inflamatuvar, antimikrobiyal vb. etkileri ortaya koymaktadırlar [6,7]. Fenolik bileşiklerin alt grubu olan flavonoidlerde, anti-tümör aktivite gibi birçok biyolojik etkiye sahiptirler [8,9]. Son yıllarda fenolik bileşikler antioksidan özellikleri nedeniyle, tedavi ajanı olarak çok fazla ilgi çekmektedir. Hücrelerdeki protein, yağ, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilen yapıların oksidasyonunu engelleyen veya geciktirici maddeler olan antioksidan, daha sağlıklı ve de etkilerinin daha az olduğu bir yaşam sağlamaya yardımcı olmaktadırlar.

Birden fazla bitkinin karışımından oluşan poliherbal formülasyonlar, çok sayıda biyoaktif bileşik içermektedir. Ayrıca sentetik kimyasal ilaçlara göre biyoyararlanımları yüksek olmasının yanısıra yan etki bakımından kullanımları oldukça güvenlidir [10]. Tedavi süreci zaman alıcı ve ilaç kullanımına bağlı yan etkileri şiddetli olan birçok hastalığın tedavisinde poliherbal formülasyonların kullanımı hem tedaviyi destekleyici hem de hastanın daha konforlu bir hayat sürmesine imkân sağlayan bütünleyici tıp elemanları olarak kabul edilmektedir [11].

Bir poliherbal formülasyon olan ve UNESCO tarafından kültürel miras olarak kabul edilen uluslararası şenlikleri yapılarak şehrin ekonomik kültürel tanıtımına büyük katkılar sağlayan ve ticari üretimi yapılan Manisa mesir macunu üzerinde yapılacak olan her türlü çalışmanın hem yerel hem de ulusal anlamda oldukça değerlidir. Mesir macunu üretiminde üreticilerin maliyet ve tedarik sorunları yüzünden geleneksel reçeteye bağlı kalmayarak kullanılan bitkilerin bazılarında birtakım değişiklikler yaptıkları ve dolayısıyla üretim yapan her firmanın kendine göre bir üretim reçetesi olduğu bilinmektedir. Bu durumda özellikle insan sağlığı açısından önemli rollere sahip olan sekonder metabolitlerin günlük diyetin bir parçası olduğu ve gıdalar aracılığı ile vücuda alınıp tüketilmediği düşünüldüğünde, bu ürünlerin metabolizmaya olan etkileri de akıllarda soru işareti uyandırmaktadır. Bu tez kapsamında 481 yıllık bir tarihe sahip, ülkemizin önemli değerlerinden ve markalaşmaya oldukça açık bir ürün olan Manisa Mesir macunun geleneksel reçeteye bağlı olarak üretilmesi ve çeşitli etkinlik testlerinin yapılması hedeflenmiştir.

1.1 Mesir Macunun Tarihi

1.1.1 Mithridatum Tarihi

Günümüzde, coğrafi işaretlenmiş ürün olduktan sonra Manisa Mesir macunu adını alan, Mesir macunu denilince akla ilk gelen isim; Ayşe Hafsa Sultan'ın hastalığını iyileştirmek için 41 çeşit bitkiyi karıştırıp macun yapan Merkez Efendi'dir. Mesir macununun tarihi Merkez Efendi'den de önceye dayanmaktadır. Günümüzden yaklaşık 2100 yıl önce yaşayan Pontus kralı VI. Mithridates zehirlenmeye karşı yaklaşık 60 bitkiden bir karışım hazırlar ve bu karışıma kendi adını vererek "Mithridates" ve kısaltarak "Mithir" adını alır. Önümüzdeki 2000 yıl boyunca, Avrupa'daki materia medica ve farmakopeye "mithridatum" veya "mithridatium" adı verilen bir panzehir olarak eklenir [12,13].

Daha eski kayıtlar da ise M.Ö. 300 yıllarında, Theophrastus, "megalyum" olarak bilinen içeriğinde 5 adet bitkinin yer aldığı tatlı kokulu bir karışımın herhangi bir yaranın neden olduğu iltihabı hafifletebileceği kokuları üzerine yaptığı incelemede yazdığı görülür [14]. Yüzyıllar sonra Plutarch, rahipler tarafından bir tütsü olarak kullanılan "Mısır cyphi" adı verilen benzer bir karışımın dini ritüellerinde kullanılmak

üzere hazırlar. MÖ 1. yüzyılda Kral Batlamyus'un doktoru Zopyrus, İskenderiye'de, Mithridates'e, megalyum ve cyphi'deki malzemelerin çoğunu içeren bir karışım hazırlamasını talep eder. Bunun üzerine Mithridates, botanikçi Crataeus'un yardımıyla şimdi mithridatum adı verilen formülasyonu hazırlar ve içeriğinde Zopyrus tarafından önerilen bileşenlerin çoğunu ekler [15]. Mitridates'in ölümünden yaklaşık 100 yıl sonra, Celsus, Zopyrus'un formülündeki yirmi bitkinin on beşini içeren mithridatum için bir formül hazırlar [16]. MS 2. yüzyılda Marcus Aurelius'un doktoru Galen, kendi formülasyonunu oluşturur ve "theriac" adını verir ve formülasyonun birkaç versiyonunu hazırlar. Birine "Aelius" adını verir ve Julius Caesar tarafından kullanılır. Ayrıca Galen, Mithridates'e gönderilen Zopyrus formülünün zehirlere ve mide ve bağırsak rahatsızlıklarına karşı faydalı olduğunu belirtir [17].

Zamanın koşullarında bütün bu formülasyonların dikkatlice her bir bitkinin ağırlığının oldukça hassas şekilde ayarlanarak hazırlandığı karışımlardan oluştuğu kayıtlarda görülmektedir. Hangi bileşenlerin birlikte daha kolay öğütüldüğü, tadını daha iyi bir hale getirmek için özellikle bal eklenmesi gerektiği ya da uygulama dozunun bir fasulye veya fındık büyüklüğünde olması gerektiği gibi bilgiler sıklıkla bu formülasyonun gelişiminde alınan notlar sayesinde günümüzde kadar ulaşmıştır. 1659'daki Londra Farmakopesi'nde mithridatum'un bir versiyonunda altmış üç bileşen listelemiş ve bu formülasyonun genel rahatsılıklarda kullanılması önerilmiştir [18]. Yüzyıllar içinde küçük değişiklikler yapılarak dönemin bilim insanları ve hekimleri tarafından çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bu karışım, 19. yüzyıla gelindiğinde 28 farklı bitki içeriği ile İtalyan Farmakopesi'nde yer almıştır [19].

1.1.2 Osmanlı Devleti'nde Mesir Macunu

Klasik Osmanlı tıbbı Orta Asya, Helenistik tıp, Galen tıbbı ve özellikle de bütün bunlardan yararlanan İslâm tıbbının katkılarından oluşan oldukça geniş ve komplike bir kaynak çeşitliliğinden beslenmiştir. Özellikle Galen Tıbbından yararlanıldığı bilinen klasik Osmanlı tıp anlayışında ilaç yapımında birçok bitkinin kullanıldığı bilinmektedir. Tıbbî bitkilerin bir kısmı Osmanlı coğrafyasında yetişmekle birlikte kayda değer bir kısmı da ithal edilmekteydi. Osmanlılar zamanında Mısır, Uzakdoğu'dan gelen bu tür bitkilerin dağıtım merkezi haline gelmişti; gerek İstanbul

ve Bursa gibi büyük Osmanlı kentlerine gerekse Avrupa ülkelerine buradan ihraç edilmekteydi [20].

Mithridates'in hazırladığı karışımın adı zaman içinde önce "Misir"e sonrasında da "Mesir"e evrilerek günümüze kadar gelen mesir macunu ile ilk tanışma Osmanlı Devleti zamanında olmuştur. Mesir macunun üne kavuşmasını Merkez Efendi'nin Ayşe Hafsa Sultan'ın hastalığını iyileştirmesi ve bu macunun her yıl Sultan Camii'nden halka dağıtılması sağlar. 481 yıldır devam eden bu Mesir macunu üretimi ve halka dağıtımı ülkemizin sosyo-kültürel yapısında önemli bir yer almıştır ve 2012 yılından itibaren de UNESCO Somut Olmayan Dünya Kültürel Miras Liste'ne Mesir macununu almıştır [21]. Ancak Mithridates'ten Merkez Efendi'ye ve hatta günümüze kadar Mesir macununun sadece adının "Mithir"den "Mesir"e değişmesi gerçekleşmez, başlangıçta 61-62 olan bitki adeti Merkez Efendi'nin formülasyonunda 41 adete düşmüştür [13].

1.2 Mesir Macununun İçeriği

Günümüzde Mesir macunu üretimi yapan firmaların neredeyse hepsinin kendine göre bir formülasyonu bulunmakta olup, 2019 yılı Nisan ayına kadar Mesir macunu üretiminde kullanılan bitkiler ve miktarları için herhangi bir detaylı standart bulunmamaktadır. TSE 12526 nolu standart ile standardize edilmeye çalışılmış ancak üretimde kullanılan miktarlarından bahsedilmemektir. Daha çok üretim sonrası için gıda uygunluğu üzerine çalışılmış görünmektedir. 481 yıllık bir geçmişi olan Mesir macunu 2019 yılı Nisan ayında coğrafi işaretlenmiş ürün olarak tanınarak UNESCO Somut Olmayan Dünya Kültürel Miras Liste'ne almış ve Manisa Mesir macunu adını alarak üretiminde kullanılacak bitkiler ve miktarları standarda bağlanmıştır [21,22].

Aşağıdaki tabloda Coğrafi İşaretlenmiş Mesir Macunu (CİMM) [22] ve Saray Helvahanesi defterinde bulunan Merkez Efendi'nin Tarihi Mesir Macunu (TMM) üretiminde kullanılan bitkiler ve miktarları verilmiştir (Tablo 1.1). Ünver S. 1976 yayınında da belirtilen Tarihi Mesir macunu üretiminde kullanılan bitki miktarları dirhem olarak verilmiş olup, aşağıdaki tabloda Coğrafi İşaretlenmiş Mesir macunu ile karşılaştırma yapılabilmesi için gram cinsinden verilmiştir [13,22].

Tablo 1.1. Coğrafi İşaretlenmiş Mesir Macunu (CİMM) Üretiminde Kullanılan Bitkiler ve Miktarları

Bitki/Baharat Adı	Miktar (g)
Akbiber (Beyaz biber)	1,50
Anason	15,19
Biberiye (Kuşdili)	3,00
Çamsakızı (Kuşburnu)	6,00
Çörekotu	15,19
Darıfülfül	1,50
Devedikeni	1,50
Funda (Piren, Süpürge otu)	3,00
Halile (Kara)	5,31
Halile (Sarı)	5,31
Hardal	22,63
Havlıcan	3,00
Hayıt	3,00
Hindistan Cevizi	1,50
Hiyarşembe	1,50
Isırgan Tohumu	1,50
Kakule	1,50
Karabiber	37,75
Karanfil	14,38
Kebabiye (Kübabe)	4,56
Keçiboynuzu	3,00
Keten	3,00
Kimyon	3,00
Kişniş	22,63
Limon kabuğu	3,00
Melisa otu	1,50
Meyan	1,50
Mirha (Mia, Mirsafi, Mürrisafi)	3,00
Portakal Kabuğu (Portakal çiçeği)	3,00
Rezene	4,56
Safran	1,50
Sinameki	3,00
Sudan Bamyası (Kara bamya)	3,00
Tarçın	377,50
Ud hindi	3,00
Üzüm	3,00

Vanilya	3,00
Yenibahar	22,63
Zalımba Kökü (Zulumba)	1,50
Zencefil	15,19
Zerdeçal	4,50

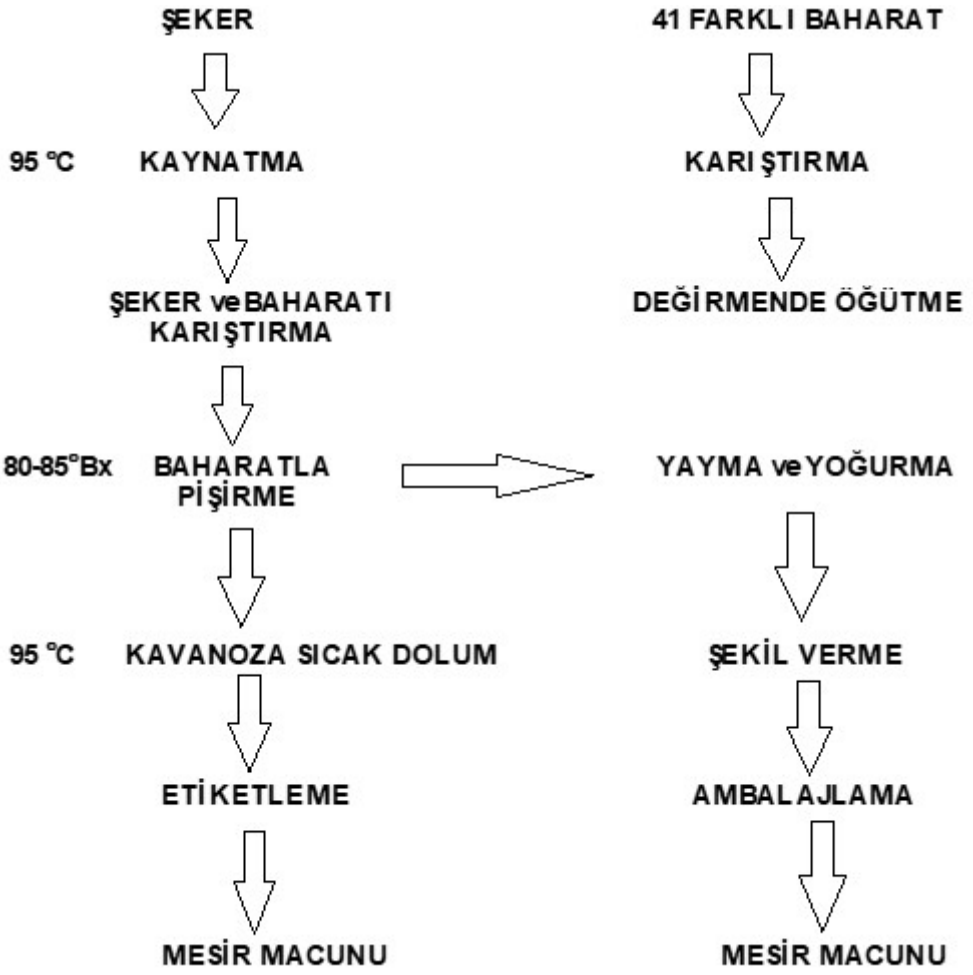
2019 Nisan ayında coğrafi işaretlenmiş ürün etiketini alan Mesir macunu ile Merkez Efendi'nin yapmış olduğu Tarihi Mesir macunu üretiminde kullanılan bitki karışımlarının kimyasal içeriklerinin hazırlanması ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi hedeflenmiştir [22] (Tablo 1.2).

Tablo 1.2. Tarihi Mesir Macunu (TMM) Üretiminde Kullanılan Bitkiler ve Miktarları

Bitki/Baharat Adı	**Miktar (g)**
Anason	9,62
Çivid (Çivit otu)	9,62
Çöpü çini	9,62
Çörek otu	32,07
Dârifülfül	25,66
Hardal	25,66
Havlican	16,04
Hıyarşenbe	9,62
Hindistan cevizi	9,62
Hindistan çiçeği	9,62
İksir (Eğir)	9,62
Kakule	32,07
Kalanga (Zulumba)	9,62
Kalem-i bârid	9,62
Karabiber	22,45
Karanfil	9,62
Kara Halile	9,62
Kebabiye	9,62
Kırım tartar	3,21
Kimyon	16,04
Kişniş	9,62
Limon tuzu	9,62

Meyan balı	9,62
Mirri safi simarı	32,07
Portakal kabuğu	16,04
Ravend	9,62
Râziyâne	16,04
Sakız	16,04
Sarı halile	9,62
Sinâmeki	9,62
Şeker/Bal	Yeteri kadar
Tarçın	32,07
Tarçın çiçeği	22,45
Tiryak	16,04
Topalak kökü	16,04
Udül kahr	16,04
Vanilya	9,62
Yeni bahar	32,07
Zagferan	32,07
Zencefil	32,07
Zerdecâv	16,04

Mesir macunu imalatı günümüzde geleneksel yöntemlerden çıkılarak endüstriyel boyuta ulaşmıştır. Her yıl tonlarla ifade edilen miktarlarda üretilen Mesir macununda, Şekil 1.1.'deki akış şemasında olduğu gibi 41 adet ve bazen daha az sayıda baharatlar karıştırılır daha sonra öğütülerek mesir macunu hazırlanmasında kullanılır. Mesir macunu üretiminde baharatlar dışında şeker ve bal kullanıldığı gibi sitrik asit ile glikoz şurubu da kullanılmaktadır. Mesir içeriğindeki maddelerin isimleri firmalara özgü reçeteye göre değişmektedir. Kullanılan malzemelerin sayılarının ve miktarlarının firmaların kendi uyguladıkları reçetelere göre değişmekte ve bunun sonucu olarak farklı mesir macunlarının üretilmesine neden olmaktadır. Bu durumdan dolayı Mesir macunu üretiminde kullanılan baharatların bir standardizasyona ihtiyacı olduğu açıkça görülmektedir [23].



Şekil 1.1. Mesir Macunu Üretimi Genel Gösterimi (Kavanoz ve çubuk tip)

1.2.1 Mesir Macununun Genel Özellikleri ve Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Ticari olarak satılan katı veya sıvı mesir macununun bazı kimyasal ve biyolojik özellikleri Tablo 1.3 de belirtildiği gibidir.

Tablo 1.3. Manisa Mesir Macununun Genel Özellikleri

Özellik	Ortalama Değer	Sıvı Macunda	Katı Macunda
Çözünür katı madde (refraktometrik, %) en az	80,0		
pH değeri	3,60 - 4,90	3,60 - 4,30	4,05 - 4,90
Nem oranı (%)		2,00 – 2,50	2,50 - 3,00
Kül oranı (%)			
Sitrik Asit (%)		1,30 - 1,50	0,85 - 0,92
İnvert şeker (%)		64,30 - 65,00	70,00 - 75,00
Titrasyon asitliği (%SSA)	0,7 - 0,19		
HMF en çok (mg/kg)		46 - 85	
Mikrobiyolojik analiz			
Maksimum bakteri sayısı toplam olarak (adet/kg)	100,00		
Yapay boya maddesi		Bulunmaz	
Fekal koli (adet/g)		Bulunmaz	
Salmonella (adet/g)		Bulunmaz	
Bacillus cereus		Bulunmaz	
Entero bacteriaceae		Bulunmaz	
Küf, maya		Bulunmaz	
Staphylococcus aureus		Bulunmaz	
Diğer			
Kabın dolum oranı, % (v,v), en az	90,00		

Mesir macunu üzerinde yapılmş çok çalışma bulunmamakla birlikte yapılan çalışmalardan bir tanesinde Artık ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada Mesir macununun gıdalarda yapılan invert şeker, asitlik vb gibi temel kimyasal analizlerini incelemişlerdir [23]. Macunun içeriğindeki organik bileşikleri belirleyebilmek için HPLC yöntemini kullanarak quinik asit, sitrik ve malik asit gibi asitler kantitatif olarak belirlenmiş, macunun fenolik içerikleri ise kullanılan standartlara ve numunelere göre; kateşin miktarı (455,6 ile 1253,8 mg/kg arasında), kateşol miktarı (15,26-33,51 mg/kg arasında), *p*-kumarik asit miktarı (24,98-30,47 mg/kg arasında), ferulik asit (65,4-68,85 mg/kg), *o*-kumarik asit (7,05-7,15 mg/kg), rutin (46,24 mg/kg) olarak belirlenmiştir. Yazarlar, sonuçların farklı çıkmasının nedeni olarak kullanılan üretim reçetelerinin farklılığından kaynaklandığı sonucuna ulaşmışlardır.

Artık vd. (1999) [23], Güven (2010) [24] ile Oskay vd., (2010) [25] yapmış oldukları çalışmalarda mesir macunun bileşimi ve kimyasal özelliklerini incelemiş ve buldukları sonuçlar Tablo 1.4 de belirtilmiştir.

Tablo 1.4. de Mesir Macunu içeriği ve kimyasal özellikleri

Değeri	Hışıl (1994)	Nergiz ve Yıldız (1995)	Artık ve diğ. (1999)	TS 12526 (1999)	Oskay ve diğ.	TS 12526 (2012)
% Çözünen kuru madde	-	85,38	81,4 / 83,4	Min.80	80,2	80,0 (en az)
Toplam Şeker (%)	-	-	83,3-84,2	-	-	-
İndirgen Şeker (%)	-	-	29,60-0,25	-	40,54	-
% İnvert Şeker (glukoz ve früktoz toplamı)	43,8 / 84,7	-	-	-	-	-
% D-glukoz	-	18,23 (k.m.)	14,81/5,65	-	-	-
% D-fruktoz	-	-	10,72/2,60	-	-	-
% Sakkaroz	2,7 / 35,6	72,94 (k.m.)	55,75/8,01	-	-	-
%Nem	7,23 /14,94	14,62	-	-	17,06	-
(%) Kül	0,098 / 0,18	-	0,72/0,76	-	0,13	-
Titrasyon asitliği değeri (% SSA, susuz sitrik asit cinsinden)	-	-	0,171-0,205	0,7-1,3	0,9	0,7-1,3
pH	-	-	3,54-3,66	3,3-4,0	3,6	3,3-4,0
Formol sayısı sonucu	-	-	29,0/31,0	-		-
HMF değeri (mg/kg)	115,2/288	-	-	Mak.50	44	50

Hışıl ve arkadaşları tarafından ise mesir macunun aromasının koku içeriği gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemini kullanılarak incelenmiştir. Çalışmada, önce Mesir macunumdan Clevenger yöntemi ile su buharı damıtması yoluyla elde edilen yağ, ekstraksiyonla pentan fazına çekilerek bu faz GC-MS ile analizlenmiştir. Analiz sonucunda, macunu içeren baharatlarda bulunan çok sayıda terpen, aromatik hidrokarbon, aldehit, ketonlar, alkol, ester, fenol, karboksilik asit gibi sekonder metabolitlerin bulunduğu rapor edilmiştir [26].

Tablo 1.5. de Mesir Macunundaki Uçucu Bileşik Miktarları

Uçucu Bileşikler	**%**
Etil asetat	0,04
Heptan	0,06
İzovaleraldehit	0,02
Bisiklo (4,2-O) okta-1,3,5 trien	0,02
Furfural	0,07
3-izotiyosiyanato-1-propen (=Allilizotiyosiyanat)	0,25
1,6-oktadien-3-ol,3,7-dimetil propanat	0,34
Furfuril alkol	0,02
D-limonen	0,38
1,8-diamin p-amin p-mentan =sineol (van) =ökaliptol	0,13
Benzaldehit	0,08
1-okten-3-ol	0,06
1,6-oktadien-3-ol, 3,7-dimetil =linalool	0,20
3-siklohekzan-1-ol, 4-metil-1-(1-metil etil) = mentol	0,16
3-siklohekzen-1-metanol, α., α, 4-trimetil = α-terpineol	0,13
2-metil-2-bütenal	0,08
4-metiletil benzaldehit	0,69
1-metoksi-4-(2-propenil), benzen = estrajol	4,64
3-fenil-2-propenal = sinnamaldehit	35,18
2-metoksi-4-(2-propenil), fenol = öjenol	27,83
1,2-dimetoksi-4-(1-prropenil), benzen = anetol	2,42
α-kübeben	1,14
Farnesen	0,64
İonol	0,19
Pentadekan	0,04
4-metoksi-6-(2-propenil)-1,3-benzodioksol=miristisin	0,49
2 H-1-benzopiran-2-on=kumarin	0,69
2-etil-4-propil-1,3-siklopentandion	0,86
1-naftalenol, 1, 2, 3, 4, 4a, 7, 8, 8a, oktohidre-1,6-dimetil-4-(1-metil etil) = jeosmin	061
Hekzadekan	0,49
Tetradekanoik asit = Miristik asit	0,63
Etil palmitat	0,13
Hekzadekanoik asit = Palmitik asit	0,18
Nonadekan	0,22
Toplam	**79,11**

Oskay ve arkadaşları da Artık ve arkadaşları gibi Mesir macunun gıda maddeleri için uygulanan nem ve uçucu madde miktarı, 5-HMF (5-hidroksifurfural), pH, asitlik, kül, refraktif indeks, çözünebilir katı madde, invert şeker gibi temel kimyasal analizlerini yapmışlardır [23]. Ayrıca, farklı organik çözücüler ile mesir macunu ekstrakte ederek elde ettikleri ekstratların bazı mikroorganizmalara karşı etkinliklerini incelemişlerdir. Çalışmada, *n*-bütanol ekstraktının diğer çözücülere göre daha aktif çıktığı bildirilmiştir [25].

42 adet mesir macunu numunesinin aflatoksin miktarları Çağındı tarafından HPLC yöntemini kullanarak belirlenmiş ve numunelerin yaklaşık %10'ununda toplam aflatoksin miktarı 10 μg/kg limit değerin üzerinde belirlenmiştir [27].

Ergönül, mesir macunun şeker/invert şeker oranına göre farklılık gösterdiğini belirlediği sertlik, yapışkanlık, çiğnenebilirlik, yapışkanlık, yapışıklık ve yaylanma gibi dokusal özelliklerini incelemiştir [28].

Mesir macununun antioksidan özelliklerini incelenmesi üzerine yapılmış en kapsamlı çalışmayı Ayşe Nur Güven Yüksek Lisans tezi olarak yapmıştır [24]. Çalışmada mesir macununun kimyasal özelliklerinin yanında, reolojik özellikleri ve antioksidan özellikleri de incelenmiştir. Mesir macunu örneklerinin gallik asit cinsinden toplam fenolik madde miktarının tayin edilmesi, Folin-Ciocalteau yöntemiyle toplam fenolik madde tayini 760 nm'de gerçekleştirilmiştir.

Güven tarafından yapılan ve Tablo 1.6'da verilen mesir macunu numunelerinin bazılarındaki fenolik maddelerin toplamının genel olarak literatürde verilen balın toplam fenolik madde miktarından daha çok olduğu bildirilmiştir. Raporlanan çalışmanın diğer bölümünde ise Mesir macunu örneklerinin DPPH radikalini yakalama aktiviteleri kuersetin standartı kullanılarak hesaplanmıştır. Tablo 1.6'da verilen sonuçların, literatürdeki bal üzerindeki çalışmalara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir [24].

Tablo 1.6. de Mesir macunu numunelerinin gallik asit eşdeğeri cinsinden fenolik madde miktarları toplamlarının verilmesi

Örnek Numarası	Parti Numarası	mg GAE/ gr mesir mac.	mg GAE/ 100 gr mesir mac.
1	27.03.2009	0,09	9,0
	19.12.2008	0,25	25,1
2	255	0,41	41,4
	239	0,55	55,5
3	36	0,97	96,6
	69	0,92	91,7
4	8	4,57	457,4
5	354	1,98	198,4
6	08.07.2012	1,43	142,7

Ayrıca yine bu çalışmada mesir macunu numunelerinin radikal yakalama aktivitesi görmek için IC_{50} değerleri, askorbik asit ve kuersetin IC_{50} değerleriyle karşılaştırma yapılmıştır. (Tablo 1.7, Tablo 1.8).

Tablo 1.7. Mesir Macunu Örneklerinin Radikal Yakalama Aktiviteleri: IC_{50} Değerleri

Örnek Numarası	Parti No	Radikal Yakalama Aktivitesi olarak: IC_{50} macun/ çözelti (mg/ mL)
1	27. 03. 2009	0,081
	19. 12. 2008	0,884
2	255	0,024
	239	0,646
3	36	0,327
	69	0,684
4	8	0,033
5	354	0,347
6	08.07.2012	1,194

Tablo 1.8. Mesir Macunu numunelerindeki (100g) kuersetin eşdeğeri antioksidan miktarları mg olarak (QEAC) ve askorbik asit eşdeğeri antioksidan miktarları mg olarak (AEAC) verilmiştir.

Örnek No	Parti Numarası	QEAC (mg/100 g) olarak	AEAC (mg/100 g)olarak
1	27/03/2009	3,41	6,49
	19/12/2008	3,05	5,76
2	255	5,71	11,04
	239,0	6,30	12,22
3	36	72,65	138,14
	69	4,98	9,59
4	8,0	778,52	1514,76
5	354,0	28,48	55,09
6	08/07/2012	5,23	10,09

1.3 Mesir Macunun İçeriğinde En Fazla Bulunan Bitkiler

1.3.1 Çörekotu

Latince adı *Nigella sativa* L. olan siyah kimyon, siyah susam, kara çörek, şevkerat olarak da adlandırılan, *Ranunculaceae* familyası üyesi çörek otu, güney ve güney batı Asya'da doğal olarak yetişmekte ve boyu 20-30 cm'ye kadar ulaşabilmektedir [29]. Özellikle tohumları, tohumlarının bileşiminde bulunan uçucu yağlarla birlikte tanen, linoleik asit, saponinler, nigellin, melantin ve connigellin gibi alkoloitleri içermekte ve bunlar çörek otunun kullanılan kısımları arasında yer almaktadır. İçeriğinde bulunan biyoaktif bileşiklerin çeşitli toksik etkileri üzerine çalışmalar mevcuttur. Bunlar arasında melantinin yüksek doz kullanımı toksik olmakla birlikte nigellin de paralitik (felç etkisi) etkisi söz konusudur. Mide ve bağırsak gaz rahatsızlıklarında, bağırsak parazitleri gibi hastalıkların tedavinde etkilidir. Ayrıca aperatif, iştah açıcı, uyarıcı, süt arttırıcı ve idrar söktürücü özellikleri de bulunmaktadır [29]. Sıçanlar üzerinde çörek otu ile yapılan toksisite çalışma sonucunda, akut etki olarak davranışlarda değişiklik ve ishal tespit edilmiş olup LD_{50} değeri 28,8 mg/kg olarak hesaplanan bitkinin, kronik toksisite çalışmasının sonucunda çeşitli biyokimyasal ve hematolojik değişimler incelenmiştir. Serum kolestrol seviyesi,

trigliseritler ve glukoz seviyesinde düşüş, HDL, hematokrit ve hemoglobin seviyesinde ise artış ayrıca lökosit ve kan platelet miktarlarında da azalma belirlenmiştir [29]. Merkezi sinir sistemi üzerine nörofarmasötik bir çalışma sonucunda çörek otunun, özellikle metanol ekstresinde sedatif etki gösterdiği tespit edilmiştir. Farelerde üzerinde yapılan analizler ile spontan motor ve kas aktivitelerinde azalma görülmüş bununla birlikte çörek otunun analjezik etkiye sahip olduğu saptanmıştır [31]. Bitkinin diğer etkileri arasında astım tedavisinde kullanımı ile anti kanser [32] ve antibakteriyal aktiviteleri [33] bulunmaktadır.

1.3.2 Zencefil

Zingiberaceae familyasına ait, latince adı *Zingiber officinale* Rosc. olan zencefilin anayurdu tropik Güneydoğu Asya'dır. Zencefil, yüksekliği 100 cm civarı, yüzyıllarca Hindistan ve Çin kültüründe olan, görünüşü kamışa benzeyen, çok yıllık otsu bir bitkidir. Yaprakları 20 cm'den daha uzun ve sivri uçludur. Yeşilimsi sarı renkli tüpsü çiçeğin kahverengi mor noktaları, bu tüpsü kısımda belirgindir [34]. Kök uzantılarından çoğalan zencefilin toprak altında yatay olarak gelişen, yumru şeklinde etli bir kökü vardır ve her yıl bu kökten yeni sürgünler çıkar. Gelişimini tamamlayan bitkilerin toprakaltı organları sonbaharda hasat edildikten sonra yıkanır ve güneşte kurutularak kullanıma hazır hale getirilir. Geleneksel olarak baharat, besin maddesi ve tıbbi ilaç olarak kullanılan zencefilin adı eski Hint, Çin ve antik Yunan metinlerinde geçmektedir. Özellikle milattan sonra 1. yüzyılda tüccarlar tarafından Akdeniz Bölgesi'ne getirilmiş, Dioscorides, bu bitkiden Tıbbın Materyalleri (Materia Medica) adlı eserinde bahsetmiş, mide rahatsızlıklarında ve aynı zamanda göz kararmasına karşı kullanıldığına değinmiştir. XI. Yüzyılda baharat bitkisi olarak tanınmaya başlamış ve çok kullanılmıştır. Güney Amerika'nın fethinden sonra da İspanyollarca Batı Hint adaları ve Meksika'ya baharat bitkisi olarak götürülmüş, daha sonraki yüzyıllarda müshil, afrodizyak ve diş ağrılarında etkili olduğu fark edilmiştir [35].

İçeriğinde %1,5-3 oranında uçucu yağ bulunmakta ayrıca küçük miktarlarda acı bir madde olan kürküminoit ile %50 oranında nişasta yer almaktadır. Bileşiminde yer alan diğer maddeler reçine ve müsilajdır [34]. Uyarıcı, balgam söktürücü ve terletici etkilere sahip olan zencefil, gastrit, sindirim sistemi rahatsızlıkları ve iştahsızlıkta, güçlendirici, gaz söktürücü, hazmettirici olarak da etki göstermektedir. Ayrıca mide,

safra ve tükürük salgılarını uyardığı gibi bağırsak kaslarının hareketlerini de aktive etmektedir. Kalbin kasılma gücünü çoğaltan ve doğal bir kan inceltici olan zencefilin diğer kullanım alanları arasında idrar yolları ve alt batın bölgesindeki ağrılar, öksürük, bulantı, kan basıncını düşürme ve boğaz ağrıları bulunmaktadır [36]. *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Penicillium spp., Aspergillus niger, Candida albicans* üzerinde antimikrobiyal etkinlik gösterdiği, çeşitli fungal ve bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği yapılan çalışma ile kanıtlanmıştır [37]. Bununla birlikte bronşiolitin sebeplerinden biri olan respiratuar (solunum) sinsityal virüsü (HRSV)'ne karşı yapılan etkinlik çalışmasında zencefilin anti viral özelliği de ortaya konulmuştur [38]. Bu etkilerinin yanı sıra, safra taşı olan kişilerin zencefil kullanmaları önerilmemektedir. Ayrıca doğal bir kan inceltici olduğundan anti koagülinlerle ve tansiyon ilaçlarıyla birlikte kullanımı kanama riskini arttırabilme ihtimali bulunmaktadır [34].

1.3.3 Tarçın

Lauraceae (defnegiller) familyasından latince adı *Cinnamomum* L. olan tarçın yaygın olarak Güney ve Güneydoğu Asya'da yetişmektedir. Yaprak dökmeyen, kokulu, aromatik bir ağaç cinsi olan bu bitki insanlık tarihinin bilinen en eski baharatlarından birisidir. Özellikle milattan önce 3000'de Çinliler tarafından kullanıldığı bilinen ve 16 yüzyıldan sonra Avrupa'da kullanılmaya başlanan tarçın, 18. Yüzyıla kadar oldukça pahalı ve değerli bir bitki olarak değerlendiriliyordu. Kendine has kokusu, kuvvetli ve keskin tadıyla bilinen tarçının elde edilmesi ağacın kurutulmuş dış kabuklarının ayrıldıktan sonra kalan iç kabuğun kurutulup öğütülmesiyle gerçekleşmektedir.

Son yıllarda biyoaktivitesi üzerine oldukça fazla sayıda çalışma bulunan tarçının bilinen etkileri arasında soğuk algınlığını giderme, romatizma tedavisi, anti-inflamatuvar etki, anti-tümör etkisi ve kardiyak bozukluklar bulunmaktadır [39]. Ayrıca farmakolojik önemi bulunan tarçının diğer etkileri arasında antioksidan, antikanser, anti-lipidemik, anti-diabetic ve analjezik etkileri de sayılabilir. İçeriğinde zingiber, alkoloidler, gineroller, flavonoidler ve shogaol gibi birçok fitokimyasal içeren tarçın doğu tıbbında yaygın olarak kullanılmaktadır [40].

1.3.4 Yenibahar

Myrtaceae familyasına ait olan *Pimenta dioica* L. Latince isimli yenibahar; jamaika biberi, mersin biberi, pimenta veya pimento olarak da bilinmektedir. Dünyanın birçok sıcak bölgelerinde yetişen bu bitki kanopi ağacının kurutulmuş olgunlaşmamış meyvesinden elde edilmektedir.

Sindirim sistemi problemlerine iyi geldiği bilinen yenibahar, kusma, ishal, mide bulantısı gibi çeşitli rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Yaprak ve meyvelerinden elde edilen esansiyel yağların başta et endüstrisi olmak üzere gıda sektöründe kullanılmasının yanı sıra diyabet, yüksek kan basıncı ve sindirim sistemi hastalıklarına iyi geldiği bilinmektedir [41]. Yenibaharın esansiyel yağlarının kitosan/ kitosan karragenin enkapsülasyonları ile yapılan çalışmalar sonucunda *Bacillus subtilis, Candida utilis,* ve *Bacillus cereus* mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal etkinlik tespit edilmiştir [42].

1.3.5 Kakule

Hindistan ve Asya'nın sıcak bölgelerinde yetişen Zingiberaceae familyasına ait Latince adı *Elettaria cardamomum* L. olan kakule, büyük yapraklı ve boyu 4–5 m olan çok yıllık bir bitki cinsidir. Kakule ismini yetiştiği yere göre alır, örneğin Seylan kakulesi, Malabar kakulesi, Siyam kakulesi olarak gibi. Meyveleri sarımtrak yeşil ve beyaz renkte olup, tohumları mercimek büyüklüğünde ve şekli mercimek gibi küçüktür. Rengi esmer renkte ve kokusu keskindir. [43].

Fitokimyasal özellikleri ve etnofarmakolojik açıdan oldukça önemli olan kakulenin başta sindirim sorunlarının giderilmesi, gaz probleminin çözülmesi ve idrar yolları enfeksiyonun tedavisi gibi pek çok hastalıkta kullanılmaktadır. İçeriğinde yer alan A vitamini sayesinde hafıza güçlendirici etkisi bulunmaktadır. 4. yüzyılda Hindistan'da şifacıların küçük kakule kapsüllerini bronşit, astım gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullandıkları bilinmektedir [44].

1.4 Mesir Macunu ve Farmakolojik Etkileri

Mesir macunun birçok hastalık üzerindeki etkileri denemiş ve birbirinden farklı birçok bilimsel çalışmaya da konu olmuştur. Artık ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, Mesir macununun gıdalarda yapılan invert şeker, asitlik gibi temel kimyasal özelliklerini incelemişlerdir [23]. Macunun içeriğindeki organik bileşikleri belirleyebilmek için, HPLC yöntemini kullanarak quinik asit, sitrik ve malik asit gibi asitler kantitatif olarak belirlenmiş, macunun fenolik içerikleri ise kullanılan standartlara ve numunelere göre; kateşin (455,6 / 1253,8 mg/kg), kateşol (15,26 / 33,51 mg/kg), *p*-kumarik asit (24,98-30,47 mg/kg), ferulik asit (65,4-68,85 mg/kg), o-kumarik asit (7,05-7,15 mg/kg), rutin (46,24 mg/kg) olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, sonuçların farklı çıkmasının nedeni olarak, kullanılan üretim reçetelerinin farklılığına vurgu yapmışlardır. Hışıl ve arkadaşları tarafından ise Mesir macununun aromasının koku içeriği gaz kromatografisi-kütle spektrometresi yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Çalışmada, önce Mesir macunundan Clevenger yöntemi ile su buharı damıtması yoluyla elde edilen uçucu yağ, ekstraksiyonla pentan fazına çekilerek, bu faz GC-MS ile cihazı analiz edilmiştir. Sonuç olarak, macun içeriğindeki bitkilerde bulunan çok sayıda terpen, aromatik hidrokarbon, aldehit, ketonlar, alkol, ester, fenol, karboksilik asit gibi sekonder metabolitlerin bulunduğu rapor edilmiştir [26]. Oskay ve arkadaşları da Mesir macununun gıda maddeleri için uygulanan nem ve uçucu madde miktarını, 5-HMF, pH, asitlik, kül, refraktif indeks, çözünebilir katı madde, invert şeker gibi temel kimyasal özelliklerini incelemişlerdir. Ayrıca, farklı organik çözücüler ile Mesir macununu ekstrakte ederek, elde ettikleri ekstrelerin bazı mikroorganizmalara karşı etkinliklerini incelemişler ve n-bütanol ekstresinin diğer çözücülere göre daha aktif çıktığını bildirmişlerdir [25]. Ergönül, Mesir macununun şeker/invert şeker oranına göre farklılık gösterdiğini belirlediği çalışmada; Mesir macununun sertlik, yapışkanlık, çiğnenebilirlik, yapışkanlık, yapışıklık ve yaylanma gibi dokusal özelliklerini incelemiştir [28]. Mesir macununun antioksidan özelliklerini incelenmesi üzerine yapılmış en kapsamlı çalışmayı Ayşe Nur Güven Yüksek Lisans tezi olarak yapmıştır [24]. Çalışmada Mesir macununun kimyasal özelliklerinin yanı sıra, reolojik ve antioksidan özellikleri de incelenmiştir. Farklı Mesir macunu örneklerinin incelendiği bu çalışmada, örneklerin toplam fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden belirlenmiştir. Mesir macunu numunelerinin bazılarında fenolik madde toplam miktarı genel olarak literatürde verilen bal içerikli Mesir macunu örneklerinde daha fazla olduğu bildirilmiştir. Çalışmanın diğer bölümünde ise Mesir macunu örneklerinin DPPH radikalini yakalama aktiviteleri kuersetin standardı kullanılarak

hesaplanmış ve sonuçların literatürdeki bal üzerindeki çalışmalara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ancak bu kapsamlı çalışmada, kullanılan Mesir macunu örneklerinin coğrafi işaret için yayınlanan makaledeki oranlara ve miktarlara göre hazırlanmadığı, bunun sonucunda da sonuçların tekrarlanabilirliğinin yüksek olmadığı ve çalışmaların yeniden yapılması gerektiği görülmektedir.

1.5 Antioksidanlar

Canlı hücrelerde yeralan protein, yağ, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilme özelliği olan maddelerin oksidasyonunu engelleyen veya oksidasyon zamanını uzatan maddelere antioksidan denir. Bu özellikleriyle hücrelerin tümör oluşturmaya kadar kötü olayların risklerini azalttıkları gibi, hücre yıkımını da azalttıkları için, daha dinç sağlıklı bir yaşam sağlarlar. Günümüzde antioksidanın etkisinden birçok farklı madde görülür. Bu maddelerin bir kısmı bitkilerden elde edilirken, bir kısmını ise vücut serbest radikallere karşı bir savunma sistemi olarak kendisi üretir. Vücudun kendini serbest radikallerden korumak için ürettiği antioksidanlar; glutatyon, peroksidaz katalaz ve SOD (süperoksit dismutaz) enzimleridir [45]. Düşük molekül ağırlıklı antioksidan molekülleri hücre zarından kolayca geçebilir, ilgili bölgeye oksidatif hasarla taşınır ve daha sonraki zamanlarda hücre tarafından tekrar üretilirler. Hücresel antioksidan molekülleri insan dokularında farklı kaynaklardan üretilirler. Hücrenin kendisinin ürettiği Glutatyon, nikotinamid ve karnozinken, metabolik faaliyetlerin yan ürünü olarak ise ürik asit ve bilirubin meydana gelir. Besinler yardımıyla alınırlar ise askorbik asit, tokoferol ve birçok polifenoldür. [46].

Doğal ve sentetik olarak üretilen antioksidanlar kimyasal yapılarına göre iki çeşittir. Bunlar primer ve sekonder antioksidandır. Serbest radikalleri yakalayıp antioksidatif etki sağlayan Primer antioksidanlardan sentetik olanlar BHA, BHT ve TBHQ gibi. tokoferoller, baharat ekstraktları (karnosik asit), flavanoidler ise doğal antioksidanlardır. “Radikal yakalayıcısı” şeklinde nitelendirilirler, primer antioksidatif aktiviteyi oluştururlar. Doğal antioksidanlar içerisinde yer alan ve oksijen yakalayıcısı olan Askorbatlar, tek olarak gıdaya ilave edildiklerinde antioksidatif etki göstermeyen, aynı zamanda gıda da bulunan antioksidana ek olarak antioksidanın yalnız başına yaptığı etkiyi artıran maddelere ise Asit şelatları yani ‘Sekuesteran-İz’ maddelerdir ve bu bileşiklerin bilinen ismi sekonder antioksidanlardır.

Asit şelatları, pro-oksidatif etki gösteren metalloproteinleri veya metalleri yakalayarak birincil antioksidanların görevlerini yerine getirmelerine ve serbest radikalleri yakalamalarına yardım ederler. Bu grup antioksidanlardan gıdada kullanımları yasak olmayanlara sitrik, askorbik, tartarik, süksinik, malik, asitler ve sodyum trifosfat, pirofosfat örnek verilebilir. Fitik asitin de lipit oksidasyonunu engellediği ve Lesitin ile aminoasitlerin de gıda içerisinde lipit oksidasyonunu engellediğibilinmektedir.

Doğa, yaşayan mekanizmalarda aktif oksijenin sebep olduğu bozulma reaksiyonlarını engellemek amacıyla önlem almış olup, bir çok doğal yapı, kendi varlığının devamı için gerekli olabilecek antioksidanları kendi içinde bulundurmaktadır. Sebzelerde yeralan en önemli doğal antioksidanlar E vitamini, C vitamini, karotenoidler, flavanoidlerdir. Doğal antioksidan kaynakları olarak çeşitli bitkiler, flavanoidler ve kateşinler gibi çay yaprakları, susam gibi yağlı tohumlar, pirinç, yulaf vb. tahıllar, fasülye cinsleri, meyve ve sebzeler, okaliptüs bitkisinin yaprakları gibi yapraklardaki mumsu maddeler, bitki kökleri, fıstık kabuğu gibi meyve kabukları, çeşitli baharatlar, tıbbi olarak kullanılan bitkiler, deniz yosunları, mikrobiyal ürünler, fermente ürünler, hayvansal ürünler, protein hidrolizatları, maillard reaksiyonu ürünleri, porfirin yapısındaki maddeler örnek olabilir ve bu bileşiklerin oksidasyonu geciktirdiği bilinmektedir. Baharatların uçucu yağlarının ise antioksidatif özelliğinden değil de genelde antimikrobiyal etkilerinden yararlanılmaktadır. Yukarıda genel olarak anlatılan antioksidan özellikleri aşağıdaki gibi sıralanabilmektedir. [47].

Antioksidan ajanlar oksidan moleküllere karşı dört şekilde etkilerini gösterirler. Bunlar,

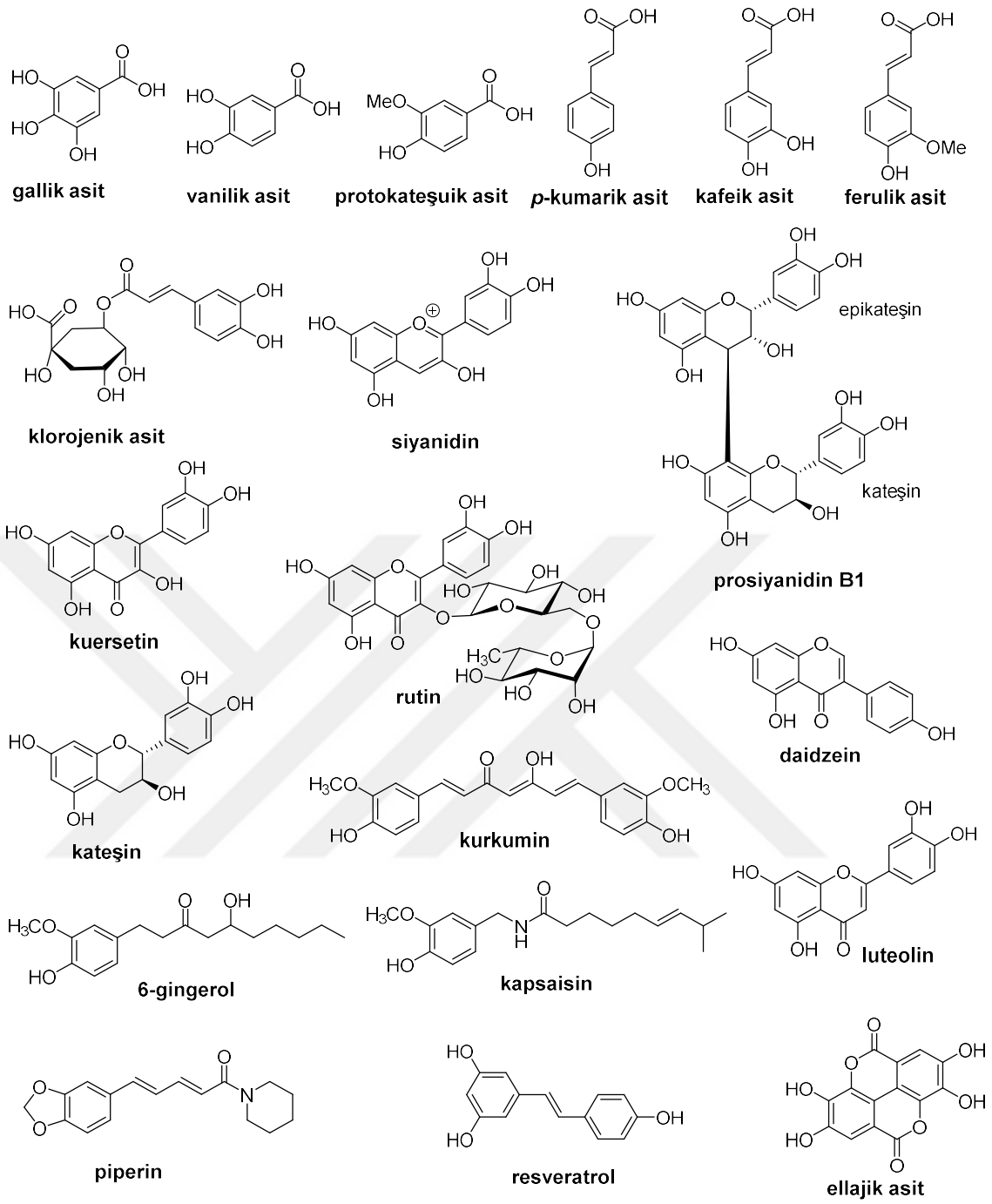
1. Temizleyici - Süpürücü etki yapanlar: Yani radikal oluşumunu önlerler ve oluşmuş olan radikallerin zararını azartırlar. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzimleri ve metal bağlayıcı bazı proteinleri örnek olarak verilebilir.

2. Giderici etki yapanlar: Oksidanlarla etki içinde olup, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini söndürüp inaktif hale getiren bileşiklerdir. A, C ve E vitaminleri, mannitol, flavonoidler ve antosiyanidinler örnek olarak verilebilir.

3. Zincir kırıcı etki yapanlar: Tepkimeleri zincirleme olarak devam ederken belli yerlerinden kırarak, oksidan etkiyi sonlandırırlar. Ürik asit, bilirubin ve albümin örnek olarak verilebilir.

4. Tamir edici etki yapanlar: Metionin sülfoksit redüktaz olarak DNA tamir enzimleri örnek olarak verilebilir.

Antioksidan maddeler, serbest oksijen radikallerinin etkisini bitirerek canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin etkilenmeden veya kendini yenilemesini sağlayabilen maddelerdir [45, 46]. Özellikle bitkisel kaynaklarda bol miktarda bulunurlar. C vitamini (askorbik asit) en çok bilinenlerinden biridir. Bitkilerde bulunan bazı fenolik antioksidan maddelerin formülleri Şekil 1.2'de verilmiştir.



Şekil 1.2. Bitkisel Kaynaklı Bazı Fenolik Antioksidanlar

1.6 Bitkisel Formülasyonlar ve Antioksidan Aktiviteleri

Birden fazla bitkinin karışımından oluşan formülasyonların biyolojik aktiviteleri incelenmek istendiğinde yapılması gereken ilk analizlerden biri antioksidan aktivite testleridir. Bu kapsamda en yaygın olan testler DPPH radikalini süpürme kapasitesi ve ABTS radikal katyon renksizleştirme yöntemidir [43]. DPPH yöntemi kapsamında

elde edilen sonuçlar, test edilen maddenin alfa-tokoferolün sahip olduğu antioksidan aktiviteye ile kıyaslanarak hesaplanmaktadır. DPPH yöntemi antioksidan aktiviteye sahip maddeden DPPH kompleksine hidrojen ve elektron transferi aracılığı ile olmaktadır ve radikal süpürücü etki olarak açıklanmaktadır. Bu transfer değişik redoks potansiyellerine ve antioksidan özellik gösteren moleküllerin kimyasal yapısına bağlıdır. DPPH süpürücü aktivite, flavonid ve fenolik bileşikler için daha uygun bir yöntemdir [49]. ABTS yönteminde ise antioksidan özellik gösteren maddelerin 734 nm' de oluşan katyonun rengini açma (bleaching) özelliğine göre bir değerlendirme yapılmaktadır. Bazı bileşikler için katyonun rengini ağartma çok uzun zaman alabilir. DPPH organik fazda özellikle etanolde çözünürken ABTS hem sulu hem de organik fazda çözünebilmektedir. ABTS yönteminde antioksidan aktivite örneklerde bulunan hidrofilik ve lipofilik karakterli bileşiklerin antioksidan aktivitesini değerlendirmektedir. Awika ve çalışma grubu ABTS ve DPPH arasında bir korelasyon olduğunu savunurken, Wang ve ark. [50], Moktan ve ark. [51] ve Zhu ve ark. [52] her iki yöntem arasında bir korelasyon olmadığını göstermişler ve ABTS yöntemine göre aktivite gösteren bileşiklerin DPPH yönteminde aktivite göstermediğini bildirmişlerdir. Poliherbal formülasyonlar ile yapılan birçok çalışma bu tür formülasyonların antioksidan kapasitesini ortaya koymaktadır. Yoğun antioksidan aktiviteye sahip olan bu formülasyonlar, özellikle destekleyici tedavide sentetik ilaçların yol açtığı yan etkiyi gidermede başlıca tercih sebebidir [53]. Karbohidratlar, alkoloidler, steroidler, saponinler, flavonoidler ve taninler gibi birçok fitokimyasal bileşik tıbbi bitkilerin içeriğinde bulunmaktadır. Kullanım konsantrasyonuna bağlı olmakla birlikte bu yapıların varlığı poliherbal fomülasyonların antioksidan kapasiteleri üzerinde oldukça etkilidir [54].

1.7 Tezin Amacı

Bu tezin amaçları kapsamında coğrafi işaretlenmiş ürün ile Merkez Efendi tarafından formüle edilen geleneksel reçeteye bağlı kalınarak Manisa Mesir macunu üretiminde kullanılan bitki karışımları hazırlanması ve ekstraksiyonlarının gerçekleştirilmesidir.

Piyasada bulunan Mesir macunları gıda maddesi kabul edildiğinden Türk Gıda Kodeksi ve standartları kapsamında yer alan kimyasal analizler yapılarak

değerlendirilmektedir. Ancak gerek ticari gerekse bilimsel literatürde tarihi reçeteye göre Mesir macunu üretiminde kullanılan bitki karışımlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal içeriğinin analiz edildiğine dair herhangi bir çalışmanın bulunmuyor olması tezin bir özgün değerini oluşturmaktadır.

Bu verilerden yola çıkarak, bu tez çalışması kapsamında Nisan 2019 tarihinde coğrafi işaret alan Mesir macunu ile tarihi Mesir macunu üretimlerinde kullanılan bitki karışımları hazırlanmış ve çalışmanın ikinci basamağında bu bitki karışımlarının daha önce yapılan çalışmalarda en iyi antioksidan aktivite gözlemlenen ekstraksiyon çözgen sistemi olan etanol:su (80:20) sistemi ile ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir [55,56].

Antioksidan maddeler, hücre içinde oluşan başta kanser gibi çeşitli hastalıklara neden olabilecek serbest radikalleri yok etme kapasitesine sahip moleküller olup, mesir macunu üretiminde kullanılan bitki karışımlarının antioksidan özelliğin belirlenmesi çalışmanın bir diğer basamağını oluşturmaktadır. Bu kapsamda, coğrafi işaretlenmiş Mesir macunu (CİMM) ile tarihi mesir macunu (TMM) üretiminde kullanılan bitki karışımlarının etanol:su ekstraksiyonundan elde edilen ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid içeriğin belirlenmesinin hedeflenmiştir. Mesir macunu üretiminde kullanılan bitkilerin tek tek antioksidan özelliklerin bilinmesine rağmen, direkt olarak bitki karışımlarının toplam antioksidan özelliği hakkında herhangi bir çalışma bulunmadığından ilk defa tarihi Mesir Macunun antioksidan özelliği ortaya konmuştur.

2 MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

Coğrafi işaretlenmiş mesir macunu (CİMM) ve tarihi mesir macunu (TMM) yapımında kullanılan bitkiler ticari olarak temin edilerek, elektrikli değirmen ile öğütülmüş ve sonrasında elenmiştir. Elenmiş olan bitkiler Tablo 1'deki oranlar dikkate alınarak 50'şer gramlık ölçekte hazırlanıp karıştırılmış ve bir sonraki adım olan ekstraksiyon işlemine geçilmiştir.

2.2 Yöntem

2.2.1 Ekstraksiyon İşlemleri

Ekstraksiyon işlemi 40 °C'de etanol ve yine 40 °C'de 80:20 etanol:su çözgen sistemi kullanılarak yapılmıştır. Ekstraksiyonda kullanılacak çözgen sistemi olarak etanol:su (80:20) sisteminin seçilmesi Padmashree ve arkadaşları ile Waszkowiak ve·Gliszczynska-Swiglo'nun çalışmalarından elde edilen veriler ışığında seçilmiştir. İlgili çalışmalarda farklı polaritedeki çözgen sistemlerinin ekstraksiyon verimine etkileri incelenmiş ve organik çözücülerin ve etanol oranı düşük etanol:su karışımlarının ekstraksiyon verimini arttırmasının yanı sıra, yüksek oranda etanol içeren etanol:su karışımının özellikle antioksidan aktivitede en büyük paya sahip fenolik bileşiklerin ekstrakte edilmesinde olumlu sonuçlar verdiği belirtilmiştir [55, 56]. Bu çalışmaların referansı doğrultusunda CİMM ve TMM ekstrelerinin hazırlanması sırasında etanol:su (80:20) çözgen sisteminin kullanılmasına karar verilmiştir.

CİMM ile TMM üretimindeki miktarlara göre hazırlanmış 50 g'lik bitki karışımı 500 mL etanol ve etanol:su çözgen sistemi ile 40 °C'de 4 saat ekstrakte edilecek ve ekstraksiyon sonrası posa süzgeç kâğıdından süzülerek ayrılmıştır. Elde edilen süzüntüdeki çözgen, 40 °C'de vakum altında döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırılmış, ekstre deriştirilecek ve içerisinde bulunan çözücünün tamamen uzaklaştırılması için liyofilize edilmiştir. Elde edilen liyofilize ekstraktlar, ektraksiyon verimleri hesaplandıktan sonra projenin diğer adımlarında kullanılmıştır.

2.2.2 Toplam Fenolik ve Flavonoid İçeriğinin Kromatografik Yöntemle Belirlenmesi

CİMM ve TMM ekstrelerinin HPLC profillerinin belirlenmesi için Manisa Celal Bayar Üniversitesi Deneysel Fen Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (DEFAM) bulunan Agilent 6420 Triple Quad Kütle spektrometresi (Agilent LCMSMS 6420 Triple Quad LCMS) ile bütünleşik olan Agilent Technologies 1260 Infinity sıvı kromatografisi sistemi Poroshell 120 EC-C18 (100mm×4,6mm İ.Ç.: 2,7 µm) kolonu ile birlikte kullanılmıştır. 2,0 µL örnek 25 °C'deki kolona 0,4 mL·dak^{-1} akış hızındaki çözgen birlikte verilerek gradient taşıyıcı çözgen sistemi ile literatürde fenolik bileşiklerin ayrılması için kullanılan 22 dakikalık yöntem kullanılarak CİMM ve TMM ekstrelerinin içermiş olduğu fenolik bileşik miktarları kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir (Tablo 2.1) [57].

Tablo 2.1. HPLC Gradiyent Çözgen Sistemi Koşulları

Zaman (dak)	Mobil faz I %0,1 Formik Asit:Su (%)	Mobil Faz II Metanol (%)	Akış Hızı (mL/min)
0	98	2	0,4
3	98	2	0,4
6	75	25	0,4
10	50	50	0,4
14	5	95	0,4
17	5	95	0,4
17,5	98	2	0,4

Sıvı kromatografisine bağlı tandem kütle spektrometresi ESI tekniği ile kullanılmış ve elektron sprey kaynağı hem pozitif hem de negatif modda çalıştırılmıştır. Örneklerin HPLC profillerinin çıkartılması için standart bileşikler olarak (-)-epikateşin, (+)-kateşin, 2,5-dihidroksibenzoik asit, 2-hidroksisinnamik asit, 3,4-dihidroksifenilasetik asit, 3-hidroksibenzoik asit, apigenin, apigenin 7-glukozit,

kaffeik asit, klorogenik asit, *p*-kumarik asit, eriodiktiol, ferulik asit, gallik asit, hesperidin, hiperzoid, kamferol, kaempferol, luteolin, luteolin 7-glukozit, pinoresinol, protokateknik asit, pirokatekol, kuersetin, rosmarinik asit, şiringic asit, taksifolin, vanilik asit, vanilin, verbaskozit kullanılmış ve bu standartlar yardımıyla CİMM ve TMM ekstrelerinin fenolik bileşik içerikleri aydınlatılmıştır.

2.2.3 Termal Gravimetrik Analiz

Hazırlanan mesir macunu ekstrelerinin (CİMM ve TMM) ısıl davranışlarını incelemek için termogravimetrik analizler Perkin Elmer Diamond TG/DTA cihazında %99,99 saflıkta ve 200 mL/dak akış hızındaki azot atmosferi altında gerçekleştirilmiştir. Örnekler 10 °C/dak ısıtma hızı ile 600 °C'ye kadar ısıtılmış ve bu işlem sırasında termogravimetrik (TG) ve diferansiyel termogravimetrik (DTG) veriler toplanmıştır. Örneklerin ağırlık kaybı hesabı aşağıdaki formüle göre yapılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Ağırlık Kaybı (\%)} = \frac{m_i - m_a}{m_i} \times 100$$

m_i: Örneğin başlangıç ağırlığı (g)

m_a: Örneğin ölçüm anındaki ağırlığı (g)

2.2.4 DPPH Radikalini Giderme Aktivitesinin Kapasitesi

CİMM ve TMM ekstrelerinin serbest radikal giderme aktiviteleri Brand-Williams ve arkadaşlarının yöntemindeki 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılmış ve üç tekrarlı olarak yapılacak deneylerle belirlenmiştir [58]. Yöntem, CİMM ve TMM ekstrelerinin bir elektron veya proton verebilme yeteneğinin sonucu mor renkli DPPH çözeltisinin renginin açılması amacına dayanmakta ve reaksiyon karışımının absorbansının düşme nedeni ise, yüksek serbest radikal giderme aktivitesini işaret etmektedir.[59].

CİMM ve TMM ekstrelerinden 100-1000 µg/mL arasında farklı derişimlerde hazırlanacak çözeltiler ve standart DPPH çözeltilerinden (50-1000 µg / mL) 1 mL şer alınarak, etanoldeki 0,1 mM'lik DPPH çözeltisinden 4,0 mL eklenmiş ve vorteksleme yatıktan sonra oda koşullarında karanlık bir yerde 30 dakika bekledikten sonra absorbansları kontrol olarak saf etanole karşı 517 nm'de okunmuştur. İlk olarak % DPPH radikali giderme aktivitesi aşağıda verilen formül ile hesaplanırken sonra EC50 değeri hesaplanmıştır.

$$\%\ \text{DPPH Radikali Giderme Aktivitesi} = \frac{\text{Kontrolün absorbansı-Örneğin absorbansı}}{\text{Kontrolün absorbansı}} x100$$

EC50, DPPH'in %50'sinin inhibisyonunu sağlayan ekstre ve standart madde konsantrasyonu olarak tanımlanır ve bu değer % serbest radikal giderme aktivite değerlerinin çalışılan konsantrasyonlara karşı yerleştirilmesi ile elde edilen grafik kullanılarak hesaplanarak sonuçları EC50 = µg/mL olarak verilmiştir [60, 61].

2.2.5 $ABTS^+$ Radikal Katyon Renksizleştirme Yöntemi

CİMM ve TMM ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri $ABTS^+$ renksizleştirme yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. ABTS, kimyasal adı 2,2′-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) diamonyum tuzudur ve molekülünün potasyum peroksidisülfat ile etkileşmesinden potasyum katyonu ile 734 nm'de maksimum absorbans gösteren mavi/yeşil renkteki $ABTS^+$ radikali oluşur. Antioksidanlar oluşan bu radikale bir hidrojen atomu verebilirler ve bu durum çözeltinin renginin açılmasını sağlarlar. Temeli çözelti rengindeki değişimi gözlemlemek olan bu yöntemde, 7 mM'lik ABTS çözeltisinin 5 mL'sine 140 mM'lik $K_2S_2O_8$ çözeltisinden 88 µL eklenerek karıştırılmış ve oda sıcaklığında 12-16 saat boyunca karanlıkta radikal oluşumunun tamamlanması için bekletilerek stok çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan bu stok çözelti 734 nm'de 0,75 absorbans veren PBS (fosfat tampon çözeltisi) (pH= 7,4) ile seyreltilerek CİMM ve TMM ekstrelerinin 1,0'er mL hacimlerine 2,0'şer mL eklenerek 5 dakika beklenmiştir. Kör örnek olarak PBS'nin kullanıldığı ve 734 nm'de ölçümün alındığı bu yöntemde "Total Antioksidan Aktivite" (TAA) yüzdesi aşağıda verilen formül ile hesaplanarak verilmiştir. Ayrıca 0,5 µg/mL troloksun pozitif kontrol olarak kullanıldığı ölçüm ile de CİMM ve TMM ekstrelerinin "Relatif Antioksidan Aktiviteleri" (RAA) hesaplanmıştır.

$$\text{TAA \%} = \frac{\text{Stok çözeltinin absorbansı - Ekstrenin absorbansı}}{\text{Stok çözeltinin absorbansı}} \text{x100}$$

$$\text{RAA} = \frac{\text{Ekstrenin TAA \% değeri}}{\text{TAA \% Standartı}} \text{x100 (0,5 } \mu\text{g/mL trolox)}$$

2.2.6 İstatistiksel Analizler

Her deneme üç kez tekrar edilecek, elde edilen veriler one-way ANOVA analiziyle değerlendirilerek, uygulama gruplarının istatistiksel olarak birbirine olan farkını ölçmek için TUKEY post-test uygulanmıştır. Bu karşılaştırma sonucu $P<0,05$ değerine sahip gruplar birbirinden istatistiksel olarak farklı olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 25 istatistik programı ile gerçekleştirilmiştir.

3 BULGULAR VE TARTIŞMA

Bitkilerin tıbbi bir araç olarak kullanımları oldukça eski olmakla birlikte özellikle son yıllarda farmasötik ürünlere takviye edici, destekleyici ve tedavi edici ajan olarak yararlanılmaları artmıştır. Özellikle gelişen teknoloji ile birlikte birçok bitki karışımından oluşan çeşitli poliherbal formülasyonların üretimi de gün geçtikçe ivme kazanmakta ve popülerliğide artmaktadır. Bunun başlıca sebepleri arasında özellikle insan sağlığına olumlu etkileri, hastalıklara hızlı cevap vermeleri ve sentetik kimsayal ilaçlara göre daha az toksik olmalarıdır. Bu durumşa birlikte nispeten yan etkilerinin azlığı, kolay elde edilebilirliği ve ekonomik açıdan uygun olmaları gibi pek çok etken bitkilerin ve bitki kökenli formülasyonların kullanımını arttırmaktadır [62]. Günümüzde bitkilerin aktif maddelerinden sentezlenen, izole edilen ya da bitki ekstrelerinin karışımından oluşan poliherbal formülasyonlar içerdikleri birçok aktif bileşik sayesinde çeşitli hastalıkların tedavisinde destekleyici ajan olarak iş görmekte ve alternatif tıbbi sistem içinde çok fazla kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) raporlarına göre dünya nüfusunun %80'i primer insan sağlığı korumasında tıbbi bitkilerin yararlı etkilerine güvenmekte ve hastalıkların tedavisinde kullanmayı tercih etmektedir [63].

Bu tez çalışmasının amacı, yerli ve milli üretimin ön planda olduğu günümüzde, uluslararası anlamda ülkemizi temsil edecek güce sahip olan Manisa Mesir macununu tarihi reçeteye bağlı kalarak hazırlamak, içeriğinde yer alan bitkisel baharat karışımlarının literatürde bilinen ve sıklıkla kullanılan analiz yöntemlerini kullanarak antioksidan kapasitelerini karşılaştırmalı olarak belirlemektir. Mesir macununun üretiminde kullanılan bitkilerin tek tek antioksidan özellikleri bilinmesine rağmen, direkt olarak bitki karışımlarının toplam antioksidan özelliği hakkında herhangi bir çalışma bulunmadığından hedefimiz olan tarihi reçeteye bağlı kalarak hazırlanmış Mesir macunun piyasada tüketime sunulan macunlardan farkı ilk defa yapılacak analizler ile ortaya konmuştur.

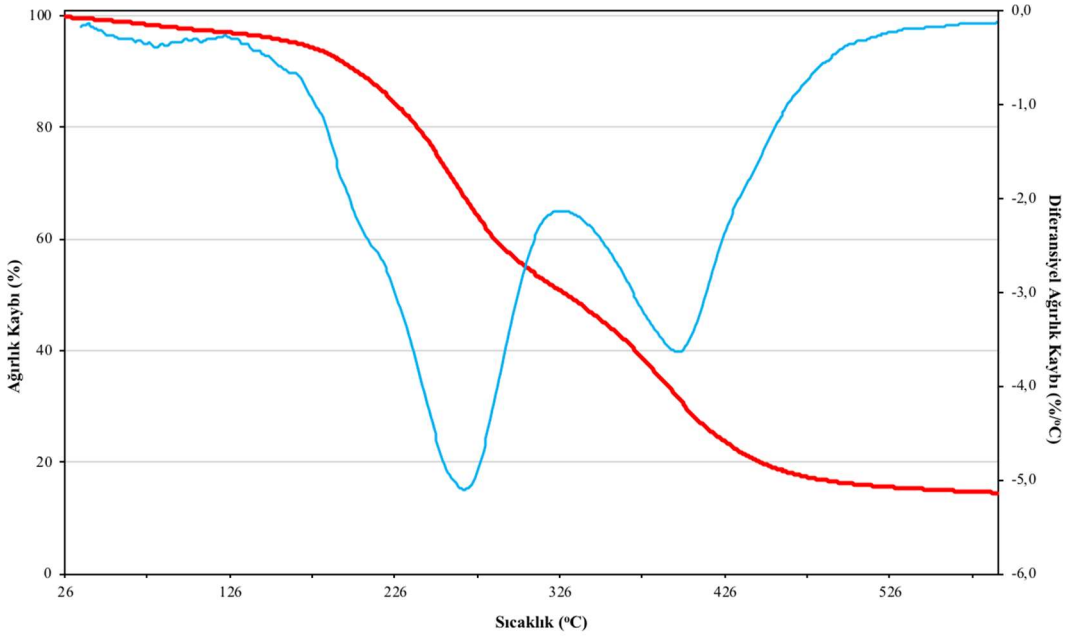
Çalışmamızın ilk aşaması olan Coğrafi işaretlenmiş mesir macunu (CİMM) ve tarihil mesir macunu (TMM) yapımında kullanılan bitkiler temin edilerek elektrikli değirmen ile öğütülmüştür. Sonraki basamakta ise reçetelere bağlı kalınarak karışımlar hazırlanmıştır. İkinci basamak olan ekstraksiyon işleminde; Manisa Mesir Macunu

etanol ekstresi, Manisa Mesir Macunu etanol:su ekstresi, Coğrafi işaretlenmiş Mesir Macunu etanol ekstresi ve Coğrafi işaretlenmiş Mesir Macunu etanol:su ekstresi hazırlanmıştır.

3.1 Termal Gravimetrik Analiz

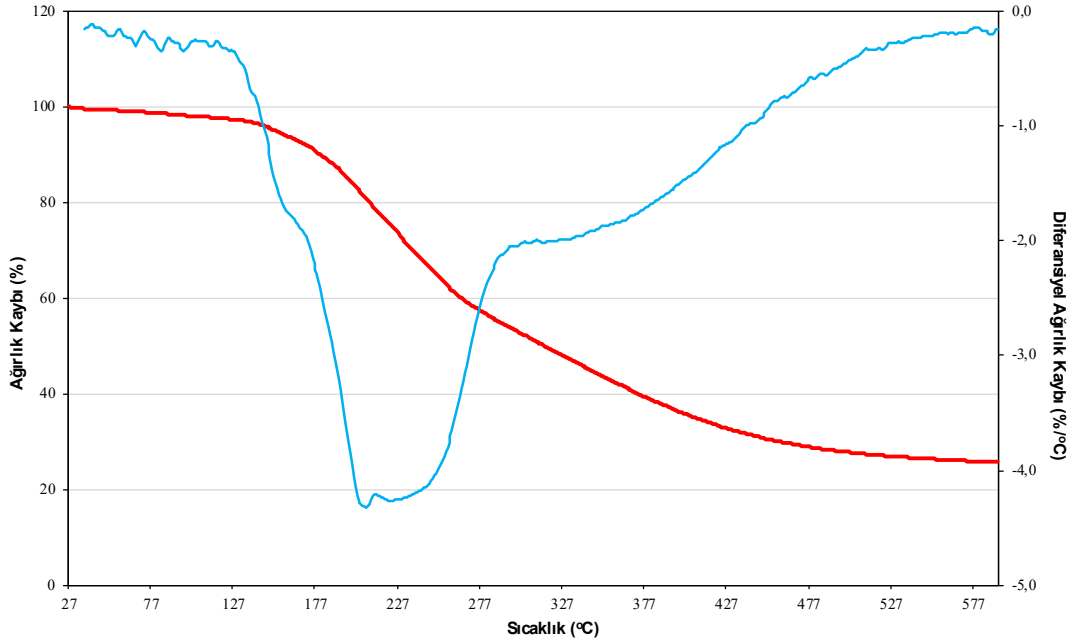
Ekstrelerin ısıl davranışlarının incelenmesi için ekstreler azot atmosferi altında 10 °C·dak^{-1} ısıtma hızı ile termal gravimetrik analize tabi tutulmuş ve elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

CİMM etanol ekstresinin termal gravimetrik analiz sonuçlarına baktığımızda ilk kütle kaybının ekstre içerisindeki nemden kaynaklandığı ve 105 °C'de %2,5'luk kütle kaybı ile gerçekleştiği görülmektedir. Bu ekstresnin ikinci ve en büyük kütle kaybı ise 200 - 300 °C aralığında gerçekleşmiş olup 265 °C'de maksimum gösteren bu kayıp örnekte %40'lık bir kütle kaybına neden olmuştur. Bu sıcaklık aralığında yapıdaki küçük ve kaynama noktası düşük organik bileşiklerin ekstreyi terk etmeleri, karbohidratların bozunması ve karbonlaşmanın başlaması gerçekleşmiştir [64]. Ekstrenin son kütle kaybı ise 400 °C'de gerçekleşmiş ve 550 °C'ye kadar devam etmiştir. Ekstredeki fenolik yapıların özellikle polifenolik yapıların bozunduğunun düşünüldüğü bu kütle kaybı basamağında ekstereden %30'luk bir kütle bozunmuştur [65]. Sonuç olarak, CİMM etanol ekstresinde üç temel adım bozunma gerçekleşmiş ve bu bozunmalar sonucu ekstreden %85'lik bir kütle kaybı gerçekleşmiştir (Şekil 3.1).



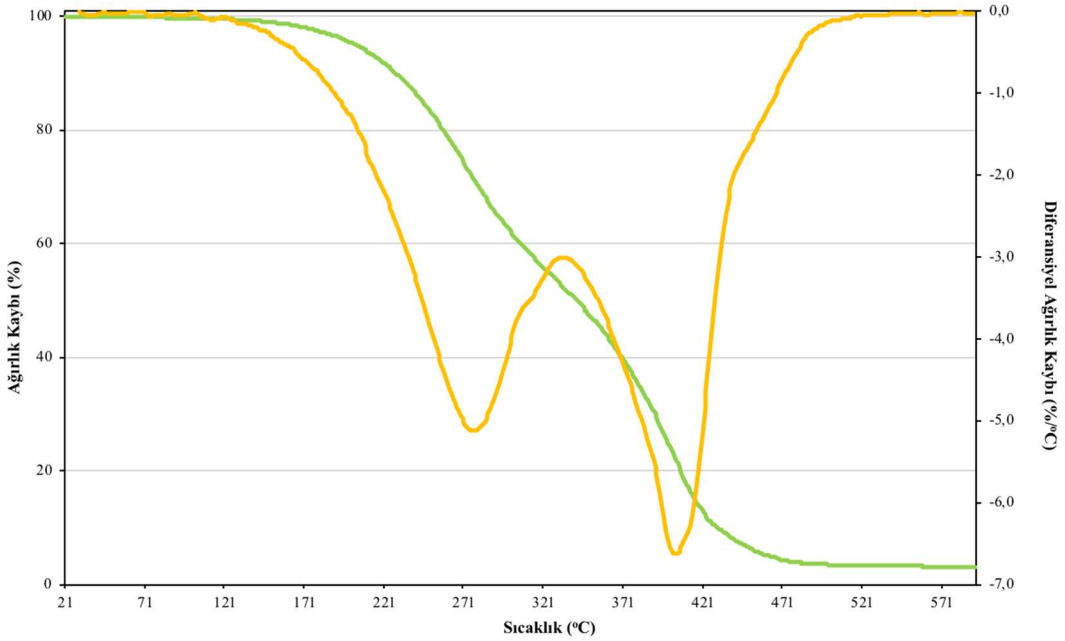
Şekil 3.1. CİMM Etanol Ekstresinin TG ve DTG Eğrileri

CİMM etanol:su ekstresine baktığımızda ise etanol ekstresinden farklı olarak bozunmanın iki basamakta gerçekleştiği görülmektedir. %5'lik bir kaybın gerçekleştiği ve 105 - 110 °C arasında gerçekleşen ilk basamakta ekstre içerisindeki nemin kaybedildiği düşünülmektedir. Buradaki kütle kaybının CİMM etanol ekstresine göre daha yüksek olmasına ise her ne kadar örnekler liyofilize edilmiş olsa da bu ekstre hazırlanırken su kullanılmasının neden olabileceği düşünülmektedir. İkinci kütle kaybı ise DTG eğrisinde 150 °C'de görülen bir omuz ile başlamış ve 170 - 280 °C arasında gerçekleşen ve 200 °C'de maksimum yaparak toplamda %40'lık bir kütle kaybına neden olmuştur. Burada gerçekleşen kütle kaybı yine CİMM EtOH ekstresinde olduğu gibi yapıdaki küçük ve kaynama noktası düşük organik bileşiklerin ekstreyi terk etmesi ile gerçekleşmiştir. Bu ekstre için CİMM etanol ekstresinde olduğu gibi 400 °C civarında çarpıcı bir kütle kaybı gerçekleşmemiş ancak yinede artan sıcaklık ile birlikte yavaş ancak sürekli bir kütle kaybı ile toplamda %75'lik bir kütle kaybı gerçekleşmiştir. CİMM EtOH:Su ekstresindeki kütle kaybının CİMM EtOH ekstresine göre daha az olmasının nednei olarka ekstraksiyon çözgeni olarak su kullanılması ile baharat karşımındaki daha polar bileşiklerin de ekstrakte edildiği ve bunun sonucunda da bozunmanın daha yavaş ve CİMM EtOH ekstresine göre daha az olduğu düşünülmektedir (Şekil 3.2).

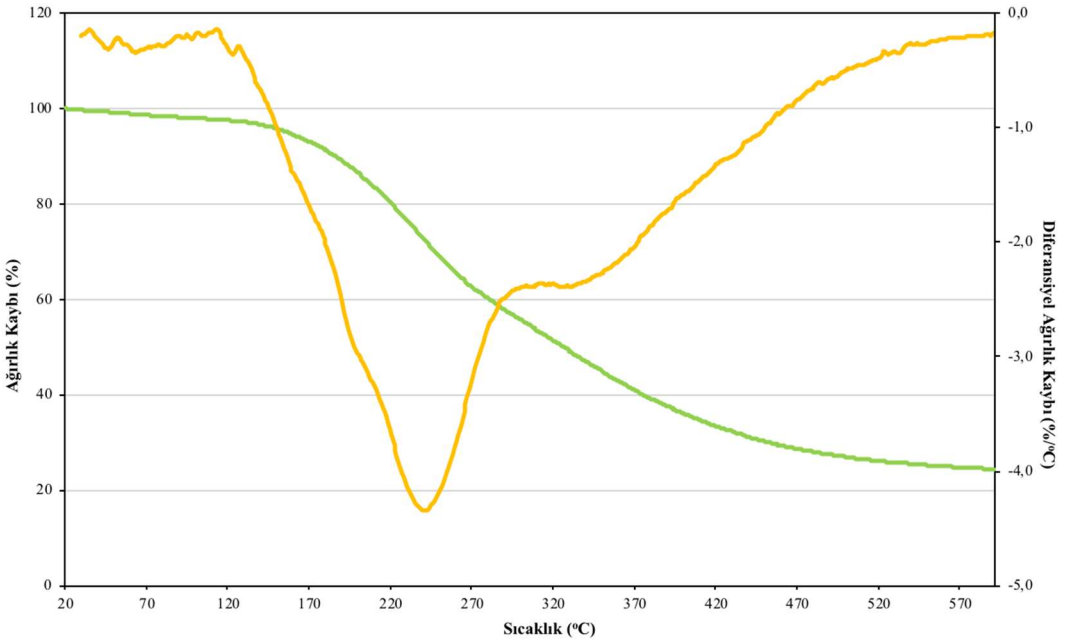


Şekil 3.2. CİMM Etanol:Su Ekstresinin TG ve DTG Eğrileri

TMM etanol ekstresinin ısıl davranışlarına baktığımız zaman ilk dikkat çeken nokta buradaki bozunmanın da CİMM etanol ekstresinde olduğu gibi üç adımda gerçekleştiğidir. 105 °C civarında gerçekleşen ve %1,5'luk kütle kaybına neden olan ilk adımın ekstre içerisindeki nemden kaynaklandığı düşünülmektedir. %40'lık en büyük kütle kaybına neden olan ve 180 - 300 °C sıcaklık aralığında gerçekleşen ve 200 °C'de maksimum gösteren ikinci adımda ise yine örnek içerisinde bulunan ve kaynama noktası düşük organik bileşiklerin bozunması gerçekleşmiştir. 330 - 400 °C arasında gerçekleşen üçüncü adımda ise %35 kütle kaybı gerçekleşmiştir. Costa ve arkadaşlarının 2013 yılında yapmış olduğu çalışmada [64], bitki örnekleri içerisinde bulunan triterpenler, alkaloidler, taninler, flavonoidler gibi sekonder metabolitlerin ve karbohidratların termal davranışlarını TG, FT-IR ve HPLC ile incelemişler ve 315 - 430 °C sıcaklık aralığında gerçekleşen bu son bozunma basamağında karbonumsu materyalin okside olduğu ve kül oluşumunun başladığını bildirmişlerdir. TMM etanol ekstresinin termal analiz sonuçlarında da bu çalışma ile paralel olarak sonuçların gözlemlenmesi ile 330 - 400 °C arasında karbonumsu materyalin oksidasyonunun ve kül oluşumunun başladığı görülmektedir (Şekil 3.3).



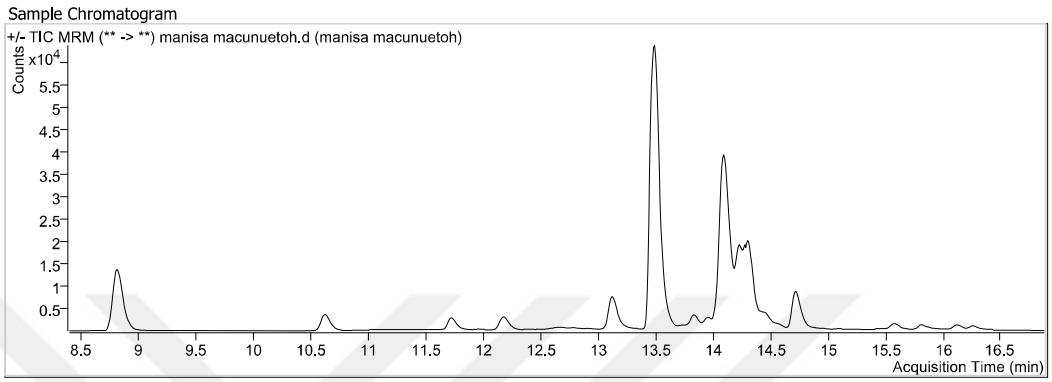
Şekil 3.3. TMM Etanol Ekstresinin TG ve DTG Eğrileri



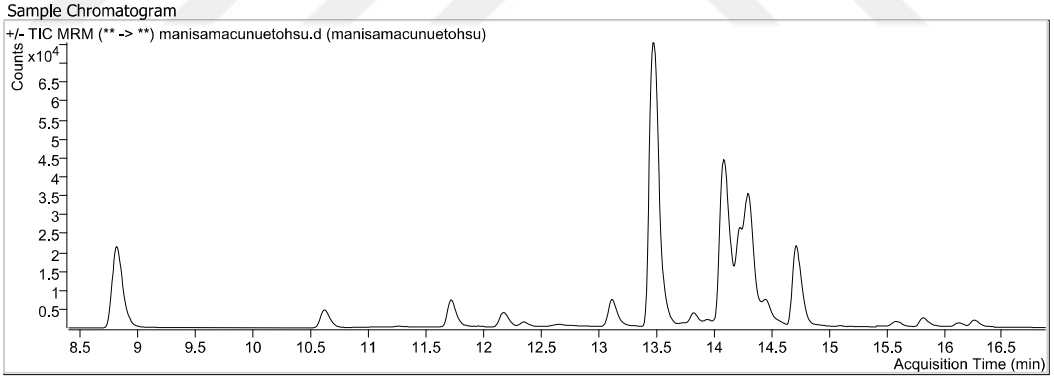
Şekil 3.4. TMM Etanol:Su Ekstresinin TG ve DTG Eğrileri

3.2 HPLC Analizleri

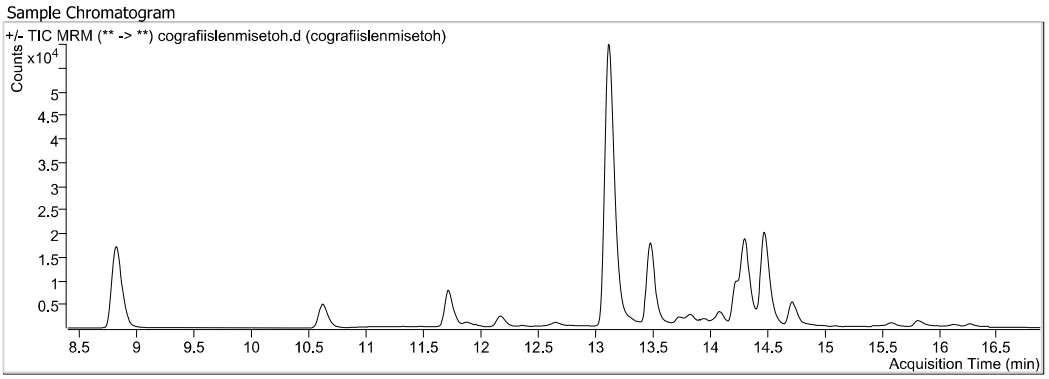
CİMM ve TMM eksterelerinin içerdiği fenolik bileşiklerin tayini için HPLC kullanılmış ve 31 tane standarttan yararlanılarak içerik analizi yapılarak elde edilen kromatogramlar ve sonuçlar Şekil 3.5-3.8 ve Tablo 3.1'de verilmiştir.



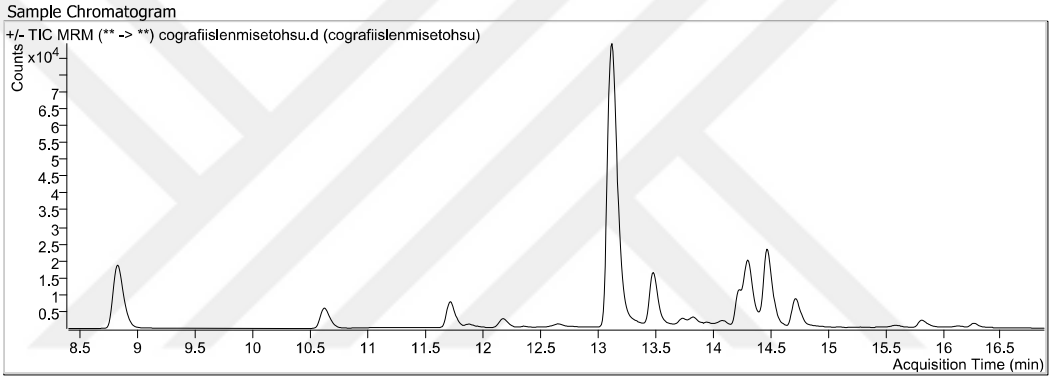
Şekil 3.5. TMM EtOH Ekstresinin HPLC Kromatogramı



Şekil 3.6. TMM EtOH:Su Ekstresinin HPLC Kromatogramı



Şekil 3.7. CİMM EtOH Ekstresinin HPLC Kromatogramı



Şekil 3.8. CİMM EtOH:SU Ekstresinin HPLC Kromatogramı

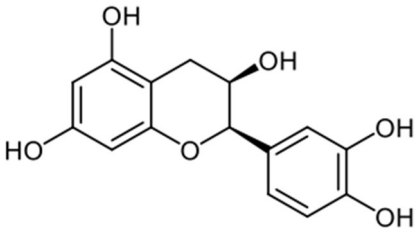
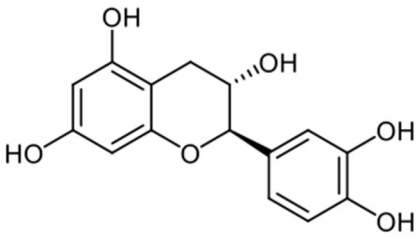
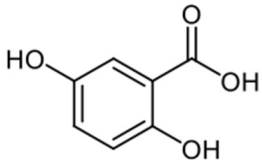
Tablo 3.1. CİMM ve TMM Ekstrelerinin Fenolik İçerikleri

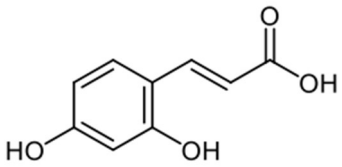
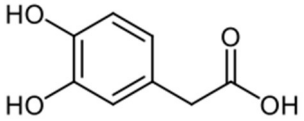
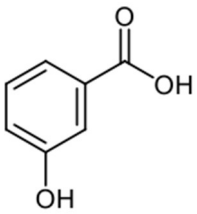
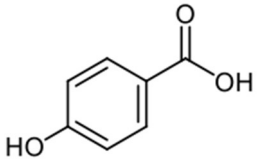
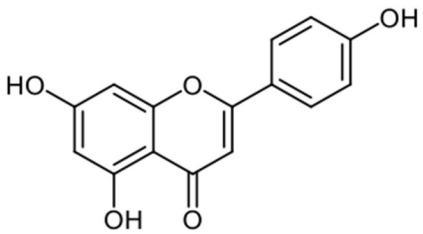
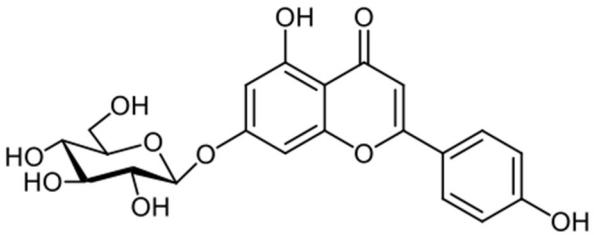
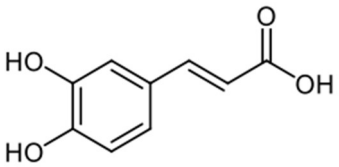
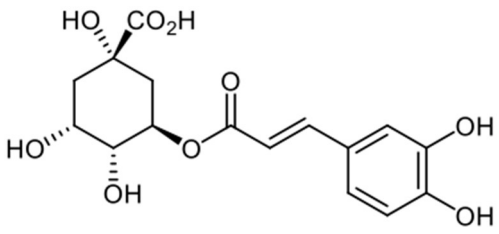
Bileşik Adı	Miktar (mg/kg)			
	TMM EtOH	**TMM EtOH:Su**	**CİMM EtOH**	**CİMM EtOH:Su**
Verbaskozit	1.590,38	1.894,96	379,48	339,52
Vanilin	506,43	495,19	4.531,70	6.509,94
Vanilik asit	82,45	100,93	100,44	140,93
Taksifolin	6,12	6,46	18,26	23,69
Şiringik asit	21,20	37,92	25,97	43,54
Sinapik asit	10,35	19,44	10,51	15,85
Rosmarinik asit	8,46	14,81	330,35	344,76
Kuersetin	26,21	30,31	14,39	12,18
Pirokatekol	5,18	4,30	3,40	2,86
Protokateknik asit	150,58	201,99	209,81	254,82
Pinoresinol	10,92	12,90	21,72	21,48
p-Kumarik asit	47,44	51,73	30,06	34,60
Luteolin 7-glukozit	90,10	159,21	62,63	74,79
Luteolin	25,83	61,06	32,71	53,83
Kamferol	120,78	197,38	27,78	101,82
Hiperozid	61,77	154,68	100,87	167,88
Hesperidin	854,89	1.518,05	775,88	845,39
Gallik asit	929,26	1.476,10	1.157,53	1.262,67
Ferulik asit	106,50	63,45	63,33	59,18
Eriodiktiol	1,17	1,90	0,67	0,91
Klorogenik asit	62,88	172,89	179,46	174,35
Kafeik asit	9,36	12,28	16,99	20,87
Apigenin 7-glukozit	190,14	500,86	112,01	186,17

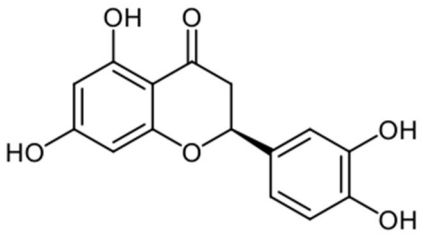
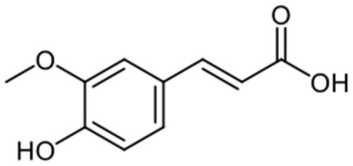
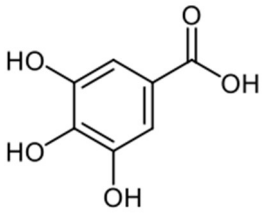
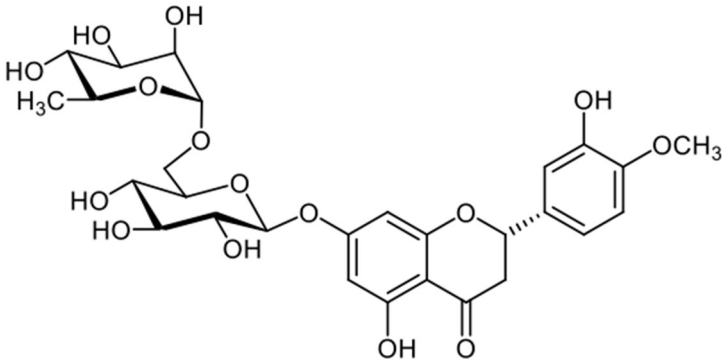
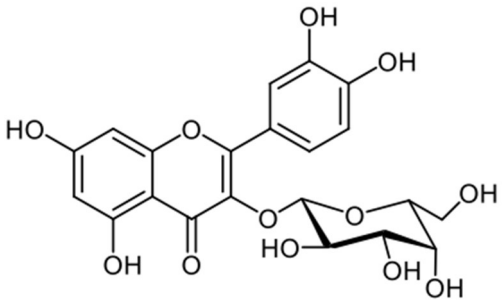
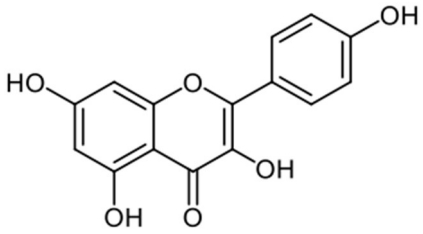
Apigenin	18,25	43,54	11,51	27,09
(+)-Kateşin	0,72	13,23	3,16	1,82
(-)-Epikateşin	1,78	55,75	10,70	15,48
4-Hidroksibenzoik asit	114,47	150,52	87,38	101,60
3-Hidroksibenzoik asit	1,84	2,26	1,65	2,56
3,4-Dihidroksifenilasetik asit	1,23	1,46	2,25	1,72
2-Hidrokssinnamik asit	2,51	2,75	5,19	5,97
2,5-Dihidroksibenzoik asit	4,89	4,82	4,34	3,53

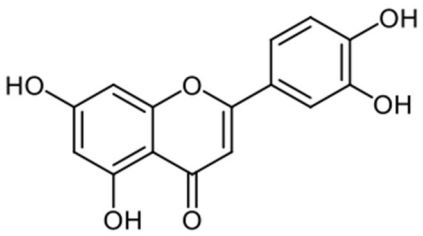
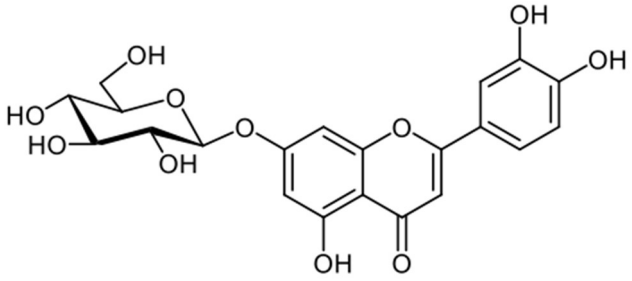
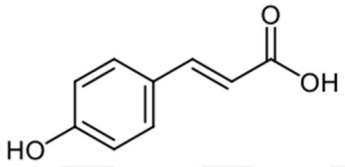
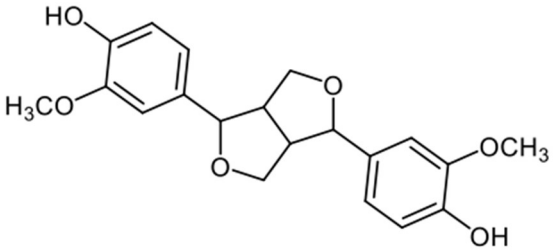
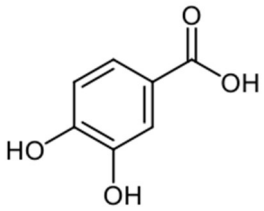
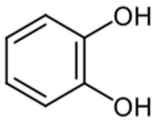
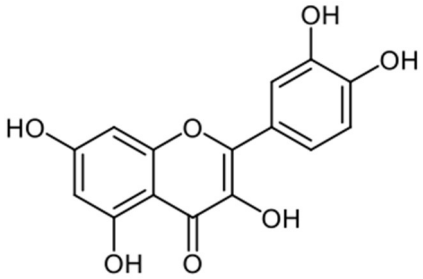
Tablo 3.1'de yer alan bileşiklerin kimyasal yapıları Tablo 3.2' de verilmiştir.

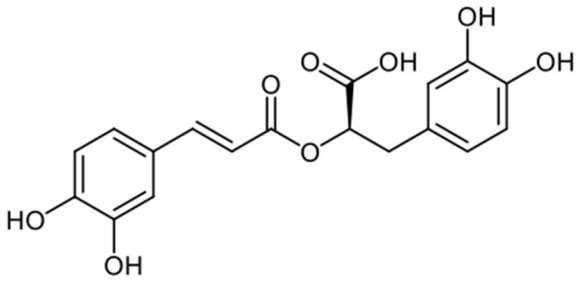
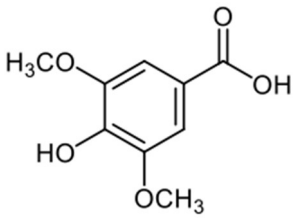
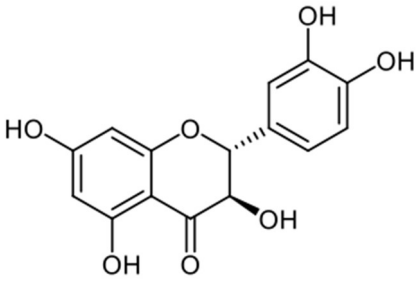
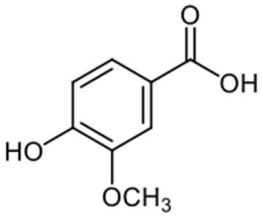
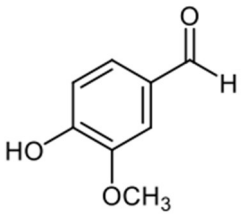
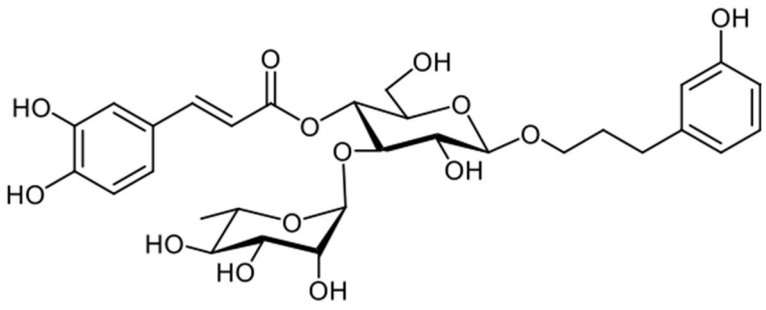
Tablo 3.2. CİMM ve TMM Ekstrelerinin İçerdiği Fenolik Bileşiklerin Yapıları

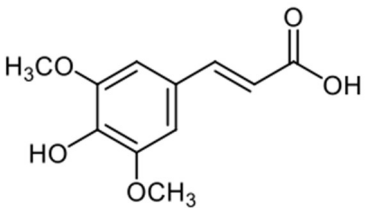
Bileşiğin Adı	**Bileşiğin Yapısı**
(-)-Epicatechin	
(+)-Catechin	
2,5-Dihidroksibenzoik asit	

2-Hydroxycinnamic asit	
3, 4-Dihydroxyphenylacetic asit	
3-Hidroksibenzoik asit	
4- Hidroksibenzoik asit	
Apigenin	
Apigenin 7-glukozit	
Caffeik asit	
Klorogenik asit	

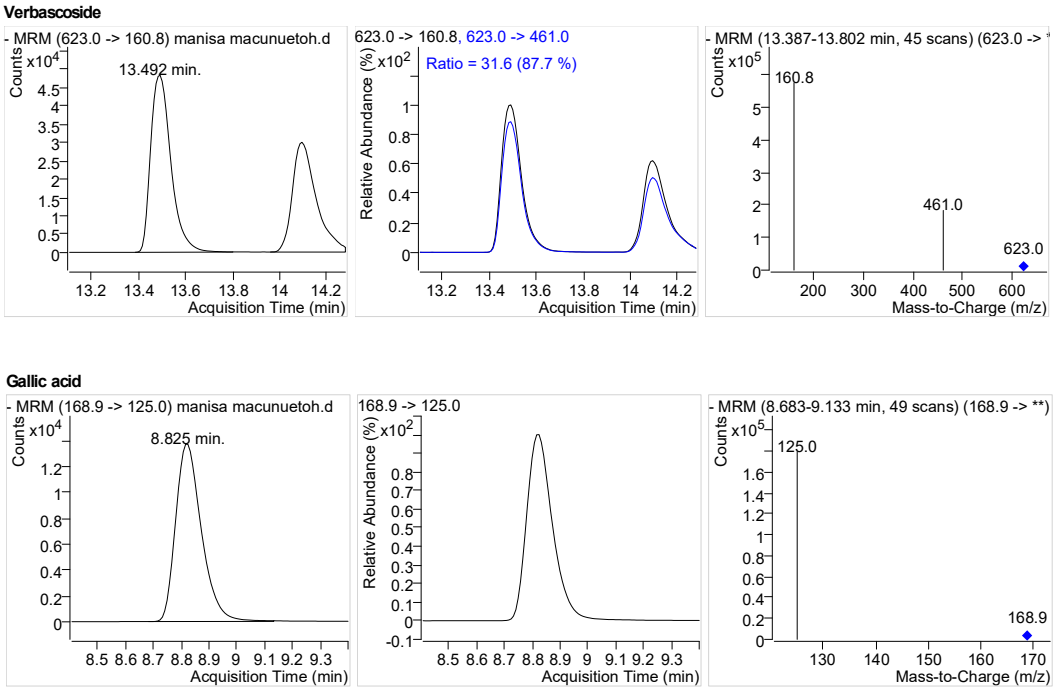
Eriodiktyol	
Ferulik asit	
Gallik asit	
Hesperidin	
Hiperosit	
Kaempferol	

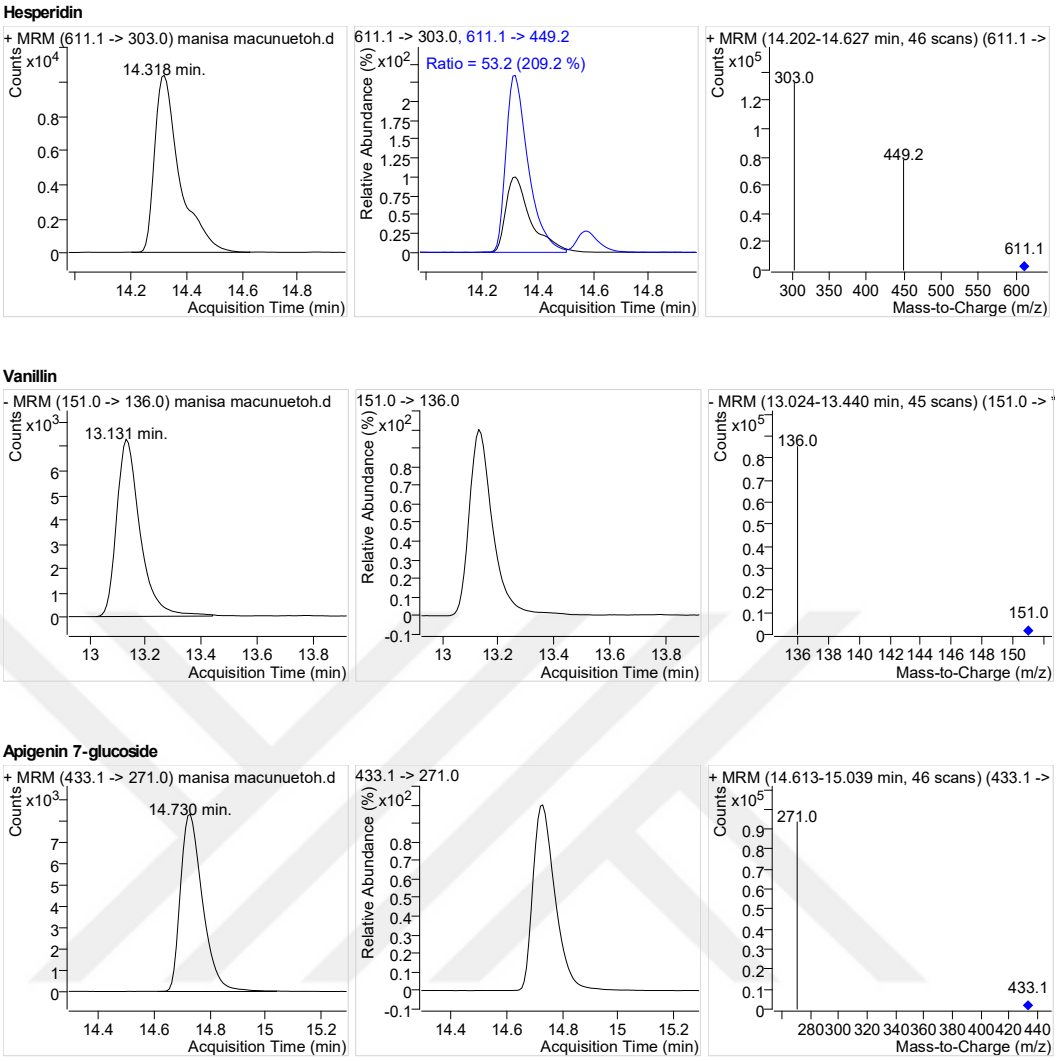
Luteolin	
Luteolin-7-glukosit	
p-Coumarik acid	
Pinoresinol	
Protokatekuik asit	
Pirokatekhol	
Querketin	

Rosmarinik asit	
Syringic asit	
Taxifolin	
Vanillik asit	
Vanillin	
Verbascoside	

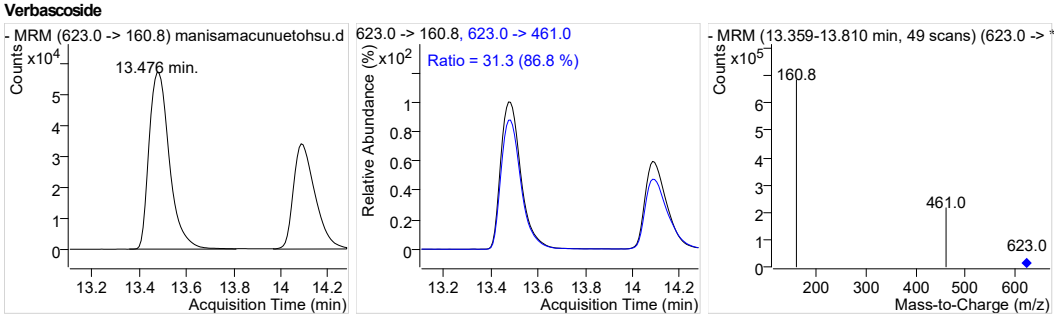
Sinapik asit	

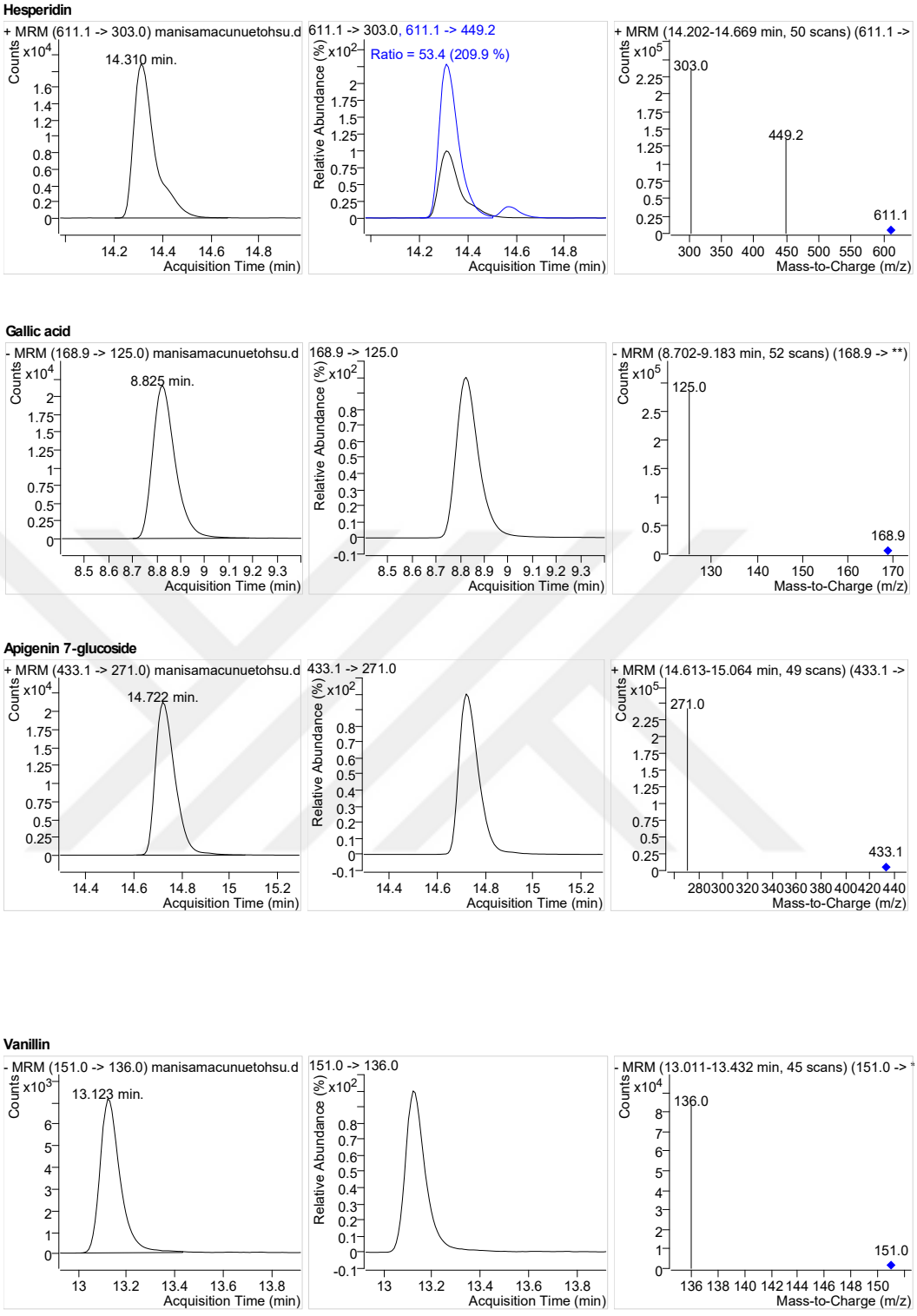
Tablo 3.1 incelendiğinde TMM EtOH ekstresinde en fazla bulunan 5 fenolik bileşiğin sırasıyla verbaskozit, gallik asit, hesperidin, vanilin ve apigenin-7-glukozit olduğu görülmektedir (Şekil 3.9). Aynı baharat karışımının EtOH:Su ekstresinde bulunan fenolik bileşiklerin de aynı olduğu yalnız miktarlarında farklılıklar olduğu yine Tablo 3.1'den görülmektedir. TMM EtOH:Su ekstresinde en fazla bulunan 5 fenolik bileşik sırasıyla verbaskozit, hesperidin, gallik asit, apigenin-7-glukozit ve vanilin şeklinde sıralanmaktadır (Şekil 3.10). Bu bileşiklerin yapıları Şekil 3.11'de verilmiştir. Eksraksiyon çözgenindeki polaritenin artması ile literatürde Dvorackova ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada olduğu gibi daha polar bileşiklerin ekstraksiyon verilmerinin arttığı görülmüştür [66].



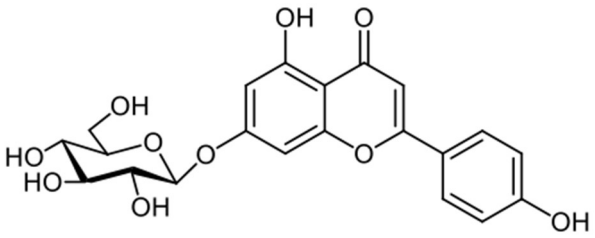


Şekil 3.9. TMM EtOH Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Piklerinin Ayrıntılı Gösterimi

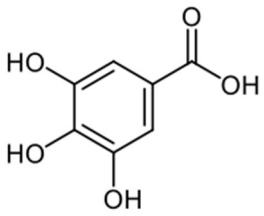




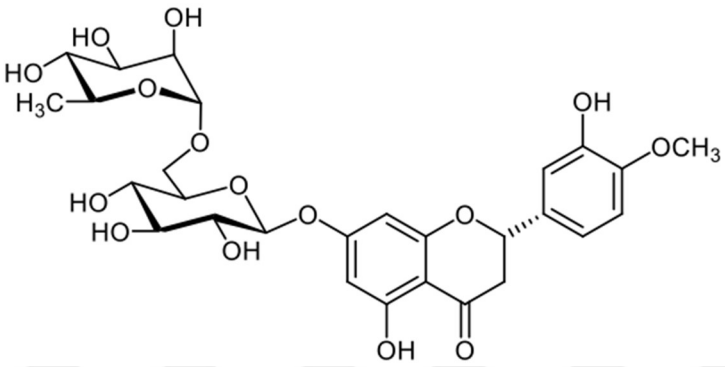
Şekil 3.10. TMM EtOH:Su Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Piklerinin Ayrıntılı Gösterimi



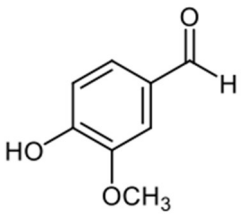
Apigenin 7-glucoside



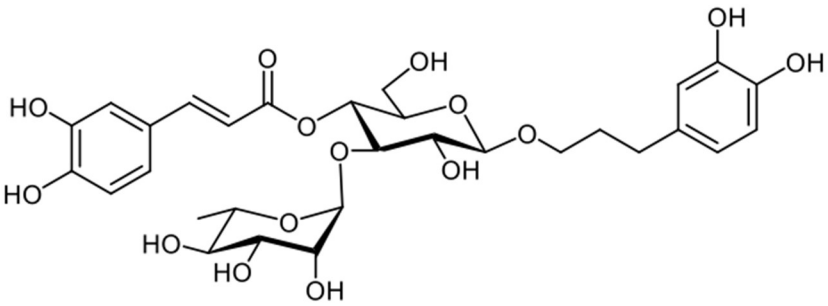
Gallic Acid



Hesperidin



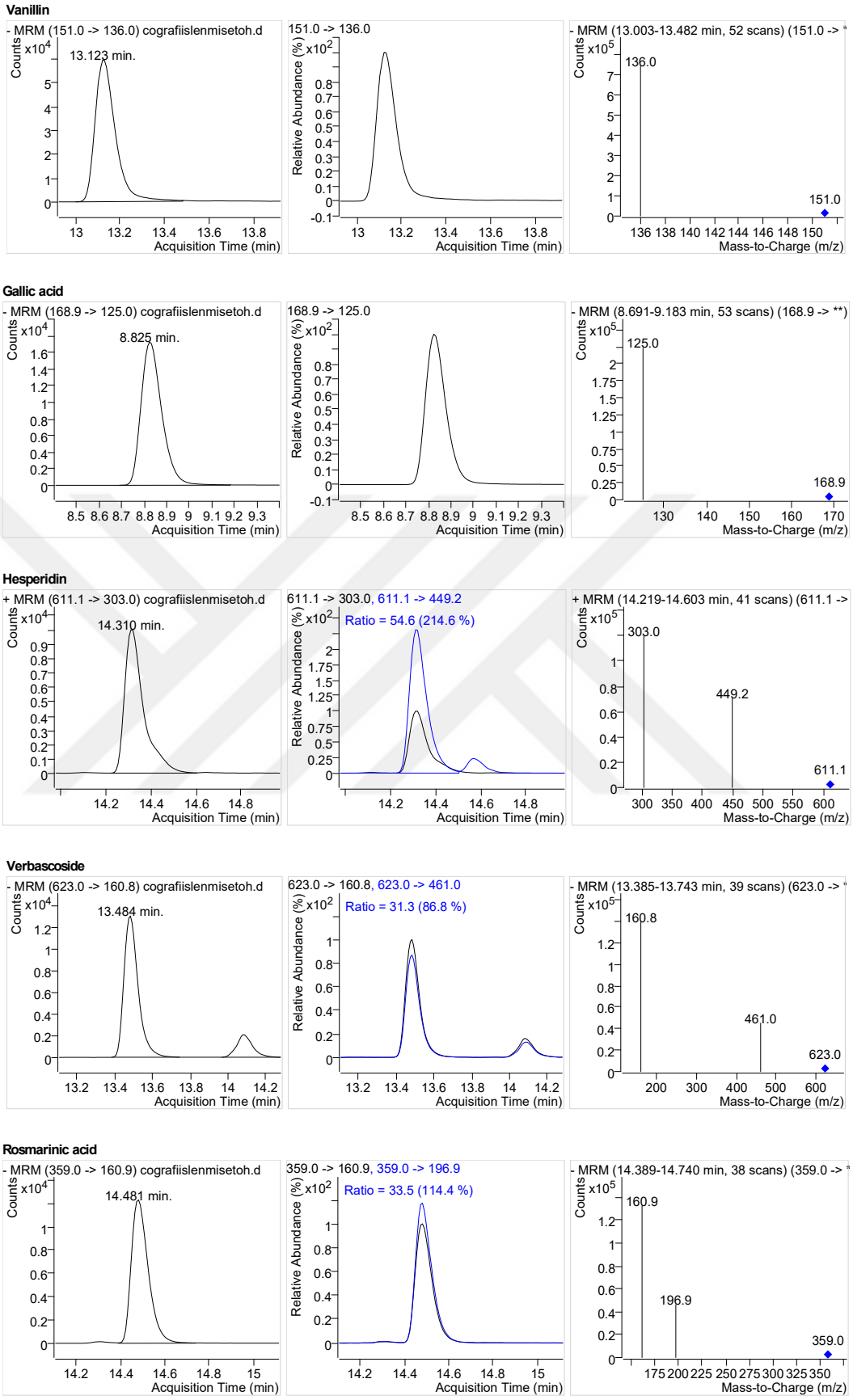
Vanillin



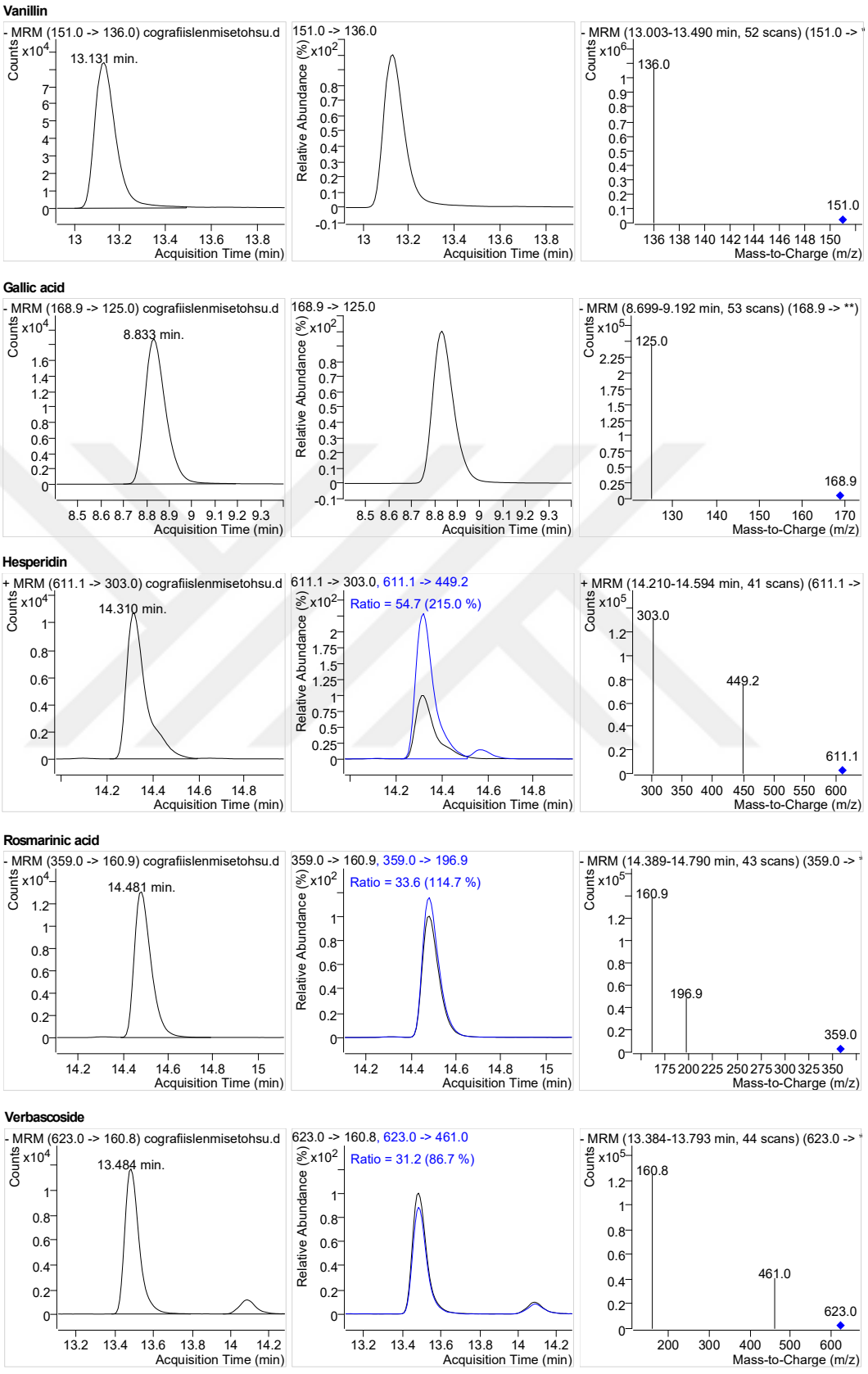
Verbascoside

Şekil 3.11. TMM EtOH ve EtOH:Su Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Yapıları

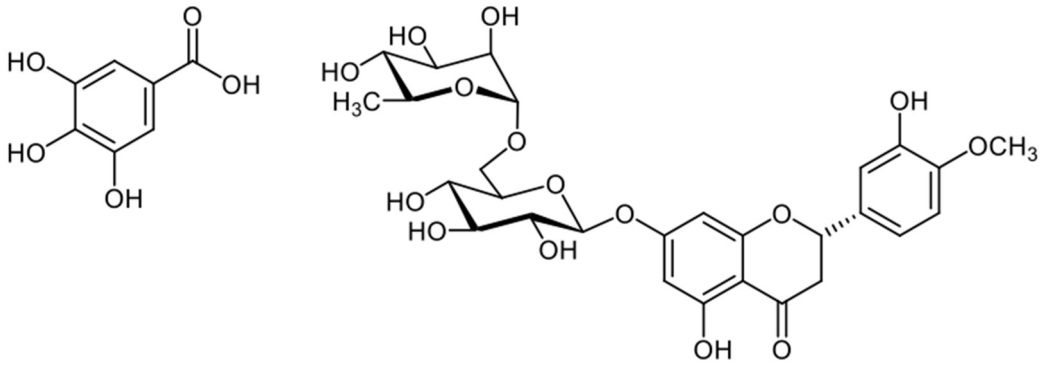
Tablo 3.1'den görüldüğü gibi CİMM EtOH en fazla bulunan fenolik bileşik vanilin, gallik asit, hesperidin, verbaskozit ve rosmarinik asit iken CİMM EtOH:Su ekstresinde en fazla bulunan fenolik bileşik ise sırasıyla vanilin, gallik asit, hesperidin, rosmarinik asit ve verbaskozit şeklinde sıralanmaktadır. Bu bileşiklerin kromatograları Şekil 3.12 ve 3.13'te yapıları ise Şekil 3.14'te gösterilmektedir. CİMM ekstraksiyonlarında olduğu gibi polar çözgen kullanıldığı durumda fenolik bileşik miktarı da artmaktadır.



Şekil 3.12. CİMM EtOH Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Piklerinin Ayrıntılı Gösterimi

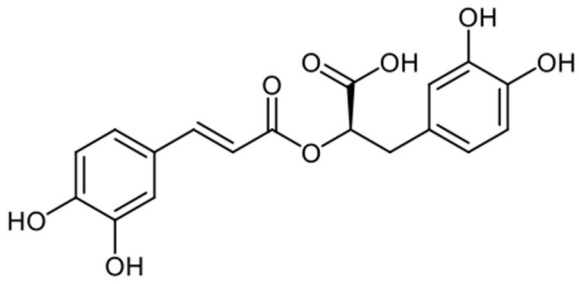


Şekil 3.13. CİMM EtOH:Su Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Piklerinin Ayrıntılı Gösterimi

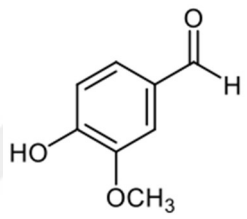


Gallic Acid

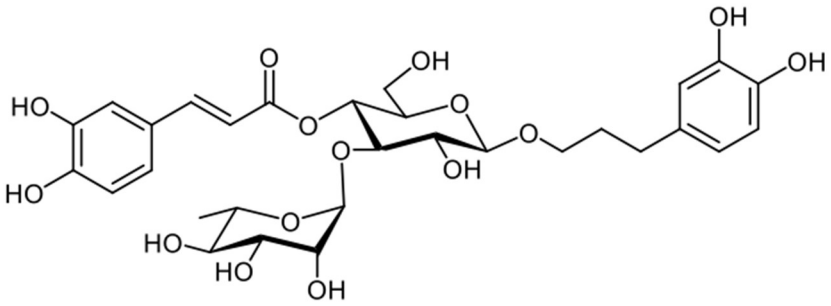
Hesperidin



Rosmarinic acid



Vanillin



Verbascoside

Şekil 3.14. CİMM EtOH ve EtOH:Su Ekstresinde En Fazla Bulunan 5 Fenolik Bileşiğin Yapıları

CİMM ve TMM ekstrelerinin hazırlanmasında en fazla miktarda kullanılan baharatlar karşılaştırıldığında her iki ekstrede de en fazla miktarda kullanılan baharatlar tarçın, karabiber, hardal, yenibahar, anason, çörek otu, zencefil olarak ön plana çıkmaktadır. Ayrıca TMM'de kakule CİMM'de ise kişniş ve karanfil yine fazla miktarda kullanılan baharat olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu baharatların fenolik

içerikleri ile hazırlamış olduğumuz ekstrelerin fenolik içeriklerini karşılaştırıdığımızda;

Anasonun alkol ekstresinin içerdiği başlıca fenolik bileşiklerin kateşin, klorojenik asit, *trans*-ferulik asit, ejonol, kumarin, hesperidin, vanilin ve *p*-kumarik olduğu görülmektedir [67].

Latincesi *Nigella sativa* olan çörekotunun içerdiği başlıca fenolik bileşiklerin vanilik asit, gallik asit, *trans*-sinamik asit, (4)-katerşin hidratı, apigenin, amentoflanone, kuarsetin, klorojenik asit, (-)-epikatesin ve *trans*-2-hidroksisinnamik asit olduğu bilinmektedir [68].

Hardalın (*Brassica juncea*) alkol ektresinin içerisinde bulunan başlıca fenolik bileşiklerin araştırıldığı Harbaum ve arkadaşları tarafından 2008 yılında yapılan çalışmada bu bileşikler vanilin, *trans*-ferulik asit, vanilik asit, *p*-hidroksibenzaldetih, *p*-kumarik asit, *cis*-ferulik asit ve sinapik asit olarak bulunmuştur [69].

Karabiberin (*Piper nigrum*) alkol ekstresinin içerdiği başlıca fenolik bileşiklerin luteolin, kuarcetin, kumarin, kamferol olduğu bilinmektedir [70].

Gulcin ve arkadaşları tarafından 2019 yılında yapılan çalışmada tarçının (*Cinnamomum verum*) alkol ekstresinin fenolik içeriği LC-MS/MS ile araştırılmış ve ekstrede fenolik bileşik olarak başlıca pirogallol, ferulik asit, p-kumarişk asit, kafeik asit, vanilin, gallik asit, askorbik asit ve *p*-hidroksibenzoik asit olduğu bulunmuştur [71].

Yenibaharın (*Pimenta dioica*) alkol ekstresi fenolik bileşik olarak başlıca kapsasin, kapsantin, ramnetin, beta-karoten, lutein ve likopen içermektedir [72].

Zencefilin (*Zingiber officinale*) alkol ekstresinde bulunan başlıca fenolik bileşikler pirogallol, *p*-hidroksi benzoik asit, ferulik asit, vanilin, *p*-kumarik asit, gallik asit, askorbik asit ve kafeik asit olarak bilinmektedir [73].

TMM yapımında kullanılan kakulenin kakulenin (Elettaria cardamomum) alkol ekstresinin fenolik içeriği Variyar ve Bandyopadhyay tarafından 1995 yılında yapılan

çalışmada araştırılmış ve kakulein alkol ekstresinde fenolik bileşik olarak başlıca kafeik asit, vanilik asit, gentisik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit, protokateşuik asit, şiringik asit ve salisilik asit olduğu bulunmuştur [74].

CİMM yapımında kullanılan karanfil ve kakulenin fenolik içerikleri incelendiğinde, Latincesi *Syzygium aromaticum* olan karanfilin alkol ekstresinin içerdiği başlıca fenolik bileşiklerin ejanol, gellik asit, tanin, kafeik asit, ferulik asit, elajik asit, salisilik asit, kamferol ve kuercetin olduğu bulunmuştur [75].

Kişnişin (*Coriandrum sativum*) alkol ekstresinde ise fenolik bileşik olarak başlıca kafeik asit, pirogallol, salisilik asit, gentisik asit, kateşol, glisitin, protokateşinik asit ve kuinik asit içerdiği raporlanmıştır [76].

Tüm bu sonuçları karşılaştırdığımızda TMM ve CİMM etanol ve EtOH:Su ekstrelerinde bulunan gallik asit, hesperidin, vanilin ve apigeninin ekstrelerin hazırlanmalarında kullanılan baharatların içerikleri ile uyum göstermektedir.

3.3 Aktivite Sonuçları

Mesir Macunlarının biyolojik aktivitesini ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilen analizlerin başında antioksidan aktivitenin belirlenmesi gelmektedir. Bu kapsamda DPPH radikalini süpürme kapasitesi ve ABTS radikal katyon renksizleştirme yöntemi kullanılmıştır. DPPH yöntemi antioksidan özellikteki maddeden DPPH kompleksine hidrojen ve elektron transferi aracılığı ile olmaktadır ve radikal süpürücü (radical scavenging) etki olarak açıklanmaktadır. Bu transfer değişik redoks potansiyellerine ve antioksidan özellik gösteren moleküllerin kimyasal yapısına bağlıdır. DPPH süpürücü aktivite, flavonid ve fenolik bileşikler için daha uygun bir yöntemdir [49]. ABTS yönteminde ise antioksidan özellik gösteren maddelerin 734 nm' de oluşan katyonun rengini açma (bleaching) özelliğine göre bir değerlendirme yapılmaktadır. Bazı bileşikler için katyonun rengini ağartma çok uzun zaman alabilir. DPPH organik fazda özellikle etanolde çözünürken ABTS hem sulu hem de organik fazda çözünebilmektedir. ABTS yönteminde antioksidan aktivite

örneklerde bulunan hidrofilik ve lipofilik karakterli bileşiklerin antioksidan aktivitesini değerlendirmektedir.

DPPH analizine göre elde edilen sonuçlarda Coğrafi işaretlenmiş Mesir Macunu etanol:su ekstresinin α-tokoferolün yaptığı antioksidan aktiviteden daha güçlü bir antioksidan etkinlik gösterdiği ortaya konmuştur. DPPH yöntemine benzer şekilde ABTS yönteminde de uygulanan konsantrasyonlarda yaklaşık olarak eşdeğer aktiviteye sahip olduğu belirlenen ekstreler arasında en fazla inhibisyonu %73,41 ile Coğrafi işaretlenmiş Mesir Macunu etanol:su ekstresi göstermiştir. ABTS ve DPPH arasında bir korelasyon olduğunu savunan Awika ve çalışma grubunun [49] sonuçlara benzer şekilde her iki metodunda bu tez çalışması kapsamında yapılan analizleri desteklediği görülmektedir (Tablo 3. 3 ve Tablo 3. 4).

Tablo 3. 3. CİMM ve TMM Ekstrelerinin DPPH İnhibisyon Sonuçları

Ekstreler (mg/mL)		**%DPPH inhibisyon**	**α-tokoferol ekivalent değeri (µg/mL)**	**IC_{50} (mg/mL)**
TMM EtOH	0,25	29,38 ± 0,09	39,27 ± 0,11	2,023
	0,50	44,52 ± 0,014	65,55 ± 0,23	
	1	68,41 ± 0,26	80,31 ± 0,14	
TMM EtOH:Su	0,25	31,47 ± 0,15	37,23 ± 0,19	1,844
	0,50	68,60 ± 0,07	66,41 ± 013	
	1	86,43 ± 0,09	80,29 ± 0,16	
CİMM EtOH	0,25	36,47 ± 0,07	36,12 ± 0,19	2,569
	0,50	53,28 ± 0,14	71,36 ± 0,13	
	1	86,41 ± 0,11	80,33 ± 0,14	
CİMM EtOH:Su	0,25	49,39 ± 0,19	38,35 ± 0,17	0,113
	0,50	71,52 ± 0,11	67,67 ± 0,13	
	1	91,40 ± 0,20	83,47 ± 0,15	

Tablo 3.4. CİMM ve TMM Ekstrelerinin % $ABTS^{+}$ İnhibisyonu Sonuçları

Ekstre (0,125 mg/mL)	% ABTS İnhibisyonu (TAA)	Relatif Antioksidan Aktivitesi (RRA)
TMM EtOH	70,37 ± 0,11	0,51 ±0,008
TMM EtOH:Su	70,38 ± 0,16	0,50 ± 0,005
CİMM EtOH	70,43 ± 0,14	0,51 ± 0,005
CİMM EtOH:Su	73,41 ± 0,12	0,50 ± 0,005

Bitkilerden türevlenen birçok formülasyon yoğun fenolik ve flavonoid içeriklerinden dolayı güçlü antioksidan aktivite göstermektedir. Yoğun antioksidan aktiviteye sahip olan bu ekstreler, özellikle destekleyici tedavide sentetik ilaçların yol açtığı yan etkiyi gidermede başlıca tercih sebebidir [53]. Mesir Macunu'nun içeriğinde yer alan ve fazla miktarda bulunan bitkilerden çörekotu, zencefil, tarçın, yenibahar, kakulenin antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir [77]. Genel olarak değerlendirildiğinde yapılan çalışmaların tamamında içeriği birbirinden farklı olan Mesir macunlarının son ürün olarak kullanıldığı ve bunun da çalışma sonuçlarında tutarsızlıkların gözlenmesine yol açtığı görülmektedir. Ayrıca ticari olarak satılan Mesir macununun antioksidan özelliğini belirleyen DPPH radikalini yakalama aktivitesinin piyasadaki ballara yakın ya da daha düşük çıkması, içindeki bitkilerin çeşitliliği ve miktarının noksanlığından kaynaklandığını düşündürmektedir. Bu durum sadece günümüzde karşılaşılan bir durum olmayıp, Saray helvahane defterinin incelenmesi sonucunda bunun gibi pek çok macun yapılmakta olduğu ve bitki oranlarının oldukça farklı miktarlarda kullanıldığı görülmektedir [78].

Tarihi Mesir Macununun içeriğinde oldukça fazla miktarda bulunan çörek otunun biyolojik etkinliği bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında çörekotu bitkisel takviyesinin dolaşımdaki inflamatuvar etkileri üzerine kontrollü çalışmalar gerçekleştirilmiş ve (CRP) C-reaktif protein, (IL-6) interlökin-6, TNF-α, (TAC) toplam antioksidan kapasite ve (MDA) malondialdehit tümör nekroz faktörü-α dâhil olmak üzere oksidatif stres belirteçleri incelenmiştir. Sonuçlar geliştirilmiş iltihaplanma ve oksidatif stres ile mücadelede çörek otunun olumlu etkileri olduğunu ortaya koymuştur [79]. Bir başka çalışmada ise çörek otunun terapötik ve bağışıklık özelliklerinin serum biyokimyasal parametreleri olan interlökin 1β (IL-1β) ve

sitokrom P450 1A'nın gen ekspresyon seviyeleri üzerine olumlu etkisi değerlendirilerek araştırılmış ve ortaya konmuştur [80]. Gümüş nanopartikülleri ve çörekotu ile kombinasyon olarak sentezlenen bir ürünün antidiyabetik, anti-inflamatuvar ve antioksidan etkileri yoluyla diyabetik nöropatiyi karakterize eden inflamasyona ve oksidatif strese karşı yeni bir nöro-koruyucu ajanlar olabileceği tespit edilmiştir [81]. Tarihi Mesir Macunun yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmasının nedenlerinden biri de içeriğinde yüksek miktarda bulunan zencefilden kaynaklanmaktır. *In vitro* anti-kanser etkinliği insan kolon karsinomu HT-29 hücrelerinde araştırılan *Zingiber officinale* ve *Curcuma longa*'nın sulu rizom ekstresi kullanılarak hazırlanmış gümüş nanopartiküllerin yeşil sentezinin etkinliği ortaya konmuştur [82]. Tarçın ile ilgili yapılan son çalışmalara bakıldığında total %34 fenolik bileşik içeriği ile serbest radikal süpürücü etkisi kanıtlanmış bir bitkidir, mesir macunun içeriğinde oldukça fazla miktarda bulunduğundan antioksidan kapasiteye yoğun etkisi olduğu belirlenmiştir [83]. Ayrıca tarçının proantosiyanidinler gibi diyabetin neden olduğu zararları önleme potansiyeline sahip birçok sağlığı iyileştirici bileşiğe sahip olduğu, benzer şekilde, a-tokoferol, zarlarda ve lipoproteinlerde yağ asitlerinin korunmasında önemli rolü olan doğal bir antioksidan olduğu kanıtlanmıştır [84]. Bulgularımızı destekleyecek diğer bir parametre ise Tarihi Mesir Macunun içeriğinde yüksek miktarda bulunan bir diğer bitki olan yenibahardır. Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında yenibaharın fitokimyasal taramasında etanolik ekstraktta karbonhidrat, protein, steroid, alkaloid, flavonoidler, fenol ve terpenoidlerin varlığını gösterir; protein, fenol ve terpenoidler dietil eter ekstraktında mevcut olduğunu göstermekte ve DPPH analizine göre antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca bitkinin yapısında bulunan fonksiyonel gruplar, karboksilik asit, alkil halojenürler, alkanlar analiz edilmiş geniş spektrumlu bir araştırma sonucunda antibakteriyal özellik sergilediği ve insan patojenik bakterilerine karşı ve bağışıklığı desteklemek için kullanılabileceğini önerilmektedir [85]. Bir başka çalışmada ise günümüzde giderek daha fazla tüketicinin beslenme gereksinimlerini ve sağlık güvenliğini eşit şekilde karşılayabilen yiyecekleri tercih ettiği dikkate alınarak doğal katkı maddesi olarak yenibahar ile antioksidan aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiş ve elde edilen bulgular yenibaharın yüksek antioksidan içeriği ile fonksiyonel bir gıda olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur [42]. Kaküle ise benzer şekilde Tarihi Mesir Macunun içeriğinde yüksek miktarda bulunan bitkilerden biri olup etnofarmakolojik olarak incelendiğinde astım kontrolünden, diş ve diş eti

enfeksiyonlarına, katarakt, mide bulantısı, ishal, sindirim ve böbrek rahatsızlıkları dahil olmak üzere birçok geleneksel tıp uygulamalarında kullanılmış yüksek antioksidan kapasitesiyle dikkat çeken bir bitkidir [43].

Literatürde genelde son ürün olarak kullanılan Manisa Mesir Macunu ile yapılan kimyasal içerik analizleri temel standartların gerektirdiği testlerden oluşmaktadır. Coğrafi işaretlenmiş mesir macunu ile gerçekleştirilmiş çalışmaların yetersizliği dikkate alındığında özellikle ticari mesir macunun DPPH aktivitesinin yine ticari olarak satılan bal örneklerine benzer çıkmasının sebepleri arasında orijinal reçete bağlı kalınmadan içerisinde eksik bitkilerin kullanılmasından kaynaklandığını ortaya koymaktadır. Tez çalışmamız doğrultusunda elde edilen veriler ile yukarıda sunulan ve coğrafi işaretlenmiş mesir macununun içeriğinde fazla miktarda bulunan bitkilerin yoğun biyolojik aktivite sonuçlarını birbirini desteklemektedir.

4 SONUÇ VE ÖNERİLER

CİMM ve TMM baharat karışımlarından elde edilen ekstrelerin TG ve DTG eğrilerine bakıldığında ilk kütle kaybının 100 °C civarında gerçekleştiği ve ekstrelerin içerisindeki nemden kaynaklandığı düşünülmektedir. İkinci ve en büyük kütle kaybı 220-270 °C aralığından kaynama noktası düşük organik bileşiklerin bozunması sonucu gerçekleşmiş, son kütke kaybı ise 330-430 °C aralığında karbonumsu materyalin oksidasyonunun ve kül oluşumunun başlaması ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Isıl işlem kullanılarak mesir macunu üretimi yapılmaktadır, TG analizinden elde edilen eğriler incelendiğinde, 150 °C den sonra büyük bir bozunma başladığı gözlenmektedir. Mesir macunu üretilirken 150 °C nin de altında çalışılmanın faydalı olacağı görülmektedir. Aksi durumda faydalı bileşiklerin bozunmasından dolayı sorunlarla da karşılaşılabilir. Mesir macunu üretiminde ısıl işlemle imalatı yerine eski yöntemle bal kullanarak hazırlanmasının daha uygun olacağı görüşündeyim.

CİMM ve TMM eksterelrinin hazırlanmasında kullanılan çözgenin ekstrelerin fenolik içeriklerine etkisine bakıldığında beklenildiği gibi ekstraksiyonda su kullanılması her iki ekstrenin fenolik bileşik içeriğini arttırmış ancak ekstraksiyonda suyun kullanılması bir sonraki adım olan çözgne uzaklaştırmada daha çok zaman ve enerji gerektirdiği için ekstraksiyon işlemleri için en iyi çözcünün etanol olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca CİMM ve TMM ekstrelerinin fenolik içeriklerini kendi aralarında kıyasladığımızda yapımında TMM'ye göre fenolik bileşiklerce zengin olan tarçın, karabiber ve anasonun daha fazla kullanıldığı CİMM'nin her iki ekstresinde de fenolik bileşik miktarı daha yüksek bulunmuştur.

Aktivite sonuçlarına bakıldığında, ekstreler arasında büyük farklar olmamasına rağmen DPPH yöntemine göre en aktif ekstrenin, CİMM EtOH:Su ekstresi olduğu tespit edilmiştir. Ekstre 0,25 mg/mL konsantrasyonda %49,39 inhibisyon göstermiştir ve bu değer 38,35 µg/mL konsantrasyonda α-tokoferolün yaptığı antioksidan aktiviteye eşdeğer bir aktivitedir (Çizelge 1).

$ABTS^{+}$ radikal katyın renksizleştirme yöntemi sonuçlarında da ekstreler yakın değerler göstermiş olup, en fazla inhibisyonu %73,41 ile CİMM EtOH:su ekstresi göstermiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde yapılan çalışmaların tamamında içeriği birbirinden farklı olan Mesir macunlarının son ürün olarak kullanıldığı ve bunun da çalışma sonuçlarında tutarsızlıkların gözlenmesine yol açtığı görülmektedir. Ayrıca ticari olarak satılan Mesir macununun antioksidan özelliğini belirleyen DPPH radikalini yakalama aktivitesinin piyasadaki ballara yakın ya da daha düşük çıkması, içindeki bitkilerin çeşitliliği ve miktarının noksanlığından kaynaklandığını düşündürmektedir. Bu durum sadece günümüzde karşılaşılan bir durum olmayıp, Saray helvahane defterinin incelenmesi sonucunda bunun gibi pek çok macun yapılmakta olduğu ve bitki oranlarının oldukça farklı miktarlarda kullanıldığı görülmektedir [78]. Buradaki ekstrelerin tamamında oldukça yüksek antioksidan aktivite gözlenmiştir, LC-MS analizi ile sekonder metabolitlerin bazıları miktarlarıyla belirlendi. Mesir macununda kullanılan baharatlarda bulunan ve özellikleri bilinen doğal olarak oluşan bileşiklerin sinerjistik etki oluşturma potansiyeli bulunmaktadır. Elde edilen bu ekstreler ile ilgili ileri düzeyde özellikle antikanser, antihepatic, antiviral, antibakterial etkiler başta olmak üzere *in vitro* ve *in vivo* biyolojik aktivite çalışmaları mutlaka planlanmalıdır. Buradan çıkacak sonuçlarla birlikte fonksiyonel gıda özelliği de kazandırılıp tanıtımı daha da genişletilebilir. Önleyici tıpta kullanılabilme potansiyeli de bulunmaktadır.

Tarihi mesir macunu formülünde ve bugün üretilen macunda kullanılan bazı baharat türleri ile ilgili ithal ürünlerin tedarik edilememe ya da yasal zorunluluktan dolayı kullanılamama/ulaşılamama durumları da ortaya çıkmaktadır. Baharat sayısı eksikliği ortaya çıkması durumunda, baharatların yerine zararlı etkileri olduğu bugün belirlenmemiş olan gül, enginar yaprağı, zeytin yaprağı, üzüm çekirdeği, lavanta, kekik gibi bölgemize özgü kuru yerli bitkisel ürünler de kullanılabilir. Örneğin sakız ve safran formülasyondaki baharatların içinde yüksek maliyetli iki baharattır ve bu durum çoğu formülasyonda bu baharatların kullanılmaması ile sonuçlanmaktradır. Maliyet kaygısı sebebiyle bu baharatların içerikten çıkarılması/miktarının azaltılması ile tarihi Mesir macunun formülasyonunda farklı bir içerik ortaya çıkmaktadır. Maliyet kaygılarının bir kenara bırakılarak, başta glukoz şurubu ya da pancar şekeri olmak üzere tarihi formülasyondan farklı olan içeriğin gözden geçirilerek denetlenmesi ve Mesir macunu formülasyonunun tarihi reçeteye göre ya da ona yakın şekilde uygun hazırlanması, Manisa'nın ve mesir macununun tanıtımı açısından son derece önemlidir. Bu amaçla Mesir macunu üretiminde kullanılan tüm malzemelerin uzman

bir bilirkişi heyeti tarafından yeniden değerlendirilermesinin 481 yıllık bir gelenek olan Mesir macunun geleceği içinde bir güvence olacağı açıktır.

5 KAYNAKLAR

1. Rehman, S., Latief, R., Bhat, A. K., Khuroo A. M., Shawl, S. A. and Chandra, S., 2013, Comparative analysis of the aroma chemicals of Melissa officinalis using hydrodistillation and HS-SPME techniques, Arabian Journal of Chemistry, http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.09.015.

2. Özdemir, E. and Alpınar, K., 2015, An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus Mountains: Aladaglar (Nigde - Turkey), Journal of Ethnopharmacology, 166, 53-65 pp.

3. Mishra, T., Khullar, M. and Bhatia, A., 2011, Anticancer potential of aqueous ethanol seed extract of Ziziphus mauritiana against cancer cell lines and ehrlich ascites carcinoma, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 52, 11 pp.

4. Gonzales G.F. and Valerio Jr. L.G., 2006, Medicinal plants from Peru: A review of plants as potential agents against cancer, Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 6(5), 429-444 pp.

5. Li, Y., Sun, W.G., Liu, H.K., Qi, G.Y., Wang, Q., Sun, X.R., Chen, B.Q. and Liu, J.R., 2011, γ-Tocotrienol inhibits angiogenesis of human umbilical vein endothelia cell induced by cancer cell, The Journal of Nutritional Biochemistry, 22(12), 1127-1136 pp.

6. Oh, S.J., Cho, J.H. and Son, C.G., 2015, Systematic review of the incidence of herbal drug-induced liver injury in Korea, Journal of Ethnopharmacology, 159, 253-256 pp.

7. Cuvrelier, M. E., Richard, H. and Berset, C., 1992, Comparison of the antioxidant activity of some acid phenols, structure-activity relationship, Biosci. Biotech. Bioch., 56, 324-325 pp.

8. Middleton, E. and Kandswami, C., 1994, The Flavanoids: Advances in Research Since 1986, ed by JB Harborne 1st edn. Chapman & Hall, London, 619-652 pp.

9. Van Acker, S., Van den Berg, D. J., Tromp, M. N. J. L., Griffoen, D. H., Van Bennekom, W.P., Van der Vijgh, W. J. F. and Bast, A., 1996, Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids, Free Radical Bio. Med., 20, 331-342 pp.

10. Kleinwächter, M., Paulsen, J., Bloem, E., Schnug, E. and Selmar, D., 2015, Moderate drought and signal transducer induced biosynthesis of relevant secondary metabolites in thyme (Thymus vulgaris), greater celandine (Chelidonium majus) and parsley (Petroselinum crispum), Industrial Crops and Products, 64, 158-166 pp.

11. Kong, X., Ge, H., Hou L., Shi, L. and Liu, Z., 2006, Induction fo apoptosis in K562/ADM cells by gamma-linolenic acid involves lipid peroxidation and activation caspase-3, Chemico-Biological Interactions, 162, 148-148 pp.

12. Ünver, A. S. 1972, Bahar Macunları, Hayat Dergisi, 2, 16-20.

13. Ünver, A. S. 1976, Türkiye'de Nevruz ve Nevruziye, Vakıflar Dergisi-Vakıflar Genel Müdürlüğü Yayınları, XI, 221-237.

14. Theophrastus. Enquiry into Plants. Vol. II. Concerning Odours. Trans. A.F. Hort. Harvard University Press, Cambridge, MA (1980).

15. Plutarch. Moralia. Vol.V. Isis and Osiris. Trans. F.C. Babbitt. Harvard University Press, Cambridge, MA. Reprint of the 1936 edition (1993).

16. Celsus. De Medicina. Vol. II. Trans. W.G.S. Spencer. Harvard University Press, Cambridge, MA (1989). Scientific names used for the plants are those identified by Spencer except two plants that were not identified with scientific names. These two have

17. Galen. Opera Omnia. Vol 14. Galeni de Antidotis. Liber Secundus. Edited and translated into Latin by C.G. Kuhn. George Olms, Publ., Hildesheim, Germany. Reprint of the 1827 edition (1965). Translations from the Latin are by the present author.

18. Pharmacopoeia Londonensis, 6th Ed. Peter Cole, London (1659).

19. Norton, S., 2006, The Pharmacology of Mithridatum: a 2000-year-old Remedy, Molecular interventions, 6(2), 60. doi: 10.1124/mi.6.2.1

20. Bilgin A., 2006, Osmanlılarda İlaç Yapımında Kullanılan Tıbbî Bitkilerin Osmanlılarda Sağlık I, - Biofarma, SAU, İstanbul - pp.16

21. https://www.unesco.org.tr/Pages/126/123/UNESCO-%C4%B0nsanl%C4%B1%C4%9F%C4%B1n-Somut-Olmayan-K%C3%BClt%C3%BCrel-Miras%C4%B1-Temsil%C3%AE-Listesi [ziyaret tarihi: 19.06.2021]

22. Manisa Mesir Macunu, 2017, Türk Patent Enstitüsü Resmi Coğrafi İşaret ve Geleneksel Ürün Adı Bülteni, 2, 18-21.

23. Artık, N., Poyrazoğlu, E., Karkacier, M. Mesir Macununun Kimyasal Bileşimi, Standard Ekonomik ve Teknik Dergi, 1999, 38, 447, 91-95.

24. Güven, A. N. Mesir macununun antioksidan aktivitesinin ve reolojik özelliklerinin belirlenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul, 2010, 115 sayfa (Yüksek Lisans Tezi).

25. Oskay, M., Karayıldırım, T., Ay, E., Ay, K. Determination of some chemical parameters and antimicrobial activity of traditional food: Mesir paste. Journal of medicinal food, 2010, 13(5), 1195-1202.

26. Hışıl, Y., Bağdatlıoğlu, N., Ötleş, S. 1996, GC-MS analysis of volatile compounds of Mesir. In: NATO-ASI Series-C, Vol. 475: Mass Spectrometry in Biomolecular Sciences (Caprioli RM, Malorni A, Sindona G, eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 475-482.

27. Çağındı, Ö. Aflatoxins in mesir paste. CyTA-Journal of Food. 2017, 15(3), 369-373.

28. Ergönül, B. Instrumental textural properties of mesir paste kept at different temperatures. International Journal of Food Properties. 2013. 16(7), 1530-1533.

29. Yalçın A., 2005, Fitoterapi Öldüren / Yaşatan Bitkiler, 2. Bası, Geçit Yayınevi, (44-254s), İstanbul, 383 s.

30. Zaoui A., Cherrah Y., Mahassini N. Alaoui K., Amarouch H. and Hassar M., 2002, Acute and chronic toxicity of Nigella sativa fixed oil, Phytomedicine 9, 69-74p.

31. Naggar T.B., Gómez-Serranillos M.P., Carretero M.E. and Villar A.M., 2003, Neuropharmacological activity of Nigella sativa L. Extracts, Journal of Ethnopharmacology, 88, 63-68 pp.

32. Nair S.C., Salomi M.J., Panikkar B. and Panikkar K.R., 1991, Modulatory effects of Crocus sativus and Nigella sativa extracts on cisplatin-induced toxicity in mice, Journal of Ethnopharmacology, 31, 75-83 p.

33. Mouhajir F., Pedersen J.A., Rejdali M., and Towers G.H.N., 1999, Antimicrobial thymohydroquinones of Moroccan Nigella sativa seeds detected by electron spin resonance, Pharmaceutical Biology, 37, 391-395 pp.

34. Özata N., 2009, Fitoterapi ve Aromaterapi, Doğan Kitap-Mega Basım, (35-145s), İstanbul, 174s.

35. Zeybek, U. ve Haksel, M., 2011, Kullanımları, Argefar & Helvacızade Sağlık Yayınları - I, 2. Baskı, İzmir, (27-209s), 222s.

36. Lust, J., 2000, Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi, Bilim Teknik Yayınevi, İstanbul, (84-355s), 560 p.

37. Bellik, Y., 2014, Total antioxidant activity and antimicrobial potency of the essential oil and oleoresin of Zingiber officinale Roscoe, Asian Pac. J. Trop., 4(1), 40-44.

38. Chang, S. J., Wanga, C. K., Yeh, F. C., Shieh, E. D. and Chiang C. L., 2013, resh ginger (Zingiber officinale) has anti-viral activity against human respiratory syncytial virus in human respiratory tract cell lines, Journal of Ethnopharmacology, 145, 146-151 pp.

39. Yang N., Li F., Jian T., Liu C., Sun H., Wang L. And Xu H., 2017, Biogenic synthesis of silver nanoparticles using ginger (Zingiber officinale) extract and their antibacterial properties against aquatic pathogens, Acta Oceanol. Sin. 36, 95-100 pp.

40. Eisa H.W., Zayed F.M., Anis B., Abbas M.L., Ali S.M.S., Mostafa M.A., 2019, Clean production of powdery silver nanoparticles using Zingiber officinale: The structural and catalytic properties, Journal of Cleaner Production, 241, 118398.

41. Rao, D. P., Navinchandra, S., & Jayaveera, K. N. 2012. An important spice, Pimenta dioica (Linn.) Merill: A review. International Current Pharmaceutical Journal, 1(8), 221–225.

42. Dima, C., Cotârlet, M., Alexe, P., Dima, S., 2014, Reprint of Microencapsulation of essential oil of pimento [Pimenta dioica (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 25, 97-105.

43. Ashokkumar, K., Murugan, M., Dhanya, M.K., Warkentin, T. D. 2020, Botany, traditional uses, phytochemistry and biological activities of cardamom [Elettaria cardamomum (L.) Maton] – A critical review, Journal of Ethnopharmacology, 246, 112244.

44. Brisht V.K., Negi J.S., Bhandari A.K., Sundriyal R.C., 2011, Amonum subulatum Roxb: traditional, phytochemical and biological activities- An overview. Afircan journal of Agriculture Research, 6, 5386-5390.

45. Kar, F. Kırkkilit (Equisetum Arvense) ve Kurtpençesi (Lycopodium Clavatum) Bitki Türlerinin toplam antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim dalı, İstanbul, 2013, 61 sayfa (Yüksek lisans tezi).

46. Şenol, O. Bazı ilaç etkin maddelerinin antioksidan aktivite/kapasitelerinin çeşitli yöntemlerle belirlenmesi ve kemometrik hesaplamalarla sınıflandırılması. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Analitik Kimya Anabilim dalı, Erzurum, 2015, 70 sayfa (Doktora tezi).

47. Kayıhan, S. Farklı Lokalitelerden toplanan Gypsophila perfoliata L. var. perfoliata'nın Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim dalı, Denizli, 2012, 50 sayfa (Yüksek lisans tezi).

48. Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 29:1199 1200.

49. Awika, J.M., Rooney, L.W. and Wu, X., 2003, Cisneros zevallos L. Secreening methods to measure antioxidant activity of sorghum bicolor and sorghum products, J. Agric. Food. Chem., 51, 6657-6662 pp.

50. Wang, L.J., Li, D., Zou, X.D. and Yong-Qiang, C. C., 2007, Antioxidative activity of Douchi (A Chinese traditional salt fermented soybean food) extracts during processing, Int. J. Food Properties, 10, 385-396 pp.

51. Moktan, B., Saha, J. and Sarkar, P.K., 2008, Antioxidant activities of soybean as affected by Bacillus-fermentation to kinema, Food Res. Int., 41, 586-593 pp.

52. Zhu, Y.P., Fan, J.F. and Cheng, Y.Q., 2008, Improvement of the antioxidant activity of Chinese traditional fermented okara using Bacillus substilis, BZ. Food Cont, 19, 654-661 pp.

53. Cecchini, S., Paciolla, M., Caputo, A.R. and Bavoso, A., 2014, Antioxidant Potential of the Polyherbal Formulation "ImmuPlus": A Nutritional Supplement for Horses, Vet Med Int., doi: 10.1155/2014/434239,5 p.

54. Seshadri V. D., Vijayaraghavan P., Kim O.Y., Kim J.H., Al-Ghamdi A.A., Elshikh S.H., Al-Dosary A.M., Alsubaie D.Q., 2020, In Vitro antioxidant and cytotoxic activities of polyherbal extracts from Vetiveria zizanioides, Trichosanthes cucumerina, and Mollugo cerviana on HeLa and MCF-7 cell lines, Saudi Journal of Biological Sciences, doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.04.005

55. Waszkowiak, K., Gliszczynska-Swiglo A., 2016. Binary ethanol-water solvents affect phenolic profile and antioxidant capacity of flaxseed extracts, European Food Research and Technology, 242, 777-786.

56. Padmashree, A., Roopa, N., Semwal, A.D., Sharma, G.K., Agathian, G., Bawa, A.S., 2007. Star-anise (Illicium verum) and black caraway (Carum nigrum) as natural antioxidants, Food Chemistry, 104 (1), 59-66.

57. Cittan, M., Çelik, A., 2018. Development and Validation of an Analytical Methodology Based on Liquid Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry for the Simultaneous Determination of Phenolic Compounds in Olive Leaf Extract, Journal of Chromatographic Science, 56 (4), 336-343.

58. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. ve Berset, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie - Food Science and Technology 1995, 28, 25-30.

59. Boligon, A. A., Machado, M. M., Athayde, M. L. Technical Evaluation of Antioxidant Activity. Med. chem. 2014, 4, 7, 512-517.

60. İşbilir, Ş. S. Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Edirne, 2008, 105 sayfa (Doktora Tezi).

61. Aydın, S. Giresun ilinden toplanan Giresun ilinden toplanan Flavoparmelia caperata (L.) hale (parmeliaceae) ve roccella phycopsis ach. (roccellacaea) likenlerinin antibakteriyal ve antioksidan özelliklerinin araştırılması. Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Giresun, 2012, 65 sayfa (Yüksek Lisans)

62. Chandrasekaran, C. V., Sundarajan, K., David, K., & Agarwal, A. (2010). In vitro efficacy and safety of poly-herbal formulations, Toxicology in vitro, 24(3), 885-897.

63. Ouedraogo, M., Baudoux, T., Stévigny, C., Nortier, J., Colet, J. M., Efferth, T., & Duez, P. (2012). Review of current and “omics” methods for assessing the

toxicity (genotoxicity, teratogenicity and nephrotoxicity) of herbal medicines and mushrooms. Journal of ethnopharmacology, 140(3), 492-512.

64. Costa R.S., Brito Negrao C.a:, Pereira Camelo S.R., Ribeiro-Costa, R.M., Ramos Barbosa, W.L., Ferreira da Costa C.E., vio Carrera Silva Junior J.O. 2013. "Investigation of thermal behavior of Heliotropium indicum L. lyophilized extract by TG and DSC" Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 111, 1959-1964.

65. Fernandes, F.H.A., Santana, C.P., Santos, R.L., Correia, L.P, Conceicao M.M., Macedo R.O., Medeiros, A.C.D. 2013 "Thermal characterization of dried extract of medicinal plant by DSC and analytical techniques", Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 113, 443-447.

66. Dvorackova, E., Snoblova, M., Chromcova, L., Hrdlicka P. 2015. "Effects of Extraction Methods on the Phenolic Compounds Contents and Antioxidant Capacities of Cinnamon Extracts", Food Science and Biotechnology, 24(4), 1201-1207.

67. Tavallali V., Rahmatib S., Bahmanzadegan A. 2017. "Antioxidant activity, polyphenolic contents and essential oil composition of Pimpinella anisum L. as affected by zinc fertilizer" Journal of the Science of Food and Agriculture, 97, 4883-4889.

68. Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., Skandrani I., Falleh H., Marzouk B. 2008. "Phenolic composition and biological activities of Tunisian Nigella sativa L. shoots and roots" Comptes Rendus Biologies, 331 (1), 48-55.

69. Harbaum B., Hubbermann E.M., Zhu Z., Schwarz K. 2008. "Free and bound phenolic compounds in leaves of pak choi (Brassica campestris L. ssp. chinensis var. communis) and Chinese leaf mustard (Brassica juncea Coss)", Food Chemistry, 110 (4), 838-846.

70. Al-Shahwany A.W. 2014. "Alkaloids and Phenolic Compound Activity of Piper Nigrum against Some Human Pathogenic Bacteria" Biomedicine and Biotechnology, 2 (1), 20-28.

71. Gulcin I., Kaya R., Goren A.C., Akincioglu H., Topal M., Bingol Z., Cetin Çakmak K., Ozturk Sarikaya S.B., Durma L., Alwasel S. 2019. "Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of cinnamon (cinnamomum verum) bark extracts: polyphenol contents analysis by LC-MS/MS", International Journal of Food Properties, 22 (1), 1511–1526.

72. Loizzo M.R., Sicari V., Concetta Tenuta M., Leporini M.R., Falco T., Pellicano T.M., Menichini F., Tundis R. 2016. "Phytochemicals content, antioxidant and hypoglycaemic activities of commercial nutmeg mace (Myristica fragrans L.) and pimento (Pimenta dioica (L.) Merr.)" International Journal of Food Science and Technology", 51 (9), 2057-2063.

73. Tohma, H., Gülçin, İ., Bursal, E., Goren A.C., Alwasel S.H., Koksal E. 2017. "Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (Zingiber officinale Rosc.) determined by HPLC-MS/MS", Food Measure, 11, 556-566.

74. Variyar P.S. ve Bandyopadhyay C. 1995. "Estimation of phenolic acids in cinnamon, clove, cardamom, nutmeg and mace by high performance liquid chromatography", Journal of Spices & Aromatic Crops, 4 (2), 129-134.

75. Cortés-Rojas D.F., Fernandes de Souza C.R., Pereira Oliveira W. 2014. "Clove (Syzygium aromaticum): a precious spice", Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 4 (2), 90-96.

76. Melo E.A., Filho J.M., Guerra N.B. 2005. "Characterization of antioxidant compounds in aqueous coriander extract (Coriandrum sativum L.)", Food Science and Technology, 38 (1), 15-19.

77. Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P., & Gargova, S. (2007). Antioxidant activity of a ginger extract (Zingiber officinale), Food chemistry, 102(3), 764-770.

78. Terzioğlu, A. 1992, Helvahane Defteri ve Topkapı Sarayında Eczacılık, Arkeoloji ve Sanat Yayınları, Mer Ajans, ISBN: 975-7538-19-1, İstanbul, XXVI-XXXVI.

79. Mohit, M., Farrokhzad, A., Faraji, S. N., Heidarzadeh-Esfahani, N., & Kafeshani, M., 2020, Effect of Nigella sativa L. supplementation on inflammatory and oxidative stress indicators: A systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials, Complementary Therapies in Medicine, 102535.

80. Hal, A. M., & El-Barbary, M. I., 2021, Therapeutic effect of Nigella sativa oil and ciprofloxacin against bacterial infection based on interleukin 1β expression and kidney histopathological alterations in Oreochromis niloticus, Aquaculture Research, 52(6), 2772-2782.

81. Alkhalaf, M. I., Hussein, R. H., & Hamza, A., 2020, Green synthesis of silver nanoparticles by Nigella sativa extract alleviates diabetic neuropathy through anti-inflammatory and antioxidant effects. Saudi Journal of Biological Sciences, 27(9), 2410-2419.

82. Venkatadri, B., Shanparvish, E., Rameshkumar, M. R., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ponnusamy, V. K., & Agastian, P., 2020, Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous rhizome extract of Zingiber officinale and Curcuma longa: *In-vitro* anti-cancer potential on human colon carcinoma HT-29 cells, Saudi Journal of Biological Sciences, 27(11), 2980-2986.

83. Helal, A., & Tagliazucchi, D., 2018, Impact of in-vitro gastro-pancreatic digestion on polyphenols and cinnamaldehyde bioaccessibility and antioxidant activity in stirred cinnamon-fortified yogurt. LWT, 89, 164-170.

84. Tulini, F. L., Souza, V. B., Thomazini, M., Silva, M. P., Massarioli, A. P., Alencar, S. M., & Favaro-Trindade, C. S., 2017, Evaluation of the release profile, stability and antioxidant activity of a proanthocyanidin-rich cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) extract co-encapsulated with α-tocopherol by spray chilling, Food Research International, 95, 117-124.

85. Murali, V. S., Devi, V. M., Parvathy, P., & Murugan, M., 2020, Phytochemical screening, FTIR spectral analysis, antioxidant and antibacterial activity of leaf extract of Pimenta dioica Linn. Materials Today: Proceedings.