



Alınış tarihi (Received): 11.06.2019

Kabul tarihi (Accepted): 26.09.2019

Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Sıcak Su İnfüzyonlarının Sekonder Metabolit İçeriği ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

İlhami KARATAŞ,^{a*} Rahime KARATAŞ,^b Mahfuz ELMATAŞ^c

^aTokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Almus MYO, Tokat/Türkiye

^bOrta Karadeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Tokat/ Türkiye

^cSağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, İstanbul/Türkiye

*Sorumlu yazar; e-posta adresi: ilhami.karatas@gop.edu.tr

ÖZET: Tıbbi ve aromatik bitkiler sekonder metabolit içerikleri, yüksek antioksidan aktiviteleri ve diğer bir çok biyolojik aktiviteleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bitkilerin metanol, etanol, aseton ve etil asetat gibi çözücülerden elde edilen ekstraktları kullanılarak sekonder metabolit içerikleri ve antioksidan aktiviteleri yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Ancak sıcak su ekstraktların analizi ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte bu bitkilerin sıcak su ekstraktları (infüzyonları) insanlar tarafından yaygın bir şekilde çay olarak tüketilmektedir. Bu çalışmada nane (*Mentha piperita*), limon otu (*Mellissa officinalis*), hatmi (*Althea officinalis*), papatya (*Matricaria chamomilla*), yeşil çay (*Camellia sinensis*) ve adaçayı (*Salvia officinalis*) bitkilerinin sıcak su ekstraktlarının toplam fenolik içeriği, flavonoid miktarı ve antioksidan aktivitelerini belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplam fenolik bileşik içeriği Folin-Ciocalteu metodu ile belirlenirken flavonoid içeriği alüminyum klorür metodu ile belirlenmiştir. Antioksidan aktiviteleri ise serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH[•]), katyon radikali giderme aktivitesi (ABTS^{•+}) ve indirgeme gücü aktivitesi (FRAP) yöntemleriyle değerlendirilmiştir. Bitki ekstraktların toplam fenolik içeriği 6,71 ± 0,29 ila 89,82 ± 0,78 mg GAE / g kuru doku (KD) arasında değiştiği belirlenmiştir. En yüksek toplam fenolik içeriği yeşil çay ekstraktında belirlenirken bunu sırasıyla adaçayı ve nane ekstraktları takip etmiştir. Flavonoid içeriği ise 0,29 ± 0,001 ile 0,96 ± 0,014 mg KUE /g KD arasında değişmektedir. En yüksek flavonoid içeriği adaçayında belirlenmiştir. Antioksidan aktivitesi en yüksek yeşil çay, nane ve adaçayı ekstraktlarında tespit edilmiştir. Gerek metabolit gerekse antioksidan aktivite bakımından en düşük değerler papatya ve hatmi ekstraktlarında belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan aktivite, fenolik bileşik, flavonoid, tıbbi ve aromatik bitki

Determination of Secondary Metabolite Content And Antioxidant Activity of Hot Water Infusion of Some Commonly Used As Medicinal And Aromatic Plants

ABSTRACT: Medicinal and aromatic plants are widely used due to their secondary metabolite content, high antioxidant activity and many other biological activities. Secondary metabolite contents and antioxidant activities of these plants are extensively investigated using extracts obtained from solvents such as methanol, ethanol, acetone and ethyl acetate. However, there are not enough studies about hot water extracts. Hot water extracts (infusions) of these plants are widely consumed by people as tea. In this study, it was aimed to determine the total phenolic content, flavonoid content and antioxidant activities of hot water extracts of mint (*Mentha piperita*), lemon balm (*Mellissa officinalis*), marshmallow (*Althea officinalis*), chamomile (*Matricaria chamomilla*), green tea (*Camellia sinensis*), sage (*Salvia officinalis*). Total phenolic compound content was determined by Folin-Ciocalteu method and flavonoid content was determined by aluminum chloride method. Antioxidant activities were evaluated by free radical scavenging activity (DPPH[•]), ABTS^{•+}

radical scavenging activity and reducing power activity (FRAP) methods. Total phenolic content of the extracts ranged from $6,71 \pm 0,29$ to $89,82 \pm 0,78$ mg GAE /g dry tissue weight (DW). The highest total phenolic content was determined in green tea extract, followed by sage and mint extracts, respectively. The flavonoids concentrations of the extracts ranged from $0,29 \pm 0,001$ to $0,96 \pm 0,014$ mg QUA/g DW. The highest flavonoid content was determined in sage. The highest antioxidant activity was determined in green tea, mint and sage extracts. The lowest values in terms of both metabolite and antioxidant activity were determined in chamomile and marshmallow extracts.

Keywords: Antioxidant activity, flavonoid, medical and aromatic plants, phenolic compounds

1. Giriş

Tıbbi ve aromatik bitkiler; gıda, ilaç, kozmetik ve baharat gibi birçok sektörde kullanım alanları olan hastalıkları önlenmesi, iyileştirilmesi ve sağlığın sürdürmesi amacıyla yoğun bir şekilde tüketilen bir kısmı doğadan toplanırken bir kısmı da kültüre alınmış üretimi yapılan bitkilerdir (Do ve ark., 2014; Acıbuca ve Bostan Budak, 2018). Son yıllarda, bitkilerden elde edilen ve sekonder metabolitler olarak adlandırılan biyoaktif moleküllerin insan sağlığına olan olumlu etkilerinden dolayı yoğun bir ilgi görmektedir. Özellikle şifalı bitkilerin ve bazı sebzelerin doğal antioksidan aktivite göstermeleri nedeniyle sentetik antioksidanların yerini alması için geniş çapta çalışmalar yürütülmektedir. Bu doğal antioksidanlar serbest radikalleri temizleyerek dejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve kansere karşı koruma sağlamaktadırlar (Yakoub ve ark., 2018). Bu reaktif oksijen türleri lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara neden olarak çeşitli kronik hastalıkları tetikleyebilmektedir. Özellikle yaşlanma, kanser, damar sertliği, koroner kalp hastalıkları, diyabet, astım ve rinit gibi birçok hastalığın etiolojisinde reaktif oksijen türlerinin yer aldığı yapılan bir çok çalışmada ifade edilmiştir (Li ve ark., 2013).

Bitki sekonder metabolitleri terpenoidler, fenolikler ve alkaloidler olmak üzere üç ana grup altında toplanmaktadır. Bu üç grup arasında fenolik bileşikler diyet uygulamaları için en uygun olan ve üzerinde en kapsamlı araştırmaların yapıldığı gruptur (Do ve ark., 2014). Fenolik bileşikler bir aromatik halkaya direk olarak bir veya daha fazla sayıda hidroksil grubunun bağlandığı bileşiklerdir. Bunlar; basit fenolikler, fenolik asitler, sinamik asitler, kumarinler, flavonoidler, biflavoniller, betasiyaninler, ligninler ve taninler olmak üzere alt gruplara ayrılmaktadır. Flavonoid grubu bileşikler ise kalkanlar, aurenler, flavoneller, antosiyanidinler ve antosiyaninlerden oluşmaktadır (Vermerris ve Nicholson, 2006). Flavonoidler, antioksidan, antibakteriyel, antiviral, anti-enflamatuar, anti-alerjik, plazmada düşük yoğunluklu lipoproteinleri azaltma, trombosit toplanmasını önleme, serbest radikalleri temizleme ve hücre çoğalmasını önleme gibi çok çeşitli biyolojik etkiler göstermektedir (Spiridon ve ark., 2011).

Ekstraksiyon, biyoaktif bileşiklerin bitki materyalinden elde edilebildiği ana işlem olarak tanımlanmaktadır. Ekstraksiyon işleminin amacı, hedef bileşiği en yüksek miktar ve biyolojik aktivitede elde etmektir (Truong ve ark., 2019). Bitki ekstraktlarının bileşik kompozisyonu ve antioksidan aktivitedeki farklılıklar çözücü tipi, örnek hazırlama ve ekstraksiyon metodu gibi hasat sonrası laboratuvarlar uygulamalarından kaynaklanmaktadır (Yakoub ve ark., 2018). Ekstraksiyon verimi ve elde edilen ekstraktın biyolojik aktivitesi sadece ekstraksiyon yönteminden değil aynı zamanda ekstraksiyonda kullanılan çözücünden de etkilenmektedir. Bu bağlamda bitki materyallerinden biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için metanol, etanol ve aseton gibi bir çok çözücü kullanılmaktadır (Truong ve ark., 2019). Bu organik çözücülerin aşırı miktarda kullanımı araştırmacılar için sağlık ve

güvenlik riskleri oluşturmamasının yanında çevre içinde uygun değildir. Metanolün toksik olması nedeniyle gıda ve eczacılık endüstrisi istenmeyerek kullanılmak zorunda kalınmaktadır (Li ve ark., 2013). Tıbbi bitkilerin ekstraksiyonunda kullanılan çözücünün sekonder metabolitlerin miktarı ve yapısı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle istenen farmakolojik aktivitenin sağlanabilmesi için uygun ekstraksiyon çözücüsünün seçimi oldukça önem arz etmektedir (Dirar ve ark., 2019).

Tıbbi ve aromatik bitkiler ve diğer bitkiler gıda, kozmetik ve diğer uygulama alanlarına doğal antioksidan formülasyonları geliştirmek için yoğun bir şekilde araştırılmaktadır (Do ve ark., 2014). Özellikle bitki ekstraktlarının toplam fenolik içeriği, antioksidan aktivitesi ve antimikrobiyal aktivitesi, gıda endüstrisi için geleneksel gıda koruyuculara alternatif olarak kullanılacak yeni bitki ekstraktlarının elde edilmesi içinde incelenmektedir (Skotti ve ark., 2014). Bu bağlamda bitkilerin sekonder metabolitlerinin izolasyonu, karakterizasyonu ve antioksidan aktivitelerin belirlenmesi üzerine çok sayıda araştırma yürütülmektedir (Erenler ve ark., 2017; Elmastaş ve ark., 2018; Erenler ve ark., 2018; Genç ve ark., 2019; Dede ve ark., 2019).

Tıbbi ve aromatik bitkilerin sekonder metabolit içeriği, antioksidan aktivitesi ve çeşitli biyolojik aktiviteleri üzerine bir çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda genellikle metanol, etanol aseton, etil asetat gibi çözücülerden elde edilen ekstraktlar kullanılmaktadır. Ancak bu bitkilerin sıcak su infüzyonları çay olarak insanlar tarafından yaygın bir şekilde tüketilmektedir. Yukarıda da ifade edildiği gibi bitki ekstraktlarının antioksidan aktivitesi, metabolit içeriği ve kompozisyonu ve biyolojik aktiviteleri çözücü tipine göre önemli ölçüde değişmektedir. İnsanlar tarafından yaygın kullanım formu olan kaynar su infüzyonlarında yetirince çalışma bulunmamaktadır. Özellikle tüketicilerin günlük kullanım planlarının yapılması, uygun dozda kullanımın sağlanması ve aşırı tüketimin önüne geçilmesi için kaynar su infüzyonlarından elde edilen ekstraktlarda söz konusu analizlerin yapılması gerekmektedir. Bu bağlamda yürütülen çalışmada nane (*Mentha piperita*), limon otu (*Melissa officinalis*), hatmi (*Althea officinalis*), papatya (*Matricaria chamomilla*), yeşil çay (*Camellia sinensis*) ve adaçayı (*Salvia officinalis*) bitkilerinin sıcak su ekstraktlarının toplam fenolik miktarı, flavonoid içeriği ve antioksidan aktivitelerini belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Bitkisel materyaller ve kullanılan kimyasallar

Bu çalışmada kullanılan bitkisel materyaller ticari amaçlı tıbbi ve aromatik bitki üretimi yapan özel bir firmadan 2018 yılında temin edilmiştir. Bitkiler Ziraat Yük. Müh. Dr. Başak ÖZYILMAZ (Orta Karadeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/ Tıbbi ve Aromatik Bitkiler) tarafından teşhis edilmiştir. Çalışmada kullanılan kimyasallardan 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotiyozolin-6-sülfonik asit) (ABTS), 1,1-difenyl-2-pikril-hidrazil (DPPH[•]), trikloroasetik asit (TCA), gallik asit, kuersetin, troloks, potasyum persülfat (K₂S₂O₈), sodyum hidroksit (NaOH) ve hidroklorik asit (HCl) Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Folin-Ciocalteus, etanol, alüminyum klorür (AlCl₃), sodyum karbonat (Na₂CO₃), sodyum asetat (CH₃COONa), potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄), potasyum ferrik siyanür (K₃Fe(CN)₆) ve demir-III-klorür (FeCl₃), Merck'ten temin edilmiştir.

2.2. Analizler İçin İnfüzyonlarının Hazırlanması

Kuru bitki numuneleri 1 g'ı 5 dakika 100 ml kaynar suda (100 °C) demlendi ve buradan elde edilen ekstraktlar toplam fenolik miktarı, flavonoid içeriği ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

2.3. Toplam Fenolik Bileşik Miktarının Belirlenmesi

Numunelerin toplam fenolik bileşik içeriği Slinkard ve Singleton (1977) metoduna göre yapılmıştır. Numene ekstraktlarından 100 µl alınarak üzerine 4,5 ml saf su ilave edilmiştir. Daha sonra sırasıyla 100 µl Folin-Ciocalteus reaktifi ve 300 µl sodyum karbonat (%2'lik) eklendikten 2 saat sonra 720 nm'de spektrofotometrede (Perkin Elmer Lambda 35) absorbanları okunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı kalibrasyon grafiği kullanılarak mg gallik aside eşdeğer (mg GAE/g) olarak belirlenmiştir.

2.4. Flavonoid Miktarının Belirlenmesi

Flavonoid miktarı Pekal ve Pyrzyńska (2014) metodunda küçük değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Numene ekstraktlarından 100 µl alınarak üzerine 1,5 ml etanol ve 100 µl AlCl₃ (%10'luk) eklenmiştir. Bu aşamadan sonrada 100 µl 1 M NaCH₃COO ilave edilerek toplam hacim saf suyla 5 ml tamamlanmıştır. 30 dakika oda koşullarında beklendikten sonra spektrofotometrede 427 nm dalga boyunda absorbanları okunmuştur. Flavonoid miktarı kalibrasyon grafiği kullanılarak mg kuersetine eşdeğer (mg KUE/g) olarak belirlenmiştir.

2.5. Antioksidan Aktivite Analizleri

2.5.1. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH)

Serbest radikal (DPPH[•]) giderme aktivitesi Blois (1958) metoduna göre yapılmıştır. DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) radikalinin (0,26 mM) etanol çözeltisinden 1 ml alınarak üzerine değişik konsantrasyonlarda numune ekstraktı ilave edilmiştir. Son hacim etanol ile 4 ml'ye tamamlanmıştır. Spektrofotometrede (Perkin Elmer Lambda 35) 517 nm'de absorbanları ölçülerek sonuçlar IC₅₀ değeri olarak verilmiştir. IC₅₀ değerlerinin belirlenmesinde numune konsantrasyonuna karşılık gelen % aktivite grafiğinden elde edilen denklem kullanılmıştır. Grafiklerin çiziminde Excell 2013 (Microsoft Office) paket programı kullanılmıştır.

2.5.2. İndirgeme Gücü Aktivitesi (FRAP)

İndirgeme gücü Oyaizu metoduna göre belirlenmiştir (Oyaizu, 1986). Standart (Troluks) ve numunelerin farklı derişimlerine fosfat tamponu (1.25 ml, 0.2 M, pH 6.6) ve potasyum ferrik siyanür [K₃Fe(CN)₆] (1.25 ml, %1) ilave edilmiştir. Bu karışım 50 °C'de 20 dakika etüvde (Memmert) inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, karışıma TCA (1.25 ml, %10) ve FeCl₃ (0.25 ml, %0.1) sırasıyla ilave edilmiştir. Elde edilen son karışımların absorbanları 700 nm'de ölçülerek sonuçlar Troluks (µmol TE/g) eşdeğer olarak verilmiştir.

2.5.3. Katyon Radikali Giderme Aktivitesi (ABTS)

Kasyon radikali giderme aktivitesi Re ve ark. (1999) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. Fosfat tamponu (0,1 M pH'ı 7,4) ile hazırlanan 2 mM ABTS (2,2'-Azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit) çözeltisi ile potasyum persülfat (K₂S₂O₈ 2,45 mM) çözeltisi 1:2 oranında karıştırılarak, karanlık ortamda 6 saat bekletilmiştir. Farklı miktarlarda bitki ekstraktları deney tüplerine konularak, hacimleri fosfat tamponu (0,1 M, pH 7,4) ile 3 ml'ye tamamlanmıştır. Üzerine 1 ml ABTS- K₂S₂O₈ çözeltisi ilave edilerek

vorteks (VELP Scientifica) yardımı ile karıştırılmıştır. 30 dakika oda şartlarında bekletildikten sonra spektrofotometre (Perkin Elmer Lambda 35) 734 nm’de absorbans değerleri okunmuş ve sonuçlar IC₅₀ değeri olarak verilmiştir. IC₅₀ değerlerinin belirlenmesinde numune konsantrasyonuna karşılık gelen % aktivite grafiğinden elde edilen denklem kullanılmıştır. Grafiklerin çiziminde Excell 2013 (Microsoft Office) paket programı kullanılmıştır.

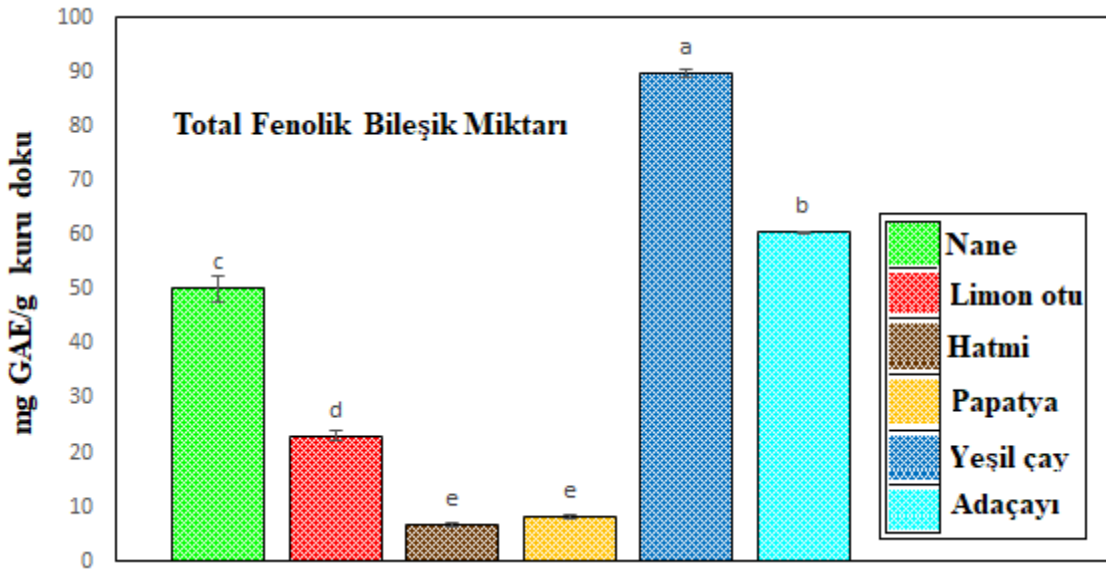
2.6. İstatistiki Analiz

Bu çalışmadaki verilerin istatistiki analizinde SPSS (16.) paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile belirlenmiştir. Gruplar arasındaki dağılım Duncan çoklu aralık testine göre $p < 0.05$ önemlilik değerinde belirlenmiştir (Duncan, 1955).

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı

Kuru bitki numunelerin 1 gr’ı 100 ml sıcak suda 5 dakika demlenmesiyle elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşik içeriği Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenerek sonuçlar gallik aside eşdeğeri (mg GAE/g kuru doku (KD)) olarak Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1: Bitki ekstraktlarının toplam fenolik bileşik içeriği

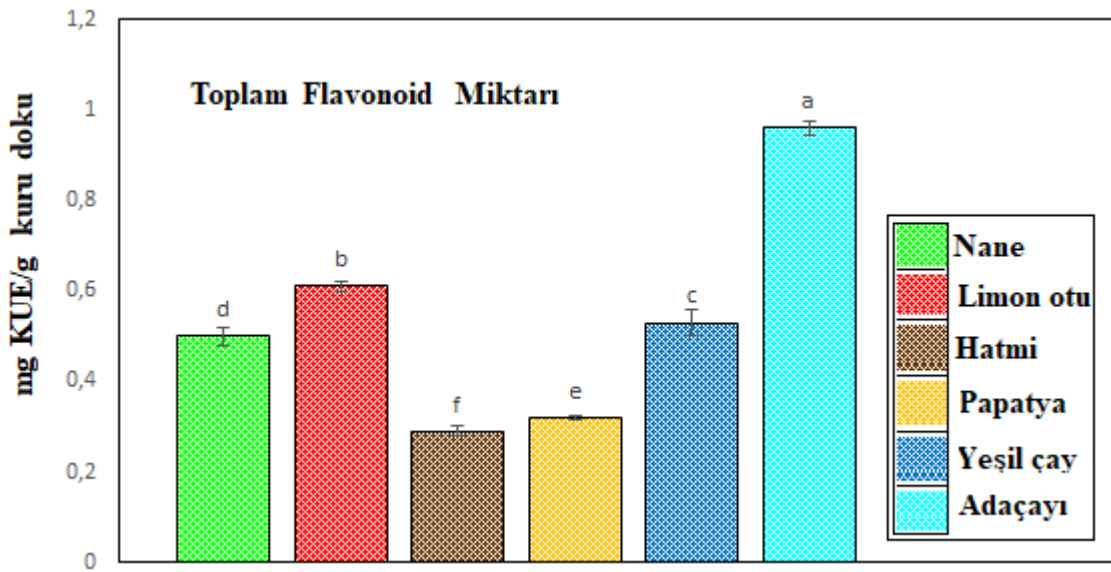
Figure 1: Total phenolic compound content of plant extracts

Analizi yapılan nane (*Mentha piperita*), limon otu (*Mellissa officinalis*), hatmi (*Althea officinalis*), papatya (*Matricaria chamomilla*), yeşil çay (*Camellia sinensis*) ve adaçayı (*Salvia officinalis*) bitkilerinin toplam fenolik bileşik içeriği 6,71 ± 0,29 ile 89,82 ± 0,78 mg GAE /g KD arasında değişmektedir. En yüksek fenolik içeriği yeşil çayda belirlenirken en düşük içerik hatmide belirlenmiştir. Bu değerler adaçayında 60,51 ± 0,25 mg GAE /g KD olarak belirlenirken nane bitkisinde ise 50,14 ± 1,46 mg GAE /g KD olarak belirlenmiştir. Bitkilerin fenolik bileşik içerikleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). Albayrak ve ark., (2013) limon otu, ada çayı, ve nane bitkilerinin metanol ekstraktında demleme ekstraktlarından daha yüksek fenolik bileşik belirlenirken reyhan bitkisinde ise demlemeden elde edilen ekstrakta daha yüksek belirtmişlerdir. Tıbbi bitkilerin ekstraksiyonunda kullanılanın çözücünün sekonder

metabolitlerin miktarı ve yapısı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir (Dirar ve ark., 2019). Bhebe ve ark., (2016) bazı bitki türlerinde sıcak su, metanol (%50), etanol, etanol (%50), aseton, aseton (%50) ve etil asetat gibi farklı çözücülerin toplam fenolik bileşik üzerine etkisini incelenmişlerdir. En yüksek fenolik bileşik içeriğini *C. sinensis*, *L. javanica* ve *I. paraguariensis* bitkilerinde %50 aseton ekstraktında belirlerken *F. sycamore* ve *S. Jambolanum* bitkilerinde sıcak su ekstraktlarında belirlemişlerdir. Benzer bir çalışmada *M. officinalis* fenolik bileşik içeriği en yüksek su ekstraktında sonra sırasıyla metanol ve etanol ekstraktında belirlenmiştir (Pereira ve ark., 2009).

3.2. Flavonoid Miktarı

Bitki ekstraktlarının flavonoid içeriği alüminyum klorür ($AlCl_3$) metoduna göre belirlenerek sonuçlar kuersetine eşdeğer (mg KUE/ g kuru doku (KD)) olarak Şekil 2. de verilmiştir.



Şekil 2: Bitki ekstraktlarının flavonoid içeriği

Figure 1: Flavonoid content of plant extracts

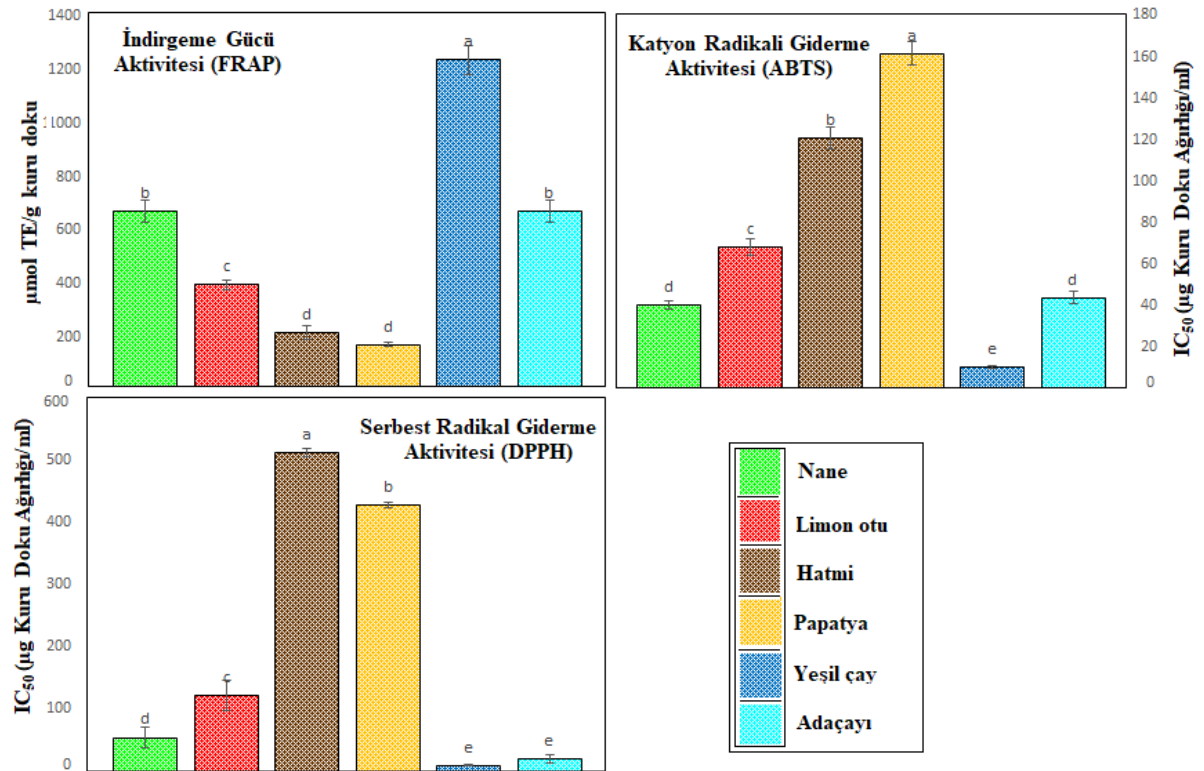
Şekil 2’de verildiği gibi flavonoid içeriği en yüksek ada çayında ($0,96 \pm 0,014$ mg KUE/g KD) belirlenmiş bunu sırasıyla limon otu ($0,60 \pm 0,001$ mg KUE/g KD) ve yeşil çay ($0,53 \pm 0,003$ mg KUE/g KD) takip etmiştir. En düşük ise hatmide ($0,29 \pm 0,001$ mg KUE/g KD) belirlenmiştir. Flavonoid içerikleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$).

3.2. Antioksidan Aktivite Analizleri

Bitki ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH), İndirgeme Gücü Aktivitesi (FRAP) ve Katyon Radikali Giderme Aktivitesi (ABTS) yöntemlerine göre belirlenmiştir. DPPH ve ABTS testlerinin sonuçları başlangıç radikal konsantrasyonunu % 50 oranında azaltan örnek konsantrasyonu (IC_{50}) olarak ifade edilirken, indirgeme gücünün aktivitesinin sonuçları troloks’a eşdeğer olarak ifade edilmiş ve sonuçlar Şekil 3’de verilmiştir.

DPPH metodu, antioksidanların DPPH’ radikalinin radikal olmayan DPPH-H molekülüne indirgeme kabiliyetinin belirlenmesine dayanmaktadır. DPPH’ radikal miktarındaki

azalmanın 517 nm’de absorbansı ölçülerek aktivite belirlenebilmektedir. FRAP metoduyla biyoaktif bileşiklerin indirgeme kapasitesi $\text{Fe}[(\text{CN})_6]_3$ ’ün $\text{Fe}[(\text{CN})_6]_2$ ’ye direk indirgenmesiyle ölçülmektedir. Bu metotta ferik iyonları (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgenmektedir. İndirgenmiş ürüne (Fe^{3+}) ilavesi 700 nm’de güçlü absorbans veren Perl’in Prusya mavisi kompleksinin oluşmasına neden olmakta ve bu absorbandaki artış indirgeme kapasitesini ifade etmektedir. ABTS metodunda ise; ABTS ve bir oksidan olan $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ile karışımıyla meydana gelen 734 nm’de maksimum absorbans veren mavi-yeşil renkli ABTS^{++} radikali meydana gelmektedir. Bu radikalin antioksidan maddeler ile reaksiyona girerek radikal olmayan ABTS dönüşür. ABTS^{++} radikalinin 734 nm’deki absorbans değerindeki azalmadan antioksidan aktivitesi belirlenmektedir (Gülçin, 2012; Elmastaş ve ark., 2015).



Şekil 3: Bitki ekstraktlarının antioksidan aktivite sonuçları

Figure 3: Antioxidant activity results of plant extracts

Analizi yapıları bitkilerin antioksidan aktivitesi üç analiz metoduna göre de en yüksek aktivite yeşil çayda belirlenmiştir. Yeşil çayın DPPH, ABTS ve FRAP aktiviteleri sırasıyla $9,03 \pm 0,20 \mu\text{g kuru doku/ml}$, $9,68 \pm 0,67 \mu\text{g kuru doku/ml}$ ve $1222,84 \pm 53,66 \mu\text{mol TE/g kuru doku}$ olarak belirlenmiştir. Her üç metot açısından da yeşil çaydan sonra en yüksek aktivite ada çayı ve nanede belirlenmiştir. Adaçayı ve nane ekserlerinin DPPH ve FRAP aktiviteleri bakımından aralarındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($P < 0,05$). Antioksidan aktivitesi üç parametre açısından en düşük değerle papatya ve hatmi ekstraktlarında belirlenmiştir. Limon otu, ada çayı, nane, kekik, biberiye ve reyhan bitkilerinde yapılan benzer bir araştırmada DPPH radikal giderme aktivitesi için en iyi çözücünün su olduğu belirtilmiştir (Albayrak ve ark., 2013).

4. Sonuç

Yaygın olarak tüketilen bazı tıbbi ve/veya aromatik bitkinin kaynar su ekstraktlarında toplam fenolik, flavonoid ve üç farklı yöntemle göre antioksidan kapasitesi belirlenmiştir. Bu çalışma neticesinde en yüksek fenolik bileşik içeriği sırasıyla yeşil çay, ada çayı ve nanede belirlenirken en yüksek flavonoid içeriği ise ada çayı, limon otu ve yeşil çayda belirlenmiştir. Antioksidan aktivitesi ise en yüksek yeşil çayda sonrasında ise ada çayı ve nane de belirlenmiştir. FRAP ve ABTS parametrelerinde ada çayı ve nane bitkileri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. DPPH aktivitesinde ise yeşil çay ve ada çayı arasında fark bulunmamıştır ($P<0,05$). Tüm parametreler açısından en düşük değerler papatya ve hatmi ekstraktlarında belirlenmiştir. Bu çalışma tıbbi aromatik bitkilerin halkın yaygın kullanım formu olan sıcak su infüzyonlarının antioksidan aktivitesi ve metabolit ekstraksiyon kapasitesinin belirlenmesi bu alandaki eksikliği giderme açısından da büyük önem arz etmektedir. Gittikçe tüketimi artan tıbbi ve aromatik bitkilerin yaygın kullanım formundan elde edilen ekstraktlarda söz konusu analizlerinin yapılması günlük kullanım planlarının yapılmasında ve uygun dozda kullanımın sağlanmasında vazgeçilmez bir husustur. Bu bitkilerin doz belirlemeksizin kullanımı sağlık açısından olumsuz sonuçlara yol açabilmektedir. Bu alanda farklı çözümler kullanılarak yapılan bilimsel araştırmalara insanların yaygın kullanım formu olan sıcak su ekstraktlarında dahil edilmesi büyük önem arz etmektedir.

5. Kaynaklar

- Acıbuca, V., Bostan Budak, D., 2018. Dünya’da ve Türkiye’de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yeri ve Önemi, Çukurova J. Agric. Food Sci. 33(1): 37-44.
- Albayrak, S., Aksoy, A., Albayrak, S., Sagdic, O., 2013. In vitro antioxidant and antimicrobial activity of some Lamiaceae species. Iranian Journal of Science & Technology. IJST A1: 1-9.
- Bhebe, M., Fuller, T. N., Chipurura, B., Muchuweti, M., 2016. Effect of solvent type on total phenolic content and free radical scavenging activity of black tea and herbal infusions. Food Anal. Methods 9:1060–1067. DOI 10.1007/s12161-015-0270-z.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Nature, 26 1199-1200.
- Dede, E., Genc, N., Elmastas, M., Aksit, H., Erenler, R. 2019. Chemical constituents isolated from *Rhododendron ungueri* with antioxidant profile. The Natural Products Journal, 9: 238-243.
- Dirar, A.I., Alsaadi, D.H.M., Wada, M., Mohamed, M.A., Watanabe, T., . Devkota, H.P., 2019. Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. South African Journal of Botany 120 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.003>.
- Do QD., Angkawijaya AE., Tran-Nguyen PL., Huynh LH., Soetaredjo FE., Ismadji S., Ju YH., 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. J Food Drug Anal. 22(3):296-302. doi: 10.1016/j.jfda.2013.11.001.
- Duncan B.D 1955. Multiple range and multiple Ftests. Biometrics. P.1-42.
- Elmastaş, M., Celik, S. M., Genc, N., Aksit, H., Erenler, R., Gulcin, İ., 2018. Antioxidant activity of an anatolian herbal tea *Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. International Journal of Food Properties, 21:1, 374-384, DOI: 10.1080/10942912.2017.1416399.
- Elmastaş, M., Telci, İ., Akşit, H., and Erenler, R., 2015. Comparison of total phenolic contents and antioxidant capacities in mint genotypes used as spices. Turkish Journal of Biochemistry 40(6):456–462.
- Erenler, R., Meral, B., Sen, O., Elmastas, M., Aydin, A., Eminagaoglu, O., Topcu, G. 2017. Bioassay-guided isolation, identification of compounds from *Origanum rotundifolium* and investigation of their antiproliferative and antioxidant activities, Pharmaceutical Biology, 55:1, 1646-1653.
- Erenler, R., Demirtas, İ., Karan, T., Gul, F., Kayir, O., Karakoc, O. C., 2018. Chemical constituents, quantitative analysis and insecticidal activities of plant extract and essential oil from *Origanum onites* L. Trends Phytochem. Res. 2(2) 2018 91-96.

- Genç, N., Yıldız İ., Karan T., Eminağaoğlu Ö., Erenler, R. 2019. Antioxidant activity and total phenolic contents of *Galanthus woronowii* (Amaryllidaceae) Turkish Journal of Biodiversity 2(1): 1-5.
- Gülçin, İ., 2012. Antioxidant Activity of Food Constituents: an Overview. Arch Toxicol, 86:345–391.
- Li, S., Shu-Ke, L., Ren-You G., Feng-Lin S., Lei. K., Hua-Bin L., 2013. Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. Industrial Crops and Products 51 289– 298. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.09.017>.
- Oyaizu, M., "Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. ". Jpn. J. Nutr. 1986, 44 307.
- Pekal, A. and Pyrzynska, K., 2014. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. Food Anal. Methods, 7:1776–1782.
- Pereira, R. P., Fachineto, R., Prestes, A.S., Puntel, R.L., Silva, G.N.S., Heinzmann, B.M., Boschetti, T.K., Athayde, M. L., Bürger, M.E., Morel, A.F., Morsch, V.M., Rocha, J. B. T.R., 2009. Antioxidant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. Neurochem Res 34:973–983. DOI 10.1007/s11064-008-9861-z.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay". Free Radic Biol Med, 26(9- 10), 1231-1237.
- Skotti, E., Anastasaki, E., Kanellou, G., Polissiou, M., Tarantilis, P. A., 2014. Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants. Industrial Crops and Products 53 46– 54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.013>.
- Slinkard K. and Singleton, V.L., 1977. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. Am J Enol Viticult, 28:49-55.
- Spiridon, I., Bodirlau, R., Teaca, C-A., 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine Cent. Eur. J. Biol. 6(3) 388-396.
- Truong, D-H., Nguyen, D. H., Anh Ta, N. T., Bui, A.V., Ha Do, T., Nguyen, H. C., 2019. Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of *Severinia buxifolia*. Journal of Food Quality, Article ID 8178294, <https://doi.org/10.1155/2019/8178294>.
- Vermerris, W., Nicholson, R., 2006. Phenolic Compound Biochemistry. s. 1-32 .
- Yakoub, A. R., Abdehedic, O., Jridi, M., Elfalleh, W., Nasri, M., Ferchichi, A., 2018. Flavonoids, phenols, antioxidant, and antimicrobial activities in various extracts from Tossa jute leave (*Corchorus olitorus* L.) Industrial Crops & Products 118 206–213.