

## *Helichrysum plicatum* Çiçeklerinin Su, Etanol, Aseton, Kloroform ve Hekzan Ekstrelerinin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

Elife KAYA<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, 46100, Kahramanmaraş

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-7213-3601>

\*Sorumlu yazar: elife\_kaya@hotmail.com

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihiçesi:

Geliş tarihi: 20.12.2021

Kabul tarihi: 02.02.2022

Online Yayınlanma: 18.07.2022

#### Anahtar Kelimeler:

*Helichrysum plicatum*

Antioksidan aktivite

CUPRAC

ABTS

DPPH

### ÖZ

*Helichrysum plicatum* Asteraceae familyasına ait tek yıllık çiçekli bir bitki olup, halk arasında çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Anadolu'da genel olarak "mantuvar, ölmez çiçek ve altın otu" olarak bilinen *Helichrysum* böbrek taşlarını düşürmek amacıyla, soğuk algınlığı, şeker hastalığı ve mide rahatsızlıklarına karşı da kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *Helichrysum plicatum*'un çiçeklerinin farklı polariteye sahip çözücülerle (su, etanol, aseton, kloroform, hekzan) hazırlanmış ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Ekstrelerin farklı konsantrasyonlardaki (10-80 µg/ml) antioksidan aktiviteleri, Bakır (II) indirgeme (CUPRAC), ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) ve DPPH (1,1-Difenil 2-pikril hidrazil) yöntemleriyle belirlenmiş olup, sonuçlar BHT, BHA ve Troloks standart antioksidan maddelerle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bitkinin farklı çözücülerle elde edilen ekstrelerine ait antioksidan aktivitelerinin, standart antioksidan maddelerden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte CUPRAC ve DPPH yöntemlerinde su ekstresi, ABTS yönteminde ise etanol ekstresi, diğer ekstrelerden daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bu sonuçlar, *Helichrysum plicatum*'un çiçek özütlерinin kozmetik, farmasötik ve gıda endüstrilerinde çeşitli uygulamalar için ulaşılabilir doğal antioksidan kaynaklar olduğunu ortaya koymuştur.

## Determination of Antioxidant Activities of Water, Ethanol, Acetone, Chloroform and Hexane Extracts of *Helichrysum plicatum* Flowers

### Research Article

#### Article History:

Received: 20.12.2021

Accepted: 02.02.2022

Published online: 18.07.2022

#### Keywords:

*Helichrysum plicatum*

Antioxidant activity

CUPRAC

ABTS

DPPH

### ABSTRACT

*Helichrysum plicatum* is an annual flowering plant from the Asteraceae family and is widely used in the treatment of various ailments among the people. *Helichrysum*, which is generally known as "mantuvar, ölmez çiçek and altın otu" in Anatolia, is also used against colds, diabetes and stomach ailments in order to reduce kidney stones. In this study, antioxidant activities were investigated in flower extracts of *Helichrysum plicatum* prepared with solvents of different polarities (water, ethanol, acetone, chloroform, and hexane). The antioxidant activities of the extracts at different concentrations (10-80 µg/ml) were determined by Copper (II) reduction (CUPRAC), ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) and DPPH (1,1-Diphenyl 2-picryl hydrazil) methods. The results were evaluated by comparing them with BHT, BHA and Trolox standard antioxidant substances. It was determined that the antioxidant activities of the extracts of the plant obtained with different solvents were lower than the standard antioxidant substances. However, water extract in the CUPRAC and DPPH methods and ethanol extract in ABTS method showed higher antioxidant activity than other extracts. These results demonstrate that flower extracts of *Helichrysum plicatum* are available natural antioxidant sources for a variety

## 1.Giriş

Asteraceae (Papatyagiller) ailesinden olan *Helichrysum plicatum* 'un dünyada yaklaşık altı yüz çeşidi bulunmaktadır. *Helichrysum* adı Yunanca “dönen” ve “altın” isimlerinden gelmektedir. Türkiye florasında 14’ü endemik olmak üzere yaklaşık 20 *Helichrysum* türü bulunmaktadır. Halk arasında “ölmez çiçek, altınotu ve mantuvar” olarak da bilinen bitki, başta sindirimi kolaylaştırma olmak üzere safra artırıcı ve idrar söktürücü olarak, böbrek taşlarının düşürülmesinde, yara ve yanıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Davis ve ark., 1988; Erik ve ark., 2000).

*Helichrysum* türlerinin bitki özleri, kimyasal içerikleri ve polar ekstreleri, antioksidan, anti-inflamatuar, antidiyabetik, antiviral, antimikrobiyal ve antimitojenik gibi birçok biyolojik aktivite göstermektedir (Meyer ve ark., 1997; Schinella ve ark., 2002; Aslan ve ark., 2007; Demir ve ark., 2009; Özbek ve ark., 2009; Bigovic ve ark., 2010). *Helichrysum* türleri flavonoidler, fenolik asitler, kumarinler, pironlar ve terpenler gibi sekonder metabolitleri önemli miktarda içermektedir. Flavonoid bileşiklerini içeren bitkilerin güçlü antioksidan etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Antioksidan özellikler, özellikle radikal temizleyici faaliyetler, serbest radikallerin kozmetikte, gıdalarda ve biyolojik maddelerde neden oldukları zararlı etkilerin önlenmesi açısından çok önemlidir. Aşırı serbest radikal oluşumu, gıdalardaki lipitlerin oksidasyonunu hızlandırır ve gıda kalitesini de azaltır (Gülçin, 2006; Min, 1998). Bitkilerin doğal bir antioksidan kaynağı olması ve gıda maddelerinde ürünün raf ömrünü uzatabilmelerinden dolayı antioksidanlara olan ilgi ve kullanım olanaklarının araştırılması üzerine yapılan çalışmalarda da önemli bir artış bulunmaktadır (Jayaprakasha ve Rao, 2000; Akbaş ve ark., 2017). Ayrıca bitki ürünlerinin standardizasyonu, fitokimyasal analizleri için uygun ekstraksiyon yöntemleri ve farklı çözücüler kullanıldığında biyolojik aktivitelerinde farklılıkların olduğu da bilinmektedir (Azwanida, 2015).

Bu çalışmada, *Helichrysum plicatum* 'un çiçeklerinin farklı polariteye sahip çözücülerle (su, etanol, aseton, kloroform, hekzan) hazırlanmış ekstrelerinin farklı konsantrasyonlardaki antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1.Bitki temini

Çalışma kapsamında kullanılan *Helichrysum plicatum* bitkisi, 2020 yılı Ağustos ayı içerisinde Kahramanmaraş ili Andırın ilçesinden toplandı. Bitkinin tür teşhisi Dr. Öğr. Üyesi Seyran PALABAŞ UZUN tarafından yapıldı. KASOF-2983 herbaryum numarası ile Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Orman Fakültesi Herbaryumunda (KASOF) saklandı.

## 2.2. Bitki ekstralarının hazırlanması

Bitkinin çiçek kısımları analizler için kullanıldı. Bitki ekstraları için, kurumuş çiçek kısımları blender (Waring Commercial) yardımıyla toz haline getirildi. Daha sonra farklı polaritedeki çözücüler için, (1:20 oranında) 10 gr bitki üzerine 200 ml çözücüler eklendi ve manyetik karıştırıcı üzerinde 24 saat boyunca karıştırıldı. Bitki ekstraları Whatman No.1 filtre kâğıdından süzüldü ve toplanan ekstralardan çözücüler 40°C'de evaporatör kullanılarak uzaklaştırıldı (Gülçin, 2005). Elde edilen ekstralar analizlerde kullanılmak üzere 4 °C'de muhafaza edildi. Su ekstresi için, süzülen ekstre, -20°C de dondurularak 18 saat boyunca liyofilize edildi. Tüm analizlerde stok çözeltiler kullanıldı.

## 2.3. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

### 2.3.1. Bakır (II) indirgeme antioksidan aktivite (CUPRAC) yöntemi

Bitkinin farklı ekstralarının kuprik iyonu (Cu<sup>2+</sup>) indirgeme aktiviteleri Apak ve ark. (2004)'nın kullandığı metoda göre gerçekleştirildi. Bunun için deney tüplerine 1x10<sup>-2</sup> M'lık CuCl<sub>2</sub> çözeltisi, 7,5x10<sup>-3</sup> M'lık neokuproin çözeltisi ve 1 M'lık amonyum asetat tampon çözeltisi eklendikten sonra farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (10-80 µg/ml) ekstralardan de ilave edilerek 450 nm'de köre karşı absorbans değerleri kaydedildi. Uygulamalar üç tekrarlı olarak yapıldı. Standart olarak BHT, BHA ve Troloks kullanıldı.

### 2.3.2. ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktivitesi yöntemi

Bitki çiçeklerinin farklı çözücülerle hazırlanan ekstralarının ABTS radikali giderme aktivitesi Re ve ark. (1999)'nın geliştirdiği metoda göre belirlendi. Öncelikle 7 mM olarak hazırlanan ABTS çözeltisi 2,45 mM potasyum persülfat çözeltisi ile karıştırılıp ABTS<sup>++</sup> radikali elde edildi. Oluşturulan bu radikal çözeltisi kullanılmadan önce 734 nm'deki absorbans, 0,1 M ve pH=7 olan fosfat tamponu ile 0,700±0,02 nm'ye ayarlandı. Farklı konsantrasyonlarda (10-80 µg/ml) hazırlanan ekstraların üzerine 1 ml ABTS<sup>++</sup> radikal çözeltisi ilave edildikten sonra 30 dk bekletilete 734 nm'deki absorbanslar kaydedildi. Standart olarak BHT, BHA ve Troloks kullanıldı. Uygulamalar üç tekrarlı olarak yapıldı, ekstraların ve standartların % inhibisyonları Eşitlik 1.deki gibi hesaplandı.

$$\%inhibisyon: \frac{A_{kontrol} - A_{örnek}}{A_{kontrol}} \times 100 \quad (1)$$

### 2.3.3. DPPH serbest radikallerini giderme aktivitesi yöntemi

Bitkinin farklı ekstralarının serbest radikal giderme aktivitesi tayini 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) radikali kullanılarak Blois (1958)'e göre yapıldı. Hazırlanan ekstralarının (10-80 µg/ml) konsantrasyonlarının üzerine 10<sup>-3</sup> M'lık DPPH radikali çözeltisinden 1 ml ilave edilerek etanolle hacimleri tamamlandı. 30 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildikten sonra 517 nm'deki

absorbansları kaydedildi. Standart olarak BHT, BHA ve Troloks kullanıldı. Aynı işlem üç kez tekrarlı olarak yapıldı. % inhibisyon değerleri Eşitlik 1. deki gibi hesaplandı.

#### 2.4. İstatistiksel analizler

İstatistiksel analizler SPSS programı (standart versiyon 20) ile yapıldı. Tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) uygulanmıştır. Denemeler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.  $p < 0,05$  düzeyindeki farklılıklar anlamlıdır.

### 3. Bulgular ve Tartışma

#### 3.1. Ekstraksiyon Verimi

*Helichrysum plicatum* çiçekleri öğütüldükten sonra su, etanol, aseton, kloroform, hekzan kullanılarak beş farklı çözücü ile ekstre edildi. Ekstrelerin verimleri Tablo 1’de verilmiştir. Tabloya göre en yüksek verim % 2,9 olarak su ekstresinde elde edilirken, en düşük verim ise % 0,9 olarak hekzan ekstresinde elde edilmiştir.

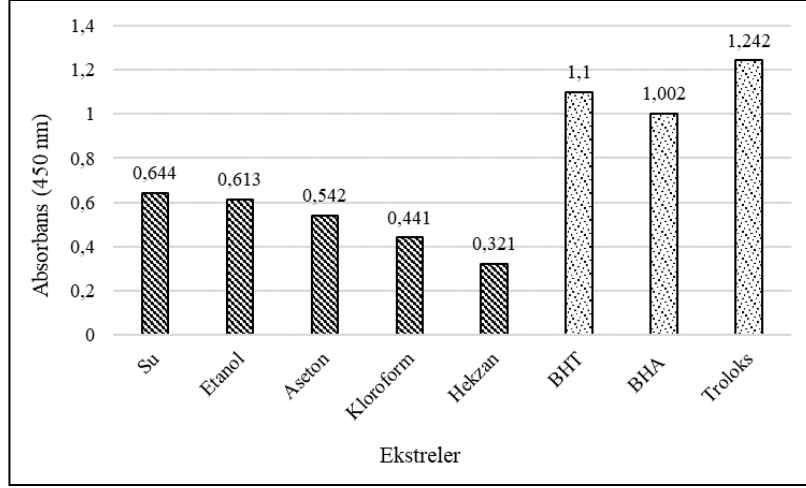
**Tablo 1.** *Helichrysum plicatum*’un çeşitli çözücülerdeki % ekstraksiyon verimi

Ekstraksiyon çözücüsü	% Verim
Su	2,9
Etanol	2,1
Aseton	1,7
Kloroform	1,2
Hekzan	0,9

#### 3.2. Antioksidan Aktivite Sonuçları

##### 3.2.1. CUPRAC yöntem sonuçları

Bitki çiçeklerinden elde edilen farklı çözücü ekstrelerinin kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesi, farklı konsantrasyon aralıklarındaki çözeltilerin 450 nm’deki absorbansları ölçülerek elde edilmiştir. Absorbanslar artan konsantrasyonla doğru orantılı olarak artmaktadır. Bitkinin CUPRAC yöntemine göre belirlenen su, etanol, aseton, kloroform ve hekzan ekstreleri ile standart olarak kullanılan antioksidanların en yüksek konsantrasyondaki (80  $\mu\text{g/ml}$ ) absorbans değerleri Şekil 1’de gösterilmiştir.

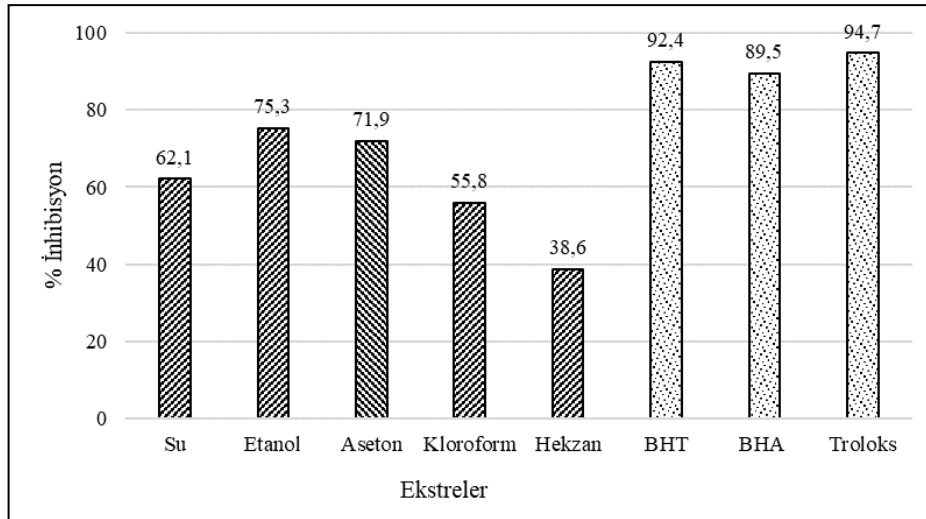


**Şekil 1.** Ekstrelerin ve standartların CUPRAC yöntemine göre absorbanları (BHA: Bütillenmiş Hidroksianisol BHT: Bütillenmiş hidroksitoluen)

CUPRAC yönteminde, bitkinin su, etanol, aseton, kloroform ve hekzan ekstreleri ile standart olarak kullanılan antioksidanların 80 µg/ml konsantrasyondaki aktiviteleri kıyaslandığında sırasıyla; Troloks > BHT > BHA > su ekstresi > etanol ekstresi > aseton ekstresi > kloroform ekstresi > hekzan ekstresi şeklinde belirlenmiştir. Bu kıyaslamamın istatistiksel olarak önemli olduğu da görülmüştür ( $p < 0,05$ ). Bitkinin farklı çözücü ekstreleri karşılaştırıldığında en yüksek indirgeme kapasitesi su ekstresinde, en düşük indirgeme kapasitesinin ise hekzan ekstresinde olduğu gözlenmiştir.

### 3.2.2. ABTS yöntem sonuçları

Farklı polariteye sahip su, etanol, aseton, kloroform ve hekzan çözücülerıyla hazırlanmış *Helichrysum plicatum*'un çiçeklerinden elde edilen ekstrelerin farklı konsantrasyonlarda antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, bitki ekstreleri ile standart olarak kullanılan antioksidanlara ait en yüksek konsantrasyondaki (80 µg/ml) ABTS radikali giderme aktivitelerinin % inhibisyon değerleri Şekil 2'de gösterilmiştir.



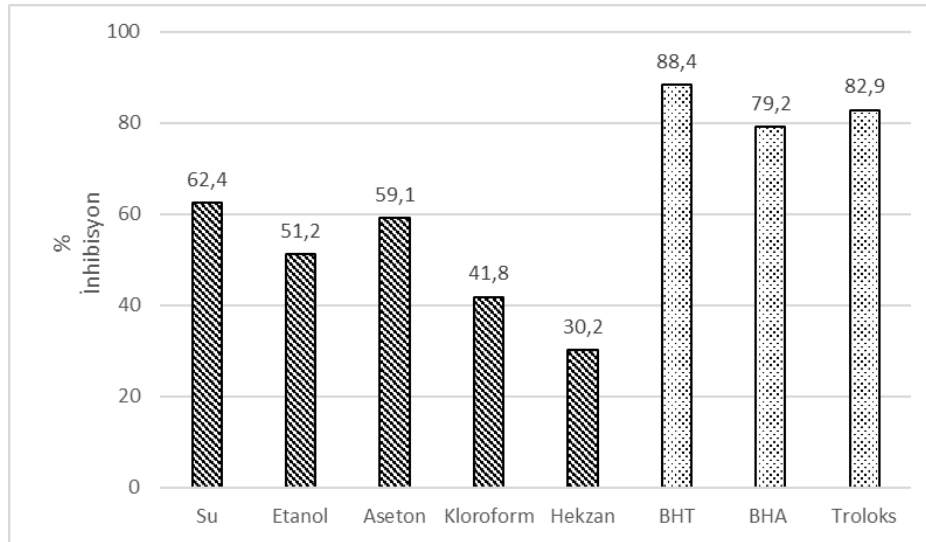
**Şekil 2.** Ekstrelerin ve standartların ABTS radikal giderme aktiviteleri (%)

ABTS radikali giderme aktivitesi yönteminde, bitkinin su, etanol, aseton, kloroform ve hekzan ekstreleri ile standart olarak kullanılan antioksidanların en yüksek konsantrasyondaki (80 µg/ml) aktiviteleri kıyaslandığında sırasıyla; Troloks> BHT > BHA >etanol ekstresi> aseton ekstresi >su ekstresi >kloroform ekstresi >hekzan ekstresi şeklinde belirlenmiştir. Bu kıyaslamamın istatistiksel olarak önemli olduğu da görülmüştür (p<0,05). Bitkinin farklı çözücü ekstreleri karşılaştırıldığında ise en yüksek ABTS radikali giderme aktivitesinin etanol ekstresinde (% 75,3) olduğu belirlenmiştir. Diğer çözücüler ile hazırlanan bitki ekstreleri ise standart antioksidanlardan daha düşük radikal giderme aktivitesi göstermiştir.

Taşkın ve ark. (2020) çözücü olarak petrol eteri, kloroform, metanol kullandıkları çalışmalarında *H. plicatum* subsp. *plicatum* ekstrelerinde kloroform ekstresinin DPPH ve ABTS yöntemlerinde en düşük serbest radikal giderme aktivitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Şekil 2' de görüldüğü gibi kloroform ekstresi de düşük aktivite sergilemiştir.

### 3.2.3. DPPH yöntem sonuçları

DPPH radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) sentetik kararlı bir bileşiktir. Doğal bileşiklerin serbest radikal giderici aktivitelerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. DPPH'ın oluşturduğu reaksiyon karışımının gösterdiği absorbans ne kadar düşük ise antioksidanın serbest radikal giderme aktivitesi o kadar yüksektir. Bitkinin su, etanol, aseton, kloroform ve hekzan ekstreleri ile standart olarak kullanılan antioksidanların en yüksek konsantrasyondaki (80 µg/ml) DPPH radikali giderme aktivitelerinin % inhibisyon değerleri Şekil. 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. Ekstrelerin ve standartların DPPH radikali giderme aktiviteleri (%)

DPPH radikali giderme aktivitesi yönteminde, bitkinin su, etanol, aseton, kloroform ve hekzan ekstreleri ile standart olarak kullanılan antioksidanların en yüksek konsantrasyondaki (80 µg/ml) aktiviteleri kıyaslandığında sırasıyla; BHT> Troloks > BHA > su ekstresi> aseton ekstresi >etanol

ekstresi >kloroform ekstresi >hekzan ekstresi şeklinde belirlenmiştir. Bitkinin farklı çözücü ekstreleri karşılaştırıldığında en yüksek (% 62,4) DPPH radikali giderme aktivitesinin su ekstresinde olduğu belirlenmiş olup, istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ünal ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada da, 20 bitkinin aseton, etanol ve su ekstrelerinin DPPH serbest radikal süpürme yönteminde, en yüksek aktivite su ekstresinde tespit edilmiştir. Çözücüsü su olan ekstrenin radikal süpürme aktivitesinin, diğer ekstrele göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

DPPH metoduyla Panovska ve Kulevanova (2005) *Helichrysum plicatum* çiçek, sap ve yapraklarının farklı çözücü ekstrelerinin antioksidan aktivitesinin, BHT ve BHA gibi standart maddelerin aktivitesinden daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar çalışma sonuçlarımızla paralellik göstermektedir. Acet ve ark. (2020) tarafından ise Gümüşhane çevresinde toplanan *Helichrysum plicatum* çiçeklerinin etanol, metanol ve etil asetat ekstrelerinde, ABTS ve DPPH yöntemleri kullanılarak antioksidan aktiviteleri belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada DPPH yönteminde en yüksek aktivite *Helichrysum plicatum* çiçeklerinin etanol ekstresinde gözlenmiştir. Şekil 3' de görüldüğü gibi DPPH yönteminde su ekstreleri diğer çözücülere göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bu sonuçlar radikal giderme aktivitesinin kullanılan çözücülere göre değiştiğini ve polar çözücülerde daha yüksek olduğunu göstermektedir.

*Helichrysum plicatum*'un farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan ekstrelerinin DPPH yöntemiyle antioksidan aktivitesinin belirlenmesi üzerine yapılan başka bir çalışma da Vujic' ve ark. (2020) etanol ve diklorometan ekstrelerinde güçlü bir antioksidan aktivite tespit etmiştir. Çalışmada ayrıca etanol ekstresinin BHT ve Troloks standart antioksidanlarından daha düşük aktiviteye sahip olması elde ettiğimiz sonuçlarla benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 3).

Bitkilerden farklı çözücülerle elde edilen ekstrelerin, toplam fenolik içeriklerine, flavonoid miktarlarına bağlı olarak serbest radikal süpürme aktivitesinde farklılıklar bulunmaktadır. Fenolik asitler ve flavonoidler polar çözücülerde çözünerek daha güçlü aktivite gösterirler. DPPH radikal süpürücü yönteminde polar çözücüler tercih edilmektedir (Albayrak ve ark., 2010; Süzgeç Selçuk ve Birteksöz, 2011; Arıdurdu ve Arabacı, 2013; Arslan ve Kaya, 2021). Tepe ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada, Sivas çevresinde toplanan farklı *Helichrysum* türlerinin metanol ekstrelerinde DPPH yöntemi ile sentetik antioksidana (BHT) karşı antioksidan aktivite ölçümleri yapılmış ve en iyi radikal süpürücü aktivitenin polar fraksiyonlarda olduğunu bildirmiştir.

#### 4.Sonuç

Bu çalışmada *Helichrysum plicatum* çiçeklerinden elde edilen farklı polariteye sahip beş farklı çözücü ile hazırlanan ekstrelerin, ABTS, DPPH ve CUPRAC metotları ile antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Uygulanan üç farklı antioksidan aktivite yönteminde de, standart antioksidanların aktivitelerinin, beş farklı çözücü ile hazırlanan ekstrelerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada DPPH ve CUPRAC yöntemlerinde su ekstresinin, diğer ekstrelerden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. ABTS yönteminde ise etanol ekstresinde en yüksek

antioksidan aktivite gözlenmiştir. Bu sonuçlar bize bitkilerdeki etken maddelerin kullanılan çözücüye bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Ayrıca farklı çözümlerle elde edilen ekstraktların verim farklılıkları ve antioksidan aktiviteleri, bitkilerin sahip olduğu kimyasal kompozisyona, ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin polaritesine bağlı olarak değişmektedir. Çalışma sonuçları; ekstre verimlerinde polar çözücülerin, apolar çözücülerden daha etkili olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda, *Helichrysum plicatum* çiçeklerinin farklı polaritedeki çözücüler ile hazırlanan ekstraktlarının önemli oranlarda antioksidan aktiviteler gösterdiği belirlenmiştir. Günümüzde antioksidan olarak kullanılan sentetik ajanların yan etkileri nedeniyle, bitkinin nutrasötik, farmasötik, kozmetik ve gıda işleme alanlarında doğal biyoaktif ajan kaynağı olarak alternatif olabileceği düşünülmektedir.

### **Teşekkür**

Yazar, bitkinin tür teşhisini yapan Dr. Öğr. Üyesi Seyran PALABAŞ UZUN'a teşekkür eder.

### **Çıkar Çatışması Beyanı**

Makale yazarı herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

### **Araştırmacı Katkı Oranı Beyan Özeti**

Yazar makaleye %100 oranında katkı sağlamış olduğunu beyan eder.

### **Kaynakça**

- Acet T., Ozcan K., Zengin G. An assessment of phenolic profiles, fatty acid compositions, and biological activities of two *Helichrysum* species: *H. plicatum* and *H. chionophilum*. *Journal of Food Biochemistry* 2020; 44(2): e13128.
- Akbaş P., Kol ÖG., Gürbüz A., Manap S. Anti-microbial and Anti-oxidant activity of watermelon (*Citrullus lanatus*) fruit and watermelon seed. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 2017; 13(1): 139-147.
- Albayrak S., Aksoy A., Sagdic O., Hamzaoglu E. Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food Chemistry* 2010; 119(1): 114-122.
- Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Karademir SE. Novel total antioxidant activity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *International Journal of Food Science and Nutrition* 2004; 52(26): 7970-7981.
- Arıdur R., Arabacı G. Ciğertaze otu (*Salvia officinalis*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. *Sakarya University Journal of Science* 2013; 17(2): 241-246.



- Arslan L., Kaya E. Investigation of antimicrobial and antioxidant activities of *Paliurus spina-christi* mill. in Kahramanmaraş, Turkey. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi 2021; 24(6): 1161-1169.
- Aslan M., Orhan Deliorman D., Orhan N., Sezik E., Yesilada E. In vivo antidiabetic and antioxidant potential of *Helichrysum plicatum* ssp. *plicatum* capitulums in streptozotocin-induced-diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology 2007; 109(1): 54-59.
- Azwanida NN. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. Med. Aromat. Plants 2015; 4(3): 6.
- Bigovic D., Brankovic S., Kitic D., Radenkovic M., Jankovic T., Savikin K., Zivanovic S. Relaxant effect of the ethanol extract of *Helichrysum plicatum* (Asteraceae) on isolated rat ileum contractions. Molecules 2010; 15(5): 3391-3401.
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958; 181(4617): 1199-1200.
- Davis PH., Mill RR., Tan K. Flora of Turkey and East Aeagen Islands. v. X. Edinburgh: Edinburgh University Press, 1988; p. 159-160.
- Demir A., Mercanoglu Taban B., Aslan M., Yesilada E., Aykut Aytac S. Antimicrobial effect of *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum*. Pharmaceutical Biology 2009; 47(4): 289-297.
- Erik S., Güner A., Özhatay N., Ekim T., Başer KHC. *Helichrysum gaertner*. Flora of Turkey and East Aeagen Islands 2000; 11: 153-154.
- Gülçin İ. Antioxidant and antiradical activities of Lcarnitine. Life Sciences 2006; 78(8): 803-811.
- Gülçin İ. The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. International Journal of Food Sciences and Nutrition 2005; 56(7): 491-499.
- Jayaprakasha GK., Rao LJ. Phenolic constituents from the lichen *Parmotrema stuppeum* (Nyl.) Hale and their antioxidant activity. Zeitschrift für Naturforschung C. 2000; 55(11-12): 1018-1022.
- Meyer JJM., Afolayan AJ., Taylor MB., Erasmus D. Antiviral activity of galangin isolated from the aerial parts of *Helichrysum aureonitens*. Journal of Ethnopharmacology 1997; 56(2): 165-169.
- Min DB. Lipid oxidation of edible oils. Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, Marcel Dekker, New York, 1998; 283-296 p.
- Ozbek T., Gulluce M., Adiguzel A., Ozkan H., Sahin F., Orhan F. Antimutagenic activity of the methanol extract of *Helichrysum plicatum* ssp. *plicatum*. Asian Journal of Chemistry 2009; 21(4): 2705-2710.
- Panovska TK., Kulevanova S. Antioxidant potential of *Helichrysum plicatum* DC.(Asteraceae). Instabilities of proteins: theoretical aspects, degradation products and methods for their detection. Macedonian Pharmaceutical Bulletin 2005; 51(1-2): 29-34.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine 1999; 26(9-10): 1231-1237.

- Schinella GR., Tournier HA., Prieto JM., De Buschiazzo PM., Rios JL. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sciences* 2002; 70(9): 1023-1033.
- Süzgeç Selçuk S., Birteksöz AS. Flavonoids of *Helichrysum chasmolyticum* and its antioxidant and antimicrobial activities. *South African Journal of Botany* 2011; 77(1): 170-174.
- Taşkın T., Gezmiş T., Çam ME., Taşkın D., Çelik BÖ., Şenkardeş İ., Süzgeç Selçuk S. The in vitro and in vivo investigation of biological activities and phenolic analysis of *Helichrysum plicatum* subsp. *plicatum*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2020; 56.
- Tepe B., Sokmen M., Akpulat HA., Sokmen A. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of four *Helichrysum* species from Turkey. *Food Chemistry* 2005; 90(4): 685-689.
- Ünal EL., Mavi A., Kara AA., Çakir A., Şengul M., Yıldırım A. Antimicrobial and antioxidant activities of some plants used as remedies in Turkish medicine. *Pharmaceutical Biology* 2008; 46: 207-224.
- Vujić B., Vidaković V., Jadranin M., Novaković I., Trifunović S., Tešević V., Mandić B. Composition, antioxidant potential, and antimicrobial activity of *Helichrysum plicatum* DC. various extracts. *Plants* 2020; 9(3): 337.