



Türkiye'deki Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antioksidan Potansiyelleri ve Fenolik Kompozisyonları

Ayşe Karadağ^{1*},

¹ Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Meteraluji Fakültesi, Gıda Mühendisliği, 34210, İstanbul, Türkiye (ORCID: 0000-0001-8615-7321)

(İlk Geliş Tarihi 1 Temmuz 2019 ve Kabul Tarihi 24 Temmuz 2019)

(DOI: 10.31590/ejosat.592711)

ATIF/REFERENCE: Karadağ, A. (2019). Türkiye'deki Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antioksidan Potansiyelleri ve Fenolik Kompozisyonları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (16), 631-637.

Öz

Tıbbi ve aromatik bitkiler, insanlık tarihinin ilk zamanlarından beri sadece gıda ve kozmetik amaçlı olarak değil aynı zamanda hastalık risklerine karşı geleneksel tedavi amacı ile de kullanılmıştır. Bu bitkilerin tüketiminin dejeneratif hastalıklarla ilgili riskleri azaltma potansiyellerinin, sahip oldukları antioksidan özellik gösteren biyoaktif bileşikler, özellikle fenolik maddelerle ilgili olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Günümüzde sağlıklı beslenme ve fonksiyonel gıdalara olan ilginin artması ile beraber, bu bitkilerin üretimi ve kullanımlarıyla ilgili talebin önümüzdeki yıllarda artacağı öngörülmektedir. Bu çalışmada, ülkemizde sıklıkla tüketilen bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin (adaçayı, anason, çemen, ıhlamur, melisa, defne yaprağı, nane, reyhan, rezene ve sinameki) toplam fenolik madde miktarları, antioksidan potansiyelleri, ve fenolik kompozisyonları belirlenmiştir. Toplam fenolik madde içeriği açısından en zengin bitkiler adaçayı, ıhlamur, defne ve melisa (16.89-21.12 mg GAE/g bitki), en düşük bitkiler ise anason, çemen ve rezene yaprağı (3.47-3.77 mg GAE/g bitki) olarak belirlenmiştir. Dört farklı yöntemle, 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), ferrik iyonu indirgeyici antioksidan potansiyeli (FRAP) ve bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi tayini, belirlenen toplam antioksidan kapasitesi sonuçlarına göre ıhlamur, adaçayı, defne yaprağı ve melisa en yüksek antioksidan potansiyele sahip bitkiler olmuştur. Toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan potansiyeli arasında önemli derecede yüksek korelasyon olduğu ($R^2=0.87-0.89$) gözlenmiştir. EC50 değeri, DPPH ve ABTS analizleri açısından değerlendirildiğinde, en yüksek ıhlamur (5.93 ± 0.53 ve 1.05 ± 0.03 mg bitki/mL) ve en düşük anason (82.13 ± 12.08 ve 12.08 ± 0.79 mg bitki/mL) bitkilerine ait olmuştur. Çalışmada belirlenen fenolik madde içeriği açısından ise, protokatesuik asit, kafeik asit, klorojenik asit ve ferulik asitin bu bitkilerde en sık belirlenen fenolik asitler olduğu ve flavonoidlerden ise kuersetin ve kaempferolün belirlendiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Tıbbi ve aromatik bitkiler, baharat, antioksidan, fenolik

Antioxidant Potential and Phenolic Compositions of Some Aromatic and Medicinal Herbs in Turkey

Abstract

Medicinal and aromatic herbs have been used in human history for not only food and cosmetic purposes, but also for their medicinal properties. The studies conducted recently have revealed that the potential of reducing the risks of degenerative diseases upon the consumption of those plants is related to their bioactive constituents, specifically phenolic compounds, which possess antioxidant potential. Nowadays, with the increasing demands for healthy diet and functional foods, the production and consumption of aromatic and medicinal herbs are predicted to grow in future. In this study, the total phenolic content, antioxidant potential and phenolic composition of some plants (sage, anise, fenugreek, linden, lemonbalm, bay leaf, mint, purple basil, fennel and senna) frequently used

¹ Sorumlu Yazar: Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Meteraluji Fakültesi, Gıda Mühendisliği, 34210, İstanbul, Türkiye, ORCID: 0000-0001-8615-7321, aykar78@hotmail.com

in Turkish cuisine have been determined. In terms of total phenolic content, sage, linden, bay leaf and lemon balm (16.89-21.12 mg GAE/g plant) had the highest level, whereas, anise, fenugreek and fennel had the lowest content (3.47-3.77 mg GAE/g plant). Total antioxidant capacities were analysed by four different methods: 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), ferric reducing antioxidant power (FRAP) and cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) assays. Linden, sage, bay leaf and lemon balm had the highest antioxidant potential and there was a significant and high correlation between total phenolic content and antioxidant potential values ($R^2=0.87-0.89$). EC50 values of DPPH and ABTS assay were found to be the highest for linden (5.93 ± 0.53 and 1.05 ± 0.03 mg plant/mL) and lowest for anise (82.13 ± 12.08 and 12.08 ± 0.79 mg plant/mL). The phenolic composition determined in this study showed that the most frequently observed phenolic acids in those plants were protocatechuic acid, caffeic acid, chlorogenic and ferulic acid, whereas kaempferol and quercetin were the major flavonoids.

Keywords: Medicinal and aromatic herbs, spice, antioxidant, phenolics

1. Giriş

Tıbbi ve aromatik bitkiler, yüzyıllardır gıdalarda tat, lezzet, renk, aroma ve koruyucu olarak kullanılmalarının yanısıra, kozmetik amaçlı, boyar madde olarak ve geleneksel tedavi amacıyla da kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre gelişmemiş ülkelerde nüfusun %80'i tarafından tedavi amaçlı geleneksel reçeteler kullanılırken, gelişmiş ülkelerde bu oran %40 düzeyindedir; ayrıca günümüzde farmasötik ilaçların %25'i tıbbi bitkilerden üretilmektedir. Gelecek yıllarda ise bu oranın artacağı öngörülmektedir (Acıbuca & Budak, 2018). Fonksiyonel gıda, temel besleyicilik özelliklerinin yanısıra insan sağlığı için fayda sağlayan, belirli hastalıklar ile ilgili riski azaltma özelliği olan bileşenleri belirli miktarlarda içeren gıdalar olarak tanımlanmaktadır. Bu bileşenler, gıdaların kompozisyonunda doğal olarak bulunabileceği gibi, daha sonra da eklenerek gıda bu bileşenlerce zenginleştirilebilir (Hasler, 2002). Bu anlamda doğal antioksidan özellik gösteren bileşikler, gıdayı proses ve depolama sırasında oluşabilecek oksidatif bozulma reaksiyonlarına karşı koruyan gıda katkı maddeleri olarak kullanılmalarının yanısıra, yapılan çalışmalar bu bileşiklerin serbest radikal oluşumunu engellemelerinden dolayı bağışıklık sistemini güçlendirici etkileri olduğunu da göstermektedir (Sindhi ve ark., 2013).

Türkiye, tıbbi ve aromatik bitkiler açısından oldukça zengin olup, kekik, defne yaprağı ve kimyon gibi ürünlerde en önemli ihracatçı ülkedir. Tıbbi bitki ihracatı yapan 110 ülke arasında ise 18. sırada yer almaktadır (Acıbuca & Budak, 2018). Tıbbi ve aromatik bitkiler, mükemmel doğal antioksidan kaynakları olup, içerdikleri biyoaktif bileşikler, özellikle fenolik maddeler, diyabet, obezite, kanser ve kalp-damar hastalıkları gibi dejeneratif hastalık risklerini azaltma potansiyeline sahiptirler (Patch ve ark., 2006). Ülkemizde sıklıkla tüketilen tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan potansiyelleri ve fenolik madde içerikleri ile ilgili çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır. Bundan dolayı, bu çalışmanın amacı kurutulmuş halde temin edilen adaçayı, anason, çemen, ıhlamur, defne yaprağı, melisa, nane, reyhan, rezene ve sinameki bitkilerinin toplam fenolik madde içeriğinin, farklı yöntemlerle antioksidan potansiyellerinin ve fenolik kompozisyonunun belirlenmesidir.

2. Materyal ve Metod

2.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılan kurutulmuş tıbbi ve aromatik bitki örnekleri (adaçayı, anason, çemen, ıhlamur, defne yaprağı, melisa, nane, reyhan, rezene ve sinameki) 2019 yılında İstanbul, Türkiye'de çeşitli aktarlardan temin edilmiştir. Her analiz üç kez tekrarlanmış ve sonuçların ortalaması verilmiştir. Tüm örnekler, öğütücüde toz haline getirilerek ekstraksiyon işlemine alınmıştır.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan tıbbi ve aromatik bitkiler

Bitki adı	Botanik adı	Familiya	Kullanılan kısım
Adaçayı	<i>Salvia fruticosa</i> Mill.	Labiatae	Yaprak
Anason	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Umbelliferae	Tohum
Çemen	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Fabaceae	Tohum
Defne yaprağı	<i>Laurus nobilis</i> L.	Lauraceae	Yaprak
ıhlamur	<i>Tilia platyphyllos</i> Scop.	Tiliaceae	Yaprak-Çiçek
Melisa (oğul otu)	<i>Melissa officinalis</i> L.	Lamiaceae	Yaprak
Nane	<i>Mentha spicata</i> L.	Labiatae	Yaprak
Reyhan	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Labiatae	Yaprak
Rezene	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Umbelliferae	Tohum
Sinameki	<i>Cassia angustifolia</i>	Fabaceae	Yaprak

2.2. Metod

2.2.1. Ekstraktların hazırlanması

Her örnekten üç farklı ekstrakt hazırlanmıştır. Bu amaçla, hegzan ile yağı uzaklaştırılan bitki örnekleri daha sonra bir gece çeker ocak altında kurutulmuştur. Kurutulan örneklerin nem tayinleri gerçekleştirilmiştir. Sonrasında, 1 g toz örnek, 10 mL %80 metanol:su çözeltisi ile ultrasonik su banyosunda 15 dakika ekstrakte edilmiştir. Santrifüjlenen (4000 rpm, 4°C, 10 dak) örneklerden çözgen fazı ayrılmış, kalan katı faza 2 kez daha ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Daha sonra 50°C'de vakum altında çözgen fazı tamamen uzaklaştırılmış ve tüm ekstraktlar %80 metanol:su karışımı ile 10 mL'ye çözdürülerek stok çözeltiler hazırlanmıştır. Ekstraktlar -18°C'de analiz gününe kadar depolanmıştır.

2.2.2. Nem tayini

Öğütücü ile homojen toz haline getirildikten sonra yağı uzaklaştırılan ve kurutulan örneklerin nem tayinleri RADWAG MA 50.R hızlı nem tayin cihazıyla gerçekleştirilmiştir.

2.2.3. Toplam fenolik madde tayini

Ekstraktların toplam fenolik madde (TF) içeriği, Singleton & Rossi (1965) tarafından tanımlanan Folin-Ciocalteu (FC) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Referans standart olarak gallik asit seçilmiştir. 0.5 mL ekstrakt çözeltisine, 2.5 mL FC reaktifi (0.2 N) eklenmiştir. 3 dakika sonra reaksiyon tüpüne 2 mL %7.5 Na₂CO₃ ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım oda sıcaklığında karanlık bir yerde 30 dakika bekletildikten sonra, örneklerin absorbans değerleri spektrofotometre (Shimadzu 150 UV-1800 spektrofotometre, Japonya) kullanılarak 760 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar 10-100 µg/mL lineer aralıkta mg gallik asit eşdeğeri (GAE) /g örnek şeklinde verilmiştir.

2.2.4. DPPH Serbest Radikali Yakalama Aktivitesi Tayini

Örneklerin antioksidan aktivitesi belirlenmesi, DPPH serbest radikali yakalama aktivitesi, ABTS⁺ radikal katyon yakalama aktivitesi, ferrik iyonu indirgeyici antioksidan potansiyeli (FRAP) ve bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi (CUPRAC) tayini olmak üzere 4 farklı yöntemle gerçekleştirilmiştir.

Kararlı bir organik nitrojen radikali olan 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) antioksidan kapasitesinin belirlenmesini sağlayan yöntemde kullanılmaktadır. Yöntem Singh ve ark. (2002) 'na göre gerçekleştirilmiş olup. 100 µL ekstrakt, 4.9 mL DPPH metanol çözeltisi (0.1mM) ile karıştırılıp, karışım oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Reaksiyon sonrası oluşan renk 517 nm' de ölçülmüş ve %DPPH radikali yakalama aktivitesi (1) hesaplanmıştır. DPPH konsantrasyonunun yarısını inhibe eden antioksidan (örnek) konsantrasyonu EC50 olarak ifade edilmiş ve örneklerin belirli aralıktaki konsantrasyonlarına (anason, çemen ve rezene için 15-300 mg örnek/mL; reyhan ve sinameki için 6-100 mg örnek/mL; diğer örnekler için ise 5-30 mg örnek/mL) karşılık gelen %DPPH radikali yakalama aktivitesi grafiğinden EC50 değeri hesaplanmıştır.

$$\%DPPH \text{ radikali yakalama aktivitesi} = \frac{\text{Kontrolün absorbans değeri} - \text{örneğin absorbans değeri}}{\text{Kontrolün absorbans değeri}} \times 100 \quad (1)$$

2.2.5. ABTS⁺ Radikali Yakalama Aktivitesi Tayini

ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikali yakalama aktivitesi Re ve ark. (1999)'na göre gerçekleştirilmiştir. ABTS radikal katyonu, ABTS stok çözeltisinin (7mM) 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi ile karıştırılması ve karışımın kullanımdan önce 12-16 saat boyunca oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmesiyle hazırlanmıştır. Ölçümler için stok çözeltisi 734 nm'de 0.700' lük bir absorbansa gelene kadar saf su ile seyreltilmiştir. Belirlenen konsantrasyonlarda hazırlanan örnekler (anason, çemen ve rezene için 1.6-30 mg örnek/mL, diğerleri için 0.6-6 mg örnek/mL), 0.1 mL ekstrakta, 2 mL ABTS çözeltisi eklendikten sonra 6 dak. karanlıkta bekletilmiş, 734 nm'de absorbans okunmuş ve ABTS radikali yakalama aktivitesi (2) hesaplanmıştır. EC50 değeri, örnek konsantrasyonuna karşı % ABTS radikali yakalama aktivitesine karşılık çizilen grafikten hesaplanmıştır.

$$\%ABTS \text{ radikali yakalama aktivitesi} = \frac{\text{Kontrolün absorbans değeri} - \text{Örneğin absorbans değeri}}{\text{Kontrolün absorbans değeri}} \times 100 \quad (2)$$

2.2.6. Ferrik İyonu İndirgeyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP) Tayini

FRAP testi Benzie ve Strain (1996)' a göre yapılmıştır. FRAP reaktifi kullanımdan hemen önce 10:1:1 oranında 300 mM asetat tamponu (pH 3.6), 10 mM 2, 4, 6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) çözeltisi ve 20 mM FeCl₃·6H₂O karıştırılarak hazırlanmıştır. 300 mM asetat tamponu, 0.31 g sodyum asetat trihidrat (C₂H₃NaO₂ 3H₂O), 1.6 ml asetik asit ile karıştırılıp son hacim 100 mL'ye gelinceye kadar saf su ile seyreltilmiştir. TPTZ çözeltisi, 40 mM HCl içerisinde 10 mM TPTZ'nin çözündürülmesiyle hazırlanmıştır. 100 µL ekstrakt, sırasıyla 900 µL H₂O ve 2 mL FRAP reaktifi ile karıştırılıp oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildikten sonra 593 nm'de absorbansları köre karşı ölçülmüştür. Sonuçlar, standart Troloks'un 10-100 µM (2.5-25 µg/mL) lineer aralıkta çizilen kalibrasyon grafiğinden hesaplanmış (y=0.036x-0.0116, R²=0.999) ve mg Troloks eşdeğeri (TE) / g örnek şeklinde ifade edilmiştir.

2.2.7. Bakır (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) Tayini

CUPRAC analizi Apak ve ark., (2004) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Bir test tüpüne 1 mL CuCl₂ çözeltisi (0.01 M), neokuprin (7.5 mM) ve 1 M amonyum asetat tampon (pH 7.0) çözeltisi ilave edilmiştir. Test tüpüne 0.1 mL ekstrakt eklendikten sonra, 1 mL saf su eklenmiştir. Bütün örnekler karanlıkta ve oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiş ve sonrasında absorbans değerleri 450 nm'de ölçülmüştür. . Sonuçlar, standart Troloks'un 50-800 µg/mL lineer aralıkta çizilen kalibrasyon grafiğinden hesaplanmış (y=1.24x-0.056, R²=0.994) ve mg Troloks eşdeğeri (TE) / g örnek şeklinde ifade edilmiştir.

2.2.8. Fenolik Kompozisyonunun Belirlenmesi

Fenolik madde kompozisyonu, diyet dizinli dedektöre sahip yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC-DAD) ile belirlenmiştir. Standart kalibrasyon eğrileri, gallik asit, protokateşuik asit, p-hidroksibenzoik asit, kafeik asit, klorojenik asit, şiringik asit, o-kumarik

asit, m-kumarik asit, p-kumarik asit, rutin, ferulik asit, mirisetin, kuersetin, kaempferol ve krisin kullanılarak hazırlanmıştır. Örnekler ve standart çözeltiler, 0.45 µm'lik filtrelerden süzülerek viallere aktarılmış ve Shimadzu HPLC sisteminde (LC-20AD pompa, SPD20A DAD dedektör, SIL-20A HT autosampler, CTO-10ASVP kolon fırını, DGU-20A5R degazör ve CMB-20A veri iletişim modülü; Shimadzu Corp., Kyoto, Japonya) analiz edilmiştir. Seperasyon, Intersil® ODS C-18 ters fazlı kolonda (250 mm x 4.6 mm uzunluk, 5 µm partikül boyutu) 40°C'de gerçekleştirilmiştir. Mobil faz, solvent A (% 0.1 (V/V) asetik asit içeren damıtılmış su) ve solvent B (%0.1 (V / V) asetik asit ile asetonitril) den oluşmaktadır. Gradyan elüsyonu % 10 B (0'dan 2. dakikaya), % 10 ile % 30 B (2'den 27. dakikaya), % 30 ile % 90 B (27'den 50. dakikaya) ve % 90 ile % 100 B (51'den 60. dakikaya) ve 63. dakikadan sonra başlangıç koşullarına dönecek şekilde ve akış oranı 1 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Kromatogramlar 280, 320 ve 360 nm'de kaydedilmiştir. Tanımlama ve kantitatif analiz, alıkönme zamanı ve harici standart eğrileri bazında yapılmıştır. Sonuçlar µg/ g örnek olarak ifade edilmiştir.

2.2.9. İstatistiksel Analiz

Çalışmada kullanılan ekstraktlar üç tekrarlı olarak hazırlanmış, sonuçlar ise ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Örnekler arasındaki farklılığın önemi tek yönlü ANOVA analizi ile değerlendirilmiştir ve TUKEY analizi ile çoklu karşılaştırma testi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, SPSS programı (SPSS 17.0, USA) kullanılmıştır.

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

3.1. Toplam fenolik madde içerikleri

Çalışmada kullanılan yağı uzaklaştırıldıktan sonra kurutulan ve analize alınan tıbbi ve aromatik bitkilerin nem ve toplam fenolik madde içerikleri Tablo 1' de verilmiştir. Toplam fenolik madde açısından en yüksek miktar adaçayı (21.13 ± 2.20 mg GAE/g) ve ıhlamurda (20.42 ± 0.65 mg GAE/g) bulunmaktadır, bunun yanı sıra anason, çemen ve rezenede (3.47-3.71 mg GAE/g) ise en düşük miktarda fenolik madde belirlenmiştir. Benzer şekilde, Kamiloğlu ve ark. (2014) çalışmalarında, adaçayı ve ıhlamur'un toplam fenolik madde içeriğini, çemen ve rezeneden daha yüksek bulmuşlardır. Miliuskas ve ark. (2004), farklı adaçayı türlerinin ekstraktlarında toplam fenolik madde miktarını 9.7 - 24 mg GAE/g olarak bulmuştur. Atoui ve ark. (2005) çay olarak tüketilen bitkilerin antioksidan özelliklerini inceledikleri çalışmalarında ıhlamurun toplam fenolik madde içeriğini, adaçayı ve nane'den daha yüksek bulmuşlardır. İlgili çalışmada elde edilen sonuçlar (35-61 mg GAE/g) ile bu çalışmadan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıklar örnek hazırlama yöntemi, kullanılan bitkinin yetiştirilme koşulları gibi sebeplerden dolayı olabilir. Boneza & Niemeyer, 2018 tarafından yapılan çalışmada ticari olarak temin edilen farklı melisa kültürlerinin yapraklarının ekstraktlarında toplam fenolik madde içeriğinin 5.5- 26.87 mg GAE/g şeklinde değiştiği belirlenmiştir, bu çalışmada ise melisa bitkisinin toplam fenolik madde miktarı 16.89±1.02 mg GAE/g olarak ölçülmüştür. Farklı çözümlerle, hazırlanan çemen ekstraktında toplam fenolik madde içeriği metanol kullanıldığı zaman 23.23±0.39 mg/g ekstrakt; etil asetat kullanıldığında ise 106.32±0.37 mg/g ekstrakt şeklinde belirlenmiştir (Kenny ve ark., 2013). Anwar ve ark. (2009) çalışmasında Pakistan'dan temin ettiği rezene tohumunun %80 metanol ekstraktının toplam fenolik madde içeriğini 0.77±0.01 mg GAE/g bitki olarak belirlemiştir. Bir başka çalışmada 23 farklı rezene tohum ve yaprağının metanol ekstraktlarının toplam fenolik içeriğinin sırasıyla 14-262 mg tannik asit/g ve 10-201 mg tannik asit/g örnek olduğu, yaprak ve tohumda toplam fenolik madde miktarının benzer olduğu belirlenmiştir (Salami ve ark, 2016).

Tablo 2. Çalışmada Kullanılan Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Toplam Fenolik Madde İçerikleri ve Antioksidan Potansiyelleri

Örnek	Nem (%)	TF (mg GAE/g)	DPPH (EC50)	ABTS (EC50)	CUPRAC (mg Troloks/g)	FRAP (mg Troloks/g)
Adaçayı	13.05±0.48	21.13±2.20 ^f	8.10±0.65 ^{ab}	1.54±0.17 ^a	196.01± 4.86 ^h	7.34±0.33 ^h
Anason	9.57±0.80	3.51±0.48 ^a	82.13±4.26 ^f	12.08±0.79 ^d	26.12±0.73 ^a	0.66±0.06 ^a
Çemen	10.28±0.83	3.47±0.41 ^a	78.26±3.66 ^f	8.52±0.34 ^c	85.22±0.00 ^b	1.16±0.20 ^{ab}
Defne yaprağı	8.86±0.45	17.71±0.81 ^{de}	12.96±0.99 ^{bc}	1.03±0.15 ^a	153.63± 2.67 ^f	3.69±0.18 ^d
İhlamur	7.95±1.25	20.42±0.65 ^{ef}	5.93±0.53 ^a	1.05±0.03 ^a	192.18±3.20 ^h	4.82±0.38 ^{ef}
Melisa	9.98±1.15	16.89±1.02 ^d	9.76±0.46 ^{ab}	1.90±0.05 ^{ab}	168.43± 4.42 ^g	4.66±0.44 ^e
Nane	8.94±0.84	16.37±0.88 ^{cd}	8.52±0.15 ^{ab}	1.83±0.06 ^{ab}	163.74± 7.32 ^g	5.39±0.18 ^f
Sinameki	10.20±0.19	12.97±1.90 ^{bc}	45.55±0.72 ^d	2.77±0.02 ^b	119.37± 3.43 ^d	1.87±0.16 ^b
Reyhan	11.50±0.24	9.93±1.35 ^b	18.52±0.10 ^c	2.73±0.17 ^b	140.96±1.16 ^e	2.95±0.31 ^c
Rezene yaprağı	9.24±1.33	3.77±0.54 ^a	54.31±2.88 ^e	7.78±0.70 ^c	105.16±2.40 ^c	1.61±0.07 ^b

Sonuçlar g kuru örnek şeklinde ifade edilmiştir, a-h satırlar arası farklılıkları gösterir (p<0.05). TF: Toplam fenolik madde; GAE: gallik asit eşdeğeri; EC50: mg örnek/mL

3.2. Antioksidan aktivitesi analizi sonuçları

EC50 değeri, radikal (DPPH ve ABTS) konsantrasyonunu %50 inhibe eden ekstrakt miktarı şeklinde ifade edilir, yani bu değer düşük olması, o bitkinin sahip olduğu antioksidan aktivitenin yüksek olduğunu göstermektedir. Toplam fenolik madde miktarı ve DPPH ve ABTS antioksidan aktivitesi tayini arasındaki korelasyon katsayısı (R²) sırasıyla -0.894 ve -0.892' dir. Toplam fenolik madde içeriğine benzer şekilde, ıhlamur ve adaçayının radikal yakalama kapasiteleri en yüksek; anason, çemen ve rezenenin ise en düşük olarak belirlenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada da adaçayı, ıhlamur ve nane arasında DPPH antioksidan aktivitesinin en yüksek ıhlamur ve adaçayına ait olduğu belirlenmiştir (Atoui ve ark., 2005). Kamiloğlu ve ark. (2014) ise DPPH açısından nane ve adaçayının aktivitesini ıhlamurdan daha yüksek bulmuşlardır, bu çalışmaya benzer şekilde en düşük aktivite ise çemen ve rezenede belirlenmiştir. ABTS aktivitesi açısından, adaçayı, ıhlamur, melisa ve nane en yüksek değerlere sahip olup, aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli

olmamıştır. FRAP yöntemi, pH=3.6'da antioksidan özellik gösteren maddenin sarı Fe³⁺- TPTZ kompleksini mavi Fe²⁺-TPTZ'ye düşürme kapasitesini ölçer. CUPRAC yöntemi neokuprin varlığında antioksidanların etkisiyle (indirgeyici ajanlar) Cu (II)'nin Cu (I)'ya indirgenmesine dayanmaktadır ve pH 7'de gerçekleşmektedir. Toplam fenolik madde içeriği ile FRAP ve CUPRAC analizleri arasındaki korelasyon (R²) ise sırasıyla 0.876 ve 0.892 olarak hesaplanmıştır. Radikal yakalama aktivitesine benzer şekilde, FRAP ve CUPRAC açısından en yüksek aktivite adaçayı, ihlamur, melisa ve nanede; en düşük aktivite ise anason, çemen ve rezenede gözlenmiştir.

3.3. Fenolik Madde Kompozisyonu

Çalışmada kullanılan tıbbi ve aromatik bitkilerde, fenolik asitlerden protokateşuik asit, klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit ve flavonoidlerden kuersetin, kaempferol ve rutin en sıklıkla belirlenen bileşikler olmuştur (Tablo 2). Bu anlamda sonuçlar literatürde mevcut çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Anason yağı ekstraksiyonu sonrası kalan posada fenolik maddelerin analizinin gerçekleştirildiği bir çalışmada, sonuçlarımıza benzer şekilde gallik asit, protokateşuik asit, kafeik asit ve ferulik asit varlığı belirlenmiştir (Khaled ve ark., 2017). Adaçayının antioksidan aktivitesinin temel olarak içerdiği karnosik asit, karnosol ve rosmarinik asitten kaynaklandığı bilinmektedir. Çalışmada belirlenen diğer fenolik maddelerden, şiringik asit, p-kumarik asit, kafeik asit, kuersetin ve kaempferol Generalic ve ark. (2012)'nin yaptığı çalışma ile benzerlik göstermektedir. Kenny ve ark. (2013) çalışmalarında çemen otunda, gallik asit, protokateşuik asit, klorojenik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, mirisetin, kuersetin ve yüksek miktarda m-kumarik asit tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da benzer fenolik maddeler tespit edilirken m-kumarik asit tespit edilmeyip şiringik asit varlığı belirlenmiştir. Defne yaprağında tespit edilen temel fenolik maddelerden protokateşuik asit, şiringik asit ve kafeik asit Vallverdú-Queralt ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada da tespit edilmiştir, ayrıca bu çalışmada kirisin ve kaempferol varlığı da analizlenmiştir. Melisa bitkisinde en fazla bulunan fenolik asitin rosmarinik asit olduğu ve ayrıca kafeik asit, p-kumarik asit, protokateşuik ve kaftarik asit varlığı bildirilmiştir (Boneza & Niemeyer, 2018). Bu çalışmada melisa için bu fenolik asitlere ilaveten klorojenik asit ve flavonoidlerden kuersetin ve kaempferol de tespit edilmiştir. Nane örnekleri ile gerçekleştirilen bir başka çalışmada bitkideki başlıca fenolik maddelerin rosmarinik asit, neoponsirin ve klorojenik asit, kafeik asit, apigenin, hesperetin ve naringenin olduğu belirtilmiştir (Tang ve ark., 2016). Bir başka çalışmada ise, nanenin su infüzyonu ve etanol ekstraktlarında, rutin, o-kumarik, şiringik asit ve sinapik asit de ilave olarak belirlenmiştir (Bahadori ve ark., 2018). Bu çalışmada fenolik asitlere ilaveten, ayrıca flavonoidlerden mirisetin, kuersetin ve kaempferol de tespit edilmiş olup, Patonay ve ark. (2017) özellikle Orta Avrupa kaynaklı nane bitkisinde değişen miktarlarda flavonoidlerin varlığının gözlemlendiğini belirtmiştir.

Tablo 3. Çalışmada Kullanılan Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Fenolik Madde Kompozisyonu

Fenolik	Anason	Adaçayı	Çemen	Defne	Ihlamur	Melisa	Nane	Reyhan	Rezene	Sinameki
Gallik asit	5.86±0.13	-	5.99±0.04	-	3.85±0.39	-	-	5.73±0.03	3.98±1.80	5.86±0.13
Protokateşuik asit	4.92±1.80	4.15±1.21	1.73±0.18	7.62±1.0	8.59±1.02	7.82±0.36	1.87±0.20	2.30±1.01	5.10±1.40	4.92±1.80
Kateşin	1.11±0.14	-	-	1.53±1.0	5.61±1.47	-	-	-	-	1.11±0.14
Klorojenik asit	-	7.51±3.14	1.92±0.47	-	-	5.63±0.03	2.45±0.84	1.13±0.35	17.73±1.7	-
p-Hidroksibenzoik asit	-	-	-	2.09±1.04	2.90±0.55	-	-	-	1.95±0.79	-
Şiringik asit	65.89±3.3	-	20.02±1.3	9.76±2.3	1.33±0.20	-	-	-	-	-
m-kumarik asit	-	8.98±4.71	-	-	-	0.87±0.04	-	-	-	-
o-Kumarik asit	-	-	-	-	-	-	38.82±6.5	11.46±0.91	-	-
Kirisin	22.08±1.7	-	-	14.56±3.1	-	-	4.82±1.15	-	-	-
Kafeik asit	15.47±8.0	4.77±0.22	1.98±0.13	3.62±0.5	0.90±0.32	3.88±0.29	4.70±0.25	5.97±2.11	3.03±1.25	15.47±8.0
p-Kumarik asit	-	3.49±1.00	5.98±2.67	1.62±0.3	-	1.69±0.11	-	-	2.30±0.54	-
Rutin	22.41±7.7	18.08±5.02	-	-	2.16±0.73	-	2.33±0.63	15.80±5.35	-	22.41±7.7
Ferulik asit	8.11±4.39	1.04±0.43	0.78±0.53	1.00±0.5	-	-	1.54±0.60	1.64±0.47	1.87±0.72	4.98±0.03
Mirisetin	32.40±2.3	-	24.19±4.8	-	-	-	27.50±0.0	27.71±0.51	-	-
Kuersetin	13.69±0.5	6.00±4.01	13.43±0.5	-	1.52±0.21	8.55±2.09	10.56±4.6	14.84±3.07	1.71±0.48	13.69±0.5
Kaempferol	8.93±2.20	2.98±1.41	-	5.05±0.1	-	3.46±0.69	12.26±1.5	5.15±0.31	-	8.93±2.20

4. Sonuç

Çalışmada kullanılan tıbbi ve aromatik bitkilerin radikal yakalama ve metal iyon indirgeme potansiyeli açısından antioksidan potansiyelleri değerlendirilmiş ve en yüksek değerlerin ıhlamur, adaçayı, defne yaprağı, melisa ve naneye ait olduğu; en düşük değerlerin ise anason, çemen ve rezeneyle ait olduğu görülmüştür. Toplam fenolik madde içeriği ile her bir antioksidan aktivite tayini arasında yüksek derecede korelasyon ($R^2=0.87-0.89$) gözlenmiştir. Çalışmada belirlenen fenolik madde içeriği açısından, en sık belirlenen fenolik asitler protokatesüik asit, kafeik asit, klorojenik asit, ferulik asit ve flavonoidlerden ise kuersetin ve kaempferol olmuştur. Her ne kadar bu bitkiler geleneksel günlük beslenmemizde kütlece az yer tutsa da, sahip oldukları biyoaktif bileşikler dolayısıyla bu bitkiler fonksiyonel gıda uygulamalarında veya doğal antioksidan olarak kullanımı açısından önemli bir potansiyele sahiptir.

Kaynakça

- Acıbuca, V., & Budak, D. (2018). Dünya ' da ve Türkiye ' de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yeri ve Önemi. *Çukurova Tarım Gıda Bilimleri Dergisi*, 33(1), 37–44.
- Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., & Albayrak, S. (2012). Antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of some medicinal herbs consumed as tea and spices in Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 36, 547-554. doi: 10.1111/j.1745-4514.2011.00568.x.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970–7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>
- Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions : Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89, 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.075>
- Bahadori, M. B., Zengin, G., Bahadori, S., & Dinparast, L. (2018). Phenolic composition and functional properties of wild mint (*Mentha longifolia* var . *calliantha* (Stapf) Briq .). *International Journal of Food Properties*, 21(1), 183–193. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1440238>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Boneza, M. M., & Niemeyer, E. D. (2018). Cultivar affects the phenolic composition and antioxidant properties of commercially available lemon balm (*Melissa officinalis* L.) varieties. *Industrial Crops & Products*, 112, 783–789. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.003>
- Anwar, F., Ali, M., Hussain, A.I., & Shahid, M. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) seeds from Pakistan. *Flavour and Fragrance Journal*, 24, 170–176. <https://doi.org/10.1002/ffj.1929>
- Generalic, I., Skroza, D., Surjak, J., Mozina, S. S., Ljubenkov, I., Katalinic, A., Simat, V., & Katalinic, V. (2012). Seasonal Variations of Phenolic Compounds and Biological Properties in Sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemistry & Biodiversity*, 9, 441–457. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201100219>
- Hasler, C. M. (2002). Functional Foods: Benefits, Concerns and Challenges—A Position Paper from the American Council on Science and Health. *The Journal of Nutrition*, 132(12), 3772–3781. <https://doi.org/10.1093/jn/132.12.3772>
- Kamiloglu, S., Capanoglu, E., Yilmaz, O., Duran, A. F., & Boyacioglu, D. (2014). Investigating the antioxidant potential of Turkish herbs and spices. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 6(2), 151–158.
- Kenny, O., Smyth, T. J., Hewage, C. M., & Brunton, N. P. (2013). Antioxidant properties and quantitative UPLC-MS analysis of phenolic compounds from extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and bitter melon (*Momordica charantia*) fruit. *Food Chemistry*, 141(4), 4295–4302. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.016>
- Khaled, M., Ahmed, Z., Abdel-khalek, H. H., & Mostafa, Y. (2017). Journal of Radiation Research and Applied Sciences Evaluation of antibacterial ef fi cacy of anise wastes against some multidrug resistant bacterial isolates. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 10(1), 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2016.11.002>
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T.A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85, 231–237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.007>
- Patch, C. S., Sullivan, D. R., & Fenech, M. (2006). Health benefits of herbs and spices: Cardiovascular disease. *The Medical Journal of Australia*, 185(4), S7-9.
- Patonay, K., Korózs, M., Murányi, Z., & Kónya, E. P. (2017). Polyphenols in northern Hungarian *Mentha longifolia* (L.) L . treated with ultrasonic extraction for potential oenological uses. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 41(3), 208–217. <https://doi.org/10.3906/tar-1701-61>
- 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 Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Salami, M., Rahimmalek, M., & Ehtemam, M. H. (2016). Inhibitory effect of different fennel (*Foeniculum vulgare*) samples and their phenolic compounds on formation of advanced glycation products and comparison of antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 213, 196–205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.070>
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., & Dhaka, N. (2013). Potential applications of antioxidants – A review. *Journal of Pharmacy Research*, 7(9), 828–835. <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.10.001>
- Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N., & Jayaprakasha, G. K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 81–86.

<https://doi.org/10.1021/jf010865b>

- Singleton, V. L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Tang, K. S. C., Konczak, I., & Zhao, J. (2016). Identification and quantification of phenolics in Australian native mint (*Mentha australis* R. Br.). *Food Chemistry*, 192, 698–705. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.032>
- Vallverdú-Queralt, A., Regueiro, J., Martínez-Huélamo, M., Fernando, J., Alvarenga, R., Leal, L.N., & Lamuela-Raventos, R.M. (2014). A comprehensive study on the phenolic profile of widely used culinary herbs and spices : Rosemary , thyme , oregano , cinnamon , cumin and bay. *Food Chemistry*, 154, 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.106>