

**Atf İçin:** Argon, M., Çalışkan, H., Çakır, C., Öztürk, M. ve Şabudak, T. (2024). *Alyssum sibiricum* Willd. Türünün Apolar Bileşenlerinin Belirlenmesi ve Antioksidan Aktivitesinin Tayini. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(3), 1177-1185.

**To Cite:** Argon, M., Çalışkan, H., Çakır, C., Öztürk, M. & Şabudak, T. (2024). GC-MS Analysis and Determination of Antioxidant Activity *Alyssum sibiricum* Willd. Plant. . *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(3), 1177-1185.

### *Alyssum sibiricum* Willd. Bitkisinin GC-MS Analizi ve Antioksidan Aktivitesinin Tayini

Merve ARGON<sup>1\*</sup>, Hilmican ÇALIŞKAN<sup>1</sup>, Cansel ÇAKIR<sup>2</sup>, Mehmet ÖZTÜRK<sup>2</sup>, Temine ŞABUDAK<sup>1</sup>

#### **Öne Çıkanlar:**

- Alyssum sibiricum* Willd. türünün hekzan ekstresinin kimyasal bileşenlerinin GC-MS ile ilk kez tayin edilmesi
- Alyssum sibiricum* Willd. türünün hekzan, kloroform, etil asetat ekstralarında ilk kez antioksidan aktivite tayini yapılması
- Kullanım alanlarına göre, *Alyssum sibiricum* bitkisi eczacılık ve kozmetik gibi çeşitli endüstrilerde potansiyel bir kaynak olabilecektir

#### **Anahtar Kelimeler:**

- Alyssum sibiricum*
- Brassicaceae
- antioksidan aktivite
- GC-MS

#### **ÖZET:**

Bu çalışmanın amacı, Trakya Bölgesinde yetişen *Alyssum sibiricum* Willd. bitkisinin ham ekstralarında antioksidan aktivitelerini incelemek ve hekzan ekstresinin kimyasal içeriğini GC-MS ile tayin etmektir. Bu amaçla; *Alyssum sibiricum* sırasıyla hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol ile ayrı ayrı ekstrakte edilmiş ve bu ekstratlarda antioksidan aktivite; DPPH, ABTS,  $\beta$ -Karoten-linoleik asit renk giderim aktivitesi ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Antioksidan aktivite sonuçlarına göre; tüm yöntemlerde, en yüksek antioksidan aktiviteyi metanol ekstresi göstermiştir. *A. sibiricum* bitkisinin hekzan ekstresinin GC-MS sonuçlarına göre, 41 bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşikler arasında; n-Dokosan (%23.24), palmitik asit (%15.02), laurik asit (%7.67) ve 1-hekzadekanol (%5.82), hekzan ekstresinin temel bileşiklerini oluşturmuştur. Bu çalışmanın, antioksidan bileşiklerin izolasyonu ve yapılarının aydınlatılması konusunda gelecekteki araştırmalara ışık tutacak bilgiler sunması beklenmektedir.

### GC-MS Analysis and Determination of Antioxidant Activity *Alyssum sibiricum* Willd. Plant

#### **Highlights:**

- Determination of chemical constituents of hexane extract of *Alyssum sibiricum* Willd. by GC-MS for the first time
- Determination of antioxidant activity in hexane, chloroform, ethyl acetate extracts of *Alyssum sibiricum* Willd. for the first time
- According to its uses, *Alyssum sibiricum* could be a potential resource in various industries such as pharmaceuticals and cosmetics

#### **Keywords:**

- Alyssum sibiricum*
- Brassicaceae
- antioxidant activity
- GC-MS

#### **ABSTRACT:**

The antioxidant activity of all organic extracts of *Alyssum sibiricum* Willd. growing in Trakya Region was investigated and the chemical content of hexane extract was identified by GC-MS this study. For this purpose, *Alyssum sibiricum* was extracted with hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol successively. The antioxidant activity of the extracts was investigated using DPPH, ABTS,  $\beta$ -Carotene-linoleic acid decolorization activity and CUPRAC methods. Methanolic extract showed the highest antioxidant activity in all methods. According to the GC-MS results of *A. sibiricum* plant, 41 components were detected. n-Docosan (23.24%), palmitic acid (15.02%), lauric acid (7.67%) and 1-hexadecanol (5.82%) were identified as the major components. It is anticipated that this study will provide insights that will inform future research on the isolation of antioxidant compounds and the elucidation of their structures.

<sup>1</sup> Merve ARGON (Orcid ID: 0000-0001-8108-5509), Hilmican ÇALIŞKAN (Orcid ID: 0000-0001-6356-0898), Temine ŞABUDAK (Orcid ID: 0000-0003-4384-4265) Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Tekirdağ, Türkiye

<sup>2</sup> Cansel ÇAKIR (Orcid ID: 0000-0002-6175-9008), Mehmet ÖZTÜRK (Orcid ID: 0000-0001-8932-4535), Muğla Sıtkı Koçma Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Üniversitesi, Muğla, Türkiye

\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Merve ARGON, e-mail: merweozer92@gmail.com

## GİRİŞ

*Alyssum* L. cinsi, Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika'ya özgü 230 türden oluşmaktadır. Tür zenginliği ve çeşitliliği Akdeniz ve Türkiye ile sınırlı olup, yalnızca birkaç tür Kuzey Afrika, Orta Asya, Sibirya ve Kuzey Amerika'da yayılış göstermektedir (Li vd., 2014). Bu bitki, özellikle, Trakya, Kuzey, Batı ve İç Anadolu, Balkanlar, Kırım ve Kafkaslarda, özellikle yamaçlarda, bozkırlarda ve açık alanlarda doğal olarak yayılış gösteren bir türdür (Al-Shehbaze ve Beilstein 2006). *Alyssum* türleri halk arasında; spazm ve ağrıların giderilmesinde (Saber Amoli vd., 2000), vezikal taşların düşürülmesinde (Souri vd., 2008), hemoroid tedavisinde (Savo vd., 2011; Raimondo ve Lentini 1990), idrar söktürücü ve ödem giderici olarak tüketilmektedir (Güngör 2013; Mart 2006).

Literatürde, *Alyssum* türleri ile ilgili çok az çalışma mevcuttur. Özay (2015)'ın yapmış olduğu tez çalışmasında Ege Bölgesinde yetişen 10 *Alyssum* türünün metanol ekstralarının (*A. strigosum* subsp. *strigosum*, *A. foliosum* var. *megalocarpum*, *A. virgatum*, *A. fulvescens* var. *fulvescens*, *A. cypricum*, *A. simplex*, *A. murale* var. *murale*, *A. corsicum*, *A. sibiricum*, *A. discolor*) antioksidan (metal şelatlama, DPPH,  $\beta$ -karoten ağartma, demir indirgeme, fosfomolibdenyum metodu), antibakteriyel ve sitotoksik aktiviteleri incelenmiş ve HPLC kullanılarak *Alyssum* türlerinin fenolik madde içerikleri araştırılmıştır. *A. discolor*, *A. virgatum* ve *A. simplex* türleri, gerçekleştirilen tüm deneylerde biyolojik olarak aktif taksonlar olarak belirlenmiştir. Eren vd. (2017)'nin yapmış olduğu çalışmada, *Alyssum virgatum* Nyar. bitkisinin su ekstresinde sitotoksik ve anti-sitotoksik özellikler araştırılmıştır. Lemraski ve Valadbeigi (2018) *A. homalocarpum* bitkisinin tohumları kullanılarak elde edilen metanol ekstresindeki kimyasal bileşenleri GC-MS metoduyla tayin ederek, ekstrenin antibakteriyel aktivesini incelemiştir.

Günümüzde tıbbi bitkiler ve bu bitkilerden kimyasal bileşenlerin elde edilmesi ve değerlendirilmesi bilimsel ve ekonomik açıdan oldukça önemlidir. Kimyasal bileşenler; anti-kanser (Jayaprakasha vd, 2002), antioksidan (Lee ve Shibamoto, 2002; Sezen vd., 2021; Vardar-Ünlü vd., 2003) ve antimikrobiyal (Hammer vd., 1999) özelliklere sahip olmasından dolayı farmakolojik etkileri günümüzde pek çok araştırmaya konu olmaktadır (Bayaz, 2014). Antioksidan aktiviteye sahip olan kimyasal bileşenler; sıklıkla tıbbi, farmasötik, kozmetik ve diğer kullanımlara sahip yeni biyoaktif bileşiklerin keşfi ve geliştirilmesinde potansiyel bir kaynak olarak gösterilmektedirler. Ayrıca; kimyasal bileşenler, gıda endüstrisinde alternatif katkı maddesi ve koruyucu olarak kullanılmaktadır. Kimyasal bileşenlerin sağlık üzerindeki olumlu etkileri ve doğal olmaları, onları sentetik antioksidanlara göre oldukça avantajlı hale getirmektedir (Gökşen ve Gümüş, 2021).

Bu çalışmada; Trakya Bölgesinde yetişen *A. sibiricum* bitkisinin hekzan ekstresinin GC-MS metodu ile kimyasal bileşenlerinin tayini ve hekzan, etil asetat, kloroform, metanol ekstralarının antioksidan etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda; *A. sibiricum* bitkisinin Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GC-MS) metodu ile kimyasal bileşenlerinin tayini ve üç ekstrede (hekzan, etil asetat ve kloroform) antioksidan aktivite tayiniyle ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bağlamda, yapılan bu çalışma, literatüre ilk defa sunulmuş olacaktır.

## MATERYAL VE METOT

### Bitkinin Toplanması ve Ekstraksiyonu

*A. sibiricum* Willd. bitkisi çiçeklenme zamanı olan Mayıs ayında, Trakya bölgesinden toplanmıştır. Bitkinin tanımlanma işlemi Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Dr. Öğr. Üyesi Necmettin GÜLER tarafından yapılmış ve Herbaryum numarası (EDTU16813) verilmiştir. Bitki toplanıp gölgede kurutulduktan sonra küçük kısımlara ayrılmış ve toz haline getirilmiştir. Bitkinin

kuru ağırlığı 121.29 gram olarak tartılmıştır. Oda koşullarında, büyük cam kavanozlara koyulmuştur. Her seferinde 2 gün bekletilerek, toplamda 2 defa olmak üzere maserasyon yöntemi kullanılarak ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon işlemi, artan polarite sırasına göre hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol kullanılarak ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Daha sonra çözücüler evaporatörde uçurularak ham ekstratlar elde edilmiştir (Aydın Kurç, 2023).

### Uçucu bileşiklerin GC-MS ile tayini

Kromatografik analiz; kütle spektroskopisi ile bir araya getirilmiş bir Hewlett-Pack-ard HP 6890 serisi GC-MS cihazında ve HP-5MS (30m x 250 µm x 0.25 mm) kapiler kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Helyum, 1 mL / dakika akış hızında ve 5 µL enjeksiyon hacmi ile taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. Numuneler, cihaza enjeksiyon yapıldıktan sonra, başlangıçta 2 dakika boyunca 70°C'de tutulan kolona verilmiş ve daha sonra sıcaklık 10°C/dakika bir ısıtma rampası ile 300°C'ye yükseltilmiştir. Çalışma süresi 50 dakika olarak kaydedilmiştir. Enjeksiyon sıcaklığı 280°C'dir. Wiley 9 ve NIST kütüphanelerinden yararlanılarak bileşik tayinleri gerçekleştirilmiştir. Ayrılan bileşiklerin göreceli yüzdesi bilgisayarlı integratör kullanılarak, Toplam İyon Kromatografisinden hesaplanmıştır. Retensiyon indeksleri (RI) kapsamlı olacak şekilde, bir dizi n-alkan (C<sub>6</sub>-C<sub>22</sub>) serisi kullanılarak aynı kromatografik şartlar altında belirlenmiştir (Orhan vd., 2009).

### Ekstrelerde antioksidan aktivite tayini

#### *DPPH serbest radikal giderim aktivitesi yöntemi*

DPPH serbest radikal giderim aktivitesi Blois (1958) tarafından belirtilen yöntemle göre küçük değişimler yapılarak ölçülmüştür. Bitkiden elde edilen ham ekstratlar, 25, 50, 200 ve 400 µg/mL olmak üzere dört farklı konsantrasyon hazırlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerden 40 µL alınarak 96 kuyucuklu plakalara konulmuş ve üzerine 160 µL 0.4 mM DPPH çözeltisi eklenmiştir. Oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta bekletilmiş ve 517 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Negatif standart olarak etil alkol, pozitif standart olarak α-Tokoferol, BHA ve BHT kullanılmıştır. Sonuçlar % inhibisyon konsantrasyon grafiğinden %50 inhibisyona karşılık gelen (IC<sub>50</sub>) miktar olarak verilmiştir. DPPH radikali süpürücü etkisi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{İnhibisyon (\%)} = (A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}} \times 100$$

#### *ABTS katyon radikal giderim aktivitesi yöntemi*

Ekstrelerin katyonik radikal giderim aktivitesi, ABTS radikal katyonu kullanılması ile belirlenmiştir (Re vd., 1999; Khatua vd., 2017). 7 mM ABTS<sup>•+</sup> hazırlamak için 19.2 mg ABTS 5 mL su içerisinde çözülmüştür. Son konsantrasyon 2.45 mM olacak şekilde üzerine K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> eklenip, karıştırılarak oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 12-16 saat bekletilmiştir. Çözelti bekletildikten sonra, absorbansı 0.70 olacak şekilde etanol ile seyreltilip deneyde kullanılmıştır. Bitkiden elde edilen ham ekstratlar, 25, 50, 200 ve 400 µg/mL olmak üzere dört farklı konsantrasyon hazırlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerden 40 µL alınarak 96 kuyucuklu plakalara konularak üzerine 160 µL ABTS<sup>•+</sup> çözeltisi eklenmiştir. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiş ve 734 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Negatif standart olarak etil alkol, pozitif standart olarak α-Tokoferol, BHA ve BHT kullanılmıştır. Sonuçlar % inhibisyon konsantrasyon grafiğinden %50 inhibisyona karşılık gelen (IC<sub>50</sub>) miktar olarak verilmiştir. ABTS katyon radikali giderim aktivitesi aşağıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{İnhibisyon (\%)} = (A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}}) / A_{\text{Kontrol}} \times 100$$

**CUPRAC yöntemiyle antioksidan aktivitenin belirlenmesi**

Apak ve arkadaşlarının geliştirdiği bakır (II) iyonu indirgeme yöntemi kullanılarak antioksidan kapasitesi belirlenmiştir (Apak vd., 2004). Bitkiden elde edilen ham ekstraktlardan, 25, 50, 200 ve 400 µg/mL olmak üzere dört farklı konsantrasyon hazırlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerden 40 µL alınarak 96 kuyucuklu plakalara konularak üzerine 50 µL 10 mM CuCl<sub>2</sub>, 50 µL 7.5 mM neokuprin ve 60 µL amonyum asetat (NH<sub>4</sub>Ac) tampon (1 M, pH 7.0) çözeltileri eklenerek karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 60 dakika bekletilmiş ve 450 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Negatif standart olarak etil alkol, pozitif standart olarak α-Tokoferol, BHA ve BHT kullanılmıştır. Sonuçlar, absorbans verilerine karşı konsantrasyon verileri kullanılarak grafiğe geçirilmiş ve elde edilen grafikte 0.500 absorbansa karşılık gelen derişimler bulunmuştur. Bakır (II) iyonlarının yarısını indirgeyebilen bu derişimler A<sub>0.5</sub> (µg/mL) olarak ifade edilmiştir.

**β-Karoten-linoleik asit sistemiyle toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi**

Toplam antioksidan aktivite tayini, linoleik asit oksidasyonu nedeniyle oluşan konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonunun ölçümü ile belirlenmiştir (Miller, 1971). 0.5 mg β-Karoten 1 mL kloroform içerisinde çözülmüş ve üzerine 200 mg Tween-40 ile 20 µL linoleik asit eklenerek homojen hale getirilmiştir. Sonrasında kloroform vakum altında uçurulmuştur. Daha sonra üzerine önceden oksijen ile doyurulmuş 50 mL su ilave edilerek kuvvetlice çalkalanmasıyla β-Karoten reaktifi hazırlanmıştır. Bitkiden elde edilen ham ekstraktlardan, 25, 50, 200 ve 400 µg/mL olmak üzere dört farklı konsantrasyon hazırlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan 40 µL örneğin üzerine 160 µL hazırlanan β-karoten reaktifi ilave edilmiştir. Emülsiyon, ilavenin hemen ardından 96 kuyucuklu plaka okuyucu kullanılarak başlangıç absorbansları 470 nm'de ölçülmüştür. 50°C'de 180 dakika inkübasyona bırakılıp, kontrol tüpündeki β-karotenin rengi kayboluncaya kadar inkübasyona devam edilerek her 30 dakikada bir absorbansları ölçülmüştür. Negatif standart olarak etil alkol, pozitif standart olarak α-Tokoferol, BHA ve BHT kullanılmıştır. Sonuçlar % inhibisyon konsantrasyon grafiğinden %50 inhibisyona karşılık gelen (IC<sub>50</sub>) miktar olarak verilmiştir. β-karotenin renk açılım oranı (R), aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$R = (\ln a/b)/t$$

ln: doğal logaritma, a: başlangıç absorbansı, b: inkübasyondan sonraki absorbans, t: inkübasyon süresi (dk). R<sub>Örnek</sub> örneğin renginin açılma hızı ve R<sub>Kontrol</sub> kontrolün renginin açılma hızıdır.

Antioksidan aktivitesi (AA) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$AA (\% \text{ İnhibisyon}) = (R_{\text{Kontrol}} - R_{\text{Örnek}}) / R_{\text{Kontrol}} \times 100$$

**BULGULAR VE TARTIŞMA**

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, *A. sibiricum* bitkisinin hekzan ekstresinin GC-MS analiziyle, 41 bileşik tayin edilmiştir (Çizelge 1). Bu bileşikler fonksiyonel gruplarına göre değerlendirildiğinde; ekstraktta temel bileşenler hidrokarbonlar (%29.91), doymuş yağ asitleri (%29.75), alkoller (%11.49) ve eterlerden (%10.1) oluşmaktadır (Çizelge 1). Özellikle, *A. sibiricum* bitkisinin hekzan ekstresi, n-dokosan (%23.24), palmitik asit (%15.02), laurik asit (%7.67) ve 1-hekzadekanol (%5.82) açısından potansiyel bir kaynak olabileceği düşünülmektedir.

Yapılan araştırmalara göre n-alkanların bitkiler için endojen olduğu düşünülmektedir (Iyer vd., 1998); C<sub>8</sub>-C<sub>35</sub> aralığındaki uzun zincirli yağ asitlerinin dekarboksilasyonunun bir sonucu olarak oluşurlar, en bol olanlar C<sub>21</sub> ve C<sub>35</sub> arasındadır (Lanzon vd., 1994; McGill vd., 1993). Bu çalışmada da %23.24 oranında tespit edilen n-dokosan bileşiği, hekzan ekstresinin temel bileşenini oluşturmaktadır.

Çizelge 1. A. sibiricum bitkisinin hekzan ekstresindeki bileşikler

No	RT	RI	Bileşikler	Yüzde miktarları (%)
<b>Hidrokarbonlar</b>				
1	21.613	1629	Oktadekan	1.47
2	23.050	1700	Heptadekan	0.25
3	23.354	1807	2-Metil nonadekan	0.36
4	24.676	1900	Nonadekan	0.21
5	26.329	1945	2-Metil eikosan	3.75
6	26.699	2200	n-Dokosan	23.24
7	27.285	2300	Trikosan	0.63
<b>Doymuş yağ asitleri</b>				
8	11.069	1084	Dekanoik asit (Kaprik asit)	0.79
9	13.794	1265	Dodekanoik asit (Laurik asit)	7.67
10	16.139	1430	Tetradekanoik asit (Miristik asit)	2.18
11	18.392	1464	Hekzadekanoik asit (Palmitik asit)	15.02
12	19.985	1488	14-Metil Pentadekanoik asit	0.93
13	20.366	1494	Heptadekanoik asit	2.95
14	25.177	1847	1-Monopalmitin	0.21
<b>Alkoller</b>				
15	19.592	1482	1-Tetradekanol	0.30
16	20.105	1490	9,12-Tetradekadien-1-ol, (Z,E)-	4.46
17	20.638	1498	1-Hekzadekanol	5.82
18	26.889	1998	2-Nonadekanol	0.91
<b>Eterler</b>				
19	22.505	1597	Bis-(2-Etilheksil)eter	5.21
20	24.819	1819	$\alpha$ -11-epi-dihidroartemisinin etil eteri	4.56
21	25.879	1903	1,4-Fendiol mono-tetra dekanil eter	0.33
<b>Ketonlar</b>				
22	17.086	1444	6,10-Dimetil undekanon	1.83
23	20.160	1491	13-Metil-Okzasiklotetradekan-2,11-dion	3.69
<b>Doymamış hidrokarbonlar</b>				
24	11.406	1095	1-Dodesen	0.93
25	14.081	1372	1-Tetraadesen	1.16
26	16.482	1435	1-Pentadesen	0.90
27	18.656	1481	1-Hekzadesen (Keten)	0.52
28	20.570	1497	2-Metil-1-Pentadesen	0.32
<b>Amidler</b>				
29	25.696	1888	9-Oktadesenamid (oleoamid)	3.28
<b>Yağ asidi esterleri</b>				
30	17.936	1457	Metil pentadekanoat	0.43
31	20.419	1495	10-Undekanoik asit bütül esterli	0.80
32	21.288	1530	Diizobütül adipat	0.30
33	25.550	1877	2-Okso-oktadekanoik asit metil esterli	0.39
<b>Esterler</b>				
34	16.393	1434	İzobütül kaprat	0.58
35	23.405	1650	dl-2-Etilheksil malonat	0.45
36	23.496	1656	2-Hidroksi-1-(hidroksimetil)etilester pentadekanoik asit	0.39
<b>Aldehitler</b>				
37	24.468	1803	Oktadekanal	0.92
38	26.128	1927	10-Oktadesenal	0.40
<b>Fenolik bileşikler</b>				
39	13.102	1173	2,4-Di-ter-bütülfenol	0.87
<b>Doymamış yağ asidi</b>				
40	23.913	1681	9-Oktadesenoik asit (oleik asit)	0.36
<b>Monoterpen</b>				
41	18.005	1458	2,5-Sikloheksadien-1,4-dion,2,6-bis(1,1-Dimetiletil)	0.24
<b>Fonksiyonel grup</b>				<b>Miktar (%)</b>
Hidrokarbonlar				29.91
Doymuş Yağ asidi				29.75
Alkol				11.49

**Çizelge 1.** *A. sibiricum* bitkisinin hekzan ekstresindeki bileşikler (devamı)

Eter	10.1
Keton	5.52
Doymamış hidrokarbonlar	3.83
Amid	3.28
Yağ asidi esteri	1.92
Ester	1.42
Aldehit	1.32
Fenolik bileşik	0.87
Doymamış yağ asidi	0.36
Monoterpen	0.24
<b>Toplam</b>	<b>100.01</b>

Palmitik, stearik, oleik, laurik, miristik asitler; temel olarak, çeşitli kozmetik kremlerde, sabunlarda ve macunlarda emülgatör, yumuşatıcı ve yağlayıcı olarak kullanılan, ilgili alkali tuzların üretiminde ara ürün olan bileşiklerdir. Bu yağ asitleri, gıdalarda hamurlaştırıcı, yağlayıcı, bağlayıcı ve köpük giderici ajanlar olarak ve diğer gıda sınıfı katkı maddelerinin üretiminde reaktifler olarak da kullanılmaktadır (Çakmakçı ve Tahmas-Kahyaoğlu, 2012). Bu çalışma sonuçlarına göre, *A. sibiricum* bitkisinin hekzan ekstresinde, %15.02 palmitik asit tespit edilmiş olup, bitkinin palmitik asit açısından potansiyel bir kaynak olabileceği düşünülmektedir.

*A. sibiricum* bitkisinin hekzan ekstresinde, %7.67 laurik asit tayin edilmiştir. Laurik asit adı, defne ailesi *Lauraceae*'den türetilmiş, bir doymuş yağ asididir. Laurik asit, hayvansal veya bitkisel katı ve sıvı yağların genellikle sabunlaştırma yoluyla hidrolizi ve ardından fraksiyonel damıtma yoluyla üretilmektedir. Laurik asit yaygın olarak hindistan cevizi yağından izole edilmekte olup, literatürde, birçok patentli sentezi bulunmaktadır (Çelik ve Yılmaz, 1996; Altan Şallı vd., 2021).

Golkar ve Fotoohi (2019), İran'da yetişen *Alyssum* cinsine ait beş türde (*A. lepidotum*, *A. homolocarpum*, *A. minus* ve *A. Maritimum*), GC-MS metodu ile bitkilerin kimyasal bileşenlerini tayin etmiştir. Çalışmanın sonucuna göre; bitkilerde tayin edilen yağ asidi miktarları, *A. lepidotum* %24.43, *A. minus* %20.65 ve *A. maritimum* %30.02 olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda, *A. sibiricum*'dan %29.75 yağ asidi bileşenlerinin gözlenmesi, bizim çalışma sonuçlarımızın literatür ile uyumluluğunu kanıtlamıştır.

Çizelge 2'de *A. sibiricum* bitkisinin hekzan, etil asetat, kloroform ve metanol ekstralarının antioksidan aktivitelerinin sonuçları  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) ve  $A_{0.5}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) olarak verilmiştir. Düşük  $IC_{50}$  değerleri, yüksek aktiviteyi ifade etmektedir. Antioksidan aktivite tayini sonuçlarına göre, metanol ekstresi; ABTS ( $IC_{50}$ : 54.77  $\mu\text{g/mL}$ ), DPPH ( $IC_{50}$ : 234.6  $\mu\text{g/mL}$ ), CUPRAC ( $A_{0.5}$ : 146.5  $\mu\text{g/mL}$ ) ve  $\beta$ -karoten-linoleik asit yönteminde ( $IC_{50}$ : 112.5  $\mu\text{g/mL}$ ), diğer ekstralere kıyasla daha yüksek aktivite göstermektedir. Etil asetat ekstresi; ABTS ( $IC_{50}$ : 87.13  $\mu\text{g/mL}$ ) ve DPPH ( $IC_{50}$ : 641.59) yöntemlerinde, metanol ekstresinden daha düşük aktivite göstermiştir. Birbirlerine karşı üstünlükleri olsa da ABTS, DPPH ve CUPRAC deneyleri; antioksidanların elektron verme kabiliyetlerini ölçmektedir (Albayrak vd., 2010).  $\beta$ -karoten-linoleik asit deneyinde ise, antioksidanın elektron verme kabiliyetinin yanı sıra, antioksidanın hidrojen radikali ( $H^{\cdot}$ ) verme ve radikalleri söndürme kabiliyetlerinin tamamı ölçülmektedir (Ayaz, 2021). Çalışmada kullanılan antioksidan tayin yöntemlerinin hepsi, *A. sibiricum* bitkisinin metanol ekstresinde bulunan kimyasal bileşiklerin, diğer ekstralarda bulunan kimyasal bileşiklerden daha fazla elektron verme kabiliyetine sahip olduğunu ve bu nedenle daha yüksek aktivite olduğunu göstermiştir.

Özay'ın 2015 yılında yapmış olduğu tez çalışmasında, Denizli ilinden topladığı *A. sibiricum* bitkisinin sadece metanol ekstresinde DPPH, fosfomolibdenyum, metal şelatlama,  $\beta$ -karoten/linoleik asit ve demir indirgeme yöntemleriyle antioksidan aktivite tayini gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada DPPH yöntemiyle metanol ekstresinin aktivitesi  $IC_{50}$ : 120  $\mu\text{g/mL}$  olarak bulunurken, bizim

çalışmamızda IC<sub>50</sub>: 234.6 µg/mL olarak tayin edilmiştir. Bu iki farklı sonuç değerlendirildiğinde; bitkinin yetiştiği toprak, topraktaki minerallerin etkisi, iklim değişikliği gibi sebeplerden kaynaklanabileceği öngörülmektedir. Literatüre bakıldığında, Tozyılmaz ve arkadaşları (2021), *A. sibiricum* bitkisinin etanol ekstresinde DPPH (EC<sub>50</sub>: 3.63 mg/mL) yöntemiyle antioksidan aktivite tayini gerçekleştirmiştir. Bizim çalışmamızda ise, *A. sibiricum* bitkisinin metanol ekstresinde DPPH (IC<sub>50</sub>: 234.61 µg/mL) yöntemiyle antioksidan aktivite tayini yapılmıştır. Bu iki çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde; sonuçların farklı olmasının sebebi, bu çalışmaların aynı bitkiyle, fakat farklı ekstreler kullanılarak antioksidan aktivite tayininin gerçekleştirilmiş olmasından kaynaklanmaktadır. *A. sibiricum* bitkisinin metanol ve etanol ekstreleri farklı fitokimyasal bileşenler içerdiğinden dolayı, DPPH yöntemiyle yapılan antioksidan aktivite tayininde farklı sonuçlar elde edilmiştir.

**Çizelge 2.** *A. sibiricum* bitkisinin ham ekstrelerinin antioksidan aktivite tayini sonuçları

Ekstreler	ABTS <sup>++</sup> Deneyi	DPPH Deneyi	CUPRAC Deneyi	β-Karoten-linoleik asit Deneyi
	IC <sub>50</sub> (µg/mL) NT	IC <sub>50</sub> (µg/mL) NT	A <sub>0.5</sub> (µg/mL) NT	IC <sub>50</sub> (µg/mL) NT
Hekzan ekstresi				
Kloroform ekstresi	299.83 ± 6.34	NA	265.38 ± 3.08	211.75 ± 14.85
Etil asetat ekstresi	87.13 ± 2.68	641.59 ± 3.26	268.00 ± 3.35	276.75 ± 4.79
Metanol ekstresi	54.77 ± 1.05	234.61 ± 3.04	146.51 ± 1.42	112.48 ± 6.35
α-Tokoferol <sup>b</sup>	21.63 ± 0.45	26.61 ± 0.21	85.48 ± 1.64	4.61 ± 0.45
BHT <sup>b</sup>	12.64 ± 0.21	9.02 ± 0.11	17.84 ± 0.31	5.64 ± 0.21
BHA <sup>b</sup>	3.42 ± 0.06	8.28 ± 0.17	11.96 ± 0.27	2.42 ± 0.06

<sup>a</sup> Sonuçlar ortalama değer olarak hesaplanmıştır ve ortalama ± standart hata olarak verilmiştir (n = 3). p < 0.05,

<sup>b</sup> Referans bileşik, NT: Test edilemedi, NA: Aktivite yok, BHA: Bütillenmiş hidroksi anisol, BHT: Bütillenmiş hidroksi toluen

## SONUÇ

Bu çalışmada, *A. sibiricum* bitkisinin hekzan, etil asetat, kloroform ve metanol ekstrelerinde DPPH, ABTS, CUPRAC ve β-karoten/linoleik asit metotları kullanılarak antioksidan aktivitesi araştırılmış ve hekzan ekstresindeki kimyasal bileşiklerin tayini GC-MS metoduyla gerçekleştirilmiştir.

*A. sibiricum*'un hekzan ekstresinin GC-MS sonuçlarına bakıldığında; hekzan ekstresinin hidrokarbonlar, doymuş yağ asitleri ve esterler bakımından zengin olduğu görülmüş ve hekzan ekstresindeki temel bileşiklerin; n-dokosan (%23.24), palmitik asit (%15.02), laurik asit (%7.67) ve 1-hekzadekanol (%5.82) olduğu belirlenmiştir.

*A. sibiricum* bitkisinin ham ekstrelerinde antioksidan aktivite tayinin sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre, metanol ekstresinin en yüksek aktiviteyi gösterdiği gözlenmiştir. Yapılan antioksidan aktivite çalışmalarında, metanol ekstresinin yüksek aktivite göstermesi, ekstrede bulunan bileşiklerinin elektron verme kabiliyetinin diğer ekstrelerde bulunan kimyasal bileşiklerden daha iyi olmasından kaynaklanmaktadır.

Yapılan araştırmalar ve bulgular; bitkilerden elde edilen uçucu/yarı uçucu bileşenlerin gıda sektöründe, kozmetikte, geleneksel tıpta kullanılmasında ve hangi spesifik hastalıklar için faydalı olabileceğinin anlaşılmasında önemli rol oynamaktadır. Temiz etiket ve kimyasal madde içermeyen alternatiflere yönelik tüketici tercihi arttıkça, doğal içeriklere olan ilgi de gün geçtikçe artmaktadır. Tüketiciler; sağlık bakımından daha yararlı olduğu düşüncesiyle doğal ürünlerden özellikle antioksidanlara yönelmektedir. Doğada yaygın olan ve doğal antioksidanlar açısından zengin olan türlerin veya ekstrelerinin tüketimi, güvenli antioksidan maddeler bakımından gittikçe önemli bir konu haline gelmiştir. Yapılan bu çalışmanın, antioksidan bileşikleri izole etmek ve aydınlatmak için gelecek çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

### Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

### Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

### KAYNAKLAR

- Albayrak, S., Sağdıç, O. & Aksoy, A. (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(4), 401-409.
- Al-Shehbaz, I., & Beilstein, M. A. (2006). Systematic and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview. *Plant Systematic and Evolution*, 56, 89-120.
- Altan Şallı, G., Erdem, T. L., Ünlü, Ö., Demirci, M., Egil, E., Katiboğlu, A. B. & Özdal Zincir, Ö. (2021). Klorheksidin, flukonazol, laurik asit ve hindistan cevizi yağının *Kandida* türleri üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilmesi: In vitro çalışma. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 31(3), 331-336.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981.
- Ayaz, E. (2021). Türkiye’de Yetişen *campanula lyrata* Lam. subsp. *lyrata*’nın enzim inhibe edici etkilerinin ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 8(1), 100-108.
- Aydın Kurç, M., Orak, H. H., Gülen, D., Caliskan, H., Argon, M. & Sabudak, T. (2023). Antimicrobial and antioxidant efficacy of the lipophilic extract of *cirsium vulgare*. *Molecules*, 28, 7177.
- Bayaz, M. (2014). Esansiyel yağlar: Antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri. *Akademik Gıda*, 12, 45-53.
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- Çakmakçı, S. & Tahmas-Kahyaoğlu, D. (2012). Yağ asitlerinin sağlık ve beslenme üzerine etkilerine genel bir bakış. *Akademik Gıda*, 10(1), 103-113.
- Çelik, S. & Yılmaz, Ö. (1996). Defne (*Laurus nobilis* L.) yaprak ve meyvesinin yağ asitleri bileşimi. *Gıda*, 21(3), 165-167.
- Eren, Y., Akyıl, D. & Çalık, İ. (2017). *Alyssum virgatum* Nyar. su ekstraktlarının sitotoksik ve antisitotoksik özellikleri. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(3), 57-64.
- Golkar, P. & Fotoohi, A. (2019). Assessment of Essential Oils from Different Iranian Species of *Alyssum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 55(5), 953-955.
- Gökşen, G. & Gümüş, P. (2021). The future trend natural preservatives in the food system: essential oils. *European Journal of Science and Technology, Special Issue* 28, 440-443.
- Güngör, M. E. (2013). *Ege lokman şifalı bitkiler ansiklopedisi-A*. Sertan Yayınları, Bursa, Türkiye.
- Hammer, K. A., Carson, C. F. & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86(6): 985-990.
- Iyer, S., Millar, T., Clemens, S., Zachgo, S., Giblin, M., Taylor, D. M. & Kunts, L. (1998). Characterization of CUT1, a cuticular wax-specific condensing enzyme of *Arabidopsis thaliana*. Sanchez, J., Cerda-Olmedo, E., Martinez-Force, E. (Ed.). *Advances in Plant Lipid Research* (pp.87). Secretariado de publicaciones Universidad de Sevilla, Seville.
- Jayaprakasha, G. K., Negi, P. S. & Sakariah, K. K. (2002). Evaluation of antioxidant activities and antimutagenicity of turmeric oil: A byproduct from curcumin production. *Zeitschrift Fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences*, 57(9-10): 828-835.
- Khatua, S., Ghosh, S. & Acharya, K. (2017). Simplified Methods for Microtiter Based Analysis of *in vitro* Antioxidant Activity. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 11(2): 327-335.



- Lanzon, A., Albi, T., Cert, A. & Gracian, J. (1994) The hydrocarbon fraction of virgin olive oil and changes resulting from refining. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71: 285–291.
- Lee, K. G. & Shibamoto, T. (2002). Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17): 4947-4952.
- Lemraski, E.G. & Valdbeigi, T. (2018). Evaluation of in vitro antimicrobial, antidiabetic and antioxidant potential of *Alyssum homalocarpum* and green synthesis of the silver nanoparticles. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 1, 1-8.
- Li, Y., Kong, Y., Zhang, Z., Yin, Y., Liu, B., Lv, G., & Wang, X. (2014). Phylogeny and Biogeography of *Alyssum* (Brassicaceae) Based on Nuclear Ribosomal ITS DNA Sequences. *Journal of Genetics*, 93(2), 313-323. <https://doi.org/10.1007/s12041-014-0362-3>
- Mart, S. (2006). *Bahçe ve Hasanbeyli (Osmaniye) halkının kullandığı doğal bitkilerin etnobotanik yönden araştırılması* (Yüksek lisans tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji ABD, Adana, Türkiye.
- McGill, A. S., Moffat, C. F., Mavkie, P. R. & Cruickshank, P. (1993). The composition and concentration of n-alkanes in retail samples of edible oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61, 357–362.
- Miller, H. E. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 48, 91.
- Orhan, I., Deliorman-Orhan, D. & Ozcelik, B. (2009). Antiviral activity and cytotoxicity of the lipophilic extracts of various edible plants and their fatty acids. *Food Chemistry*, 115, 701-705.
- Özay, C. (2015). *Ege Bölgesi'ndeki Bazı Alyssum L. Taksonlarının Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi ve Aktif Bileşenlerinin Karakterizasyonu* (Doktora tezi). Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji ABD, Denizli, Türkiye.
- Raimondo, F. M. & Lentini, F. (1990). Indagini etnobotaniche in Sicilia. I. Le piante della flora locale nella tradizione popolare delle Madonie (Palermo). *Naturalista siciliano* (Palermo), 4, 77-99.
- 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, 1231-1237.
- Saber Amoli, S., Kalirad, A., & Rahmani, Q. (2000). Presentation of special medicinal plants with interesting properties from province Kerman. Tehran 1st International Congress on Traditional Medicine and Materia Medica (Abstract Book), Tehran, Iran.
- Savo, V., Giulia, C., Maria, G. P. & David, R. (2011). Folk phytotherapy of the Amalfi Coast (Campania, Southern Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, 135(2), 376-92.
- Sezen, S., Özer, S. & Çınar F. (2021). Turunç (*Citrus aurantium* L.) yaprak ve meyve kabuğu uçucu yağlarının kimyasal bileşenleri, antioksidan ve antibakteriyel etkinlikleri. *Mediterranean Fisheries and Aquaculture Research*, 4(3): 58-73.
- Souri, E., Amin, G., Farsam, H., & Barzandeh Tehrani, M. (2008). Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(2), 83-87.
- Thayumanavan, B. & Sadasivam, S. (2003) Terpenoids. *Molecular host plant resistance to pests*. New York: CRC Press.
- Tozyılmaz, V., Ceylan, Y., & Bülbül, A. S. (2021). Determination of Antimicrobial, Antioxidant and Antibiofilm Activity of Some *Alyssum* L. Species in Anatolian Flora. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 24(4), 715-724.
- Vardar-Ünlü, G., Candan, F., Sökmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, M., Donmez, E. & Tepe, B. (2003). Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* fisch. et mey. var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(1): 63–67.
- Yanishlieva, N. V. & Marinova, E. M. (2001) Stabilization of edible oils by natural antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103: 732–767.