

Erzincan ve Çevresinde Yayılış Gösteren Bazı Endemik *Tanacetum L. (Asteraceae)* Taksonlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

Ayşe Gül CANIKLIOĞLU^{1*}, Zafer TÜRKMEN², Ali KANDEMİR³

¹Giresun Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Temel Eğitim Bölümü, Giresun, Türkiye

²Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Giresun, Türkiye

³Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzincan, Türkiye

Geliş / Received: 27/12/2017, Kabul / Accepted: 15/04/2018

Öz

Bu çalışmada, Erzincan'da yayılış gösteren üç ayrı endemik taksonun [*Tanacetum heterotomum*, *Tanacetum densum* subsp. *eginense* ve *Tanacetum alyssifolium*] yapraklarının etanol ve kloroform ekstraktlarının antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri; DPPH radikali süpürme aktivitesi, indirgeme gücü, toplam fenolik içeriği, toplam flavonoid içeriği, ABTS radikali süpürme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi ve toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesi yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Çalışılan türler arasında, *Tanacetum heterotomum* ekstraktlarının, birçok parametre için en yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, Endemik, Erzincan, *Tanacetum*

Determination of The Antioxidant Activities of Some Endemic *Tanacetum L. (Asteraceae)* Taxa Which Have Been Installed in Erzincan and Environment

Abstract

In this study, the antioxidant activities of the chloroform and the ethanol extracts of the leaves of three different endemic taxa spreading around Erzincan [*Tanacetum heterotomum*, *Tanacetum densum* subsp. *eginense* and *Tanacetum alyssifolium*] were investigated. The antioxidant activities of the extracts were identified by using DPPH radical scavenging activity, reducing power, total phenolic content, total flavonoid content, ABTS radical scavenging activity, metal chelating activity and determination of total antioxidant capacity methods. Among the extracts studied, it was determined that, the extracts of *Tanacetum heterotomum* had the highest activity for many parameters.

Keywords: Antioxidant activity, Endemic, Erzincan, *Tanacetum*

1. Giriş

Bitkilerin, insan sağlığının devamlılığı ve hayat kalitesinin yükseltilmesi üzerinde çok büyük payı olduğu bilinmektedir (Winston, 1999). Tarihsel süreç içinde bitkiler, insanlar tarafından çok farklı amaçlar için kullanılmıştır. Bitkilerden ilk olarak ilaç, daha sonra da parfüm ya da boya yapımında yararlanıldığı bilinmektedir. Bitkilerin tedavi amaçlı kullanıldıklarına dair ilk kanıtlar M.Ö. 2600 yılında Mezopotamya'da bulunmuştur.

Toprak tabletler üzerine çivi yazısı ile yazılmış ilk kanıtlarda yaklaşık olarak 1000 adet bitkinin içeriğinin tedavide kullanıldığı belirtilmiştir. *Cedrus L.* (sedir) türleri, *Cupressus sempervirens L.* (mazı), *Glycyrrhiza glabra L.* (meyan kökü) ve *Papaver somniferum L.* (haşhaş), tabletler üzerinde adları bulunan bitkilerdendir. Bu bitkiler, öksürükten soğuk algınlığına kadar pek çok rahatsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır (Newman vd., 1999).

Antioksidanlar; serbest radikal oluşmasını kısıtlayan, serbest radikallerin oluştuğu tepkimeleri durduran, reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan radikalleri işlevsiz hale getiren ve hasarlı moleküllerin ortadan kaldırılmasını sağlayan yapılardır (Eren, 2011). Vücutta bulunan antioksidanların oluşturduğu koruma kısıtlıdır. Eğer reaktif oksijen türleri (ROS) miktarı, canlıların antioksidan kapasitesinin üzerine çıkarsa oksidatif stres ortaya çıkar. Bu sebeple, vücuda dışarıdan alınan besinlerle antioksidan takviyesi yapılmalıdır. Gerçekleştirdikleri bu etkilerle antioksidanlar; kanser, kalp-damar hastalıkları gibi farklı problemlerin engellenmesinde ve yaşlanmanın geciktirilmesinde oldukça önem arz ederler (Lichtenthäler vd., 2003; Price vd., 2006). Günümüzde BHA (bütillenmiş hidroksianisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), PG (propil gallat) ve TBHQ (t- bütül hidrokinon) en çok kullanılan sentetik antioksidanlardır. Ancak sentetik antioksidanlar ve oluşturdukları yan ürünlerin çeşitli hastalıklara yol açabileceğini ortaya koyan çalışmalar vardır. Bu nedenle doğal kaynaklardan, sentetik antioksidanların yerini tutabilecek yeni antioksidan maddelerin bulunmasına yönelik çalışmalar giderek önem kazanmış ve bu alanda yapılan çalışmalar artmıştır (Yi vd., 2007; Kil, vd., 2009). Sentetik ilaçların kullanımını sonucu ortaya çıkan ciddi yan etkiler ve bunların yol açtığı medikal ve ekonomik sorunlar bitkilerle tedaviyi tekrar popüler hale getirmiştir (Özbek, 2005). Doğaya dönüş süreci böyle bir ihtiyaçla başlamış, talebin büyüklüğü arzı gerekli kıldığı için bugün bilhassa gelişmiş ülkelerde bitkisel kökenli ilaç ve kozmetik sanayi hızla gelişen sektörler haline gelmiştir.

Dünyada bu uygulamalar yapılırken, Türkiye’de de sağlıklı yaşam için mineral, vitamin ve antioksidan madde satışları gittikçe artış gösteren bir sektör haline gelmiştir. Artık insanların yedikleri ve içtikleri besinlerden tat alma konusunda sıkıntı yaşamaya başlamaları doğal besinlere,

tabiiğe olan merakın artışı da bilim dünyasını bu yöndeki araştırmalara ağırlık vermeye sevk etmiş durumdadır (Diken, 2009).

Bitkilerle gerçekleştirilen çok çeşitli araştırmalar sonucunda, bitkilerin yapılarında sekonder metabolit olarak isimlendirilen kimyasal maddelere sahip oldukları belirlenmiştir. Bu maddeler bitkilerin ekosistemle olan ilişkisinde, adaptasyonlarında, savunma, korunma, yaşamı devam ettirme, çoğalma gibi önemli olaylarda bitkilere çeşitli avantajlar kazandırmaktadır (Bourgau vd., 2001). Bu bileşikler içinde, bitkiyi hastalık yapıcı organizmalara karşı koruyan antibakteriyel, antifungal, antiviral maddeler (fitoaleksinler), çimlenme engelleyici maddeler, doğal yaşamda rekabet gücünü (allelopati) yükselten maddeler ve zehirli maddeler; ultraviyole ışınlar, tuzluluk, kuraklık gibi zararlı çevresel etkenlerin ortaya çıkardığı stres koşullarında dayanıklılığı artıran metabolitler; zararlı hayvanlar ve otlara karşı korunmayı sağlayan insektisit, herbisitler; tozlaşma ve tohum dağılımını sağlayıcı, hayvanları etkileyen renkli ve güzel kokulu metabolitler yer almaktadır (Charwood ve Rhodes, 1990).

Pek çok bitkide, canlılar için zararlı bazı bileşiklerin oluşumunu engelleyen farklı antioksidan maddelerin olduğu da bilinmektedir. Meyve ve sebzeler, baharatlar, bitkisel çaylar ve yağlı tohumların içermiş oldukları antioksidan bileşikleri pek çok çalışmaya konu olmuş ve antioksidan etkilerinin fenolik bileşiklerden ve özellikle flavonoidler yapısından kaynaklandığı gösterilmiştir (Diri, 2006). Doğal antioksidanlar arasında en önde gelenler; karotenoidler, vitaminler, fenoller, flavonoidler, glutasyon ve endojen metabolitlerdir. Bitki kökenli antioksidan maddeler singlet ve triplet oksijen tutucu, serbest radikal gidericisi, peroksit parçalayıcı, enzim inhibitörleri ve sinerjistler olarak görülürler (Larson, 1988). Çeşitli araştırmalar, daha çok meyve ve sebze

ağırlıklı beslenen kişilerin, daha az hastalandığı, kalp krizi riskinin azaldığı, kansere yakalanma olasılığının düştüğü ve ölüm oranının azaldığını belirtmektedir (Ak, 2006).

Yapılan araştırmalar gıdaların, sahip oldukları besin değerlerinin yanı sıra insan sağlığı için yararlı etkiler oluşturduğunu da göstermektedir. Son dönemde insanların tükettikleri besinlerin yapısındaki antioksidan maddeler ve özellikleri oldukça fazla araştırılmaktadır. Yüksek oranda C, E, B vitamini ve karoten içerdikleri için meyveler, sahip oldukları antioksidan kapasitesi açısından oldukça dikkat çekmektedir (Ames vd., 1993). Bu nedenle, besinler ve canlılarda doğal olarak mevcut birçok molekülün, antioksidan kapasitesinin araştırılması önem kazanmıştır (Price vd., 2006; MacDonald Wicks vd., 2006).

Ülkemizde *Tanacetum* L. cinsine ait birçok tür, bahsedilen içerikler bakımından henüz test edilmemiştir. Yaptığımız çalışmalarla, Erzincan ve çevresinde yayılış gösteren *T. heterotomum*, *T. densum* subsp. *eginense* ve *T. alyssifolium* endemik türlerinin antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Bitki Örneklerinin Temini ve Ekstraksiyon Prosedürü

Bitkilerin çiçekli formları Mayıs-Temmuz 2014 tarihleri arasında araziden toplanmış ve teşhisleri yapılmıştır. Çalışılan türlerden *Tanacetum heterotomum* Erzincan Ovası Kemah çıkışı, *Tanacetum densum* subsp. *eginense* Erzincan-Kemaliye, Salihli Köyü üstü, taşlı yamaçlar ve *Tanacetum alyssifolium* Erzincan-Kemah-İliçyolundan Yahşiler köyüne 3. km, jipslerden toplanmıştır. Bu bitkilerin birer örneği Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda saklı tutulmaktadır.

Bitki örneklerinin yaprakları laboratuvarda oda sıcaklığında 48 saat kurutulduktan sonra

öğütücü kullanılarak toz haline getirilmiştir. 20 g toz bitki örneği, etanol ekstraktlarının elde edilebilmesi için 200 ml etanol içerisinde, kloroform ekstraktlarının elde edilebilmesi için de 200 ml kloroform içerisinde ayrı ayrı Soxhlet cihazına yerleştirilerek 7 saat ekstraksiyona tabi tutulup ekstraktlar Whatman (No:1) filtre kağıdıyla süzöldükten sonra 40 °C'de döner buharlaştırıcıda çözücüsü uzaklaştırılana kadar bekletilmiş, oluşan katı bitki ekstraktı, ileriki testlerde kullanılmak için derin dondurucuda -20 °C'ye kaldırılmıştır (Kumar vd., 2012). Bu işlem her bir bitki türü için ayrı ayrı uygulanmıştır.

2.2. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

Bitki ekstraktlarının ve standart antioksidan maddelerin DPPH radikali süpürme aktivitesi Brand-Williams ve arkadaşlarının metoduna göre tespit edilmiştir (Brand-Williams vd., 1995).

20 µg/mL DPPH çözeltisi metanolde çözülerek günlük hazırlanmıştır. Bu çözeltiden 1,5 mL alınarak üzerine farklı konsantrasyonlarda (250-1000 µg/mL) hazırlanan bitki ekstraktlarından 0,75 mL eklendi ve 30 dakika sonra absorbans değeri spektrofotometrede 517 nm'de ölçülmüştür. Kontrol olarak 0,75 mL metanol ve 1,5 mL DPPH çözeltisi kullanılmıştır. Standart antioksidan madde olarak BHT ve A-askorbik asit çözeltileri (250-1000 µg/mL) kullanılmış ve testler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. DPPH radikal giderme aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{DPPH Radikal Giderme Aktivitesi (\%)} = \frac{[A_0 - A_1]}{A_0} \times 100$$

A₀: Kontrolün absorbans değeri

A₁: Örnek veya standardın absorbansa değeri

2.3. İndirgeme Gücünün Belirlenmesi

Bitki ekstraktlarının ve standart olarak kullanılacak antioksidan maddelerin, DMSO ile 250-1000 µg/mL konsantrasyonlarında

çözeltileri hazırlanmıştır. Standart olarak askorbik asit ve BHT tercih edilmiştir. Bitki ekstraktlarının ve standart antioksidan maddelerin çözeltilerinden 2,5 mL alınarak üzerine sırasıyla fosfat tamponu (0,2 M, pH: 6,6; 2,5 mL) ve potasyum hegzasiyano ferrat (III) çözeltisi (%1; 2,5 mL) ilave edildikten sonra karışım su banyosunda 50°C'de 20 dk inkübe edilmiş, ardından tüplere TCA (%10; 2,5 mL) çözeltisi eklenerek karışım 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilmiştir. Çözeltinin üst fazından 2,5 mL alınıp bunun üzerine 2,5 mL destile su ve % 0,1'lik 0,5 mL FeCl₃ çözeltisi eklendikten sonra 10 dk bekletilmiş ve absorbanslar spektrofotometrede 700 nm'de okunmuştur. Kör hazırlanırken 5 mL destile su ve 2,5 mL FeCl₃ çözeltisi kullanılmıştır (Oyaizu, 1986). Testler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Absorbans artışı; bitki ekstraktlarının ve standart antioksidan maddelerin indirgeme gücünün yüksek olduğunun göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

2.4. Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi

Bitki ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteau (Folin C) ayırıcı ile Slinkard ve Singleton metoduna göre belirlenmiştir (Slinkard ve Singleton, 1977). Standart olarak kullanılan gallik asidin 1000 µg/mL konsantrasyonunda stok çözeltisi hazırlanmış, bu stok çözülden 20, 40, 60, 80 ve 100 µg/mL'lik çözeltiler hazırlanıp tüplere 0,1 mL standart çözülden eklenmiştir. Ardından tüplere sıra ile 4,5 mL distile su ve 0,1 mL Folin C reaktifi konulduktan 3 dakika sonra %2'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 0,3 mL eklenmiş, tüpler vortekslenip karışım 2 saat boyunca karanlıkta oda sıcaklığında bekletildikten sonra, standardın ve numunelerin absorbansı 760 nm'de köre karşı okunmuştur. Çalışma sırasında kullanılan bitki örnekleri ve kör benzer şekilde hazırlanarak oluşturulmuştur. Testler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Ekstraktlardaki toplam fenolik miktar, gallik asidin standart olarak kullanıldığı standart

grafik denkleminde gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g kuru ağırlık) olarak hesaplanmıştır.

2.5. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Bitki ekstraktlarında bulunan toplam flavonoid içeriği Zhishen ve arkadaşlarının yöntemine göre tespit edilmiştir (Zhishen vd., 1999). Çalışmada standart olarak kullanılan kateşinin, standart eğrisini çizmek için 20, 40, 60, 80 ve 100 µg/mL konsantrasyonunda kateşin çözeltileri hazırlanmıştır. Standart antioksidan maddelerin ve bitki ekstraktlarının (250-1000 µg/mL) hazırlanan çözeltilerinden (0,25 mL) alınarak üzerlerine destile su (1,25 mL) ve NaNO₂ (%5; 0,75 mL) eklenerek karıştırılmış ve 6 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. 6 dk sonra tüplere AlCl₃.6H₂O (%10; 150 µL) çözeltisi ilave edilerek tekrar 5 dk bekletilip sonra NaOH (1 M; 0,5 mL) eklenmiştir. Karışıma 275 µL destile su eklenerek karışımın absorbansı 510 nm'de spektrofotometrede ölçülmüştür. Testler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Toplam flavonoid miktarı kateşinin standart olarak kullanıldığı standart grafik denkleminde kateşin eşdeğeri (mg KAE/g kuru ağırlık) olarak hesaplanmıştır.

2.6. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi

Bitki ekstraktlarının ve standart antioksidan maddelerin metal şelatlama aktivitesi Dinis ve arkadaşlarının metoduna göre belirlenmiştir (Dinis vd., 1994). Çalışılacak bitki ekstraktlarının ve standart antioksidan maddelerin 1 mg/mL konsantrasyonunda DMSO ile stok çözeltileri 250, 500, 750 ve 1000 µg/mL'lik olarak hazırlanmıştır. Bitki ekstraktlarından ya da standart antioksidan maddelerden 5 mL alınarak üzerlerine 2 mM 0,1 mL FeCl₂ eklenerek karışım 30 dk bekletilmiş, ardından karışıma 5 mM 0,2 mL ferrozin eklenip iyice karıştırılmış ve 10 dk daha oda sıcaklığında bekletildikten sonra karışımın absorbansı köre karşı 562 nm'de ölçülmüştür. Standart antioksidan madde

olarak EDTA kullanılmıştır. Testler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Absorbans değerinin azalması; bitki ekstraktlarının veya standart antioksidan maddenin metal şelatlama aktivitesinin yüksekliğini gösterir. Bitki ekstraktlarının ve standart antioksidan maddelerin metal-şelat aktivitesi aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Aktivite: } [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀: 562 nm’de kontrolün absorbansı

A₁: 562 nm’de ekstraktın ya da standardın absorbansı

2.7. ABTS Radikali Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

ABTS radikali süpürme aktivitesi Arnao ve arkadaşlarının metoduna göre tayin edilmiştir (Arnao vd., 2001). 1 mL destile suda 7,4 mM ABTS çözülüp üzerine 2,6 mM K₂S₂O₈’den 1 mL eklendikten sonra karıştırılıp 12-16 saat karanlıkta tutulmuştur. Daha sonra bu karışımın üzerine 60 mL metanol ilave edilmiştir. Bu çözeltinin 734 nm’de spektrofotometrede absorbansı metanole karşı okunmuştur. ABTS’nin 734 nm’deki absorbansı 0,700±0,02 dir. Tüm çalışmalar için bu karışım günlük olarak hazırlanmış ve hazırlanan metanollü ABTS çözeltisinden 2,850 mL alınıp üstüne 150 µL bitki ekstraktları (250-1000 µg/mL) koyulmuş ve 2 saat karanlıkta tutulduktan sonra spektrofotometrede 734 nm’de absorbans değerleri okunmuştur. Testler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Standart olarak BHT ve Askorbik asit (250-1000 µg/mL) tercih edilmiş ve kontrol olarak da numune yerine metanol içeren reaksiyon karışımı kullanılmıştır. ABTS radikali giderme aktivitesi (%) aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\text{ABTS radikali giderme aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀: Kontrolün absorbans değeri

A₁: Örnek ve standardın absorbans değeri

2.8. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

Yöntemin esası Mo (VI)’nın Mo (V)’e indirgenmesi ve asit ortamda yeşil renkli fosfat/Mo (V) kompleksinin ortaya çıkmasına dayanır. Yöntemde öncelikle bitki ekstraktlarının çözeltileri, konsantrasyonları 1 mg/mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Standart olarak ise askorbik asit 0,5 mg/mL ile 0,0375 mg/mL arasında beş farklı konsantrasyonda kullanılmıştır. Yöntemde kullanılacak reaktif çözeltisi aşağıdaki gibi hazırlanmıştır:

0.6 M H₂SO₄ çözeltisi: 0,83175 mL H₂SO₄ alınıp 24,18825 mL saf su üzerine sızdırılarak ilave edilmiştir.

28 mM Na₂HPO₄.12H₂O çözeltisi: 0,025 g Na₂HPO₄.12H₂O tartılıp hacmi saf su ile 25 mL’ye tamamlanmıştır.

4 mM Amonyum molibdat çözeltisi: 0,123585 g amonyum molibdat tartılıp hacmi saf su ile 25 mL’ye tamamlanmıştır.

Ayrı ayrı oluşturulan çözeltiler bir mezürde birleştirilerek reaktif çözeltisi hazırlanmıştır. 1 mg/mL konsantrasyonunda bitkisel çözeltilerden 0,3 mL bir tüpe alınmış ve üzerine reaktif çözeltisinden 3 mL ilave edilmiştir. Tüpler güçlü bir şekilde karıştırılıp 95°C’de 90 dakika inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda çözeltilerin absorbansı 695 nm’de okunmuştur. Aynı işlemler standart antioksidan olarak kullanılan askorbik asit için de uygulanmıştır. Antioksidan aktivite askorbik asit eşdeğeri (mgAE/g kuru ağırlık) olarak hesaplanmıştır (Prieto vd., 1999).

3. Bulgular

Bitkisel kaynakların antioksidan aktivite araştırmaları sırasında en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri DPPH radikali süpürme aktivitesidir. Standart antioksidanların ve ekstraktların sahip olduğu DPPH radikali süpürme aktivitesinin tayini için hesaplanan % inhibisyon değerleri Tablo 1 de gösterilmiş ve bu değerlere göre çizilen grafik ise Şekil 1 de verilmiştir. Hesaplanan % inhibisyon değeri ne kadar yüksekse antioksidan etki de o kadar yüksek kabul edilerek sonuçlar değerlendirildi.

Erzincan ve Çevresinde Yayılış Gösteren Bazı Endemik *Tanacetum* L. (Asteraceae) Taksonlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

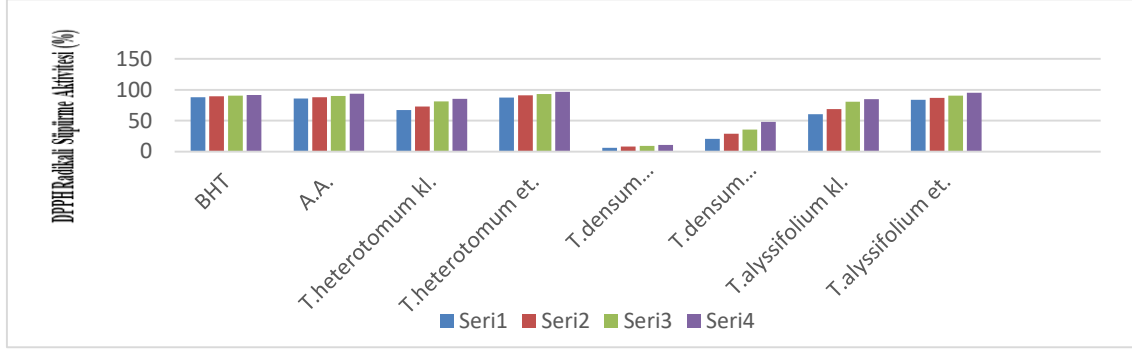
Bitki ekstraktlarının indirgeme güçlerinin belirlenmesi, sahip oldukları antioksidan kapasitenin anlaşılabilmesi için oldukça önemlidir. Çalışma sırasında kullanılan standart antioksidan maddelerin ve bitki ekstraktlarının indirgeme güçleri Oyaizu metodu kullanılarak belirlendi. Bu metodda Fe^{+3} Fe^{+2} ,ye indirgenerek Fe^{+2} spektrofotometrik olarak izlenir. Test çözeltilisinin sarı olan rengi ortamda bulunan antioksidan maddelerin etkisiyle yeşilin değişik tonlarına dönüşür (Gülçin, 2006; Gülçin vd., 2006). Ekstraktların absorbans değerlerinin artışı indirgeme gücünün yüksek olduğunu gösterir. Çalışılan ekstraktların indirgeme güçleri Tablo 2 de ve belirlenen değerlere göre çizilen grafik ise Şekil 2 de gösterilmiştir.

Tablo 1. Bitki ekstraktları ve standartların DPPH Radikalı Süpürme Aktivitesi % inhibisyon değerleri.

Örnekler	Kloroform Ekstrakt		Etanol Ekstrakt	
	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% İnhibisyon*	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% İnhibisyon*
<i>T. heterotomum</i>	250	67,21 \pm 0,79	250	87,41 \pm 0,47
	500	72,81 \pm 1,18	500	91,03 \pm 0,85
	750	81,49 \pm 0,65	750	93,28 \pm 0,33
	1000	85,31 \pm 0,32	1000	96,99 \pm 0,51
<i>T. densum eginense</i>	250	6,18 \pm 0,33	250	20,64 \pm 0,26
	500	8,42 \pm 0,18	500	28,95 \pm 0,05
	750	9,59 \pm 0,46	750	35,88 \pm 0,36
	1000	10,71 \pm 0,59	1000	48,13 \pm 1,37
<i>T. alyssifolium</i>	250	60,42 \pm 0,071	250	84,02 \pm 0,29
	500	69,03 \pm 0,077	500	86,78 \pm 0,91
	750	81,02 \pm 0,16	750	90,68 \pm 0,20
	1000	85,07 \pm 0,91	1000	95,18 \pm 0,51
BHT	250		88,12 \pm 0,91	
	500		89,66 \pm 0,56	
	750		90,47 \pm 0,18	
	1000		91,65 \pm 0,23	
Askorbik Asit	250		85,98 \pm 0,05	
	500		88,28 \pm 0,32	
	750		90,03 \pm 0,61	
	1000		93,83 \pm 0,19	

*Aritmetik ortalama \pm S.S

Erzincan ve Çevresinde Yayılış Gösteren Bazı Endemik *Tanacetum L.* (Asteraceae) Taksonlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi



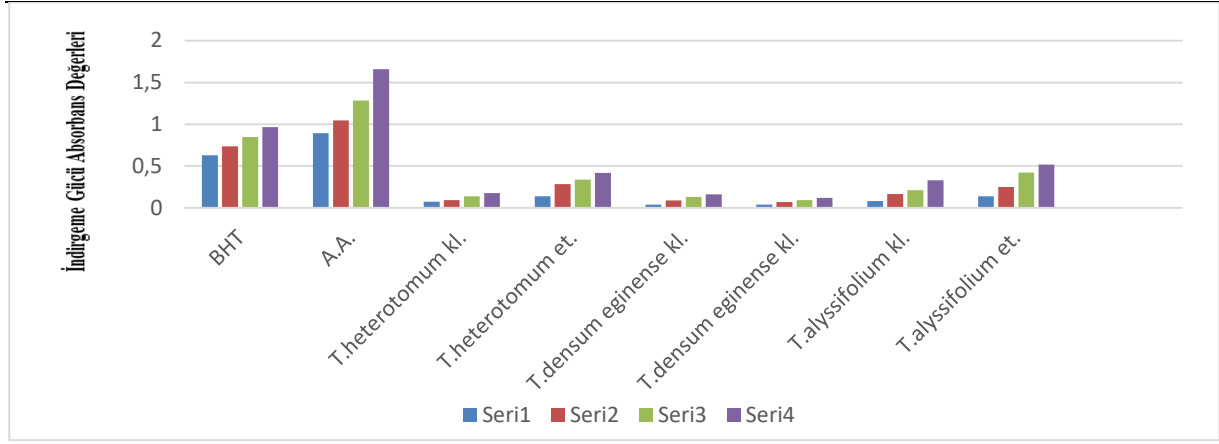
Şekil 1. Bitki ekstraktları, BHT ve Askorbik asitin DPPH radikali süpürme aktivitesi (% inhibisyon değerleri).

Tablo 2. Bitki ekstraktları ve standartların İndirgeme Gücü absorbans değerleri.

Örnekler	Kloroform Ekstrakt		Etanol Ekstrakt	
	Konsantrasyon (µg/mL)	Absorbans*	Konsantrasyon (µg/mL)	Absorbans *
<i>T. heterotomum</i>	250	0,072±0,00658	250	0,136±0,0021
	500	0,0908±0,0055	500	0,282±0,012
	750	0,139±0,0127	750	0,336±0,0125
	1000	0,177±0,00056	1000	0,417±0,0283
<i>T. densum eginense</i>	250	0,0393±0,0021	250	0,039±0,00049
	500	0,0876±0,0044	500	0,068±0,00792
	750	0,1301±0,009	750	0,0911±0,0034
	1000	0,162±0,0151	1000	0,117±0,0183
<i>T. alyssifolium</i>	250	0,0805±0,0035	250	0,138±0,0017
	500	0,164±0,0016	500	0,251±0,008
	750	0,21±0,0101	750	0,421±0,0058
	1000	0,328±0,0148	1000	0,519±0,0031
BHT	250		250	0,63±0,023
	500		500	0,74±0,047
	750		750	0,85±0,024
	1000		1000	0,96±0,021
Askorbik Asit	250		250	0,89±0,032
	500		500	1,05±0,022
	750		750	1,28±0,04
	1000		1000	1,66±0,101

*Aritmetik ortalama±S.S.

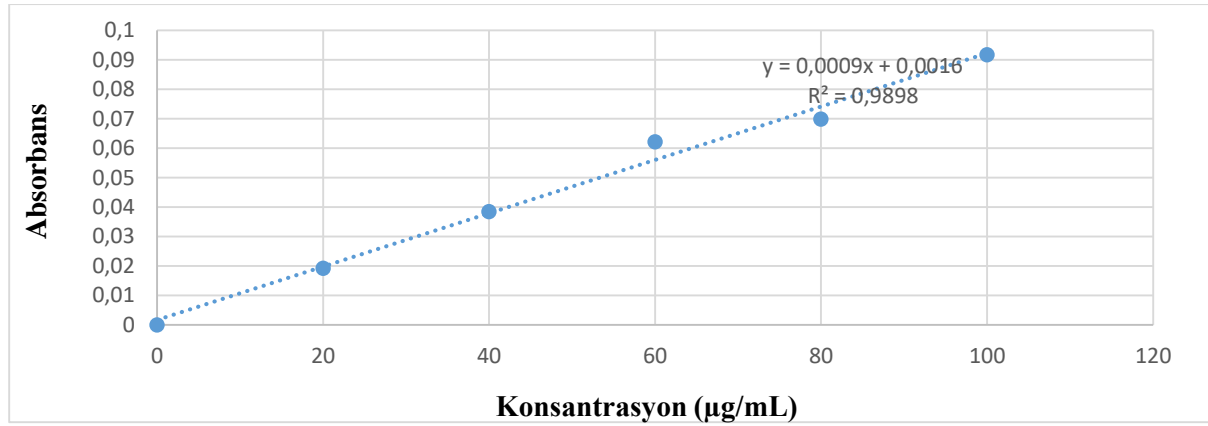
Erzincan ve Çevresinde Yayılış Gösteren Bazı Endemik *Tanacetum L. (Asteraceae)* Taksonlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi



Şekil 2. Bitki ekstraktları, BHT ve Askorbik asitin indirgeme güçleri.

Bitki yapısındaki fenolik maddeleri belirlemede en çok tercih edilen, Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak yapılan yöntemdir. Bu yöntemde, standart bir fenolik madde kullanılarak sonuçlar bu maddeye eşdeğer olacak şekilde hesaplanır. Çalışmamızda da tüm bitkilerin yaprak etanol ve kloroform ekstraktlarının fenolik içerikleri, Folin-Ciocalteu reaktifi

kullanılarak belirlendi. Standart olarak Gallik asit kullanıldı ve çıkan absorbans değerlerine göre standart grafiği çizildi (Şekil 3). Çizilen standart grafiği kullanılarak, bitki örneklerinin sahip olduğu toplam fenolik madde miktarları mg GAE/g kuru ağırlık olarak hesaplandı. Bu değerler Tablo 3 te gösterilmiştir.



Şekil 3. Gallik asit standart grafiği.

Tablo 3. Bitki ekstraktlarının toplam fenol içerikleri (mg GAE/g kuru ağırlık).

Bitki örnekleri	Kloroform Ekstrakt*	Etanol Ekstrakt*
<i>T. heterotomum</i>	300,32± 0,0024	177,51±0,0165
<i>T. densum eginense</i>	96,48±0,01	84,94±0,0095
<i>T. alyssifolium</i>	367,91±0,0057	470,02±0,0024

*Aritmetik ortalama±S.S.

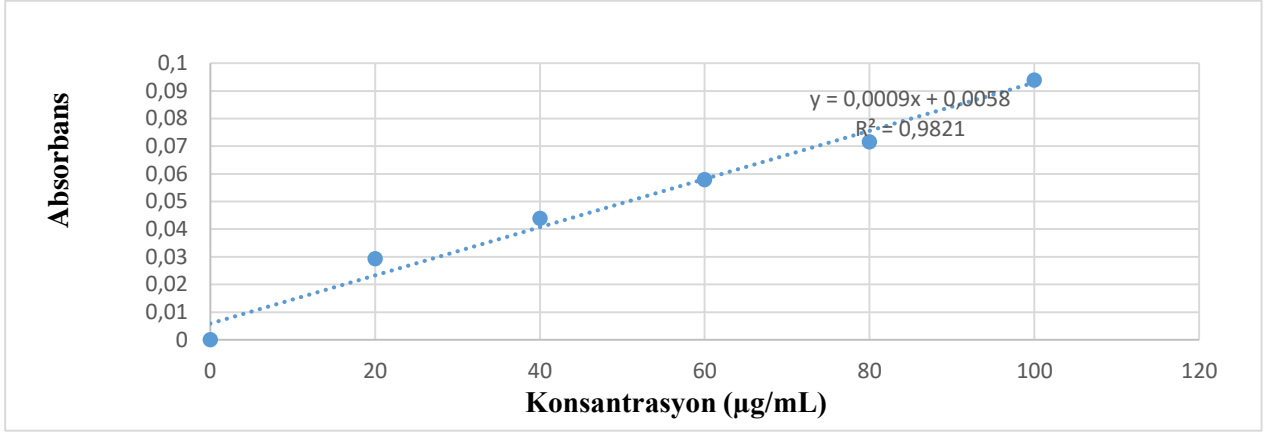
Çalışmamızda, bitki ekstraktlarının ve standart antioksidan olan kateşinin sahip oldukları toplam flavonoid içerikleri, Zhishen

ve Jiamming yöntemlerine göre belirlendi. Ekstraktların toplam flavonoid miktarları kateşine eşdeğer olarak hesaplandı. Kateşin eşdeğerlerinin hesaplanabilmesi için,

Erzincan ve Çevresinde Yayılış Gösteren Bazı Endemik *Tanacetum L.* (Asteraceae) Taksonlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

öncelikle farklı konsantrasyonlarda (20-40-60-80-100 µg/mL) çalışılan kateşinin kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 4) ve çizilen standart grafiği kullanılarak, bitki örneklerinin sahip olduğu toplam flavonoid

madde miktarları mg KAE/g kuru ağırlık olarak hesaplandı. Elde edilen veriler Tablo 4 te verilmiştir.



Şekil 4. Kateşin standart grafiği.

Tablo 4. Bitki ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri (mg KAE/g kuru ağırlık).

Bitki örnekleri	Kloroform Ekstrakt*	Etanol Ekstrakt*
<i>T. heterotomum</i>	158,03±0,0049	56,15±0,0009
<i>T. densum eginense</i>	52,78±0,0026	26,48±0,0038
<i>T. alyssifolium</i>	73,34±0,0042	56,85±0,0025

*Aritmetik ortalama±S.S.

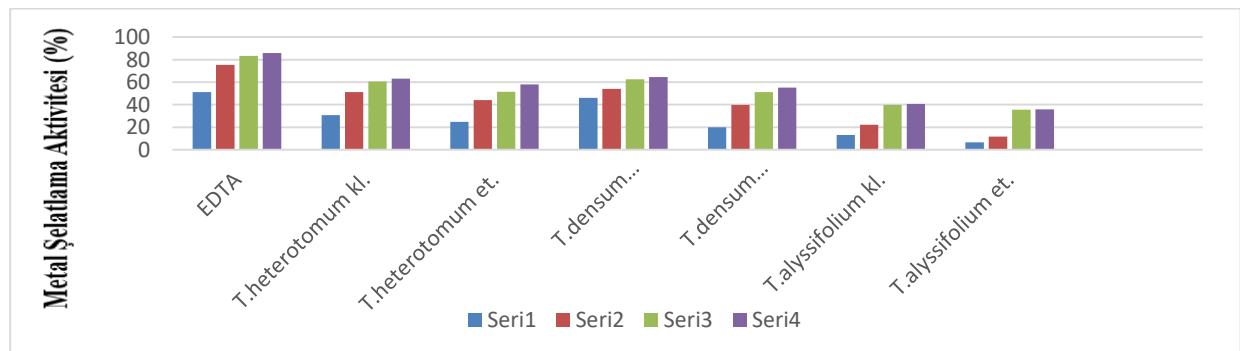
Araştırmalarımızda kullandığımız bitkilerin yaprak ekstraktlarının ve standart antioksidanın metal şelatlama aktiviteleri Dinis yöntemine göre belirlendi. Bu metotta bitki ekstraktları, kullanılan çözelti içindeki Fe⁺² iyonlarını yakalamak için ferrozin ile yarıştırlır. Standart antioksidan olan EDTA ve bitki ekstraktlarının metal şelatlama aktivitesinin tayini için % inhibisyon değerleri hesaplandı. Hesaplanan % inhibisyon değerleri Tablo 5 te belirtilmiştir.

Belirlenen % inhibisyon değerlerine göre çizilen % inhibisyon- konsantrasyon grafiği de Şekil 5 te gösterilmektedir. Hesaplanan % inhibisyon değeri ne kadar yüksekse, metal şelat aktivitesi o kadar yüksek kabul edilerek sonuçlar değerlendirilmiştir.

Tablo 5. Bitki ekstraktları ve EDTA'nın metal şelatlama aktivitesi % inhibisyon değerleri.

Örnekler	Kloroform Ekstrakt		Etanol Ekstrakt	
	Konsantrasyon (µg/mL)	% İnhibisyon*	Konsantrasyon (µg/mL)	% İnhibisyon*
<i>T. heterotomum</i>	250	30,84±0,296	250	24,87±1,06
	500	51,335±0,898	500	44,01±0,636
	750	60,455±0,615	750	51,605±0,728
	1000	63,115±0,134	1000	58,1±1,386
<i>T. densum eginense</i>	250	46,115±0,855	250	20,02±1,117
	500	54,135±0,106	500	39,8±0,297
	750	62,65±0,325	750	51,225±0,827
	1000	64,615±0,756	1000	55,15±0,537
<i>T. alyssifolium</i>	250	13,105±0,191	250	6,69±0,763
	500	22,135±0,162	500	11,64±0,368
	750	39,855±1,025	750	35,485±0,191
	1000	40,735±0,233	1000	35,96±0,523
EDTA	250		51,32±0,375	
	500		75,29±0,306	
	750		83,46±0,19	
	1000		85,79±0,129	

*Aritmetik ortalama±S.S.



Şekil 5. Bitki ekstraktları ve EDTA'nın metal şelatlama aktiviteleri.

Bitki ekstraktlarının ve standart antioksidan maddelerin ABTS radikali süpürme aktivitesi, Arnao ve arkadaşlarının yöntemine göre tayin edildi. 250-500-750-1000 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerinin absorbanları 734 nm'de okunduktan sonra % inhibisyon değerleri hesaplanarak Tablo 6

oluşturuldu. Hesaplanan değerlere göre çizilen % inhibisyon- konsantrasyon grafiği de Şekil 6 te gösterilmiş ve % inhibisyon değeri ne kadar yüksekse, ABTS radikali süpürme aktivitesi o kadar yüksek kabul edilerek sonuçlar değerlendirilmiştir.

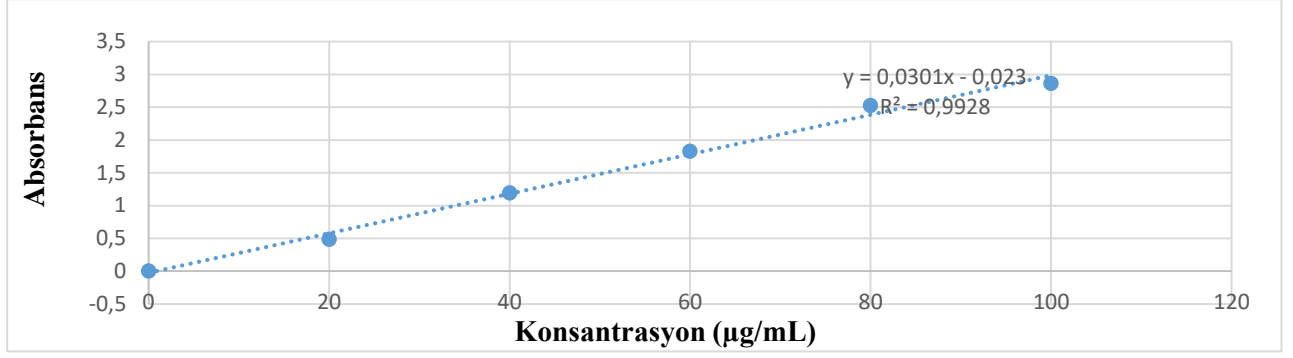
Tablo 6. Bitki ekstraktları ve standartların ABTS Radikali Süpürme Aktivitesi % inhibisyon değerleri.

Örnekler	Kloroform Ekstrakt		Etanol Ekstrakt	
	Konsantrasyon (µg/mL)	% İnhibisyon*	Konsantrasyon (µg/mL)	% İnhibisyon*
<i>T. heterotomum</i>	250	20,605±0,53	250	40,235±1,71
	500	26,78±0,38	500	57,515±0,431
	750	33,985±0,99	750	61,225±0,657
	1000	46,07±0,296	1000	69,815±0,785
<i>T. densum eginense</i>	250	11,405±0,431	250	12,625±0,233
	500	16,335±1,138	500	15,08±1,075
	750	18,31±0,82	750	19,835±0,29
	1000	21,15±0,65	1000	23,58±0,495
<i>T. alysifolium</i>	250	22,69±0,96	250	32,31±0,664
	500	29,695±1,068	500	45,34±0,099
	750	32,4±1,2	750	51,34±0,13
	1000	37,335±0,968	1000	56,455±0,841
BHT	250		97,09±0,166	
	500		98,056±0,0569	
	750		98,616±0,065	
	1000		99,26±0,046	
Askorbik Asit	250		96,66±0,051	
	500		97,17±0,11	
	750		98,16±0,051	
	1000		99,13±0,127	

*Aritmetik ortalama±S.S

Toplam antioksidan kapasitenin (ağırlık) olarak hesaplandı. Elde edilen belirlenmesini sağlayan metodun esası Mo (VI)'nın Mo (V)'e indirgenmesi ve asidik ortamda yeşil renkli fosfat/Mo (V) kompleksinin oluşumuna dayanır. Bitki ekstraktları ve standartın, amonyum molibdatlı çözeltileri hazırlanıp inkübe edildikten sonra, absorbansları 695 nm'de okundu. Standart olarak Askorbik asit kullanıldı ve çıkan absorbans değerlerine göre standart grafiği çizildi (Şekil 7). Çizilen standart grafiği kullanılarak, bitki örneklerinin sahip olduğu total antioksidan aktivite askorbik asit eşdeğeri (mgAE/g kuru

Erzincan ve Çevresinde Yayılış Gösteren Bazı Endemik *Tanacetum* L. (Asteraceae) Taksonlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi



Şekil 7. Askorbik asit standart grafiği.

Tablo 7. Bitki ekstraktlarının total antioksidan aktiviteleri (mg AE/g kuru ağırlık).

Bitki örnekleri	Kloroform Ekstrakt*	Etanol Ekstrakt*
<i>T. heterotomum</i>	21,51±0,0059	11,06±0,0021
<i>T. densum eginense</i>	5,52±0,0128	1,19±0,0048
<i>T. alyssifolium</i>	6,32±0,0009	13,38±0,0083

*Aritmetik ortalama±S.S.

4. Sonuçlar ve Tartışma

Tanacetum türleri, çok uzun zamandır halk ilacı olarak değişik amaçlar için tercih edilmektedirler. Bu nedenle bu cinsin biyoloji ve kimyasını araştırmak ilgi çekmiştir.

Günümüzde, *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip., antimigren etkisi nedeniyle, Feverfew (Gümüşdüğme) ekstresi adı altında, aktarlarda takviye edici gıda olarak satılmaktadır. Ayrıca aynı bitkinin antimikrotubular etkisi sayesinde, kanser hücrelerinin büyümesini etkili bir şekilde durdurduğu gözlenmiştir (Miglietta vd., 2004). *Tanacetum vulgare* L.'nin antimikrobiyal, antihelmantik, anti-enflamatuar, antispasmodik, antiülser, antiallerjen, insektisidal ve antimigren etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Schearer, 1984; Thiery ve Gabel, 1994). *Tanacetum argyrophyllum* (C.Koch) Tzvelev var. *argyrophyllum* yavşan olarak da bilinmektedir. Bu bitkinin herbası yakılıp külü vücuda sürülerek uyuz tedavisinde kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Bu çalışmada, Erzincan'da yayılış gösteren *Tanacetum* L. cinsine ait 3 endemik türün yaprak etanol ve kloroform ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri, 7 farklı yöntem kullanılarak tespit edilmiştir. Yapılan literatür çalışmaları sonucunda, araştırmamızda kullanılan bu 3 endemik tür ile ilgili antioksidan özellik değerlendirilmelerine rastlanılmamıştır.

Literatürdeki veriler incelendiğinde, aynı familya üyesi olan *Echinops phaeocephalus* Hand.-Mazz. metanol ve hekzan ekstraktlarının DPPH radikali süpürme aktiviteleri, standart olarak kullanılan BHT ile karşılaştırıldığında, daha yüksek olarak belirlenmiştir (Şapcı ve Vural, 2017).

Şapcı ve ark. (2018), bir başka çalışmada *Echinops emiliae* Schwarz ex P.H. Davis metanol, hekzan ve kloroform ekstraktlarının total fenolik ve total flavonoid içeriklerini araştırmışlar, özellikle hekzan ve metanol ekstraktlarının total fenolik içeriklerinin oldukça yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Konak ve ark. (2017), *Gundelia tournefortii* (Asteraceae) ile yaptıkları çalışmalar sonucunda, bu bitkinin potansiyel bir

antioksidan kaynağı olduğunu ve doğal antioksidan olarak günlük tüketilebileceğini tespit etmişlerdir.

Yapılan testlerin ardından elde edilen sonuçlar bize, test edilen tüm türlerin az ya da çok antioksidan aktiviteye sahip olduklarını göstermiştir. Ancak genel olarak değerlendirildiğinde birçok parametre için en yüksek aktiviteyi *T. heterotomum* ekstraktlarının, en düşük aktiviteyi ise *T. densum* subsp. *eginense* ekstraktlarının gösterdikleri belirlenmiştir.

Erdoğan (2012), yaptığı bir çalışmada, *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita*'nın toprak üstü kısımlarının, çeşitli çözücüler kullanarak oluşturduğu farklı ekstraktlarının 0,20 mg/ml konsantrasyonda, % DPPH giderme aktivitelerini, standart olarak kullandığı BHA, BHT, Troloks ve α -tokoferole kıyasla, sırasıyla; BHA > metanol ekstraktı > α -tokoferol > BHT \approx Troloks > aseton ekstraktı > etil asetat ekstraktı > saf su ekstraktı > diklorometan ekstraktı olarak bulmuştur. Belirlenen değerler sırasıyla; 82,50 \pm 0,70; 81,13 \pm 1,22; 80,26 \pm 0,37; 79,83 \pm 1,65; 79,22 \pm 1,10; 75,85 \pm 1,21; 74,67 \pm 0,47; 69,92 \pm 1,11 ve 62,73 \pm 1,04 şeklindedir.

Çalışılan *Tanacetum* türlerinin 250 μ g/mL konsantrasyonda, etanol ve kloroform ekstraktları ayrı ayrı karşılaştırıldığında; etanol ekstraktlarının kloroform ekstraktlarına göre daha yüksek aktivite gösterdikleri görülmüştür. 250 μ g/mL'de etanol ekstraktlarının standart olan BHT ve Askorbik asite göre % inhibisyon değerleri sırasıyla; BHT (88,12 \pm 0,91)> *T. heterotomum* (87,41 \pm 0,47)>Askorbik asit (85,98 \pm 0,05)> *T. alyssifolium* (84,02 \pm 0,29)> *T. densum eginense* (20,64 \pm 0,26) şeklindedir. Tepe ve Sökmen (2007) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada, 3 endemik *Tanacetum* alttürünün farklı antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Buna göre çalışmada kullanılan bu 3 endemik alttürün metanol ekstraktlarının total fenolik içerikleri; *T. densum* subsp. *sivasicum* (162,33 \pm 3,57)> *T. densum* subsp. *amani*

(158,44 \pm 2,17)>*T. densum* subsp. *eginense* (146,14 \pm 1,79) μ g GAE/mg ekstrakt olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda da *T. densum* subsp. *eginense*'nin kloroform ve etanol ekstraktları ile total fenolik içerik tespiti yapılmış ve sonuçlar; *T. densum* subsp. *eginense* kloroform ekstrakt (96,48 \pm 0,01)> *T. densum* subsp. *eginense* etanol ekstrakt (84,94 \pm 0,0095) mg GAE/g kuru ağırlık olarak hesaplanmıştır.

Erdoğan (2012), çalışmasında *T. balsamita* L. subsp. *balsamita* bitkisinin, çeşitli organlarının metanol ekstraktlarının total flavonoid içeriklerini belirlemiştir. Buna göre; kök metanol ekstrakt 28,90 \pm 3,23, yaprak metanol ekstrakt 25,14 \pm 2,76, çiçek metanol ekstrakt 21,27 \pm 1,54 ve gövde metanol ekstrakt 15,86 \pm 1,26 mg KE/g ekstrakt olarak hesaplanmıştır. Çalışmamızda ise *Tanacetum* cinsi 3 farklı bitki türünün yapraklarının etanol ve kloroform ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri belirlenmiştir. Buna göre araştırmalar sırasında kullanılan bitki ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri mg KAE/g kuru ağırlık olarak sırasıyla; *T. heterotomum* kloroform (158,03 \pm 0,0049)>*T. alyssifolium* kloroform (73,34 \pm 0,0042)>*T. alyssifolium* etanol (56,85 \pm 0,0025)>*T. heterotomum* etanol (56,15 \pm 0,0009)>*T. densum* subsp. *eginense* kloroform (52,78 \pm 0,0026)>*T. densum* subsp. *eginense* etanol (26,48 \pm 0,0038) olarak hesaplanmıştır.

Araştırma sonuçları literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında, farklı çalışmalarda farklı sonuçların elde edilebildiğini göstermektedir. Bu duruma neden olarak; çalışılan bitki türlerinin farklı olması, kullanılan çözücülerin farklı olması, bitkilerin farklı koşullarda yetişmesi, ekstraksiyon için kullanılan bitki partiküllerinin farklı büyüklükte olmaları, bitkilerin yapısındaki antioksidan özellikteki maddelerin ve bu maddelerin miktarlarının farklı olması, kullanılan ekstraktların antioksidan özelliklerinin farklı olması gösterilebilir.

5. Öneriler

Konu ile ilgili yapılacak sonraki çalışmalarda; kullanılan *Tanacetum* türlerinin, antioksidan aktivite gösteren ham ekstraktlarının, kimyasal yapıları araştırılıp etken maddelerin neler olduğu belirlenebilir ve buna göre çok çeşitli biyolojik etkileri ortaya çıkarılarak, farklı ekstreleri oluşturulup, takviye edici gıda şeklinde değerlendirilebilir ve doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilirler.

Teşekkür

Bu araştırmanın da içinde olduğu, FEN-BAP-C-250414-17 kodlu doktora çalışmasına destek veren Giresun Üniversitesi BAP Koordinatörlüğüne teşekkür ederiz.

6. Kaynaklar

Ak, T. 2006. Curcumin'in antioksidan ve antiradikal özelliklerinin incelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 86, Erzurum.

Ames, B.N., Shigenaga, M.K., Hagen, T.M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proceedings of the National Academy of Sciences, 90, 7915-7922.

Arnao, M.B., Cano, A., Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry, 73, 239-244.

Baytop, T. 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

Bourgaud, F., Grivot, A., Milesi, S., Gontier, E. 2001. Production of plant secondary metabolites; a historical perspective. Plant Science, 161, 839-851.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology, 28, 25-30.

Charwood, B.V., Rhodes, M.J.C. 1990. Secondary products from plant tissue culture. ISBN: 0-19-857717-6. Clarendon Press., Oxford.

Diken, M.E. 2009. Bazı şifalı bitkilerin antioksidan içerikleri, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 93, Balıkesir.

Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., Almeida, L.M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics, 315, 161-169.

Diri, M. 2006. *Coridothymus capitatus* (L.) Reichb. uçucu yağının analizi, su ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, Muğla Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 98, Muğla.

Erdoğan, M.K. 2012. *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamita* bitki ekstrelerinin biyolojik aktivitelerinin incelenmesi. Bingöl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 79, Bingöl.

Eren, E. 2011. Bazı soğansız bitkilerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 78, Sakarya.

Gülçin, İ. 2006. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. Life Sciences, 78, 803-811.

Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R. 2006. Antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3 o-(β-d-glucopyranosyl)-hederogenin. Phytotherapy Research, 20, 130-134.

Kil, H.Y., Seong, E.S., Ghimire B.K., Chung M., Kwon S.S., Goh E.J., Heo, K., Kim, M.J., Lim, J.D., Lee, D., Yu, C.Y. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of crude Sorghum extract, Food Chemistry, 115, 1234-1239.

- Konak, M., Ateş, M., Şahan, Y. 2017. Yenilebilir Yabani Bitki *Gundelia tournefortii*'nin Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 31(2), 101-108.
- Kumar, S., Dhankhar, S., Arya, V.P., Yadav, S., Yadav, J.P. 2012. Antimicrobial activity of *Salvadora oleoides* decne. against some microorganisms. Journal of Medicinal Plants Research, 6(14), 2754-2760.
- Larson, R.A. 1988. The antioxidants of higher plants. Pytochemistry, 27(4), 969-978.
- Lichtenthäler, R., Marx, F., Kind, O. 2003. Determination of antioxidative capacities using an enhanced total oxidant scavenging capacity (TOSC) assay. European Food Research and Technology, 216(2), 166-173.
- MacDonald Wicks, L.K., Wood L.G., Garg, M.L. 2006. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro a review. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86, 2046-2056.
- Miglietta, A., Bozzo, F., Gabriel, L., Boca, C. 2004. Microtubule-interfering activity of parthenolide, Chemo-Biological Interactions, 149, 165-173.
- Newman, D.J., Cragga, G.M., Snader, K.M. 1999. The influence of natural products upon drug discovery. Natural Product Reports, 17, 215-234.
- Oyaizu, M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Japanese Journal of Nutrition, 44, 307-315.
- Özbek, H. 2005. Cinsel ve Jinekolojik Sorunların Tedavisinde Bitkilerin Kullanımı. Van Tıp Dergisi, 12 (2), 170-174.
- Price, J.A., Sanny, C.G., Sheylin, D. 2006. Application of manual assesment of oxygen radical absorbent capacity (ORAC) for use in high through put assay of total antioxidant, activity of drugs and natural products. Journal of Pharmacologica land Toxicological Methods, 54, 56-61.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphor molybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry, 269, 337-341.
- Scheerer, W.R. 1984. Components of Oil of Tansy (*Tanacetum vulgare*) that repel colorada potato beetles (*Leptinotarsa decemlineata*). Journal of Natural Products, 47(6), 964-969.
- Slinkard, K., Singleton, V.L. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28, 49-55.
- Şapcı, H., Vural, C. 2017. *Echinops phaeocephalus* (Asteraceae) Türünün Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesi. KSU Journal of Natural Sciences, 20(4), 355-360.
- Şapcı, H., Vural, C., Özcan, S. 2018. Antimicrobial and Antioxidant activity of *Echinops emiliae* (Asteraceae). International Journal of Secondary Metabolite (IJSM), 4(3), 400-405.
- Tepe, B., Sokmen, A. 2007. Screening of the antioxidative properties and total phenolic contents of three endemic *Tanacetum* subspecies from Turkish flora. Bioresource Technology, 98(16), 3076-3079.
- Thiery, D., Gabel, B. 1994. Non-host plant odor (*Tanacetum vulgare*; Asteraceae) affects the reproductive behavior of *Lobesia botrana* den. et schiff (Lepidoptera: Tortricidae). Journal of Insect Behavior, 7(2), 149-157.
- Winston, J.C. 1999. Health-promoting properties of common herbs. American Journal of the Clinical Nutrition, 70 (Supplements), 491-499.
- Yi, O., Jovel, E.M., Towers, G.N., Wahbe, T. R., Cho, D. 2007. Antioxidant and

antimicrobial activities of native *Rosa* sp. from British Columbia, Canada. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58(3), 178-189.

Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.