

**Atf İçin:** Hayta B, Gülaboğlu M, Kutlu Z, 2021. *Hippophae Rhamnoides* L. (Yabani İğde) Bitkisinin Meyve Ekstraktlarının *In Vitro* Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(4): 2992-3002.

**To Cite:** Hayta B, Gülaboğlu M, Kutlu Z, 2021. Investigation of *In Vitro* Antioxidant Properties of Fruit Extracts of *Hippophae Rhamnoides* L.. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(4): 2992-3002.

### ***Hippophae Rhamnoides* L. (Yabani İğde) Bitkisinin Meyve Ekstraktlarının *In Vitro* Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması**

Bilal HAYTA<sup>1</sup>, Mine GULABOĞLU<sup>1</sup>, Zerrin KUTLU<sup>1\*</sup>

**ÖZET:** *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı polaritelere sahip ekstraktlarının toplam fenolik bileşik, total antioksidan aktivite, indirgeyici güç ve aktivite testlerinin yapılması çalışmamızın amacını oluşturmaktadır. Bu çalışmada *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı polaritelere sahip ekstraktlarının toplam fenolik bileşik, total antioksidan aktivite, Fe<sup>+3</sup>- Fe<sup>+2</sup> indirgeme kapasitesi ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal giderme aktivitesi yöntemi, ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikası)) radikal giderme aktivitesi, FRAP metoduna göre Fe<sup>+3</sup>TPTZ indirgenme kapasitesi ve CUPRAC metoduna göre Cu<sup>+2</sup>-Cu<sup>+1</sup> indirgeme kapasitesi ile tespit edildi. *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstraktlarındaki total antioksidan kapasiteleri, fenolik bileşik miktarları ve indirgeyici güç analizleri sonucunda diğer ekstraktlara göre en yüksek etki etanol ekstresinde olduğu tespit edildi. DPPH radikali süpürme kapasitesi ve ABTS katyon radikali süpürücü kapasite % inhibisyon değerleri diğer ekstraktlara göre etanol ekstresinde oldukça yüksek olduğu tespit edildi. Ayrıca FRAP radikali süpürme kapasitesi ve CUPRAC katyon radikali süpürücü kapasite değerleri de diğer ekstraktlara etanol ekstresinde daha yüksek olduğu tespit edildi. Bu çalışmada analiz edilen *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen daha çok etanol ekstresinde olmak kaydıyla metanol, su ve n-hekzan ekstraktlarında yüksek antioksidan aktivite, yüksek indirgeyici güç ve toplam fenolik bileşik bakımından zengin olduğu tespit edildi. Mevcut çalışmanın tek amacı, kitleler tarafından kabul edilebilirliğini artırmak için modern bulgularla desteklenen halk hekimliğinde kullanılan potansiyelini ortaya çıkarmaya destek olmaktır.

**Anahtar Kelimeler:** ABTS, CUPRAC, DPPH, FRAP, *Hippophae rhamnoides* L.

#### **Investigation of *In Vitro* Antioxidant Properties of Fruit Extracts of *Hippophae Rhamnoides* L.**

**ABSTRACT:** The aim of our study is to perform the total phenolic compound, total antioxidant activity, reducing power and activity tests of the extracts of the fruits of the *Hippophae rhamnoides* L. (Wild Spinach) plant with different polarities. In this study, total phenolic compounds, total antioxidant activity, Fe<sup>+3</sup>- Fe<sup>+2</sup> reducing capacity and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) radical scavenging activity method of the extracts of the fruits of *Hippophae rhamnoides* L. (Wild Spinach), ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radical scavenging activity, Fe<sup>+3</sup>TPTZ reduction capacity according to FRAP method and Cu<sup>+2</sup>-Cu<sup>+1</sup> reduction capacity according to CUPRAC method. As a result of the analysis of total antioxidant capacities, phenolic compound amounts and reducing power in different extracts of the fruits of the *Hippophae rhamnoides* L. (Wild Seahorse) plant, it was determined that the highest effect was found in the ethanol extract compared to other extracts. DPPH radical scavenging capacity and ABTS cation radical scavenging capacity % inhibition values were found to be quite high in ethanol extract compared to other extracts. In addition, FRAP radical scavenging capacity and CUPRAC cation radical scavenging capacity values were found to be higher in ethanol extract than in other extracts. In this study, it was determined that the analyzed *Hippophae rhamnoides* L. (Wild Seed) plant was rich in high activity, high reducing power and total phenolic compounds in methanol, water and n-hexane extracts, mostly in the ethanol extract obtained from the fruits of the plant. The sole purpose of the present study is to support revealing its potential used in folk medicine supported by modern findings to increase its acceptability by the masses

**Keywords:** ABTS, CUPRAC, DPPH, FRAP, *Hippophae rhamnoides* L.

<sup>1</sup>Bilal HAYTA ([Orcid ID: 0000-0002-2020-6765](https://orcid.org/0000-0002-2020-6765)), Mine GÜLABOĞLU ([Orcid ID: 0000-0002-3248-1502](https://orcid.org/0000-0002-3248-1502)), Zerrin KUTLU ([Orcid ID: 0000-0002-6279-9810](https://orcid.org/0000-0002-6279-9810)), Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Biyokimya Bölümü, Erzurum, Türkiye.

\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Zerrin KUTLU, e-mail: kutluzerrin@atauni.edu.tr

Bu çalışma Bilal HAYTA'nın Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

**ETİK KURUL ONAYI / ETHICS COMMITTEE APPROVAL:** "Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yerel Etik Kurulu'nun Tarih: 26.11.2019 Toplantı No 2015-18, Dosya No: 2019-48 ve Karar No:20369917-050.2.4.E sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı almıştır.

## GİRİŞ

Ülkemiz tıbbi ve aromatik bitkiler bakımında oldukça zengin bir flora sahiptir. Ülkemizin zengin flora sahip olmasından ve halk hekimliğinde uzun tecrübeler sonrası ortaya çıkan Anadolu'da halk ilaçları günümüze kadar gelmiştir. Ayrıca son dönemlerde gelişen teknoloji beraberinde doğaya ve doğala dönüş eğilimini artırmaktadır (Erdem ve Eren, 2009; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Antioksidanlar, canlılardaki metabolik faaliyetler sonucu ortaya çıkan, kısa ömürlü olmalarına karşı olumsuz etkisi fazla olan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek pek çok hastalığa sebep olabilecek zincir reaksiyonlarını engelleyen ve bunun yanı sıra gıdalardaki oksidasyondan kaynaklanan tat bozulmalarını geciktirme ve önleme yeteneğine sahip olan maddeler olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda gıda sanayinde kullanılan sentetik antioksidanların toksik etkisinin olduğu anlaşıldıktan sonra, bilim insanları sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidanları araştırmaya başlamışlardır (Kutlu ve ark., 2020). Araştırmacılar, serbest radikal kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve bunlara karşı oluşan savunma mekanizmalarının aydınlatılması üzerine birçok araştırma yapmaktadırlar. Serbest radikallerin aşırı üretilmesi ve antioksidan sistemin yetersiz kalması durumunda organizmada oksidatif stres meydana gelmektedir. Antioksidanlar, biyolojik sistemlerde oluşan radikalleri yakalamak bu molekülleri zararsız hale getirmek ve başlayan zincir reaksiyonlarını durdurarak oluşan hasarı ortadan kaldırmaya çalışırlar (Kutlu ve ark., 2020).

Bilim insanları birçok bitki türü üzerinde çeşitli araştırmalar yapmasına rağmen halen daha üzerine araştırma yapılmamış birçok bitki türü bulunmaktadır. Ülkemizde yabani iğde olarak bilinen *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisi, Cıvıllık, Çıçırğan, Çışkan (Erzurum bölgesi), Sincan çalısı (İlgaz, Sivas) olarak ta bilinmektedir. Halk arasında anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal, ağrı kesici, doku rejenerasyonun teşviki, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, kanser ve kardiyovasküler hastalıklara karşı korunma sağladığı (Li ve Beveridge, 2003), gastrik ülser, deri hastalıkları, diyabet (Malinowska ve Olas, 2016) oksidatif stres ve yaşlanmaya karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Rösch ve ark., 2003).

Bu çalışma da, Erzurum ili Tortum yöresinden toplanan *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisi meyvelerinin su, etil alkol, metanol ve n-hekzan gibi farklı polaritelere sahip ekstraktlarının toplam fenolik bileşik, total antioksidan aktivite, Fe<sup>+3</sup>- Fe<sup>+2</sup> indirgeme kapasitesi ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal giderme aktivitesi, ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikası)) radikal giderme aktivitesi, FRAP metoduna göre Fe<sup>+3</sup>TPTZ indirgenme kapasitesi ve CUPRAC metoduna göre Cu<sup>+2</sup>-Cu<sup>+</sup> indirgeme kapasitesi ile tespit etmektir. Çalışmamız, kullanılan bitki materyalinin Erzurum Tortum ilçesinden toplanmış olması, test edilen konsantrasyon aralığının genişliği ve farklı polaritedeki ekstre sayısı bakımından diğer çalışmalardan ayrılmaktadır.

## MATERYAL VE METOT

Bu çalışmanın etik kurul onayı, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yerel Etik Kurulu'nun Tarih: 26.11.2019 Toplantı No 2015-18, Dosya No: 2019-48 ve Karar No:20369917-050.2.4.E sayılı kararı ile Etik Kurul Onayı almıştır.

### Bitki Materyali

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyve örnekleri 2019 yılında Erzurum ilinin Tortum bölgesinden toplandı. Bitki materyalleri Atatürk Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Meryem Şengül KÖSEOĞLU'nun yardımıyla uluslararası teşhis yöntemleri kullanılarak teşhis edilmiştir.

### Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyveleri kurutulduktan sonra bir havanda sıvı azot ile muamele edilerek toz haline getirildi. Her birinden 100 g örnek tartılarak bir Soxhlet cihazı balonuna yerleştirildi. Çalkalayıcı su banyosunda iki gün süreyle ekstrakte edildi. Meyvenin su, etanol, metanol ve n-hekzan olmak üzere 4 farklı çözücü sistemi (50°C, 250 ml x 4) kullanıldı. Ekstraktlar süzülükten sonra ve çözücü içeriği döner buharlaştırıcı (evaporatör) da düşük basınç ve düşük sıcaklıkta uzaklaştırıldı. Ekstraktlar 5 µm-Hg basınç altında liyofilize edildi (Kutlu ve ark., 2020).

### Bitki ekstraktlarının total antioksidan aktivitesinin belirlenmesi

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi Mitsuda ve arkadaşları tarafından geliştirilen yönteminin modifiye edilmiş hali kullanılarak gerçekleştirildi. Bu metoda göre, tiyosiyanat yöntemi kullanılarak ölçüldü (Mitsuda, 1966). 1 mg ekstrakt 1 mL saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü içerisinde üzerine 4 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 7.0) ve 5 mL linoleik asit çözeltisi ilave edildi ve daha sonra 37°C 'da inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun başlatılmasını müteakip her 10 saatte bir %75 etanol ve %30 amonyum tiyosiyanat çözeltilerine 0.1 mL inkübasyon karışımı ilave edilerek vortekslendi. Karışıma %35 HCl içerisinde 0.02 M FeCl<sub>2</sub> çözeltisi ilave edilerek absorbanslar 500 nm' de köre karşı ölçüldü. Kontrol için aynı işlemler yalnızca linoleik asitli karışımda, kör için ise 0.1 mL saf su ilave edilerek tekrarlandı. İnkübasyona kontrolün maksimum absorbansa ulaşması neticesinde son verildi. İnkübasyon karışımından her seferinde 6 tekrür ile sonuçlar verildi.

### Bitki ekstraktlarının toplam fenolik bileşiklerin miktarlarının belirlenmesi

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyve ekstraktlarındaki toplam fenolik bileşiklerin miktarları, Slinkard ve Singleton tarafından geliştirilen yönteminin modifiye edilmiş hali kullanılarak gerçekleştirildi (Slinkard ve Singleton, 1977). 0.5 mg liyofilizat 0.5 mL saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü içerisinde üzerine 2.5 mL Folin-Coicalteu çözeltisi ilave edildi ve 30 °C ' de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonra bu karışımın üzerine 2 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ilave edilerek 30 °C'de 90 dakika süreyle yeniden inkübasyona bırakıldı. 90. dakikanın sonunda 765 nm'de absorbanslar ölçüldü. Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafikten de yararlanılarak sonuçlar, mg Gallik Asit ekvivalenti (GAE)/g liyofilizat şeklinde verildi.

### Bitki ekstraktlarının Fe<sup>+3</sup>- Fe<sup>+2</sup> indirgeme kapasitesi belirlenmesi

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyve ekstraktlarının indirgeyici güçleri Yen ve Chen tarafından geliştirilen yönteminin modifiye edilmiş hali kullanılarak gerçekleştirildi (Yen ve Chen, 1995). 0.5 mg ekstrakt 0.5 mL saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü içerisinde üzerine 2.5 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ve 2.5 mL %1 potasyum ferrisiyanür çözeltisi eklendikten sonra 50°C 'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. %10 TCA çözeltisinden 2.5 mL ilave edilip 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi. Bu karışımın üzerine 2.5 mL süpernatant alınarak üzerine 2.5 mL %0,1 FeCl<sub>3</sub> ve 2.5 mL saf su ilave edildikten sonra 700 nm' de absorbans ölçüldü. Yüksek absorbans, yüksek indirgeyici gücü temsil etmektedir.

### Antioksidan Kapasite Deneyleri

#### DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal giderme aktivitesi tayini

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyve elde edilen ekstraktların DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal giderme aktivitesi Blois metoduna göre tespit edildi (Blois, 1958). 1 mM DPPH çözeltisi serbest radikal çözeltisi olarak kullanılarak bitki ekstraktlarına ait 10-60 µg/mL arasında değişen stok çözeltiler hazırlandı. Ardından her bir kuyucuğa 210 µL stok çözelti ve 70 µL

DPPH çözeltisi pipetlendi. Örnekler 1 dakika süresince vorteks yardımıyla çalkalandıktan sonra oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. Kontrol numunesi için 210 µL etanol ve 70 µL DPPH çözeltisi, standart antioksidan olarak ise  $\alpha$ -tokoferol kullanıldı. Tüm örnekler etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları kaydedildi ve sonuçlar yüzde inhibisyon olarak hesaplandı.

### **ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikası)) radikal giderme aktivitesi tayini**

Re ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan çalışmaya göre ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikası)) radikal giderme aktivitesi belirlendi. Bu yöntemde göre ilk önce 2 mM ABTS çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiye 1:1 oranında, 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi eklenerek ABTS.+ elde edildi. Ekstrelerin 1-40 µg/mL arasında hazırlanan stok çözeltilerinden 140 µL ve ABTS.+ çözeltisinden ise 100 µL fosfat tamponu (0.1 M, pH = 7.4) kullanıldı. 30 dk inkübasyondan sonra tampondan oluşan köre karşı 734 nm'de absorbanslar kaydedildi. Standart bileşik olarak ise troloks kullanıldı (Zulueta ve ark., 2009).

### **FRAP metoduna göre Fe<sup>+3</sup>TPTZ indirgenme kapasitesi**

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktların, elektron transferine dayanan antioksidan kapasite/aktivite tayin yöntemi Huang ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı. İlk önce 0.3 M asetat tamponu (pH= 3.6) hazırlandı. 100 mL balon jöje içerisinde 10 mM TPTZ, 40 mM HCl asit konulacak ve son hacim 100 mL tamamlandı. Daha sonra 20 mM FeCl<sub>3</sub> çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerden 2.5 mL TPTZ, 2.5 mL FeCl<sub>3</sub> ve 25 mL asetat tamponundan olacak şekilde 30 mL'lik FRAP çözeltisi elde edildi. Elde edilen FRAP çözeltisi 37°C 'de 30 dakika inkübasyon süresinden sonra 593 nm'de kör numunesi olarak ölçüldü. Standart bileşik olarak ise troloks kullanıldı (Huang ve ark., 2005).

### **CUPRAC metoduna göre Cu<sup>+2</sup>-Cu<sup>+</sup> indirgeme kapasitesi**

Apak ve arkadaşları (2006) metoduna göre *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktların ve bileşiklerin antioksidan kapasite tayinleri belirlendi. Bu yöntemde göre ilk önce 10 mM 250 mL CuCl<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O çözeltisi hazırlandı. Tampon çözeltisi olarak da 250 mL NH<sub>4</sub>Ac (1 M, pH= 7.0) kullanıldı. Daha sonra 25 mL'lik balon jöjelerde %96'lık etanol ile 7.5 mM Neocuproin (Nc) çözeltisi hazırlandı. 60 µL CuCl<sub>2</sub>, 60 µL asetat tamponu, 60 µL Neocuproin ve 60 µL numuneden oluşan çözelti karıştırıldı. 30 dk inkübasyon süresinden sonra, Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşmesine ve bu kompleksin metanolden oluşan köre karşı absorbans artışları 450 nm'de okundu. Standart bileşik olarak 1-60 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda troloks çözeltisi kullanıldı (Apak ve ark., 2005; Apak ve ark., 2006; Sözgen ve ark., 2006).

## **BULGULAR VE TARTIŞMA**

### **Total Antioksidan Aktivitelere Ait Bulgular**

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının her 10 saatte bir alınan ölçümleri içeren veriler esas alınarak 50. saatte en yüksek seviyeye çıkan peroksit oluşumu esnasında ölçülen total antioksidan sonuçları ortalama absorbans olarak hesaplandı (Çizelge 1).

**Çizelge 1.** *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstraktların total antioksidan aktiviteleri

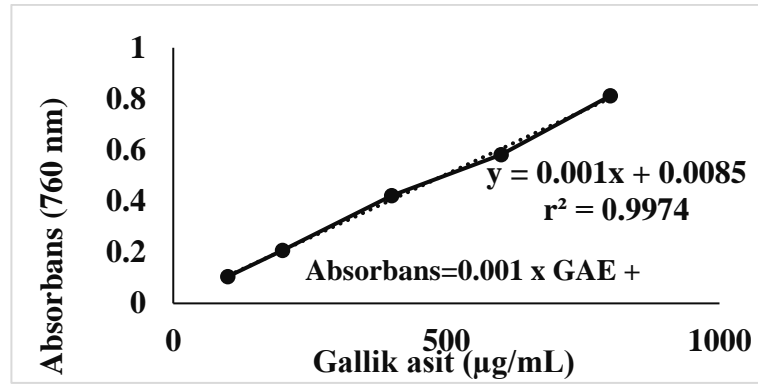
Ekstreler	Doz (mg/mL)	Total antioksidan aktivite
		Ortalama absorbans (50. saat, 500 nm)
Etanol	1	0.256±0.001
	5	0.484±0.005
	10	0.679±0.003
Metanol	1	0.216±0.004
	5	0.281±0.002
	10	0.323±0.007
Su	1	0.175±0.003
	5	0.226±0.005
	10	0.319±0.007
n-hekzan	1	0.178±0.003
	5	0.236±0.002
	10	0.312±0.003
Troloks	1	0.278±0.003
	5	0.636±0.004
	10	0.742±0.003

nm: nanometre, mg: miligram, mL: mililitre

Antioksidan aktivite tayin yöntemleri çeşitli parametrelere bağlı olduğundan, bir bileşiğin antioksidan aktivitesini tayin etmek için tek bir standart yöntem yoktur. Bundan dolayı antioksidan aktivite tayin etmek için birçok yöntem kullanılmaktadır (Mitsuda, 1966; Slinkard ve Singleton, 1977; Blois, 1958; Yen ve Chen, 1995; Apak ve ark., 2005; Huang ve ark., 2005; Odabasoglu ve ark., 2006; Apak ve ark., 2006; Sözgen ve ark., 2006; Zulueta ve ark., 2009; Kutlu ve ark., 2020). Deneysel çalışmalarda, total antioksidan kapasitesinin belirlenmesi, antioksidanların tek tek analiz edilmesinden daha değerli kabul edilmektedir. Yaptığımız bu çalışmada, *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstraktlarındaki total antioksidan kapasiteleri analiz edildi. Çalışmanın sonuçlarına göre su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve aktivitenin doz artışına bağlı olduğu belirlenmiştir. Ekstreler (su, etanol, metanol ve n-hekzan) arasındaki en yüksek antioksidan aktivite ise etanol ekstresinde tespit edilmiştir.

### Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Bulguları

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarları Folin-Ciocalteu Reaktif (FCR) ile belirlendi. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı ve hesaplamalarda yararlanılacak olan standart grafik hazırlandı (Şekil 1).



Şekil 1. Gallik asit standart grafiği

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarları gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplandı (Çizelge 2).

**Çizelge 2.** *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarları

Ekstreler	Toplam Fenolik Bileşik (µg GAE/mg ekstre)
Etanol	77.75±0.05
Metanol	50.28±0.01
Su	58.75±0.04
n-hekzan	45.32±0.03

µg: mikrogram, mg: miligram

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstraktlarındaki toplam fenolik bileşik miktarları sonuçlarına göre etanol ekstraktında diğer ekstraktlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Doğal bileşikler olarak bilinen fenolik bileşikler antioksidan özelliklerini, serbest radikalleri yakalayarak ve zincir reaksiyonlarını durdurarak yapabilmektedirler (Hamid ve ark., 2010). Bundan dolayı toplam fenolik bileşik miktarı yüksek olan ekstraktlar antioksidan deney sistemlerinde etkili bulunmuştur.

### İndirgeyici Güçlerine Ait Bulgular

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının indirgeyici güçlerine ait sonuçlar ortalama absorbans olarak hesaplandı (Çizelge 3).

Total indirgeyici güç, antioksidan kapasite tayininde kullanılan yöntemlerden biridir. Bu analizde yüksek absorbans yüksek indirgeme potansiyelini göstermektedir (Mathew ve Abraham, 2006). Yaptığımız çalışmada, *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstraktlarındaki total indirgeyici güç analizi yapıldı. Çalışmanın sonuçlarına göre su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının hepsinde indirgeyici güçlerinin doza bağlı olarak arttığı ve en yüksek indirgeyici güç etanol ekstraktında olduğu tespit edilmiştir.

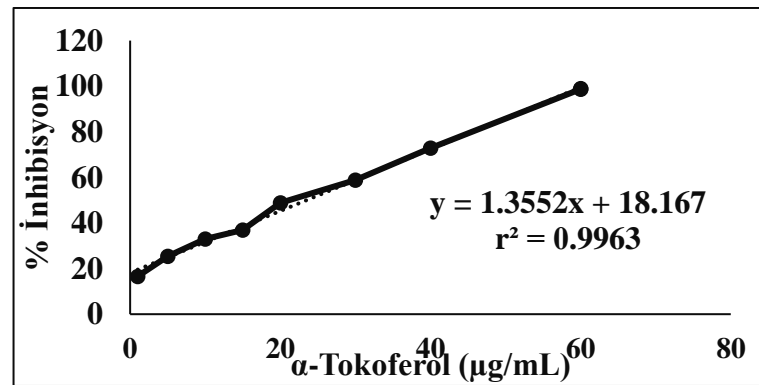
**Çizelge 3.** *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstraktların indirgeme güçleri

Ekstreler	Doz (mg/mL)	<b>İndirgevi gücü</b> Ortalama absorbanst (700 nm)
Etanol	1	0.341±0.001
	5	0.565±0.003
	10	0.735±0.001
Metanol	1	0.131±0.005
	5	0.291±0.007
	10	0.330±0.002
Su	1	0.158±0.005
	5	0.222±0.004
	10	0.321±0.003
n-hekzan	1	0.356±0.006
	5	0.442±0.004
	10	0.540±0.002

nm: nanometre

**Antioksidan Kapasite Bulguları****DPPH radikali süpürme çalışmalarına ait bulgular**

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin DPPH radikali süpürme aktivite tayinleri Blois metoduna göre yapıldı. Analiz edilen konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşiklerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak α-tokoferolün DPPH radikali süpürme aktivitesi 60 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstraktların çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi.

**Şekil 2.** α-Tokoferolün konsantrasyon- % İnhibisyon grafiği

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL konsantrasyonda gerçekleştirdikleri DPPH radikali süpürücü kapasiteleri % inhibisyon şeklinde Çizelge 4'de gösterilmiştir.

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarından en yüksek DPPH serbest radikali süpürücü kapasiteye sahip ekstraktın etanol ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

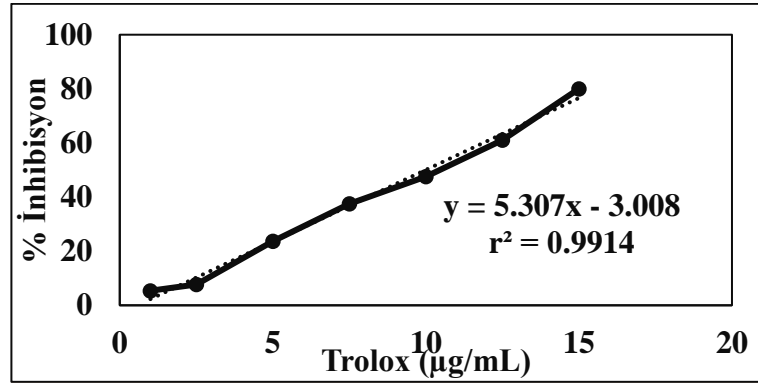
**Çizelge 4** Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda DPPH serbest radikali süpürücü kapasitelerinin karşılaştırılması

Ekstreler	% İnhibisyon (50 µg/mL)
Etanol	42.27
Metanol	38.03
Su	24.17
n-hekzan	20.21
α-Tokoferol	91.8

µg: mikrogram, mL: mililitre

### ABTS<sup>+</sup> radikali süpürme kapasite çalışmalarına ait bulgular

ABTS<sup>+</sup> katyon radikali süpürücü kapasite tayinleri Re ve ark. tarafından geliştirilen yöntemle yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak troloks kullanıldı. Analiz edilecek konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşikler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak troloks ABTS<sup>+</sup> katyon radikali süpürme aktivitesi 50 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstrelerin çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi.



Şekil 3. Troloksun konsantrasyon-% inhibisyon grafiği

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstrelerinin ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL konsantrasyonda ABTS<sup>+</sup> katyon radikali süpürme kapasiteleri % inhibisyon olarak Çizelge 5'te gösterildi.

**Çizelge 5.** Ekstrelerin 50 µg/ml konsantrasyonda ABTS<sup>+</sup> katyon radikali süpürme kapasitelerinin karşılaştırılması

Ekstreler	% İnhibisyon (50 µg/mL)
Etanol	47.02
Metanol	31.37
Su	27.06
n-hekzan	18.07
Troloks	88.38

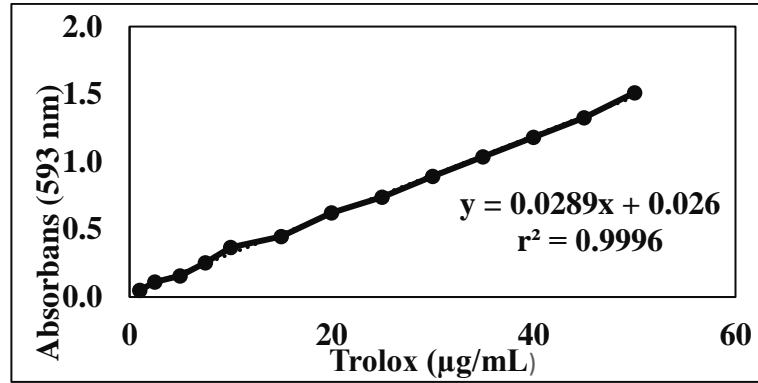
µg: mikrogram, mL: mililitre

ABTS katyon radikali süpürücü kapasite çalışmaları Re ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemle yapılmıştır (Zulueta ve ark., 2009). 734 nm dalga boyunda yapılan ölçümlere yardımıyla % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen bulgulara göre *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen farklı ekstreler arasında etanol ekstresindeki % inhibisyon diğer ekstrelerle göre oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir.



### Demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP) ait bulgular

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 595 nm’de demir (III) indirgeme/antioksidan gücüne karşılık gelen absorbans değerleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Analiz edilen konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak troloks, demir (III) indirgeme/antioksidan gücü aktivitesi 40 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstraktların çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi.



Şekil 4. Troloks standart grafiği

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL konsantrasyonda spektrofotometrik yöntemle 593 nm’de demir (III) indirgeme/antioksidan güçlerinin µg Troloks eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) cinsinden karşılaştırılması Çizelge 6’da gösterildi.

**Çizelge 6.** Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda demir (III) indirgeme/antioksidan güçlerinin µgTEAC cinsinden karşılaştırılması

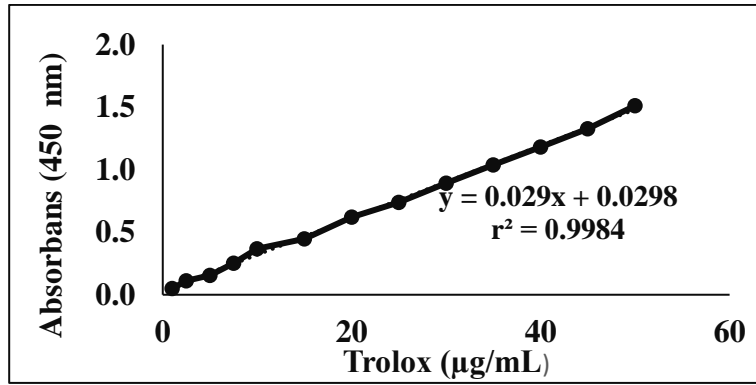
Ekstreler	Troloks (Eq µg/ml)
Etanol	48.05
Metanol	28.07
Su	36.17
n-hekzan	23.09

Eq: ekivalan, µg: mikrogram, mL: mililitre

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarından en yüksek demir iyonu indirgeyici antioksidan güç kapasitesine sahip ekstraktın etanol ekstresi olduğu tespit edildi.

### Bakır iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini yöntemi (CUPRAC)

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 450 nm’de Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşmesine ve bu kompleksin metanolden oluşan köre karşı absorbans artışları 450 nm’de okuma yapıldı. Analiz edilecek konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak troloks, Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşme aktivitesi 50 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstraktların çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi.



Şekil 5. Troloks standart grafiği

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL konsantrasyonda spektrofotometrik yöntemle 450 nm'de Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşmesine ve bu kompleksin µg Troloks eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) cinsinden karşılaştırılması Çizelge 7'de gösterildi.

**Çizelge 7.** Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda Cu (II) neocuproin kompleksinin Cu (I) neocuproine dönüşmesinin µg TEAC cinsinden karşılaştırılması

Ekstreler	Troloks (Eq µg/ml)
Etanol	42.15
Metanol	23.41
Su	33.33
n-hekzan	21.05

Eq: ekivalan, µg: mikrogram, mL: mililitre

*Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarından en yüksek bakır iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesine sahip ekstrenin etanol ekstresi olduğu tespit edilmiştir.

## SONUÇ

Bu çalışmada *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin analizi sonucunda daha çok etanol ekstresinde olmak kaydıyla metanol, su ve n-hekzan ekstraktlarında yüksek antioksidan aktivite, yüksek indirgeyici güç ve total fenolik bileşik bakımından zengin olduğu tespit edildi. Bu özelliği *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin içerdiği bileşiklerden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu bilgiler ışığında, sağlığını belirlemek, menşeyini kontrol etmek, kalite kontrolünü gerçekleştirmek ve ayrıca endüstriyel ürünlerin seçimini hedeflemek için bilgi sağlayabilir. Bileşik izolasyonu için bitkinin en aktif fraksiyonu seçilebilir, diğer tüm fraksiyonlar karıştırılabilir, sinerjizm açısından test edilebilir ve ayrıca kabul edilebilir dozaj formlarında formüle edilebilir. Etnomedikal ve farmakolojik kanıtlar ve bitkinin kozmetik gibi çeşitli alanlarda kullanılmasından dolayı, bitki terapötik faydası için araştırılabilir ve daha fazla çalışılabilir. Mevcut çalışmanın tek amacı, kitleler tarafından kabul edilebilirliğini artırmak için modern bulgularla desteklenen halk hekimliğinde kullanılan formülasyonların gizli potansiyelini ortaya çıkarmaya destek olmaktır. Bu çalışma sonuçlarının son zamanlarda artan çalışmalara katkı sağlayacağı düşüncesindeyiz.

## Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

**Yazar Katkısı**

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

**KAYNAKLAR**

- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Çelik S. 2006. A novel total antioxidant capacity measurement for food and plasma antioxidants: CUPRAC method OP-104. *The Febs Journal*, 273.
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE, Altun M. 2005. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free radical research*, 39: 949-961
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
- Erdem S, Eren AP. 2009. Tedavi amaçlı kullanılan bitkiler ve bitkisel ürünlerin yan etkileri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66(3): 133-141.
- Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS. 2011. Geçmisten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11(19): 52-67.
- Hamid A, Aiyelaagbe O, Usman L, Ameen O, Lawal A. 2010. Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of pure and applied chemistry*, 4: 142-151.
- Huang D, Ou B, Prior RL. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53: 1841-1856.
- Kutlu Z, Celik M, Bilen A, Halıcı Z, Yıldırım S, Karabulut S, Karakaya S, Delimustafaoğlu F, Aydın P. 2020. Effects of umbelliferone isolated from the *Ferulago pauciradiata* Boiss. & Heldr. Plant on cecal ligation and puncture-induced sepsis model in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 110206.
- Kutlu Z, Dumlu F, Berktaş AO, Odabasoglu F. 2020. Investigation of In Vitro Antioxidant Activity of *Glycyrrhiza glabra* and *Syzygium aromaticum* Extracts. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(1):55-58
- Li TS, Beveridge TH. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) production and utilization. Baskı. NRC Research Press, 2003.
- Malinowska P, Olas B. 2016. Sea buckthorn—valuable plant for health. *Kosmos*, 2: 285-292.
- Mathew S, Abraham TE. 2006. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry*, 94: 520-528.
- Mitsuda H. 1966. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyo to shokuryo*, 19: 210-221
- Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A, Bayir Y, Halici M, Kazaz C. 2006. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 103: 59-65.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannale A, Yang, M, Rice C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Rösch D, Bergmann M, Knorr D, Kroh LW. 2003. Structure— antioxidant efficiency relationships of phenolic compounds and their contribution to the antioxidant activity of sea buckthorn juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51: 4233-4239.
- Slinkard K, Singleton VL. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28: 49-55.
- Sözgen K, Cekic SD, Tütem E, Apak R. 2006. Spectrophotometric total protein assay with copper (II)—neocuproine reagent in alkaline medium. *Talanta*, 68: 1601-1609
- Yen GC, Chen HY. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 43: 27-32.
- Zulueta A, Esteve MJ, Frigola A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114: 310-316.