

Özgün Araştırma/Original Article

Trachystemon orientalis (L.) G. Don bitkisinin antioksidan aktivite, toplam fenolik madde içeriği ve α -glukozidaz enzimi inhibisyon potansiyelinin araştırılması

Investigation of antioxidant activity, total phenolic content and α -glucosidase enzyme inhibition potential of *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don plant

Fatma Cebeci^{1*}, Tayyibe Erten¹

¹Bayburt Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, BAYBURT-TÜRKİYE

ORCID ID: 0000-0003-4715-6689, Dr. Öğr. Üyesi

ORCID ID: 0000-0002-2150-2726, Dr. Öğr. Üyesi

* Sorumlu yazar/Corresponding author: fatmacebeci@bayburt.edu.tr

Geliş Tarihi : 23.02.2024

Kabul Tarihi : 08.05.2024

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitkisini yaprak, sap ve rizom olarak 3 kısma ayırıp, bu kısımların protein içeriğini, antioksidan aktivitesini, toplam fenolik madde içeriğini ve α -glukozidaz inhibisyon oranını belirlemektir.

Materyal ve Yöntem: Bitkinin proksimet analizleri Association of Official Analytical Chemists'in (AOAC) metotlarına göre yapılmıştır. Antioksidan aktivite, toplam fenolik madde analizleri ve α -glukozidaz inhibisyonunun belirlenmesinde ise spektrofotometrik yöntemler kullanılmıştır. Örnekler arasındaki farklılıkların değerlendirilmesinde tek yönlü ANOVA ve Tukey testi uygulanmıştır ($p<0,05$).

Tartışma ve Sonuç: Bitkinin yaprak, sap ve rizom kısımlarının içerdiği kül ve kuru madde oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık içermektedir. Buna karşın protein oranı en çok yaprak kısmından elde edilirken (%15,67), sap ve rizom kısımlarında önemli bir fark görülmemiştir. DPPH ve ABTS yöntemleriyle antioksidan aktivitesi ölçüldüğünde; en yüksek antioksidan aktivite rizom kısmında, ardından sırasıyla yaprak ve sap kısımlarında görülmüştür ($p<0,05$). Yaprak, sap, rizom kısımlarının toplam fenolik madde içeriği, antioksidan aktivite sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Toplam fenolik madde içeriği rizom>yaprak>sap şeklinde, sırasıyla $2,78 \pm 0,04$; $1,11 \pm 0,06$ ve $0,81 \pm 0,07$ mg GAE/ g taze ağırlık olarak bulunmuştur. Yaprak (%52,06 $\pm 2,87$) ve rizom (%54,34 $\pm 1,10$) ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyon değerleri standart α -glukozidaz inhibitörü olan akarboza (%43,05 $\pm 1,27$) göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Sonuç olarak bu çalışma, *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitkisinin protein içeriği açısından önemli olduğunu; antioksidan ve antidiyabetik özellikleriyle insan sağlığını destekleyebileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: *Trachystemon orientalis*; antioksidan aktivite; protein; toplam fenolik madde; α -glukozidaz

Abstract

Objective: This study aims to determine the protein content, antioxidant activity, total phenolic content, and α -glucosidase inhibition rate of the parts of *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don plant separating the plant into 3 parts: leaf, stem, and rhizome.

Material and Method: Proximate analyses of the plant were made according to the methods of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Spectrophotometric methods were used to determine antioxidant activity, total phenolic content analysis, and α -glucosidase inhibition. One-way ANOVA and Tukey tests were applied to evaluate the differences between samples ($p<0.05$).

Results and Conclusion: The ash and dry matter ratios of the leaf, stem, and rhizome parts of the plant were found as statistically significant. While the highest protein content was obtained from the leaf (15.67%), no significant difference was observed between the stem and rhizome. The highest antioxidant activity was

observed in the rhizome, followed by the leaf and stem, respectively ($p < 0.05$) for DPPH and ABTS methods. The results of the total phenolic content of leaf, stem, and rhizome were compatible with the antioxidant activity results, and the total phenolic content was found as rhizome > leaf > stem with the values of 2.78 ± 0.04 , 1.11 ± 0.06 and 0.81 ± 0.07 mg GAE /g fresh weight, respectively. In addition, the α -glucosidase inhibition values of leaf (52.06 ± 2.87) and rhizome (54.34 ± 1.10) extracts were found to be higher than the standard α -glucosidase inhibitor acarbose (43.05 ± 1.27) ($p < 0.05$). As a result, this study showed that all edible and inedible parts of the *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don plants are important in terms of protein content and it has been revealed that this plant can enhance human health with its antioxidant and antidiabetic properties.

Keywords: *Trachystemon orientalis*; antioxidant activity; protein; total phenolic content; α -glucosidase

1. Giriş

Son yıllarda tüm dünyada gözlenen hızlı nüfus artışı ile birlikte, gıda güvencesi endişesi ve yeterli gıda kaynaklarının araştırılması daha fazla önem kazanmıştır. Bu amaçla mevcut gıda kaynaklarının iyileştirilmesinin yanı sıra, yerel olarak tüketilebilen bazı yabani bitkilerin tüketim potansiyelleri de bu araştırmalar içerisinde değerlendirilmektedir (Kaur ve Roy, 2021). Yaygın olarak tüketilmeyen ancak belirli bölgelerde tüketimi olan bu bitkilerin, sürdürülebilir üretim potansiyellerinin de araştırılarak tüketilebilir gıda zincirine eklenmesinin, hem bitki biyoçeşitliliğine hem de beslenmeye katkı sağlayacağı da öngörülmektedir. Çünkü bu bitkilerin tüketilebilen/tüketilemeyen kısımlarının bazı besin öğeleri ve biyoaktif bileşenler açısından değerli olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmektedir. Dolayısıyla son çalışmalar, yerel olarak tüketilen bu bitkilerin diyet eklenmesi ya da yeni fonksiyonel gıda formülasyonlarında muhtemel kullanımı üzerine yoğunlaşmaktadır (Bekar vd., 2021; Iqbal vd., 2022).

Trachystemon orientalis (L.) G. Don, Boraginaceae (Hodangiller) ailesinin üyesi olup ülkemizin kuzey kıyılarında nemli bölgelerde yetişen rizomlu (köksap), yaprakları tüylü, mavikırmızı çiçekli, yörede ise 'kaldirik otu' adıyla bilinen bir bitkidir. Bitkinin sap kısmı yörede turşu yapımında veya yemeklerde tüketilmekle beraber, kök ve rizom kısımlarının ise ağrı kesici olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Ergen Akçin vd., 2004). Daha önce yapılan çalışmalarda, bitkinin nem, C vitamini, protein içeriği ve mineral içeriği gibi özellikleri belirlenmiştir (Özbakır Özer ve Aksoy, 2019). Yapılan in vitro çalışmalarda ise antifungal (Onaran ve Yılar, 2012), antioksidan (Özen, 2010; Sacan, 2018; Demir, 2022; Bıyık vd., 2023), antidiyabetik, antimutajenik (Ayhan vd. 2019) etkileri olduğu saptanmıştır. Bitkinin değişik kısımlarının biyoaktif maddelerden antosiyanin (Sadikoğlu ve Cevahir, 2014) ve diğer fenolik bileşenleri içerdiği (Demir, 2022) bulunmuştur. Sürdürülebilirlik çerçevesinde, bitkinin sağlık ve gıda endüstrisi açısından önemli olabileceği düşünülmektedir nitekim Tarım ve Orman Bakanlığı'nın Risk Değerlendirme Daire Başkanlığı tarafından yayınlanan bitki listesinde *T. orientalis* bitkisinin toprak üstü kısmının kullanılabilir olduğu belirtilmiştir (Anonim, 2023). Buna göre bitkinin yaprak ve sap kısmının tüketilebilir olduğu değerlendirilmiştir.

α -Glukosidaz enzimi ince bağırsağın fırçamsı kenarında bulunan ve karbonhidratları

monosakkaritlere parçalayan bir enzimdir. α -Glukozidaz inhibitörleri ise glikoz düzeyini düşürücü ilaç grubudur ve karbonhidratların emilimini geciktirerek postprandiyal glikoz ve insülin zirvelerini azaltmaktadır (Lin vd., 2023). Hiperglisemi durumunda vücutta reaktif oksijen türleri üretiminin daha fazla olduğu, bu nedenle anti-diyabetiklerde antioksidanların kullanımının hiperglisemiyi kontrol altına almakta daha başarılı olacağı önerilmektedir (Hussain vd., 2019). Ancak kullanılan sentetik inhibitörlerin gaz, şişkinlik, mide ağrısı, ishal gibi yan etkileri nedeniyle doğal kaynaklardan yeni inhibitörlerin keşfedilmesine yönelik bir talep gözlenmektedir (Mohd Bukhari vd., 2017). Bu nedenlerle son yıllarda antioksidanlar açısından zengin tıbbi aromatik bitkilerin antidiyabetik potansiyelleri de araştırmalara dahil edilmektedir (Andrade-Cetto vd., 2008; Trinh vd., 2021).

Ülkemiz tıbbi aromatik bitkiler açısından zengin bir coğrafyadır ve *T. orientalis* bu aromatik bitkilerden biridir. Daha önceki çalışmalarda bitkinin antioksidan aktivitesinin incelendiği ancak bitkinin tüm kısımlarının incelenmediği ve farklı metotlarla araştırmaların yapıldığı gözlenmektedir. Bu durum verileri birbirleriyle kıyaslamayı zorlaştırmaktadır. Bu nedenle bu çalışma; bitkiyi yaprak, sap ve rizom olarak 3 kısma ayırıp, bu kısımların protein içeriğini, antioksidan aktivitesini ve toplam fenolik madde içeriğini ayrı ayrı ortaya koymayı hedeflemiştir. Bu çalışma, *T. orientalis* bitkisinin daha önce incelenmemiş rizom kısmı ve farklı kısımlarından elde edilen ekstraktlarında α -glukozidaz inhibisyon potansiyelini incelemeyi de hedeflemiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Örneklerin temin edilmesi

Trachystemon orientalis (L.) G. Don bitkisi, Mart-Nisan 2022 tarihleri arasında yaprak, sap ve rizom da dahil olarak bütün halinde, Giresun Eynesil ilçesinden (Enlem: 41° 3' 49" Kuzey, Boylam: 39° 8' 30" Doğu) toplanmıştır (Şekil 1). Bitkinin tanımlanması mevcut bilgilere göre değerlendirilmiş ve *T. orientalis* (L.) G. Don olduğu saptanmıştır (Ergen Akçin vd., 2004). Bitkinin yaprak, sap ve rizom kısımları ayrılıp oda koşullarında kurutulmuştur. Kurutulan örnekler bir kahve öğütücü kullanılarak öğütülmüş ve analizlere kadar buzdolabı sıcaklığında (+4 °C) bekletilmiştir.



Şekil 1. *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don bitkisi

2.2. Proksimet analizi

Bitkinin farklı kısımlarının içerdiği kuru madde miktarı AOAC 930.04 numaralı metoduna göre belirlenmiştir. Buna göre sabit tartıma getirilmiş kaplara 2 g taze bitki kısımları alınarak etüvde (Memmert, Schwabach, Almanya) 3 saat boyunca 105 °C de kurutulmuştur. İlk ve son tartımlar arası farktan, örneğe ait toplam kuru madde miktarı yüzde olarak hesaplanmıştır (AOAC, 2015).

Örneklerin toplam kül miktarı standart metoda göre belirlenmiştir (AOAC, 2015; 923.03). Buna göre; bitki kısımlarından 2'şer g tartılarak, kül fırınında (Carbolite Gero, İngiltere) 550°C 'de 4 saat süreyle yakılmıştır. Analiz sonrası kül miktarları % olarak hesaplanmıştır.

Bitkinin rizom, sap ve yaprak kısımlarının protein miktarları ise AOAC'nin (2015), 976.05 numaralı metoduna göre Kjeldahl yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Buna göre; 2'şer gram örnek, yakma tüplerinde Kjeldahl tableti ve sülfirik asitle yakılmıştır. Daha sonra 0,1N hidroklorik asit ile titre edilmiş ve nitrojen miktarları belirlenmiştir. Protein miktarının belirlenmesi için 6,25 nitrojen çevirme faktörü kullanılarak hesaplama yapılmıştır.

2.3. Antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde analizleri

Bitkinin farklı kısımlarının sahip olduğu antioksidan aktivite tayini için metanol ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bunun için 2 g kurutulmuş örnek 20 ml metanol ile oda sıcaklığında 24 saat süreyle çalkalamalı inkübatör kullanılarak ekstre edilmiştir. Ekstraksiyon sonunda örnekler 5000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş (Universal 320 R, Hettich,

Almanya) ve üst faz toplanmıştır. Katı kısımda kalabilecek biyoaktif bileşenler için çökeltiye 20 ml metanol eklenip yıkama yapılmış, santrifüjlenerek tekrar sıvı faz toplanmıştır. Elde edilen sıvı kısımlar birleştirilip rotary evaporatör (Heizbad Hei-Vap, Heidolph, Almanya) kullanılarak metanolün fazlası uçurulmuş ve son hacim metanol ile 10 ml'ye ayarlanmıştır. Bu sıvı faz, bitkinin farklı kısımlarındaki 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali ve 2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit) (ABTS) radikali süpürücü etki yöntemleri ile antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde tayininde kullanılmıştır.

2.3.1. DPPH radikali süpürücü etki yöntemi

DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite belirlenmesinde Gu vd. tarafından (2019) kullanılan mikrolaka metodu bazı modifikasyonlarla kullanılmıştır. Metanol içerisinde 0,1 mM DPPH çözeltisi hazırlanıp, DPPH radikali solüsyonundan 260 µl, uygun düzeyde seyreltilmiş örneklerden ise 40 µl eklenip karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildikten sonra absorbans 517 nm'de mikrolaka okuyucu (Multiscan FC Mikrolaka Okuyucu, Thermo Fisher Scientific, Amerika) kullanılarak ölçülmüştür. Sonuçlar, ağırlığının gramı başına mg askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak ifade edilmiştir (mg AAE/g taze ağırlık). Askorbik asit standart eğrisini oluşturmak için ise metanolde 0-50 µg/ml aralığında askorbik asit konsantrasyonları kullanılmıştır.

2.3.2. ABTS radikali süpürücü etki yöntemi

ABTS ile antioksidan aktivite belirlenmesinde Gu vd. tarafından (2019) kullanılan mikrolaka metodu bazı modifikasyonlarla kullanılmıştır. Öncelikle, 5 ml 7 mM ABTS çözeltisi 88 µL 140 mM potasyum persülfat çözeltisi ile karıştırılıp, karışım 16 saat boyunca oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra 0,5 ml ABTS çözeltisi, 45 ml etanol eklenerek seyreltilmiş ve absorbansı 734 nm'de 0,7 olacak şekilde ayarlanıp ABTS ölçüm çözeltisi hazırlanmıştır. Ardından örnekler (10 µl) ve 290 µl hazırlanan ABTS ölçüm çözeltisini karıştırılmış, oda sıcaklığında 6 dakika inkübe edilmiştir. Absorbans 734 nm'de mikrolaka okuyucu (Multiscan FC Mikrolaka Okuyucu, Thermo Fisher Scientific, Amerika) kullanılarak ölçülmüştür. Sonuçlar, ağırlığının gramı başına mg askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak ifade edilmiştir (mg AAE/g taze ağırlık). Askorbik asit standart eğrisini oluşturmak için ise metanolde 0-100 µg/ml aralığında askorbik asit konsantrasyonları kullanılmıştır.

2.3.3. Toplam fenolik madde analizi

Toplam fenolik madde ölçümü Zlatanović vd. (2019)'a göre Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak yapılmıştır. Bitki kısımlarından elde edilen ekstraktlardan 0,25 ml alınarak, 1:10 oranında seyreltilmiş Folin-Ciocalteu standardı ile karıştırılmış ve 6 dakika reaksiyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda 1 ml (75g/l) sodyum karbonat solüsyonu eklenerek çalkalanmıştır. Daha sonra ekstraksiyonlar, reaksiyon için 2 saat karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildikten sonra, örneklerin absorbans değerleri 765 nm'de (UV 1800 Spektrofotometre, Shimadzu, Japonya) ölçülmüştür. Sonuçlar, gallik asit eşdeğer cinsinden mg (GAE)/g taze ağırlık olarak ifade edilmiştir.

2.4. α-Glukozidaz enzim inhibisyon tayini

α-Glukozidaz enzim inhibisyonu için 50 mM asetat tamponu (pH 6) içinde belirli konsantrasyonda (1 mg/ml) yaprak, sap ve rizom ekstraktları hazırlanmıştır. Ekstraksiyon yukarıda belirtildiği gibi yürütülmüş, en son rotary evaporatörde (Heizbad Hei-Vap, Heidolph, Almanya) tüm metanol uçurulmuş ve elde edilen ekstrakt tamamen kurutulularak tartılmış ve tampon içinde istenen konsantrasyona ayarlanmıştır.

Enzim inhibisyonu tayinininde Verma vd. (2012) tarafından raporlanan metot kullanılmıştır. Ekstraktların inhibisyon değerini belirlemek için 50 mM asetat tamponu (pH 6) içinde ekstrakt (200 µl) ve 2 mU/µl a-glukozidaz (50 µl) içeren reaksiyon karışımı, 37°C'de 10 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Ardından karışıma 2 mM p-nitro fenil-α-D-glukopiranozid (0,5 ml) ilave edilip tekrar 10 dakika boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda reaksiyon 0,2 M sodyum karbonat (0,9 ml) eklenerek sonlandırılmıştır. Absorbans 405 nm'de spektrofotometre (UV 1800, Shimadzu, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Ekstrakt yerine 50 mM asetat tamponu (200 µl), 2 mU/µl a-glukozidaz (50 µl) ve 2 mM p-nitro fenil-α-D-glukopiranozid (0,5 ml) substratı içeren reaksiyon karışımı, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Her ekstrakt için negatif kontrol hazırlanmış ve 0,2 M sodyum karbonat, enzim aktivitesini bloke etmek için reaksiyonun başlangıcında ilave edilmiştir. Bitki ekstraktlarının enzim inhibisyon potansiyeli ile karşılaştırma yapmak için standart bir α-glukozidaz inhibitörü olan akarboz kullanılmıştır ve % inhibisyon aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{İnhibisyon} = \left(1 - \frac{\text{Absorbans (ekstrakt)} - \text{Absorbans (negatif kontrol)}}{\text{Absorbans (pozitif kontrol)}}\right) \times 100$$

2.5. İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 22 programı kullanılmış, sonuçlar üç tekrarın ortalaması ± standart sapma olacak şekilde sunulmuştur. Ortalamalar arasındaki istatistiksel anlamlılık tek yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak (% 95 güven aralığında) saptanmış ve p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. Tartışma ve Sonuç

Bitkinin yaprak, sap ve rizom kısımlarının proksimet analizi sonuçları Çizelge 1'de sunulmuştur. Buna göre kuru madde, kül ve protein oranları bitkinin farklı kısımlarında istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05) bulunmuştur. Özellikle kuru madde oranı, %37,10 ± 0,22 ile bitkinin en çok rizom kısmından elde edilmiştir. Daha önceden bu bitki ile yapılan çalışmalar dikkate alındığında, Özbakır Özer ve Aksoy (2019), Karadeniz'in farklı bölgelerinden elde ettikleri bitki örneklerinde, çiçek, sap ve yaprağı içeren bitkide kuru maddeyi %13-22 aralığında bulmuşlardır. Koca vd. (2015)

ise tüm bitkide kuru maddeyi ~ %10,5 oranında bulmuştur. Bitkinin sadece yaprak ve sap kısımları düşünüldüğünde, bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile önceki yapılan çalışmalar birbirini desteklemektedir. Ayrıca bu veriler Hint ıspanağının (*Beta vulgaris* var. *bengalensis*) (%18,27) ve kıvırcık lahananın (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C.)(%21,7) kuru madde oranı ile de benzerlik göstermektedir (Lefsrud vd., 2008; Jabeen vd., 2018). Ancak bitkinin rizom kısmında herhangi bir çalışma yapılmadığı için, bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılacak bir literatür bilgisi bulunmamaktadır. Kül sonuçlarına göre ise; kül miktarları bitki kısımlarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p<0,05). Buna göre en çok kül miktarı %19,32 ± 0,04 ile sapta gözlenirken, yaprakta %16,86 ± 0,28 olarak belirlenmiştir. Özbakır Özer ve Aksoy (2019) tarafından yürütülen çalışmada ise yaprak, sap ve çiçeğin bir arada bulunduğu bitki örneklerinde, farklı bölgelerden elde edilen örneklerin kül miktarları %9,12-17,00 aralığında saptanmıştır. Bu

çalışmadan elde edilen kül oranlarına bakıldığında, en yakın kül oranının Ordu ili Akkuş ilçesinden elde edilen değer ile benzerlik gösterdiği bulunmuştur. Kül değerleri arasındaki gözlenen bu farklılık, bitkinin yetiştirme şartlarının önemini göstermekte ve coğrafik şartların bitkinin toplam mineral değerini etkilediğini de işaret etmektedir. Buna ilaveten bu çalışmada elde edilen yaprak % kül değeri, bu bitkinin yaprak yapısına benzerlik gösteren *Althaea officinalis*'in yaprak kül oranı (%17,27) ile benzerlik gösterirken, kökteki kül oranının (%7,27), *T. orientalis* bitkisinden daha düşük olduğu gözlenmektedir (Kaya vd., 2010). Yapraktaki kül oranı *Salvia officinalis* (%16,23), *Rosmarinus officinalis* (%17,16) ve *Thymus camphoratus* kül oranı ile de benzerlik göstermektedir (Mašković vd., 2017). Protein içeriği incelendiğinde ise, bitkinin yaprak, sap ve rizom kısımlarında protein oranları sırasıyla %15,67, %9,18, %9,05 olarak bulunmuştur.

Özellikle gıda olarak değerlendirilmeyen yaprakların protein oranının diğer kısımlara oranla daha yüksek olduğu gözlenmektedir. *T. orientalis*'in protein içeriği literatürde incelendiğinde, bitkinin toplandığı lokasyona göre farklı aralık değerlerinde bulunduğu görülmektedir. Örneğin Kibar ve Kibar (2017) Amasya, Ordu, Samsun ve Tokat'tan toplamış oldukları tam bitki örneklerinde protein oranını, Kjeldahl yöntemi kullanarak %17,86-19,96 aralığında bulmuşken, Özbakır Özer ve Aksoy (2019) ise %14,3-20,3 aralığında bulmuştur. Dolayısıyla, bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, literatür ile benzerlik göstermekte olup, coğrafik lokasyon farklılığının etkisi görülmektedir. Son yıllarda bitkisel protein kaynaklarına artan ilgi düşünüldüğünde *T. orientalis*'in bitkisel protein kaynağı olarak potansiyeli olduğu ancak bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Çizelge 1. Proksimet analizi sonuçları

Örnekler	Kuru madde (%)	Kül (%)	Protein (%)
Yaprak	19,90 ± 1,19 ^b	16,86 ± 0,28 ^b	15,67 ± 0,65 ^a
Sap	6,90 ± 1,22 ^c	19,32 ± 0,04 ^a	9,18 ± 1,13 ^b
Rizom	37,10 ± 0,22 ^a	12,76 ± 0,20 ^c	9,05 ± 1,93 ^b

Aynı sütundaki farklı harflendirme değerlerin istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu belirtir

Bitkinin yaprak, sap ve rizom kısımlarının antioksidan aktivite ölçümü için DPPH ve ABTS metodları kullanılmıştır. Sonuçlar Çizelge 2'de sunulmuştur.

Çizelge 2. Antioksidan aktivite analiz sonuçları

Örnekler	mg AAE/g taze ağırlık	
	DPPH	ABTS
Yaprak	1,19 ± 0,12 ^b	0,97 ± 0,29 ^b
Sap	0,76 ± 0,04 ^c	0,39 ± 0,06 ^c
Rizom	3,29 ± 0,16 ^a	2,58 ± 0,06 ^a

AAE: Askorbik asit eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harflendirme değerlerin istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu belirtir (p<0,05).

Bu çalışmada *T. orientalis* bitkisinin yaprak, sap ve rizom kısımlarının antioksidan aktivitesi sonuçlarına bakıldığında; yaprak, sap ve rizom kısımlarının antioksidan aktivitesinin istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu bulunmuştur (p<0,05). DPPH metoduyla antioksidan aktivite tayininde yaprak, sap ve rizom kısımları için sırasıyla 1,19 ± 0,12; 0,76 ± 0,04, 3,29 ± 0,16 mg

AAE/ g taze ağırlık olduğu belirlenmiştir. ABTS metoduyla antioksidan aktivite tayininde ise yaprak, sap ve rizom kısımları için sırasıyla 0,97 ± 0,29; 0,39 ± 0,06; 2,58 ± 0,06 mg AAE/ g taze ağırlık olduğu belirlenmiştir. DPPH metodunda örneklerdeki antioksidan aktivite biraz daha yüksek bulunmakla beraber, kullanılan iki antioksidan aktivite ölçüm metodu da örneklerdeki antioksidan aktivite açısından paralel sonuçlar vermiştir. Sonuç olarak; en yüksek antioksidan aktivitenin rizom kısmında görüldüğü ardından sırasıyla yaprak ve sap kısımlarının geldiği görülmektedir.

Daha önce *T. orientalis* bitkisinden elde edilen ekstraktlarda DPPH indirgeme gücünü inceleyen farklı çalışmalar mevcuttur. Ayhan vd. (2019), bitkinin yaprak ve sap kısmından elde ettiği ekstraktın (250 mg/l) sırasıyla %65,1 ± 2,4 ve 59,4 ± 2,7 oranında DPPH radikalini indirgeme etkisi tespit edilmiştir. 2022 yılında yapılan bir başka çalışma bitkinin hangi kısımlarını kullandığını belirtmemiş ancak hazırlanan metanol ekstraktı için (25 mg/ml) %14,07 ± 2,88 oranında DPPH radikalini indirgeme etkisini raporlamıştır (Demir,

2022). Farklı bir ekstraksiyon metodu kullanan bir çalışma ise bitkiyi ot ve kök diye 2 kısımda inceleyip ot kısmından elde edilen metanol ekstraktında; DPPH radikali indirgeme gücü için IC₅₀ değerini 4,31 ± 0,04 µg/ml, kök kısmından elde edilen metanol ekstraktında ise IC₅₀ değerini 6,12 ± 0,06 µg/ml olarak bulmuştur (Bıyık vd., 2023). ABTS metodu kullanarak bitkinin antioksidan aktivitesini inceleyen çalışmalara bakıldığında; Demir (2022) metanol ekstraktı için (25 mg/ml) %88,25 ± 5,35 oranında ABTS radikali indirgeme etkisi raporlamıştır. Bu çalışmalar bitkinin antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymakla beraber, çalışmalarda farklı ekstraksiyon metodları kullanıldığı görülmekte ve sonuçları da farklı şekillerde (IC₅₀ değeri halinde veya sadece % indirgeme gücü gibi) sunulmaktadır.

Polifenol içeriği yüksek farklı meyve ve sebzelerin, DPPH ve ABTS radikal süpürücü etki metodlarıyla antioksidan aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada DDPH metoduna göre mango, maviyemiş, çilek, sarımsak gibi meyve ve bitkilerin antioksidan aktivite değeri sırasıyla 2,34 ± 0,00; 1,36 ± 0,03; 1,58 ± 0,06; 0,13 ± 0,00 mg askorbik asit/taze örnek olarak bulunmuştur (Gu vd., 2019). Bu çalışma, Gu vd. (2019) ile aynı metodu kullanmış ve sonuç olarak bitkinin yaprak, sap ve rizom kısımlarının antioksidan aktivitesinin, yukarıda bahsi geçen meyve ve sebzelerle kıyaslandığında önemli düzeyde olduğu bulunmuştur.

Çizelge 3. Toplam fenolik madde miktarı analiz sonuçları

Örnekler	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/g taze ağırlık)
Yaprak	1,11 ± 0,06 ^b
Sap	0,81 ± 0,07 ^c
Rizom	2,78 ± 0,04 ^a

GAE: Gallik asit eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harflendirme değerlerin istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu belirtir (p<0,05).

Literatürde bitkinin toplam fenolik madde içeriğini ortaya koyan çalışmalara bakıldığında sonuçların kuru ekstraktlardaki miktarları sunduğu (Bıyık vd., 2019) veya sonuçların pirokateşol cinsinde verildiği (Özen, 2010; Saçan, 2018) görülmektedir. Bu çalışmada ise, bitkinin toplam fenolik madde içeriği, meyve ve sebzelerle karşılaştırmayı kolaylaştırmak için taze ağırlık üzerinden, askorbik asit cinsinden sunulmuştur. Yaprak, sap ve rizom kısımlarının toplam fenolik

madde içeriğine bakıldığında (Çizelge 3) antioksidan aktivite sonuçlarıyla paralellik gösterdiği görülmektedir. Toplam fenolik madde içeriği rizom>yaprak>sap şeklinde, sırasıyla 2,78 ± 0,04; 1,11 ± 0,06 ve 0,81 ± 0,07 mg GAE/ g taze ağırlık olarak bulunmuştur. Toplam fenolik madde içeriği Gu vd. (2019) tarafından yapılan çalışmayla karşılaştırıldığında, bitkinin tüm kısımlarının meyve ve sebzelere kıyasla önemli düzeyde fenolik madde içerdiği görülmektedir.

T. orientalis bitkisinden elde edilen ekstraktların α-glukozidaz enzim inhibisyon analizinde, aynı konsantrasyonda, standart inhibitör akarboza yakın % inhibisyon değerleri gözlenmiştir (Çizelge 4). Yaprak, sap ve rizom ekstraktında sırasıyla %52,06 ± 2,87; %44,47 ± 3,19 ve %54,34 ± 1,10 inhibisyon gözlenmiştir. Yaprak ve rizom ekstraktının inhibisyon değerleri ise sap ekstraktı ve akarboza (%43,05 ± 1,27) göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (p<0,05). Bitkinin yaprak, sap ve rizom kısımlarından elde edilen ekstraktların standart α-glukozidaz inhibitörü olan akarboza kıyaslandığında önemli düzeyde α-glukozidaz enzimi inhibisyonu yapabilmesi ise antidiyabetik potansiyeli olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada daha önce incelenmemiş rizom ekstresinin de önemli düzeyde α-glukozidaz enzim inhibisyonu yapabildiği gösterilmiştir. Daha önce Ayhan vd. (2019) da benzer şekilde yaprak ekstraktında, sap ekstraktına göre daha yüksek α-glukozidaz enzim inhibisyonu saptamıştır.

Çizelge 4. α-Glukozidaz enzim inhibisyon sonuçları

Örnekler	α-glukozidaz inhibisyonu (%)
Yaprak ekstraktı	52,06 ± 2,87 ^a
Sap ekstraktı	44,47 ± 3,19 ^b
Rizom ekstraktı	54,34 ± 1,10 ^a
Akarboz	43,05 ± 1,27 ^b

Akarboz, standart α-glukozidaz inhibitörü olarak kullanılmıştır. Hazırlanan ekstraktların ve akarbozun 1 mg/ml konsantrasyonda gösterdikleri % enzim inhibisyon değerleridir. Aynı sütundaki farklı harflendirme değerlerin istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu belirtir (p<0,05).

α-Glukozidaz enzim inhibisyonunun flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler, antosiyaninler, glikozitler, kurkuminoidler ve fenolik bileşikler gibi bitkilerin ikincil metabolitlerinden kaynaklandığı

raporlanmaktadır (Kumar vd., 2011). *T. orientalis* bitkisinin fenolik madde bileşiminin incelendiği bir çalışmada en yaygın fenolik bileşimin rosmarinik asit olduğu bulunmuştur (Bıyık vd., 2023). Başka bir çalışmada ise fenolik madde içeriğine bakıldığında gallik asit (187,67 µg/g), rosmarinik asit (10,55 µg/g), vanillik asit (3,78 µg/g), ve hidrosinamik asidin (0,78 µg/g) bulunduğu belirtilmiştir (Demir, 2022). Bu bileşiklerden gallik asit (Kokila vd., 2023) ve rosmarinik asitin (Lin vd., 2011; Zhu vd., 2014) α-glukozidaz inhibisyonu gösterdiği daha önce farklı çalışmalarla ortaya konmuştur. Çalışmamızda gözlenen α-glukozidaz inhibisyonu gallik asit veya rosmarinik asit varlığına bağlı olabileceği düşünülmekte ancak kesin bir bağlantı kurabilmek için fenolik bileşiklerinin ayrı ayrı belirlenmesi gibi daha fazla çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

Bu çalışmada *T. orientalis* bitkisinin tüm kısımlarının antioksidan aktivite ve toplam fenolik

4. Kaynaklar

Andrade-Cetto, A., Becerra-Jimenez J. and Cardenas-Vazquez R. (2008). Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, (116), 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.031>

Anonim (2023). Tarım ve Orman Bakanlığı Risk Değerlendirme Başkanlığı Bitki listesi (Güncelleme tarihi 22.12.2023). <https://www.tarimorman.gov.tr/konu/957/bitki-listesi> (Erişim tarihi 01.03.2024).

AOAC (2015). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists.18th Edition, AOAC, Arlington, 806-814.

Ayhan, B. S., Yalçın, E., Çavuşoğlu, K., and Acar, A. (2019). Antidiabetic potential and multi-biological activities of *Trachystemon orientalis* extracts. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(4), 2887-2893. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00209-1>

Bekar, E., Akpınar Bayızit, A., Çetin, K., Ünal, T. ve Ömeroğlu, P. Y. (2021). Fonksiyonel Nitelikteki Yenilebilir Bazı Çiçeklerin Yağ Asidi Profiline Gaz Kromatografi-Alev İyonizasyon Dedektörü (GC-FID) ile Belirlenmesi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (26), 49-59. https://dergipark.org.tr/pub/gidaveyem/issue/64673/984848#article_cite

Bıyık B, Yılmaz Sarıaltın S, Gökbulut A, Çoban T and Çoşkun M. (2023). *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don as a Valuable Source of

madde içeriği açısından meyve ve sebzelerle karşılaştırıldığında önemli olduğu bulunmuştur. Bitkinin sadece sap kısmı tüketilmekle beraber yaprak kısmının da biyoaktif özelliğe sahip olması ve protein içeriğinin diğer yeşil yapraklı sebzelerle karşılaştırıldığında yüksek olması, bitkinin bu kısmının da gıda endüstrisine kazandırma potansiyeli olduğunu da göstermiştir. Özellikle protein içeriğinin yüksek olması bitkinin alternatif protein kaynağı olarak da değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte bitkinin yaprak, sap ve rizom kısımlarından elde edilen ekstraktlar, antidiyabetik potansiyele sahiptir. Rizom kısmının kullanılabilmesi için ise toksisite testlerinin yapılması gerekmektedir. Sonuç olarak bu çalışma, *T. orientalis* bitkisinin antioksidan ve antidiyabetik özellikleriyle insan sağlığını olumlu yönde destekleyebileceğini ortaya koymuştur.

Rosmarinic Acid: Biological Activities and HPLC Profiles. *Turk J Pharm Sci.*, 20(3), 141-148. <https://doi.org/10.4274/2Ftjps.galenos.2022.14265>

Demir, E. (2022). Profile of fatty acids, vitamins, phytosterols and phenolic acids in *Trachystemon orientalis* L. and evaluation of their antioxidant activity. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (33), 112-118. <https://doi.org/10.31590/ejosat.1027061>

Ergen Akçin, Ö., Kandemir, N. and Akçin, Y. (2004). A morphological and anatomical study on a medicinal and edible plant *Trachystemon orientalis* (L.) G.Don (Boraginaceae) in the Black Sea region. *Turkish Journal of Botany*, 28(4), 435-442.

<https://journals.tubitak.gov.tr/botany/vol28/iss4/7>

Gu, C., Howell, K., Dunshea, F.R. and Suleria, H.A.R. (2019). LC-ESI-QTOF/MS Characterisation of Phenolic Acids and Flavonoids in Polyphenol-Rich Fruits and Vegetables and Their Potential Antioxidant Activities. *Antioxidants (Basel)*, 8(9), 405.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31533286/>

Hussain, F., Khan, Z., Jan, M. S., Ahmad, S., Ahmad, A., Rashid, U., Ullah, F., Ayaz, M. and Sadiq, A. (2019). Synthesis, in-vitro alpha-glucosidase inhibition, antioxidant, in-vivo antidiabetic and molecular docking studies of pyrrolidine-2,5-dione and thiazolidine-2,4-dione derivatives. *Bioorg Chem.*, (91), 103128. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31369977/>

- Iqbal, Y., Ponnampalam, E. N., Cottrell, J. J., Suleria, H. A., and Dunshea, F. R. (2022). Extraction and characterization of polyphenols from non-conventional edible plants and their antioxidant activities. *Food Research International*, (157), 111205. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111205>
- Jabeen, A., Narayan, S., Hussain, K., Ahmed Mir, S., and Khan, F. A. (2018). Effect of organic manures and biofertilizers on quality of spinach beet (*Beta vulgaris* var. *bengalensis*). *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 7(9), 1312-1317. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.709.156>
- Kaur, S., and Roy, A. (2021). A Review on the nutritional aspects of wild edible plants. *Current Traditional Medicine*, 7(4), 552-563. <https://doi.org/10.2174/2215083806999201123201150>
- Kaya, G.Ö., Küçükboyacı, N., Ayaz, F., Hürkul, M.M., Uzunhisarcıklı M.E. ve Köroğlu, A.(2010). Ankara ve Adana'da Aktarlarda "Hatmi" Adı Altında Satılan Drogların Avrupa Farmakopesi'ne Uygunluğunun Değerlendirilmesi. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 39(4), 291-316. https://doi.org/10.1501/Eczfak_00000000571
- Kibar, B., and Kibar, H. (2017). Determination of the nutritional and seed properties of some wild edible plants consumed as vegetable in the Middle Black Sea Region of Turkey. *South African Journal of Botany*, (108), 117-125. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.10.011>
- Koca, L., Hasbay, I., Bostancı, S., Yılmaz, V. and Koca, A. (2015). Some wild edible plants and their dietary fiber contents. *Pakistan Journal of Nutrition*, 14(4). <https://doi.org/10.3923/pjn.2015.188.194>
- Kokila, N.R., Mahesh, B., Ramu, R., Mruthunjaya, K., Bettadaiah, B.K. and Madhyastha, H. (2023) Inhibitory effect of gallic acid from *Thunbergia mysorensis* against α -glucosidase, α -amylase, aldose reductase and their interaction: Inhibition kinetics and molecular simulations. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 41(20),10642-10658. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36533383/>
- Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V. and Prakash, O. (2011). α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacogn Rev.*, 5(9),19-29. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22096315/>
- Lefsrud, M., Kopsell, D., Sams, C., Wills, J., and Both, A. J. (2008). Dry matter content and stability of carotenoids in kale and spinach during drying. *HortScience*, 43(6), 1731-1736. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.6.1731>
- Lin, L., Dong, Y., Zhao, H., Wen, L., Yang, B. and Zhao, M. (2011). Comparative evaluation of rosmarinic acid, methyl rosmarinate and pedalitin isolated from *Rabdosia serra* (MAXIM.) HARA as inhibitors of tyrosinase and α -glucosidase. *Food Chem.*,129(3), 884-9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25212314/>
- Lin, W.R., Liu, K.H., Ling, T.C., Wang, M.C. and Lin, W.H. (2023). Role of antidiabetic agents in type 2 diabetes patients with chronic kidney disease. *World J Diabetes*, 14(4), 352-363. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37122432/>
- Mašković, P., Đukić, D., Mandić, L., Knežević, D., Cvijović, M., Radojković, M., and Đurović, S. (2017). Quality and Chemical Profile Assessment Of Different Teas in Serbia, XXII Savetovanje O Biotehnologiji Book of Proceedings, 549. <http://arhiva.nara.ac.rs/handle/123456789/2183>
- Mohd Bukhari, D.A., Siddiqui, M.J., Shamsudin, S.H., Rahman, M.M. and So'ad, S.Z.M. (2017). α -Glucosidase Inhibitory Activity of Selected Malaysian Plants. *J Pharm Bioallied Sci*, 9(3), 164-170. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5621178/>
- Onaran, A., and Yılar, M. (2012). Antifungal activity of *Trachystemon orientalis* L. aqueous extracts against plant pathogens. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.*, 8 (1), 37-43. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/443965>
- Özbakır Özer, M. and Aksoy, M. (2019.) Mineral composition and nutritional properties of *trachystemon orientalis* (L.) G. don populations in the central black sea region of Turkey. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 18(4), 157-167. <https://doi.org/10.24326/asphc.2019.4.15>
- Özen, T. (2010). Antioxidant activity of wild edible plants in the Black Sea Region of Turkey. *Grasas y Aceites*, 61(1), 86-94. <https://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/625>
- Sacan, O. (2018). Antioxidant Activity, Total Phenol and Total Flavonoid Contents of *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don. *Eur J Biol.*, 77(2): 70-75. <https://dergipark.org.tr/en/pub/iufsjb/issue/42249/508378>

Sadikoğlu, N. and Cevahir, G. (2014). Anthocyanin content and localization in different parts of *trachystemon orientalis* (L.) g. Don. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 18(1).

<https://doi.org/10.1080/13102818.2004.10819241>

Trinh, P.T.N., Giang, B.L., Tuan, N.T., Hang, H.T.T., Thuy, N.T.L., Tuan, N.N and Dung, L.T. (2021). Alfa glucosidase inhibitory, anti inflammatory activities and a new furanocoumarin derivative of *Ruellia tuberosa*. *Nat Prod Res.*, 35(22), 4248-4255.

<https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1696790>

Verma, N., Behera, B. C., and Sharma, B. O. (2012). Glucosidase Inhibitory and Radical Scavenging Properties of Lichen Metabolites Salazinic Acid, Sekikaic Acid and Usnic Acid. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 40(1), 7-21.

<https://dergipark.org.tr/en/pub/hjbc/issue/61880/926022>

Zhu, F., Asada, T., Sato, A., Koi, Y., Nishiwaki, H. and Tamura, H. (2014). Rosmarinic acid extract for antioxidant, antiallergic, and α -glucosidase inhibitory activities, isolated by supramolecular technique and solvent extraction from *Perilla* leaves. *J. Agric. Food Chem.*, 62(4), 885-92.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24400891/>

Zlatanović, S., Kalušević, A., Micić, D., Laličić-Petronijević, J., Tomić, N., Ostojić, S., and Gorjanović, S. (2019). Functionality and storability of cookies fortified at the industrial scale with up to 75% of apple pomace flour produced by dehydration. *Foods*, 8(11), 561.

<https://doi.org/10.3390/foods8110561>