



EJBCS

**Eurasian Journal of
Biological and Chemical Sciences
(Eurasian J. Bio. Chem. Sci.)**

Cilt: 8 Volume: 1 Year: 2025

e-ISSN 2651-5237



EJBACS

Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences

Cilt: 8 Volume: 1 Year: 2025

Published Biannually

Corresponding Address

Gaziantep University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Gaziantep, Türkiye

E-mail: mtdogan1@gmail.com

Web: <https://www.dergipark.org.tr/ejbcs>

Editor in Chief

Prof. Dr. Muhittin DOĞAN

Editorial Board

Prof. Dr. Muhittin DOĞAN	Gaziantep University, Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Muhammet DOĞAN (Associate Editor)	Karamanoglu Mehmetbey University, Türkiye
Prof. Dr. Hikmet GEÇKİL	Inonu University, Türkiye
Prof. Dr. Nabeel AHMAD	Dev Bhoomi Uttarakhand University, India
Assoc. Prof. Dr. Alevcan KAPLAN	Batman University, Türkiye
Assoc. Prof. Dr. Demet DOĞAN	Gaziantep University, Türkiye
Dr. Abdul Bari SHAH	Korea University, South Korea
Dr. Majid IQBAL	Chinese Academy of Sciences, China
Dr. Muhammad Nauman KHAN	Islamia College Peshawar, Pakistan
Dr. Victorine Lorette YIMGANG	Higher Institute for Scientific and Medical Research, Cameroon

Owner / Publisher

Muhammet DOĞAN

This journal is peer-reviewed and published twice (June, December) a year.

All responsibility of the articles belongs to the authors.

e-ISSN 2651-5237



EJBACS

Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences

Cilt: 8

Volume: 1

Year: 2025

Contents / İçindekiler

Research Articles / Araştırma Makeleleri

Balık sosu üretiminde kullanılan *Lactobacillus sakei* ve *Staphylococcus carnosus* bakterilerinin antioksidan aktivite kapasitesine etkisi 1 - 7

Fatma Çolakoğlu, Selin Özge Dinç, Fatma Nur Ergün

Küresel bir sorun; İki farklı coğrafik bölgede yetişen *Verbascum sinuatum* L. türünün halüsinojenik biyoaktif bileşenler bakımından GC-MS yöntemiyle karşılaştırılması 8-17

Handan Uysal, Mehmet İnce

Photocatalytic hydrogen evolution from ZnO-loaded carbon nanotube 18 - 24

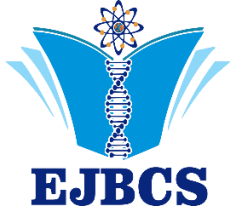
Münevver Tuna Genç, Adem Sarılmaz, Emre Aslan, Faruk Özel, İmren Hatay Patır

Interpretation of the antioxidant potential of *Salix purpurea* subsp. *leucodermis* and *Salix caprea* L. using Phyton 25 - 32

Tuğba Uçar Akyürek, Pelin Acar, Arzu Bayır Yeğin, Ahmet Efe

Niacin deficiency and hormonal imbalance as emerging biochemical markers in women with type 1 and type 2 diabetes mellitus 33 - 39

Hajer Ifsaikha Bahjat Alaiesh, Sevki Adem



Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences

Journal homepage: www.dergipark.org.tr/ejbc



Balık sosu üretiminde kullanılan *Lactobacillus sakei* ve *Staphylococcus carnosus* bakterilerinin antioksidan aktivite kapasitesine etkisi

Fatma Çolakoglu¹ , Selin Özge Dinç^{2*} , Fatma Nur Ergün³ 

^{1,2*,3}Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Gıda Teknolojisi Bölümü, Çanakkale, Türkiye

*Corresponding author : selinozge.dinc@comu.edu.tr
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0003-1597-1929>

Received : 25/09/2024
Accepted : 12/01/2025

To Cite / Atfiiçin: Çolakoglu F, Dinç, SÖ, Ergün FN. 2025. Balık sosu üretiminde kullanılan *Lactobacillus sakei* ve *Staphylococcus carnosus* bakterilerinin antioksidan aktivite kapasitesine etkisi. Eurasian J Bio Chem Sci, 8(1):1-7 <https://doi.org/10.46239/ejbc.1555588>

Özet: Balık sosu fermantasyon tekniği ile üretilen, nitelikli fonksiyonel bir üründür. Kehribar renginde lezzetli bir sıvı olan ürünün yapısal özellikleri ortamda bulunan mikroorganizma ve enzim faaliyetleri ile şekillenmektedir. Yapılan bu çalışmada, hamsiden (*Engraulis encrasicolus*) geleneksel yöntem ve starter kültürle; *Lactobacillus sakei* ve *Staphylococcus carnosus* (BFL-F06, Almanya), balık sosu üretimi gerçekleştirilmiştir. Starter kullanımı, üründe geleneksel üretimden farklı olarak hem tuz oranının düşük olmasını hem de lezzet gelişiminin iyileştirilmesini vaat eden bir üretim şeklidir. Çalışmada, geleneksel üretimde % 20 oranında, starter ilaveli üretimde ise % 3 oranında tuz kullanılmış, sonuçta elde edilen ürün grupları, kalite özellikleri açısından da değerlendirilmiştir. Sos gruplarında sırasıyla; ham protein oranı % 10,72-12,43, ham yağ içeriği ise % 3,21-2,17 olarak belirlenmiştir. Duyusal açıdan, starter grubunda ekşi tadın, geleneksel sos grubunda ise tuzlu ve balıksı tadın baskın olduğu belirlenmiştir. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) temizleme aktivitesi açısından ise, geleneksel üretimle elde edilen sos grubunda daha güçlü antioksidan aktivite belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Engraulis encrasicolus*, balık sosu, *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus*, kalite, antioksidan aktivite

The effect of Lactobacillus sakei and Staphylococcus carnosus bacteria on the antioxidant activity capacity in fish sauce production

Abstract: Fish sauce is a high-quality functional product produced through fermentation techniques. The structural properties of this amber-colored, flavorful liquid are shaped by the microorganisms and enzyme activities present in the environment. In this study, fish sauce was produced using anchovy (*Engraulis encrasicolus*) with traditional methods and starter cultures of *Lactobacillus sakei* and *Staphylococcus carnosus* (BFL-F06, Germany). The use of starters represents a production method that promises both a lower salt content and improved flavor development compared to traditional production. In the study, 20 % salt was used in traditional production and 3% in starter-added production, and the resulting product groups were also evaluated in terms of quality characteristics. In the sauce groups, the crude protein content was determined as 10.72-12.43 % and the crude fat content as 3.21-2.17 %, respectively. Sensory evaluation revealed that the starter culture group had a sour taste, while the traditional sauce group had a salty and fishy taste. In terms of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) scavenging activity, the traditional production method resulted in sauces with stronger antioxidant activity.

Keywords: *Engraulis encrasicolus*, fish sauce, *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus*, quality, antioxidant activity

© EJBCS. All rights reserved.

1. Giriş

Balık sosu, “kendine has karakteristik kokusu ile tuzlanmış balıkların açık kahverengi renkte sıvı hidrolizatları” olarak tanımlanan ve tarihi 2000 yıl öncesine dayanan değerli bir üründür. Sos, geleneksel olarak çeşitli balıkların yardımcı maddeler ve baharatlar ile hazırlanan ham karışımlarının

farklı (1:1-1:6) tuz konsantrasyonlarında fermente edilmesiyle üretilmektedir. Fermantasyon sürecinde balığın makromolekülleri, ortamdaki mikroorganizmalar tarafından ve ürettikleri eksojen enzimler ve/veya hammaddede var olan endojen (amilaz, proteaz ve lipaz gibi) enzimlerin aktivitesi ile parçalanmaktadır (Sun ve ark.

2016). Mikroorganizma ve enzimlerin aktiviteleri sonucu üründe gelişen biyoaktif özellikler, üretimde mikrobiyal aktiviteyi değerli kılmakta ve son yıllarda üretim konusunda yapılan çalışmalarda bu özellikler, ilgi çekmektedir (Lee ve ark. 2015; O'Bryan ve ark. 2015; Wang ve ark. 2018).

Fermentasyon ortamının kendine has florası ve bu flora ya bağlı olarak değişen parçalanma ürünleri ve metabolitler, balık sosu konusunda üzerinde durulması gereken önemli noktalar. Ancak üretimde kullanılan geleneksel yöntem, doğası gereği kontrolsüz ilerlemekte, ticari üretimde başta standardizasyon ve güvenlik parametreleri olmak üzere çeşitli olumsuzlukları da beraberinde getirmektedir. Bu nedenle balık sosu üretiminde geleneksel yöntem alternatif olarak starter kültür kullanımı öngörülmekte, kontrollü gerçekleşen fermentasyon süreci ile istenilen kalitede ürünler üretilmektedir. Hatta belirli mikroorganizmaların ilavesi ile aroma ve tat oluşumu istenildiği gibi şekillendirilebilmekte, ayrıca son üründe biyoaktif özellikler geliştirilebilmektedir. Kore balık sosu ile yapılan bir çalışmada, fermentasyon süresince bakteri florasının yapısal özellikleri ve ortamdaki ana metabolitler incelenmiş, ortamda var olan amino asitler ve benzerlerinin yanı sıra antimikrobiyal ve antioksidan aktivite gösteren organik asit, etanol, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler de üretildiği, bunların ürüne güvenlik özellikleri kattığı ifade edilmiştir (O'Bryan ve ark. 2015). Fermentasyon sürecinde, özellikle protein moleküllerinin kapsamlı bir şekilde parçalanması sonucu oluşan biyoaktif peptit ve diğer parçalanma ürünleri ürüne biyoaktif özellik kazandırmaktadır (Duan ve ark. 2016; Elegado ve ark. 2016; Lee ve ark. 2016; Wang ve ark. 2018). Yapılan çalışmalarda, parçalanma ile üretilen hidrofobik amino asitler, peptitler ile koenzim Q10 gibi vitamin benzeri bileşenlerin, ürüne antioksidan ve antimikrobiyal özellikler kattığı bildirilmektedir (Sørensen ve ark. 2004; Pyo ve Oh 2011; Aluko 2012; Hamzeh ve ark. 2020; Bu ve ark. 2021).

Bu çalışma kapsamında, ülkemiz denizlerinden en fazla üretimi yapılan hamsiden geleneksel yöntem ve starter kültür ilavesi ile balık sosu üretimi yapılmıştır. Starter kültür olarak ise fermente sucuk üretiminde kullanılan ticari starter kültür (*Lactobacillus sakei* ve *Staphylococcus carnosus* / BFL-F06, Almanya) karışımı tercih edilmiştir. Starter kullanımı, üründe geniş yelpazede parçalanma ürünleri oluşumunu destekleyebilmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada elde edilen üründe, tat ve aroma çeşitliliği başta olmak üzere, antioksidan kapasitesi açısından da değerli bir ürün oluşumu beklenmiştir. Bu nedenle çalışmada, antioksidan aktivite kapasitesi fermentasyon süreci boyunca ölçülerek bakterilerin aktiviteye etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca elde edilen son üründe kalite özellikleri de duyuşal, fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan incelenmiş, geleneksel üretim ve starter kültür uygulaması ile üretilen ürün grupları arasındaki farklılık ortaya konulmaya çalışılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

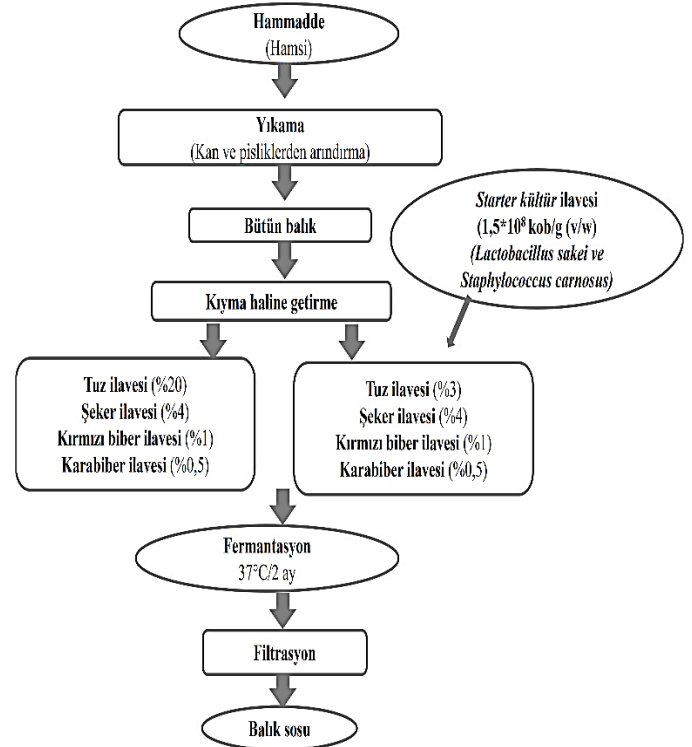
Araştırmada materyal olarak, Karadeniz'den avcılığı yapılan *Engraulis encrasicolus* (hamsi) kullanılmıştır.

Balıklar, balık halinden temin edilmiş ve strafor kutularda buzlanmış olarak laboratuvara getirilmiştir. Sos hazırlığında ilave edilen yardımcı maddelerden baharat, deniz tuzu, şeker ise marketten temin edilmiştir.

2.2. Metot

2.2.1. Geleneksel ve starter kültür kullanılarak balık sosu üretimi

Balık sosu üretimi Ormancı ve ark. (2018), Zang ve ark. (2018) ve Zeng ve ark. (2013)'ün bildirdiği yöntemlerin modifiye edilmesi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 1). Kısaca, hammadde kıyma haline getirilmiş olup, baharat ilavesi ile yoğurularak balık hamuru haline getirilmiştir. Fermentasyon sürecinin ardından numuneler, balık sosunun posadan ayrılması için aşamalı olarak kaba filtre kağıdından süzölmüştür. Berrak sıvı halde elde edilen soslar analizlere kadar buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Starter kültür ilavesi ile gerçekleştirilen sos üretiminde ise, sucuk üretiminde fermentasyon işlemi için kullanılan ticari mix kültür preparatından (*Lactobacillus sakei* ve *Staphylococcus carnosus* / BFL-F06, Almanya) yararlanılmıştır. Öncelikle hazır starter kültür, genel amaçlı bir sıvı besiyeri olan Nutrient Broth'a bir öze dolusu aktarılmış ve 35°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Aynı işlemin tekrarlanması ardından, fermentasyon işleminde kullanılacak taze kültür elde edilmiştir. Hücre yoğunluğu McFarland yardımı ile steril saf su kullanılarak 10^6 - 10^8 kob/ml'ye ayarlanmıştır.



Şekil 1. Geleneksel yöntem ve starter kültür ilavesi ile balık sosu üretim şeması

2.2.2. Balık soslarında fiziko-kimyasal analizler

Numunelerin pH analizi; Ludorf ve Meyer (1973)'ün metoduna göre, tuz miktarı analizi ise Mohr metoduna göre

yapılmıştır (AOAC 2000). Renk analizi; Minolta Chromometer cihazında sıvı ölçümüne uygun küvetlerin kullanılması ile gerçekleştirilmiştir. Ölçüm öncesi kalibrasyon beyaz standart plaka kullanımı ile gerçekleştirilmiş olup, örneklerin rengi L, a* ve b* değerleri ile belirlenmiştir. L değeri 0=siyah; 100=beyaz, b* değeri +değer=sarı; -değer=mavi ve a* değeri +değer=kırmızı; -değer=yeşil şeklinde ifade edilmektedir. Besin kompozisyonu analizleri; nem analizi AOAC (2000)'e göre, ham kül analizi yakma yöntemi ile (AOAC 2000), ham protein analizi ise Kjeldahl yöntemine göre yapılmıştır (AOAC 2000). Ham yağ analizi, Bligh ve Dyer (1959)'un uyguladığı yöntem esas alınarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.3. Mikrobiyolojik analizler

Örnekler aseptik koşullarda tartımın ardından, örneğin 90 ml peptonlu su içerisinde homojenize edilerek analize hazırlanmıştır. Ardından homojenizattan 10⁻³'e kadar onluk seyreltilimler hazırlanmış ve ekimler gerçekleştirilmiştir (Anonim 1998). Analizlerde kültür ve sayım yöntemleri olarak yayma plak ve dökme plak yöntemleri kullanılmıştır. Analiz edilen bakteri grupları ise toplam aerobik bakteri, halofilik bakteri, *Enterococcus* subsp., *Staphylococcus* subsp., laktik asit bakterileri, *Bacillus* subsp., toplam maya ve küf olarak belirlenmiştir (Anonim 1998; Anonim 2001). Toplam aerobik bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA), halofilik bakteri sayımı için % 7 NaCl ilaveli Plate Count Agar, *Enterococcus* subsp. sayımı; D-Coccosel Agar, *Staphylococcus* subsp. sayımı için BP (Baird-Parker) Agar, laktik asit bakteri sayımı için MRS (de Man, Rogosa Sharpe) Agar, *Bacillus* subsp. sayımı için *Bacillus cereus* Selective Supplement bulunan MYP (mannitol egg yolk polymyxine) Agar ve toplam maya ve küf sayımı için Malt Extract Agar kullanılmıştır. Ekimi yapılan petrilere gerekli koşullarda inkübasyonu sonunda, üreme görülen bakteri kolonilerinin sayımları yapılmıştır. Tespit edilen sayı seyreltme faktörü ile çarpılarak, ürünlerin gramındaki bakteri miktarı belirlenmiş ve sonuçlar kob/ml olarak verilmiştir (Harrigan ve McCance 1976).

2.2.4. Duyusal analiz

Tarife dayalı duyusal analiz; Balık soslarının karakter duyusal özelliklerini ölçmek için, 7 profesyonel panelist katılımıyla analizler gerçekleştirilmiştir. Duyusal analiz; renk, temel tatlar, aroma ve ağızda kalan tat ana başlıkları ile bu başlıklar altında türetilen alt başlıklara dayanarak belirlenmiştir. Panelistler analiz öncesinde ürün özelliklerinin isimlendirilebilmesi amacıyla eğitime tabii tutulmuştur. Bu eğitimde tuzlanmış ürünler ve fermente soslar üzerine yapılmış farklı çalışmalarda kullanılan terimler göz önünde bulundurularak koku, tat ve görünüş başlığı altında alt terimler geliştirilmiştir (Ritthiruangdej ve Suwonsichon 2006). Sunum esnasında ise ürünler kodlanmış ve panelistlere düzensiz şekilde sunulmuştur ve ürün özellikleri “en düşük değer” (1) ve “en yüksek değer” (9) olarak nitelendirilmiştir.

2.2.5. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Antioksidan aktivite DPPH radikali temizleme aktivitesi ile tespit edilmiştir. DPPH radikali temizleme aktivitesi,

Thaipong ve ark. (2006) göre test edilmiştir. Kısaca Trolox ((±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) ve balık sosu örneklerinden 2,5 mg/ml ila 40 mg/ml konsantrasyonlarında alt numuneleri hazırlanmıştır. Hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki numunelerden 1ml alınarak, 3 ml hacmindeki 4 mg/100 ml konsantrasyonunda hazırlanmış 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ile karıştırılmıştır. Reaksiyon tüplerinin 515 nm dalga boyunda absorpsiyon değerleri ölçülmüştür. Metanol negatif kontrol, Trolox pozitif kontrol olarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki formül kullanılarak % DPPH temizleme aktivitesi olarak ifade edilmiştir (Denklem 1).

$$\%DPPH = \frac{(A_0 - (A - Ab))}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

Denklemde A0: DPPH Absorpsiyonu; A: Örnek/Trolox/ Absorpsiyonu; Ab: Kör (metanol) Absorpsiyonu ifade etmektedir.

2.2.6. İstatistiksel analiz

Bu çalışmada tüm analizler üç paralel olarak test edilmiştir. Balık sosu grupları arasındaki farkları belirlemek için SPSS 27 istatistik yazılımı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılmış olup, sonuçlar ortalama ± SD olarak ifade edilmiştir. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar için Bağımsız T-Testi (eğer veriler normal dağılıyorsa) ve Mann-Whitney U Testi (eğer veriler normal dağılmıyorsa) kullanılmıştır. Anlamlılık p<0.05 olarak belirlenmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

Balık sosu, ortamdaki mikrobiyal flora ve enzimlerle karakterize edilen fermente bir üründür. Geleneksel üretimde moleküllerin parçalanması, yüksek oranda tuz ilavesi ile tamamen doğal bir süreçte gerçekleşir. Starter kültür kullanımında ise, düşük oranda kullanılan tuz ve starter eşliğinde üretim kontrollü gerçekleştirilebilmektedir. Bu çalışmada, fermentasyon ortamına % 3'lük tuz eşliğinde ticari mix kültür preparatının (*Lactobacillus sakei* ve *Staphylococcus carnosus* /BFL-F06, Almanya) eklenmesi ile ve geleneksel yöntemle iki ayrı sos üretilmiş, üretim sürecinde fermentasyon ortamının antioksidan aktivite kapasitesine ve ürün kalitesi etkisi araştırılmıştır.

3.1. Balık sosu gruplarının fiziko-kimyasal analiz sonuçları

Yapılan çalışmada sos gruplarının benzer şekilde, hafif asidik pH değerine sahip oldukları, üretim sonucunda pH değerlerinin 4,75 ve 5,02 civarında olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Yapılan renk analizi sonucunda ise, örneklerin sarı-kahverengi renk tonlarında olduğu tespit edilmiştir. L değeri starter uygulanan grupta daha koyu tespit edilirken (19,51), geleneksel üretim grubunda daha açık (18,98) bir tonda olduğu belirlenmiştir (p<0.05). Ölçümlerde a* değeri rengin gelenekselde bordo-kırmızımsı ama starter grubunda daha açık bir renk olduğunu göstermektedir (p>0.05). Örneklerin b* değeri de en yüksek geleneksel grubunda tespit edilmiş, bu sos grubunda daha sarıya kaçan kehribar rengine meyil olduğu belirlenmiştir. Yine starter grubunda b* değeri de daha düşük tespit edilmiştir (p<0.05) (Tablo1).

Tablo 1. Balık soslarının fiziksel analiz sonuçları

	Geleneksel Yöntem Balık Sosu	Starter Kültür İlaveli Balık Sosu
pH	5,02±0,08 ^a	4,75±0,02 ^b
Tuz (%)	19,72±1,01 ^a	3,60±0,10 ^b
Renk		
L	18,98±0,85 ^a	19,51±1,61 ^b
a*	0,50±0,25 ^a	0,46±0,01 ^a
b*	1,15±0,06 ^a	1,00±0,27 ^b

Balık sosları, besin kompozisyonu içeriği açısından birbirine benzer özellik göstermişlerdir. Besin kompozisyonu analizlerine ait sonuçlar Tablo 2’de verilmiştir. Sos numunelerinin geleneksel ve starter gruplarında sırasıyla yüksek protein içeriğine; % 10,72-12,43, düşük yağ içeriğine % 2,17-3,21, sahip oldukları tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 2). Geleneksel olarak üretilen sos grubu su içeriğinin % 65,43 değeri ile düşük kül içeriğinin yüksek (% 18,42) olduğu, starter grubunda ise su içeriğinin % 73,50 değeri ile yüksek, kül içeriğinin düşük (% 4,16) olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$) (Tablo 2). Bu değerler diğer araştırmacıların yaptıkları çalışma sonuçları ile de uyumludur (Mueda 2015; Russo ve ark. 2020).

Tablo 2. Balık soslarının besin kompozisyonu analiz sonuçları

%	Geleneksel Yöntem Balık Sosu	Starter Kültür İlaveli Balık Sosu
Nem	65,43±0,38 ^a	73,50±0,38 ^b
Kül	18,42±0,12 ^a	4,16±0,04 ^b
Protein	10,72±0,19 ^a	12,43±0,45 ^b
Yağ	3,21±0,59 ^a	2,17±0,33 ^b

3.2. Mikrobiyolojik analiz sonuçları

Sos grupları mikrobiyolojik açıdan incelendiğinde ise, tüketiminde risk oluşturabilecek bir durum olmadığı, mikroorganizma içeriklerinin düşük düzeyde olduğu görülmüştür. Balık soslarının mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 3’te özetlenmiştir. Sonuçlara göre geleneksel sos ürün numunelerinde sadece 3 log kob/ml civarında aerobik bakteri yükü tespit edilmiş, buna ek olarak 1 log kob/ml civarında ise halofilik mikroorganizma varlığı dikkati çekmiştir. Bu mikroorganizmalar, tuza tolerans gösteren % 20 tuzlulukta varlık gösterebilen organizmalardır. Starter ilaveli sos numunelerinde ise kullanılan mikroorganizmalar, laktik asit bakterileri ve *Staphylococcus* subsp. 2,23-2,12 log kob/g değerleriyle aerobik bakteri yüküne paralel olarak varlık göstermişlerdir.

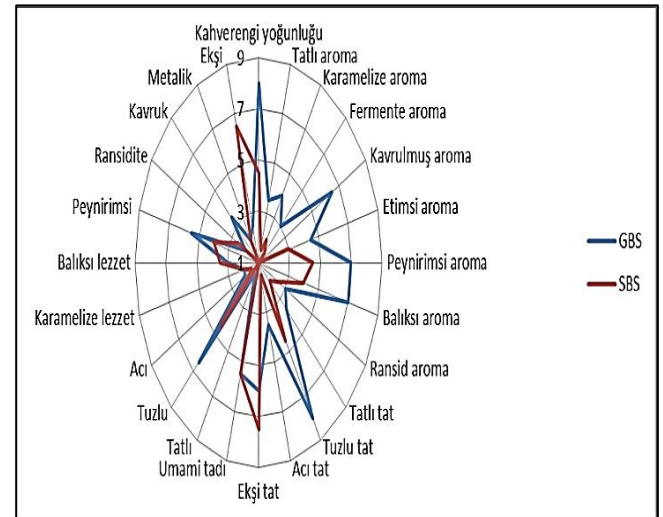
Tablo 3. Balık soslarının mikrobiyolojik analiz sonuçları

Mikrobiyolojik analiz (log kob/ml)	Geleneksel Yöntem Balık Sosu	Starter Kültür İlaveli Balık Sosu
Toplam aerobik-mezofilik canlı	3,14	4,86
Halofilik mikroorganizma	1,02	<1
<i>Enterococcus</i> subsp.	<1	<1
<i>Staphylococcus</i> subsp.	<1	2,23
Laktik asit bakteri	<1	2,12
<i>Bacillus</i> subsp.	<1	<1
Toplam maya ve küf	<1	<1

3.3. Duyusal analiz sonuçları

Balık soslarının duyusal özelliklerini ölçmek için uygulanan bu analiz, 7 profesyonel panelist katılımcıyla gerçekleştirilmiştir. Duyusal analiz renk, temel tatlar, aroma ve ağızda kalan tat ana başlıkları ile bu başlıklar altında türetilen alt başlıklara dayanarak belirlenmiştir (Tablo 4) (Şekil 2).

Lezzet, balık sosunun duyusal olarak önemli bir göstergesidir ve tüketicide ürün seçimini yönlendiren önemli bir özelliktir (Feng ve ark. 2015). Temel tatlar; tuzlu, ekşi, tatlı, acı ve umami olarak nitelendirilmektedir. Sos grupları temel tat açısından incelendiğinde, gelenekselde üründe tuzlu tadın hakim olduğu (8), starter kültürde ise umami tadın (5,5) gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Sos gruplarındaki tatlar tatlı, karamelize, fermente, kavrulmuş, etli, peynirli, balıklı ve ekşi olmak üzere 8 aroma açısından değerlendirilmiştir.



Not: GBS: Geleneksel yöntem balık sosu; SBS: Starter kültür ilaveli balık sosu

Şekil 2. Balık soslarının duyusal analiz sonuçları

Geleneksel üretim doğal fermentasyonun bir sonucu olarak daha aromatik belirlenmiş, starter uygulamasında ise et (3), peynir (4,5) ve balığımsı (4) aromalar hakim bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 4) (Şekil 2). Gelenekselde ağızda kalan tat peynirimsi (5,5) olurken, starter uygulamasında ekşi (6,5) olmuştur ($p<0.05$). Renk değerlendirmesinde ise kahverengi yoğunluğu geleneksel üretimde 8, starter uygulamasında 4,5 olarak belirlenmiştir ($p<0.05$).

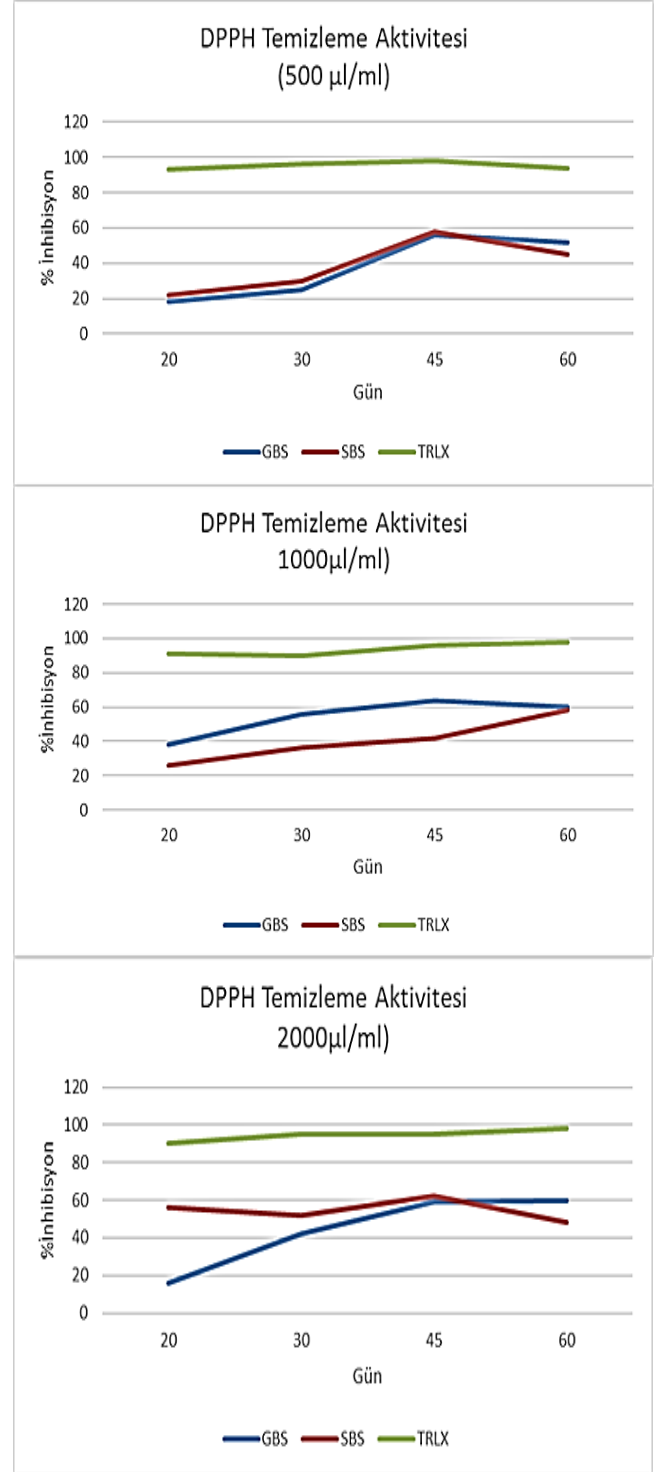
3.4. Fermentasyon süresince antioksidan aktivite sonuçları

Geleneksel yöntem ile üretim ve starter kültür uygulaması ile üretim arasında uygulama konsantrasyonu ve süreye bağlı olarak göreceli değişimler de gözlenmiş, fakat anlamlı değişimler belirlenmemiştir (Şekil 3) ($p>0.05$).

Tablo 4. Balık soslarının duyu analizi sonuçları

	Geleneksel Yöntem Balık Sosu	Starter Kültür İlaveli Balık Sosu
Renk yoğunluğu		
Kahverengi yoğunluğu	8,0 ^a	4,5 ^b
Aroma		
Tatlı aroma	3,5 ^a	1,5 ^b
Karamelize aroma	4,0 ^a	2,0 ^b
Fermente aroma	3,0 ^a	1,5 ^b
Kavrulmuş aroma	6,5 ^a	1,0 ^b
Etimsi aroma	4,5 ^a	3,0 ^b
Peynirimsi aroma	7,0 ^a	4,5 ^b
Balık aroma	7,0 ^a	4,0 ^b
Ransid aroma	3,0 ^a	2,5 ^b
Tat		
Tatlı tat	3,5 ^a	2,0 ^b
Tuzlu tat	8,0 ^a	4,5 ^b
Acı tat	3,5 ^a	1,5 ^b
Eksi tat	6,0 ^a	7,5 ^b
Umami	5,5 ^a	5,5 ^a
Tadım sonrası ağızda kalan tat		
Tatlı lezzet	1,5 ^a	1,0 ^b
Tuzlu lezzet	6,5 ^a	4,5 ^b
Acı lezzet	2,0 ^a	1,5 ^b
Karamelize lezzet	2,0 ^a	2,0 ^a
Balıksı lezzet	3,0 ^a	3,5 ^b
Peynirimsi lezzet	5,5 ^a	4,0 ^b
Ransid lezzet	2,0 ^a	2,5 ^b
Kavruk lezzet	3,5 ^a	1,0 ^b
Metalik lezzet	2,0 ^a	2,0 ^a
Ekşi lezzet	2,5 ^a	6,5 ^b

DPPH temizleme aktivitesi, sos gruplarında fermentasyonun 20. günü itibarıyla, sosun durulmaya başlaması ile, ölçülmeye başlamış, 45 ve 60. günlerde olmak üzere iki aylık süreçte dört defa analiz edilmiştir. Sos gruplarında 20. günde bir farklılık görülmemiş ($p>0.05$), 30.günde başlayan değişim, 500-1000 ve 2000 µl/ml'lik konsantrasyonların tümünde her iki grupta da farklılaşmaya başlamıştır ($p<0.05$). Geleneksel balık sosunda 45. günde en yüksek inhibisyon % 64 olarak 1000 µl/ml konsantrasyonunda belirlenirken, starter uygulaması için bu değerler 60. günde 2000 µl/ml konsantrasyonda % 60 olarak belirlenmiştir.



Not: GBS: Geleneksel yöntem balık sosu; SBS: Starter kültür ilaveli balık sosu; TRLX: Trolox

Şekil 3. Fermentasyon sürecinde antioksidan aktivitenin değişimi

Geleneksel yöntemle üretilen sos grubunda, antioksidan aktivite kapasitesinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durum geleneksel üretim tekniğinde kullanılan %20 oranındaki tuz içeriğinin oluşturduğu iyon bağlarının güçlü antioksidan aktivitesi ile açıklanabilmektedir. Yapılan önceki çalışmalarda da fermentasyonun antioksidan aktiviteyi artırdığı bununla birlikte farklı ve yoğun tuz konsantrasyonlarının da antioksidan aktivite üzerinde olumlu etki gösterdiği bildirilmiştir (Je ve ark. 2005; Ohata ve ark. 2016; Peralta ve ark. 2021).

4. Sonuç

Çalışmanın sonucunda, geleneksel yöntem ve starter ilavesi ile üretilen balık soslarında besin değeri açısından, ham protein oranının sırasıyla, % 10,72-12,43, ham yağ içeriğinin ise % 3,21-2,17 arasında olduğu belirlenmiştir. Esas itibarıyla bileşen farklılığı geleneksel ürün üretiminde kullanılan % 20 tuz içeriği ile alakalı gerçekleşmiş bu ürün grubunda su içeriği düşük (% 65,43), tuz ve kül miktarı ise % 20 civarında olup starter gruplara göre yüksek oranda tespit edilmiştir. Sos gruplarında starter kültür ilavesi ile üretilen balık sosunda pH değeri 4,75 olarak geleneksel yöntem ile üretilen (5,02) sosa göre daha düşük bulunmuştur. Sosun önemli kalite kriterlerinden olan renk değerlerinin ise starter ilaveli üretim grubunda daha açık renkte olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada sos grupları antioksidan içerikleri açısından incelendiğinde, süreç boyunca az da olsa konsantrasyona bağlı değişimler gözlenmiş, ancak geleneksel üründe aktivite kapasitesi genel anlamda daha yüksek bulunmuştur. Ürünler duyuşal açıdan değerlendirildiğinde ise, her iki grupta tat ve aromanın farklı olduğu belirlenmiştir. Geleneksel üretim doğal fermentasyonun bir sonucu olarak daha aromatik bir ürün özelliği göstermiş, tuz ve peynirimsi tatların baskın olduğu saptanmıştır. Starter uygulamasında ise üründe et, peynir ve balıgımsı aromaların hakim olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak, üretilen balık soslarının nitelikli protein ve düşük yağ içeriğine sahip hafif asidik ve güçlü aroma bileşenleri olan ürünler olduğu belirlenmiş, starter grubunda ekşi, tadın geleneksel sos grubunda ise tuzlu tadın baskın olduğu belirlenmiştir.

Teşekkürler

Bu çalışmaya desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkürlerimizi sunarız. Bu çalışma 2209-A 2022 yılı 2. dönem çağırısı kapsamında 1919B012222851 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Bu makalenin özeti, 7th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2024) Kongresinde sözlü olarak sunulmuş ve kongre elektronik özet kitabında sadece özet basılmıştır.

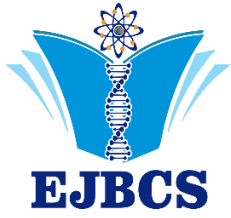
Yazarların katkıları: FÇ: Proje danışmanlığı; metodoloji; doğrulama; yazım – inceleme ve düzenleme; süpervizyon. SÖD: Veri edinimi; yazılım; doğrulama; biyimsel analiz; yazım – özgün taslak; görselleştirme. FEN: Proje yönetimi; Veri edinimi; Yazım – inceleme ve düzenleme; biyimsel analiz; görselleştirme.

Çıkar çatışması açıklaması: Yazarlar bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde hiçbir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Kaynaklar

- Aluko R. 2012. Bioactive peptides. In: Functional foods and nutraceuticals, 1st edn. Springer, New York
- Anonim 1998. Bacteriological analytical manual edition 8, revision A. In: Food and Drug Administration (FDA) Division of Microbiology and Association of Official Analytical Chemists. New Hampshire, USA
- Anonim 2001. Bacteriological analytical manual. In: Food Drug Administration (FDA), Center for Food Safety & Applied Nutrition (CFSAN). New Hampshire, USA
- AOAC 2000. Official Methods of Analysis. In: Association of Official Analytical Chemists, 18th edn. D.C., Washington
- Bligh EG, Dyer WJ. 1959. A rapid method of lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37:911-917
- Bu Y, Liu Y, Luan H, Zhu W, Li X, Li J. 2021. Changes in protease activity during fermentation of fish sauce and the correlation with antioxidant activity. J. Sci. Food Agric. 102(8):3150-3159
- Duan S, Hu X, Li M, Miao J, Du J, Wu R. 2016. Composition and metabolic activities of the bacterial community in shrimp sauce at the flavor-forming stage of fermentation as revealed by metatranscriptome and 16S rRNA gene sequencings. J. Agric. Food Chem. 64(12):2591-2603
- Elegado FB, Colegio SMT, Lim VMT, Gervasio ATR, Perez MTM, Balolong MP, Banaay CBG, Mendoza BC. 2016. Ethnic fermented foods of the Philippines with reference to lactic acid bacteria and yeasts. In: Tamang JP (ed) Ethnic fermented foods and alcoholic beverages of Asia. Springer, New York
- Feng Y, Su G, Zhao H, Cai Y, Cui C, Sun-Waterhouse D, Zhao M. 2015. Characterisation of aroma profiles of commercial soy sauce by odour activity value and omission test. Food Chem. 167: 220-228
- Hamzeh A, Noisa P, Yongsawatdigul J. 2020. Characterization of the antioxidant and ACE-inhibitory activities of Thai fish sauce at different stages of fermentation. J. Funct. Foods. 64:103699.
- Harrigan WF, McCance ME. 1976. Laboratory methods, 2nd edn. Academic Press, London
- Je JY, Park PJ, Byun HG, Jung WK, Kim SK. 2005. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide derived from the sauce of fermented blue mussel, *Mytilus edulis*. Bioresour. Technol. 96(14):1624-1629
- Lee SH, Jung JY, Jeon CO. 2015. Bacterial community dynamics and metabolite changes in myeolchi-aekjeot, a Korean traditional fermented fish sauce, during fermentation. Int. J. Food Microbiol. 203:15-22
- Lee YC, Kung HF, Huang CY, Huang TC, Tsai YH. 2016. Reduction of histamine and biogenic amines during salted fish fermentation by *Bacillus polymyxa* as a starter culture. J Food Drug Anal. Journal List. 24(1):157-163
- Ludorf W, Meyer V. 1973. Fische und fischerzeugnisse. In: Auflage Z, Parey PY (eds). Berlin und Hamburg
- Mueda RT. 2015. Physico-chemical and color characteristics of salt fermented fish sauce from anchovy *stolephorus commersonii*. AACL Bioflux. 8:565-572

- O'Bryan CA, Crandall PG, Ricke SC, Ndahetuye JB. 2015. Lactic acid bacteria (LAB) as antimicrobials in food products: types and mechanisms of action. In: Taylor TM (ed) Handbook of natural antimicrobials for food safety and quality, Woodhead Publishing, USA
- Ohata M, Uchida S, Zhou L, Arihara K. 2016. Antioxidant activity of fermented meat sauce and isolation of an associated antioxidant peptide. Food Chem. 194:1034-1039
- Ormancı HB, Künili İE, Çolakoglu FA. 2018. Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) ve atıklarından balık sosu üretimi ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. ÇOMÜ Ziraat Fak. Derg. 6:177-185
- Peralta EM, Endoma JrLF, Sefil AS, Palmos GN. 2021. Chemical and antioxidant activity changes in Philippine green mussel (*Perna viridis*) during fermentation at varying salt concentrations. Philipp J. Sci. 150(6B):1711-1722
- Pyo YH, Oh HJ. 2011. Ubiquinone contents in Korean fermented foods and average daily intakes. J. Food Compos. Anal. 24(8):1123-1129
- Ritthiruangdej P, Suwonsichon T. 2006. Sensory properties of Thai fish sauces and their categorization. Agric. Nat. Resour. 40(6):181-191
- Russo GL, Langellotti AL, Genovese A, Martello A, Sacchi R. 2020. Volatile compounds, physicochemical and sensory characteristics of Colatura di Alici, a traditional Italian fish sauce. J. Sci. Food Agric. 100:3755-3764
- Sørensen R, Kildal E, Stepaniak L, Sørhaug T. 2004. Inhibition of angiotensin I converting enzyme (ACE) by peptides from fish muscle and cheese. Curr Top Pept Protein Res. 6:101-104
- Sun J, Yu X, Fang B, Ma L, Xue C, Zhang Z, Mao X. 2016. Effect of fermentation by *Aspergillus oryzae* on the biochemical and sensory properties of anchovy (*Engraulis japonicus*) fish sauce. Int. J. Food Sci. Technol. 51(1):133-141
- Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC Assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. J. Food Compos. Anal. 19:669-675
- Wang Y, Li C, Li L, Yang X, Wu Y, Zhao Y, Wei Y. 2018. Effect of bacterial community and free amino acids on the content of biogenic amines during fermentation of Yu-lu, a Chinese fermented fish sauce. J. Aquat. Food Prod. 27(4):496-507
- Zang J, Xu Y, Xia W, Yu D, Gao P, Jiang Q, Yang F. 2018. Dynamics and diversity of microbial community succession during fermentation of Suan yu, a Chinese traditional fermented fish, determined by high throughput sequencing. Food Res Int. 111:565-573
- Zeng X, Xia W, Jiang Q, Yang F. 2013. Effect of autochthonous starter cultures on microbiological and physico-chemical characteristics of Suan yu, a traditional Chinese low salt fermented fish. Food Control. 33(2):344-351



Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences

Journal homepage: www.dergipark.org.tr/ejbs



Küresel bir sorun; İki farklı coğrafik bölgede yetişen *Verbascum sinuatum* L. türünün halüsinojenik biyoaktif bileşenler bakımından GC-MS yöntemiyle karşılaştırılması

Handan Uysal*^{ID}, Mehmet İnce^{ID}

Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kriminalistik Ana Bilim Dalı, Erzurum, Türkiye

*Corresponding author : hauysal@atauni.edu.tr
Orcid No: <https://orcid.org/10000-0002-4290-8223>

Received : 20/11/2024
Accepted : 25/02/2025

To Cite / Atıf için: Uysal H, İnce M. 2025. Küresel bir sorun; İki farklı coğrafik bölgede yetişen *Verbascum sinuatum* L. türünün halüsinojenik biyoaktif bileşenler bakımından GC-MS yöntemiyle karşılaştırılması. Eurasian J Bio Chem Sci, 8(1):8-17 <https://doi.org/10.46239/ejbs.1587457>

Özet: Farklı tür mantarlar, kaktüsler ve bitkilerden elde edilen halüsinojenik maddeler (hayal gördürücüler), kullanıcının gerçekte orada bulunmayanları görmesine, duymasına ve hissetmesine sebep olmaktadır. Bu tür maddeler, kullanılan doz, kullanım sıklığı, kullanıcının yaşı, beraberinde alkol veya başka ilaç alınıp alınmadığı gibi faktörlere bağlı olarak bağımlılık yaratmaktadır. Özellikle bazı bitki türlerinin yaprak, çiçek, tohum gibi toprak üstü kısımları halk arasında çiğneme, sarma ya da demleme yoluyla kullanıldığında kişiye kendini iyi hissettirmektedir. Bu bitkilerden birisi olan *Verbascum* kozmopolit bir cinstir ve halk arasında çeşitli hastalıklara karşı iyileştirici olarak kullanılmaktadır. Ancak bu cinse ait türler, zehirli ve zararlı olmadan narkotik (uyuşturucu) özellikli olarak da tanımlanmaktadır. Scrophulariaceae (sıraca otugiller) familyasına dahil *Verbascum sinuatum* L. her yerde yetişen, elde edilmesi kolay ve kullanımı yasak olmayan türlerden birisidir. Narkotik özellikli olarak da tanımlanan bu bitki, iki farklı coğrafik bölgeden toplanarak halüsinojenik biyoaktif bileşenleri bakımından karşılaştırılmıştır. Erzurum ve Muğla'dan toplanan bitkilerin toprak üstü kısımlarından özellikle tohum-çiçeğe ait metanol ve su ekstraktlarında halüsinojenik biyoaktif bileşenler bulunmuştur. Bu çalışma, gençler ve hatta çocuklar arasında bile kullanılan bitkisel kökenli uyuşturucu ve halüsinojenik maddelere dikkat çekebilmek için yapılmıştır. Çünkü bitkisel kökenli etken maddelere ulaşmak ve kullanmak son derece kolay ancak küresel bir tehdit olarak kriminal bakımdan da son derece önemlidir.

Anahtar kelimeler: Bağımlılık, biyoaktif bileşenler, *Verbascum*

A global problem; Comparison of Verbascum sinuatum L. species growing in two different geographies in terms of hallucinogenic bioactive compounds by the GC-MS method

Abstract: Hallucinogenic substances obtained from different types of mushrooms, cacti and plants cause the user to see, hear and feel things that are not actually there. Such substances cause addiction depending on factors such as the dose used, frequency of use, the age of the user, and whether alcohol or other drugs are taken together. Especially the above-ground parts of some plant species such as leaves, flowers and seeds make people feel good when used by chewing, wrapping or brewing. *Verbascum*, one of these plants, is a cosmopolitan genus and is used among the public as a cure for various diseases. However, species belonging to this genus are also described as having narcotic properties without being poisonous or harmful. *Verbascum sinuatum* L., belonging to the Scrophulariaceae family, is one of the species that grows everywhere, is easy to obtain and is not prohibited to use. This plant, which is also described as having narcotic properties, was collected from two different geographical regions and compared in terms of its hallucinogenic bioactive components. Hallucinogenic bioactive compounds were found in the methanol and water extracts of the aboveground parts of the plants collected from Erzurum and Muğla, especially the seeds-flowers. This study was conducted to draw attention to plant-based drugs and hallucinogenic substances used among young people and even children. Because it is extremely easy to access and use plant-derived active ingredients, but it is also extremely important from a criminal perspective as a global threat.

Keywords: Addiction, bioactive ingredients, *Verbascum*

1. Giriş

Bağımlılık, aile, toplum ve sosyokültürel çevre bağlamında pek çok etkenin bir araya gelmesi ile oluşan, aileden başlamak üzere çocuklara karşı tutarsız davranışlar ve arkadaş seçimlerindeki yanlışlıklar sonucunda da ortaya çıkabilen, aynı çevrede kişinin maruz kaldığı ötekileştirilme, eğitim ya da iş hayatındaki başarısızlıklara karşı maruz kalınan durumlar ile baş edebilme ya da kendini koruyabilme yöntemi olarak gelişmektedir. Bu süreçte, kişinin kullandığı bir madde, alkol, sigara, kumar, teknoloji veya sergilediği bir davranış üzerinde kontrolünü kaybetmesi ile farklı bağımlılık şekilleri ortaya çıkmaktadır (Ögel 2018). Kontrolsüzce kullanılan her madde ya da gerçekleştirilen her davranış, kullanıcıda bağımlılık riski oluşturabilmektedir. Örneğin uyuşturucu potansiyeline sahip bir maddenin ruhsal, fiziksel ya da sosyal sorunlara yol açmasına rağmen alımına devam edilmesi, bırakma isteğine karşı bırakılamaması veya maddeyi alma isteğinin durdurulmaması en yaygın bağımlılık tanımı olarak bilinmektedir (Angres ve Bettinardi-Angres 2008). Bigelow ve Edgar (2006)'a göre bağımlılık; bir maddeyi almaya yönelik güçlü bir arzu, iştah veya ihtiyaç, maddeyi hangi yolla olursa olsun mutlaka elde etmeye yönelik güçlü bir istek, tüketilen madde dozunu artırmaya devam etme eğilimi, maddenin etkilerine yönelik psikolojik ve/veya fiziksel bir bağımlılık, madde kullanımını tedavisiz bırakamama durumu gibi farklı başlıklar altında değerlendirilebilecek bireyler ve toplumlar üzerinde zararlı etkileri olan bir çeşit hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre ise bağımlılık; kullanıcının psikoaktif madde veya maddeleri periyodik veya kronik olarak sarhoş olana dek tekrar tekrar kullanması, madde veya maddeleri almaya yönelik bir düşkünlük göstermesi, madde kullanımını gönüllü olarak bırakma veya değiştirme konusunda büyük zorluk yaşaması ve hemen her yolla psikoaktif maddeyi elde etmek için kararlılık sergilemesi durumlarını ifade etmektedir (World Health Organization 1994). Kısaca insanların hayatını sürdürmek için kullanmaya ihtiyacı olmadığı halde kullandığı madde ve davranışların artan miktarlarda tekrarına dayalı ilişkiye "bağımlılık" denilmektedir ve tıbbi olarak biyopsikososyal bir bozukluk olarak da tanımlanmaktadır. Bağımlılık, ilk temas ya da bir kere deneme, zaman zaman kullanıma bağlı olarak hücrel düzeyde meydana gelen değişimler ve sürekli kullanıma sonucu psikolojik ve biyolojik bağımlılık olmak üzere farklı şekillerde gelişebilmektedir. Kişilerin bu isteklerini karşıladıkları maddeler ise narkotikler (morfin, eroin gibi), uyutucular (alkol gibi), uyarıcılar (kokain, kafein ve nikotin gibi) ve hayal gördürücüler/halüsinojenikler (esrar gibi) olmak üzere dört ana gruba ayrılmaktadır (Bayer 2003).

Bağımlılık yapıcı maddelerin bir grubu olan halüsinojenler, kullanıldığında kişiyi gerçek dünyadan uzaklaştırıp ütöpik (hayali) düşüncelere yönlendiren maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bu maddeleri kullanan kişilerde zaman ve mekan önemsizleşir, düşünce, algı ve duyuusal bozukluklar gözlenir. Halüsinojenlerin başlıca örnekleri esrar (marihuana) gibi hint keneviri kökenli maddeler, bir çeşit mantar olan çavdar mahmuzundan (*Claviceps*

purpurea) elde edilen liserjik asit dietilamid (LSD), fensiklidin (PCP) ve psilosibindir. Tüm bu bağımlılık yapıcı maddeler merkezi sinir sistemini, gastrointestinal sistemi, karaciğer ve böbrek gibi hayati organları etkilemekte ayrıca verem, kanser, kangren gibi birçok ölümcül hastalığa da neden olmaktadır. Çeşitli araştırmacılara göre, özellikle farklı bitkilerin toprak üstü kısımlarında (aerial) bulunan etken maddeler de bitkisel orijinli bağımlılık yapıcı halüsinojenik özellikler gösterebilmektedir (Akbulut 2011; Andre ve ark. 2016; Dingha ve ark. 2019; The Centre for Addiction and Mental Health 2021; Bora ve Aksoy 2023).

Bu çalışma, genellikle otsu ve çalımsı formlarda bulunan, kozmopolit ve kolay ulaşılabilir olan, kanuni müeyyidesi olmadığı için taşınması ve kullanımı yasak olmayan Scrophulariaceae (sıraca otugiller) familyasına dahil *Verbascum sinuatum* L. (sığır kuyruğu) türüne dikkat çekebilmek için yapılmıştır. *Verbascum* cinsine ait türler, Lane (1843)'e göre, ilk olarak 1700'lü yılların ortalarında Amerika'nın Virginia eyaletinde "balık zehiri" olarak kullanılmış ve 1839 yılında da Michigan'da "tıbbi bitki" olarak tanımlanmıştır (Schwartz 2000; Kritzon 2003). Daha sonra yapılan araştırmalarda bitkinin çiçek ve tohumunda bulunan saponinden (soğukkanlı hayvanlarda toksik olan bir çeşit triterpen) dolayı geleneksel balıkçılıkta kullanıldığı, balıklar tarafından vücuda alındığı zaman solunum organlarını etkileyerek sersemletici etki ile geçici baygınlık yarattığı ve su yüzüne çıkan balıkların kolayca avlandığı bildirilmiştir (Riguera 1997; Kocaoğlu 2004; Küçük Kurt 2008). Ancak öldürücü etkisi hakkında herhangi bir bilgi bulunmamaktadır (Wilhelm 1974; Cengiz Bayır ve Atamanalp 2011). Bu cinse ait *V. phlomoides* L., *V. densiflorum* Bertol. ve *V. thapsus* L. gibi pek çok türün ise halk arasında astım, öksürük, adet sancısı, romatizma, kulak ağrısı, hemoroid, damar sertliği, kabızlık, akciğer ve şeker hastalığının tedavisinde, yapraklarının da infüzyon halinde yatıştırıcı, yara iyileştirici olarak kullanıldığı bilinmektedir (Baytop 1999; Türker ve Camper 2002). Ayrıca yine bu cinse ait türler, zehirli ve zararlı olmadan narkotik (uyuşturucu) özellikli olarak da tanımlanmaktadır (Grieve 1995; Tatlı ve Akdemir 2006). Daha önce yapılan farklı araştırmaların sonuçlarına göre, *Nicotiana rustica* L. (Maraş otu), *Datura stramonium* L. (boru otu) ve *Hyoscyamus niger* L. (ban otu) gibi bitkilerin de halk arasında kişiye kendisini iyi hissettirdiği için gün içinde çiğneme ya da sarma yoluyla yaygın kullanımı, onların narkotik özelliklere sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Bayam 2021; Bayam ve Uysal 2021).

Bu tip bitkilere dikkat çekebilmek için Muğla ve Erzurum gibi iki farklı coğrafik alanda yetişen *Verbascum* cinse ait *V. sinuatum* L. türünün çiçek-tohum, yaprak, gövde gibi toprak üstü kısımlarının hangi biyoaktif fitokimyasal bileşenlere sahip olduğu ve özellikle bu bileşenlerden hangilerinin halüsinojenik etkili olup olmadığının belirlenebilmesi için tüm toprak üstü kısımlara ait olmak üzere ayrı ayrı hazırlanan metanol ve su ekstraktları Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GC-MS) yöntemiyle incelenmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Çalışmada kullanılan bitkisel organizma

Scrophulariaceae familyasına dahil olan *V. sinuatum*, Anadolu'da bodanotu, balık otu, kurt kulağı ve kolay yanabildiği için çoban çırası isimleriyle de bilinmektedir (Tablo 1). Bu familyanın üyeleri genellikle otsu, çalimsı ya da nadiren ağaç formunda olabilmektedir. Yılın Haziran ve Ağustos aylarında parlak sarı renkli çiçekler açan (Şekil 1) ve bazı bölgelerde Eylül ayı sonlarına kadar çiçekleri canlılığını koruyan, 20-150 cm boylarında iki yıllık otsu olan bu bitki türü, daha çok ekilmemiş boş arazilerde ve yol kenarlarında yetişmektedir (Asıngil 2009). Dünya'da özellikle Avrasya'nın doğu kesimleri, Orta Avrupa ve Balkanlar ile (Şekil 2) Türkiye'de Kuzey, Doğu ve İç Anadolu'da yetişmektedir (Şekil 3). Ayrıca geniş bir İran-Turan ve Akdeniz, Ege dağılımına da sahiptir. Bu cins ait ülkemizde 165'i endemik, 105'i hibrit tür olmak üzere toplamda 341, Dünya'da ise 360'dan fazla tür bulunmaktadır (Güner 2012; Ekim 2014).

Tablo 1. *V. sinuatum* L. Bitkisinin Sistematigi

Alem	Plantae (Bitkiler alemi)
Şube	Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Sınıf	Magnoliopsida (İki çenekliler)
Takım	Lamiales (Çiçekli bitkiler)
Familiya	Scrophulariaceae (Sıraca otugiller)
Cins	<i>Verbascum</i> (Sığır kuyruğu)
Tür	<i>V. sinuatum</i> L. (Sığır kuyruğu)



Şekil 1. *V. sinuatum* bitkisinin doğal ortamdaki görüntüleri.



Şekil 2. *V. sinuatum*'un dünyadaki dağılımı.



Şekil 3. *V. sinuatum*'un Türkiye'deki dağılımı.

2.2. Bitkilerin Toplanması

Deneyisel çalışmalarımızda kullanılan *V. sinuatum*, doğal ortamlarından çiçeklenme ve tohumlanma dönemlerinde Haziran ayının son haftasında Muğla ili Yatağan ilçesi Cazkırılar köyünden ve mevsimsel farklılıktan dolayı da Ağustos ayında Erzurum ili Palandöken ilçesinden toplanmıştır (Tablo 2). Temin edilen bu bitkilerin tür teşhisleri, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Meryem Şengül Köseoğlu tarafından yapılmıştır. Daha sonra bitkiler, doğrudan güneş görmeyen karanlık bir ortamda kurutma kâğıtlarının arasına konulup oda sıcaklığında (22-24°C), sık sık kurutma kâğıtları değiştirilerek ve çürüyen kısımları ayıklanarak kurutulmuştur. Çeşitli araştırmacılara göre (Duncan ve Gold 1982; Erkal ve ark. 2006; Acartürk 2014; Willis ve ark. 2014), halk arasında farklı bitkilerin gövde, yaprak, çiçek ve tohum gibi bölümleri ya toz haline getirildikten sonra sarılarak, çiğnenerek kullanılmakta ya da kaynatılarak demleme yoluyla suyu içilmektedir. Bu çalışma için iki farklı bölgeden toplanıp kurutulmuş olan *V. sinuatum* bitkisinin çiçek-tohum, yaprak ve gövdesi ayrı ayrı olmak üzere ayıklanarak (Şekil 4) bitkiye ait tüm kısımlar porselen havanda iyice dövülüp öğütülerek ince granül haline getirilmiştir.

Tablo 2. *V. sinuatum*'a ait lokaliteler ile GC-MS için kullanılan toprak üstü kısımlar

Bitki	Toplanan şehir	Konum (GPS)	Toprak üstü kısımlar
<i>V. sinuatum</i>	Muğla	37°16'58.6"K 28°03'18.0"D	Çiçek-tohum(+), yaprak(-) gövde(-)
<i>V. sinuatum</i>	Erzurum	39°53'33.8"K 41°15'04.9"D	Çiçek-tohum(+), yaprak(-) gövde(-)

(+) etken madde bulunan kısımlar, (-) etken madde bulunamayan kısımlar



Şekil 4. *V. sinuatum*'un kurutulmuş çiçek-tohum (a-b), yaprak (c) ve gövde kısımları (d)

2.3. *V. sinuatum* Bitkisine ait Metanol ve Su Ekstraksiyonunun Yapılışı

GC-MS analizi için öğütülmüş *V. sinuatum*'un çiçek-tohum, yaprak ve gövde kuruları, metanol ve su ile ekstrakte edilmiştir (İnce 2024). Bitkiye ait tüm kısımlar ayrı ayrı olmak üzere 24 saat oda sıcaklığında metanol içinde bekletildikten sonra önce süzgeç kâğıdından geçirilmiştir. Süzüntüler, daha sonra 200°C sıcaklıkta vakumlu fırınlanma yöntemiyle metanolden ayrıştırılarak bitkisel metanol ekstresi elde edilmiştir. Bu ekstreler, steril boş cam şişelere aktarılacak şekilde kullanılmaya kadar +4°C'de buzdolabında saklanmıştır. Elde edilen metanol ekstresi, Erzurum için VSE_{met} ve Muğla için de VSM_{met} olarak isimlendirilmiştir.

Su ekstraksiyonu için de yine öğütülmüş *V. sinuatum*'un çiçek-tohum, yaprak ve gövde kuruları kullanılmış ve her biri için ayrı ayrı olacak şekilde üzerlerine 70-80°C sıcaklıkta saf su dökülüp ekstraksiyon ortamının sıcaklığı oda sıcaklığı (22-24°C) seviyesine düşünceye dek Ultrasonik Banyo Cihazı içinde bekletilmiştir. Elde edilen su ekstresi de kısaca yine Erzurum için VSE_{su} ve Muğla için VSM_{su} olarak isimlendirilmiştir.

2.4. GC-MS Analizinin Yapılışı

GC (gaz kromatografisi), MS (kütle spektrometresi), bir çok sektörde organik ve biyokimyasal karışımların kalitatif ve kantitatif analizlerinin yapılması için kullanılan analitik bir yöntemdir. Bu uygulamada, iki cihaz aynı anda ve bir arada çalışarak birçok bileşenin ayrılmasını ve anlaşılamayan bileşiklerin kolay şekilde tanımlanması sağlanmaktadır. GC ile örneklerdeki bileşenler ayrılırken MS ile her bir bileşen ayrı ayrı tanımlanmaktadır. Sunulan bu çalışmada kullanılan

V. sinuatum bitkisine ait toprak üstü kısımlardan elde edilen su ve metanol ekstrelerine ait bileşenlerin tanımlanması, Erzurum Bölge Kriminal Polis Laboratuvarı Müdürlüğü, Kimyasal İnceleme Şube Müdürlüğü Laboratuvarında yer alan Agilent Marka GC-MS cihazı ile analiz protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Uysal ve İnce 2024).

Erzurum ve Muğla illerinde yetiştiği coğrafik alanlardan toplanan *V. sinuatum*'un gövde, yaprak ve çiçek-tohum kısımlarından hazırlanan metanol ve su ekstraktları kullanılarak yapılan GC-MS analizinde, halüsinojenik özelliğe sahip olan ve etken madde olarak değerlendirilen biyoaktif fitokimyasal bileşenlere bitkilerin yalnızca “çiçek-tohum kısımlarında” rastlanmıştır (Tablo 2). Bu nedenle Bulgular ve Tartışmada verilen kromatogramlar ile tablolar, yalnızca çiçek-tohum kısımlarına ait sonuçları içermektedir.

3. Bulgular ve Tartışma

Sunulan bu çalışma kapsamında, farklı iki ilde yetişen *V. sinuatum* türünün su ve metanol ekstraktları, halüsinojenik etken maddelere sahip olup olmadığı bakımından GC-MS yöntemiyle karşılaştırılmış ve ekstraktlara ait tüm bileşenlerin kimlik doğrulanması sağlanmıştır. Ayrıca her bir ekstrakta ait olmak üzere kromatogramlarda görülen ve pik veren bileşenlerin alıkonma zamanlarına göre %benzerlik oranlarını içeren tablolar da hazırlanmıştır.

Erzurum ili'nden toplanan ve *V. sinuatum* türünün çiçek-tohum kısımlarına ait (Tablo 2) VSE_{met} ekstrakı için elde edilen toplam 25 biyoaktif fitokimyasal bileşenin kromatogramı (Tablo 3) Şekil 5'de verilmiştir. Farklı alıkonma zamanlarına göre benzerlik oranı en yüksek olan bileşenlerden birisi %72 dl-Glyceraldehyde / Propanal, 2,3-dihydrox (Pik 1) canlı vücudunda bulunan ve orta derecede önemli üç karbonlu bir monosakkarittir. %64 2-Propanone, 1,3-dihydroxy (syn: 1,3 dihydroxyacetone) (Pik 2) yine basit bir karbonhidrat, %98 Benzoic Acid, 4-Hydroxy-3-Methoxy (Pik 13) (syn: vanilik asit, etil ester, etil vanilyat) vanilinin okside formu olarak aromatik bir madde, %74 Alpha.-d-glucopyranoside, methyl (alpha.-Methylglucoside) (pik 14) glikozdan türetilen yumuşatıcılar, emülgatörler, nemlendiriciler, koyulaştırıcı maddeler, plastikleştiriciler, yüzey aktif maddeler, vernikler ve reçineler dahil olmak üzere çeşitli ürünlerin üretiminde kimyasal ara madde olarak kullanılan bir monosakkarit, %99 n-Hexadecanoic acid (Pik 20) (syn: Palmitik asit) hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan en yaygın doymuş yağ asidi ve %99 6-Octadecenoic acid (syn: Petroselinik asit) (Pik 22) de hayvansal ve bitkisel yağlarda doğal olarak bulunan bir çeşit yağ asididir.

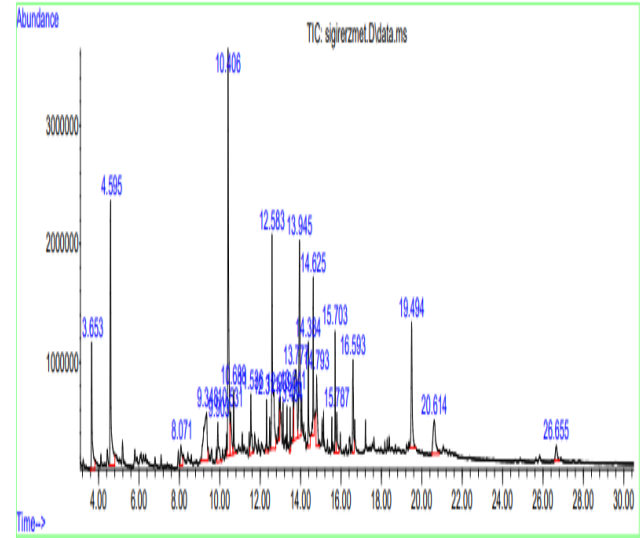
Tablo 3. GC-MC analizi ile tespit edilen VSE_{met} ekstraktına ait tüm fitokimyasal bileşenler

Pik	Alıkonma Zamanı	Alan (%)	Benzerlik Oranı (%)	Bileşenler
1	3,65	4,66	72	dl-Glyceraldehyde / Propanal, 2,3-dihydroxy
2	4,59	9,88	64	2-Propanone, 1,3-dihydroxy
3	8,07	1,23	90	1-Benzofuran*
4	9,35	6,49	47	1,2,3-Propanetriol
5	9,90	2,01	49	3-Methylbenzofuran
6	10,41	13,81	80	4-Vinylphenol
7	10,53	2,19	60	Dihydrobenzofuran (2,3-Dihydro-benzofuran)*
8	10,69	1,46	53	1,2,3-Propanetriol, Monoacetate
9	11,54	2,15	94	2-Methoxy-4-Vinylphenol
10	12,31	1,02	98	Benzaldehyde, 4-Hydroxy-3-Methoxy
11	12,58	9,59	52	Hydrazine, 1-Ethyl-1-Phenyl
12	12,94	1,34	76	Nonanoic Acid
13	13,48	1,01	98	Benzoic Acid, 4-Hydroxy-3-Methoxy
14	13,64	1,26	74	Alpha.-d-glucopyranoside, methyl
15	13,78	7,30	35	4-Trimethylsilyloxyphenet Hyl-N-Trimethylsilylamine
16	13,94	8,46	53	Beta.-l-arabinopyranoside, Methyl
17	14,38	2,60	98	methoxycinnamic acid
18	14,63	3,54	95	2-Propenoic Acid, 3- (4-Hydroxyphenyl)-, Methyl Ester
19	14,79	2,89	27	Myo-Inositol
20	15,70	2,27	99	n-Hexadecanoic acid
21	15,79	1,58	43	-D-glucopyranosyl
22	16,59	3,32	99	6-Octadecenoic acid
23	19,49	5,32	38	3-Hydroxy-2-pyridin-3-yl-propenal
24	20,61	3,55	25	Cyclohexene,1-(2-propenyl)
25	26,65	1,06	38	Tetrasiloxane, decamethyl
Toplam				25

*Halüsinojenik etki gösterme potansiyeli yüksek fitokimyasal bileşenler

Bu bileşenler arasında 3. Pik’de %90 benzerlik oranı ile 1-Benzofuran* ve 7. Pik’de %60 benzerlik oranı ile bulunan 2,3-Dihydro-benzofuran* (syn:2,3-Dihydro-1-benzofuran) halüsinojenik etki gösterme potansiyeli yüksek fitokimyasal bileşenler olarak belirlenmiştir ve birbirlerine yakın alanlarda pik vermişlerdir (Tablo 3 ve Şekil 5). Dihydro-benzofuran, trisiklik bileşiklerin ve bazı önemli ilaçların sentezi için bir ara hammadde olarak tanımlanmaktadır. Bu kimyasal bileşen, “içeriğinde bulunan ikame

“fenetilamin”den dolayı merkezi sinir sistemi uyarıcılarını etkileyerek halüsinojenik etkiye sebep olabilecek öncül madde olarak değerlendirilmiştir” (Tablo 3).

**Şekil 5.** GC-MC analizi ile elde edilen VSE_{met} ekstraktına ait kromatogram

VSE_{su} ekstraktına ait GC-MS analizinin sonucunda da alıkonma zamanlarına göre 24 farklı biyoaktif fitokimyasal bileşen belirlenmiştir (Tablo 4) ve tüm bileşenlere ait kromatogram da Şekil 6’da verilmiştir. VSE_{su} ekstraktına ait Pik 5’de %90 benzerlik oranı ile bulunan 2,3-dihydro-benzofuran* (syn:2,3-Dihydro-1-benzofuran)’ın varlığı (Tablo 4), VSE_{met} ekstraktındaki Pik 3 ve Pik 7 ile uyumludur (Tablo 3). Hem VSE_{met} hem de VSE_{su} ekstraktında yüksek oranlarda ve birbirine yakın piklerde yer alan bu fitokimyasal bileşen, Erzurum’da yetişen *V.sinuatum* türünün halüsinojenik potansiyelini işaret etmektedir.

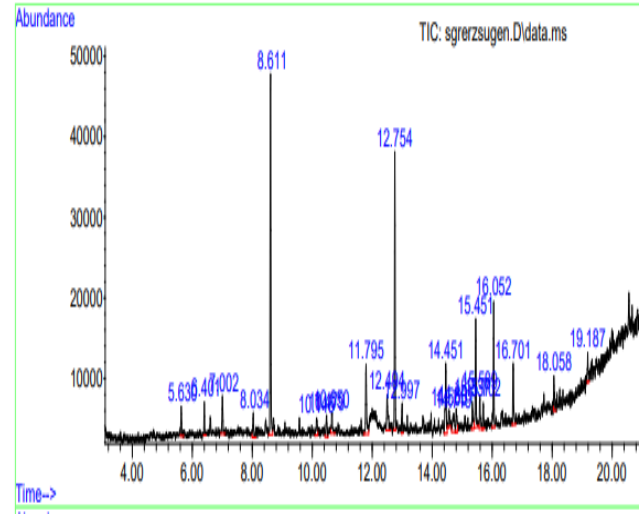
V.sinuatum’un Muğla ili’nden toplanan örneklerinden de yine çiçek-tohum kısımlarına ait metanol (VSM_{met}) ve su (VSM_{su}) ekstraktları, fitokimyasal bileşenleri bakımından GC-MS analizi ile değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda VSM_{met}’e ait toplam yirmi üç (23) bileşene ait pik gözlemlenmiştir (Tablo 5) ve tüm pikler Şekil 7’de verilen kromatogramda da görülmektedir. Bu kimyasal bileşenlerden en yüksek oranda bulunanlardan bazıları; %72 DL-Glyceraldehyde dimer (Pik 1), %74 2-Propanone, 1,3-dihydroxy (Pik 2), %95 Pyrocatechol (Pik 4), %87 Dihydrobenzofuran* (Pik 5), %96 2-Methoxy-4-Vinylphenol (Pik 8), %96 Gamma.-Hydroxyisoeugenol (Pik 16), %99 n-Hexadecanoic acid (Pik 17), %99 Methyl (9Z,12Z)-9,12-Octadecadienoate (Pik 19), %98 (9Z)-9,17-Octadecadienal (Pik 20) ve %50 Metamfepramone* (Pik 22)’dur. DL-Gliseraldehit, aldoz redüktaz enzimi için bir substrat, Pyrocatechol (1,2-dihidroksibenzen veya katekol (C₆H₄(OH)₂) bitkilerde eser miktarlarda bulunan doğal fenolik bir bileşik, 2-Metoksi-4- Vinylphenol birçok bitkinin doğal aroma vericisi, Gamma.-Hydroxyisoeugenol *Cananga odorata* (ylang-ylang) gibi bazı türlerin esansiyel yağlarında bulunan propenil ile ikame edilmiş bir

guaiakoldür (gayakol). n-Hexadecanoic acid (Palmitik asit) ile Methyl (9Z,12Z)-9,12-Octadecadienoate (Stearik asit, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$) doymuş yağ asitleri ve (9Z)-9,17-Octadecadienal de esansiyel yağ asitlerindendir.

Tablo 4. GC-MC analizi ile tespit edilen VSE_{su} ekstraktına ait tüm fitokimyasal bileşenler

Pik	Alınma Zamanı	Alan (%)	Benzerlik Oranı (%)	Bileşenler
1	5,63	1,67	56	4-Amino-2-[4-amidinoamino-(4-nitrobenzyloxycarbonylamino)butyl]-6- dimethylamino-1,3,5-triazine 2-yridinepropanoic acid
2	6,40	1,54	9	Benzaldehyde, 2-nitro-, diaminomethylidenhydrazone
3	7,00	2,76	39	14-methyl-bicyclo(10.3.0)pentadecyl(12)-en-13-one tosylhydrazone
4	8,03	1,72	9	2-pyridinepropanoic acid
5	8,61	21,73	90	Dihydrobenzofuran (2,3-Dihydro-benzofuran)*
6	10,15	1,78	9	2-pyridinepropanoic acid
7	10,48	1,69	25	Benzaldehyde, 2-nitro-, diaminomethylidenhydrazone
8	10,65	1,79	37	2,4-hexadiene, 3-methyl
9	11,80	5,79	72	Clohexene, 1,3,3-trimethyl-6-methylene
10	12,49	3,65	59	Ethanone, 1-(4-Hydroxy-3-Methoxyphenyl)
11	12,75	14,11	93	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)
12	13,00	1,69	36	O-ethyl o-isopropyl n,n-dimethyl phosphoramidate
13	14,45	5,67	43	Butan-2-one, 4-(3-hydroxy-2-methoxyphenyl)
14	14,57	1,54	9	2-pyridinepropanoic acid
15	14,72	2,71	9	Benzaldehyde, 2-nitro-, diaminomethylidenhydrazone
16	14,80	1,95	9	2-(n,n-dimethylhydrazino)cyclopentanecarbonitrile
17	15,34	2,02	53	Benzaldehyde, 2-nitro-, diaminomethylidenhydrazone
18	15,45	7,11	95	4-((1E)-3-Hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenol
19	15,59	2,57	42	N-methyl-2-hydroxytyramine
20	15,70	1,74	9	2-amino-1-phenyl-1-propanol
21	16,05	6,46	58	2-Cyclohexen-1-one, 4-hydroxy-3,5,5-trimethyl-4-(3-oxo-1-butenyl)
22	16,70	4,53	32	2-pyridinepropanoic acid
23	18,06	1,90	9	Pyridine-3-carboxamide, 1,2-dihydro-4,6-dimethyl-2-thioxo
24	19,19	1,85	9	7-nitro-5-phenyl-1,3-dihydro-2h-1,4-benzodiazepin-2-one
Toplam				24

*Halüsinojenik etki gösterme potansiyeli yüksek fitokimyasal bileşen



Şekil 6. GC-MC analizi ile elde edilen VSE_{su} ekstraktına ait kromatogram

Erzurum ili'ne ait *V.sinuatum*'un VSE_{met} (Tablo 3) ve VSE_{su} (Tablo 4) ekstraktlarında bulunan “2,3-dihydro-benzofuran bileşeni”, Muğla ili'ne ait VSM_{met} ekstraktında da (Pik 5) %87 gibi oldukça yüksek bir oranda bulunmuştur (Tablo 5). Benzofuran, kaynaşmış benzen ve furan halkarından oluşan kömür katranının bir bileşenidir (United States Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1992). Bu bileşen kömür gazlaştırma ve petrol işleme tesislerinden çevreye salınabildiği gibi (IARC, 1987d), örneğin kömür katranına maruz kalınması ya da sigara kullanımı sonrasında ayrıca yangın mağdurlarının kanında yanma ürünü olarak da bulunabilmektedir (Schlotzhauer ve Chortyk 1987). Ancak Benzofuran, daha karmaşık yapılara sahip birçok ilgili bileşiğin öncülü olarak Asteraceae (papatyagiller), Rutaceae (turuncgiller), Liliaceae (zambakgiller) ve Cyperaceae (hasırotugiller) gibi farklı familyalara ait bitki türlerinde doğal olarak da bulunmaktadır (Miao ve ark. 2019). Bu fitokimyasalın varlığı, daha önce yapılan çalışmalarda örneğin *Ephedra distachya* (Ebu Cehil çalısı)'nın metanol ve *Vitex agnus-castus* (hayıt)'un su ekstresinde de yine GC-MC yöntemi ile belirlenmiştir (İnce 2024; İnce ve Uysal 2024).

Miao ve ark. (2019)'a göre, benzofuran doğal bir bileşik olarak antitümör (Xu ve ark. 2017), antibakteriyel (Liang ve ark. 2016; Kenchappa ve ark. 2017), antioksidan (Aswathanarayanappa ve ark. 2012; Marwa Abdel-motaal ve ark. 2017), antiparasitik (Thevenin ve ark. 2013) ve antienflamatuar (Xie 2014) biyoaktivitelere sahiptir. Ancak daha önce yapılan çalışmalarda, benzofuranın gram-negatif bir bakteri olan *Salmonella typhimurium* için mutajenik olmadığı buna karşın fare lenfoma hücrelerinde gen mutasyonuna, Çin hamster yumurtalık hücrelerinde ise kardeş kromatit değişimi ve kromozomal sapmalara sebep olduğu belirlenmiştir (US National Toxicology Program 1989). Benzofuranın toksikokinetiği hakkında veri mevcut olmamasına rağmen kronik deneysel çalışmalar bu bileşenin sıçanlar ve farelerde böbrek ve karaciğer

toksitesine neden olduğunu, insanlar için de muhtemelen kanserojen olabileceğini göstermiştir (IARC 1987a).

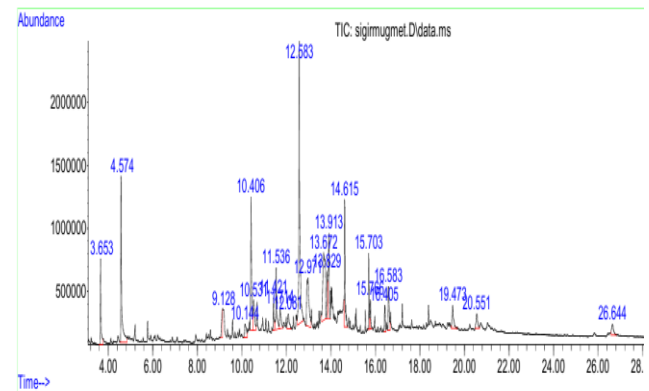
Bu çalışma kapsamında VSM_{met} ekstraktında bitkisel orijinli fitokimyasal olarak %50 benzerlik oranı ile Pik 22’de görülen (Tablo 5, Şekil 7) “Metamfepramone* (syn. N,N-dimetilkatinon) bileşeni de halüsinojenik, uyuşturucu ya da uyarıcı olabilecek nitelikte bir diğer bileşen olarak değerlendirilmiştir”. Dimetilkatinon, dimetilpropion ve dimepropion gibi farklı isimlerle de tanımlanan bu kimyasal bileşen, fenetilamin ve katinon kimyasal sınıflarından uyarıcı bir etken maddedir (Soholing 1982) ve halüsinojenik etki gösterme potansiyeli yüksek bir bileşenler sınıfında değerlendirilmiştir. Metamfepramone*, sempatomimetik (sempatik sinir sisteminin endojen agonistlerinin etkilerini taklit eden uyarıcı bileşikler) ve psikotropik bir ajan olarak uyarıcı etkisini gösteren bir fitokimyasaldır (Dal Cason ve ark. 1997). Bu fitokimyasal, İsrail’de eğlence amaçlı olarak kullanılan “rakefet” isimli maddenin de ana etken maddesi olarak 2006 yılından sonra yasaklı maddeler kapsamına alınmıştır (Thevis ve ark. 2009). Psikotrop (psikoaktif) maddeler, merkezi sinir sistemini etkileyerek beyin işlevlerini değiştiren, davranış, ruh hali, algı ve bilinç düzeyinde geçici değişikliklere sebep olan, öforik etkisi (zevk verici) nedeniyle eğlence amaçlı da kullanıldığı için rehabilitasyona ihtiyaç duyulan bağımlılık yapıcı kimyasal maddeler olarak tanımlanmaktadır. Dünya üzerinde birçok hükûmet, Metamfepramone etken maddesini içeren ilaç üretimi ve satışlarına sınırlamalar getirerek bağımlılığın azaltılmasına çalışmaktadır.

GC-MS analizi ile bir diğer ekstre olan VSM_{su}’ya ait olmak üzere de toplam 38 (Tablo 6) pik elde edilmiştir. Bu piklerin tümü Şekil 8’de verilen kromatogramda görülmektedir ve farklı alıkonma zamanlarına göre benzerlik oranı en yüksek olan beş (5) farklı bileşen ise %90 Benzenemethanol (Pik 2), %56 Propiovanillone (Pik 13), %91 4-[(1E)-3-Hydroxy-1-Butenyl]-3,5,5-Trimethyl-2-Cyclohexen-1-One (Pik 18), %81 1,4-Benzenediamine N,N-Diethyl (Pik 23) ve %64 1-Ethoxy-2-isopropylbenzene (Pik 28) olarak tespit edilmiştir (Tablo 6). Bu ekstreya ait ve % benzerlik oranı yüksek olan bileşenlerden birisi Propiovanillone (Benzen-1,4-diol veya kinol olarak da bilinen hidrokinon), bir çeşit aromatik, fenolik organik bileşiktir. 18.pikde ilk kez alıkonulan 4-[(1E)-3-Hydroxy-1-Butenyl]-3,5,5-Trimethyl-2-Cyclohexen-1-One isimli bileşen bitkisel orijinli sekonder metabolitler arasında yer alan bir monoterpen ve 23.pikde yer alan 1,4-Benzenediamine N,N-Diethyl (4-(Diethylamino)Aniline de farmasötik bir ara ürün olarak tanımlanmıştır. VSM_{su} ekstresine ait en yüksek benzerlik oranı ile Pik 2’de yer alan Benzenemethanol ise (Benzil alkol, C₆H₅CH₂OH), lokal anestezik özelliğe sahip eterlerin öncülü bir kimyasal maddedir (Wilson ve Martin 1999) ve kronik kullanıma bağlı olarak toksisiteye sebep olabileceği bildirilmektedir (Brühne ve Wright 2007). Benzenemethanol da bu çalışmada eterik özelliği ile uyuşturucu potansiyeline sahip bir fitokimyasal etken madde olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 5. GC-MS analizi ile tespit edilen VSM_{met} ekstraktına ait tüm fitokimyasal bileşenler

Pik	Alıkonma Zamanı	Alan (%)	Benzerlik Oranı (%)	Bileşenler
1	3,65	4,17	72	DL-Glyceraldehyde dimer
2	4,57	10,22	74	2-Propanone, 1,3-dihydroxy
3	9,13	2,23	53	Glycerin
4	10,14	1,58	95	Pyrocatechol
5	10,41	8,36	87	Dihydrobenzofuran (2,3-dihydrobenzofuran)*
6	10,53	2,58	55	5-(Hydroxymethyl)-2-Furaldehyde
7	11,42	1,52	47	Ethyl 2,3-epoxybutyrate
8	11,54	3,60	96	2-Methoxy-4-vinylphenol
9	11,71	1,81	47	2,5-Hexanediol
10	12,08	1,60	38	Formyl glyoxyl urea
11	12,58	18,43	53	2,2-Diethynylbut-2-Ene-1,4-Diol
12	12,97	6,81	64	1,2,4-Benzenetriol
13	13,67	10,71	35	Peracetic Acid
14	13,83	1,92	49	2,3-Dihydro-5h-1,4-Dioxepine
15	13,91	5,29	52	6-Oxa-Bicyclo[3,1,0]Hexan-3-ol
16	14,61	5,69	96	Gamma-Hydroxyisoeugenol
17	15,70	2,32	99	n-Hexadecanoic acid
18	15,77	1,38	49	D-Glucose, 4-O-,alpha,-D-glucopyra
19	16,40	1,45	99	Methyl (9Z,12Z)-9,12-Octadecadienote
20	16,58	3,17	98	(9Z)-9,17-Octadecadienal
21	19,47	2,17	35	4-Heptenoic Acid, 2-Cyano-4-Methyl
22	20,55	3,15	50	Metamfepramone*
23	26,64	1,38	50	Cyclotrisiloxane, hexamethyl
Toplam				23

*Halüsinojenik etki gösterme potansiyeli yüksek fitokimyasal bileşenler

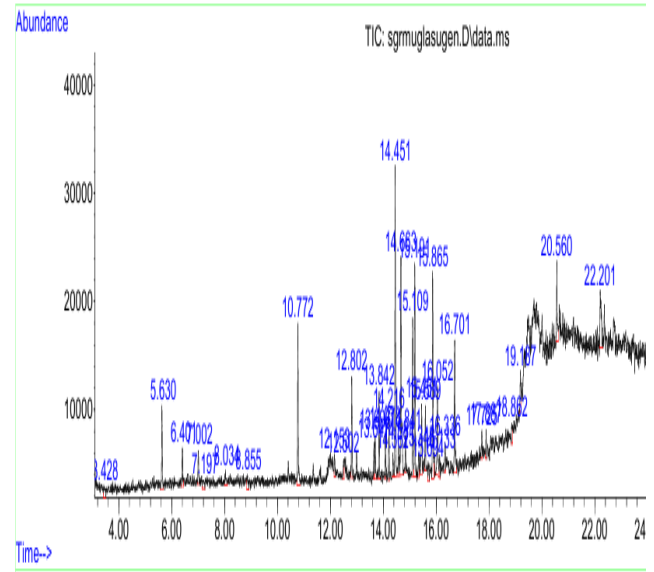


Şekil 7. GC-MC analizi ile tespit edilen VSM_{met} ekstraktına ait kromatogram

Tablo 6. GC-MS analizi ile tespit edilen VSM_{su} ekstraktına ait tüm fitokimyasal bileşenler

Pik	Alınma Zamanı	Alan (%)	Benzerlik Oranı (%)	Bileşenler
1	3,43	0,87	7	2-Pyridinepropanoic Acid
2	5,63	2,97	90	Benzenemethanol*
3	6,40	1,49	9	Benzaldehyde, 2-Nitro-, Diaminomethylenhidrazone
4	7,00	1,19	45	6-Phenyl-1-Hexanamine
5	7,20	0,77	4	Benzaldehyde, 2-Nitro-, Diaminomethylenhidrazone
6	8,03	0,83	4	Acetaldehyde
7	8,85	0,86	4	2-Adamantanone Semicarbazone
8	10,77	5,52	38	2,7-Octadiene-1,6-Diol, 2,6-Dimethyl
9	12,15	0,80	4	Acetaldehyde
10	12,50	0,93	7	Benzaldehyde, 2-Nitro-, Diaminomethylenhidrazone
11	12,80	3,40	17	Benzaldehyde, 2-Nitro-, Diaminomethylenhidrazone
12	13,65	1,01	9	1-(2-Pyridinyl)Ethanamine
13	13,70	1,51	56	Propiovanillone
14	13,84	2,68	37	Benzaldehyde, 2-Nitro-, Diaminomethylenhidrazone
15	14,08	1,29	9	Benzaldehyde, 2-Nitro-, Diaminomethylenhidrazone
16	14,22	2,16	50	Benzaldehyde, 2-Nitro-, Diaminomethylenhidrazone
17	14,36	0,74	5	N-Methyl-1-Propanamine
18	14,45	10,14	91	4-[(1e)-3-Hydroxy-1-Butenyl]-3,5,5-Trimethyl-2-Cyclohexen-1-One
19	14,58	1,08	9	n-Methyl-1-Propanamine
20	14,66	9,83	43	Ethyl Isopropyl Propylphosphonate
21	14,84	1,00	9	1-(3,5-Dimethyl-1-Adamantanoyl)Semicarbazide
22	15,11	5,41	32	Methanesulfonamide, N,N-Dimethyl
23	15,19	7,20	81	1,4-Benzenediamine, (syn. N,N-Diethyl 4-(Diethylamino)Aniline)
24	15,34	0,97	7	Benzaldehyde, 2-Nitro-, Diaminomethylenhidrazone
25	15,45	2,83	25	1,1-Dimethyl-2-Thiophenylhydraziniumbetaine
26	15,59	1,89	25	2-[(3,5-Dimethyl-1-Adamanty)Carbonyl]hydrazin ecarboxamide
27	15,69	0,85	4	Acetaldehyde
28	15,86	7,60	64	1-Ethoxy-2-isopropylbenzene
29	16,05	3,83	59	Methyl [(2-Oxo-1,2-Dihydro-4-Pyrimidinyl)Amino]Acetate
30	16,13	0,76	9	2-Adamantanone Semicarbazone
31	16,34	1,14	9	N-Methyl-1-Propanamine
32	16,70	5,43	23	1,3-Adamantanediaceetamide
33	17,73	0,90	40	2h-1-Benzopyran-2-One, 4-Hydroxy-3-Nitro
34	17,89	0,83	9	2-Adamantanone Semicarbazone
35	18,86	1,07	28	2,4-Dichloro-5-Dimethylsulfamoyl-Benzoic Acid
36	19,19	1,75	53	2-((e)-[(e)-2-((e)-2-Hydroxyphenyl)Methylidene] Amino)Propyl]Imino]Methyl]P henol
37	20,56	2,53	52	4h-Dibenz[De,G]Isoquinoline, 5,6,6a,7-Tetrahydro-1,2,9,10-Tetramethoxy-5-Methyl
38	22,20	3,94	53	4h-Dibenz[De,G]Isoquinoline, 5,6,6a,7-Tetrahydro-1,2,9,10-Tetramethoxy-5-Methyl
Toplam				38

*Halüsinojenik etki gösterme potansiyeli yüksek fitokimyasal bileşen

**Şekil 8.** GC-MC analizi ile tespit edilen VSM_{su} ekstraktına ait kromatogram

Tarihsel süreç incelendiği zaman insanların umutsuz, üzgün ve acı içinde oldukları değişken ruh hallerinde sakinleştirici özelliği ile vücudu rahatlatan, ağrı duyusunu gideren/hafifleten, uyuşukluk ile kişiye kendini iyi hissetme duygusu veren, halk arasında psikolojik ve fiziksel bağımlılığa neden olabilecek özellikteki kozmopolit ya da endemik bitkilerin toplumda sıkça kullanıldığı ve yaşanan coğrafik bölgelerde geçmişten gelen alışkanlıklar şeklinde kullanılmaya devam edildiği bilinmektedir (Tanker ve ark. 1980; Dılıxıatı 2016; Bayam ve Uysal 2021). Farklı insan topluluklarındaki bitki-insan ilişkilerini ifade eden ve bitkilerin yerel halk tarafından kullanımı olarak da tanımlanan Etnobotanik bakımından da halüsinojenik ve uyuşturucu öncül maddeye sahip bitkilerin bilinmesi oldukça önemlidir. Ancak konunun Kriminologları ilgilendiren kısmı tüm dünyada ve Ülkemizde illegal olarak halüsinojenik etkili madde veya uyuşturucu madde elde etmek için bitkilerin kullanılması ve bu bitkilerin bir kısmının suç unsuru teşkil etmemeleridir. Ayrıca her bitkiye ait potansiyel etken maddelerin belirlenebilmesi ve bilinmesi de kriminal bakımdan oldukça önemlidir. Adli Bilimciler ise bu tip bitkilerin içeriklerinde bulunan biyoaktif bileşenlerinin kullanıcılar üzerindeki toksisitesi ve doz aşımına bağlı olarak meydana gelebilecek ölümlerle ilgilenmektedirler. Biyolog ve kimyacı gibi Fen bilimciler ise halk arasında kullanılan bitkilerin biyoaktif bileşenleri ve etki mekanizmalarını belirlemeye çalışırlar. Çünkü bitkiler aleminin her üyesi doğal polinizasyon ile bahar aylarında bahçeler, tarlalar, yol kenarları, boş araziler gibi alanlarda kendiliğinden çoğalırlar. Daha ötesi yerleşim yerlerine yakın alanlarda bulunurlarsa çiçek ya da meyveleri renkli olduğu için insanlara görsel/estetik olarak hitap ederler ve yabancı ot olarak sökülüp atılmazlar. Bu bitki türleri kendiliğinden çoğaldığı için elde edilmeleri ve ulaşılabilmesi oldukça kolaydır. Ayrıca insan eliyle de özel dikimleri yapılmaktadır. Örneğin bu çalışmada kullanılan ve doğal olarak yetişen *V.sinuatum*, peyzaj amaçlı olarak

kullanılan, Ephedraceae familyasına dahil *E. distachya* (Ebu cehil çalısı) da kuvvetli kökleri sebebiyle toprak erozyonuna karşı insan eliyle dikimi yapılan bitki türlerinden yalnızca iki tanesidir (Uysal ve İnce 2024). Halk arasında toprak üstü kısımları kullanılan bu türlü bitkilerin farklı etkilerinin olması nedeniyle konuya ilişkin kimyasal ve biyolojik incelemeler de oldukça önem kazanmaktadır.

4. Sonuç

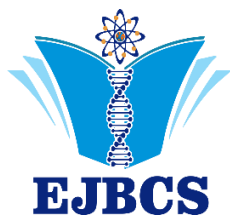
Sunulan bu araştırmanın ana çıktılarındaki birisi halüsinojenik/uyuşturucu potansiyeline sahip kozmopolit ya da endemik bitki türlerinin ne üretilmeleri ne de taşınması bakımından kanuni olarak yasaklı olmamalarıdır. En önemli bir başka nokta ise bu türlü bitkiler, geçmişten günümüze halk arasında hayal gördürücü olarak dünyevi gerçeklerden kaçma, neşe, sahte mutluluk gibi farklı etkilere sahip oldukları için çiğneme, sarma, demleme gibi değişik yollarla kullanılmaktadır. Bu türlü kullanımların kanunlara aykırılığı da bulunmamaktadır. Bu durumlar karşısında doğal yetişmiş olan bitkilerin toplanması, herhangi başka yerlere sevki ve daha fazla oranlarda yetiştirilmeleri etken maddelerin elde edilmesi ve bunların laboratuvar şartlarında ya da merdiven altı tabir edilen yerlerde türevlendirilmeleri son derece önem arz etmektedir.

Çalışmadan elde edilen veriler ışığında ulaşılan bir diğer sonuç, hangi grup bağımlılık yapıcı madde olursa olsun bunların tedarik, kullanım ve satışına bağlı olarak ortaya çıkan zararlar, sadece sağlık sorunlarıyla ve doğrudan kullanıcıyla sınırlı değildir. Kişinin sağlığına verdiği zararların yanı sıra çoğu zaman içinde bulunduğu çevreye ve en önemlisi kişinin ailesine, toplumun tamamına mal olan hukuki, ekonomik ve sosyal sorunları da beraberinde getirmekte olup büyük yıkımlara neden olmaktadır. Bu nedenle çok küçük yaşta bireylere kadar inmiş ve genç nesilleri tehdit eden bu halüsinojenik ya da uyuşturucu madde kullanımı, toplumun ve hatta bir ülkenin geleceğine zarar veren çok ciddi bir güvenlik problemi haline gelmiştir. Uyuşturucu ile mücadelede tüm bu riskler göz önünde bulundurulduğunda, bir ülkenin geleceği ve bekası için en önemli sütunlardan birisi olan “eğitim ile önleme” çalışmaları oluşturularak genç yaşta bireylerimizde farkındalığı ve bilinçlenmeyi ortaya çıkarmak gerekmektedir. Çünkü halüsinojenik etken madde içeren bitkilerin kullanımlarının suç unsuru oluşturup oluşturmadığının bilinmemesi ve şu ana kadar herhangi bir bitkisel kullanım için cezai müeyyide uygulandığına dair bilgi-belge bulunmaması da konuya ilişkin olmak üzere kanuni olarak herhangi bir yaptırım uygulanabilmesinin önünde engeldir. Ancak yasal kısıtlamaların olmaması sebebiyle bu bitkilerin içerdikleri etken maddeler, kronik kullanımlara bağlı olarak insanlarda pek çok hastalığa sebep olabilmektedir. Bu bitkilerin insanlara verdiği zararlar düşünüldüğünde, resmi kurumlar tarafından yeni düzenlemelerin yapılması ve yasal tedbirlerin alınması gerekli görülmektedir.

Kaynaklar

- Acartürk TO. 2014. Mikrocerrahide perioperatif risk faktörü olarak bir dumanlı tütün formu “Maraş Tozu”. El ve Mikrocerrh Derg. 7(1):146-148.
- Abdel-motaal M, Kandeel EM, Abou-Elzahab M, Elghareeb F. 2017. Synthesis and evaluation of antioxidant activity of some new heterocyclic compounds bearing the benzo[b]furan moiety. Eur Sci J. 2017, 13(30):297-313.
- Asımgil A. 2009. Şifalı Bitkiler. Timaş Yayınları, İstanbul.
- Akbulut İ. 2011. Ülkemizde uyuşturucu maddeler sorunu. J Istanbul Univ Law Fac. 55:111-142.
- Andre CM, Hausman JF, Guerriero G. 2016. *Cannabis sativa*: The plant of the thousand and one molecules. Front Plant Sci. 7(19):1-17.
- Angres DH, Bettinardi-Angres K. 2008. The disease of addiction: origins, treatment, and recovery. Dis Mon. 54(10): 696-721.
- Aswathanarayanappa C, Bheemappa E, Bodke YD, Bhovi VK, Ningegowda R, Shivakumar M. C. 2012. 5-phenyl-1-benzofuran-2-yl derivatives: synthesis, antimicrobial, and antioxidant activity. Med Chem Res. 22:78-87.
- Bayam H. 2021. Halk Arasında Keyif Verici Olarak Kullanılan Bazı Kozmopolit Bitki Türlerinin Uyuşturucu Özelliklerinin ve Genotoksitesinin Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Bayam H, Uysal H. 2021. Keyif verici özelliği ile halk arasında kullanılan *Hyoscyamus niger* L.’nin genotoksik etkilerinin belirlenmesi. TÜBAV. 14(2): 1-12.
- Bayer M. 2003. Olay Yeri İnceleme Kriminal Laboratuvar Analizleri. Songür Yayıncılık-Eğitim Hizmetleri, pp:338-415, Ankara.
- Baytop T. 1999. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi-Geçmişte ve Bugün (2.Baskı). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Bigelow BC, Edgar KJ. 2006. Thomson Gale, Farmington Hills. UXL Encyclopedia of Drugs and Addictive Substances, p:XXV.
- Bora T, Aksoy Ç. 2023. Uyuşturucu Madde Analizleri. Adli Bilimler ve Kriminalistik Ansiklopedisi, Adli Bilimlere Giriş ve Kriminalistik, Cilt 1, Adalet Yayınevi, Ankara.
- Brühne F, Wright E. 2007. Benzyl Alcohol. Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry, Weinheim: Wiley-VCH.
- Cengiz Bayır M, Atamanalp M. 2011. Saponinin gökkuşağı alabalığında canlı ağırlık artışı, hepatosomatik indeks ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri. Gazi Edu Fac J. 31(1):53-64.
- Dal Cason TA, Young R, Glennon RA. 1997. Cathinone: an investigation of several N-alkyl and methylenedioxy-substituted analogs. Pharmacol Biochem Behav. 58(4):1109-1116.
- Dilixiati S. 2016. Çin ve Türk Ceza Hukukunda Uyuşturucu veya Uyarıcı Madde Suçları. Uludağ Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bursa.
- Dingha B, Sandler L, Bhowmik A, Akotsen-Mensah C, Jackai L, Gibson K, Turco R. 2019. Industrial hemp knowledge and interest among North Carolina organic farmers in the United States. Sustainability, 11(9):2691.
- Duncan DF, Gold RS. 1982. Drugs and the Whole Person. John Wiley and Sons, p:260, New York.
- Ekim T. 2014. Damarlı Bitkiler: Resimli Türkiye Florası Cilt 1, Ed.: Güner A. Gökyiğit N. Botanik Bahçesi Yayınları, pp:159-162, İstanbul.
- Erkal H, Özyurt Y, Arıkan Z. 2006. Yaşlı hastada henbane (*Hyoscyamus niger*) sonrası antikolinergik sendrom. Turk J Geriatr. 9(3):188-191.
- Grieve MA. 1995. Modern Herbal, Barnes and Noble Books, pp:564-566, New York.

- Güner A. 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Flora Dizisi 1, Gökyiğit N. Botanik Bahçesi Yayınları, p:1290, İstanbul.
- IARC. 1987a. IARC Monographs of the Evaluation of Carcinogenetic Risks to Humans, Suppl. 7, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1-42, Lyon, pp:175-176.
- IARC. 1987d. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Suppl. 7, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1-42, Lyon, pp:339-341.
- İnce M. 2024. Halk Arasında Kullanılan Kozmopolit ve Halüsinojenik Bitkilerin Toprak Üstü Kısımlarına Ait Etken Maddelerin GC-MS Yöntemiyle Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Kenchappa R, Bodke YD, Telkar S, Sindhe MA. 2017. Antifungal and anthelmintic activity of novel benzofuran derivatives containing thiazolo benzimidazole nucleus: an *in vitro* evaluation. J Chem Biol. 10:1-13.
- Kocaoğlu GB. 2004. Saponinler ve biyolojik önemi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 1(2):125-131.
- Kritzon C. 2003. Fish poisson. www.petroglyphics.com
- Küçük Kurt İ. 2008. Saponinler ve bazı biyolojik etkileri. Kocatepe Vet Derg. 1:89-98.
- Lane CB. 1843. On the use of *Verbascum* as a narcotic remedy. Prov Med J Retrospect Med Sci. 6(135):89-90.
- Liang Z, Xu H, Tian Y, Guo M, Su X, Guo C. 2016. Design, synthesis and antifungal activity of novel benzofuran-triazole hybrids. Molecules. 21:732-742.
- Miao Y, Hu Y, Yang J, Teng L, Sun J, Wang X. 2019. Natural source, bioactivity and synthesis of benzofuran derivatives. RSC Adv, 9:27510-27540.
- Ögel K. 2018. Madde kullanımı ve bağımlılığın nedenleri. <http://www.ogelk.net/Dosyadepo/etyoloji.pdf>.
- Riguera R. 1997. Isolating bioactive compounds from marine organism. J Mar Biotechnol. 5(4):187-193.
- Schwartz D. 2000. Common Mullein *Verbascum thapsus* Snapdragon or Figwort Family: Scrophulariaceae. djeans@cloudnet.com.
- Schlottzauer WS, Chortyk OT. 1987. Recent advances in studies on the pyrosynthesis of cigarette smoke constituents. J Anal Appl Pyrolysis. 12:193-222.
- Soholing WE. 1982. Therapy of the orthostatic syndrome. Studies using dimepropion-HCl. Fortschr. Med. 100(7):289-293.
- Tanker N, Gürtürk S. Kol Ü. 1980. Antibiyotik aktivite gösteren bazı tohumlu bitkiler üzerinde araştırmalar. Ankara Ecz Fak Derg. 10:17-29.
- Tatlı II. Akdemir ZŞ. 2006. Traditional uses and biological activities of *Verbascum* species summary traditional uses and biological activities of *Verbascum* species. FABAD J Pharm Sci. 31:85-96.
- The Centre for Addiction and Mental Health, 2021. Toronto, <https://www.camh.ca/en/health-info/mental-illness-and-addiction-index/hallucinogens>.
- Thevenin M, Thoret S, Grellier P, Dubois J. 2013. Synthesis of polysubstituted benzofuran derivatives as novel inhibitors of parasitic growth. Bioorg Med Chem. 21:4885-4892.
- Thevis M, Thomas A, Kohler M, Beuck S, Schänzer W. 2009. Emerging drugs: mechanism of action, mass spectrometry and doping control analysis. J Mass Spectrom. 44(4):442-60.
- Türker AU, Camper ND. 2002. Biological activity of common mullein, a medicinal plant. J Ethnopharmacol. 82:117-125.
- United States Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1992.
- United States National Toxicology Program 1989. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Benzo furan in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies) (Tech. Rep. No. 370; NIH Pub. No. 90-2825), Research Triangle Park, NC.
- Uysal H, İnce M. 2024. Kozmopolit bir bitki türü olan *Ephedra distachya* L.'ye ait halüsinojenik etken maddelerin GC-MS yöntemiyle belirlenmesi. Eurasian J Bio Chem Sci, 7(1):46-51.
- Wilhelm G. 1974. The Mullein: Plant Piscicide of the Mountain Folk Culture. Geogr Rev. 64(2):235-252.
- Willis DN, Popovech MA, Gany F, Hoffman C, Blum JL, Zelikoff JT. 2014. Toxicity of gutkha, a smokeless tobacco product gone global: Is there more to the toxicity than nicotine? Int J Environ Res Public Health, (11):919-933.
- Wilson L, Martin S. 1999. Benzyl alcohol as an alternative local anesthetic. Ann Emerg Med. 33(5):495-499.
- World Health Organization, 1994. Lexicon of Alcohol and Drug Terms. WHO Library Cataloguing, p.6, Cenevre.
- Xie YS, Kumar D, Bodduri VDV, Tarani PS, Zhao BX, Miao JY, Jang K, Shin D. 2014. Microwave-assisted parallel synthesis of benzofuran-2-carboxamide derivatives bearing anti-inflammatory, analgesic and antipyretic agents. Tetrahedron Lett. 55(17):2796-2800.
- Xu XL, Yang YR, Mo XF, Wei JL, Zhang XJ, You QD. 2017. Design, synthesis, and evaluation of benzofuran derivatives as novel anti-pancreatic carcinoma agents via interfering the hypoxia environment by targeting HIF-1α pathway. Eur J Med Chem. 137:45-62.



Photocatalytic hydrogen evolution from ZnO-loaded carbon nanotube

Munevver Tuna Genc¹, Adem Sarilmaz², Emre Aslan³, Faruk Ozel⁴, Imren Hatay Patir^{1*} 

¹Selçuk University, Faculty of Science, Department of Biotechnology, Konya, Türkiye

²Karamanoğlu Mehmetbey University, Faculty of Engineering, Department of Metallurgy and Materials Engineering, Konya, Türkiye

³Selçuk University, Faculty of Science, Department of Biochemistry, Konya, Türkiye

⁴Recep Tayyip Erdoğan University, Department of Mechanical Engineering, 53100 Rize, Türkiye.

*Corresponding author : imrenhatay@gmail.com
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0003-2937-6557>

Received : 14/10/2024
Accepted : 27/03/2025

To Cite / Atıf için: Genc MT, Sarilmaz A, Aslan E, Ozel F, Patir IH 2025. Photocatalytic hydrogen evolution from ZnO-loaded carbon nanotube. Eurasian J Bio Chem Sci, 8(1):18-24 <https://doi.org/10.46239/ejbscs.1566783>

Abstract: Graphene-based materials attract important interest due to their enhanced electron transfer efficiency in photocatalytic hydrogen evolution reactions. In this study, 1D graphene-based nanomaterial combined with ZnO and produced heterostructured CNT/ZnO nanocomposite catalyst enhance the hydrogen evolution. Herein, co-catalysts (MoS_x and Pt) were photodeposited onto CNT/ZnO nanocomposite catalyst in water, resulting in the formation of CNT/ZnO/MoS_x and CNT/ZnO/Pt through the reduction of (NH₄)₂MoS₄ and H₂PtCl₆.6H₂O, respectively. The photodeposition of co-catalysts on the CNT/ZnO nanocomposite provided enhanced catalytic efficiency and stability due to increased active surface area and enhanced electron transfer capabilities. CNT/ZnO/MoS_x photocatalysts are one of the most promising, clean and sustainable energy carrier for photocatalytic hydrogen production.

Keywords: photodeposition, photocatalytic activity, hydrogen, graphene-based nanomaterials

© EJBCS. All rights reserved.

1. Introduction

The importance of renewable energy sources has become increasingly important due to the growing global energy demand. Photocatalytic hydrogen evolution reactions (HERs) have emerged as a significant solution in this context (Teets and Nocera 2011; Preethi and Kanmani 2013). Among the semiconductor catalysts investigated to enhance photocatalytic hydrogen production, ZnO stands out as an effective photocatalyst for hydrogen production due to its stability in the chemical reactions, abundance, improved charge mobility and safety in the reactions. But, ZnO has limited hydrogen production efficiency due to high exciton formation rate, limited surface area for mass transfer, hydrogen evolution under UV light irradiation, and wide band gap (3.19 eV) (Yuan et al. 2015). In order to overcome these challenges, heterostructured photocatalysts have been proposed to improve the photocatalytic activity of ZnO catalyst. Graphene-based materials are considered as promising candidates for these heterostructures due to their superb specifications. The incorporation of ZnO with graphene-based materials has been extensively investigated to enhance the photocatalytic activity. Among these affordable graphene-based materials, carbon nanotubes (CNTs) have been used in photocatalytic studies, can

effectively act as electron donors/acceptors by extending the lifetime of electron-hole pairs in HERs. Graphene-derived materials have been used in catalytic studies such as degradation, hydrogen production and decontamination due to their properties such as large surface area, strong adsorption capacity and charge density. In various studies, graphene derivatives have been combined with ZnO to improve the hydrogen production activity (Dhiman et al. 2022). There are some works in the literature on the effect of the combination of ZnO and CNTs in photocatalytic HERs. According to the literature, the combination of ZnO with CNTs effectively improves hydrogen evolution, but there are some shortcomings such as low visible light absorption, high photocorrosion, low stability and incomplete photocatalytic mechanism. In the study, the hydrogen evolution efficiency of ZnO/CNTs was improved by forming a heterostructure with Sr doping. Heterojunction provides increased light absorption, improved charge separation, and optimizes optical band gap for enhanced hydrogen production (Ahmad et al. 2021). In another study, hydrothermally synthesized CNT/ZnO/TiO₂ catalyst was used the degradation of asid orange (Bai et al. 2015). Bakos and coworkers deposited the TiO₂ and ZnO on CNT with the help of atomic layer deposition method. CNT/TiO₂/ZnO

were used in the methyl orange degradation (Bakos et al. 2020). Hydrothermally synthesized yttrium doped CNT/ZnO catalyst improve the degradation efficiency of methylene blue dye (Sharma et al. 2021). Another study, ZnO/CNT nanocatalyst used on the glass photoelectrodes result in the improved chemical stability, lowered corrosion and enhanced electrochemical productivity (Alenad et al. 2023). In the another study, the synthesized CNT/ZnO core-shell nanostructures were used in the electrochemical photocatalytic HERs and prevent the photocorrosion and improve catalyst stability (Prasadam et al. 2022). In photocatalytic studies, photodeposition of cocatalyst has been intensively investigated as it increases catalytic efficiency by both enhancing electron transfer activity and expanding surface area. Platinum (Pt) is among the cocatalysts used to enhance hydrogen production due to its large surface area and efficient electron transfer activity. For example, deposition of Pt nanoparticles onto CNTs via chemical photodeposition has shown improved hydrogen production rates by inhibiting electron-hole recombination. However, the high cost of Pt, being a noble metal, limits its use in large-scale studies. Recently, molybdenum sulfides (MoS_x) have been offered as a cost-effective alternative cocatalyst to Pt with similar catalytic activity. MoS_x contains sulfur atoms that provide abundant electron transport channels and active surface area, leading to enhanced photocatalytic HER activity. In one study, CNTs/ZnO/ MoS_2 ternary nanocomposite was used for the degradation of aniline (Ghasemipour et al. 2020). To our knowledge, there are no photocatalytic hydrogen evolution studies in the literature regarding MoS_x and Pt photodeposition on CNT/ZnO catalysts. In this study, synthesized CNT/ZnO nanocomposite was used as a photocatalyst in the HERs to enhance the hydrogen evolution reaction. MoS_x and Pt were photodeposited onto CNT/ZnO nanocomposite catalyst in water, resulting in the formation of CNT/ZnO/ MoS_x and CNT/ZnO/Pt through the reduction of $(\text{NH}_4)_2\text{MoS}_4$ and $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, respectively. The photodeposition of MoS_x and Pt on the CNT/ZnO composite provided improved photocatalytic activity and stability because of enlarged surface area and improved electron transfer ability.

2. Materials and Method

2.1. Materials

Zinc acetate (99.99%, $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$), oleylamine ($\geq 98\%$, OLA) and Ethanol [absolute, $\geq 99.8\%$] were supplied from Sigma-Aldrich. Multi-walled carbon nanotube (99.99%; (MWCNT) was provided from Nanografi. Triethanolamine (TEOA, $> 98\%$), hydrochloric acid (HCl), chloroplatinic acid hexahydrate ($\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), ammonium tetrathiomolybdate ($(\text{NH}_4)_2\text{MoS}_4$), eosin-Y (EY $> 95\%$) were purchased by Sigma-Aldrich.

2.2. Methods

2.2.1. Synthesis of ZnO and CNT/ZnO Catalysts

0.5 mmol $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$ and 15 mL OLA were mixed in a 50 mL beaker until the temperature reached 280°C . After the cooling of mixture, ethanol/toluene mixture (5/15 mL)

was added to the synthesis medium and precipitated by centrifugation at 3000 rpm for 1 minute. In the last step, the precipitate formed was washed with ethanol and left to dry. In the synthesis of ZnO/CNT composites, 1 mg carbon source was put to the beaker in the first stage of the synthesis (Genç et al. 2023b).

2.2.2. Photocatalytic Hydrogen Evolution Reactions

The study focuses on generating hydrogen through a photocatalytic water-splitting reaction by depositing cocatalysts (MoS_x and Pt) onto CNT/ZnO composite. This is achieved by reducing precursors, $(\text{NH}_4)_2\text{MoS}_4$ and $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. To enhance the efficiency of hydrogen production and prevent the formation of oxygen, TEOA in aqueous solutions was used as an electron donor. The objective is to create composites like CNT/ZnO/Pt and CNT/ZnO/ MoS_x the photodeposition method, improving the efficiency of the reaction and utilizing CNT/ZnO composite catalyst. Furthermore, after analyzing the optical and electrochemical properties of the ZnO structure, visible light sensitization was performed using EY, a well-known dye, to resolve issues with light absorption and electron transfer, or to increase light absorption. The reaction cell containing the CNT/ZnO composite and salts was placed inside an anaerobic glovebox, combined with an electron donor solution under an inert nitrogen atmosphere and sealed with a rubber septum to isolate it from the external environment. Sonication in a water bath was conducted to ensure the catalysts were well dispersed in the electron donor solution. After, the reaction cell was positioned under a visible light source and continuously stirred with a magnetic stirrer to ensure uniform reaction progress. Periodically, gas samples were taken from the top of the reaction cell using a syringe and analyzed with gas chromatography to determine the amount of hydrogen produced, which was then calculated using a calibration curve. By optimizing conditions such as pH, electron donor concentrations and dye concentrations, the catalytic parameters were determined under optimal conditions. The photocatalytic hydrogen production was also tested without the use of dye or electron donors for comparison. The solar-to-hydrogen conversion efficiency (STH) was evaluated using the specified equation (Eq.1) (Genç et al. 2023b; Genc et al. 2024).

$$\text{STH \%} = \frac{\Delta G^\circ \times R_{\text{H}_2}}{P \times A} \times 100 \quad \text{Eq.1}$$

In this equation, P and A refers to the irradiation power density of incident light and the irradiated area (cm^2) by incident light, respectively. Moreover, R_{H_2} and ΔG° indicates the hydrogen production rate (mmol s^{-1}) and the Gibbs free energy standard (237 kJ mol^{-1}) for water splitting reactions, respectively.

3. Results

The X-ray diffraction (XRD) analysis was conducted to examine the structures and crystallinity of the photocatalysts. The XRD analysis results of bare ZnO and CNT/ZnO composites are shown in Fig 1. Clearly

understand that all diffraction peaks of CNT/ZnO and ZnO catalysts are comprehend with reference values (089-1397).

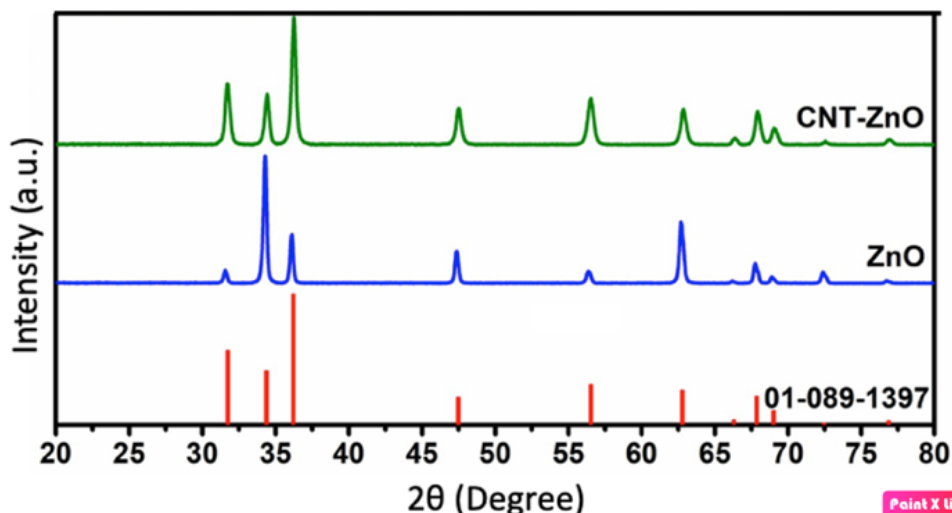


Fig 1. XRD results of ZnO ve CNT/ZnO photocatalysts

It is understood that carbon sources acted as catalysts during the reaction and enhanced crystallinity, resulting in patterns that are more consistent with reference diffraction peak values checked against to pure ZnO. In addition, since the amount of CNT was considerably lower than that of ZnO, diffraction peaks belonging to the CNT phase could not be detected in the XRD graph. The diffraction peaks at 31.6, 34.5, 36.2, 47.5, 56.5, 62.8, 66.2, 67.9, 69.1, 72.5, and 76.9 degrees were matched with the (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112), (201), (004), and (202) planes of hexagonal crystal system. Additionally, the absence of peaks from other phases indicates that the syntheses were successfully carried out.

The optical properties of the CNT/ZnO catalyst were analyzed using diffuse reflectance spectroscopy. Firstly, diffuse reflectance measurements were taken and the obtained data were converted into absorption spectra using the Kubelka-Munk equation (Fig 2). According to the results, CNT/ZnO and ZnO catalysts exhibit similar reflection and absorption properties. To determine the band

gap values of the catalysts, $(F(R_{\infty})/hu)^2$ vs. hu plots were constructed. The band gap of the ZnO (Fig 2(a)) and CNT/ZnO (Fig 2(b)) was calculated to be 3.24 and 3.21 eV, respectively.

The morphological properties of the CNT/ZnO catalyst were analyzed using scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive spectrophotometry (EDX), and the results are shown in Fig 3. According to these results, pure ZnO particles, which are hexagonal shape, were found to form triangular and spherical ZnO particles during the composite form (Fig 3(a)). This variation in shapes was influenced by the type of carbon source and led to the particles growing in different directions. Moreover, EDX result confirm the synthesized ZnO particle composition is very close the ideal value (Fig 3(b), (c)). These results indicate that ZnO particles with shape control can be achieved depending on the type of carbon source. The EDX results shown in Fig 3(d) also demonstrate that the ingredient of the composites is so similar to ideal EDX values.

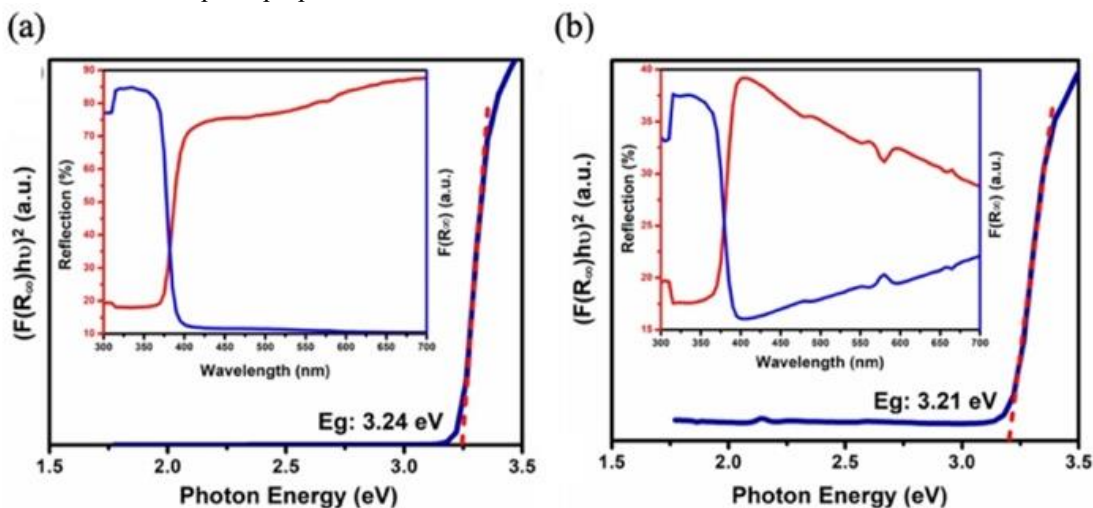
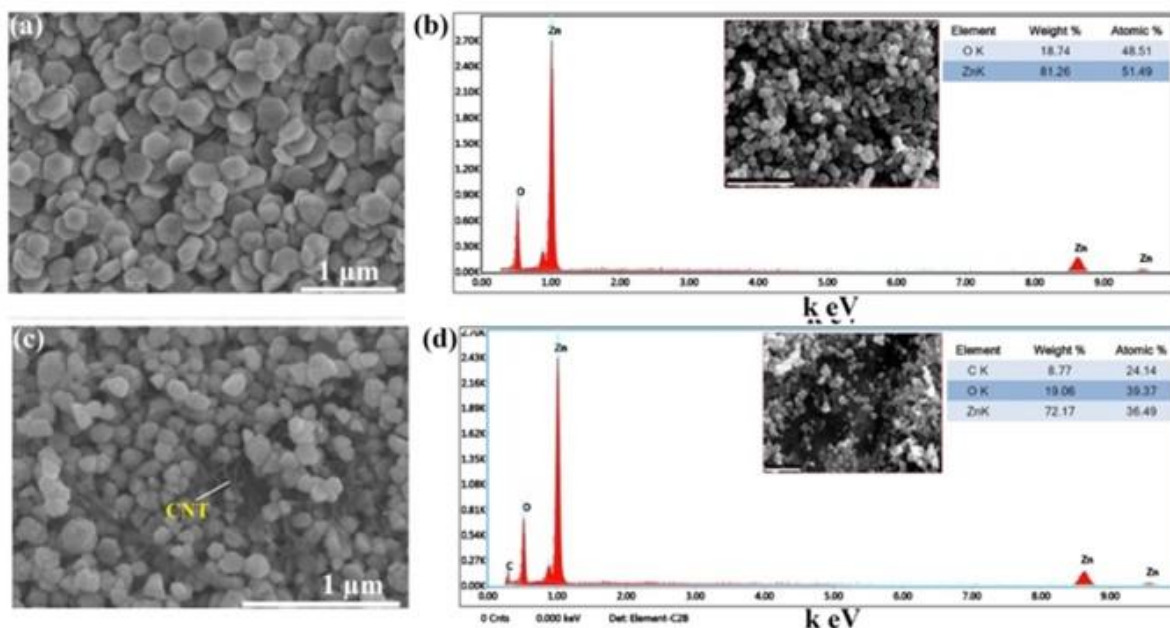


Fig 2. The diffuse reflection and Kubelka-Munk function graph of ZnO (a), and CNT/ZnO (b)**Fig 3.** SEM (a), (c)ve EDX (b), (d) results of bare ZnO and CNT/ZnO catalysts

Photocatalytic hydrogen production studies for CNT/ZnO, CNT/ZnO/Pt and CNT/ZnO/MoS_x photocatalysts were conducted in an aqueous solution using EY (photosensitizer) and TEOA (electron donor). The hydrogen production tests for the photocatalysts were performed over periods ranging from 1 hour to 8 hours (Fig 4(a)). Photocatalysts are unable to produce hydrogen in the dark condition because they cannot supply the energy required for photocatalytic reactions to take place. The hydrogen production from pure CNT and pure ZnO was below the calibration curve, so they could not be calculated, and the trace amounts of hydrogen produced were disregarded. It is clear that CNT/ZnO, as a carbon source-loaded composite material, improves hydrogen production compared to pure ZnO. After 1 hour of irradiation, the photocatalytic hydrogen production rate of the CNT/ZnO composite catalyst was measured as 654 μmol h⁻¹g⁻¹. After 8 hours of reaction, the photocatalytic hydrogen production from the CNT/ZnO catalyst increased to 5119 μmol g⁻¹. The hydrogen production of CNT/ZnO/Pt catalyst was reached from 1432 μmol h⁻¹g⁻¹ to 3692 μmol g⁻¹ after 8 hours light irradiation. Moreover, the hydrogen production rate of CNT/ZnO/MoS_x catalyst was reached from 4121 μmol h⁻¹g⁻¹ to 46696 μmol g⁻¹ after 8 hour illumination. The *in situ* photodeposition was performed the reduction of (NH₄)₂MoS₄ and H₂PtCl₆·6H₂O precursors onto CNT/ZnO catalyst result in improved hydrogen production activity and stability. CNT/ZnO/Pt and CNT/ZnO catalysts were found to produce similar amount of hydrogen. However, CNT/ZnO/MoS_x photocatalyst produce hydrogen approximately 9 times higher than CNT/ZnO catalyst. The 1D nanocomposite catalyst, CNT/ZnO, provides higher conductivity and enhances charge transfer. Additionally, the photocatalysts UV-Vis absorption spectroscopy results are shown in Fig 4(b). The different hydrogen production

amount the used composite catalysts are understood by the degradation of EY, as indicated by the UV-Vis spectra measured before and after the photocatalytic reaction. It was observed that the characteristic absorption peak of the EY dye solution at 520 nm shifted to 490 nm after 8 hours of irradiation. In other words, compared to pure ZnO, carbon-loaded nanocomposites showed a red-to-blue shift after 8 hours of irradiation. The UV-Vis spectrum analysis results are consistent with the hydrogen production reaction results, and it is shown that the CNT/ZnO/MoS_x catalyst has a higher absorption peak than the CNT/ZnO and CNT/ZnO/Pt composite catalysts. According to the STH efficiency results, the STH values for the CNT/ZnO, CNT/ZnO/Pt and CNT/ZnO/MoS_x composite catalysts were calculated to be 1.68%, 1.19%, and 15.05%, respectively.

The suggested photocatalytic hydrogen evolution mechanisms of CNT/ZnO/(MoS_x or Pt) catalyst were shown in the **Figure 5**. Under visible light, photons were absorbed by EY and photogenerated electrons were transferred from HOMO level to LUMO level of EY dye (-1.1 V). Since generated electrons cannot be excited in the dark condition, hydrogen production does not take place. The excited electrons then transferred from sensitizers' LUMO to CNT catalyst. These excited electrons can be employed in two distinct reactions: the photodeposition of MoS_x and the reduction of water through transfer from CNT to ZnO. When the absence of co-catalyst, electron-hole pairs have a tendency to create exciton formation, which lowers photocatalytic hydrogen evolution activity. CNT/ZnO nanocomposite by employing MoS_x and Pt co-catalysts precursors utilizing (NH₄)₂MoS₄ and H₂PtCl₆·6H₂O, respectively. At the same time, TEOA can replenish the excited form of EY by providing electrons. The enhanced hydrogen evolution rate of the CNT/ZnO/MoS_x

nanocomposite is almost 9 times, higher than that of the pure CNT/ZnO nanocomposite. Photo-excited electrons can be transferred to the co-catalyst across the CNT/ZnO catalyst when there is a MoS_x co-catalyst present in the media. This reduces the protons that are absorbed by

unsaturated S atoms to H_2 (Genç et al. 2023a). Because of the abundance of unsaturated S^{2-} , terminal S_2^{2-} , bridging $\text{S}^{2-}/\text{S}_2^{2-}$ and apical S_2^{2-} of amorphous MoS_x , the proton can be readily trapped by MoS_x , leading to increased photocatalytic evolution activity (Sekar 2023).

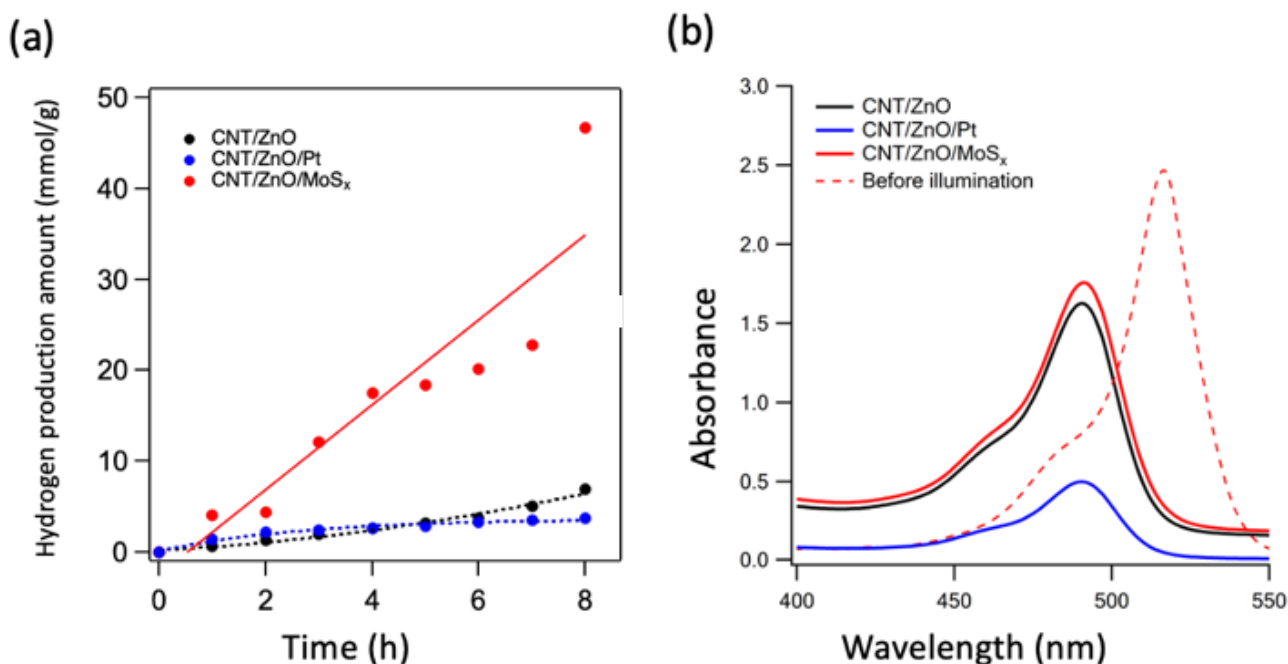


Fig 4. Photocatalytic study results of CNT/ZnO, CNT/ZnO/Pt, and CNT/ZnO/MoS_x (a), UV-Vis absorption spectra of the reaction solution before and after illumination (absence/presence of CNT/ZnO, CNT/ZnO/Pt, and CNT/ZnO/MoS_x composite catalysts) (b)

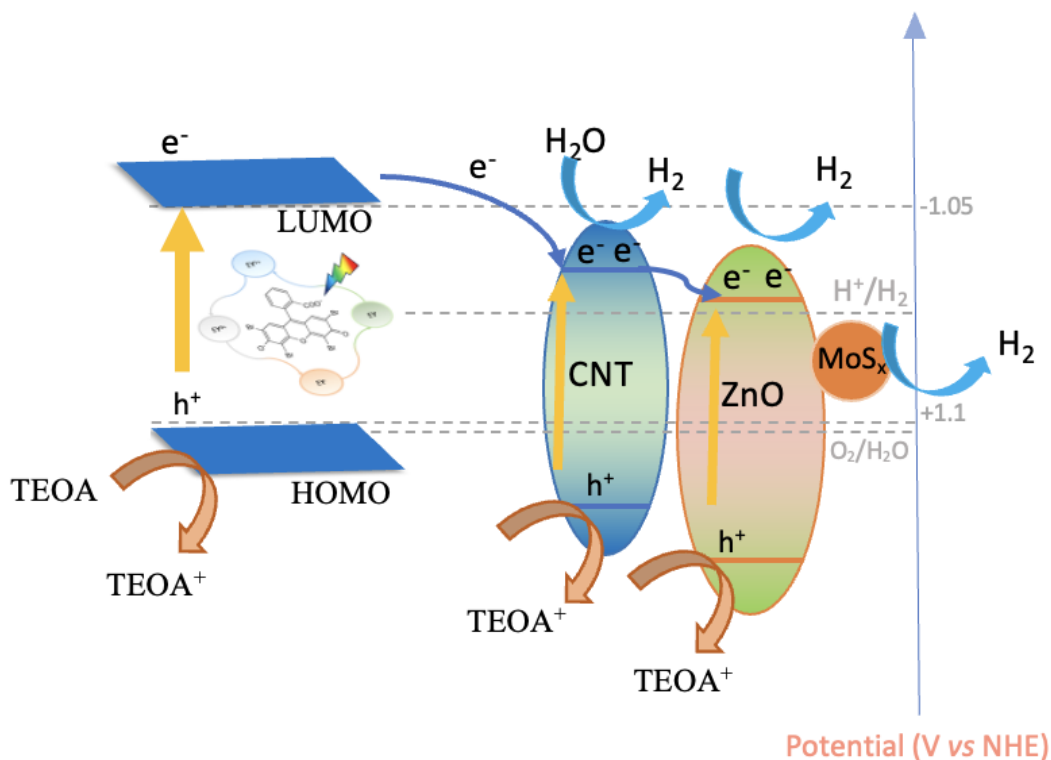


Figure 5. Suggested photocatalytic hydrogen evolution mechanism of CNT/ZnO/MoS_x catalyst

4. Discussion

In this study, hydrogen production was increased by facilitating electron transfer activity and increasing electron-hole separation efficiency by photodeposition of MoS_x and Pt co-catalysts on CNT/ZnO nanocomposite catalyst. The boosted production activity of the light-deposited catalysts could be associated with an enlarged surface, eased charge separation efficiency, formation of unsaturated S atoms, and a low exciton formation rate (Genç et al. 2023a). According to literature, CNTs were used in many photocatalytic studies to enhance the efficiency of the hydrogen production (Ahmad et al. 2021; Wang, Li, et al. 2020; Wang, Wang, et al. 2020; Haldorai and Shim 2014). Carbon based materials prevent exciton formation, enlarge active surface area result in improved hydrogen evolution reaction in the hydrogen evolution reaction (Ahmad et al. 2021). Furthermore, Pt photodeposition on the CNT/TiO₂ catalyst improves the hydrogen evolution efficiency by providing eased charge separation, enlarged active surface area, lowered recombination rate in the photocatalytic HERs (Chen et al. 2015). Compared with these studies, the significant efficiency of the CNT/ZnO/MoS_x composite (15.05%) underscores the effective role of the co-catalysts in enhancing photocatalytic performance, while the lower efficiencies of the CNT/ZnO and CNT/ZnO/Pt composites indicate areas for further optimization. Significant hydrogen production efficiency increases the importance of CNT/ZnO/MoS_x composite catalyst for catalytic studies. In this study, photodeposited catalyst activity highlighted its potential to be considered as an alternative material for future studies.

5. Conclusion

In conclusion, the photodeposition of MoS_x and Pt co-catalyst onto the CNT/ZnO catalyst was carried out successfully. These results show that, photodeposition of co-catalyst can improve electron transfer, electron-hole separation ability and lead to increased hydrogen production. The boosted production activity of the light-deposited catalysts could be associated with a enlarged surface, eased charge separation efficiency, formation of unsaturated S atoms, and a low exciton formation rate. In particular, the STH value of the CNT/ZnO/MoS_x composite catalyst clearly demonstrates the catalytic activity of this material and its importance for catalytic studies. Additionally, this work opens the door for exploring alternatives to widely known carbon-based nanomaterials, carbon nanotubes, in nanocomposite formation. Eventually, this study will also enable the design and production of nanocomposites for different applications using various organic and inorganic substrates that do not contain carbon.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Turkish Academy of Science (TUBA). This study is prepared from a section of Ph.D. thesis by Münevver Tuna Genç, which is also supported by Selçuk University (SUBAP-Grant no: 23211019 and SUBAP-Grant no: 23401013), Türkiye

Council of Higher Education YOK-100/2000 scholarship, TUBITAK 1002-B (Grant number:124Z584) and TUBITAK 2211-C Domestic Priority Fields Doctoral Scholarship Program.

Authors' contributions: MTG; designed research, performed hydrogen evolution experiments, write the paper and edit the final version of paper, IHP; designed research, edit the final version of paper, AS; synthesized and characterized nanocomposites and edit the final version of paper, FO; synthesized and characterized nanocomposites, edit the final version of paper, EA; edit the final version of paper. The manuscript was written through contributions of all authors. All authors have given approval to the final version of the manuscript.

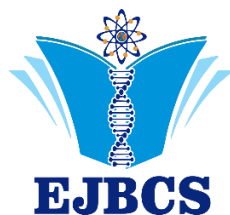
Conflict of interest disclosure:

There is no conflict of interest.

References

- Archana S. 2023. Development of Novel Nanomaterials Based Electrocatalysts for Energy Conversion Devices. Kansas State University.
- Asma MA, Taha TA, Zayed M, Gamal A, Shaaban M, Ahmed AM, Mohamed F. 2023. Impact of carbon nanotubes concentrations on the performance of carbon nanotubes/zinc oxide nanocomposite for photoelectrochemical water splitting. *J Electroanal Chem*, 943: 117579.
- Bakos LP, Justh N, Costa UCMSB, László K, Lábár JL, Igricz T, Varga-Josepovits K, Pasierb P, Färm E, Ritala K. 2020. Photocatalytic and gas sensitive multiwalled carbon nanotube/TiO₂-ZnO and ZnO-TiO₂ composites prepared by atomic layer deposition. *Nanomater*, 10: 252.
- Genc MT, Sarilmaz A, Aslan E, Ozel F, Patir IH. 2024. Biotemplated silicon carbide-loaded ytterbium oxide: Effective catalyst for photocatalytic hydrogen evolution reactions. *Mol Catal*, 556: 113915
- Genç MT, Sarilmaz A, Dogan S, Çekceçoğlu İA, Ozen A, Aslan E, Okan BS, Jaafar J, Ozel F, Ersoz M, Patir IH. 2023a. Thermally-exfoliated graphene Oxide/ZnO nanocomposite catalysts for photocatalytic hydrogen evolution and antibacterial activities. *Int J Hydrog Energy*, 48: 30407-19.
- 2023b. Thermally-exfoliated graphene Oxide/ZnO nanocomposite catalysts for photocatalytic hydrogen evolution and antibacterial activities. *Int J Hydrog Energy*.
- Hongwei B, Zan X, Zhang L, Sun DD. 2015. Multi-functional CNT/ZnO/TiO₂ nanocomposite membrane for concurrent filtration and photocatalytic degradation. *Sep Purif Technol*, 156: 922-30
- Irshad A, Shukrullah S, Naz MY, Rasheed MA, Ahmad M, Ahmed E, Akhtar MS, Khalid NR, Hussain A, Khalid S. 2021. Boosted hydrogen evolution activity from Sr doped ZnO/CNTs nanocomposite as visible light driven photocatalyst. *Int J Hydrog Energy*, 46: 26711-24
- Juan W, Wang G, Jiang J, Wan Z, Su Y, Tang H. 2020. Insight into charge carrier separation and solar-light utilization: rGO decorated 3D ZnO hollow microspheres for enhanced photocatalytic hydrogen evolution. *J Colloid Interface Sci*, 564: 322-32

- Jun YY, Wang F, Hu B, Lu HW, Yu ZT, Zou ZG. 2015. Significant enhancement in photocatalytic hydrogen evolution from water using a MoS₂ nanosheet-coated ZnO heterostructure photocatalyst. *Dalton Trans*, 44: 10997-1003.
- Parisa G, Fattahi M, Rasekh B, Yazdian F. 2020. Developing the ternary ZnO doped MoS₂ nanostructures grafted on CNT and reduced graphene oxide (RGO) for photocatalytic degradation of aniline. *Sci Rep*, 10:
- Peirong C, Wang L, Wang P, Kostka A, Wark M, Muhler M, Beranek R. 2015. CNT-TiO₂- δ composites for improved cocatalyst dispersion and stabilized photocatalytic hydrogen production. *Catal*, 5: 270-85.
- Pooja D, Rana G, Kumar A, Sharma G, Vo DVN, Naushad M. 2022. ZnO-based heterostructures as photocatalysts for hydrogen generation and depollution: a review. *Environ Chem Lett*, 1-35.
- Preethi V, Kanmani S. 2013. Photocatalytic hydrogen production. *Mater Sci Semicond Process*, 16: 561-75.
- Sharma SK, Gupta R, Sharma G, Vemula K, Koirala AR, Kaushik NK, Choi EH, Kim DY, Purohit LP, Singh BP. 2021. Photocatalytic performance of yttrium-doped CNT-ZnO nanoflowers synthesized from hydrothermal method. *Mater Today Chem*, 20: 100452.
- Teets TS, Nocera DG. 2011. Photocatalytic hydrogen production. *ChemComm*, 47: 9268-74.
- Yuvaraj H, Shim JJ. 2014. Supercritical fluid mediated synthesis of highly exfoliated graphene/ZnO composite for photocatalytic hydrogen production. *Mater Lett*, 133: 24-27.
- Wang X, Li Q, Xu H, Gan L, Ji X, Liu H, Zhang R. 2020. CuS-modified ZnO rod/reduced graphene oxide/CdS heterostructure for efficient visible-light photocatalytic hydrogen generation. *Int J Hydrog Energy*, 45: 28394-403.



Interpretation of the antioxidant potential of *Salix purpurea* subsp. *leucodermis* Yalt. and *Salix caprea* L. using Python

Tuğba Uçar Akyürek^{1*}, Pelin Acar¹, Arzu Bayır Yeğin², Ahmet Efe¹

¹ National Botanical Garden of Türkiye, Ministry of Agriculture and Forestry, Ankara, Türkiye.

² Bati Akdeniz Agricultural Research Institute, Ministry of Agriculture and Forestry, Antalya, Türkiye

*Corresponding author : tugba.ucar@tarimorman.gov.tr
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0003-3105-8494>

Received : 23/11/2024
Accepted : 13/04/2025

To Cite / Atıf için: Uçar Akyürek T, Acar P, Bayır Yeğin A, Efe A 2025. Interpretation of the antioxidant potential of *Salix purpurea* subsp. *leucodermis* Yalt. and *Salix caprea* L. using Python. Eurasian J Bio Chem Sci, 8(1):25-32 <https://doi.org/10.46239/ejbc.1589771>

Abstract: This study explores the medicinal potential of two willow species, *Salix purpurea* subsp. *leucodermis* Yalt. and *Salix caprea* L., with a particular focus on their antioxidant properties. Willows are well known for their therapeutic applications, largely attributed to their phenolic and flavonoid compounds, which exhibit significant bioactive potential. In this research, we quantified the total phenolic and flavonoid contents in different plant parts—leaves, bark, and twigs—collected from distinct habitats. Considering the results of total phenolic and flavonoid content, it was observed that DPPH radical scavenging activity is notably elevated in the bark and leaves of the species, particularly in the NGBT and Kızılcahamam regions. Antioxidant capacity was also assessed using computational analyses performed with Python, with the goal of comparing the species' efficacy and exploring habitat influence on phytochemical composition. The results revealed significant variations in phenolic and flavonoid concentrations across species and habitats, underscoring the role of environmental factors in shaping metabolite accumulation. These findings contribute to the growing body of knowledge on the phytochemical applications of willows and highlight their potential as natural sources of antioxidants.

Keywords: *Salix caprea*, *Salix purpurea* subsp. *leucodermis*, Antioxidant potential, Python, Türkiye.

© EJBCS. All rights reserved.

1 Introduction

Throughout history, willows have played a significant role in human culture, often found in gardens, fields, and along waterways, symbolizing both protection and ornamental beauty. In addition to inspiring literature and art, willows have long been valued for their medicinal properties. Ancient civilizations, such as those of Egypt, Sumer, and the Hittites, recognized their use in treating pain and inflammation. Assyrian clay tablets document the medicinal use of willow leaves, while traditional uses in basketry, fencing, and furniture date back to the earliest periods of human history (Alp et al. 2021). Today, beyond these traditional applications, willows are important in environmental remediation and phytochemistry.

Salix L., a genus with approximately 500 species worldwide (POWO 2024) is especially diverse in China (270 species), Russia, and Central Asia (120 species). In

Türkiye, 27 species are naturally distributed (Acar et al. 2022), with *Salix purpurea* L. (purple willow) standing out for its bioenergy potential, given its rapid growth and salicin content (Carlson et al. 2019). This study focuses on *S. purpurea* subsp. *leucodermis* Yalt., an endemic subspecies first described by Yaltırık (1989). This subspecies, found in an isolated area on Mount Sandras (Muğla, Türkiye), has recently gained attention due to its medicinal and bioenergy potential (Acar et al. 2022; POWO 2024). In addition to *S. purpurea* subsp. *leucodermis*, *Salix caprea* L. (goat willow) is a key species in this study. *S. caprea* is widely used in biomass production, erosion control, and water quality management due to its cold-hardiness and ability to thrive in diverse environments (Acar and Gokok 2021). *S. caprea* has also been employed in Indian medicine for its astringent, antiseptic, and antipyretic properties (Ahmed et al. 2011; Akopov 1981). Ethnobotanical

studies show that both *S. caprea* and *S. purpurea* subsp. *leucodermis* have long been utilized in traditional medicine for treating conditions such as rheumatism, malaria, and inflammatory diseases (Jarić et al. 2015).

Willows are rich in bioactive compounds, including salicin, a precursor to salicylic acid (aspirin), as well as flavonoids, phenolic acids, and procyanidins, which contribute to their antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties (Nahrstedt et al. 2007). While salicin alone may not fully account for the medicinal potency of willow bark, other phytochemicals, particularly polyphenols and flavonoids, are thought to enhance its antioxidant and anti-inflammatory effects (Tawfeek et al. 2021). Previous research on Turkish willow species, including *S. purpurea* subsp. *leucodermis* and *S. caprea*, has demonstrated promising antioxidant and anti-inflammatory properties (Akyürek and Acar 2020; Gligorić et al. 2019).

Given the medicinal potential of *S. purpurea* subsp. *leucodermis* and *S. caprea*, this study aims to investigate their antioxidant potential, building on earlier research into their therapeutic benefits (Ahmed et al. 2011; Devi and Periyanyagam 2010; Wiart 2007).

2 Materials and methods

2.1 Plant material

S. caprea L. and *S. purpurea* subsp. *leucodermis* leaves, bark and flowers were collected in the spring and early summer from willow garden of National Botanical Garden of Türkiye (NBGT), Ankara/ Kızılcahamam and, Muğla/Köyceğiz provinces. The reference material, including herbarium specimens, was conserved in the TC Herbarium of the NBGT, while the living accessions were maintained in the Salix Gallery Forest of NBGT. Detailed information is provided in Table 1.

Table 1. Plant material used in the study, including locations, altitude, voucher numbers and accession numbers

No	Species name	Location	Voucher number in TC Herbarium	Altitude (m)	Sampling time	Accession number in NBGT (Salix Gallery Forest)
1	<i>S. purpurea</i> subsp. <i>leucodermis</i>	NBGT/Ankara	TC 534 (female)	800	April, 2022	2021-00006
2	<i>S. purpurea</i> subsp. <i>leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla	TC 535 (male)	1768	May, 2022	-
3	<i>S. caprea</i>	NBGT/Ankara	TC 599 (male)	800	April, 2022	2022-00063
4	<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara	TC 598 (sterile)	1510	May, 2022	-

2.2 Extract preparation

The collected samples were pulverized and sieved. Samples of 10 to 30 g of fresh leaves, flowers and bark were dried at room temperature for 2 weeks. After grinding, the samples were kept in a desiccator until the time of analysis. The extraction procedure was completed in accordance with the method described by Cai et al. (2004) for the analysis of total phenolic and flavonoid contents, as well as antioxidant activity. For the extraction process, 1 g of dry plant samples were weighed, 19 ml of 80 % methanol (MeOH) was added and homogenized with ultra turrax (11.000 rpm, 15 sec). The samples were subjected to extraction in an orbital shaker (Unimax 2010, Heidolph, Germany) at 180 rpm for 24 hours. At the end of the extraction period, the tubes were centrifuged at 5000 rpm for 10 min at 4 °C and filtered. The analysis was done in Bati Akdeniz Agricultural Research Institute Laboratory, Antalya.

2.3 Determination of total phenolic content in the plant extracts

Total phenolic content was determined by using Folin-Ciocalteu solution according to the method proposed by Spanos and Wrolstad (1990). For this purpose, 100 µl of sample extract was taken into glass tubes, 900 µl of distilled water, 5 ml of 0.2 N Folin-Ciocalteu solution and 4 ml of 7.5 % sodium bicarbonate (Na₂CO₃) solution were added respectively, the tubes were mixed in a vortex and kept at 25°C in the dark for 2 hours. At the end of this period, the total phenolic content was calculated as mg gallic acid equivalent (GAE)/100 g dry sample by using the absorbance value read at 765 nm wavelength in spectrophotometer (Shimadzu UV-Vis 160A, Japan) and the curve prepared with gallic acid. Results were expressed as grams of gallic acid equivalent (GAE) per 100 g dry weight (DW).

2.4 Determination of total flavonoid content in the plant extracts

The spectrophotometric method described by Karadeniz et al. (2005) was used for the colorimetric determination of total flavonoid content with aluminium chloride. 1 ml of sample was placed in a 10 ml glass bottle, 4 ml of distilled water and 0.3 ml of 5 % sodium nitrite (NaNO_2) were added and mixed. After 5 min 0.6 ml of 10 % aluminium chloride

2.5 Determination of 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity

Antioxidant activity based on DPPH radical inhibition was determined according to Cemeroglu (2010). Firstly, 600 μl of 1 mM DPPH radical solution prepared with pure MeOH was placed in glass tubes. Then, 5 different volumes of the sample extract were added to the tubes. Pure MeOH was added to each tube for a total volume of 6 ml. The tubes were vortexed and incubated in the dark for 15 min. To be used as a witness, 600 μl DPPH and 5400 μl MeOH were added to one tube. At the end of incubation, the absorbance value of the tube contents was read at 517 nm wavelength in UV-Vis spectrophotometer and the inhibition values corresponding to each sample volume were calculated according to the following equation (Equation 1):

$$\text{Inhibition (\%)}: [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{sample}})/A_{\text{DPPH}}] \times 100 \quad (1)$$

A_{DPPH} : Absorbance value of DPPH solution

A_{sample} : Absorbance value of the sample extract

The % inhibition values and concentration values obtained from the samples prepared at different concentrations were graphed and the effective concentration (EC_{50}) that reduces the effect of DPPH by 50% was calculated for each sample.

2.6 Data analysis with Python

Python programming language was applied for the data cleaning and data visualization with the use of bar graphs to interpret total phenolic and flavonoid contents. Basic data cleaning operations were performed on MS Excel Spreadsheet for miss spelling, removal of duplicates and treatment to missing values followed by importing this cleaned data spreadsheet to Python Pandas library data frame (McKinney 2010). Python data frame was applied for further detailed data wrangling for miss spelling,

($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) was added and after 5 min 2 ml of 1 mol/L NaOH was added and the total volume was made up to 10 ml with distilled water. After mixing the mixture well, the total amount of flavonoids was calculated as mg catechin equivalent (CE)/100 g dry sample using the absorbance value read at 510 nm wavelength on a Shimadzu UV-Vis spectrophotometer and the calibration curve prepared with catechin.

missing values, and duplicates. Furthermore, in case of detection of an anomaly, the labels are inspected from the previously shot photographs.

3 Result and discussion

3.1 Total phenolic and flavonoid contents

The methanolic extracts of the samples showed total phenolic and flavonoid contents ranging from 0.95 to 5.94 g of GAE/100 g DW (Table 2) and 0.39 to 2.67 g of CE/100 g DW (Table 3), respectively.

3.2 Total phenolic and flavonoid contents interpreted by Python

Preliminary Python graphics of samples from two species and three different organs (bark, catkin and leaves) show that, rather than species selection, the amount of flavonoids and phenolics varies according to the kind of organ or habitat. Overall, it was revealed that the barks of *S. purpurea* subsp. *leucodermis* and *S. caprea* species had higher total flavonoid and phenolic contents than the other organs (Figure 1).

Comparing the two species, it is found that the bark of *S. purpurea* subsp. *leucodermis* and the leaves of *S. caprea* have higher total flavonoid and phenolic contents. While the overall flavonoid and phenolic contents in the flowers were not as high as those in the bark and leaves, the amounts were higher in the flower of *S. purpurea* subsp. *leucodermis* (Figure 1).

Considering the bark and leaves of *S. caprea* in terms of habitat, the total flavonoid content was found to be the highest in Kızılcıhamam location and it was found to be high in NBGT, Kızılcıhamam locations, respectively. Besides, the total flavonoid content in *S. purpurea* subsp. *leucodermis* bark was high and almost unaffected by habitat change. When the bark and leaves of the two species were evaluated in terms of total phenolic content, it was seen that the highest amount was obtained from *S. caprea* individuals found in NBGT (Figure 2).

Table 2. Total phenolic content of 20 samples from *S. caprea* and *S. purpurea* subsp. *leucodermis*^a

Scientific name	Location	Parts	Total phenolic content (g GAE / 100 g DW) ^b
<i>S. caprea</i>	NBGT-1	Leaf	5.94
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-2	Leaf	5.18
<i>S. caprea</i>	NBGT-1	Bark	5.04
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	NBGT-1	Bark	4.93
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-3	Bark	4.70
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-2	Bark	4.68
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-2	Bark	4.59
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-3	Bark	4.54
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-3	Leaf	4.05
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	NBGT-1	Leaf	3.84
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-1	Leaf	3.20
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-1	Bark	2.87
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-1	Flower	2.63
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-1	Bark	2.44
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-3	Flower	2.19
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-1	Flower	2.03
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-1	Flower	1.50
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-1	Leaf	1.46
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-3	Flower	1.21
<i>S. caprea</i>	NBGT-1	Flower	0.95

^aAll values were mean of triplicates.^bData expressed as grams of gallic acid equivalents per 100 g dry weight (DW).**Table 3.** Total flavonoid content of 20 samples from *S. caprea* and *S. purpurea* subsp. *leucodermis*^a

Scientific name	Location	Parts	Total flavonoid content (g CE/100g DW) ^b
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-2	Leaf	2.67
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	NBGT-1	Bark	2.53
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-2	Bark	2.51
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-2	Bark	2.51
<i>S. caprea</i>	NBGT-1	Leaf	2.50
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-3	Bark	2.48
<i>S. caprea</i>	NBGT-1	Bark	2.37
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-3	Bark	1.99
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-3	Leaf	1.64
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-1	Bark	1.51
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	NBGT-1	Leaf	1.46
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-1	Flower	1.32
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-1	Bark	1.27
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-1	Leaf	1.26
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-1	Flower	1.15

<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-3	Flower	0.99
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>Leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-1	Leaf	0.81
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-1	Flower	0.55
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-3	Flower	0.55
<i>S. caprea</i>	NBGT-1	Flower	0.39

^aAll values were mean of triplicates.

^bData expressed as grams of catechin equivalents per 100 g dry weight (DW).

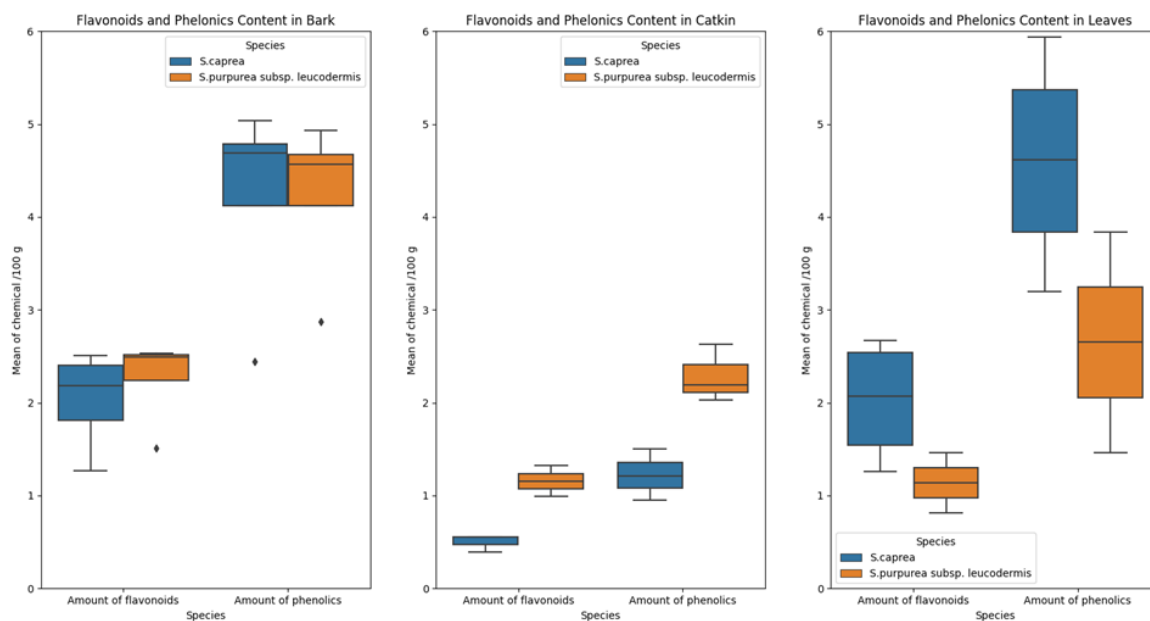


Figure 1. Total phenolic and flavonoid contents of *S. purpurea* subsp. *leucodermis* and *S. caprea* according to organs

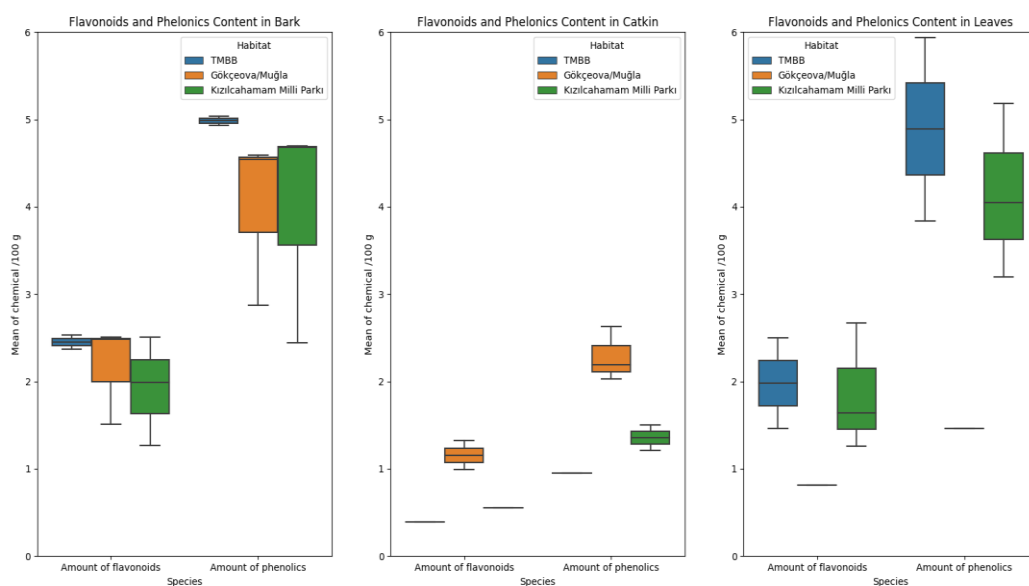


Figure 2. Total phenolic and flavonoid contents of *S. purpurea* subsp. *leucodermis* and *S. caprea* according to habitats

Table 4. DPPH radical scavenging capacity (EC₅₀) of 20 samples from *S. caprea* L. and *S. purpurea* subsp. *leucodermis*.

Scientific name	Location	Parts	EC ₅₀ ^a (mg)
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-3	Bark	0.25
<i>S. caprea</i>	NBGT-1	Bark	0.31
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-3	Bark	0.35
<i>S. caprea</i>	NBGT-1	Leaves	0.36
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-2	Leaves	0.36
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-3	Leaves	0.37
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-2	Bark	0.38
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-1	Leaves	0.38
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>leucodermis</i>	NBGT-1	Bark	0.45
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-1	Bark	0.56
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-2	Bark	0.59
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-1	Bark	0.61
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>leucodermis</i>	NBGT-1	Leaves	0.69
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-2	Flowers	0.88
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-1	Flowers	1.28
<i>S. purpurea</i> subsp. <i>leucodermis</i>	Gökova/Köyceğiz/Muğla-1	Leaves	1.52
<i>S. caprea</i>	Kızılcahamam/Ankara-3	Flowers	1.68
<i>S. caprea</i>	NBGT-1	Flowers	2.62

^aEC₅₀ is the effective concentration that inhibits DPPH free radical by 50%

3.3 Antioxidant activity

The highest DPPH radical scavenging activity was detected in the bark in general, especially in the bark of *S. caprea*. Considering the part of the plant used, the leaves had the second-highest DPPH activity, followed by the flowers. In terms of location-based evaluation, it was found that samples mostly from the Kızılcahamam and NBGT had increased DPPH radical scavenging activity. Furthermore, it was discovered that the sample collected from the Gökova/Köyceğiz/Muğla-3 location had a high antioxidant activity for *S. purpurea* subsp. *leucodermis* (Table 4).

4 Discussion

In this study, we examined the phenolic and flavonoid contents, as well as the antioxidant activity, of *S. purpurea* subsp. *leucodermis* and *S. caprea*. Our results indicate that the bark of *S. purpurea* subsp. *leucodermis* and the leaves of *S. caprea* exhibit the highest levels of phenolic and flavonoid compounds, which correlate strongly with their antioxidant potential, as evidenced by DPPH radical scavenging activity. These findings are consistent with earlier studies, such as those by Cai et al. (2004), Sonboli et al. (2010), Zheng and Wang (2001), and Alvar (2024), who highlighted the role of phenolic compounds in the antioxidant activity of various plant species, including those in the *Salix* genus.

The influence of environmental factors, such as habitat and plant age, was also significant in shaping the chemical composition of these species. Our findings, particularly the high antioxidant activity observed in

the NBGT and Kızılcahamam regions, support the idea that habitat and conservation status play crucial roles in the levels of bioactive compounds in plants. This is in agreement with the work of Gligorić et al. (2019), who found that the bark and leaves of *S. caprea* contain significant levels of bioactive compounds. Moreover, Alam et al. (2006) observed similar radical scavenging activity in *S. caprea* flowers, but our study found lower concentrations of phenolics and flavonoids in the flowers compared to the bark and leaves, suggesting that different plant parts contribute differently to antioxidant activity.

Further, the study by Jeppsson (2000) and Tolic et al. (2017) emphasizes that environmental factors, such as climate, soil composition, and conservation practices, have substantial effects on a plant's chemical composition. The high levels of bioactive compounds observed in NBGT can likely be attributed to the young age of the plants, favorable soil conditions, and the ex-situ conservation measures that may have induced stress, leading to an increase in phenolic and flavonoid content, as suggested by Tolic et al. (2017). Alvar (2024) also highlighted the importance of environmental factors in the distribution and bioactivity of *Salix purpurea* subsp. *leucodermis*, further supporting the influence of habitat on plant chemical composition.

Additionally, Akyürek and Acar (2020) discussed the bioactivity and phytochemistry of Turkish *Salix* species, noting their potential for medicinal use, which aligns with our findings on the high antioxidant potential of *S. purpurea* subsp. *leucodermis* and *S. caprea*. This review

further supports the growing body of literature on the importance of bioactive compounds in the *Salix* genus, reinforcing the medicinal value of these species.

In conclusion, this study supports the notion that phenolic and flavonoid compounds are key determinants of the antioxidant activity in *S. purpurea* subsp. *leucodermis* and *S. caprea*. The consistency of our findings with those from earlier studies, such as Cai et al. (2004), Sonboli et al. (2010), and Alvar (2024), underscores the importance of these compounds in the medicinal potential of *Salix* species. Future research should continue to explore the effects of habitat variation, conservation practices, and plant age on the phytochemical composition and bioactivity of these species to better understand their full therapeutic potential.

5 Conclusion

The findings of this study indicate that *S. caprea* (leaves and bark) from the NBGT and Kızılcahamam-2 locations, as well as *S. purpurea* subsp. *leucodermis* (bark) from the NBGT location, exhibit significant antioxidant potential, as evidenced by their high total flavonoid and phenolic content. These results align with previous research, which suggests that salicin alone may not fully account for the antioxidant and anti-inflammatory properties of willow bark. Instead, polyphenolic compounds are likely the primary contributors to these bioactive effects. Our findings further support this hypothesis, emphasizing the importance of *ex-situ* conservation in preserving and studying medicinally valuable plant species. Future research should focus on a more detailed phytochemical characterization of these species to identify the specific compounds responsible for their bioactivity. Additionally, broader geographic sampling and comparative analyses with other willow species could provide further insights into the variability of their antioxidant properties across different environments. Expanding this line of research will be crucial for optimizing the potential applications of *S. caprea* and *S. purpurea* subsp. *leucodermis* in medicinal and pharmacological contexts.

Acknowledgements

This research is a part of the ongoing projects 'Conservation and Landscaping of Turkish Willow Genetic Resources in the National Botanical Garden of Türkiye (NBGT) (TAGEM/TBAD/Ü/20/A7/P9/1931)'. We are very grateful to Çağrı Acar for data analysis and Bati Akdeniz Agricultural Research Institute for the supports.

References

Acar P, Değirmenci FO, Duman H, Kaya Z. 2022. Molecular phylogenetic analysis resolving the taxonomic discrepancies among *Salix* L. species naturally found in Turkey. *Dendrobiology*, 87.

Acar P, Gokok E. 2021. Promising resources for bioenergy: shrub willows of Turkey. *Bioenergy Studies*. 2:7-17.

Ahmed A, Shah WA, Akbar S, Younis M, Kumar D. 2011. A short chemical review on *Salix caprea* commonly known as goat willow. *Int. J. Res. Phytochem Pharmacol*. 1, 17-20.

Akopov I. 1981. *Krovoostanavlivaus plants*, Tashkent, IZD. Medicine. 296.

Akyürek TU, Acar P. 2020. Potential of Turkish *Salix* L. species: Bioactivity and phytochemistry-a review, 3rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2020), Ankara, Turkey. pp. 959-965.

Alam MS, Kaur G, Jabbar Z, Javed K, Athar M. 2006. Evaluation of antioxidant activity of *Salix caprea* flowers. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(6), 479-483.

Alp Ş, Acar P, Yuca N. 2021. Willow (*Salix* L.) Types and usage possibilities in Türkiye, effectiveness of sustainable agricultural systems, chapter 4, ISPEC, pp. 61-89.

Alvar E. 2024. *Endemik Salix purpurea l. subsp. leucodermis yalt.(SALICACEAE) üzerinde bazı biyolojik aktivite araştırmaları* (Master's thesis).

Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci*. 74, 2157-2184.

Carlson CH, Gouker FE, Crowell CR, Evans L, Di Fazio SP, Smart CD, Smart LB. 2019. Joint linkage and association mapping of complex traits in shrub willow (*Salix purpurea* L.). *Ann Bot*. 124.

Cemeroglu B. 2010. *Gıda Analizleri Genişletilmiş 2. Baskı. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*. 1-86.

Devi KN, Periyannayagam K. 2010. In vitro anti-inflammatory activity of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng by HRBC membrane stabilization. *IJPSR*. 1, 26-29.

Gligorić E, Igić R, Suvajdžić L, Grujić-Letić N. 2019. Species of the genus *Salix* L.: Biochemical screening and molecular docking approach to potential acetylcholinesterase inhibitors. *Appl Sci*. 9, 1842.

Jeppsson N. 2000. The effect of cultivar and cracking on fruit quality in black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and hybrids between chokeberry and rowan (*Sorbus*). *Gartenbauwissenschaft*. 65:93-98.

Karadeniz F, Burdurlu HS, Koca N, Soyer Y. 2005. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turk J Agric For*. 29:297-303.

McKinney W. 2010. Data structures for statistical computing in python. *Proceedings of the 9th Python in Science Conference*. 445.

Nahrstedt A, Schmidt M, Jäggi R, Metz J, Khayyal MT. 2007. Willow bark extract: the contribution of polyphenols to the overall effect. *WMW*. 157, 348-351.

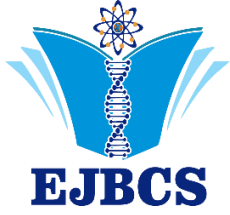
Plants of the World Online (POWO). 2024. <https://powo.science.kew.org/results?q=salix/> Accessed 29 Jan 2025.

Sonboli A, Mojarrad M, Ebrahimi SN, Enayat S. 2010. Free radical scavenging activity and total phenolic content of methanolic extracts from male inflorescence of *Salix aegyptiaca* grown in Iran. *IJPR*. 9, 293.

Spanos GA, Wrolstad RE. 1990. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *J Agric Food Chem*. 38, 1565-1571.

Tawfeek N, Mahmoud MF, Hamdan DI, Sobeh M, Farrag N, Wink M, El-Shazly AM. 2021. Phytochemistry, pharmacology and medicinal uses of plants of the genus *Salix*: An updated review. *Front pharmacol*. 12, 593856.

- Tolic MT, Krbavcic IP, Vujevic P, Milinovic B, Jurcevic IL, Vahcic N. 2017. Effects of weather conditions on phenolic content and antioxidant capacity in juice of chokeberries (*Aronia melanocarpa* L.). PJFNS. 67.
- Wiert C. 2007. Anti-inflammatory plants. In: Ethnopharmacology of medicinal plants: Asia and the Pacific. Humana press, New Jersey, USA, pp 1-55.
- Yaltırık F. 1989. Türkiye Florası için Yeni Bir Söğüt Taksonu: *Salix purpurea* L. subsp. *leucodermis* Yalt. subsp. nova. (A New Willow Taxon For The Flora of Türkiye). Master's Thesis. Institute of Sciences Department of Biology, Pamukkale University, Denizli.
- Zheng W, Wang SY. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. J Agric Food Chem. 49:5165-5170.



Niacin deficiency and hormonal imbalance as emerging biochemical markers in women with type 1 and type 2 diabetes mellitus

Hajer Ifsaikha Bahjat Alaiesh^{1*}, Şevki Adem²

¹ Çankırı Karatekin University, Postgraduate Institute, Department of Chemistry, Çankırı, Türkiye

² Çankırı Karatekin University, Postgraduate Institute, Department of Chemistry, Çankırı, Türkiye

*Corresponding author : hajeralaesih@gmail.com
Orcid No: <https://orcid.org/0009-0009-8940-4071>

Received : 26/04/2025
Accepted : 22/06/2025

To Cite / Atıf için: Alaiesh HIB, Adem Ş 2025. Niacin deficiency and hormonal imbalance as emerging biochemical markers in women with type 1 and type 2 diabetes mellitus. Eurasian J Bio Chem Sci, 8(1):33-39 <https://doi.org/10.46239/ejbcsc.1684314>

Abstract: Diabetes mellitus, particularly Type 2 (T2DM), is increasingly common among young adults and is associated with metabolic syndrome and endocrine dysfunction. Niacin (vitamin B3), essential for lipid and energy metabolism, may serve as a diagnostic marker for diabetic complications. This study compared niacin levels, steroid hormone profiles, and hematological markers in women with Type 1 (T1DM) and Type 2 diabetes versus non-diabetic controls. A total of 180 women aged ≥ 20 were evenly divided into T1DM, T2DM, and control groups. Blood samples were collected to measure niacin, estradiol (E2), follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), red blood cells (RBC), hemoglobin (Hb), and glycated hemoglobin (HbA1C). Statistical analysis included mean comparison and Pearson correlation. Both diabetic groups exhibited significantly lower niacin levels (T1DM: 2.50 $\mu\text{g/L}$; T2DM: 2.61 $\mu\text{g/L}$) compared to controls (3.75 $\mu\text{g/L}$). Elevated E2 and reduced FSH and LH levels were observed in diabetic women, suggesting endocrine disruption. Additionally, RBC and Hb levels were lower (T1DM: 10.85 g/dL; T2DM: 11.70 g/dL) compared to controls (14.32 g/dL), while HbA1C was higher (T1DM: 6.76%; T2DM: 5.83%; controls: 5.25%). Significant negative correlations were found for RBC, Hb, FSH, LH, and niacin, while positive correlations were found for E2 and HbA1C with diabetic status. These results indicate that diabetes in women is associated with systemic biochemical anomalies, including niacin deficiency, impaired hematopoiesis, and hormonal dysregulation. The findings emphasize the importance of holistic treatment approaches considering metabolic, nutritional, and hormonal factors in female diabetes patients.

Keywords: Diabetes Mellitus, Niacin, Steroid Hormones, Women, Hemoglobin, HbA1C.

Tip 1 ve Tip 2 Diyabetli Kadınlarda Yeni Ortaya Çıkan Biyokimyasal Belirteçler Olarak Niasin Eksikliği ve Hormonal Dengesizlik

Özet: Diabetes mellitus, özellikle Tip 2 Diyabet (T2DM), genç yetişkinler arasında giderek daha yaygın hale gelmekte olup metabolik sendrom ve endokrin disfonksiyonla ilişkilidir. Lipid ve enerji metabolizması için hayati öneme sahip bir besin ögesi olan niasin (B3 vitamini), diyabetik komplikasyonların tanısında potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabilir. Bu çalışma, Tip 1 (T1DM) ve Tip 2 diyabetli kadınlar ile diyabetik olmayan kontrol grupları arasında niasin düzeylerini, steroid hormon profillerini ve hematolojik belirteçleri karşılaştırmıştır. Çalışmaya yaşları ≥ 20 olan toplam 180 kadın dahil edilmiş ve katılımcılar eşit şekilde T1DM, T2DM ve kontrol gruplarına ayrılmıştır. Kan örnekleri alınarak niasin, östradiol (E2), folikül uyarıcı hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH), kırmızı kan hücreleri (RBC), hemogloblin (Hb) ve glikozile hemogloblin (HbA1C) düzeyleri ölçülmüştür. İstatistiksel analizler ortalama karşılaştırması ve Pearson korelasyon testi ile gerçekleştirilmiştir. Her iki diyabet grubunda da kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde daha düşük niasin düzeyleri (T1DM: 2,50 $\mu\text{g/L}$; T2DM: 2,61 $\mu\text{g/L}$; kontrol: 3,75 $\mu\text{g/L}$) gözlemlenmiştir. Diyabetli kadınlarda artmış E2 ve azalmış FSH ile LH düzeyleri saptanmış, bu durum endokrin bozulmayı işaret etmiştir. Ayrıca, RBC ve Hb düzeyleri de diyabetli gruplarda daha düşük (T1DM: 10,85 g/dL; T2DM: 11,70 g/dL; kontrol: 14,32 g/dL) bulunmuş, HbA1C düzeylerinde ise artış (T1DM: %6,76; T2DM: %5,83; kontrol: %5,25) saptanmıştır. Diyabetik durumda RBC, Hb, FSH, LH ve niasin için anlamlı negatif korelasyonlar; E2 ve HbA1C için ise pozitif korelasyonlar belirlenmiştir. Bu sonuçlar, kadınlarda diyabetin, niasin eksikliği, hematopoez bozukluğu ve hormonal dengesizlik gibi sistemik biyokimyasal anormalliklerle ilişkili olduğunu göstermektedir. Bulgular, kadın diyabet hastalarının tedavisinde metabolik, beslenme ve hormonal faktörleri birlikte dikkate alan bütüncül yaklaşımların önemini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Diyabetes Mellitus, Niasin, Steroid Hormonlar, Kadınlar, Hemogloblin, HbA1C

1. Introduction

Type 1 diabetes mellitus (T1DM) and type 2 diabetes mellitus (T2DM) are the two primary forms of the metabolic disorder known as diabetes mellitus, which is characterized by chronic hyperglycemia. T1DM is an autoimmune condition that results in a lifelong deficiency in insulin production, whereas T2DM is primarily defined by insulin resistance often accompanied by a relative decline in insulin secretion (Singh et al. 2024).

T2DM has become a major public health concern globally, with its incidence rising steadily since the 1980s (Cho et al. 2018). While it was traditionally seen in middle-aged and older individuals, recent years have seen a marked increase in its prevalence among younger adults (under 40), adolescents, and even children (Viner et al. 2017). This trend is largely attributed to the global rise in obesity rates. Notably, T2DM began emerging among young populations such as the Pima Indians in the United States and First Nations communities in Canada in the 1980s and 1990s (Magliano et al. 2020).

Both T1DM and T2DM are associated with significant morbidity and mortality due to complications affecting nearly all organ systems. Common macrovascular and microvascular complications include cardiovascular disease (CVD), retinopathy, neuropathy, and chronic kidney disease (Harding et al. 2019). More recently, non-alcoholic fatty liver disease, mental health disorders (e.g., depression), cancer, cognitive impairment, infections, and disability have also been identified as diabetes-related conditions.

Young individuals with T2DM often experience a more rapid decline in β -cell function and face a higher risk of complications compared to those with T1DM, suggesting a more aggressive disease phenotype (Viner et al. 2017). However, whether early-onset T2DM leads to worse outcomes than late-onset T2DM remains uncertain.

Metabolic syndrome (MetSy), characterized by central obesity, hyperglycemia, hypertension, elevated triglycerides, and low high-density lipoprotein (HDL) levels, is present in 70–80% of diabetes cases (Asghar et al. 2023). It is associated with a threefold increased risk of CVD, various microvascular complications, and premature death (Ford 2005). MetSy is increasingly recognized as a common comorbidity in both T1DM and T2DM worldwide. Although its exact etiology remains unclear, insulin resistance and central obesity are considered major contributing factors. Other potential contributors include aging, genetic predisposition, chronic hyperglycemia, inflammation, hormonal imbalances, dietary changes, and physical inactivity, with variability observed across different ethnic groups (Gui et al. 2017; Belete et al. 2021).

Atherogenic dyslipidemia, marked by high triglycerides and low HDL, is closely linked to increased adiposity and sedentary behavior, which are also correlated with rising T2DM incidence (Stanaway et al. 2018). Despite the widespread use of statins to reduce cardiovascular risk and improve lipid profiles, they have limited effects on

triglycerides and HDL levels (Fruchart et al. 2010). This limitation underscores the need for additional strategies to manage lipid abnormalities in diabetic patients.

One such strategy is niacin (vitamin B3) supplementation, which is known to reduce low-density lipoprotein (LDL), plasma triglycerides (TG), and increase HDL levels (Malik and Kashyap 2003). Previous studies have suggested that niacin may reverse coronary atherosclerosis and reduce cardiac mortality (Duggal et al. 2010), though its role in statin-treated patients remains debated (Boden et al. 2011). Given the high prevalence of dyslipidemia among individuals with T2DM, further investigation into the impact of niacin supplementation in this group is warranted (Xiang et al. 2020).

Steroid hormones, which exert diverse physiological effects by binding to specific nuclear receptors, are synthesized from cholesterol through enzymatic pathways. Over the past three decades, research in enzyme kinetics and precursor-product relationships has established that numerous enzymes are responsible for converting cholesterol into active steroid hormones. Advances in protein chemistry and molecular biology have significantly deepened our understanding of these biosynthetic mechanisms (D'Andrea et al. 2019).

This study aims to compare women with type 1 and type 2 diabetes to healthy controls in order to investigate the impact of diabetes on niacin levels, steroid hormone profiles (E2, FSH, LH), and hematological parameters (RBC, Hb, HbA1C). It is hypothesized that systemic metabolic and endocrine dysregulation in diabetic patients leads to marked reductions in niacin and hematological indices, as well as significant disruptions in reproductive hormone levels regardless of diabetes type.

The original contribution of this study lies in its comprehensive approach, which aims to uncover interconnected disruptions in female diabetic patients that are often overlooked when biomarkers are assessed in isolation. By identifying specific patterns of dysregulation across multiple physiological systems, this work provides a more complete understanding of how diabetes affects women's health. The findings are expected to inform more holistic diagnostic frameworks and support the development of targeted interventions that address the multifactorial nature of diabetes in women.

The rest of study is as follows: Section 2 details the methodology; Section 3 presents the main findings, including reduced levels of niacin, FSH, LH, RBC, and hemoglobin, and elevated E2 and HbA1C in diabetic women; Section 4 offers a critical interpretation of these findings in the context of current literature, examining factors such as insulin resistance, endocrine feedback disruptions, oxidative stress, and altered erythropoiesis; Section 5 concludes with an emphasis on the systemic effects of diabetes on women's hormonal and hematological health, and underscores the importance of integrated treatment approaches addressing both metabolic and endocrine dysfunctions.

2. Materials and Method

2.1. Study groups and blood samples

In this study, 180 samples, consist of diabetes mellitus disease patients (Group A: Consists of 60 women with type 1 diabetes mellitus and group B: Consists of 60 women with type 2 diabetes mellitus) between the age of 20 and above. Group C: Consists of 60 women without diabetes mellitus as control group. The study included collecting blood samples from 180 women who attended government hospitals and health centers and who suffered from metabolic syndrome, by taking a blood amount of 5 mL or more using sterile plastic syringes, and then keeping the samples in sterile plastic containers until the required laboratory tests were performed. As illustrated in Figure 1, the participants were evenly divided among the three groups.

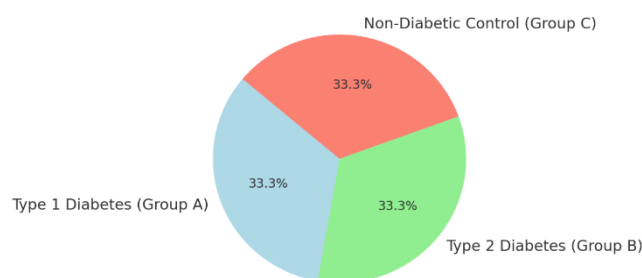


Fig. 1 Proportional distribution of study participants across three groups

2.2. Biochemical analysis

Serum niacin, estradiol (E2), follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), RBC count, hemoglobin (Hb) and glycated hemoglobin (HbA1C) levels were measured using biochemical investigations. A spectrophotometric assay that was modified from DDQ (dichloro-5,6-dicyano-p-benzoquinone) method was used to measure niacin concentrations. The concentrations of estradiol, FSH and LH were determined by following the instructions provided by the manufacturer of standardized ELISA kits (Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China). An automated hematology analyzer such as the Sysmex XP-300 used to determine hematological parameters, including RBC and Hb. High-performance liquid chromatography (HPLC) with a certified NGSP-traceable assay was used to measure HbA1C levels. With the use of internal quality controls, every analytical batch was run in compliance with the established clinical laboratory standards for all measurements.

2.3 Statistical analysis

The statistical program SPSS 22.0 was used to analyze the data statistically and extract the average values, standard deviation, and standard deviation, in addition to finding the Pearson correlation between metabolic syndrome and some of the criteria studied. For correlation analysis, the study groups were coded as follows: 0 = healthy control, 1 = type 1 diabetes, and 2 = type 2 diabetes. This numeric coding allowed for assessment of linear relationships using Pearson's correlation coefficient.

3. Results

3.1 Niacin concentrations

The average niacin values for the three groups of women tested varied significantly, as shown in Table 1. However, the two groups of women with type 1 and type 2 diabetes demonstrated a notable decrease in niacin levels, reaching 2.50 and 2.61 $\mu\text{g/L}$, respectively while the group of women without diabetes had a niacin percentage of 3.75 $\mu\text{g/L}$.

Table 1 Niacin level of women of studied groups

Group	Niacin ($\mu\text{g/L}$)
Control	3.75 $\pm$ 2.38
T1DM	2.51 $\pm$ 2.10
T2DM	2.61 $\pm$ 2.32
Total	2.96 $\pm$ 2.33

Figure 2 shows the Niacin level of women of studied groups

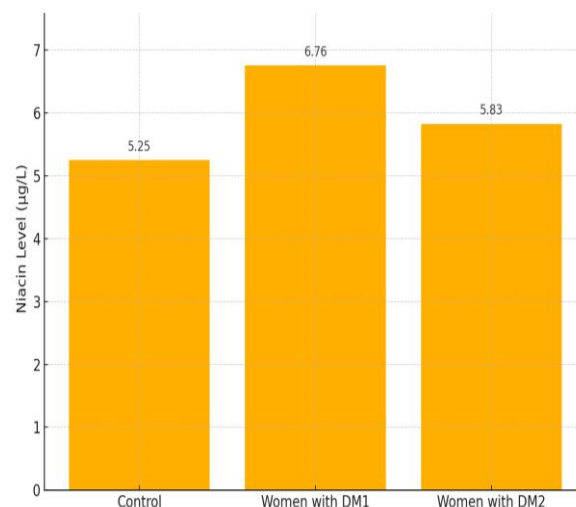


Fig. 2 Niacin level of women of studied groups

Women with type 1 and type 2 diabetes have significantly lower niacin levels than non-diabetic controls which can be ascribed to a number of physiological and metabolic variables usually linked with diabetes mellitus. One major cause is that diabetics have higher metabolic demand and oxidative stress which can lead to a deficiency in important micronutrients like niacin. Chronic hyperglycemia and systemic inflammation, which are hallmarks of diabetes have been shown to increase reactive oxygen species (ROS) levels raising the body's need for antioxidant and coenzyme molecules such as niacin which is essential for redox equilibrium and energy metabolism.

Insulin resistance and decreased glucose utilization in type 2 diabetes may also affect nutritional absorption and metabolism, thereby lowering niacin bioavailability or cellular uptake. In type 1 diabetes autoimmune dysfunctions and impaired nutrition metabolism may also contribute to reduced levels. Niacin is also involved in lipid metabolism and DNA repair, and its deficiency in diabetic women may be due to increased use in an attempt to compensate for

abnormal metabolic states. Furthermore, dietary choices in diabetics particularly carbohydrate restriction or poor nutritional intake may impair dietary niacin ingestion.

3.2 Steroid hormone profiles

The levels of estradiol (E2), follicle-stimulating hormone (FSH), and luteinizing hormone (LH) were compared among the three groups to determine the effect of diabetes on female reproductive hormones. Table 2 and Figures 3 and 4 show significant hormonal variations across the three study groups. Women with type 1 and type 2 diabetes had significantly higher estradiol (E2) levels, measuring 94.33 pg/mL and 107.40 pg/mL, respectively, compared to 61.48 pg/mL in non-diabetic women. In contrast, diabetic women had considerably lower levels of follicle-stimulating hormone (FSH), with values of 4.03 mIU/mL (type 1) and 4.32 mIU/mL (type 2), compared to 4.89 mIU/mL in the control group. Similarly, diabetic groups had lower luteinizing hormone (LH) levels (5.56 IU/mL and 4.15 IU/mL for type 1 and type 2 diabetes, respectively) compared to non-diabetic women who had 7.60 IU/mL.

Table 2 Steroid hormone level of women of studied groups

Group	Estradiol (pg/mL)	FSH (mIU/mL)	LH (IU/mL)
Control	61.48±27.65	4.89±1.83	7.61±1.33
T1DM	94.33±68.43	4.03±0.83	5.56±1.42
T2DM	107.40±81.54	4.32±0.71	4.16±1.18
Total	87.74±66.04	4.42±1.28	5.78±1.93

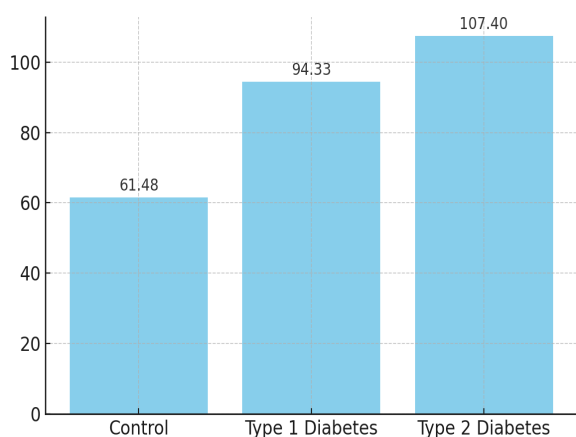


Fig. 3 Estradiol levels across study groups

The hormonal findings in this study elevated estradiol (E2) levels in diabetic women as well as lower follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) levels can be related to diabetes's disruptive effects on the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis. In women with diabetes, particularly type 2, insulin resistance and compensatory hyperinsulinemia increase androgen synthesis which is then converted to estradiol by increased

aromatase activity in adipose tissue. Elevated estradiol levels then exert negative feedback on the hypothalamus and pituitary gland, inhibiting GnRH release and, as a result, reducing FSH and LH output. Furthermore, prolonged hyperglycemia and metabolic inflammation associated with diabetes might affect neuroendocrine regulation and hormone metabolism, exacerbating the imbalance. These hormonal disturbances reflect a broader dysregulation of reproductive function in diabetic women, which may explain menstrual irregularities, anovulation, and decreased fertility in this population.

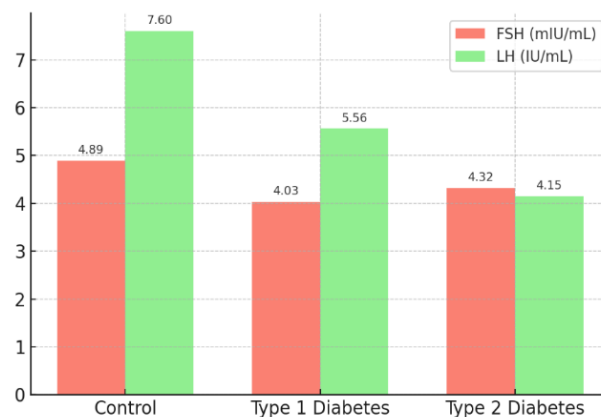


Fig. 4 FSH and LH levels across study groups

Recent evidence indicates that niacin deficiency may affect the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis via multiple biochemical pathways. Niacin is an essential precursor of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺), which governs various cellular processes, including oxidative metabolism, mitochondrial function, and gene expression through sirtuins (SIRT) and poly (ADP-ribose) polymerases (PARPs). SIRT1, NAD⁺-dependent enzyme has been demonstrated to influence secretion of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in hypothalamus and to regulate pituitary's responsiveness to GnRH stimulation. Research on animals demonstrates that NAD⁺ depletion disrupts reproductive axis signaling and fertility by diminishing expression of GnRH and gonadotropin subunits. Furthermore, niacin deficiency has been associated with increased oxidative stress and inflammatory cytokines, which have the potential to disrupt endocrine signaling within the HPG axis, particularly in metabolically impaired conditions like diabetes. These results indicate that the hormonal imbalances observed in diabetic women, specifically the elevated estradiol and diminished FSH and LH levels, may be partially due to the disruption of central and peripheral reproductive regulation induced by niacin.

3.3 Hematological parameters

To assess the hematological impact of diabetes, red blood cell (RBC) count, hemoglobin (Hb), and glycated hemoglobin (HbA1c) levels were analyzed across the three study groups. As shown in Table 3 and Figure 5, there were significant differences in RBC counts among the groups. Women with type 1 and type 2 diabetes exhibited reduced RBC values of $4.53 \times 10^6/L$ and $5.10 \times 10^6/L$, respectively, compared to $5.35 \times 10^6/L$ in non-diabetic women.

Similarly, hemoglobin levels were significantly lower in diabetic participants, with type 1 and type 2 groups recording averages of 10.85 g/dL and 11.70 g/dL, respectively, while the control group reached 14.32 g/dL. In contrast, HbA1c levels were significantly elevated in the diabetic groups. Women with type 1 and type 2 diabetes recorded HbA1c values of 6.76% and 5.83%, respectively, compared to 5.25% in the healthy control group.

Table 3 RBC, hemoglobin and HbA1C count of women of studied groups

Group	RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	Hemoglobin (g/dL)	HbA1C (%)
Control	5.35 $\pm$ 0.12	14.32 $\pm$ 0.70	5.25 $\pm$ 0.25
T1DM	4.53 $\pm$ 0.20	10.85 $\pm$ 0.33	6.76 $\pm$ 0.57
T2DM	5.11 $\pm$ 0.08	11.71 $\pm$ 0.16	5.83 $\pm$ 0.17
Total	5.00 $\pm$ 0.37	12.29 $\pm$ 1.55	5.95 $\pm$ 0.72

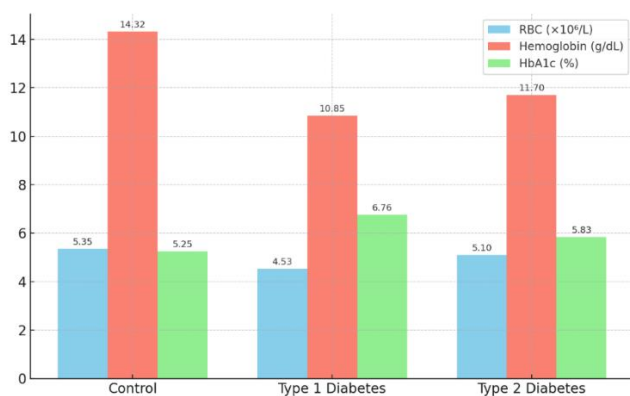


Fig. 5 RBC, hemoglobin and HbA1C values of women and studied groups

3.4 Correlation analysis

A strong negative correlation was observed between RBC count and the studied groups, with a correlation coefficient of -0.268 at the 0.01 significance level. Similarly, hemoglobin values in women of reproductive age showed a strong negative correlation with the studied groups, recording a coefficient of -0.692 at the 0.01 level. Conversely, the HbA1C values exhibited a strong positive correlation with the studied groups, reaching 0.328 at the 0.01 significance level. In addition, a strong negative correlation was identified between niacin levels and the studied groups ($r = -0.201$, $p < 0.01$), while estradiol (E2) levels showed a strong positive correlation ($r = 0.285$, $p < 0.01$). Furthermore, the analysis revealed a significant negative correlation between FSH levels and the studied groups, with a coefficient of -0.183 at the 0.05 significance level. Finally, the LH levels were also found to have a strong negative correlation with the studied groups, recording a coefficient of -0.732 at the 0.01 level. The results presented

in Table 4 and Figure 6 indicate several statistically significant correlations identified through Pearson correlation analysis.

The findings demonstrate that diabetes mellitus has considerable impact on women's hematological and hormonal profiles. The negative correlation between RBC count and hemoglobin levels among the studied groups suggests that diabetic women have lower red blood cell counts and hemoglobin concentrations which are most likely caused by chronic hyperglycemia, oxidative stress, inflammation or diabetic nephropathy all of which can impair erythropoiesis and promote anemia. In contrast, HbA1C levels were positively linked with the examined groups, indicating poor long-term glycemic management in diabetes patients. Niacin levels exhibited a negative correlation, possibly due to increased metabolic demand and oxidative stress, which deplete vitamin B3 levels. Estradiol (E2) levels were also positively connected with diabetes, which could be attributed to hormonal imbalances, insulin resistance, or obesity-related aromatization. In contrast, follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) levels were inversely linked with diabetes groups indicating hypothalamic-pituitary-gonadal axis suppression possibly due to higher estrogen feedback or metabolic disturbance. These connections underscore the systemic physiological changes caused by diabetes, which influence oxygen transport, food metabolism and reproductive endocrine function in women.

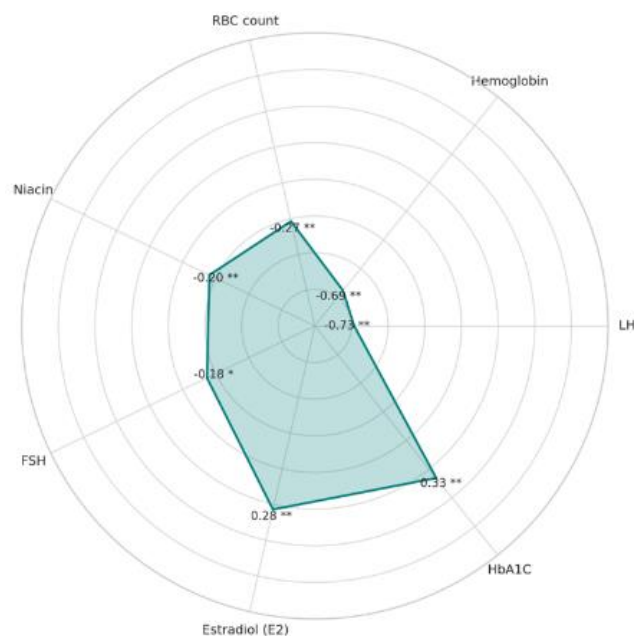


Fig. 6 Correlation patterns of biomarkers with study groups

4. Discussion

In women with diabetes mellitus, this study reveals a cascade of biochemical abnormalities, including niacin deficiency, steroid hormone imbalances and changed hemostatic markers. This study adds to and supports what is already known about the pathophysiology of metabolic syndrome and diabetes.

The decrease in serum niacin levels found in diabetic women can be explained by factors such as elevated metabolic demand, oxidative stress and impaired nutrient absorption or utilization. Redox reactions, DNA repair and lipid metabolism are all heavily reliant on niacin which is also required for NAD/NADP biosynthesis. Results showing a substantial inverse association between dietary niacin consumption and diabetes risk (Jiang et al. 2023) corroborate the idea that niacin depletion is worsened by chronic hyperglycemia and elevated reactive oxygen species in diabetes. In addition, there is ongoing debate about effectiveness of niacin supplementation in hyperglycemic populations although it has shown promise in improving lipid profiles and reducing cardiovascular risk (Duggal et al. 2010; Boden et al. 2011).

Disruption of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis manifests as steroid hormone dysregulation, which is characterized by increased estradiol and decreased FSH/LH levels. Adipose tissue aromatase activity may be stimulated by hyperinsulinemia in type 2 diabetes, leading to the conversion of androgens to estrogens. This process then has a negative effect on gonadotropin secretion (Maric et al. 2010; Alemany 2021). Previous research has shown that diabetic women have lower gonadotropin levels and higher E2, which can lead to menstrual irregularities and reduced fertility (Natah et al. 2013; Bertone-Johnson et al. 2017). The endocrine effects of metabolic dysfunction, especially in women, are reflected in these hormonal changes.

Consistent with data linking diabetes to impaired erythropoiesis and anemia, the hematological changes noted include a decreased red blood cell count and hemoglobin concentration (Ebrahim et al. 2022). Diabetes may decrease erythrocyte survival and hemoglobin synthesis due to chronic inflammation, kidney dysfunction, and oxidative damage to red blood cells (Alamri et al. 2019). A long-term glycemic imbalance is major cause of vascular and hematological complications and elevated HbA1C levels further confirm this (Şener et al. 2023).

Taken as a whole, these results highlight how diabetes affects the entire body spanning the metabolic, dietary, endocrine and hematologic systems. Patient outcomes, particularly for women with diabetes may be improved by addressing these multidimensional changes through integrated care, which includes nutritional support (such as niacin supplementation), hormonal monitoring, and anemia management.

Although thorough, this study does have a few caveats. Diabetes and the biochemical variations observed cannot be causally interpreted due to the cross-sectional design. It is possible that unrecorded supplementation and food consumption affected serum niacin levels. Possible effects on FSH, LH, and estradiol levels were due to the lack of adjustment for menstrual cycle phases in the hormonal levels. Additional limitations that limit generalizability include the sample's lack of male participants and its geographical limitation to a single region. The results should be further validated and expanded upon in future studies by using interventional or longitudinal designs

including dietary assessments and increasing the demographic scope.

Table 4 Pearson correlation analysis between study groups and selected biochemical and hematological parameters in women

Parameter	Pearson Correlation (r)	Significance (p-value)	Significance Level
RBC count	-0.268 **	0.000	** (p<0.01)
Hemoglobin	-0.692**	0.000	** (p<0.01)
HbA1C	0.328**	0.000	** (p<0.01)
Niacin	-0.201**	0.007	** (p<0.01)
Estradiol (E2)	0.285**	0.000	** (p<0.01)
FSH	-0.183*	0.014	* (p<0.05)
LH	-0.732**	0.000	** (p<0.01)

*Study groups were coded as 0 = healthy control, 1 = type 1 diabetes, and 2 = type 2 diabetes.

The results revealed several statistically significant associations. Hemoglobin ($r = -0.692$, $p < 0.01$) and LH ($r = -0.732$, $p < 0.01$) exhibited strong negative correlations with diabetes status, indicating marked reductions in these parameters among diabetic women. RBC count ($r = -0.268$, $p < 0.01$), niacin ($r = -0.201$, $p < 0.01$), and FSH ($r = -0.183$, $p < 0.05$) also showed negative correlations, suggesting declining levels with increasing severity of diabetes. Conversely, HbA1C ($r = 0.328$, $p < 0.01$) and estradiol (E2; $r = 0.285$, $p < 0.01$) were positively correlated with diabetes, reflecting elevated levels in diabetic patients.

These findings support the hypothesis that systemic metabolic and endocrine dysregulation occurs in women with both type 1 and type 2 diabetes. Importantly, the integrated correlation pattern observed across nutritional, hormonal, and hematological domains underscores the study's original contribution: revealing the complex, multifactorial impact of diabetes on women's health through simultaneous biomarker evaluation.

5. Conclusion

According to this study, significant biochemical and hematological changes such as reduced niacin levels, disrupted steroid hormone profiles, impaired red blood cell and hemoglobin indices are observed in women with type 1 and type 2 diabetes. These irregularities demonstrate how diabetes affects person's nutritional, hormonal, and hemostatic health on a systemic level. The importance of closely monitoring metabolic and reproductive health in women with diabetes is underscored by niacin deficiency and hormonal imbalances like increased estradiol levels with decreased FSH and LH. It is crucial to maintain effective glycemic control due to observed hematological disruptions and elevated HbA1C levels. These results lend

credence to the idea that metabolic, hormonal and nutritional pathway targeted integrated diagnostic and therapeutic strategies could be useful in bettering disease management and results for female diabetic populations. Longitudinal studies should be main emphasis of future investigations to prove causal links between diabetes and noted hormonal and biochemical changes. Furthermore, investigated should be the therapeutic benefits of hormonal control in diabetic populations and focused niacin supplements. Generalizability would be improved by extending the research to include male subjects and different demographic groups. Furthermore, including dietary assessments and analyzing phases of menstrual cycle could help to grasp nutritional and endocrine dynamics in diabetes in more whole sense. Combining omics techniques like transcriptomics and metabolomics find new biomarkers and therapeutic targets for individualized diabetes control.

Authors' contributions: Both authors contributed equally to the conception, design, and execution of the study titled. The first author was responsible for data collection, analysis, and drafting of the manuscript. The second author contributed to data interpretation, performed critical revisions, and finalized the manuscript for submission. Both authors reviewed and approved the final version of the manuscript.

Conflict of interest disclosure

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

References

- Alamri BN, Bahabri A, Alderehim AA, Alabduljabbar M, Alsubaie MM, Alnaqeb D, et al. 2019. Hyperglycemia effect on red blood cells indices. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 23(5):2139–2150.
- Aleman M. 2021. Estrogens and the regulation of glucose metabolism. *World J Diabetes*. 12(10):1622–1654.
- Asghar S, Asghar S, Shahid S, Fatima M, Bukhari H, Siddiqui SN. 2023. Metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus patients: prevalence, risk factors, and associated microvascular complications. *Cureus*. 5(5):1–9.
- Belete R, Ataro Z, Abdu A, Sheleme M. 2021. Global prevalence of metabolic syndrome among patients with type 1 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Diabetol Metab Syndr*. 13(1):1–13.
- Bertone-Johnson ER, Virtanen JK, Niskanen L, Nurmi T, Ronkainen K, Voutilainen S, et al. 2017. Association of follicle-stimulating hormone levels and risk of type 2 diabetes in older postmenopausal women. *Menopause*. 24(7):796–802.
- Boden WE, Probstfield JL, Anderson T. 2011. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. *N Engl J Med*. 365(24):2255–2267.
- Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, et al. 2018. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 138:271–281.
- D'Andrea E, Hey SP, Ramirez CL, Kesselheim AS. 2019. Assessment of the role of niacin in managing cardiovascular disease outcomes. *JAMA Netw Open*. 2(4):1–14.
- Duggal JK, Singh M, Attri N, Singh PP, Ahmed N, Pahwa S, et al. 2010. Effect of niacin therapy on cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 15(2):158–166.
- Ebrahim H, Fiseha T, Ebrahim Y, Bisetegn H. 2022. Comparison of hematological parameters between type 2 diabetes mellitus patients and healthy controls at Dessie comprehensive specialized hospital, Northeast Ethiopia: Comparative cross-sectional study. *PLoS One*. 17(7):1–15.
- Ford ES. 2005. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care*. 28(7):1769–1778.
- Fruchart JC, Sacks FM, Hermans MP, Assmann G, Brown VW, Ceska R, et al. 2010. Residual Risk Reduction Initiative: a call to reduce residual vascular risk in patients with dyslipidemia. *Cor Vasa*. 52(4):212–228.
- Gui MH, Ling Y, Liu L, Jiang JJ, Li XY, Gao X. 2017. Effect of metabolic syndrome score, metabolic syndrome, and its individual components on the prevalence and severity of angiographic coronary artery disease. *Chin Med J (Engl)*. 130(6):669–677.
- Harding JL, Pavkov ME, Magliano DJ, Shaw JE, Gregg EW. 2019. Global trends in diabetes complications: a review of current evidence. *Diabetologia*. 62(1):3–16.
- Jiang Y, Zhang Z, Zhu Y, Chai Y, Xie H. 2023. Dose-response association between dietary folate and niacin intakes with diabetes among Chinese adults: a cross-sectional study. *J Health Popul Nutr*. 42(1):1–7.
- Magliano DJ, Sacre JW, Harding JL, Gregg EW, Zimmet PZ, Shaw JE. 2020. Young-onset type 2 diabetes mellitus: implications for morbidity and mortality. *Nat Rev Endocrinol*. 16(6):321–331.
- Malik S, Kashyap ML. 2003. Niacin, lipids, and heart disease. *Curr Cardiol Rep*. 5(6):470–476.
- Maric C, Forsblom C, Thorn L, Waden J, Groop PH. 2010. Association between testosterone, estradiol and sex hormone-binding globulin levels in men with type 1 diabetes with nephropathy. *Steroids*. 75(11):772–778.
- Natah TM, Wtw MA-A, Al-Saadi HK, Al-Saadi AH, Farhood HF. 2013. Study the levels of adiponectin, FSH, LH and sex hormones in type 2 diabetes (NIDDM). *J Biol Agric Healthc*. 2(3):172–181.
- Şener G, Kahvecioğlu ED, Can B, Gümüş A, Yeşil BS, Evran B. 2023. The effect of age and gender on HbA1c levels in adults without diabetes mellitus. *J Med Biochem*. 42(4):714–721.
- Stanaway JD, Afshin A, Gakidou E, Lim SS, Abate D, Abate KH, et al. 2018. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioral, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 392(10159):1923–1994.
- Viner R, White B, Christie D. 2017. Type 2 diabetes in adolescents: a severe phenotype posing major clinical challenges and public health burden. *Lancet*. 389(10085):2252–2260.
- Xiang D, Zhang Q, Wang YT. 2020. Effectiveness of niacin supplementation for patients with type 2 diabetes. *Medicine (Baltimore)*. 99(29):1–10.



EJBCS