

**SAMSUN YÖRESİNDE VE MISIR ÜLKESİNDE YETİŞTİRİLEN ÇÖREKOTU
(*Nigella sativa* L.) TOHURLARININ ANTIOKSİDAN AKTİVİTE YÖNÜNDE
İNCELENMESİ**

Yakup KAR*, Nejdet ŞEN, Yener TEKELİ****

*Selçuk Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü,
Alâeddin Keykubat Kampüsü, 42031 Selçuklu-Konya
e-mail: ykar@selcuk.edu.tr

**Selçuk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Alâeddin Keykubat
Kampüsü, 42075 Selçuklu-Konya
e-mail: nsen@selcuk.edu.tr, ytekeli@selcuk.edu.tr

Alınış: 15 Haziran 2007, Kabul: 24 Ekim 2007

Özet: Yağlı besin maddelerinde ve canlı organizmada bulunan doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile tepkimesi sonucu meydana gelen otooksidasyon; hem yağlı besin maddelerin raf ömrünün azalmasına hem de canlı organizmada erken yaşlanmaya ve birçok ölümcül hastalığın (kanser, kalp, damar vb.) daha hızlı ilerlemesine neden olmaktadır. Günümüzde bu olumsuz etkileri azaltmak için yağlı besinlere antioksidan olarak genellikle BHA (Bütillenmişhidroksianisol), BHT (Bütillenmişhidroksitoluen) gibi fenolik yapıdaki maddeler katılmaktadır. Ancak son yıllarda, bu maddelerin kanserojenik etkiye sahip olduğu yönündeki olumsuz açıklamalar, tüketicileri daha çok doğal antioksidan katkılı ürünler kullanmaya yönlendirmiştir. Bu çalışmada, Folin-Ciocalteau (toplam fenolik içerik), DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal süpürme etkisi) ve İndirgeme kapasitesi (Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeme) gibi metotlar kullanılarak, Samsun ve Mısır kökenli çörekotu tohumlarının antioksidan kapasiteleri incelendi. Sonuç olarak, her iki çörekotu tohumunda sentetik antioksidanlara kıyasla daha iyi aktiviteye gösterdikleri ve elde edilen sonuçların literatürle uyum içinde olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, Çörekotu, Dpph metot, Folin-Ciocalteau metot

**INVESTIGATION OF BLACK CUMIN (*Nigella sativa* L.) SEEDS CULTIVATED
IN REGION SAMSUN AND COUNTRY OF EGYPT IN TERMS OF
ANTIOXIDANT ACTIVITY**

Abstract: The autooxidation occurred at resulting of the reaction of free radicals with unsaturated fatty acids in living organisms has caused both the reducing of shelf life of foodstuff and to get old early in living organism and to gain speed the progression of many fatal illness such as cancer, heart, blood vessel, etc. In recent years, to reduce these negative effects, generally synthetic antioxidant compounds, which are BHA (Butylated hydroxyanisole) and BHT (Butylated hydroxytoluene) being in the structure of phenolic compounds, have been added into oily foods. However, the negative explanations about these compounds having the cancerogenic effects have directed consumers to use the yields including natural antioxidant. In this study, antioxidant capacities of black cumin seeds cultivated in the different regions such as Samsun and

Egypt were investigated by using the various methods related to antioxidant capacity such as Folin-Ciocalteu, DPPH and reducing power. In conclusion, it was determined that these seeds owned a good antioxidant activity and the results obtained agreed with literature.

Key words: Antioxidant, Black cumin (*Nigella sativa* L.), DPPH method, Folin-Ciocalteu method

GİRİŞ

Çörekotu (*Nigella sativa* L.), *Ranunculaceae* (dügün çiçeğigiller) familyasından olup günümüzde başta Doğu Akdeniz ülkeleri olmak üzere birçok ülkede yaygın olarak tarımı yapılan yıllık otsu bir bitki türüdür. Türkiye’de 12 *Nigella* türü yetişmektedir. Çoğunun kimyasal ve farmakolojik özellikleri henüz incelenmemiştir. Bunlardan *Nigella sativa*, *Nigella damascena* ve *Nigella arvensis*’in tohumları halk hekimliğinde ve baharat olarak daha yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Ülkemizde tarımı yapılan ve ticarete konu olan tek tür yalnızca black cumin (*Nigella sativa* L.)’dir. Türkiye’de yaygın olarak Afyon, Isparta, Burdur ve Konya yörelerinde tarımı yapılmaktadır (BAYTOP 1984). Çörekotu tohumu ve tohumundan elde edilen preparatlar eskiden olduğu gibi günümüzde de hala Ortadoğu ve bazı Asya ülkelerinde halk hekimliğinde, soğuk algınlığı, baş ağrısı, astım, gaz giderme, idrar söktürücü, sarılık, çeşitli romatizma ve iltihap hastalıkları ve vb. birçok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (RANDHAWA ve AL-GHAMDI 2002). Çörekotu tohumu ve bileşenlerinin, anti-tümör aktivite (WORTHEN vd. 1998), anti-bakteriyel aktivite (MORSI 2000), anti-inflamatuvar aktivite (HOUGHTON vd. 1995), antioksidan aktivite (BURITS ve BUCAR 2000) ve Bağışıklılık sistemini kuvvetlendirici aktivite (SALEM ve HOSSAIN 2000) gibi daha birçok faydalı farmakolojik etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Türkiye’de tarımı yapılan ve birçok ülkede çeşitli sektörlerde (Kozmetik, gıda ve ilaç vb.) yaygın olarak kullanılmasına rağmen Türkiye’de genellikle baharat amaçlı olarak tüketilmekte olup, üretimi ancak iç tüketimin çok az bir kısmını karşılayacak düzeydedir. Ayrıca, Türkiye kökenli tohumu ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunun, yağ ve yağ asitlerinin karakterizasyonu (NERGİZ ve ÖTLEŞ 1993, TÜRKER ve BAYRAK 1997, ÜSTÜN vd. 1990,) üzerine olması ve antioksidan aktivite belirleme çalışmalarının sınırlı sayıda olması gibi durumlar göz önünde bulundurularak, hem sınırlı sayıda olan antioksidan aktivite çalışmalarına katkı da bulunmak hem de tıbbi ve endüstriyel uygulanabilirlik açısından çörekotu tohumunun önemini bir kez daha vurgulamak amacıyla bu çalışma yapıldı.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada kullanılan çörekotu numuneleri, Türkiye kökenli numune Samsun yöresinden temin edilirken, Mısır kökenli numune Konya ilinde bulunan baharat satıcısından temin edildi. Çörekotu tohumlarının yağ içeriğini belirlemek için, Soxhlet Ekstraksiyon metodu kullanıldı (JAMES 1995). Çok ince öğütülmüş belli miktardaki (yaklaşık 18 g) çörekotu numuneleri, 80 °C’ de *n*-hekzan ile 6 saat ekstrakte edildi ve kurutularak tartıldı. Bu işlem üç kez tekrarlanarak her numunenin yağ içeriği, üç işlem sonucunda elde edilen değerlerin aritmetik ortalaması alınarak % olarak ifade edildi.

Yağı giderilmiş olan numunelerden antioksidan aktivite belirleme çalışmaları için gerekli olan çörekotu antioksidan ekstraktları, literatürde tanımlanan metoda (KOŞAR vd. 2002) göre yapılmıştır. Yağı giderilmiş ve kurutulmuş olan yaklaşık 30 g çörekotu numunesi, geri soğutucu altında karıştırılmalı su banyosunda 40 °C’de % 70’lik metanol ile 30 dakika ekstrakte edilmiş ve mavi bant süzgeç kâğıdında vakum altında süzölmüştür. Bu ekstraksiyon işlemi aynı numuneye iki kez daha uygulanmış ve elde edilen süzüntüler birleştirilerek rotary evaporatörde metanol çözücüsü uzaklaştırılmıştır. Geride kalan sulu ekstrakt liyofilize işlemine tabi tutularak kurutulmuştur. Kurutulan ekstraktlar +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Bu çalışmada çörekotu antioksidant ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri, (SINGLETON vd. 1999) tarafından modifiye edilen Folin Ciocaltau metoduna göre belirlenmiştir. Çalışmanın bu bölümünde, standart olarak kullanılan gallik asit ve diğer numunelerin (çörekotu ekstraktları) çözeltileri hazırlanırken, çözücü olarak % 70’lik metanol kullanılmıştır. 0.1 mL numune 100 mL’lik dereceli kapaklı erlene konur ve hacmi distile su ile 46 mL’ye tamamlanır. Daha sonra 1 mL Folin-Ciocaltau reaktifi ilave edildikten 3 dakika sonra 3 mL Na₂CO₃ (% 20 g/L) çözeltisi ilave edilir ve karıştırıcıda oda sıcaklığında 2 saat karıştırılır. Bu süre sonunda numunelerin absorpsanları 760 nm de Shimadzu-1700 UV spektrofotometresi’nde ölçülmüştür. Gallik asit çözeltilerinin absorpsan değerlerinden elde edilen kalibrasyon grafiği kullanılarak, her numunenin toplam fenolik madde içeriği mg gallik asite eşdeğer olacak biçimde belirlenmiştir.

Numunelerin DPPH radikal süpürme etkilerinin belirlenmesinde ise, (SINGH vd. 2005) tarafından ilgili çalışmada kullanılan yöntemin küçük değişikliklerle modifiye edilmiş şekli uygulanmıştır. 3 mL numune (0.03125–0.5 mg/mL) ve 1 mL 1x10⁻³ M DPPH çözeltisi (çözücüsü % 70’lik metanol) kapaklı bir deney tüpüne konularak kuvvetlice çalkalanmış ve 30 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. Bu inkübasyon süresi sonunda her bir numunenin spektrofotometrede 515 nm dalga boyunda absorpsan değerleri okunmuştur. % İnhibisyon değerleri aşağıda verilen eşitlikten hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[\frac{(A_1 - A_2)}{A_1} \right] \times 100$$

Eşitlikte kullanılan A₁ test edilecek olan numuneden başka bütün reaktifleri içeren kontrol çözeltinin absorpsansını ve A₂ ise test edilecek olan madde ile birlikte bütün reaktifleri içeren çözeltinin absorpsansını simgelemektedir.

Bu çalışmada kullanılan ekstraktların ve sentetik antioksidanların indirgeme gücü, Mau ve ark (2005) tarafından tanımlanan Oyaizu (1986) Metodu’na göre tayin edildi. Bu metod; doğal ve sentetik antioksidan maddelerin Fe⁺³’ü Fe⁺²’ye indirgemesi esasına dayanır. Çörekotu ekstrakt ve sentetik antioksidan maddelerin; (0.05–0.5 mg/mL) konsantrasyon aralığında ve %70’lik metanol de hazırlanmış olan çözeltilerin her birinden 1’er mL alınarak 10 mL’lik santrifüj tüplerine kondu. Daha sonra tüplere sırası ile 2.5 mL potasyum fosfat tamponu (HPO₄⁻² / H₂PO₄⁻; 0.2 M ve pH 6.6) ve 2.5 mL Potasyumheksasiyanoferrat (K₃Fe(CN)₆; % 1) ilave edildi ve karıştırıldı. 50 °C’de 20 dakika inkübe edildi. İnkübe edilen tüplere 2.5 mL Triklorasetik asit (CCl₃COOH (TCA); % 10) ilave edildikten sonra 3000 rpm de 10 dakika santrifüjlendi. Santrifüjlemiş tüplerin berrak olan üst tabakasından alınan 2.5 mL numune, 2.5 mL deiyonize su ve 0,5 mL Demir-III klorür çözeltisi (FeCl₃; % 0,1) 10 mL’lik test tüpüne alındıktan sonra iyice çalkalanır ve absorpsanları sıfırlanmış olan spektrofotometrede

700 nm okunur. Sonuç olarak, reaksiyon karışımındaki absorbands artışı, o karışımın içerdiği bitki ekstraktının indirgeme gücünün büyüklüğünün bir ölçüsü olarak değerlendirilir.

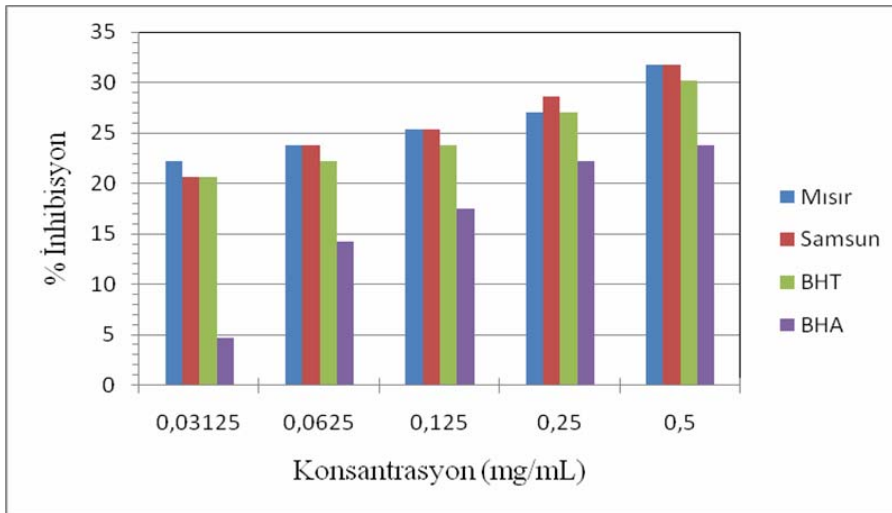
BULGULAR

Samsun yöresinde ve Mısır ülkesinde yetiştirilen çörek otu tohumlarının, çözücü ekstraksiyon metodu ile belirlenen % sabit yağ miktarları ve Folin-Ciocalteu yöntemine göre elde edilen toplam fenolik madde içerikleri; g ekstraktta mg gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g ekstrakt) olarak hesaplanmış olup, elde edilen sonuçlar Tablo.1. de verilmiştir.

Tablo 1. Çörekotu tohumlarının % sabit yağ ve toplam fenolik madde içerikleri

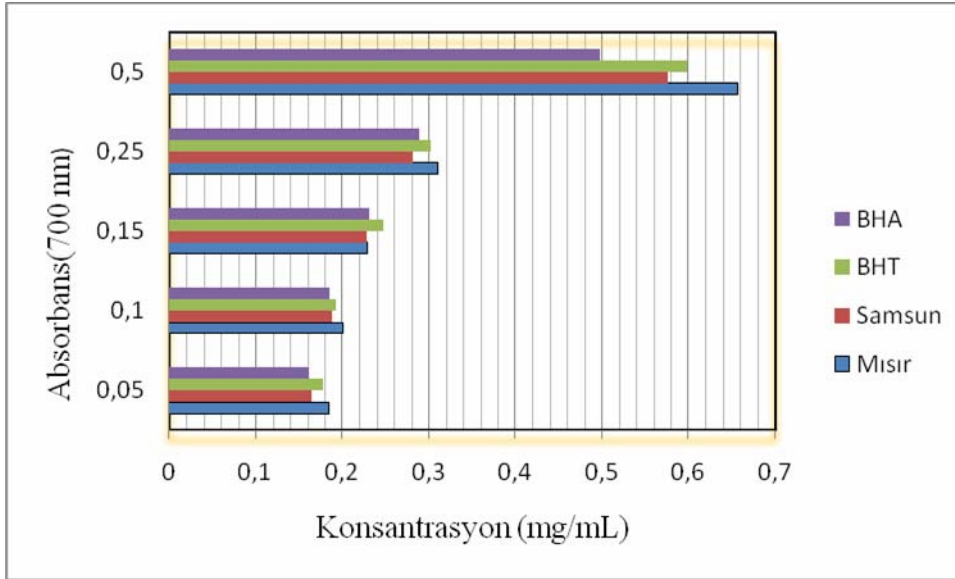
Numune yöresi	% Sabit yağ	Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g ekstrakt)
Mısır	30.89	1451
Samsun	30.05	1588

Çörekotu ekstraktlarının ve endüstride yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidan maddelerinin (BHA ve BHT), DPPH radikal süpürme gücünün ölçüsü olan % İnhibisyon değerleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak Şekil.1’de verilmiştir.



Şekil 1. Çörekotu ekstraktlarının ve sentetik antioksidan maddelerin % inhibisyon değerleri.

Numune ekstraktlarının ve sentetik antioksidan maddelerin antioksidan aktivitesinin göstergesi olan Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeme kabiliyetleri, Oyaizu (1986) metoduna göre belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak Şekil.2’de verilmiştir.



Şekil 2. Numunelerin ve sentetik antioksidanların indirgeme kapasiteleri.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Samsun yöresinde yetişen çörekotu tohumunun sabit yağ yüzdesi; Türkiye'nin birçok yöresinde yetiştirilen numunelerin yağ içerikleri ile uyum içinde olduğu gözlenmiştir. TÜRKER & BAYRAK (1997), Türkiye'nin 20 farklı yöresinden temin ettikleri çörekotu numunelerinin yağ kompozisyonu araştırmak için yaptıkları çalışma sonucunda, numunelerin % yağ içeriklerinin %24.96–37.17 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Mısır numunesinin % yağ içeriği ise; ATTA (2003) tarafından belirlenen Mısır kökenli numunenin yağ içeriği (% 24.76–34.78) ile uyum içinde olduğu görülmüştür. THIPPESWAMY & NAIDU (2005), Hindistan kökenli numunenin antioksidan özelliklerini belirlemek için yaptıkları çalışma sonucu, metanolik ekstraktın toplam fenol içeriğini 4,1 mg GAE/ g ekstrakt olarak bulmuşlardır. SINGH vd. (2005) de aynı kökenli numunenin aseton ekstraktının antioksidan özellikleri ile ilgili yaptıkları çalışmada ekstraktın, % İnhibisyon (% 90,37–97,18) ve indirgeme kapasitesi açısından sentetik antioksidanlara (BHA ve BHT) oranla daha yüksek aktiviteye sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın Şekil 1–2' de sonuçlarının, literatürde yer alan çalışmalarla uyum içinde olduğunu görüyoruz. Sonuçlar arasındaki rakamsal farklılık ise, ASRAF vd. (2006)'nin açıkladığı gibi, bitkinin tarımında uygulanan tekniklerin farklılığı (sulamanın uygulama sıklığı, gübreleme, hasat vb.), toprak yapısı farklılığı, iklim ve çevre şartlarının farklı olması gibi faktörlerin ürünün bileşimi üzerine olan etkisinden kaynaklanmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından 06101004'nolu proje kapsamında finansal olarak desteklenmiş olan Doktora tez çalışmasından yapılmıştır. Ayrıca, bu çalışma konusunun ortaya çıkmasında bize

önemli katkılarda bulunan değerli hocamız Prof. Dr. Ayhan DEMİRBAŞ'a teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

- ASHRAF M, ALI Q, IQBAL Z, 2006. Effect of nitrogen application rate on the content and composition of oil, essential oil and minerals in black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 871–876.
- ATTA MB, 2003. Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry*, 83, 63–68.
- BAYTOP T, 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, No: 3255, İstanbul, pp. 211.
- BURITS M, BUCAR F, 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, 323–328.
- HOUGHTON PJ, ZARKA R, DE LA HERAS B, HOULT JRS, 1995. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Medica*, 61, 33–36.
- JAMES CS, 1995. *Analytical chemistry of foods*. Publisher Blackie Academic and Professional, London, pp. 176.
- KOŞAR M, BOZAN B, TEMELLİ F, BAŞER KHC, 2002. Sumak (*Rhus Coriaria*)’ın fenolik bileşikleri ve antioksidan etkileri. *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler, K.H.C. Başer ve N. Kırimer, Editörler, 29–31 Mayıs, Eskişehir, pp. 113–124.
- MAU JL, TSAI SY, TSENG TH, HUANG SJ, 2005. Antioxidants properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry*, 93, 641–649.
- MORSI NM, 2000. Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria. *Acta Microbiologica Polonica*, 49, 63–74.
- NERGİZ C, ÖTLEŞ S, 1993. Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds. *Food Chemistry*, 48, 259–261.
- OYAIZU M, 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307–315.
- RANDHAWA MA, AL-GHAMDI MS, 2002. A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa*. *Pakistan Journal of Medical Reserach*, 41, 77–83.
- SALEM ML, HOSSAIN MS, 2000. In vivo acute depletion of CD8(+) T cells before murine cytomegalovirus infection upregulated innate antiviral activity of natural killer cells. *International Journal of Immunopharmacology*, 22, 707–718.
- SINGH G, MARIMUTHU P, S DE HELUANI C, CATALAN C, 2005. Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *nigella sativa* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2297–2306.
- SINGLETON VL, ORTHOFER RM, RAMUELA-RAVENTOS RM, 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteau reagent. *Methods Enzymol*, 299, 152–178.
- THIPPESWAMY NB, NAIDU KA, 2005. Antioxidant potency of cumin varieties-cumin, black cumin and bitter cumin-on antioxidant systems. *European Food Reserach Technology*, 220, 472–476.

- TÜRKER L, BAYRAK A, 1997. Çörekotu (*Nigella sativa* L.)'nun sabit ve uçucu yağ kompozisyonunun araştırılması. *Standard*, Ekim Sayısı, 128–137.
- ÜSTÜN G, KENT L, ÇEKİN N, CİVELEKOĞLU H, 1990. Investigation of the technological properties of *Nigella sativa* (Black cumin) seed oil. *Journal of American Oil Chemists Society*, 67, 958–960.
- WORTHEN DR, GHOSHEH OA, CROOKS PA, 1998. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of blackseed, *Nigella sativa* L. *Anticancer Reserach*, 18, 1527–1532.