

Yolci, M.S., R. Tunçtürk, and M. Tunçtürk, Farklı Ekstraksiyon Çözücülerini Kullanılarak Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çiçeklerinin Toplam Fenol, Flavonoid Miktarları ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 2022. 5(1): p. 97-109.
DOI: 10.38001/ijlsb.1066431

Farklı Ekstraksiyon Çözücülerini Kullanılarak Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çiçeklerinin Toplam Fenol, Flavonoid Miktarları ve Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Muhammed Said Yolci^{1*} , Rüveyde Tunçtürk¹ , Murat Tunçtürk¹ 

ÖZET

Bitkisel ürünlerden aktif bileşenlerin ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilmesi, besin takviyeleri ve farmasötik ilaç endüstrisinin önemli süreçlerindedir. Bitki ekstraksiyonunda elde edilen ürünlerin kalitatif ve kantitatif sonuçları; çözücünün içeriği ve moleküler yapısı, çözünen maddenin içeriği ve hasat zamanı, ortam ısı ve ekstraksiyonun süresi gibi birçok parametre ile ilişkilidir. Bu çalışmada farklı dönemlerde (çiçeklenme başlangıcından bir hafta sonra=HZ₁, çiçeklenme başlangıcından iki hafta sonra=HZ₂, çiçeklenme başlangıcından üç hafta sonra=HZ₃) hasat edilen aspir bitkisi çiçeklerinin farklı çözücüler (saf su, etanol, metanol ve aseton) kullanılarak ekstraksiyonları yapılmıştır. Üç farklı dönemde hasat edilen aspir çiçeklerine uygulanan farklı çözücülerin çiçeklerdeki toplam antioksidan aktivite (FRAP) ile toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları değişimleri belirlenmiştir. Hasat zamanına göre en yüksek toplam fenolik madde miktarı (132.30 mg GA/100g) ile 2. hasat zamanından elde edilirken, en yüksek toplam flavonoid madde miktarı (19.15 mg QE/100g) ve toplam antioksidan aktivite (20.30 mg TE/g) 1. hasat zamanından tespit edilmiştir. Ayrıca, en yüksek toplam flavonoid madde miktarı (32.15 mg QE/100g) metanol ekstraksiyonundan, en yüksek fenolik madde miktarı (224.05 mg GA/100g) ve toplam antioksidan aktivite miktarı (61.25 mg TE/g) ise saf su ekstraksiyonundan belirlenmiştir. Aspir çiçeklerin çiçeklenme başlangıç dönemlerinde hasat edilmesi ve su ile ekstrakte edilmesi aspir çiçeklerinden maksimum düzeyde faydalanılabilirlik için önem arz etmektedir.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş

10 Aralık 2021

Kabul

25 Ocak 2022

ANAHTAR KELİMELER

Hasat zamanı, Aspir, fenolik, flavonoid, antioksidan aktivite

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü, Van, Türkiye

*Sorumlu yazar: musayol65@gmail.com

Determination of Total Phenol and Flavonoid Amounts and Antioxidant Activity of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Flowers Using Different Extraction Solvents

ABSTRACT

Obtaining active components from herbal products by extraction methods is one of the significant processes of nutritional supplements and the pharmaceutical industry. Qualitative and quantitative results of the products derived from plant extraction; It is related to many parameters such as solvent content and molecular structure, solute content and harvest time, ambient temperature, and duration of extraction. In this study, safflower flowers harvested at different periods (one week after the beginning of flowering = HZ₁, two weeks after the beginning of flowering = HZ₂, three weeks after the beginning of flowering = HZ₃) were extracted using different solvents (pure water, ethanol, methanol, and acetone). The changes in the total antioxidant activity (FRAP) and the amount of total phenolic and flavonoid substances in the flowers of different solvents applied to the safflower flowers harvested in three different periods were determined. According to the harvest time, the highest total phenolic substance content (132.30 mg GA/100g) was derived from the 2nd harvest time, while the highest total flavonoid substance amount (19.15 mg QE/100g) and total antioxidant activity (20.30 mg TE/g) were determined from 1. harvest time. In addition, the highest amount of total flavonoid substance (32.15 mg QE/100g) was obtained from methanol extraction, the highest amount of phenolic substance (224.05 mg GA/100g), and total antioxidant activity amount (61.25 mg TE/g) were determined from pure water extraction. Harvesting safflower flowers at the beginning of flowering and extracting them with water is important for maximum utilization of safflower flowers.

ARTICLE HISTORY

Received
10 December 2021
Accepted
25 January 2022

KEY WORDS

Harvest time,
Safflower,
phenolic,
flavonoid,
antioxidant activity

Giriş

Fenolik maddeler; protein, yağ, vitamin ve karbohidrat gibi primer metabolitlerden farklı yollarla oluşturulmaktadır. Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki ana gruba ayrılmaktadırlar. Enzimatik ve enzimatik olmayan birçok çeşidi ile canlılarda antioksidan aktivite göstermektedirler. Bitkilerde fenolik bileşikler; büyüme-gelişme, tozlaşma, üreme, pigment oluşturma, serbest radikalleri nötralize etme, çeşitli patojen ve olumsuz çevre şartlarında bitkiyi korumaya alma ve direncini arttırma gibi birçok farklı amaçlarla üretilmektedir [1].

İnsan bedeninde doğal olarak gerçekleşen metabolik faaliyetler ve çeşitli çevresel kirlenmeler sebebiyle serbest radikaller oluşmakta ve birçok organ ve sistemde tahribat ve hastalıklara neden olduğu bildirilmektedir [2]. Tüm canlılarda olduğu gibi insan vücudunda da varolan antioksidan sistemler sayesinde serbest radikallerin verdiği zararlar önlenmeye çalışılmakta ancak yetersiz kalındığı durumların da olduğu görülmektedir. Bitkisel kaynaklardan alınan antioksidan yapıdaki fenolik bileşikler sayesinde oksidan-antioksidan dengenin sağlandığı bilinmektedir [3]. Sentetik

antioksidan tüketimine bağılı olarak olumsuz bazı etkilerle karşılaşılması nedeniyle doğal kaynaklı antioksidanlar insan sağlığı için daha etkili ve sağlıklı olduğu ve daha fazla talep gördüğü bildirilmektedir [29].

Aspir veya yalancı safran olarak bilinen *Carthamus tinctorius* L. Compositae/Asteraceae familyasına mensup tek yıllık bir bitkidir. Güney Asya, Hindistan, İran, Çin ve Mısır gibi kurak iklimlerde doğal olarak yetişmekte olan aspir bitkisinin birçok ülkede kültürü yapılmaktadır [4]. Aspir bitkisinin vejetatif kısımları, tohum ve çiçekleri dünyanın birçok ülkesinde beslenme, tedavi, biyogaz, yem, süs, gıda ve tekstil ürünlerinde renk verici olarak kullanılmaktadır [5]. Aspir bitkisinin tohumları % 70 oranında linoleik asit, % 10 civarında oleik asit ve az miktarda stearik asit içerdiği ve bu nedenle ilk zamanlardan beri yemeklik yağ ve kuş yemi olarak tüketildiği belirtilmektedir [6].

Aspir taç yaprakları gallik asit, klorojenik asit, siringik asit, kuarsetin ve epikateşin gibi fenolik bileşikleri ve flavonoid yapıdaki glikozil-qinokalkonlar olarak bilinen renk maddelerini barındırdığı bilinmektedir. [7]. HSYA (Hydroxy Safflor Yellow A), aspir çiçeğinin renk pigmentlerinin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Aspir çiçeklerinin terapötik etkilerinin büyük çoğunluğunu bu madde belirlediği için özellikle Çin farmakopesinde yer almaktadır. Aspir çiçekleri içerdiği zengin fenolik, antioksidan ve diğer maddelerden ötürü kalp damar koruyucu, karaciğer temizleyici, antikanser, metabolizma düzenleyici, akciğer ve sinir sistemi koruyucu gibi birçok hastalığın tedavisinde geniş kullanım alanı bulmuştur [8]. Aspir bitkisinde bulunan fenolik yapıdaki renk pigmentlerinin; sulama, gübreleme, ekim sıklığı, ekim zamanı, hasat zamanı, çeşit, çevresel stres durumları gibi birçok parametreden etkilendiği ve miktarda değişkenlik gösterebildiği çalışmalarla tespit edilmiştir [9, 10, 11]. Bitkilerden hasat sonrası elde edilen çiçeklerin sekonder metabolitlerinin; sıcaklık, UV ışınları, pH, çeşitli gazlar, metal iyonları ve kimyasallar gibi farklı etkenlere bağılı olarak değişime uğradığı bildirilmiştir [12]. Aspirede birer hafta ara ile çiçek hasadının flavanoid yapıdaki kartamidin maddesi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, çiçeklenme başlangıcı (1. hafta) ile üçüncü haftaya kadar yapılan hasatlarda kartamidin miktarının gittikçe arttığı, üçüncü haftadan sonraki hasatlarda ise gittikçe düşüşler gözlemlendiği bildirilmiştir [13]. Aspir çiçeklerinde farklı çözücülerin (aseton, metanol, etanol) ve hasat zamanlarının

fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada aseton/su (2/8) ekstraksiyonunun en yüksek polifenol ve antioksidan aktivite gösterdiği, hasat zamanlarının antioksidan içeriklerinde farklılıklar oluşturduğu ve en yüksek antioksidan aktivitenin tam çiçeklenme zamanında, fenolik madde miktarında ise tam açılma döneminde elde edildiği bildirilmiştir [7].

Bu çalışma, farklı zamanlarda hasat edilen aspir çiçeklerinin farklı çözücülerle ekstraksiyonunun yapılarak toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

Materyal ve Metot

Deneme materyali olarak kullanılan Asol aspir çeşidinin çiçekleri Van YYÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Uygulama Alanı'nda 2020 yılı sulu şartlar altında yetiştirilen aspir bitkisinden farklı dönemlerde (çiçeklenme başlangıcından bir hafta sonra=HZ₁, çiçeklenme başlangıcından iki hafta sonra=HZ₂, çiçeklenme başlangıcından üç hafta sonra=HZ₃) hasat edilmiştir. Çiçek tablalarından ayrılan petaller oda sıcaklığında kurutulup daha sonra paketlenmiştir. Çiçek ekstraksiyonunda çözücü olarak saf su=EC₁, etanol=EC₂ (%99.5/Merck), metanol=EC₃ (%99.7/Merck) ve aseton=EC₄ (%99.5/Merck) kullanılmıştır. Çiçek örneklerinden 2'şer gr alınıp falkon tüplerine konulmuştur. Daha sonra üzerine çözücülerden 4'er ml eklenmiş ve homojenizatörde ekstrakte edilmiştir. Örnekler santrifüjden geçirilmiş ve süpernatant kısmı ayrılıp analizlere hazır hale getirilmiştir. Aspir çiçeklerinin hasat edildiği döneme ait iklim verileri Tablo 1'de, toprak verileri ise Tablo 2'de verilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarı (mg GA/100g)

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde; Obanda ve ark., (1997) tarafından belirtilen Folin-Cicaltea spektrofotometrik yöntemin modifiye edilmesiyle geliştirilen yöntem kullanılmıştır [14]. Folin-Cicaltea çözeltisi 1:3 oranında seyreltilmiştir. Doygun sodyum karbonat (%35) çözeltisi; 87.5 g sodyum karbonat distile suda çözdürülüp 250 ml'ye tamamlanarak bir gece bekletilmesinin ardından filtre edilmiştir. Gallik asit (GA) stok çözeltisi (500 µg/ml); 100 ml saf suda 50 mg gallik asit çözdürülerek hazırlanmıştır. Gallik asit çalışma çözeltisi; 500 µg/ml gallik stok çözeltisinden her biri 5'er ml'lik ölçü balonlarında, konsantrasyonu 0-55 µg/ml arasında değişen 9 ayrı çözelti olarak hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden 1 ml alınarak 1 ml Folin-

Cicaltea çözeltisi ile karıştırılmıştır. 5 dk bekletildikten sonra 2 ml sodyum karbonat ilave edilerek çalkalanmış ve 2 ml su ile seyreltilmiştir. Bu karışım 60 dk karanlık ortamda bekletildikten sonra spektrofotometrede 700 nm dalga boyunda absorbans değeri okunmuştur. Gallik asidin bu farklı konsantrasyonlarına karşı okunan absorbans değerlerinin grafiğe dönüştürülmesi ile kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir ($r^2= 0.987$).

Tablo 1 Van ili tuşba ilçesi 2020 yılı meteorolojik verileri

Table 1 Meteorological data for the year 2020 of Tusba district of Van province

Aylar	Ortalama Sıcaklık (°C)	Toplam Yağış (mm)	Ortalama Nem (%)
Ocak	-2,5	43,8	74,5
Şubat	-1,7	79,9	77,1
Mart	4,9	40,9	72,5
Nisan	8,6	50,9	65,4
Mayıs	14,5	27,8	54
Haziran	19,3	13,4	44,4
Temmuz	23	17,9	46,4
Ağustos	21,6	10	44,5
Eylül	20,1	5,6	41,3
Ekim	13,3	1,8	47,2
Kasım	6,7	12,8	65,5
Aralık	1,4	27,7	71,4
Ortalama	10,76	27,7	58,68

Toplam flavonoid madde miktarı (mg QE/100g)

Toplam flavonoid madde miktarının belirlenmesi; Toplam flavonoid madde tayini Quettier-Deleu (2000)'nın geliştirmiş oldukları yöntemle göre belirlenmiştir [15]. 2 ml ekstrakt üzerine 2 ml %2'lik $AlCl_3$ eklenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 1 saat bekletilmiştir. Her örnekte 2 paralel çalışma yapılarak ekstrelerin toplam flavonoid içerikleri, 415 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülmüş ve standart quersetin (QE) kullanılarak hazırlanmış olan kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak mg QE/100 g cinsinden hesaplanmıştır ($r^2= 0.998$).

Toplam antioksidan aktivite miktarı (mg TE/g)

Toplam antioksidan aktivitesinin belirlenmesi (FRAP) (mg Trolox Eşdeğeri (TE)/g); aspir çiçeklerinden 2 g tartılıp üzerine 4 ml farklı çözücüler ayrı ayrı (metanol, etanol, aseton ve saf su) eklenerek homojenizatörden geçirilen materyal 10 dk 10000 rpm'de

santrifüj edildikten sonra üstte kalan süpernatant kısmı alınmıştır. Daha sonra 300 mM asetat tamponu (pH 3.6), 40 mM HCl'de çözülerek hazırlanan 10 mmol/L 2,4,6-tripiridyl-s-triazine (TPTZ), 20 mmol/L FeCl₃.6H₂O çözeltileri hazırlandıktan sonra sırası ile 10:1:1 oranında karıştırılıp FRAP ayırıcı hazırlanmıştır. Aspir çiçeklerine 2850 µL FRAP ayırıcı ile ABTS (2,2-Azinobis 3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) analizi için hazırlanan karışım ayrı ayrı çözücüler ile 50 kat seyreltildikten sonra alınan 150 µL örnek karıştırılıp oda sıcaklığında 60 dk bekletilmiştir. Oluşan ferrustripiridilriazin kompleksi spektrofotometrede 593 nm'de ölçülmüş ve sonuçlar mg Trolox/g olarak belirtilmiştir [16]. Trolox konsantrasyon aralığı 0-500 ppm olarak çalışılmıştır ($r^2= 0.995$).

Tablo 2 çiçek örneklerinin alındığı toprağa ait bazı fiziksel ve kimyasal özellikler

Table 2 Some physical and chemical properties of the soil from which flower samples were taken

Derinlik (cm)	Tekstür	pH	Kireç (%)	Toplam Tuz (µS/cm)	Organik Madde (%)
0-20	Kumlu-Tınlı	7,65	188	8,8	0,94
20-40	Kumlu-Tınlı	7,73	152,1	9,1	0,63

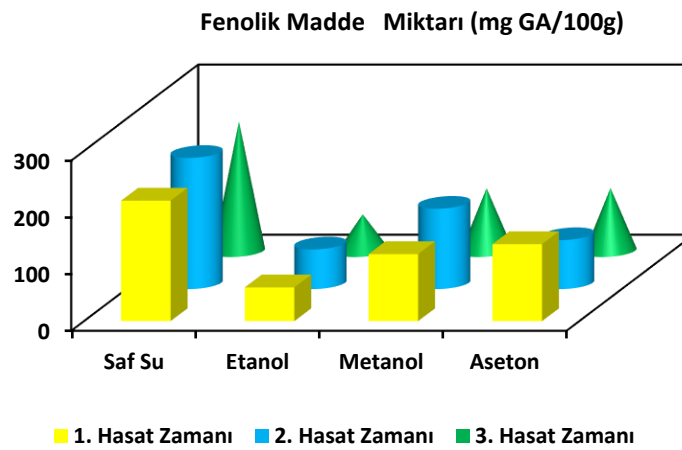
İstatistiksel veriler

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri COSTAT (sürüm 6.03) paket programı ile çoklu karşılaştırma testleri ise LSD testine göre yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Çalışma bulgularına göre hasat zamanı, çözücü ve hasat zamanı × ekstraksiyon çözücüsü interaksiyonunun toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi istatistiki olarak %5 oranında önemli görülmüştür. Hasat zamanı bulgularına göre en yüksek değer 132.30 mg GA/100g ile 2. hasat zamanından, en düşük değer ise 128.46 mg GA/100g ile 3. hasat zamanından elde edilen çiçek örneklerinde tespit edilmiştir. Çözücü uygulamalarına göre en yüksek değer 224.05 mg GA/100g ile saf su ekstraksiyonundan, en düşük değer ise 64.59 mg GA/100g ile etanol ile ekstrakte edilen örneklerden elde edilmiştir. Hasat zamanı × ekstraksiyon çözücüsü interaksiyonunda en yüksek değer 231.32 GA/100g ile HZ₂ × EÇ₁ interaksiyonundan elde edilmiştir. HZ₃ × EÇ₁ interaksiyonu ile istatistiksel olarak fark görülmemiştir (Tablo 3, Şekil 1). Ayçiçeğinde

farklı hasat zamanlarının toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerine önemli etkilerinin olduğunu, toplam fenolik madde miktarı, tomurcuklanma-çiçeklenme başı-tam çiçeklenme sürecinde gittikçe arttığını ancak tam çiçeklenmeden sonraki hasatlarda azaldığını ayrıca toplam antioksidan aktivitenin tam çiçeklenmede en yüksek, çiçeklenme başlangıcında ise en düşük değeri aldığını bildirmişlerdir [17]. Farklı bitkilerle yapılan çalışmalarda hasat zamanının uzamasına bağlı olarak toplam fenol, flavonoid ve antioksidan aktivite değerlerinde düşüşlerin gözlemlendiği bildirilmiştir [18, 19, 20, 21, 22].

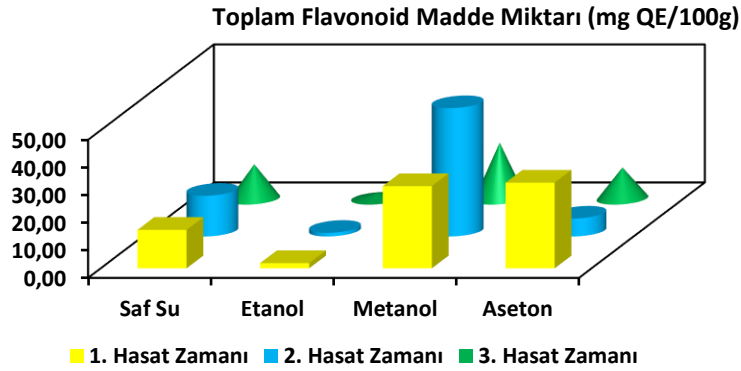


Şekil 1 Farklı hasat zamanı ve ekstraksiyon çözücülerinin aspir çiçeklerinin toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi

Fig 1 The effect of different harvesting times and extraction solvents on the total phenolic content of safflower flowers

Hasat zamanı, ekstraksiyon çözücüsü ve hasat zamanı × ekstraksiyon çözücüsü interaksiyonunun toplam flavonoid madde miktarı üzerine istatistiksel olarak %5 oranında önemli etkisi görülmüştür. Hasat zamanı verilerine göre en yüksek değer 19.15 mg QE/100g ile 1. hasat zamanından, en düşük değer ise 11.40 QE/100g ile 3. hasat zamanından elde edilen çiçek örneklerinde tespit edilmiştir. Çözücü uygulamalarına göre en yüksek değer 32.15 mg QE/100g ile metanol ekstraksiyonundan, en düşük değer ise 1.69 mg QE/100g ile etanol ekstraksiyonundan elde edilmiştir. Hasat zamanı × ekstraksiyon çözücüsü interaksiyonunda en yüksek değer 46.49 QE/100g ile 2. Hasat zamanında elde edilen çiçeklerin metanol ile ekstraksiyonundan tespit edilmiştir. (Tablo 3, Şekil 2). *Vaccinium vitisidaea* L. bitkisinin farklı organlarından (kök, yaprak, meyve) farklı zamanlarda yaptıkları hasatlarda yaprak örneklerinde, hasat zamanının uzamasına

bağlı olarak toplam fenol ve toplam antioksidan aktivitede azalmaların olduğu ancak diğer organlarda aynı durumun olmadığını belirtmişlerdir [23]. *Lycopus lucidus* bitkisinde hasat zamanlarının gecikmesine bağlı olarak toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitenin azaldığı, fenolik içerikler açısından ise bazı komponentlerin artarken bazılarının ise azaldığı tespit edilmiştir [24].

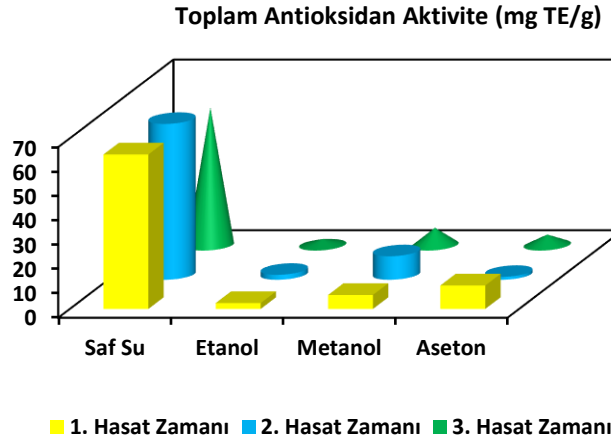


Şekil 2 Farklı hasat zamanı ve ekstraksiyon çözücülerinin aspir çiçeklerinin toplam flavonoid madde miktarı üzerine etkisi

Fig 2 The effect of different harvesting times and extraction solvents on the total flavonoid content of safflower flowers

Toplam antioksidan aktivite miktarı üzerine hasat zamanı, ekstraksiyon çözücüsü ve hasat zamanı \times ekstraksiyon çözücüsü interaksiyonunun etkisi istatistiki olarak %5 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Hasat zamanı verilerine göre, en yüksek toplam antioksidan aktivite 20.30 mg TE/g ile 1. hasat zamanından, en düşük değer ise 17.51 mg TE/g ile 3. hasat zamanında elde edilen çiçeklerde görülmüştür. Çözücü uygulamalarına göre en yüksek değer 61.25 mg TE/g ile su ekstraksiyonundan, en düşük değer ise 2.28 mg TE/g ile etanol ekstraksiyonundan tespit edilmiştir. Hasat zamanı \times ekstraksiyon çözücüsü interaksiyonunda en yüksek değer 63.94 mg TE/g ile 2. hasat zamanı aspir çiçeklerinin su ile ekstrakte edilen örneklerinden elde edilmiş ve HZ₁ \times EÇ₁, HZ₃ \times EÇ₁ interaksiyonları ile istatistiki olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 3, Şekil 3). Bazı araştırmacılar ise yaptıkları çalışmalarında hasat zamanının uzamasına bağlı olarak toplam fenol, flavonoid ve antioksidan aktivitenin değişmediğini, dalgalı sonuçlar verdiğini tespit etmişlerdir [25, 26]. Literatürler incelendiğinde, bitkilerde toplam fenolik, flavonoid ve antioksidan aktivite miktarlarının hasat zamanlarına göre değişime uğradıkları anlaşılmaktadır. Bu farklılıkların ana nedenlerinin; kullanılan çeşit veya popülasyonların genetik farklılığı, lokasyon, çevresel stres durumları, bitkinin

gelişim aşaması, hasat saatleri ve hangi organdan örnek alındığı gibi etkenler olduğu sonucuna varılmış ve önceki çalışma verilerinin sonuçlarımızla uyum gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 3 Farklı hasat zamanı ve ekstraksiyon çözücülerinin aspir çiçeklerinin toplam antioksidan aktivite üzerine etkisi

Fig 3 Effect of different harvesting times and extraction solvents on total antioxidant activity of safflower flowers

Farklı bitkilerle yapılan çalışmalarda toplam fenol, flavonoid ve antioksidan aktivite değerlerinin çözücülere bağlı olarak değiştiği her bitki ve elde edilecek içerik için farklı çözücü kullanılması gerektiği belirtilmiştir [7, 27, 28]. Beslenme veya tedavi amaçlı kullanılan bitkilerden yüksek seviyede fayda sağlanabilmesi için ilk aşamanın fitokimyasalların en uygun ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilmesi gerektiği ortaya konulmuştur [29].

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda çözücü kimyasalların yapı ve partikül boyutu, ekstraksiyonun metodu, ortamda bulunan ve fenolik bileşiklerle etkileşime girebilecek özellikteki maddelerden (proteinler, karbonhidratlar vb.) etkilenmektedir.

Tablo 3 Farklı hasat zamanı ve ekstraksiyon çözücülerinin aspir çiçeklerinin bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

Table 3 The effects of different harvesting times and extraction solvents on some biochemical parameters of safflower flowers

UYGULAMALAR		Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GA/100g)	Toplam Flavonoid Madde Miktarı (mg QE/100g)	Toplam Antioksidan Aktivite (mg TE/g)
Hasat Zamanı (HZ)	Ekstraksiyon Çözücüsü (EÇ)			
HZ ₁	EÇ ₁	212.39 b	13.92 e	63.39 a
	EÇ ₂	59.54 h	1.89 i	2.44 cd
	EÇ ₃	118.29 d	29.78 c	5.75 bc
	EÇ ₄	135.79 c	31.03 b	9.64 b
ort		131.5 AB	19.15 A	20.30 A
HZ ₂	EÇ ₁	231.32 a	14.75 e	63.94 a
	EÇ ₂	69.89 g	1.32 i	2.03 cd
	EÇ ₃	141.68 c	46.49 a	9.64 b
	EÇ ₄	86.32 f	6.49 h	1.18 d
ort		132.30 A	17.26 B	19.19 AB
HZ ₃	EÇ ₁	228.46 a	12.36 f	56.44 a
	EÇ ₂	64.36 gh	1.89 i	2.38 cd
	EÇ ₃	110.25 e	20.18 d	7.00 bc
	EÇ ₄	110.79 e	11.20 g	4.22 cd
ort		128.46 B	11.40 C	17.51 B
Ekstraksiyon Çözücüsü	EÇ ₁	224.05 A	13.67 C	61.25 A
	EÇ ₂	64.59 D	1.69 D	2.28 C
	EÇ ₃	123.40 B	32.15 A	7.46 B
	EÇ ₄	110.96 C	16.24 B	5.01 BC
HZ (LSD %5)		3.75 *	0.38 *	2.39 *
EÇ (LSD %5)		4.33 *	0.44 *	2.76 *
HZ × EÇ (LSD %5)		13.01 *	1.34 *	8.28 *
VK (Varyasyon Katsayısı)		3.41	2.88	14.93

* LSD testine göre %5 önemli. Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasında %5 seviyesinde herhangi bir fark yoktur. Aynı sütunda aynı büyük koyu harfle gösterilen ortalamalar arasında %5 seviyesinde herhangi bir fark yoktur. Aynı sütunda aynı italik büyük harfle gösterilen ortalamalar arasında %5 seviyesinde herhangi bir fark yoktur.

Fenoliklerin çözünlülüğü kullanılan solvent türü, fenoliklerin polimerizasyon derecesi ve diğer bileşenlerle çözünmez nitelikte kompleksler oluşturması, ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı, örnek:solvent oranı gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle bitkisel materyallerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için tamamen uygun bir ekstraksiyon prosedürü bulunmamaktadır. Metanol, etanol, aseton, su, etilasetat ve

bunların uygun oranlarda kombinasyonları fenolik bileşen ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır [27].

Sonuç

Çalışma sonucunda hasat zamanına göre toplam flavonoid madde miktarı ve toplam antioksidan aktivite değerleri en yüksekten en aza doğru $HZ_1 > HZ_2 > HZ_3$ şeklinde sıralanırken, toplam fenolik madde miktarları ise $HZ_2 > HZ_1 > HZ_3$ şeklinde sıralanmıştır. Çözücülere göre toplam fenolik madde miktarı ve toplam antioksidan aktivite değerleri saf su > metanol > aseton > etanol şeklinde sıralanırken, toplam flavonoid madde miktarı değerleri ise metanol > aseton > saf su > etanol şeklinde sıralanmıştır. En yüksek toplam flavonoid madde miktarı ve antioksidan aktivite için en uygun hasat zamanının HZ_1 olduğu, toplam fenolik madde miktarı için ise HZ_2 olduğu tespit edilmiştir. Çözücüler göz önüne alındığında en yüksek toplam fenolik madde miktarı ve toplam antioksidan aktivite için en uygun çözücünün saf su olduğu, toplam flavonoid madde miktarı için ise metanol olduğu tespit edilmiştir. Sonraki çalışmalarda farklı çözücülerin denenmesi ve çalışılan çözücülerin birbirleriyle farklı oranlarda karıştırılarak ekstraksiyonda kullanılması tavsiye edilmektedir.

Kaynakça

1. Oksana, S., et al., Plant phenolic compounds for food, pharmaceutical and cosmetics production. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2012. 6(13): p. 2526-2539.
2. Demircan, G. and Dıraman, E. Demircan, S Kalp Hastalıklarında Stresin Rolü. *Türk Kardiyoloji Derneği*, 2005. 33(8): p. 488-492.
3. Kuşoğlu, E., Aspir (*Carthamus tinctorius* L) bileşiklerinin ve antioksidan aktivitesinin tayini. İstanbul Aydın Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 2015.
4. Shirwaikar, A. and Khan. S, Medicinal plants for the management of post menopausal osteoporosis: A review. *Open Bone Journal*, 2010. 2: p. 1-13.
5. Gomashe, S. S., et al., Safflower (*Carthamus tinctorius* L.): An underutilized crop with potential medicinal values. *Annals of Phytomedicine*, 2021. 10(1): p. 242-248.
6. Knowles, P.F. and Ashri. A, In: Smartt, J., Simmonds, N.W., eds. *Evolution of crop plants*. 2nd ed. Harlow, UK: Longman, 1995. P. 47-50.
7. Salem, N., et al., Variation in phenolic composition and antioxidant activity during flower development of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011. 59(9): p. 4455-4463.
8. Ao, H., Feng. W, and Peng. C, Hydroxysafflor yellow A: a promising therapeutic agent for a broad spectrum of diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018. p. 1-17.
9. Kizil, S., et al., Comprehensive Study on Safower (*Carthamus Tinctorius* L.) i Semi-Arid Conditions. *Biotechnology and Biotechnology Equipment*, 2008. 22: p. 947-953.

10. Mohammadi, M., and Tavakoli, A, Effect of harvest time of spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.) florets on the production of red and yellow pigments. *Quality Assurance Safety of Crops and Foods*, 2015. 7: p. 581–588.
11. Caliskan, S. and Caliskan. M.E, Row and plant spacing effects on the yield and yield components of safflower in mediterranean-type environment. *Turkish Journal of Field Crops*, 2018. 23: p. 85–92.
12. Kanehira, T., et al., Decomposition of carthamin in aqueous solutions: influence of temperature, pH, light, buffer systems, external gas phases, metal ions, and certain chemicals. *Zeitschrift für Lebensmittel- Untersuchung und -Forschung*, 1990. 190 (4): p. 299-305.
13. Steberl, K., et al., Effect of Row Spacing, Sowing Density, and Harvest Time on Floret Yield and Yield Components of Two Safflower Cultivars Grown in Southwestern Germany. *Agronomy*, 2020. 10(5): p. 664.
14. Obanda, M., Owuor. P. O, and Taylor. S. J, Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1997. 74 (2): p. 209-215.
15. Quettier-Deleu, C., et al., Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of ethnopharmacology*, 2000. 72(1-2): p. 35-42.
16. Lutz, M., et al., Phenolics and antioxidant capacity of table grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars grown in Chile. *Journal of Food Science*, 2011. 76 (7): p. 1088-1093.
17. Gai, F., et al., Sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants at various growth stages subjected to extraction comparison of the antioxidant activity and phenolic profile. *Antioxidants*, 2020. 9(6): p. 535.
18. Güzel, A., *Satureja hortensis* L. Bitkisinin Antioksidan Kapasite ve Fenolik Bileşik Kompozisyonu Üzerine Lokasyon ve Hasat Zamanının Etkilerinin Araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Tokat. 2016.
19. Tomsone, L. and Kruma. Z, Influence of harvest time on the phenolic content of horseradish leaves. In *Baltic Conference on Food Science and Technology*, 2017. p. 45-50.
20. Esmaeili, H., Karami. A, and Maggi. F, Essential oil composition, total phenolic and flavonoids contents, and antioxidant activity of *Oliveria decumbens* Vent. (Apiaceae) at different phenological stages. *Journal of cleaner production*, 2018. 198: p. 91-95.
21. Sun, P., et al., Phytochemical Changes in Aerial Parts of *Hypericum perforatum* at Different Harvest Stages. *Records of Natural Products*, 2019. 13: p. 1-9.
22. Grimalt, M., et al., Antioxidant Activity and Bioactive Compounds Contents in Different Stages of Flower Bud Development from Three Spanish Caper (*Capparis spinosa*) Cultivars. *The Horticulture Journal*, 2019. 88(3): p. 410-419.
23. Bujor, O. C., et al., Phenolic compounds and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) leaf, stem and fruit at different harvest periods. *Food chemistry*, 2018. 252: p. 356-365.
24. Lu, Y., et al., Variation in nutritional compositions, antioxidant activity and microstructure of *Lycopus lucidus* Turcz. root at different harvest times. *Food chemistry*, 2015. 183: p. 91-100.
25. Németh-Zámbriné, É., Seidler-Lozykowska. K, and Szabo. K, Effect of harvest date on yield and secondary compounds of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 2019. 92: p. 81-87.
26. Ribeiro, D. A., et al., Influence of seasonal variation on phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Secondatia floribunda* A. DC. (Apocynaceae). *Food chemistry*, 2020. 315: p. 126277.
27. Çoklar, H. and Akbulut. M, Aliç (*Crataegus orientalis*) meyvesinin antioksidan aktivitesi ve fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonu üzerine farklı çözenlerin etkisi. *Derim*, 2016. 33(2): p. 237-248.

28. Bursal, E., et al., Phenolic content, antioxidant potentials of *Saponaria prostrata* endemic plant. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2021. 5(1): p. 1-8.
29. Dai, J. and Mumper. R. J, Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 2010. 15(10): p. 7313-7352.