

Gözde ELGİN CEBE¹
Sibel KONYALIOĞLU²
Ulvi ZEYBEK¹

¹ Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik
Botanik Anabilim Dalı 35100 Bornova, İzmir,
e-posta: gozde.elgin@ege.edu.tr
² Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya
Anabilim Dalı 35100 Bornova, İzmir

***Olea europaea* var. *europaea* (Zeytin) Yaprak İnfüzyonunun Antioksidan Etkisi**

Antioxidant activity of *Olea europaea* var. *europaea* leaves
infusion

Alınış (Received): 04.06.2012

Kabul tarihi (Accepted)25.06.2012:

Anahtar Sözcükler:

Olea europaea var. *europaea*, zeytin
yaprakları, antioksidan kapasite

Key Words:

Olea europaea var. *europaea*, olive
leaves, antioxidant capacity.

ÖZET

Bu çalışmada *Olea europaea* var. *europaea* bitkisi araştırma materyali olarak seçilmiştir. Bu taksonun yaprak infüzyonu antioksidan etki açısından TEAC (Trolox Eşdeğerli Antioksidan Kapasite), DPPH^{*} radikal toplama (DPPH-RT) ve fosfomolibden kompleks indirgeme (FKİ) yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. İnfüzyon, standart olarak kullanılan butillenmiş hidroksitoluen (BHT) ile kıyaslandığında anlamlı derecede antioksidan etki göstermiştir.

ABSTRACT

O*lea europaea* var. *europaea* was chosen as experimental material in this study. Infusion of the leaves of this taxa was tested for antioxidant activity using the TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), DPPH^{*} radical scavenging and reduced phosphomolybdenum complex methods. The infusion showed relevant antioxidant activity compared with using of standart BHT.

GİRİŞ

Oleaceae familyası dünyada geniş yayılış gösteren, 29 cins ve yaklaşık 600 türle temsil edilen bir familyadır. Bu familyanın önemli bir üyesi olan *Olea europaea* 10-15 m boyunda, geniş taçlı, gövdesi çoğunlukla boğumlu, dalları dikensiz ağaç veya 2-5 m boyunda, dalları sık ve dikenli olan çalı formundadır. Yapraklar hemen hemen sapsız, lanseolat veya obovat, 8-86 x 4-24 mm boyunda, mukronat, tepelerde koyu yeşil ve tüysüz, alt kısımlarda gümüşü gri renktedir. Çiçek durumu panikula ve yapraklardan daha kısa; çiçekler beyaz renkli, güzel kokulu ve 3-4 mm boyundadır. Meyve, yuvarlağa yakın veya oblong şekilli, 6-40 x 5-25 mm boyunda, olgunken siyah, kahverengimsi yeşil veya nadiren fildişi-beyaz renkli drupadır. Bitkinin çiçeklenme zamanı Mayıs ayıdır (Yaltırık 1978).

Bir teoriye göre, zeytin ağacının anavatanının Suriye ve Güneydoğu Anadolu'yu da içine alan

Güneybatı Asya ve Yukarı Mezopotamya olduğu bildirilmiştir (Ergülen 2002).

Türkiye Florası'nda tek *Olea* türü ve bu türün iki varyetesi kayıtlıdır. Bunlar: *Olea europaea* L. var. *europaea* Zhukovsky (Syn: *Olea europaea* L. var. *sativa* Lehr, *Olea sativa* Hoffmanns. & Link) ve *Olea europaea* L. var. *sylvestris* (Miller) Lehr. (Syn: *Olea sylvestris* Miller, *Olea europaea* L. var. *oleaster* (Hoffmanns. & Link DC.)'dir.

Olea europaea var. *europaea*: Bu varyete kültürü yapılan zeytindir. Yapraklar lanseolat ve 4 cm'den uzundur. Meyve büyüktür (35 mm'ye kadar). Akdeniz Bölgesi'nin tipik bir elemanıdır. Ülkemizde Çanakkale, Tekirdağ, Balıkesir, İstanbul, Bursa, Kocaeli, Bilecik, Samsun, Giresun, Trabzon, Çoruh, Manisa, İzmir, Aydın, Denizli, Muğla, Burdur, Isparta, Antalya, İçel, Konya, Adana, Hatay, Gaziantep, Kahramanmaraş, Adıyaman, Urfa, Mardin ve Ege Adaları'nda yetişmektedir (Yaltırık 1978).

Olea europaea var. *sylvestris*: Yapraklar obovat ve 4cm'den kısadır. Meyve küçüktür (15mm'ye kadar). Akdeniz elementidir. Güney Fransa, İtalya ve İspanya kökenlidir. Ülkemizde Balıkesir, Kocaeli, Eskişehir, Samsun, Amasya, Trabzon, Çoruh, Manisa, Muğla, Antalya, İçel, Adana ve Ege Adaları'nda doğal yayılış göstermektedir (Yaltırık 1978).

Bitkinin oleuropein, oleozit-7,11-dimetiler, ligustrozit, oleurozit ve kornozit gibi iridoitler; 2(3,4-dihidroksifenil) türevi ve digalaktozil, diaçilgliserol türevi glikozitler; tirozol, dihidroksitirozol; oleanolik asit, ursolik asit, betulik asit, maslinik asit, eritrodiol ve uvaol yapısında triterpenler; apigenin, apigenin-4'-O-ramnozilglukozit, apigenin-7-O-glukozit, luteolin, luteolin-4'-O-glukozit, luteolin-7-O-glukozit, krizoeriyol, krizoeriyol-7-O-glukozit ve kersetin-3-O-ramnozit yapısında flavonoidler; olivin ve olivin-4'-O-diglukozit gibi kalkan yapısında bileşikler taşıdığı saptanmıştır (PDR 2007; Kartal 2011).

Olea europaea bitkisinin kayıtlı olduğu farmakope ve monograflar Avrupa Farmakopesi, Martindale, Komisyon E Monografları, PDR Bitki Monografları ve FFD Monografları'dır.

Zeytin yapraklarından hazırlanan preparatlar antihipertansif ve diüretik olarak kullanılmaktadır. Ayrıca ateş düşürücü olarak ve diyabette de kullanımı mevcuttur. Sikatrizan bir ajan olarak UV radyasyonu ile oluşan deri hasarında ve yara iyi edici amaçla kullanıldığı bilinmektedir (PDR 2007; Kartal 2011). Zeytinyağı ve zeytin yaprağındaki fenolik bileşikler oksidatif stres ve foto-oksidatif strese karşı içerdiği antioksidanlar nedeniyle cildi koruyan dermokozmetik preparatların terkiibine girmiştir (Chatzopoulou 2008; Kartal 2011). Zeytin yaprağı ve ekstresini içeren birçok farklı ticari preparat piyasada bulunmaktadır. 7-8 g yaprak 150 ml sıcak suyla demlenmek suretiyle infüzyon şeklinde hazırlanarak günde 3-4 kez içilmekte, zeytin yaprağı ekstresi ise günde 580 mg kapsül veya 150 mg tablet şeklinde alınmaktadır (PDR 2007; Kartal 2011).

Ülkemizde zeytin yapraklarından hazırlanan %5'lik infüzyon, halk arasında dahilen aperitif, diüretik, antipiretik, antidiyabetik olarak, haricen ise yara pansumanında kullanılmaktadır (Baytop 1999). Ayrıca, yapraklarından hazırlanan dekoksasyon dahilen yüksek tansiyonun, kan şekerinin ve kolesterolün düşürülmesi amacıyla kullanılmaktadır. Meyveleri ve çekirdekleri ezilerek, haricen romatizma tedavisinde, ağrı ve şişliklerin giderilmesinde kullanılmaktadır (Tuzlacı 2001). Meyvelerinden elde edilen sabit yağ ise dahilen laksatif ve safra söktürücü, haricen yumuşatıcı ve yatıştırıcı olarak kullanılmaktadır (Baytop 1999).

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmamızda *Olea europaea* var. *europaea* bitkisi araştırma materyali olarak seçilmiştir. Bu türün yaprak infüzyonu antioksidan etki açısından TEAK (Trolox Antioksidan Kapasite), DPPH* radikal toplama (DPPH*-RT) ve fosfomolibden kompleks indirgeme (FKİ) yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.

Bitki örnekleri Ekim 2011 tarihinde İzmir Bornova'dan toplanmış olup, İZEF Herbaryumu'nda kayıtlıdır.

Yöntem

Zeytin Yaprığına Ait İnfüzyon Örneklerinin Hazırlanması

Toplanan zeytin yaprakları 31°C'de 5 gün süreyle etüvde bekletilmiştir. Kuruyan yapraklar daha sonra toz haline getirilerek drog hazırlanmıştır. Hazırlanan drogdan 1mg/ml olacak şekilde tartılan toz 90°C'lik sıcak su ile karıştırılmış ve 5 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte kalan berrak sıvı analizlerde kullanılmıştır (Auddy 2002).

Antioksidan Aktivite Tayinleri

Antioksidan aktivitenin araştırılması için 3 yöntem kullanılmıştır:

TEAK Yöntemi

Bu yöntemde, ortamda bulunan ABTS*+ radikalinin 734 nm dalga boyunda absorbanı sabitlendikten sonra, ortama ilave edilen örnekteki antioksidanların etkisiyle, absorbansta meydana gelen düşüş kolorimetrik olarak tayin edilmek suretiyle antioksidan kapasite tayini yapılmaktadır (Re 1999). Stok ABTS çözeltisindeki ABTS'nin potasyum persülfat ile oksidasyonu sonucu 734 nm'de maksimum absorbanı gösteren mavi/yeşil kromofor ABTS*+ radikali meydana gelmektedir. Radikalın absorbanı 30°C'de 12-16 saat içinde sabitlenmekte ve iki gün süreyle stabil kalmaktadır. Ancak ortamda hidrojen verici antioksidanların bulunması ile radikal indirgenmeye başlamakta ve radikal katyonun absorbsiyonunda zamana bağlı olarak düşüş olmaktadır. Bu düşme, "yüzde inhibisyon" olarak ifade edilmekte ve aynı koşullar altında yapılan bir çalışma ile çizilen trolox standart eğrisinden hareketle TEAK tayini yapılmaktadır (Re 1999).

$$\% \text{inhibisyon} = (A_{\text{ABTS}_{\bullet+}} - A_{\text{6. dk}}) \times 100 / A_{\text{ABTS}_{\bullet+}}$$

$A_{\text{ABTS}_{\bullet+}}$: ABTS*+nin 734 nm'deki absorbanı (0.700 ± 0.02)

A₆ dk: ABTS^{•+}'nin örnek ilavesinden sonraki 6. dakikada okunan absorbansı

Her örnek üçer kere çalışılmıştır. Trolox standart eğrisinde % inhibisyon değerlerinin karşılık geldiği trolox eşdeğer konsantrasyonu belirlenmiştir. Sonuçlar, seyreltme faktörü hesaba katılarak "mmol trolox eşdeğerliği/L" olarak verilmiştir (Çizelge 1).

DPPH[•]-RT yöntemi

DPPH[•] (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikalinin ortamdan antioksidan maddelerce yok edilme özelliğine dayandırılarak hazırlanmış bir yöntemdir (Kambouche, 2008). Bir tüpün içine 0.1 mM DPPH radikalinden 3 ml alınmış ve üzerine 20-80 µL infüzyon çözeltisi ilave edilerek 30 dakika karanlıkta bekletilmiştir. İnfüzyon ilave edilmemiş DPPH, standart olarak kabul edilmiştir. İnfüzyon için spektrofotometrede 517 nm'de metanol körüne karşı ölçümler alınmıştır.

% inhibisyon ya da % radikal çöppçüleme aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmış ve Çizelge 1'de sunulmuştur:

$$\%RSA=100 \times (1-A_E/A_D)$$

A_E: İnfüzyon eklendiğinde ölçülen absorbans değeri

A_D: DPPH[•]'in absorbans değeri

FKİ yöntemi

Antioksidan güç, molibden-VI'nın (sarı) molibden-V'e indirgenmesi sonucu oluşan yeşil rengin 695nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır (Prieto 1999). Bir tüpe 1ml örnek belirteci (28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat olacak şekilde 0.6 M sülfürik asitte çözündürülerek hazırlanmış) ve 100 µL antioksidan kapasitesi ölçülecek infüzyon çözeltisi ilave edilerek, 90°C'de 90 dakika süreyle elektrikli tüp ısıtıcısında bekletilmiştir. Soğutulduktan sonra kör tüpüne (1 ml belirteç+100 µL distile su) karşı spektrofotometrede ölçüm yapılmıştır.

Örnekler üçer kez ölçülmüştür. E vitamini standart eğrisinde % inhibisyon değerlerinin karşılık geldiği E vitamini eşdeğer konsantrasyonu belirlenmiştir. Sonuçlar, seyreltme faktörü hesaba katılarak "µM α-tokoferol asetat eşdeğerliği" olarak verilmiştir. Her üç ölçümün ortalaması alınmış, sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Çizelge 1. Antioksidan Aktivite Sonuçları
Table 1. Antioxidant Activity Results

	TEAK (mM trolox eşdeğerliği/L)	% DPPH [•] -RT	FKİ (µM α-tokoferol asetat eşdeğerliği)
Yaprak infüzyonu (1 mg/ml)	5.927±0.298	39.090±0.121	44.665±0.489
BHT (1mg/ml)	8.840±0.310	78.990±0.250	66.06±0.587

Her yöntemle ait sonuçlar ortalama±standart hata şeklinde ifade edilmişlerdir. Ölçüm sayısı: 3'tür.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Dünyada yaklaşık olarak 750.000-1.000.000 bitki türü doğal yayılış göstermektedir. Ülkemiz, coğrafi konumu, jeolojik yapısı ve farklı iklim bölgeleri nedeniyle 10.000'den fazla bitki türünün doğal olarak yetiştiği, zengin bir floraya sahip ender ülkelerden olup, pek çok türün de kültürü yapılmaktadır. Bunların içinde önemli oranda tıbbi bitki bulunmaktadır (Seçmen 1995).

İnsanlar bitkileri önceleri sadece gıda olarak, daha sonraları ise pek çok amacın yanı sıra çeşitli hastalıklarda tedavi amacıyla kullanmışlardır. Bitkilerin iyileştirici etkilerinin bulunduğu ilişkin bilgiler, insanlığın çok eski devirlerine kadar uzanmaktadır.

Buna dair ilk yazılı kanıtlar 5.000 yıl öncesindeki Çin, Hint ve Yakındoğu medeniyetlerine aittir (Tanker 2004).

Günümüzde ise, hastalıkların tedavisinde bitkisel kaynaklı ilaçların kullanımı giderek çoğalmış, konuyla ilgili bilim alanları ve araştırmalar büyük önem kazanmıştır. Bir yandan hastalıkların tedavisinde yeni olanaklar araştırılırken, diğer yandan da hastalıkları önleme ve sağlıklı bir yaşam sürme yolunda yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bu alandaki en yoğun çalışmalar da beslenme üzerinde sürmektedir.

Tıbbi bitkilerin gün geçtikçe daha fazla tercih edilmesinin başlıca sebepleri arasında, tedavide sentetik ilaçlara destek vermesinin yanı sıra geleneksele olan eğilim, bir bitkinin birden fazla

etkisinin bulunması ve tıbbi bitkilerin yeni formlarda sunulması gibi faktörler etken olmaktadır.

Antioksidanlar, vücut hücreleri tarafından üretildiği gibi, gıdalarla da alınan bir grup kimyasal maddedir. Antioksidanlar, hücrelere zarar veren serbest radikalleri etkisiz hale getirerek, kanser dahil pek çok hastalığı ve erken yaşlanmaya neden olabilecek zincir reaksiyonları önleyen moleküllerdir. Bu moleküllerin vücutta gerekli seviyelerde bulunabilmesi için, yüksek oranda antioksidan içeren çay, meyve, sebze gibi besinler alınması tavsiye edilmektedir.

Yapılan *in vitro* bir çalışmada, zeytin yaprağı ekstresinin ve ekstrenin içerdiği fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, ABTS radikali kullanılarak araştırılmış ve en yüksek aktiviteyi rutozitin gösterdiği saptanmıştır (Benavente 2000).

Antioksidan ve kolesterol düşürücü etki üzerine yapılan *in vivo* bir çalışmada ise; oleuropein, oleuropein aglikonu ve hidroksi tirozol ile zenginleştirilmiş zeytin yaprağı ekstralarının etkileri Wistar fareleri üzerinde kontrollü deneyler ile araştırılmıştır. Sonuçlar oleuropein, oleuropein aglikonu ve hidroksi tirozolün kolesterol düşürücü etkilerinin total kolesterol, trigliserit ve düşük dansiteli lipoprotein kolesterol değerlerini düşürmelerine bağlı olmasının yanı sıra lipid peroksidasyon sürecini yavaşlatmaları ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırmalarına da bağlı olduğunu göstermiştir (Jemai 2008).

KAYNAKLAR

- Auddy B., Ferreira M., Blasina F., Lafon L., Arredondo F., Dajas F., Tripathi P.C., Seal T. and B. Mukherjee. 2002. Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 84:131-138.
- Baytop T. 1999. Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi (Geçmişte ve Bugün) (İlaveli 2. baskı). Nobel Tıp Kitapevleri, 369 s.
- Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Ortuno A. and A. Del Rio. 2000. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, 68: 457-462.
- Chatzopoulou S., Kintziou H. and S.T. Plessas. 2008. Olive oil and the skin as integumentary, *Epitheor. Klin. Farmakol. Farmakokin.*, 26: 97-100.
- Ergülen E., Özkaya M.T., Ülger S. and N. Özilbey. 2002. Identification of some Turkish olive cultivars by using RAPD-PCR technique. *Acta Horticulturae.*, 1: 586.
- Jemai H., Bouaziz M., Fki I., El Feki A. and S. Sayadi. 2008. Hypolipidemic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. *Chemico Biological Interactions*, 176: 88-98.
- Kaiser A., Brinkmann M., Carle R. and D.R. Kammerer. 2012. Influence of thermal treatment on color, enzyme activities, and antioxidant capacity of innovative pastelike parsley products. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 60(12): 3291-3301.
- Kambouche N., Merah B., Bellahouel S., Bouayed J., Dicko A., Derdour A., Younos C. and R. Soulimani. 2008. Chemical composition and antioxidant potential of *Ruta montana* L. essential oil from Algeria. *Journal of Medicinal Food*. 11 (3): 593-595.
- Kartal M. ve M. Yüzbaşıoğlu. 2011. *Olea europaea*. FFD Monografıları (Tedavide Kullanılan Bitkiler) (Ed. Ö. Demirezer). Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 443-449 s.
- PDR for Herbal Medicines. 2007. Vol 2. 4th ed. Thomson Healthcare Inc., Montvale, pages 556-557.
- Prieto, M. Pineda P. and M.Aguilar. 1999. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269: 337-341.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and C.R. Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (9/10): 1231-1237.
- Seçmen Ö., Gemici Y., Görk G., Bekat L. ve E. Leblebici. 1995. Tohumlu Bitkiler Sistematigi.. (4. Baskı). Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No:116, 283 s.
- Tanker N., Koyuncu M. ve M. Coşkun. 2004. *Farmasötik Botanik*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:88, 288 s.
- Tuzlacı E. and P. Eryasar Aymaz. 2001. Turkish folk medicinal plants Part IV: Gonen (Balıkesir). *Fitoterapia*, 72: 323-343.
- Yaltirik F. 1978. *Olea L.*, In: *Flora of Turkey and East Aegean Islands* (Ed: P.H. Davis), Vol 6., Edinburgh, pp. 155-156.