

Linum arboreum L. (Linaceae) Türünün Antioksidan İçeriği ve Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi

Gamze YILDIZ¹, Ceren AKTÜRK², Merve ÖZERKAN³, Özer YILMAZ⁴

Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Görükle Yerleşkesi, TR-16059 Nilüfer / BURSA

¹<https://orcid.org/0000-0001-6461-0850>, ²<https://orcid.org/0000-0003-0927-7308>, ³<https://orcid.org/0000-0001-9432-8549>,

⁴<https://orcid.org/0000-0003-1498-5827>

✉: gamze@uludag.edu.tr

ÖZET

Günümüzde, yapılan çalışmalar bitkilerin karotenoidler, pigmentler, fenoller ve flavonoidler gibi antioksidanlar bakımından zengin olduğunu göstermektedir. Bu nedenle çalışma *Linum arboreum* L. yaprak ve meyve metanolik özütlerinin serbest radikal süpürücü aktivitesini ve antioksidan içeriğini belirlemek için tasarlanmıştır. Bu amaçla çalışmada *L. arboreum* türünün 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radikal süpürme aktivitesi, 2,2'-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat) (ABTS) radikal süpürme aktivitesi, indirgeme gücü, toplam antioksidan, toplam fenol ve toplam flavonoid içerikleri belirlenmiştir. Her iki özütün antioksidan etkinliğini değerlendirmek için DPPH ve ABTS testlerinde IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlarımıza göre sırasıyla yaprak ve meyve için IC₅₀ değerleri DPPH analizinde 106.55 ± 1.20 µg ml⁻¹ ve 108.56 ± 2.65 µg ml⁻¹ iken, ABTS analizinde 1144.8 ± 38.44 µg ml⁻¹ ve 1114.7 ± 37.09 µg ml⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Yaprak ve meyve özütlerinin serbest radikal temizleme aktiviteleri istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmamıştır. Bununla birlikte meyve özütü ile kıyaslandığında, yaprak özütü önemli ölçüde daha yüksek toplam flavonoid ve toplam antioksidan içeriği göstermiştir. Sonuç olarak veriler *L. arboreum* türünün potansiyel bir doğal antioksidan kaynağı olarak değerlendirilebileceğini göstermiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 21.02.2019

Kabul Tarihi : 30.06.2019

Anahtar Kelimeler

ABTS

Antioksidan

DPPH

Linum arboreum

Linaceae

Free Radical Scavenging Activity and Antioxidant Contents of Linum arboreum L. (Linaceae)

ABSTRACT

Nowadays, in studies show that plants are rich in antioxidant such as carotenoids, pigments, phenols and flavonoids. Therefore, the present study was designed to evaluate the free radical scavenging activity and antioxidant content of methanol extract of leaf and fruit of *Linum arboreum* L. The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, 2,2'-azinobis (3-ethyl-bezotiazolin 6 sulfonat) (ABTS) radical scavenging activity, reducing power, total antioxidant, total phenolic and total flavonoid assay were carried out to evaluate the antioxidant potential of the methanolic extracts. The IC₅₀ values were calculated for the DPPH and ABTS assays in order to evaluate the antioxidant efficiency of each of the *L. arboreum* extracts. According to our results, IC₅₀ values for DPPH were 106.55 ± 1.20 µg ml⁻¹ and 108.56 ± 2.65 µg ml⁻¹ while IC₅₀ values for ABTS were 1144.8 ± 38.44 µg ml⁻¹ and 1114.7 ± 37.09 µg ml⁻¹ for the leaf and fruit extracts, respectively. Free radical scavenging activity of leaf and fruit extracts did not differ significantly from each other. However, leaf extract showed a significantly greater total flavonoid and total antioxidant contents compared to fruit extract. As a result, *L. arboreum* could be considered as a potential source of natural antioxidant.

Research Article

Article History

Received : 21.02.2019

Accepted : 30.06.2019

Keywords

ABTS

Antioxidant

DPPH

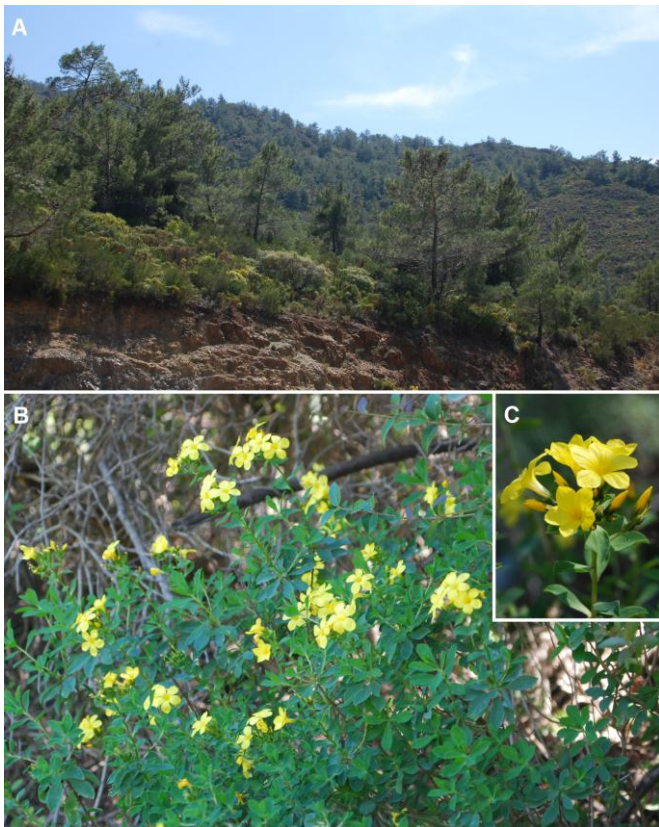
Linum arboreum

Linaceae

GİRİŞ

Linum L. (Keten) cinsi sahip olduğu 200 tür ile Linaceae (Ketengiller) ailesi içinde yer alan en büyük cinstir. Başta Akdeniz çevresi olmak üzere, Amerika ve Asya'nın ılıman ve subtropikal bölgelerinde yayılış göstermektedir (Melchior, 1964). Türkiye'de ise 43 türü bulunmakta olup bunların yaklaşık 1/3 yalnızca ülkemizde yetişen endemik türlerdir (Yılmaz, 2018).

L. arboreum Dünya'da yalnızca Güneybatı Anadolu'da ve Girit adasında yayılış göstermekte olup, ülkemizde Marmaris ve Datça arasında serpentin alanlarda yetişen ve nadir görülen bir türdür. Keten türleri içinde yaygın olan çok yıllık otsu türlerin aksine *L. arboreum* 2 metreye kadar boylanabilen odunsu gövdelere sahiptir. Çiçeklenme dönemi olan Mart-Nisan aylarında gösterişli büyük sarı çiçekleri (1.5-2.5 cm uzunluğunda) ve çoğunlukla koyu yeşil renkte olan genişçe taban ve gövde yaprakları (1-4 cm uzunluğunda) görülmekte olup Haziran-Temmuz aylarında ise olgun meyveleri toplanabilmektedir.



Şekil 1. *Linum arboreum* türünün doğadaki görünümü: A- Habitat, B- Genel görünümü, C- Çiçek durumu.

Linum cinsi içinde ekonomik önemi olan *L. usitatissimum* (keten) türü, Mezopotamya'da buğday ve arpa ile aynı zamanlarda kültüre alınmıştır. Keten tohumlarından elde edilen yağ beziryağı olarak da

isimlendirilmektedir. Bu yağ geçmişte kandil yağı, ağrı kesici ve öksürük söktürücü olarak kullanılmıştır (Ertuğ, 1998). Keten'in gövdesindeki lifler de dokumacılıkta kullanılmıştır (Baytop, 1999). Bu ekonomik önemi dışında *Linum* türlerinin çeşitli kısımları (kök, gövde, yaprak, çiçek, tohum) üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar ile lipid, flavonoid, antosiyan, müsilaj, pektin, steroller, enzimler ve lignanlar gibi çeşitli etken maddeler izole edilmiş olup özellikle lignan grubu içinde yer alan podofillotoksin ve türevlerinin önemli biyolojik aktivitelere (antitümör, antiviral, antibakteriyel gibi) sahip olduğu belirlenmiştir (Bahadır, 2003). Ancak, *Linum* türlerinin antioksidan potansiyelinin belirlendiği çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda *L. arboreum* türünün serbest radikal süpürücü aktivitesi ve antioksidan içerikleri belirlenerek, sentetik antioksidanlara alternatif olabileceği potansiyeli değerlendirilmiştir.

Metabolizma sırasında doğal bir süreç olan oksidasyon sonucunda, organizmada birçok hasara neden olan serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , H_2O_2). Bu radikaller eşleşmemiş elektron içerirler ve oldukça kararsızdırlar. Kararlı hale gelebilmek için başka moleküllerden elektron çalarak o molekülü okside ederler ve sonuçta başka bir serbest radikal oluşmasına neden olurlar (Gökpmar ve ark., 2006). Bu şekildeki zincirleme tepkimeler sonucunda serbest radikallerin artması; bağışıklık sisteminin zayıflamasına, diyabete, erken yaşlanmaya, kardiyovasküler hastalıklara hatta kanser ve alzheimer gibi çeşitli hastalıklara neden olmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Günümüzde reaktif oksijen moleküllerinin zararlı etkilerinden korunmak için gıda maddeleri içerisine antioksidan özelliğe sahip olan sentetik bileşikler [butillenmiş hidroksianizol (BHA), butillenmiş hidroksitoluen (BHT), tert bütül hidrokinon (TBHQ)] katılmaktadır. Ancak son zamanlarda sentetik antioksidanlar üzerinde yapılan çalışmalar, bu bileşiklerin de zararlı etkileri olduğunu ve fazla miktarlarda alındığında çeşitli hastalıklara zemin hazırladığını göstermektedir (Huang ve Wang, 2004). Bu nedenle araştırmacılar, son zamanlarda antioksidan içeriği yüksek olan doğal bitkisel kaynak arayışına girmişlerdir. Bu amaçla çalışmamızda *Linum arboreum* L. (çalketen) türünün antioksidan potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Örnek Toplanması ve Ekstraksiyonu

Linum arboreum türünün yaprak ve meyve örnekleri Marmaris – Datça arasından toplanmıştır [Muğla: Marmaris-Datça, deniz seviyesi, 36°45'K–27°54'D, 08.04.2017, Ö. Yılmaz 2018 (BULU)]. Laboratuvara

getirilen bitki örnekleri oda sıcaklığında kurutulduktan sonra, yaprak ve meyve kısımları ayrılmıştır. Kurutulan yaprak ve meyveler toz haline getirilmiş ve yaklaşık 15 g örnek 200mL metanol ile sokshlet cihazında 24 saat ekstre edilmiştir. Süre sonunda metanol döner evaporator'de 50°C sıcaklıkta tamamen uzaklaştırılmıştır. Kalan ham özüt analizler boyunca desikatorde saklanmıştır.

DPPH Radikal Süpürücü Aktivite

DPPH radikal süpürücü aktivite bazı modifikasyonlarla Blois (1958) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. 0.1M DPPH radikali ve farklı derişimlerdeki bitki özütleri (40, 50, 60, 80, 100, 200, 300 ve 400 µg mL⁻¹) metanol ile hazırlanmıştır. Eşit hacimde DPPH ve örnek karıştırılarak, 37°C'de ve karanlıkta inkübe edilmiştir. Kontrol örneğinde bitki özütü yerine metanol kullanılmıştır. Süre sonunda örneklerin 517nm'deki absorbanları metanole karşı okunmuştur. Aynı işlemler pozitif kontrol olarak kullanılan alfa-tokoferol, BHT, Troloks ve Kateşin için de yapılmıştır. Eşitlik 1. yardımıyla farklı derişimler için %inhibisyon verileri hesaplanmış ve bu veriler ile hazırlanan eğriden IC50 değeri (başlangıçtaki DPPH derişiminin % 50'sinin azalması için gerekli olan derişim) saptanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = ((A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}) \times 100 \quad (1)$$

A_{kontrol} ; kontrol örneğinin absorbanı, $A_{\text{örnek}}$; farklı derişimlerdeki *L. arboreum* yaprak ve meyve örnekleri ile pozitif kontrollerin absorbanı

ABTS Radikal Süpürücü Aktivite

ABTS radikal süpürücü aktivite Re ve ark., (1999) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. 7 mM ABTS ve 2.45 mM potasyum persülfat (K₂S₂O₈) eşit hacimde birleştirilerek 16 saat karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre sonunda çözelti 734 nm'de yaklaşık 0.700 absorban verecek şekilde metanol ile seyreltilmiştir. Bitki özütleri farklı derişimlerde (40-40 µg mL⁻¹) metanol ile hazırlanmıştır. Kontrol örneğinde bitki özütü yerine metanol kullanılmıştır. Deney karışımında 100 µL örnek ve 2.9 mL ABTS çözeltisi karıştırılmış ve 30 dk karanlıkta inkübe edilmiştir. Sonrasında metanole karşı 734 nm'deki absorbanları ölçülmüştür. Eşitlik 1. yardımıyla % inhibisyon hesaplanmıştır. % inhibisyon eğrisinden IC₅₀ değeri de hesaplanmıştır.

İndirgeme Gücü

L. arboreum örneklerinin indirgeme gücü Oyaizu (1986) tarafından önerilen metoda göre belirlenmiştir. 1mL farklı derişimlerdeki bitki özütü (40-40 µg mL⁻¹) üzerine 2.5 mL 0.2 M fosfat tamponu (pH: 6.6) ve

2.5 mL %1 K₃Fe(CN)₆ çözeltisi eklenmiş ve karışım 50°C'de 20dk karanlıkta inkübe edildikten sonra 2.5mL %10 TCA ilave edilerek reaksiyon sonlandırılmıştır. Deney karışımı 3000 g'de 10dk santrifüj edilmiştir. Sonrasında 1mL süpernatant, 1ml distile su ve 0.2 mL %0.1 FeCl₃ karıştırılarak oda sıcaklığında 15 dk bekletilmiştir. Süre sonunda 700 nm'deki absorbanları okunmuştur. Aynı işlemler pozitif kontrol olarak kullanılan alfa-tokoferol, BHT, Troloks ve Kateşin için de yapılmıştır. Yüksek absorban değerleri yüksek indirgeme gücü anlamına gelmektedir.

Toplam Fenolik Madde

Toplam fenol içeriği Singleton ve Rossi (1965) tarafından belirtilen metoda göre Folin-Ciocalteu ayracı kullanılarak belirlenmiştir. 250 µL metanolik bitki özütü 250 µL %50 Folin-Ciocalteu ayracı ile karıştırılarak 3dk oda sıcaklığında bekletilmiş ve 250 µL doygun Na₂CO₃, 1.75 µL distile su eklenerek 90 dk karanlıkta inkübe edilmiştir. Süre sonunda 725 nm'deki absorbanları ölçülmüştür. Sonuçlar gallik asit (GA) standart eğrisi kullanılarak µg GA mg⁻¹ bitki özütü olarak hesaplanmıştır.

Toplam Flavonoid İçeriği

Toplam flavonoid içeriği Brighente ve ark. (2007) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. *L. arboreum* yaprak ve meyve ham özütlerinin metanol çözeltisi hazırlanmıştır. 2 mL bitki çözeltisi üzerine 2 mL AlCl₃ eklenerek kuvvetlice çalkalanmıştır. 1 saat 20°C'de bekletilmiş ve 415 nm'deki absorbanları ölçülmüştür. Sonuçlar kateşin standart eğrisinden µg kateşin mg⁻¹ bitki özütü olarak hesaplanmıştır.

Toplam Antioksidan İçeriği

Toplam antioksidan içeriği fosfomolibdenyum metodu kullanılarak belirlenmiştir (Kumaran ve Karunakan., 2007). *L. arboreum* yaprak ve meyve ham özütlerinin metanol çözeltisi hazırlanmıştır. 0.3mL bitki çözeltisi üzerine 2.7mL fosfomolibdenyum ayracı (0.6 M sülfürük asit, 28 mM sodyum fosfat, 4 mM amonyum molibdat) ilave edilerek 95°C'de 90 dk bekletilmiştir. Örneklerin soğuması beklendikten sonra 696 nm'de absorbanları ölçülmüştür. Sonuçlar kateşin standart eğrisinden µg kateşin mg⁻¹ ham özüt olarak hesaplanmıştır.

İstatistiksel Analiz

Toplam fenol içeriği dışında (n=6) tüm analizler 3 tekrarlı olarak yapılmış ve veriler ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir. Analizlerde yaprak ve meyve ekstraktları arasındaki farklılık t-testi kullanılarak belirlenmiştir. Testler 0.05 anlamlılık düzeyinde ve SPSS 17 paket programı ile yapılmıştır (SPSS Inc. Released 2008).

BULGULAR ve TARTIŞMA

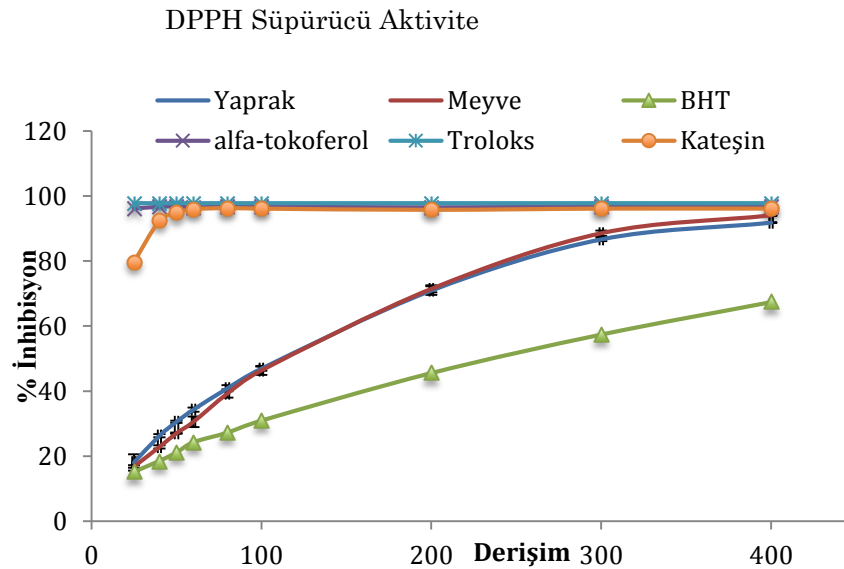
Bu çalışmada *Linum arboreum* türünün meyve ve yapraklarının metanolik özütlerinin antioksidan kapasitesi ve serbest radikal süpürücü etkileri belirlenmiş ve birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Günümüze kadar yapılan birçok çalışmada en yüksek antioksidan aktivitenin metanol ile hazırlanan özütlerde olduğu belirtilmektedir (Miliauskas ve ark., 2004; Arıduro ve Arabacı, 2013; Antasionasti ve ark., 2017). Bu nedenle çalışmamızda metanol özütü kullanılmıştır.

Çalışmada elde edilen veriler *L. arboreum* yaprak ve meyve özütlerinin serbest radikal süpürücü aktivite bakımından birbirinden farklı olmadığını, fakat bazı antioksidan içerikleri bakımından yaprak özütünün daha yüksek içeriğe sahip olduğunu göstermiştir.

Sentetik bir radikal olan DPPH, doğal özütlerin antioksidan/antiradikal kapasitesini belirlemede çok sık kullanılmaktadır (Mot ve ark., 2011). Yöntem, DPPH radikaline bir antioksidan çözelti tarafından

hidrojen atomu verilmesi sonucu, DPPH radikalinin indirgenmesi temeline dayanmaktadır.

L. arboreum meyve ve yaprak özütlerinin DPPH radikalini süpürücü aktiviteleri Şekil 2’de verilmiştir. Şekilde ayrıca pozitif kontrol olarak kullanılan BHT, alfa-tokoferol, Troloks ve Kateşin için belirlenen DPPH süpürücü aktiviteler de gösterilmektedir. DPPH radikali için en yüksek süpürücü aktivite değerleri Troloks, Kateşin ve alfa-tokoferol maddelerinde belirlenmiştir. *L. arboreum* meyve ve yaprak özütlerinin DPPH radikalini süpürücü aktiviteleri ise hemen hemen birbiri ile aynı değerlerde bulunmuştur. Her iki özütde de yüksek derişimlerde daha yüksek DPPH süpürücü aktivite saptanmıştır. Çalışmada en düşük DPPH süpürücü aktivite değerleri pozitif kontrol örneklerinden BHT’de bulunmuştur. Her iki *L. arboreum* özütünde BHT ile kıyaslandığında daha yüksek DPPH süpürücü aktivite göstermiştir.



Şekil 2. Farklı derişimlerde *Linum arboreum* meyve ve yapraklarının metanolik özütleri ile pozitif kontrol örneklerinin DPPH serbest radikalini süpürücü aktivitesi (n=3)

DPPH hücre zarında kolaylıkla hasara neden olan bir serbest radikaldir. Bu nedenle de DPPH radikalini süpürücü aktivite günümüze kadar birçok bitkisel özüt için belirlenmiştir. Zanwar ve ark., (2010) *Linum usitatissimum* tohumlarının etanolik özütünde en yüksek DPPH inhibisyonunu 500 µg mL⁻¹ derişimde %78.38 olarak bulmuşlardır. Bu değer, *L. arboreum* bitkisinin yaprak ve meyve metanolik özütlerinin 400 µg mL⁻¹ derişiminde belirlenen değerlerden (sırasıyla %91.79 ve %94.01) daha düşüktür. Benzer olarak Selamoğlu ve ark., (2017) tarafından yapılan çalışmada en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilen *Plantago major* özütünde belirlenen DPPH süpürücü aktivite değerine kıyasla (200 µg mL⁻¹ derişimde %69.25, 400 µg mL⁻¹ derişimde %74.75) *L.*

arboreum bitkisinin hem yaprak (200 µg mL⁻¹ derişimde %70.92, 400 µg mL⁻¹ derişimde %91.79) hem de meyve (200 µg mL⁻¹ derişimde %71.42, 400 µg mL⁻¹ derişimde %94.01) özütlerinde belirlenen DPPH süpürücü aktivite değeri çok daha yüksek bulunmuştur. *L. arboreum* yaprak ve meyve özütlerinde belirlenen DPPH süpürücü aktivite değerleri, benzer derişimlerdeki *Lepidagathis keralensis* yaprak ve gövdelerinin metanolik özütlerinden (Palakkal ve ark., 2017) ve *Psidium guajava* yapraklarının metanolik özütlerinden (Manikandan ve ark., 2017) daha yüksek bulunmuştur.,

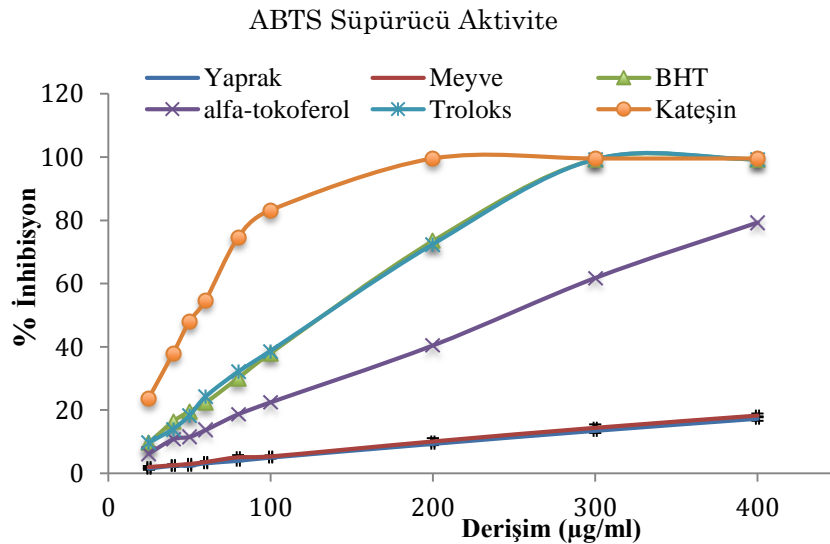
Çoban ve Konuklugil (2005) Marmaris–Datça çevresinden topladıkları *L. arboreum* örneklerinin

süperoksit ve DPPH radikal süpürücü aktivitelerini belirlemiş ve DPPH değerleri bizim çalışmamızdaki değerlerle uyumlu bulunmuştur. Ancak Çoban ve Konuklugil (2005) çalışmasında ABTS süpürücü aktivite, indirgeme gücü, toplam fenol, toplam flavanoid ve toplam antioksidan içeriklerine yer vermedikleri için karşılaştırma yapılamamıştır.

L. arboreum bitkisinde DPPH ve ABTS radikalleri kullanılarak belirlenen antioksidan aktivite IC₅₀ değerleri hesaplanarak da verilmiştir. IC₅₀ değeri başlangıçtaki ABTS veya DPPH çözeltisinin %50'sinin indirgenmesi için gerekli olan bitki miktarını ifade etmektedir (Antasionasti ve ark., 2017). Düşük IC₅₀ değerleri daha yüksek antiradikal aktivite anlamına gelmektedir. DPPH radikali için belirlenen IC₅₀ değeri yaprak özütünde 106.55 ± 1.20 µg mL⁻¹ meyve özütünde ise 108.56 ± 2.65 µg mL⁻¹ olarak belirlenmiştir. ABTS radikali için IC₅₀ değerleri ise yaprak özütünde 1144.8 ± 38.44 µg mL⁻¹

meyve özütünde ise 1114.7 ± 37.09 µg mL⁻¹ olarak belirlenmiştir. Hem DPPH (p>0.05) hem de ABTS (p>0.05) radikali için yaprak ve meyve özütleri arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır.

Kromojenik bir redoks radikali olan ABTS aynı zamanda kararlı bir radikaldir. Hem suda hem organik çözücülerde çözüldüğünden hem hidrofilik hem de hidrofobik antioksidan aktivite tayininde kullanılabilir. Çalışmamızda *L. arboreum* yaprak ve meyve özütlerinin ABTS radikali süpürücü etkileri farklı derişimlerde özüt (25-400 µg mL⁻¹) kullanılarak belirlenmiştir. Her iki metanolik özüt, yüksek derişimlerde daha yüksek süpürücü aktivite göstermiştir (Şekil 3). DPPH radikali ile benzer olarak yaprak ve meyve özütlerinin ABTS süpürücü aktiviteleri arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır (p>0.05). Aynı şekilde yaprak ve meyve özütlerinin indirgeme güçleri de birbirleri ile benzer aktiviteler göstermiştir.

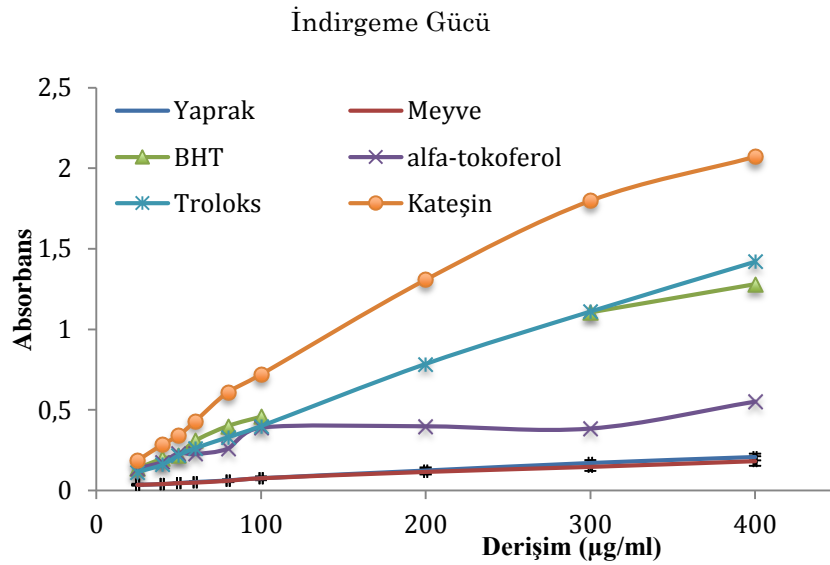


Şekil 3. Farklı derişimlerde *Linum arboreum* meyve ve yapraklarının metanolik özütleri ile pozitif kontrol örneklerinin ABTS radikali süpürücü aktivitesi (n=3)

Şekil 4 *L. arboreum* yaprak ve meyve metanolik özütleri ile pozitif kontrollerin indirgeme aktivitelerini göstermektedir. İndirgeme gücü yöntemi bitki özütlerinin elektron transfer yeteneğini belirlemektedir. Fe⁺³ iyonlarının Fe⁺² iyonlarına dönüşmesini sağlayan bu yetenek, dokulardaki oksidatif hasarın minimize edilmesini sağlamaktadır (Manikandan ve ark., 2017). Yüksek absorban değerleri yüksek indirgeme gücünü göstermektedir. Çalışmamızda yaprak ve meyve özütlerinin derişimlerdeki artışla birlikte indirgeme gücü de artış göstermiştir.

Çizelge 1 örneklerin toplam fenolik madde, toplam flavanoid ve toplam antioksidan içeriklerini göstermektedir. Fenolik bileşikler bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren aromatik yapıda sekonder bitki metabolitleridir (Hatano ve ark., 1989) ve güçlü

zincir kırıcı antioksidanlar olarak bilinmektedir (Shahidi ve ark., 1992). Bu özellikleri oksidatif strese bağlı hasarları önlemede etkili olduğu için, bitkisel polifenoller insan diyetinde oldukça önemli bileşiklerdir (Noreen ve ark., 2017). Çalışmada *L. arboreum* yaprak ve meyve özütlerinin toplam fenolik içerikleri hemen hemen aynı değerler göstermiştir (p>0.05). Bu değerler Stankoviç, (2011) tarafından *Marrubium peregrinum* bitkisinde (49.27 mg GA g⁻¹), Alhakmani ve ark., (2013) tarafından *Moringa oleifera* (19.31 mg GA g⁻¹) bitkisinde belirlenen toplam fenol miktarlarından daha yüksek bulunmuştur. İlaveten Nijerya (Agbo ve ark., 2015), Çin (Song ve ark., 2010) ve Yunanistan'da (Proestos ve ark., 2013) kullanılan bazı tıbbi ve aromatik bitkilerde belirlenen toplam fenol miktarları da *L. arboreum* yaprak ve meyve özütlerinde belirlenen miktardan daha düşük bulunmuştur.



Şekil 4. Farklı derişimlerde *Linum arboreum* meyve ve yapraklarının metanolik özütleri ile pozitif kontrol örneklerinin indirgeme gücü (n=3)

Çizelge 1. *Linum arboreum* metanolik meyve ve yaprak özütlerinin toplam fenol, toplam flavonoid ve toplam antioksidan içerikleri (ortalama \pm standart hata)

	Toplam Fenol ($\mu\text{g GA mg}^{-1}$)	Toplam Flavonoid ($\mu\text{g kateşin mg}^{-1}$)	Toplam Antioksidan ($\mu\text{g kateşin mg}^{-1}$)
Yaprak	56.96 \pm 1.59	426.49 \pm 12.20	106.78 \pm 5.00
Meyve	58.84 \pm 1.40	179.82 \pm 1.70	55.22 \pm 2.63

Yapılan çalışmalar bitkilerin antioksidan potansiyelini belirleyen asıl bileşenin fenolik maddeler olduğunu bildirmektedir (Proestos ve ark., 2013). Flavonoidler de bir çeşit fenolik bileşik olup, *L. arboreum* yaprak ekstresinde, meyveye oranla çok daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).

Genel olarak flavonoidler süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve peroksil radikali gibi çeşitli okside edici radikallerin süpürülmesinde ve tekli oksijenin de söndürülmesinde etkilidir (Ratty ve Das, 1988). Yapılan çalışmalar flavonoidlerin, güçlü bir antioksidan olduğu bilinen glutatyon seviyesini artırma yeteneği nedeniyle çok daha önemli olduğunu (O'Byrne ve ark., 2002) ve bitkinin çiçek, yaprak, kök, gövde, meyve ve tohum gibi bütün organlarında bulunduğunu göstermektedir (Işık, 2005). Çalışmalar *Zingiber officinale* (Ghasemzadeh ve ark., 2010), *Etilingera coccinea* (Shahid-Ud-Daula ve ark., 2015), *Gloriosa superba* (Moteriya ve ark., 2014), *Polygonum multiflorum* (Lin ve ark., 2010) ve *Nelumbo nucifera* (Shukla ve Chaturvedi, 2016) gibi birçok bitkide en yüksek flavonoid içeriğinin yaprakta olduğunu göstermektedir. Bizim bulgularımız da bu durumu desteklemektedir. İlaveten, toplam flavonoid miktarıyla paralel olarak, toplam antioksidan miktarı da *L. arboreum* yaprak ekstresinde meyve ile kıyaslandığında yaklaşık 2 kat daha fazla bulunmuştur ($p < 0.05$). Birçok çalışmada fenolik bileşikler ve antioksidan aktivite arasında pozitif

korelasyon olduğunun belirtilmesi verilerimizi desteklemektedir. (Velioglu ve ark., 1998; Patel ve ark., 2011; Molehin ve ark., 2014).

SONUÇ

Linum arboreum yaprak ve meyve ekstrelerinde belirlenen ABTS süpürücü aktivite değerleri, tüm derişimlerde pozitif kontrol olarak kullanılan maddelerden daha düşük aktivite değerleri göstermiştir. Her iki ekstrenin DPPH süpürücü aktivitesi ise, sentetik antioksidanlardan BHT ile kıyaslandığında daha yüksek bulunmuştur. Ekstrelerin indirgeme gücü pozitif kontrollerin tümünden daha düşük olmasına rağmen, alfa tokoferol ile kıyaslanabilir düzeyde bulunmuştur.

L. arboreum yaprak ve meyve ekstrelerinde belirlenen radikal süpürücü aktivite ve antioksidan içeriği literatürde bildirilen birçok bitki özütü ile kıyaslandığında daha yüksek değerler göstermiştir. Ancak, diğer birçok bitki ile kıyaslandığında ise daha düşük antioksidan aktivite ve radikal süpürücü aktivite değerleri göstermektedir. (Khalaf ve ark., 2008; Carlsen ve ark., 2010; Shukla ve Chaturvedi, 2016).

Sonuç olarak, elde edilen veriler *L. arboreum* bitkisinin hem yaprak hem de meyve özütlerinin sentetik antioksidanlar yerine kullanılabilir doğal antioksidan kaynağı olma potansiyeli bulunduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Alhakmani F, Kumar S, Khan SA 2013. Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(8): 623-627.
- Agbo MO, Uzor PF, Akazie-Nneji UN, Eze-Odurukwe CU, Ogbatue UB, Mbaaji EC. 2015. Antioxidant, total phenolic and flavonoid content of selected Nigerian Medicinal Plants. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(1): 35-41.
- Arıdurdu R, Arabacı G 2013. Ciğertaze otu (*Salvia officinalis*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2: 241-246.
- Antasionasti I, Riyanto S, Rohman A 2017. Antioxidant activities and phenolics contents of avocado (*Persea americana* Mill.) peel in vitro. *Research Journal of Medicinal Plant*, 11: 55-61.
- Banjarnahor SDS, Artanti N 2014. Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal Indonesia*, 23(4): 239-244.
- Bahadır Ö 2003. *Linum olympicum* Boiss., bitkisi üzerinde ariltetralin grubu ve diğer grup lignan bileşiklerinin araştırılması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 140 s.
- Baytop T 1999. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 480s.
- Blois, MS 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
- Brighente IMC, Dias M, Verdi LG, Pizzolatti MG 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of some Brazilian species. *Pharmaceutical Biology*, 45(2): 156-161.
- Carlsen MH, Halvorsen BL, Holte K, Bohn S, Dragland S, Sampson L, Willey C, Senoo H, Umezono Y, Sanada C, Barikmo I, Berhe N, Willett WC, Philips KM, Jacobs DR, Blomhoff R 2010. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutrition Journal*, 9: 3.
- Çoban T, Konuklugil B 2005. Free radical scavenging activity of *Linum arboreum*. *Pharmaceutical Biology*, 43(4): 370-372.
- Ertuğ F 1998. Anadolu'nun Önemli Yağ Bitkilerinden Keten / *Linum* ve Izgın / *Eruca*. *Türkiye Bilimler Akademisi Arkeoloji Dergisi*, 1: 113-123.
- Ghamsemzadeh A, Jaafar HZE, Rahmat A 2010. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoid content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules*, 15: 4324-4333.
- Gökpinar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y 2006. Algal Antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 23: 85-89.
- Halliwell B, Gutteridge JMC 1999. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, 944s.
- Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fijita Y, Yasuhara T, Yoshida T, Okuda T 1989. Effects of the Interaction of Tannins with Co-Existing Substances. VI.: Effects of Tannins and Related Polyphenols on Superoxide Anion Radical, and on 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(8): 2016-2021.
- Işık FE 2005. Edirne Bölgesinde Yetişen *Trifolium resupinatum* L. var. *Microcephalum* Bitkisinin Fitokimyasal İncelenmesi. Trakya Üniversitesi, Doktora tezi, 133s.
- Khalaf NA, Shakya AK, Al-Othman A, El-Agbar Z, Farah H 2008. Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology*, 32: 51-55.
- Kumaran A, Karunakaran RJ 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *Journal of Food Science and Technology*. 40(2): 344-352.
- Manikandan R, Anand AV, Rengaraj RL, Vinayakamoorthi P, Ramalingam R 2017. In vitro antioxidant activity of extracts of *Pisum guajava* leaves. *Pharmacology, toxicology and Biomedical Reports*, 3(3): 50-54.
- Lin HT, Nah SL, Huang YY, Wu SC 2010. Potential antioxidant components and characteristics of fresh *Polygonum multiflorum*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 18(2): 120-127.
- Miliauskas G, Venskutonis PR, Van beek TA 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85: 231-237.
- Melchior H 1964. A. Engler's Syllabus Der Pflanzenfamilien. II.Band. Gebrüder Borntraeger, Berlin, 666s.
- Molehin OR, Adefeghu SA 2014. Comparative study of aqueous and ethanolic extracts of *Momordica foetida* on the phenolic content and antioxidant properties. *International Food Research Journal*, 21(1): 401-405.
- Mot C.A., Dumitrescu S.R., Sarbu C 2011. Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV-VIS spectroscopic data. *Journal of Food Composite and Analysis*, 24: 516-522.
- Moteriya P, Ram J, Rathod T, Chanda S 2014. In vitro antioxidant and antibacterial potential of leaf and stem of *Gloriosa superba* L. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 2(6): 703-787.
- Noreen H, Semmar N, Farman M, McCullagh JSO 2017. Measurement of total phenolic content and

- antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*, 10(8): 792-801.
- O'Byrne DJ, Devaraj S, Grundy SM, Jialal I 2002. Comparison of the antioxidant effects of Concord grape juice flavonoids alpha-tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76(6): 1367-1374.
- Oyaizu M 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44: 307-315.
- Palakkal L, Hukuman NH, Mullappally J 2017. Antioxidant activities and chemical composition of various crude extracts of *Lepidagathis keralensis*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(06): 182-189.
- Patel DK, Kumar R, Laloo D, Hemalatha S 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activities of the different fraction of *Hybanthus enneaspermus* (Linn.) F. Muell. (Violaceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4 (5): 391-396.
- Proestos C, Lytoudi K, Mavromelanidou OK, Zoumpoulakis P, Sinanoglou VJ 2013. Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. *Antioxidants*, 2: 11-22
- Ratty AK, Das NP 1988. Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: structure-activity relationship. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology*, 39(1): 69-79.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10): 1231-1237.
- Shahid-Ud-Daula AFM, Kamariah AS, Lim LBL, Ahmad N 2015. Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of leaves stems and rhizoms of *Etlingera coccinea* (Blume) S. Sakai & Nagam. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(5):873-883.
- Shahidi F, Janitha PK, Wanasundara PD 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32: 67-103.
- Selamoğlu Z, Dugun C, Akgül H, Gülhan MF 2017. In vitro antioxidant activities of the ethanolic extracts of some contained allantoin plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 16: 92-98.
- Shukla K, Chaturvedi N 2016. In vitro antioxidant properties of different parts of *Nelumbo nucifera* Gaertn. *International Journal of advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, 5(2): 196-201.
- Singleton VL, Rossi JA 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Stanković MS 2011. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium pregrinum* L. extracts. *Kragujevac Journal of Science*, 33: 63-72.
- Song FL, Gan RY, Zhang Y, Xiao Q, Kuang L, Li HB 2010. Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected Chinese medicinal plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 11: 2362-2372
- SPSS Inc. Released 2008. *SPSS Statistics for Windows*, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc.
- Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD 1998. Antioxidant activity and total phenolic in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4113-4117.
- Yılmaz Ö 2018. *Linum ayliniae* (Linaceae), a New Species from West Anatolia, Turkey, *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*, 26(2): 171-179.
- Zanwar AA, Hegde MV, Bodhankar SL 2010. In vitro antioxidant activity of ethanolic extract of *Linum usitatissimum*. *Pharmacologyonline*, 1: 683-696