

## Sakarya'da Yetişen Aronya Yaprağının Farklı Çözücü Özütlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Ayşenur Büşra Kiper Sağlam<sup>1</sup>, Esra Altıntığ<sup>1</sup>, Gülnur Arabacı<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Pamukova Meslek Yüksekokulu / Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri Bölümü, Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi,  
Türkiye

<sup>2</sup>Kimya Bölüm / Fen Fakültesi, Sakarya Üniversitesi, Türkiye

\*([garabaci@sakarya.edu.tr](mailto:garabaci@sakarya.edu.tr))

(Received: 03 December 2024, Accepted: 06 December 2024)

(3rd International Conference on Recent Academic Studies ICRAS 2024, December 03-04, 2024)

**ATIF/REFERENCE:** Sağlam, A. B. K., Altıntığ, E. & Arabacı, G. (2024). Sakarya'da Yetişen Aronya Yaprağının Farklı Çözücü Özütlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. *International Journal of Advanced Natural Sciences and Engineering Researches*, 8(11), 275-281.

**Özet** – Antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize eden ve dolayısıyla oksidatif strese karşı hücrel savunmayı sağlayan moleküllerdir. Serbest radikaller, hücrel metabolizma sırasında normal olarak üretilen, yüksek aktiviteye sahip bileşiklerdir. Bu bileşiklerin aşırı birikimi, hücrel yapılar üzerinde oksidatif hasara yol açarak yaşlanma, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar ve diğer kronik patolojilerin gelişimine neden olurlar. Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücrel ve moleküler düzeyde koruma sağlar. Doğal antioksidanların bitkiler, meyve ve sebzelerde yoğun olarak bulunduğu bilinmekte ve bunların kullanımı ve araştırılması her geçen gün önem arz etmekte ve yeni kaynaklar bulunması araştırılması gerekmektedir. Bu çalışmada Sakarya'da yetişen aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) bitkisinin yapraklarının su ve etanol ile özütlenerek antioksidan aktiviteleri DPPH, FRAP ve CUPRAC metotları ile toplam fenol ve flavonoid miktarları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, aronya yaprak etanol özütünün tüm metotlarda su özütüne oranla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler** – Aronya, Antioksidan, DPPH, CUBRAC, Toplam Fenol.

### I. GİRİŞ

Antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize eden ve dolayısıyla oksidatif strese karşı hücrel savunmayı sağlayan moleküllerdir. Antioksidanlar, sağlık açısından önemli bileşenlerdir ve birçok hastalığın önlenmesinde rol oynarlar [1,2]. Antioksidanlar canlı sistemlerde mevcut olmakla birlikte dışarıdan diyetle de alınması sağlık açısından önem arz etmektedir [3]. Birçok meyve ve sebze antioksidanlar açısından zengin olmakla birlikte son yıllarda üretim ve tüketimi açısından dikkat çeken yüksek antioksidan içerikli bitkilerden bir id aronya meyvesidir.

Aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott), Rosaceae familyasına ait bir bitki türüdür ve özellikle meyvesi ile bilirse de yaprakları da çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu için araştırma konusu

olmuştur. Aronya bitkisi, soğuk iklimlere adapte olmuş ve Kuzey Amerika kökenli bir türdür [4]. Aronya bitkisinin ömrü 15-20 yıl olup, 2-3 m kadar uzayabilen çalı formunda, Mayıs ayında çiçeklenip, Ağustos ve Eylül aylarında toplanan, uzun ömürlü üzüksü bir meyve türüdür [5]. Son yıllarda, sağlık alanındaki potansiyel yararları nedeniyle aronya meyvesi ve yaprakları üzerine pek çok bilimsel araştırma yapılmıştır [5], [6].

Aronya yaprağı, içerdiği fenolik bileşikler sayesinde önemli biyolojik aktivitelere sahip olup, antioksidan, anti-inflamatuar, antimikrobiyal ve kanser karşıtı potansiyel gösterdiği bilinmektedir [5], [6]. Bu özellikleri, aronya yaprağını sağlık alanında değerli bir doğal kaynak haline getirmektedir. Bununla birlikte, bu faydaların insanlar üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha fazla klinik ve prelinik araştırmaya ihtiyaç vardır. Aronya yaprağı, geleneksel tıpta ve alternatif tedavi yöntemlerinde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Yapraklardan elde edilen ekstraktlar, antioksidan, anti-inflamatuar, antimikrobiyal ve kanser öncesi etkilere sahip bileşikler sunarak, sağlık açısından önemli bir kaynak olabilir [6]. Ayrıca, aronya yaprağı, gıda takviyeleri ve doğal ilaçların formülasyonlarında da yer alabilir.

Tüm bitkilerin yetişme koşulları ve bölgelere göre yapı ve özelliklerinde farklılıklar meydana geleceğinden aronya bitkisinde antioksidan içerik ve özelliklerinde de farklılıklar olacaktır. Bu amaçla ilk defa bu çalışmada Sakarya bölgesinde yetiştirilen aronya bitkisinin yapraklarının iki farklı su ve etanol özütlerinin antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Bunun için üç farklı antioksidan metodu olan DPPH, CUBRAC ve FRAP metodları kullanılmış ve toplam fenol ve flavonoid değerleri tespit edilmiştir.

## II. MATERYAL VE YÖNTEM

Aronya (*Aronia melanocarpa*) yaprağı Sakarya bölgesinden toplanıp ekstraksiyon işlemleriyle onlara yapılan antioksidan aktivite çalışması hakkında bilgiler verilmiştir.

### A. Kullanılan Kimyasallar

Sakarya bölgesinde yetişen aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott), yaprak örnekleri toplanarak kullanılmıştır. Antioksidan aktivite tayinlerinde kullanılan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), Trolox ( $\pm$ -6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), etanol,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , TCA,  $\text{FeCl}_2$  (Demir II klorür),  $\text{FeCl}_3$  (demir III klorür), ferrozin, hidroklorik asit, fosforik asit, askorbik asit,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , Folin-Ciocalteus reaktifi, alüminyum nitrat ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ), amonyum asetat ( $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ ). kimyasalları Sigma-Aldrich firmasından (Almanya) temin edilmiştir.

### B. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Aronya yaprakları yıkandıktan sonra ortalama 40°C sıcaklığındaki etüvde kurutulup öğütücüde öğütülerek toz haline getirilmiştir. Kurutulmuş bitki örneklerinde etanol çözücüsü ile ekstraksiyon işlemi tamamlanmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonrasında Whatman filtre kağıdı kullanmak suretiyle süzme işlemi gerçekleştirilmiş ve süzüntü toplanarak çözücü uzaklaştırılmıştır. Elde edilen katılar tartılarak istenilen konsantrasyonlarda etanolde çözülmüş ve stok halinde çözelti hazırlanmıştır aynı zamanda kurtulmuş numunedan 0.500 gr tartılarak 80 ml kaynamış (100 derece) saf su ile 7 dk demlenmiş Whatman filtre kağıdı ile süzülmesi elde edilen konsantrasyon soğutulmuştur.

### C. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayini

Bitkilerin ve standart maddelerin DPPH radikal aktivitesi, Brandt-Williams ve ekibinin kullandığı yöntemle göre belirlenmiştir [6]. Etanol içerisinde DPPH çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiden alınarak üzerine çeşitli konsantrasyonlardaki (50-1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  aralığında) bitki ekstraktları dahil edilip oda koşullarında 30 dakika boyunca beklemeye bırakılmıştır. Daha sonra absorbans değerleri

spektrofotometre cihazında 517 nm dalga boyunda ölçüm işlemi yapılmıştır. Trolox ve BHT standartları olarak kullanılmıştır. Deneyler üç kez tekrarlanmıştır. Düşen absorbansın değeri, DPPH çözeltisinin ölçüsü olan serbest radikal süpürücü aktivitesini göstermektedir. DPPH serbest radikalinin kapasitesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır [6].

$$\text{DPPH giderim kapasitesi (\% inhibisyon)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

$A_0$  = Kontrol absorbansın değeri

$A_1$  = Örneğin veya standardının absorpsiyon değeri

#### D. CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini)

Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini Tütem ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir [8]. 100, 200, 300, 500 ve 700 µg/ mL konsantrasyon aralığında numuneler hazırlanmıştır. Standart olarak askorbik asit test edilmiştir. 1'er mL 0,01M CuCl<sub>2</sub>, 7,5x10<sup>-3</sup> M neokuproin ve 1M amonyum asetat tamponu (pH:7.0) üzerine son hacmi 4.1 mL'ye tamamlanacak şekilde numune ekstraktı ve numune çözgeni ilave edilmiştir. Ağzı kapalı bir şekilde oda sıcaklığında 30 dk bekletildi. Reaksiyon sonuçları 450 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır (Şekil 2.1). Deneyler tüm konsantrasyonlar için 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Trolox için hesaplanan grafiğin eğimi ile numunelerin eğimleri oranlanmış ve CUPRAC aktivitesi TEAC<sub>CUPRAC</sub> olarak hesaplanmıştır.

#### E. İndirgeme kapasitesi tayini

İndirgeme kapasitesi, antioksidan miktarı hakkında detay sağlar. Genellikle Fe[(CN)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup>'ün Fe[(CN)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>'ye redüksiyonuyla belirlenir. İndirgenmiş ürüne Fe<sup>3+</sup> eklenmesiyle 700 nm'de K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]•3H<sub>2</sub>O kompleksi oluşur. Bu çalışmada, indirgeme kapasitesi Oyaizu'nun yöntemine göre belirlenmiştir [9]. Buna göre, farklı konsantrasyonlar içinde (50-1000 µg/mL) bitki ekstraktları ve kimyasal maddeler ile 0.2 M tampon fosfatı (pH = 6.6) ve %1 potasyum ferrosiyaniürü K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]•3H<sub>2</sub>O çözeltisi ile karıştırılmıştır. Hazırlanan çözeltiler, 30 dakika süresince 50°C'de su banyosunda inkübe edilmiştir. Çözeltilere %10 trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi ilave edilip 3000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Daha sonra, karışıma %0.1'lik FeCl<sub>3</sub> çözeltisi eklenmiştir. Her deney üç defa tekrarlanmıştır. Pozitif standartlar olarak askorbik asit kullanılmıştır. Reaksiyonlar tamamlandıktan sonra tüm deneylerin absorbansları 700 nm'de spektrofotometrede ölçülmüştür [12].

#### F. Toplam fenolik bileşik tayini metodu

Toplam fenolik bileşik tayini Folin-Ciocalteus reaktifi ile yapıldı [10]. Bitki ekstraksiyonu hazırlanan stok çözeltisinden 0,1 ml alınarak saf su ile 4,6 ml'ye tamamlandı. 0,3 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi (%2 lik) ve 0.1 ml folin-Ciocalteus reaktifi ilave edilerek vorteks yardımıyla karıştırıldı. Oda şartlarında 2 saat bekletildikten sonra spektrofotometre absorbansı 760 nm de ölçüldü sonuçları gallik aside eşdeğer (GAE) olarak hesaplandı.

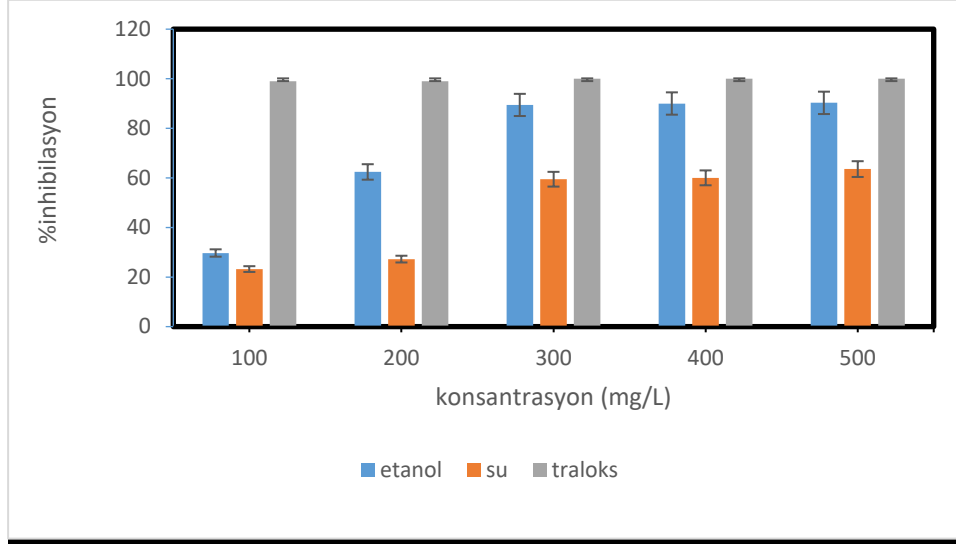
#### G. Toplam Flavonoid Bileşik tayini

Aronya yaprak su ve etanol özütünün 0,1 mL alınarak, hacmi 4,8 mL'ye etanol ile karıştırıldı. Daha sonra, 0,1 mL %10'luk alüminyum nitrat (Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ve 0,1 mL 1M amonyum asetat (NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>COO) çözeltileri eklenmiş ve oda sıcaklığında 40 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Bekleme süresi sonunda, absorbans ölçümleri spektrofotometre kullanılarak 415 nm dalga boyunda kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlar, kuersetin eşdeğerliği (QE) cinsinden hesaplanmıştır [11].

### III. BULGULAR

#### A.DPPH Serbest Radikal Giderim Aktivitesi Tayini

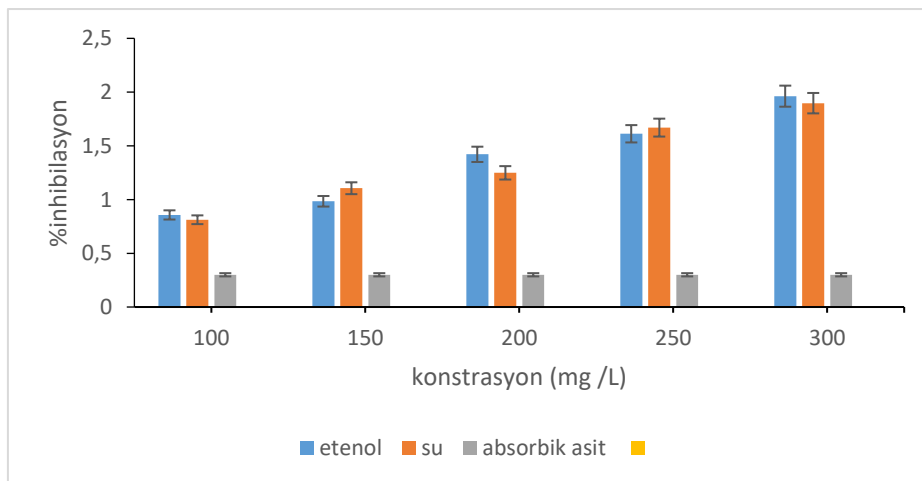
Sakarya bölgesinden toplanan aronya yaprakları örnekleri etanol ve saf suyla özütlenerek DPPH serbest radikal giderim aktivitesi belirlemede farklı konsantrasyonlarında (100-500 mg/L) kullanılmıştır. Standart olarak Trolox kullanılarak karşılaştırma yapıldı. Elde edilen sonuçlar Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Aronya yaprağı etanol ve su özütlerinin DPPH serbest radikal kapasitesi

#### B. CUPRAC (Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini

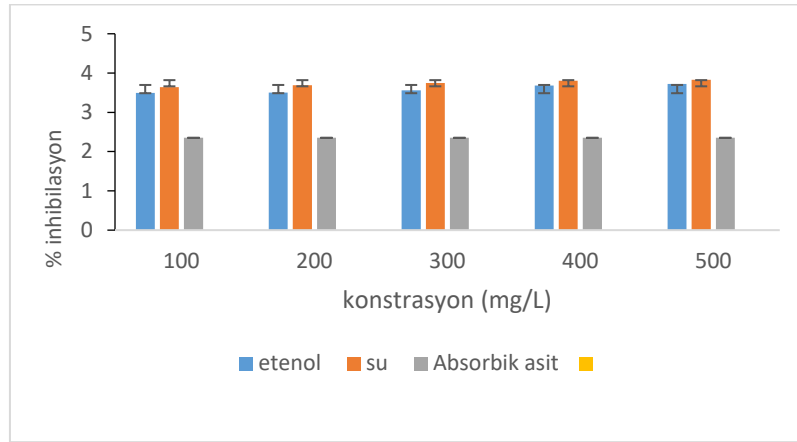
Sakarya bölgesinden toplanan aronya yaprakları örnekleri etanol ve saf suyla ekstrakte edilerek CUPRAC serbest radikal giderim aktivitesi belirlemede 100 /200 /300 /400 /500 mg/L konsantrasyonlarında kullanıldı. Standart olarak askorbik asit kullanılarak karşılaştırma yapıldı. Elde edilen sonuçlar Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Aronya yaprağı etanol ve su özütlerinin CUPRAC değerleri

### C. İndirgeme Kapasitesi Tayini

Demir iyonlarının indirgeme tayini yöntemi kullanılarak aronya yaprağı bitki örneklerinin etanol ve saf su ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu yöntemin esası  $Fe^{3+}$ 'nin elektronunu  $Fe^{2+}$ 'ye indirgenmesi temeline dayanmaktadır. Aronya yaprağının etanol ve saf su ekstraktlarının indirgeme kapasite sonuçları Şekil 3 'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre konsantrasyonun artmasıyla ekstraktların indirgeme kapasitelerinin de arttığı belirlenmiştir.



Şekil 3. Aronya yaprağı etanol ve su özütlerinin demir indirgenme kapasiteleri

### D. Toplam Fenol ve Flavonoid Madde Miktarı

Aronya yapraklarının su ve etanol özütlerinin toplam fenol ve flavonoid madde miktar tayinleri yapılmış ve sonuçlar tablo 1 de verilmiştir. Buna göre etanol özütlerinin toplam fenol ve flavonoid madde miktarlarının su özütüne göre daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir.

Tablo 1. Aronya yaprağı etanol ve su özütlerinin toplam fenol–toplam flavonoid madde tayini sonuçları

Özüt	Toplam Fenol (mg GAE/g)	Toplam Flavonoid (mg QE/g)
Etanol	40,57	49,73
Su	26,04	40,47

## IV. TARTIŞMA

İnsan vücudunda oksidatif stresin oluşumuna yol açan serbest radikallerin etkileri, başta hücre hasarı olmak üzere çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Bu tür zararlı etkileri engellemek amacıyla vücutta bulunan antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek oksidatif hasarı önlemekte önemli bir rol oynamaktadır. Antioksidanlar ya vücutta endojen olarak üretilir ya da dışarıdan eksojen kaynaklarla alınır. Hem endojen hem de eksojen antioksidanlar, serbest radikal giderici olarak işlev görür ve bu özellikleri, vücudun savunma mekanizmalarını güçlendirerek, çeşitli hastalıkların riskini azaltır [12].

Bu çalışmada Sakarya Bölgesi'nden temin ettiğim aronya yaprağının antioksidan kapasitesini değerlendirmek amacıyla yaprak örnekleri, ekstraksiyon yöntemi ile işlenmiş olup, hem deiyonize su hem de etanol çözücüler kullanılarak ekstraktlar elde edilmiştir. Antioksidan aktiviteleri ise DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal giderme, Cuprac (bakır indirgeme) ve demir indirgenme kapasitesi yöntemleri ile değerlendirilmiştir. DPPH testi, örneklerin serbest radikal giderme potansiyelini belirlerken, Cuprac testi fenolik bileşiklerin bakır iyonlarını indirgeme kapasitesini ölçmekte

kullanılmıştır. Ayrıca, indirgenme kapasitesi testi, örneklerin serbest radikalleri veya oksitleyici ajanları indirgeme yeteneğini ortaya koymuştur. Bu testler, aronya yaprağının antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde önemli bir rol oynamıştır. Her iki bitki özütünün de toplam fenol ve flavonoid madde miktarları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar literatürle karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edilmiştir. Szopa ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları çalışmada 3 farklı aronya türünün meyve ve yapraklarından elde edilen metanol özütlerinin antioksidan kapasitelerini araştırmışlar ve yaprak özütlerinin meyve

özütlerine göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bitkilerin genellikle toplandığı yere ve zamana göre antioksidan aktivitelerinin farklılık gösterdiği tespit edilmiştir [13]. Aronya yapraklarının metanol ekstraktlarının toplam fenol ve flavonoid miktar tayinleri Ordu ve Trabzon bölgelerinde yapılmış ve toplam fenol miktarı 10 ile 40 mg GAE/g aralığında, toplam flavonoid miktarlarının ise 8.9 ile 97.83 mg QE/g aralığında olduğu belirlenmiştir [14]. Bu çalışmadaki Sakarya Bölgesi aronya yapraklarının toplam fenol miktarı 26,04 ile 40,57 mg GAE/g aralığında, toplam flavonoid miktarlarının ise 8.9 ile 97.83 mg QE/g aralığında olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar literatürle benzerlik içerisinde olduğu görülmüştür.

## V. SONUÇLAR

Bu çalışmada, Sakarya bölgesinde yetiştirilen aronya yapraklarının etanol ve saf su ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri farklı metodlar ile karşılaştırılmıştır. Kullanılan başlıca yöntemler arasında DPPH radikal giderimi, demir indirgeme, Cuprac metodları ile toplam fenol ve flavonoid testleri yer almaktadır. Elde edilen bulgulara göre, farklı testin sonuçlarına dayalı olarak aronya yaprağının etanol özütünün, su özütlerine kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Shinde A, Ganu J, Naik P. Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A Review. J Dent Allied Sci. (2): 63- 66, 2012.
- [2] B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge, Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, 2015.
- [3] O. I. Aruoma, "Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease", Journal of the American Oil Chemists' Society, 75, 199-212, 1998.
- [4] S. E Kulling and H. M Rawel, Chokeberry (*Aronia melanocarpa*)—A Review on the Characteristic Components and Potential Health Effects. Planta medica Planta Med. 74(13):1625-34, 2008.
- [5] Kokotkiewicz, Z. Jaremicz, and M. Luczkiewicz, Aronia plants: A review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. Journal of Medicinal Food, 13(2), 255–269, 2010.
- [6] S.V. Valcheva-Kuzmanova, and A. Belcheva, Current knowledge of Aronia melanocarpa as a medicinal plant. Folia Medica, 48, 11-17, 2006.
- [7] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier and C. Berset, "Use of free radical method to evaluate antioxidant activity". Lebensm Wiss Technol 28,25-30, 1995.
- [8] Tütem, R. Apak, E. Günaydın and K. Sözgen, Spectrophotometric determination of vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) using copper(II)-neocuproine reagent. Talanta, 44: 249-255, 1997.
- [9] M. Oyaizu., "Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine", Japanese Journal of Nutrition, 44: 307-315, 1986.
- [10] L. Singleton, R. Orthofer, R.M. Lamuela-Raventós, Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates And Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent; Methods in Enzymology. Methods Enzymol. 299, 152–178, 1999.
- [11] S.V. Ting, J.A., Attaway. Citrus Fruits, In «The Biochemistry of Fruits and Their Products». Volume 2. Ed By Hulme, A.C. Academic Press New York. 1971.
- [12] S. Young, J.V. Woodside, " Antioxidants in Health and Disease". J Clin Pathol., 54(3): 176-186, 2001. A. Szopa, A., Kokotkiewicz., , P. Kubica, , P. Banaszcak., A. Wojtanowska-Krośniak., , M Krośniak., , U., Badura, A., Zagrodzki, P MarzecWróblewska., A. Bucinski, , M. Luczkiewicz, and T.Hekier. . Comparative analysis of different groups of phenolic compounds in fruit and leaf extracts of Aronia sp.: A. melanocarpa, A. arbutifolia, and A. prunifolia and their antioxidant activities. European Food Research and Technology, 243, 1645–

1657, 2017.

- [13] T. Özbucak, A. and Faruk Gümüs, Aronya Meyvesinin Ekolojik ve Fitokimyasal Varyasyonlarının Belirlenmesi, Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 11(4): 1035–1045, 2024.