



ISSN:1306-3111

e-Journal of New World Sciences Academy  
2012, Volume: 7, Number: 1, Article Number: 3A0050

**NWSA-PHYSICAL SCIENCES**

Received: October 2011

Accepted: January 2012

Series : 3A

ISSN : 1308-7304

© 2010 www.newwsa.com

**Cengiz Bakır**

**Habibe Özmen**

Firat University

hozmen@gmail.com

Elazig-Turkey

**ANASON (*PÍMPÍNELLA ANÍSUM*) VE REZENE (*FOENÍCULUM VULGARÍS*)  
TOHURLARINDA ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN TAYİNİ**

**ÖZET**

Bu çalışmada, üç farklı bölge ve üç farklı markada, açık ve işlenmiş paketlenmiş olarak temin edilen anason ve rezene tohumlarında antioksidan aktiviteleri, spektrofotometrik olarak tayin edildi. Antioksidan aktiviteleri, metal şelatlama kapasitesi metodu ile belirlendi. Anason ve rezene tohumlarındaki antioksidan aktivitesi, infüzyon (demleme), dekoksasyon (kaynatma) ve ekstraksiyon sonucu elde edilen örnekler kullanılarak tespit edildi. Analiz sonuçlarına göre en yüksek ve en düşük değerler sırasıyla, işlenmemiş anasonda %89,2±0,5 (infüzyon), işlenmiş anasonda %22,5±6,7 (dekoksasyon), işlenmemiş rezenede %78,3±0,6 (dekoksasyon), işlenmiş rezenede ise %32,9±2,3 olarak elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Anason, Rezene, Antioksidan Aktivitesi,  
Metal Şelatlama Kapasitesi,  
İnfüzyon, Dekoksasyon, Ekstraksiyon

**THE DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES IN ANISE  
(*PÍMPÍNELLA ANÍSUM*) AND FENNEL SEEDS (*FOENÍCULUM VULGARÍS*)**

**ABSTRACT**

In this study, determination of antioxidant activity for anise and fennel supplied as packed unprocessed from three different regions and processed in three different brands, was carried out by spectrophotometric method. The antioxidant activity was determined by the method of metal chelating capacity. To determine of antioxidant activity in anise and fennel, were used samples which obtained results infusion, decoction and extraction. According to analysis results, the highest and lowest values were obtained to be, unprocessed anise; %89,2±0,5 (infusion), processed anise; %22,5±6,7 (decoction), unprocessed fennel %78,3±0,6 (decoction and infusion), processed fennel; %32,9±2,3 (decoction) respectively.

**Keyword:** Anise, Fennel, Antioxidant Activity,  
Metal Chelating Capacity, Infusion, Decoction,  
Extraction

## 1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Tıp alanındaki önemli gelişmelere rağmen, insanlar zaman zaman şifayı doğada aramış ve yüzyıllardır edindikleri deneyimler neticesinde tıbbi bitkilerin kullanımına hiç ara vermemişlerdir. Özellikle sentetik ve kimyasal içerikli ilaçların, yan etkilerinin ortaya çıkışı, tıbbi bitki kullanımını artırmıştır. Bu bitkilerin kökleri, kök gövdeleri, dal sürgünleri, yaprakları, çiçekleri, kabukları, meyveleri veya tohumları kullanılmaktadır. Bitkisel çayların kimyasal bileşimi, genel olarak bitki türü ve kombinasyonuna bağlıdır. Her grup bitki, belirgin ve hoş giden koku bileşenleriyle diğerlerinden ayrılır. Genellikle uçucu yağ ve diğer bileşikler içeren bu çaylar, çekici aromalarıyla bilinir: ıhlamur, nane, rezene gibi. Ancak bir bitkisel çayın lezzeti, sıcak suda çözünebilen bütün bileşiklerinin toplamıdır. Tedavi edici etki ise, çoğunlukla belirli bileşiklerden kaynaklanır. Uçucu yağların ve reçinelerin yanı sıra, bitkisel çayların lezzetini ve tıbbi etkisini veren bileşikler heterozitler, alkoloitler, organik asitler, tanenler, pigmentler, vitaminler, polisakkaritler ve minerallerdir. Her bitkide, hatta aynı bitki türünün farklı organlarında değişik çeşit ve miktarda etkili bileşikler bulunabilir. Hasat zamanı, ön işlemler ve depolama bitkilerdeki bileşimi etkileyen faktörlerdir. Bitkisel çaylar, yüksek oranda antioksidan maddeleri (yağda çözünen A ve E vitamini, suda çözünen C vitamini ve geniş orandaki fenolik bileşikler olarak adlandırılan amfifatik moleküller) içermektedir. Bu özelliği ile çaylar ve bitkisel infüzyonlar günlük diyetimizin temel fenolik bileşik kaynaklarını oluşturmaktadır. Bitkisel ürünlerin en yaygın ilaç hazırlama ve tüketme şekilleri toz, hap, infüzyon, dekoksion, merhem, tentür, tıbbi yağ ve kokulu yağ olarak sıralanabilmektedir. [1 ve 4]

Geleneksel tanım olarak antioksidan; oksidasyona karşı koruyan, oksijen ya da peroksitlerle ilerleyen reaksiyonları engelleyen maddelerdir. Bu maddelerin çoğu çeşitli ürünlerde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Daha biyolojik olarak ise antioksidan madde, havanın oksijeni ile bozulan ürünlere ilave edilerek bu bozulmayı engelleyen veya geciktiren sentetik veya doğal madde olarak tanımlanmaktadır. Gıda endüstrisinde antioksidanlar geniş bir alana sahiptir. Oksijen ve nitrojen gibi reaktif türlerin insanlardaki normal fizyolojik fonksiyonları üzerindeki ters etkilerini oldukça önemli bir şekilde azaltan diyetel antioksidanlardan, yağların bozunmasını engelleyen maddeler içeren antioksidanlara kadar geniş bir kullanıma sahiptirler [5].

Antioksidanların vücuttaki aktivitesi, ortamdaki oksijen miktarı, sıcaklık, konsantrasyon miktarı ve substrat çeşidi gibi özelliklere bağlı olarak değişkenlik gösterir [6].

Doğal antioksidan kaynakları olarak meyveler, sebzeler, bitkisel çaylar, şarap, kahve ve kakao gibi ürünleri içeren birçok gıda maddesi ve içeceği saymak mümkündür [7].

Yapılan çalışmalarda, günlük hayatta taze veya kurutulmuş olarak tüketilen birçok bitkinin yaprak ve tohumlarının antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [8 ve 14].

## 2. ÇALIŞMANIN ÖNEMİ (RESEARCH SIGNIFICANCE)

Bitkisel çay olarak özellikle bebekleri gaz sancılarında ve rahatlatıcı özellikleri nedeniyle hem poşette hazır çay olarak hem de aktarlarda açıkta satılan anason ve rezene, çoğu zaman kaynatılarak ve demlenerek tüketilir. Bu işlemler esnasında, bu bitkilerin antioksidan aktivitelerinde değişim yeterince incelenmemiştir. Ayrıca bu yöntemlerden farklı olarak ekstraksiyon yöntemi de uygulanacak ve elde

edilen antioksidan aktivite sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırılacaktır.

### **3. DENEYSSEL YÖNTEM (EXPERIMENTAL METHOD)**

Analizlerde kullanılmak üzere marketlerde ve aktarlarda, açık olarak ve işlenerek paketlenmiş olarak tüketime sunulan tıbbi bitkilerden anason ve rezene tohumları; açık olarak üç farklı bölgeden (Elazığ, Kayseri, İstanbul) ve işlenmiş paketlenmiş olarak üç farklı markadan (Anason: Evçay, Akdem, Nurs-Lokman; Rezene: Doğadan, Migros, Nurs-Lokman) temin edildi. Metal şelatlama kapasitesi tayini için; çözücü ekstraksiyonu, infüzyon ve dekoksasyon işlemleri uygulanarak üç farklı analiz numunesi, her bir numune için de üç paralel numune hazırlandı. Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler; Demir (II) klorür (Carlo Erba), Etanol (%99,2, Merck), Ferrozin (Merck) ve çözeltilerin hazırlanmasında deiyonize su kullanıldı.

Hazırlanan bitki örneklerinin metal şelatlama kapasitesinin belirlenmesi aşamasında örneklerin absorbanlarını ölçmek için; T80+UV-VIS spektrometer marka double beam UV-görünür bölge spektrofotometresi ve kuvartz hücreler, santrifüj işlemi için; Hettich EBA III marka santrifüj cihazı, tartım için; Gec Avery marka terazi, karıştırma ve ısıtma işlemleri için ise; AM4 Multiposition Heating Magnetic Stirrer cihazı kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemlerinde ise alkolü uzaklaştırmak için, Heidolph Laborota 4000 efficient marka rotary cihazı kullanılmıştır.

#### **3.1. Örneklerin Analize Hazırlanması (Preparation of the Analysis of Samples)**

Örnekler, homojen halde öğütüldükten sonra 2 gram alınarak, infüzyon işlemi için; üzerlerine kaynatılmış 50 ml musluk suyu ilave edilip, 10 dakika inkübasyon edildikten sonra, dekoksasyon işlemi için; üzerine 50 ml soğuk musluk suyu ilave edilerek kaynatıldı ve 10 dakika kaynar durumda bekletildikten sonra filtre kâğıdından (Whatman No.4) süzüldü. Ekstraksiyon işlemi için, etüvde kurutulan ve homojenize edilen her bir örnekten 2 gr alınıp 100 ml'lik reaksiyon balonlarına aktarıldı. Hazırlanan %80'lik etanoldan 40 ml ilave edip, 30 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Sonra örnekler filtre kâğıdından (Whatman No.4) süzüldükten sonra avaporatör'de alkolü uzaklaştırılıp analize hazır hale getirildi.

#### **3.2. Metal Şelatlama Kapasitesi Tayini (Determination of metal chelating capacity)**

Anason ve rezene bitkilerinin infüzyon, dekoksasyon ve ekstrelerinin metal şelatlama kapasitesi Dinis ve arkadaşlarının belirledikleri metoda göre yapıldı [14]. Bu işlem için her üç yöntemle hazırlanan örnekler 10 kat seyreltildikten sonra 0,2 ml alınıp deney tüpüne aktarıldı. Üzerlerine 2 mM'lık  $FeCl_2 \cdot 3/4 H_2O$ 'dan 0,05 ml ve 0,35 ml saf su ilave edildi. Son hacim 4 ml olacak şekilde destile etanol ilave edildi. Reaksiyon 0,2 ml ve 5 mM'lık ferrozin çözeltisi ilave edilmesiyle başlatıldı. Çözelti vortekste karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra çözeltinin 562 nm'deki absorbanı örnek hariç geriye kalan çözeltiden oluşan köre karşı kaydedildi. Kontrol, ekstre numunesi yerine saf su kullanarak hazırlandı. Sonuçlar %  $Fe^{2+}$  iyonları şelatlama kapasitesi olarak verildi.

İstatistiksel değerlendirme SPSS 10.0 programı ile yapıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırma Varyans analizi (ANOVA) yapılarak ve gruplar arasındaki farklılıklar LSD testinin uygulanması ile bulundu.

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA (FINDING AND DISCUSSION)

Örneklerin metal şelatlama kapasitesi sonuçları Tablo 1' de verilmiştir. Bu analizde  $FeCl_2$ ' nin ferrozin ile koyu mor renkli bir kompleks oluşturmasına dayanılarak spektrofotometrik olarak ölçüm yapılmıştır. Antioksidan maddeler tarafından şelatlanan demir iyonları ferrozin tarafından bağlanamayacağı için oluşacak olan mor renk şiddeti daha düşük olacak ve absorbans daha düşük okunacaktır. Düşük absorbans değeri yüksek şelatlama kapasitesini göstermektedir. Şelatlanan metal iyonu miktarı aşağıdaki denklemden yüzde olarak hesaplandı.

$$\% Fe^{+2} \text{ iyonu şelatlama kapasitesi} = ( (A_{Kontrol} - A_{Numune}) / A_{Kontrol} ) \times 100$$

Formülde verilen  $A_{Kontrol}$  değeri ortamda sadece kompleks oluşturan maddeler olan ferrozin ve  $Fe^{+2}$  iyonların varlığındaki kontrol numunesinin absorbans değeridir.  $A_{Numune}$  ise ortamda örnek ile  $Fe^{+2}$  iyonların varlığındaki numunenin absorbans değeridir.

Metal şelatlama kapasitesi, fenolik bileşiklerin yapısında bulunan fonksiyonel gruplara, bu fonksiyonel grupların pozisyonuna ve bulunma miktarına bağlıdır. Yapısında, -OH, -SH, -COOH, -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, C=O, -NR<sub>2</sub>, -S ve -O fonksiyonel gruplarından en az iki tane bulunduran ve bunların uygun yapı ve fonksiyonel konfigürasyonundaki fenolik bileşiklerin, şelatlama özelliklerinin daha iyi olduğu bilinmektedir [6].

Tablo 1. Anason ve rezene örneklerinin metal şelatlama kapasiteleri  
(Table 1. Metal chelating capacities of anise and fennel samples)

		Örnek sayısı	Kaynatma	Demleme	Ekstraksiyon
Anason (%)	İşlenmemiş Açık	9	76,7±0,6	89,2±0,5 <sup>b</sup>	44,7±2,2 <sup>c, z</sup>
	İşlenmiş Kapalı	9	22,5±6,7	24,5±7,1	41,5±2,1 <sup>b, y</sup>
Rezene (%)	İşlenmemiş Açık	9	78,3±0,6	78,1±11,7	52,4±2,7 <sup>a, x</sup>
	İşlenmiş Kapalı	9	32,9±2,3	34,5±1,2	39,5±2,3

a: p<0.05 b: p<0.01 c: p<0.001 (kaynatmanın demleme ve ekstraksiyona göre karşılaştırılması)

x: : p<0.05 y: p<0.01 z: p<0.001 (demleme ile ekstraksiyon arası karşılaştırma)

Örneklerin metal şelatlama kapasitesi en yüksek oranda işlenmemiş açık olarak temin edilen anason örneklerinde (%89,2) gözlemlendi. Açıkta işlenmemiş olarak temin edilen anason örneklerinde demleme ve kaynatma işlemleri sonucu elde edilen metal şelatlama kapasitesi, ekstraksiyon işlemi sonucu elde edilen metal şelatlama kapasitesinden daha yüksek olduğu belirlendi (p<0.001). Aynı şekilde demleme sonucu elde edilen metal şelatlama kapasitesi hem kaynatma hemde ekstraksiyon sonucu elde edilen değerlere göre anlamlı bulunmuştur (p<0,01). Buna rağmen işlenmiş olarak temin edilen anason örneklerinde ise ekstraksiyon işlemi sonucu elde edilen metal şelatlama kapasitesi, demleme ve kaynatma işlemi sonucu elde edilen metal şelatlama kapasitesinden daha yüksek çıktığı gözlemlendi (p<0,01, p<0,001). Anason ve rezene tohumlarında antioksidan aktivesini belirlemede kullanılan metal şelatlama kapasitesi tayini ile ilgili literatür çalışmaları oldukça azdır. Bulunan sonuçları literatürdeki mevcut çalışmalar ile karşılaştırdığımızda; Gülçin ve arkadaşları anason tohumlarını ekstrakte ederek, toplam antioksidan aktivitesi tayini için metal şelatlama kapasitesi tayini metodu kullanmışlar ve

metal şelatlama kapasitesini etanol ekstraları için 62,5 µg/ml si %33,1 olarak bildirmişlerdir [8]. Bu çalışmada bulduğumuz sonuç ise anason örneklerinin etanol ekstralarının 2,5 mg/ml si %44,7 şeklindedir.

Karşılaştırma yapmak amacı ile literatürde mevcut diğer çalışmalar incelendiğinde ise Gülçin 10 µg/ml konsantrasyonundaki kafeik asit için şelatlama kapasitesi %53.2 olarak bulurken referans antioksidanların aynı konsantrasyondaki metal şelatlama kapasitesini BHA için, %72.1, BHT için %64.3 α tokoferol için %21.6 ve Troloks için %48.5 olarak bulmuştur [12].

Tablo 1' de, işlenmiş ve işlenmemiş rezene örneklerinin kaynatma ve demleme işlemleri sonucu metal şelatlama kapasitesi düzeyleri incelendiğinde aralarında istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi ( $p>0,05$ ). Fakat işlenmemiş rezene örneklerinde, ekstraksiyon işlemi sonucu elde edilen metal şelatlama kapasitesi, kaynatma ve demlemeye göre daha düşük çıktığı tespit edildi ( $p<0,05$ ). Buna karşın kaynatma ve demleme sonucu elde edilen metal şelatlama kapasiteleri sonuçlarının ekstraksiyon işlemi sonucu elde edilen metal şelatlama aktivitesi sonuçlarına göre anlamlı olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ).

Rezene tohumlarında antioksidan aktivitesi tayini için sınırlı sayıda literatür mevcuttur. Bu çalışmalarda; Oktay ve arkadaşları rezene tohumlarının etanol ekstralarında antioksidan aktivitesi, metal şelatlama kapasitesi metodu ile tayin edilmiş ve %30,7 değerini elde etmişlerdir [15]. Faudale ve arkadaşları ise Akdenizin farklı ülkelerinden temin edilen tıbbi, yenilen ve yabancı rezenelerde antioksidan aktivitesini farklı metodlarla tayin etmişler ve tıbbi rezenenin yenilebilir rezeneden yüksek, fakat yabancı rezeneden düşük olduğu görülmüştür [16]. Marino ve arkadaşları rezene meyvesinden izole edilmiş yeni bileşiklerin antioksidan aktivitelerini üç farklı metoduyla yapmış ve bu bileşiklerin güçlü antioksidan özelliklere sahip olmadıklarını belirlemişlerdir [17]. Anwar ve arkadaşları Pakistan'da tüketilen rezene tohumlarının antioksidan özelliklerini farklı çözücü ekstralarda beş farklı metoduyla tayin etmiş ve sentetik antioksidan BHT den daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirtmiştir [18].

Sonuç olarak, yapılan çalışmada anason ve rezene tohumlarına uygulanan değişik yöntemlerle farklı düzeylerde antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Halk sağlığı açısından sonuçlarımızın sonraki çalışmalara yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz.

#### **KAYNAKLAR**

1. Baytop, T., (1999). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün, Nobel Tıp Kitapevleri İstanbul,.
2. Başer, H.C., (2000). Sustainable Wild Harvesting of Medicinal and Aromatic Plants: An Educational Approach, Harvesting on Non-Wood Forest Products, Seminar Proceedings, Menemen-İzmir, Turkey,
3. Baytop, T., (1998). Anadolu Dağlarında 50 yıl (1944-1998), İstanbul.
4. Akgül, A. ve Ünver, A., (2001). Bitkisel çaylar. Gıda Mühendislik Dergisi, (5)11:21-24.
5. Huang, D., Ou, B., and Prior, R.L., (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 1841-1856.
6. Becker, E.M., Nissen, L.R., and Skibsted, L.H., (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects, Review, European Food Research Technology, 219, 561-571.

7. Roginsky, V. and Lissi, E.A., (2005). Review of methods to determine chainbreaking antioxidant activity in food, *Food Chemistry*, 92, 235-254.
8. Gulcin, I., Oktay, M., Kirecci, E. ve Kufrevioglu, O.I., (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts, *Food Chemistry*, 83, 371-382.
9. Elmastas, M., Gulcin, I., Ozturk, L., and Gokce, I., (2005). Investigation of antioxidant properties of spearmint (*Mentha spicata* L.). *Asian Journal of Chemistry*, 17, 137-148.
10. Elmastas, M. Turkecul, I. Ozturk, L. Gulcin, İ., Isildak O. ve Aboul-Enein, H.Y., (2006). The antioxidant activity of two wild edible mushrooms (*Morchella vulgaris* and *Morchella esculanta*). *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening*, 6, 443-448.
11. Gulcin, İ., Koksal E., Elmastas, M., and Aboul-Enein H.Y., (2007). Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activity of *Verbascum oreophilum* C. KOCH var. *joannis*. *Research Journal of Biological Sciences*, 2, 372-382.
12. Gulcin, I., (2005). The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56, 491-499
13. Oktay, M., Yildirim, A., Bilaloglu, V., and Gulcin, I., (2007). Antioxidant activity of different parts of ısgın (*Rheum ribes* L.). *Asian Journal of Chemistry*, 19, 3047-3055.
14. Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., and Almeida, L.M., (1994). Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315, 161-169. (Alınmıstır: Mathew, S. and Abraham, T.E., 2006. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, 94, 520-528).
15. Oktay, M., Gulcin, I., and Kufrevioglu, O.I., (2003). Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology* 36(2), 263-271.
16. Faudale, M., Viladomat, F., Bastida, J., Poli, F., and Codina, C., (2008). Antioxidant activity and phenolic composition of wild, edible, and medicinal fennel from different Mediterranean countries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(6), 1912-1920.
17. De Marino, S., Gala, F., Borbone, N., Zollo, F., Vitalini, S., Visioli, F., and Iorizzi, M., (2007). Phenolic glycosides from *Foeniculum vulgare* fruit and evaluation of antioxidative activity. *Phytochemistry*. 68(13), 1805-1812.
18. Anwar, F., Ali, M., Hussain, A.I., and Shahid, M., (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan *Flavour and Fragrance Journal*. 24(4), 170-176.