

Karadeniz'den toplanan *Ulva lactuca* L. türünün toplam Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

Ayşegül ÇEBİ¹, Elif Neyran SOYLU², Sevilay KABLAN¹

¹Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Giresun, TÜRKİYE

²Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Giresun, TÜRKİYE

Sorumlu Yazar: elif.neyran.soylu@giresun.edu.tr

Geliş Tarihi: 14.11.2016

Kabul Tarihi: 28.11.2016

Özet

Giresun İli Karadeniz sahil bölgesinden toplanan *Ulva lactuca*'da bulunan toplam antioksidan kapasitesini belirlemek amacıyla 2016 Ağustos ayında örnekler toplanmıştır. Toplanan örnekler metanol, etanol ve su çözücülerini içerisinde çözülerek üç ayrı ekstrakt hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraktlarda ferrotiosiyanat metoduna göre toplam antioksidan kapasitesi 12 saatte bir olmak üzere spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Yüzde inhibisyon değeri 12. saatte metanol ekstraktı için 79,63 iken, etanol ekstraktı için 58,24 ve su ekstraktı için 32,48'dir. *Ulva lactuca*'nın metanol, etanol ve su ekstraktlarının absorbans değerleri sırasıyla 48. saatte 0,63; 0,36; 0,44 iken, bilinen antioksidanlar olan BHT ve troloksun 48. saatteki absorbans değerleri 0,45 ve 0,42 olarak bulunmuştur. Karadeniz kıyılarından elde edilen *Ulva lactuca* türünün toplam antioksidan kapasitesinin standart antioksidanlara göre yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Ulva lactuca*, alg, antioksidan, metanol, etanol

Determination of total antioxidant capacity of *Ulva lactuca* L. collected from Black Sea

Abstract

Ulva lactuca samples were collected to determine the total antioxidant capacity from the coast of Black Sea region, Giresun in August 2016. Three different extracts were prepared, while collected samples were dissolved in methanol, ethanol and water diluents. Total antioxidant capacity were measured spectrophotometrically ones in 12 hours according to ferrotiocyanate method in prepared extracts. Ratios of percent inhibition were found as 79.63 for methanol extract, 58.24 for ethanol extract and 32.48 for water extract at 12. hour. Absorbance values of *Ulva lactuca*'s methanol, ethanol and water extracts were 0.63, 0.36, 0.44 at 48. hour, respectively. The absorbance values of BHT and trolox as known antioxidants were found as 0.45 and 0.42, respectively. Total antioxidant capacity of *Ulva lactuca* from Black Sea coast were defined higher than the standart antioxidants.

Keywords: *Ulva lactuca*, algae, antioksidant, methanol, ethanol

Giriş

Denizel ekosistemin çok önemli bir bölümünü oluşturan ve denizin canlı kaynaklarından biri olan algler üzerine yapılan çalışmalar her geçen gün hızla artmaktadır. Dünyada üretilen deniz yosunlarının %50'si gıda sanayinde, %40'ı ilaç ve kozmetik sanayinde ve %10'u diğer alanlarda değerlendirilmektedir (Güner ve Aysel, 1999).

Algler potansiyel olarak antioksidan aktivite gösterirler (Huang ve Wang, 2004). Antioksidanlar, biyolojik sistemlerde hücrelerin önemli sinyal yollarında oksidatif hasara karşı koruma görevi üstlenirler. *Ulva* türlerinin serbest radikal kovucu etkileri ve güçlü antioksidan aktiviteleri tespit edilmiş olup bu aktivitenin *Ulva* sp.'nin içerdiği fenolik bileşenlere bağlı olduğu belirtilmiştir (Garcia ve ark., 2009). *Ulva lactuca* L., fenolik bileşenlerinden dolayı aynı zamanda antimikrobiyal (antifungal, antibakteriyel) aktiviteye de sahiptir (Oranday ve ark., 2004).

Alg ekstraktları ile yapılan çalışmalarda ekstrede bulunan polifenollerin antioksidan etki gösterdiği belirtilmiştir (Duan ve ark., 2006). *Ulva* türlerinin serbest radikal kovucu etkiye sahip antioksidan bileşenlerce zengin olduğu yapılan birçok araştırmayla ortaya koyulmuştur (Premalatha, 2011; Zhou ve ark., 2008). *Ulva lactuca* L. ile yapılan bir araştırmada bu algin içerdiği total fenolik bileşenler sayesinde bitkinin metanol ekstresinin serbest radikal uzaklaştırıcı etki gösterdiği ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Athiperumalsamy ve ark., 2010; Duan ve ark., 2006; El Baky ve ark., 2008; El Baky ve El Baz 2009; Meenakshi ve ark., 2012; Santosa, 2004).

Algler bileşimlerinde; aminoasit, vitamin, protein, terpenoidler, yağ asitleri, mineraller, sterol, fenolik bileşikler, halojene ketonlar, alkanlar, siklik polisülfidler olmak üzere biyolojik aktiviteye sahip birçok madde içerirler (Mtolera ve Semesi, 1996; Mamatha ve ark., 2007). Bu bileşenler arasında yeni farmasötik ajanların geliştirilmesinde yararlı, yüksek biyolojik aktiviteye sahip sekonder metabolitler yer alır (Mayer ve Lehmann, 2000).

Bu çalışmanın amacı Giresun sahillerinde doğal olarak yetişen *Ulva lactuca* türündeki toplam antioksidan kapasitesinin belirlemektir. Bu çalışma ile literatürde tespit edilen önemli bir eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca Karadeniz kıyılarından elde edilen *Ulva lactuca* türünün toplam antioksidan kapasitesinin diğer bölgelerde yayılım gösteren aynı türün benzer ve farklı ekstraktlarının antioksidan

aktivitesiyle de kıyaslanması amaçlanmıştır. Yapılan bu araştırmanın çevresi denizlerle kaplı olan ülkemizde algal biyoteknoloji alanındaki çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Materyal ve Metodlar

Materyal

Alg (Makroalg) Materyali

%75'lik Etil Alkol

%96'lık Etil alkolden 781,25 ml alınıp mezüre konulmuş ve 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

%3,5 Hidroklorik Asit Stoğu

Cam pipet yardımıyla %37'lık HCl çözeltisinden 7,949 ml alınmış ve 100 ml'ye tamamlanmıştır.

0,02M'lık FeCl₂ Stoğu

0,397 g FeCl₂ alınıp %3,5'luk HCl ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

%30'luk Amonyum Tiyosiyonat Stoğu

30 g Amonyum tiyosiyonat alınmış ve 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Linoleik Asit Emisyonu Stok Hazırlanması

45 ml tampon çözeltisi, 155 µl Linoleik asit, 160 ml Tween 20 karıştırılarak stok hazırlanmıştır.

Ulva lactuca'nın Sınıflandırılması ve Genel Özellikleri

Ordo: Ulvales

Familiya: Ulvaceae

Genus: Ulva

Ulva lactuca, Linnaeus, 1753.

Tallusları yaprak şeklindedir. İç boş tüp veya silindir şekilli, 1-2 hücre tabakasından ibarettir. Tallusu oluşturan hücreler tek nükleuslu ve çanak şekilli kloroplastlıdır. A vitamini ihtiva eder. Akdeniz ülkelerinde ve Asya'da salata olarak kullanılır (Aysel ve ark., 1998).

Metodlar

Makroalglerden *Ulva lactuca* deniz yosunu çeşitliliği bakımından zengin olan Giresun sahil şeridinden Ağustos ayında toplanmıştır. Deniz kıyısından toplanan algler deniz suyu ile yıkanarak epifitler, sedimentler ve diğer organik maddelerden temizlenmiştir. Temizlenen algler poşetler içerisinde laboratuvara taşınıp, tuz ve kirliliğin giderilmesi amacıyla musluk suyu ile yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra hazırlanan yosunlar parçalama işlemine tabi tutulmuştur. Kurutma işleminin ardından mekanik öğütücü ile toz haline getirilmiştir. Etanol, metanol ve su çözücüleri ile evaporatörde ekstrakte edilmiştir.

Ekstraktların Hazırlanışı

Kurutulan ve öğütülen yosun örnekleri etanol ve metanol ve su çözücüleri kullanılarak ekstraktlar hazırlanmıştır. Etanol, metanol ve su ekstraksiyonu için 20'şer gram bitki örneği 400 ml çözücü ile oda koşullarında çalkalamalı su banyosunda 300 rpm'de 3 saat inkübe edilmiştir (Tawaha, 2007). Süzgeç kâğıdından süzülmesinin ardından, süzüntülerin çözücüleri bir süre evaporatörde 40 °C'de uçurulmuştur. Daha sonra beherlere alınarak etüvde 40 °C'de kazınacak forma gelene kadar çözücülerin uçması beklenmiştir. Antioksidan aktivite denemelerinde çalışılacak olan konsantrasyonlar için metanol ekstraktı metanolde, etanol ekstraktı etanolde ve su ekstraktı da su içerisinde 200 µg/ml olacak şekilde çözülmüştür.

Ferrik Tiyosiyonat Metodu ile Total Antioksidan Kapasitesi Tayini

Antioksidan aktivite ferrik tiyosiyonat metodu kullanılarak (Pan ve ark., 2007) belirlenmiştir. Bu metotta in vitro koşullarda linoleik asit oksidasyonu oluşturulur ve oksidasyon sırasında Fe²⁺ iyonları Fe³⁺ iyonlarına yükseltgenir. Belirli aralıklarla inkübasyondaki karışımdan örnek alınarak spektrofotometrik ölçüm ile peroksitlerin oluşumu takip edilir. Yüksek absorban değerleri yüksek peroksit konsantrasyonunu gösterir.

Belirli konsantrasyondaki örnek ekstraktından 1ml alınıp üzerine 0,02 M pH=7 olan fosfat tampon çözeltisi, 155 µl Linoleik asit, 160 ml Tween20 karışımından 45 ml eklenerek iyice karıştırılmıştır. Daha sonra reaksiyon karışımı ağzı kapaklı tüplerde 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sırasında çeşitli zaman aralıklarında 0,1 ml

örnek alınarak üzerine 4,7 ml %75 v/v etanol, 0,1 ml %30 w/v amonyum tiyosiyonat ve 0,1 ml 0,02 M FeCl₂ eklenmiş ve vorteks ile karıştırılmıştır.

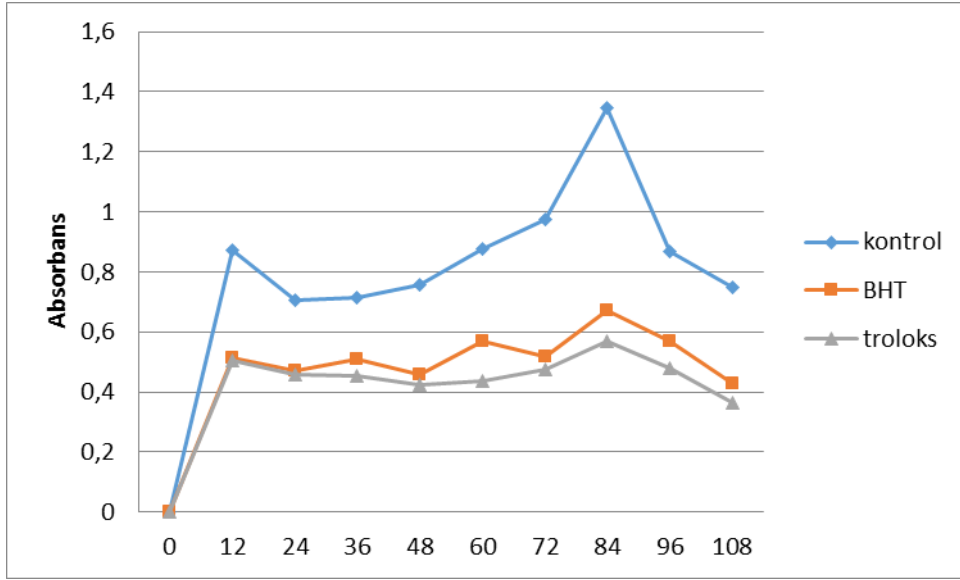
Lipit oksidasyonu sonucu oluşan peroksitler Fe⁺² iyonlarını Fe⁺³'e yükseltir ve oluşan Fe⁺³ tiyosiyonat ile reaksiyona girerek 500 nm'de maksimum absorbansa sahip bir kompleks oluşturur. Aynı koşullar antioksidan madde içermeyen kontrol örneği içerisinde uygulanmıştır. Yapılan tüm deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş olup ortalamaları alınmıştır.

Lipit peroksidasyonu inhibisyonu hesaplanması aşağıdaki formül ile yapılmıştır;

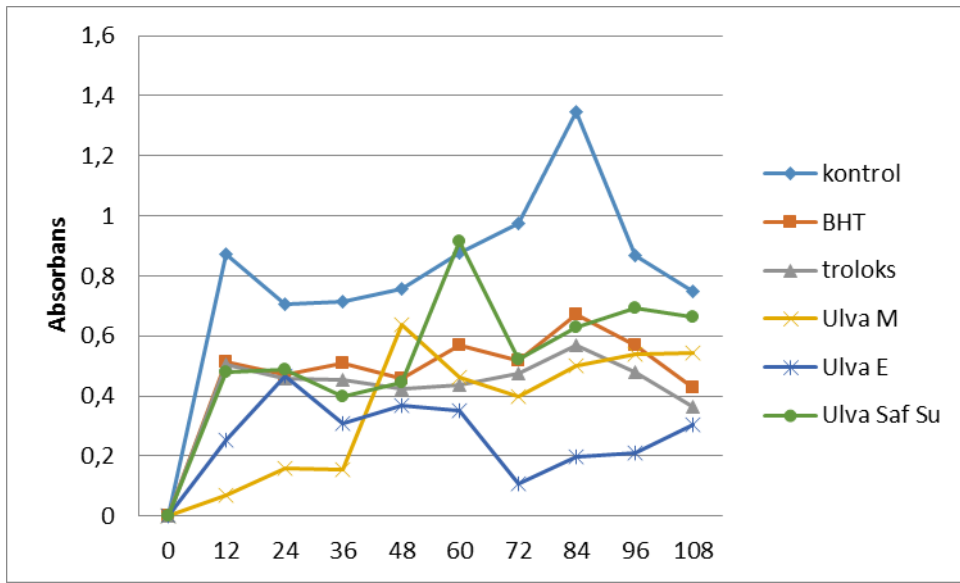
$$\%LPI = 100 - [(Abs\text{örnek} / Abs\text{kontrol}) \times 100]$$

Sonuçlar ve Tartışma

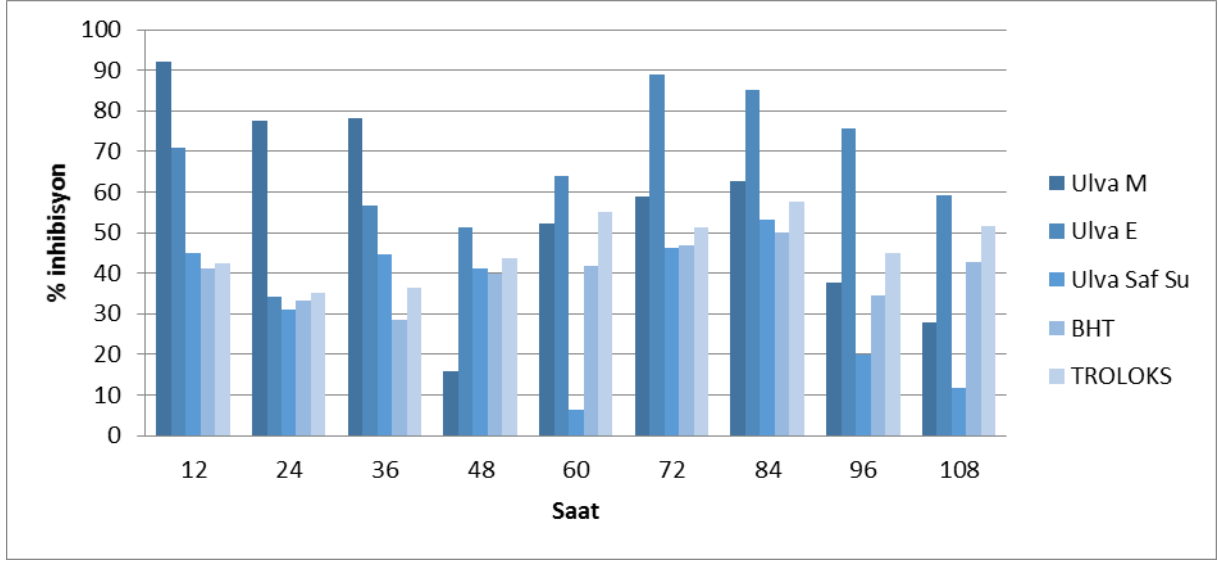
Ulva lactuca ekstraktının üç ayrı çözücüdeki toplam antioksidan aktivite tayini ferrik tiyosiyonat yöntemiyle yapılmıştır. Ölçümler 12 saat aralıklar ile yapılmış olup 108. saatte sonlandırılmıştır. Bilinen antioksidan olan BHT ve troloks pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Absorbans değerinin yüksekliği peroksit konsantrasyonunun da yüksek olduğunu gösterir ki bu da toplam antioksidan kapasitesinin düşük olduğu anlamındadır. İçerisinde antioksidan madde barındırmayan kontrol pozitif kontrollere (BHT ve troloks) göre tüm zaman aralıklarında (12. ve 108. saatler arasında) yüksek absorbans göstermektedir (Şekil 1). Kontrol ile kıyaslandığında *Ulva lactuca*'nın metanol, etanol ve su ekstraktları tüm zaman aralıklarında düşük absorbans değerine sahiptir (Şekil 2). Değerlendirme yaparken 48. saatlik ölçümler baz alınmıştır. *Ulva lactuca*'nın metanol, etanol ve su ekstraktlarının absorbans değerleri sırasıyla 48. saatte 0,63; 0,36; 0,44 iken, bilinen antioksidanlar olan BHT ve troloks'un 48. saatteki absorbans değerleri 0,45 ve 0,42'dir. İçerisinde antioksidan madde olmayan kontrolün 48. saatteki absorbans değeri ise 0,75 olarak ölçülmüştür. *Ulva lactuca*'nın metanol, etanol ve su ekstraktlarının yüzde inhibisyon değerleri sırasıyla 48. saatte 15,95; 51,31 ve 41,27 olarak hesaplanmıştır. BHT ve troloksun yüzde inhibisyon değerleri sırasıyla 39,85 ve 43,81 olarak hesaplanmıştır (Şekil 3). Bu sonuçlara göre toplam antioksidan kapasitesi sırasıyla, etanol ekstraktı > troloks > su ekstraktı > BHT > metanol ekstraktı olarak değerlendirilebilir. Çözücüler kıyaslandığında etanol ekstraktı, metanol ve su ekstraktına göre daha yüksek antioksidan kapasite göstermiştir. Etanol çözücüsünün *Ulva lactuca* içerisindeki antioksidan maddeleri daha iyi açığa çıkardığı söylenebilir.



Şekil 1. Kontrol, BHT ve troloks'un absorbans değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 2. Ulva lactuca'nın metanol, etanol ve su ekstraktlarının pozitif ve negatif kontrol ile karşılaştırılması



Şekil 3. *Ulva lactuca*'nın metanol, etanol ve su ekstraktlarının % inhibisyon değerlerinin gösterilmesi

Mısır'da yapılan bir çalışmada, *Ulva lactuca* türlerinin yaz sezonunda en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir (Khairy ve ark., 2015). Bunun yanında, karotenoid ve fenolik bileşikler gibi yüksek antioksidan kapasiteye sahip bileşiklere sahip olduğu da bu çalışmada gösterilmiştir (Khairy, 2015). Yapılan araştırmalar doğal antioksidanların karasal kaynaklar ile sınırlı olmadığını, deniz yosunlarının da doğal antioksidan içerik olarak zengin olduğunu ortaya koymuştur (Lim ve ark., 2002; Duan ve ark., 2006).

Akdeniz'den elde edilen *Ulva lactuca* ile ilgili yapılan başka bir çalışmada laboratuvar koşullarında deniz suyu ve suni bir medyum kullanılarak yetiştirilen *Ulva lactuca* türünün metanol ekstraktının antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Her iki ortamda da yetişen yosunların benzer antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (El Baky ve ark., 2008).

Sonuç olarak, Karadeniz kıyılarından elde edilen *Ulva lactuca* türünün toplam antioksidan kapasitesi yüksek bulunmuştur. Özellikle etanol ile elde edilen ekstrakt en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olarak tespit edilmiştir. Bu konuda daha kapsamlı analizlerin yapılması gerekmektedir.

Kaynaklar

- Athiperumalsamy T., Rajeswari V. D., Poorna S. H., Kumar V. ve Jesudas L. L. 2010. Antioxidant activity of seagrasses and seaweeds. *Bot. Mar.*, 53: 251 – 7.
- Aysel V. , Çetingül V., Düzyatan K.C., Artürk A.ve Günhan, E. 1998. The marine flora of Patara, Kalkan (Antalya, Akkdeniz, Turkey). *Celal Bayar Univ. J. Fac. of Science.* 1: 98 – 105.
- Duan X. J., Zhang W.W., Li X. M. ve Wang B.G. 2006. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chem.* 2006; 95: 37 – 43.
- El Baky H. H. A. , El Baz F. K. ve El Baroty G. S. 2008. Evaluation of marine alga *Ulva lactuca* L. as a source of natural preservative ingredient. *American – Euroasian J. Agric & Environ. Sci.* 3: 434 – 44.
- El Baky H. H. A. ve El Baz F. K. 2009. Natural preservative ingredient from marine alga *Ulva lactuca* L. *International Journal Of Food Science and Technology.* 44: 1688 – 95.
- Garcia Casoll M. M. et al. Antioxidant capacity, polyphenol content iron bioavailability from algae (*Ulva* sp., *Sargassum* sp. and *Porphyra* sp.) in human subjects. *British Journal of Nutrition.* 2009; 101: 79 – 85.
- Güner, H., ve Aysel, V. 1999. The systematic of Cryptogams, (in Turkish). Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 108, 249s.
- Huang H.L ve Wang B. G. 2004. Antioxidant capacity and lipophilic contents of seaweeds collected from the Qingdao coastline. *J. Agric. Food Chem.* 52: 4993 – 97.
- Khairy H.M. ve El-Sheikh M. A. 2015. Antioxidant activity and mineral composition of three Mediterranean common seaweeds from Abu-Qir Bay, Egypt. *Saudi J Biol Sci.* Sep;22(5):623-30.
- Lim, S.N., Cheung, P.C.K., Ooi, V.E.C. ve Ang, P.O. 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed *Sargassum siliquastrum*. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3862–3866.
- Mamatha et al. 2007. Studies on use of *Enteromorpha* in snack food. *Food Chem.* 101: 1707 – 13.
- Mayer A.M.S. ve Lehmann V. K. 2000. Marine compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, antiinflamatuvar, antihelmintic, antiplatelet, antiprotozoal and antiviral activities with actions on the cardiovascular, endocrine, immune and nervous systems and other miscellaneous mechanisms. *Pharmacologist*, 42: 62 – 9.
- Meenakshi S., Umayaparvathi S., Arumugam ve Balasubramanian T. 2012. In vitro antioxidant properties and FTIR analysis of two seaweeds of Gulf of Mannar. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*, 66 – 70.
- Oranday M., Verde M. J. , Martinez L. S. J. ve Walksman N. H. 2004. Active fractions from four species of marine algae. *International Journal of Experimental Botany*, 165 – 70.
- Pan Y., Zhang X., Wang H., Liang Y., Zhu J., Li H., Zhang Z. ve Wu Q. 2007. Antioxidant potential of ethanolic extract of *Polygonum cuspidatum* and application in peanut oil. *Food Chem.* 105(4), 1518-1524.
- Premalatha M. 2011. Phytochemical characterization and antimicrobial efficiency of seaweed samples *Ulva fasciata* and *Chaetomorpha antennia*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2.
- Santosa J., Yumika Y. ve Takeshi S. 2004. Antioxidant activity of methanol extracts From Indonesia seaweeds in an oil emulsion model. *Fish Science*, 70: 183 – 8.
- Zhou J. , Hu N. , Wu Y. L., Pon Y. J. ve Sun C. R. 2008. Preliminary studies on the chemical characterization and antioxidant properties of acidic polysaccharides from *Sargassum fusiforme*. *J: Zheijang Univ. Sci. B.* 9: 721 – 7.