

## The Effect of *Mentha Spicata L.* Dry Powder and its Different Types Extracts on Certain Biochemical Parameters and Total Anti-oxidant Capacity<sup>#</sup>

Ayşe ÖZDEMİR<sup>1\*</sup>, Nalan Bayşu SÖZBİLİR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uşak Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü, Uşak/TURKEY

<sup>2</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Afyonkarahisar/TURKEY

Corresponding author e-mail: ayseozdemir1970@hotmail.com

<sup>#</sup>Bu Makale aynı isimli doktora tezinden özetlenmiş olup; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 08-VF-07 proje numarası ile desteklenmiştir

### S U M M A R Y

The plant *Mentha spicata*, or peppermint, is member of the Labiatae family, commonly used in the treatment of loss of appetite, common cold, bronchitis, sinusitis, fever, nausea and vomiting, and indigestion as a herbal agent. Although anti-oxidant effects of flavonoid containing plants have been investigated largely, studies in their interactions with enzymatic and nonenzymatic antioxidants and vitamins together with dead mentha powder are rare. The present thesis was carried out to investigate the effects of certain biochemical parameters and *Mentha spicata*, on anti-oxidant levels.

**Key Words:** *Mentha Spicata L.*,  $\beta$ -Carotene, Vitamin C, Glutathione, Anti-Oxidant

## *Mentha Spicata L.* Kuru Tozunun ve Farklı Tip Ekstrelerinin Bazı Biyokimyasal Parametreler ve Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkileri

### ÖZ

*Mentha spicata* (peppermint), Labiatae familyasına ait bir bitkidir. İştah azalması, soğuk algınlığı, bronşit, sinüzit, ateş, mide bulantısı, kusma ve hazımsızlıkta kullanılan bitkisel bir ajandır. Flavonoid içerikli bitkilerin özellikle antioksidan etkileri yıllardır araştırılıyor olmasına karşın, kuru nane tozu ile birlikte enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar ile vitaminler arasındaki etkileşimleri ele alan çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu tez, *Mentha spicata*'nın bazı biyokimyasal parametrelere etkilerini ve antioksidan aktivitesini araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Mentha Spicata L.*,  $\beta$ -karoten, Vitamin C, Glutasyon, Antioksidan

## GİRİŞ

Halk ilaçları olarak kullanımı alternatif tıp doğrultusunda gittikçe artan bitkiler, günümüzde ilaç, antibiyotik, baharat, gıda, gıda katkıları, kozmetik, parfümeri, içecek, boya, böcek öldürücü, dekoratif gibi çok geniş bir bölümde hizmete sunulmuşlardır (Karadoğan, 2003). Biyoteknolojik araştırma grupları, yeni antimikrobiyal ilaçları geliştirmek amacıyla doğal bitki bileşiklerine odaklanmakta, antibiyotiklere karşı görülen dirençliliğe bağlı olarak oluşan kronik hastalıklarla birlikte antibiyotiklerle tedaviye alternatif veya destek olabilecek potansiyel stratejiler ortaya çıkarmaktadırlar. (Fux ve ark., 2003; Schachter, 2003; Lewis, 2001). Türkiye florasında yetişen özellikle Lamiceae (Labiatae) familyasının pek çok üyesi (kekik, mercanköşk, sater, karabaşotu, adaçayı, yayla çayı, nane, oğulotu, fesleğen, biberiye, lavanta gibi) koku, tat, baharat, ilaç, içecek gibi pek çok alanda kullanılmakta (Karadoğan, 2003), bu bitkilerin birçoğu içerdiği fitokimyasal maddeler bakımından, hastalıkların tedavi edilmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu yüzden günümüzde, bitkilerin yapısında bulunan kimyasal maddeler araştırılmakta ve bu maddelerin çeşitli hastalıklardaki koruyucu özellikleri incelenmekte, eterik yağlar, kapsaisinler, tanenli maddeler, mineraller, glikozitler, alkaloidler, saponinler, flavonoidler ve vitaminler gibi genel gruplar altındaki binlerce fitokimyasal maddenin etkileri artan bir yoğunlukta çalışılmakta ve tartışılmaktadır (Francis ve ark., 2002; Dündar, 2001; Sen ve ark., 1998). *Mentha spicata* türleri aromatik bitkiler olarak yetiştirilir. Bu bitki genuslarından birçok terpenoid ve flavonoid izole edilmiştir. Flavonoidler ve diğer bitki fenoliklerinin radikal temizleme, demir ve bakır şelasyonu, tokoferol rejenerasyonu fonksiyonlarına ek olarak; damarları genişletici, vücut direncini arttırıcı, alerjiyi önleyici, östrojenik ve virüslere karşı koruyucu etkileri de söz konusudur (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Arzani ve ark., 2007). Çalışmamızda *Mentha spicata* L.'nin kuru tozu ve ekstralarının rasyona katılmasının hayvan yemine besleyici özellik katıp katamayacağı, membran lipidlerine, proteinlere ve DNA üzerine doğal oksidasyon reaksiyonlarının zararlı etkilerine karşı koruyucu etki sağlayıp sağlayamayacağı değerlendirilmiştir.

## MATERYAL VE METOD

### Deney Hayvanı

Araştırmada deneysel amaçlı 2–3 aylık 180–240 g ağırlığında 50 adet erkek Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Araştırma Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi biyokimya laboratuvarında; AKÜ Hayvan Etik Kurulunun 05-08 referans numaralı onayı doğrultusunda gerçekleştirildi. Sıçanlar Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde barındırıldı. Her bir grupta 10 adet sıçan bulunacak şekilde, toplam 50 adet sıçan, ikisi kontrol, üçü deneme olmak üzere 5 gruba ayrıldı.

## Deneysel Gruplar

Deney hayvanları 7 günlük diyetle alıştırmaya dönemi takiben, 21 günlük deneme süresi boyunca iki kez standart yem ve su verildi. (normal oda sıcaklığında ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık). Deneme süresi boyunca gruplara aşağıda hazırlanan ekstralar + standart yem verilmiştir.

1. Grup: Pozitif kontrol grubu(K): Standart rat yemi+ İçme suyu
2. Grup: Negatif kontrol grubu(CMC): Standart rat yemi + 1ml %0,5lik sodyum
3. Grup *Mentha spicata* L. sulu ekstralı grup (MS): Standart rat yemi + 1gr /kg vücut ağırlığı *Mentha spicata* L. sulu ekstresi (gavajla) + İçme suyu
4. Grup *Mentha spicata* L. dietileter ekstralı grup (MD): Standart rat yemi + 1gr/kg/vücut ağırlığı *Mentha spicata* L.'nin dietileterli ekstresi+1ml %0,5lik sodyum karboksimetil selüloz (CMC) (gavajla)+ İçme suyu
5. Grup *Mentha spicata* L. kuru tozu verilen grup (MT): Standart rat yemi +200 ppm *Mentha spicata* L. kuru tozu: *Mentha spicata* L. kuru tozu yem içine karıştırılarak verilmiştir. + İçme suyu

## *Mentha spicata* L'nin Ekstrelerinin Hazırlanması

Literatür bilgileri göz önüne alınarak Uşak ili çevresinden nane örnekleri toplanmış ve bunların Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Başkanı Prof. Dr. Mecit VURAL tarafından yapılan incelemeleri sonucunda Uşak ili Kaşbelen Köyü mevkiinden toplanan örneklerin *Mentha spicata* L. olduğu tespit edilerek kullanılmak üzere ayrılmıştır (Eryiğit, 2006). Eş örneği Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumunda saklanmaktadır. *Mentha spicata* L. toprak üstü kısımları, 2008 yılının haziran ayının 3. haftasında, bitki çiçekli haldeyken toplanmış ve gölgede kurutulduktan sonra toz edilerek kullanılmıştır.

Ekstraksiyon: *M. spicata* üzerinde biyolojik çalışmaların yürütülebilmesi amacıyla bitkinin toprak üstü kısımları su ve dietil eter ile ekstraksiyona tabi tutulmuştur.

## Kan Örneklerinin Alınması

21 günlük deneme süresi sonunda, bir gece öncesinden yem verilmeyen hayvanlar 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi altına alınmış ve kalpten 5ml'lik enjektörlerle heparinli ve heparinsiz tüplere ortalama 6-9 ml kan alınarak incelenmiştir.

## Biyokimyasal Analizler

Kanda, malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) aktivite tayinleri hemen gerçekleştirildi. Kanda glutatyon düzeyleri Beutler et al., (1986) ve malondialdehid düzeyleri Draper and Hardley (1990)

göre spektrofotometrik olarak belirlendi. Serum C vitamini düzeyleri Kway (1978) tarafından bildirilen yöntemle, Serum A vitamini ve  $\beta$ -karoten düzeyleri Suzuki ve Katoh (1990) tarafından bildirilen yöntemle saptandı. Serumda antioksidan aktivite düzeyleri Koracevic et al.,(2001) göre yapıldı. Katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz (Cayman Chemical Company, 2006), glutatyon peroksidaz (Cayman Chemical Company, 2006) enzimlerinin tayinleri ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçümü ve değerlendirilmesi gerçekleştirildi.

Dünyada yaygın olarak tüketilen ve aromatik bitkiler olarak yetiştirilen, günlük yaşantımızda çok kullandığımız, türlerinden birçok terpenoid ve flavonoid izole edilmiş Mentha ve bu bitki genusundaki bitkilerin içerikleri hakkında yapılan çalışmalar olmasına rağmen (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Arzani ve ark., 2007), ekstrelerinin yanında Mentha Spicata L.'nin kuru tozunun verilerek, oksidatif parametreler ve vitaminlerin beraber değerlendirmeye alındığı çalışmalara rastlanılmamıştır. Bu bakımdan değerlendirildiğinde orijinlik arz eden çalışmamızda, hayvan materyali olarak kullanılan ratlar 5 gruba ayrılarak, bu gruplara standart rat yemi ve bununla birlikte sulu ve dieterli ekstre, CMC ve kuru nane tozu verilmiştir. Mentha ve bunların ekstraktlarından incelenmesi amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular neticesinde, oral olarak kullanılan sulu ekstraktının 1 g/kg canlı ağırlık/gün olması gerektiği bildirimlerinden ( Samarth ve ark. , 2006; Sharma ve ark. ,2007 ) hareketle çalışmada, mentha'dan elde edilen sulu ve dietileterli ekstraktının 1 mg/kg canlı ağırlık dozu kullanılmıştır. Kuru tozu ile yapılan çalışmaya rastlanılmadığından ve toksik doz ile ilgili yeterli çalışma bulunmadığından dolayı 200 ppm mentha kuru tozu ilk defa çalışmamızda kullanılmıştır. Çalışmada mentha ekstraksiyonunda kullanılan CMC nin muhtemel etkilerinin ortaya konması amacıyla, kontrol yemiyle beslenen ratlara 1ml % 0,5 lik sodyum karboksimetil selüloz (CMC) gavaj yolu ile verilmiştir.

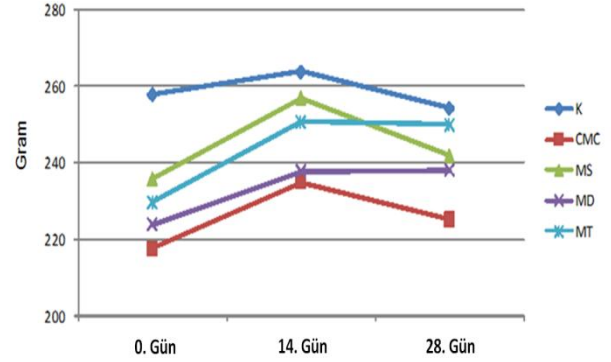
## BULGULAR

### Canlı Ağırlığı Profilleri

Çalışmanın başında (0. gün), ortasında(14. gün) ve sonunda (28. gün) olmak üzere 3 kez ratların ağırlıkları ölçülerek kaydedildi. Ratların beden ağırlıkları, özellikle deneme süresinin 14. gününden sonra kuru nane tozu verilen MT grubunda ve dieterli ekstre verilen MD grubu dışındaki tüm gruplarda azalmış olarak gözlemlense de ağırlık değişimleri açısından istatistiki olarak anlamlılık görülmediği anlaşılmaktadır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bu veriler, uygulanan dozda Mentha Spicata L. sulu ve dietileterli ekstrelerinin ratların canlı ağırlığı üzerine koruma kapasitesine sahip olabileceğini ancak günlük ağırlık ölçümü

kaydedilerek yapılacak daha spesifik çalışma ile mentha tozunun ve ekstrelerinin ağırlık değişimi ve yem kalitesi gibi parametrelere etkilerinin etkin bir şekilde aydınlatılabileceği düşünülmektedir.

### AĞIRLIK DEĞİŞİMİ



**Grafik 1:** The profile of body weight (positive control group(C Group;n=10), negative control group (CMC group; n=10), Mentha spicata aqueous group (MS) Mentha spicata dietileter group (MD group; n=10), Mentha spicata powder group (MT group; n=10))

**Grafik 1:** Canlı Ağırlığı Profili (K: Pozitif kontrol grubu, CMC: Negatif kontrol grubu, MS: Sulu ekstreli grup, MD: Dietileterli ekstreli grup, MT: Kuru tozu verilen grup)

### Vitaminler ve Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişimler

DeneySEL süreç sonunda çalışmamızda oluşturulan beş deneme grubundan alınan kan örneklerinde ölçülen  $\beta$ - karoten, A, C vitaminleri, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, malondialdehid, süperoksit dismutaz enzimleri ve total antioksidan kapasite düzeyleri tayin edilmiştir. Bu göstergelerin araştırma süresi sonundaki düzeylerine ait bulguların istatistiksel değerleri ve karşılaştırması yapılmış ve veriler Tablo 4.2.'de sunulmuştur.

### TARTIŞMA

Türkiye florasında yetişen özellikle Lamiceae (Labiatae) familyasının pek çok üyesi (kekik, mercanköşk, sater, karabaşotu, adaçayı, yayla çayı, nane, oğulotu, fesleğen, biberiye, lavanta gibi) koku, tat, baharat, ilaç, içecek gibi pek çok alanda kullanılmaktadır (Karadoğan, 2003). Dünyada yaygın olarak tüketilen ve aromatik bitkiler olarak yetiştirilen, günlük yaşantımızda çok kullandığımız, türlerinden birçok terpenoid ve flavonoid izole edilmiş Mentha ve bu bitki genusundaki bitkilerin içerikleri hakkında yapılan çalışmalar olmasına rağmen (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008; Arzani ve ark., 2007), ekstrelerinin yanında Mentha Spicata L.'nin kuru tozunun verilerek, oksidatif parametreler

ve vitaminlerin beraber değerlendirmeye alındığı çalışmalara rastlanılmamıştır.

**Table 1:** Vitamin and Biochemical Parameters Finding's Arithmetic Means( ), standart Deviation (SEM) and significance level (P)

**Tablo 1:** Vitaminler ve Biyokimyasal Parametrelerdeki Bulguların Aritmetik Ortalama ( ), Standart Hata (SEM) ve Anlamlılık Düzeyleri (P) a, b, c, d, e: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

Parametre	n	I. Grup(K) Pozitif Kontrol	II. Grup Negatif Kontrol	III. Grup(Ms) Sulu Ekstreli Grup	IV. Grup(Md) Dietilerli Ekstreli Grup	V. Grup(Mt) Kuru Tozu Verilen Grup	P
MDA (nmol/ml)	10	8,88±0,52 <sup>a</sup>	5,82±0,47 <sup>d</sup>	6,54±0,51 <sup>cd</sup>	7,53±0,22 <sup>bc</sup>	7,95±0,39 <sup>ab</sup>	0,000
TAK (mmol/L)	10	1,53±0,18 <sup>ab</sup>	1,59±0,08 <sup>a</sup>	1,51±0,17 <sup>ab</sup>	1,13±0,16 <sup>b</sup>	1,71±0,06 <sup>a</sup>	0,049
GSH (µmol/L)	10	44,11±1,14 <sup>bc</sup>	52,92±2,31 <sup>a</sup>	48,06±2,07 <sup>ab</sup>	41,39±2,68 <sup>c</sup>	51,17±1,31 <sup>a</sup>	0,001
Vit A (µmol/dl)	10	27,77±0,73	29,54±1,68	28,40±0,65	30,20±0,85	28,88±0,73	0,486
β-karoten (µmol/dl)	10	4,37±0,31	4,15±0,79	4,82±0,19	5,41±0,29	4,10±0,77	0,171
SOD (u/gHb)	10	8,11±0,59	8,57±1,69	7,20±0,95	6,55±0,79	6,73±0,74	0,578
Katalaz (k/grHb)	10	81,25±6,84	116,21±30,22	89,17±11,65	67,34±5,37	72,47±10,67	0,227
GPx (nmol/min/ml)	10	0,58±0,30 <sup>ab</sup>	0,17±0,03 <sup>b</sup>	0,42±0,12 <sup>ab</sup>	0,52±0,11 <sup>ab</sup>	0,91±0,09 <sup>a</sup>	0,043
GR (nmol/min/ml)	10	0,12±0,05	0,11±0,03	0,13±0,02	0,12±0,03	0,23±0,05	0,212
Vit C (mg/dl)	10	1,73±0,07 <sup>b</sup>	2,78±0,33 <sup>a</sup>	1,71±0,13 <sup>b</sup>	2,25±0,17 <sup>ab</sup>	1,96±0,21 <sup>b</sup>	0,003

Bu bakımdan değerlendirildiğinde orjinallik arz eden çalışmamızda, hayvan materyali olarak kullanılan ratlar 5 gruba ayrılarak, bu gruplara standart rat yemi ve bununla birlikte sulu ve dieterli ekstre, CMC ve kuru nane tozu verilmiştir. Hayvanlarda performans ve verimi üzerine aromatik bitkilerin etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, aromatik bitkiler ve bu bitkilerden elde edilen esans yağların büyüme faktörü olarak kullanımı ile hayvanlarda yem tüketimi, yemden yararlanma, canlı ağırlık artışı gibi parametrelerde önemli düzeyde pozitif yönde gelişme sağlandığı, Alçıçek ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada, 6 farklı esans yağ (kekik, adaçayı, defne, mersin, rezene, turunil) içeren karışımın 48 mg/kg düzeyinde broyler rasyonuna katılması ile canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma ve karkas veriminin hem kontrol grubuna göre hem de 10 mg/kg düzeyinde antibiyotik katılan gruba göre daha yüksek olduğu, aromatik bitkilerin canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma üzerine olan benzer etkileri yapılan birçok araştırma tarafından da doğrulanmış olmasına rağmen (Alçıçek ve ark., 2003; Mandal ve ark., 2000; McCartney, 2002; Tucker, 2002), bu çalışmada tüm gruplar ve ölçüm günleri karşılaştırıldığında ağırlık değişimleri açısından istatistiki olarak anlamlılık görülmemiştir. Çalışmamızda ratların beden ağırlıkları, özellikle deneme süresinin 14. gününden sonra kuru nane tozu verilen MT grubunda ve dietil eterli ekstre verilen MD grubu dışındaki tüm

gruplarda azalmış olarak gözlemlense de ağırlık değişimleri açısından istatistiki olarak anlamlılık görülmemiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgu ile diğer bildirimler (Alçıçek ve ark., 2003; Mandal ve ark., 2000; McCartney, 2002; Tucker, 2002; Ramakrisna ve ark. 2003; Langhout, 2000; Djouvinov ve ark., 1997) arasındaki farklılığın nedeni, farklı Mentha eşidi kullanılması, kullanılan nane ekstraktlarının uygulama dozu ve ekstraktların eldesinde kullanılan ekstraksiyon işlemi, nanenin kurutulması kullanılması, değişik sindirim sistemine sahip deney hayvanları ve bunların sindirim sistemi enzimlerinin etkilerinden kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bu veriler, uygulanan dozda sadece Mentha Spicata L. sulu ve dietilerli ekstrelerinin ratların canlı ağırlığı üzerine koruma kapasitesine sahip olabileceğini ancak günlük ağırlık ölçümü kaydedilerek yapılacak daha spesifik çalışma ile mentha tozunun ve ekstrelerinin ağırlık değişimi ve yem kalitesi gibi parametrelere etkilerinin etkin bir şekilde aydınlatılabileceği düşünölmektedir. Çalışmamızda, negatif kontrol (CMC) grubu, MDA düzeylerinde anlamlı bir düşüş sergilemiştir. Özellikle K kontrol grubuna göre MS grubunda belirgin bir azalma görölmüştür. MT grubunda ise K kontrol grubuna göre rakamsal bir düşüş vardır. Negatif kontrol (CMC) grubunda MDA düzeylerine göre dietilerli ekstreli uygulanan MD grupta MDA düzeylerinde artış vardır. CMC ve MD grup

arasındaki MDA düzeyi farklılıkları istatistiksel anlamda önemlidir ( $p=0,000$ ). M. Spicata dietileterli ekstresi verilen deneme gruplarında, ratların MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılıkta baskılanmadığı görülmektedir. Ayrıca MD grubunda da MDA ve dolayısıyla lipid peroksidasyonu artmıştır. İntragastrik gavaj yapılması ratlarda stres yarattığı düşünülerek CMC grubunda MDA'nın normalde artması (Oğul, 2006) beklenirken, anlamlı bir düşüş sergilenmiş olması, belli bir süreden sonra ratların bu uygulamaya alışarak adaptif bir yanıt oluşturduklarını düşündürmektedir. CMC grubunda MDA düzeylerinde anlamlı bir düşüş sergilemiş olması ilgi çekici bir bulgu olarak görülmekle birlikte sulu ekstre verilen MS grubunda MDA düzeylerinde istatistiksel azalışın görülmesi deney süresinde lipidlerin otooksidasyona karşı Mentha Spicata L.'nin sulu ekstresinin koruyucu etki gösterebileceğini ortaya koymakla birlikte, kuru tozunun da sulu ve dieterli ekstrelerin yanında etkili olabileceğini ancak farklı mentha çeşitleri ve miktarlarıyla denenmesini, ayrıca CMC'nin lipid peroksidasyonu ve antioksidan kapasiteye etkilerinin araştırılması gerektiğini ortaya koymuştur. Deney gruplarındaki ratların total antioksidan kapasite düzeyleri incelendiğinde, CMC li kontrol grubuna göre MD grubunda antioksidan kapasite düzeyinin istatistiki olarak azaldığı, nane tozu verilen MT grubunda, K kontrol grubuna göre antioksidan kapasitenin rakamsal olarak arttığı görülmektedir. Bu bulgumuz incelendiğinde Mentha Spicata L.'nin kuru tozunun TAK'yi artırdığı ancak nane tozunun lipid peroksidasyonunu oluşumunu engellemedeki potansiyelinin çok fazla olmadığı ve antioksidan kapasiteyi istatistiksel anlam ifade etmeyen rakamsal anlamda güçlendirdiği görülmektedir. Bu çalışmada çözücü amaçla kullanılan CMC'nin antioksidan aktivitesinin, normal deneme gruplarından daha fazla olduğu görülmektedir. Ancak sadece nane tozu verilerek yapılan çalışmalar olmadığından dolayı, değişik miktarlarda ve farklı Mentha çeşidi kullanılarak yapılacak spesifik çalışmalarla antioksidan kapasiteye etkilerinin aydınlatılmasına ihtiyaç vardır. Çalışmamızda, deney gruplarındaki ratların GSH düzeyleri, istatistiksel anlamlılıkta arttığı görülmektedir. Glutasyon üzerine Mentha Spicata L.'nin kuru tozunun diğer ekstrele göre daha etkin olduğu gözlemlenmiştir ve Mentha Spicata L.'nin kuru tozunun oksidatif stresi azaltabileceği düşünülmektedir. Mentha Spicata L.'nin dietileterli ekstresi uygulanan MD grupta, negatif kontrol (CMC) grubuna göre bir düşüş saptanmıştır. Tezimizde A vitamini ve  $\beta$ -karoten düzeyleri üzerinde nane kuru tozunun ve ekstrelerinin ilavesinin etkisi olmuyor gibi görünse de,  $\beta$ -karoten düzeylerinin istatistiksel anlam taşımaya da deneme gruplarından MD grubunda diğer gruplara göre artmış olması dikkat çekici bir sonuç olarak

gözlemlenmiştir. MD grubunda  $\beta$ -karoten düzeyinde görülen bu artış dietil eterli grubun antioksidan sistemi güçlendirdiğinin bir göstergesi olabileceği ve dietil eterli, sulu ve kuru tozunun farklı miktarlarında yapılacak çalışmaların yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular daha önceki çalışmalardan farklı olarak SOD ve KAT düzeylerinde istatistiksel anlamda bir değişiklik meydana getirmemiştir. Deneme gruplarındaki KAT düzeylerinde, kontrol gruplarına göre belirgin bir artış olmamasına rağmen, Mentha Spicata L. sulu ekstresi verilen MS grubunda, kontrol grubunu geçen düzeyde bir artış saptanmıştır. Rasyona mentha ekstraktlarının eklenmesiyle deneme gruplarındaki SOD düzeyleri kontrol gruplarına göre belirgin bir değişikliğe sebep olmamasının süperoksit radikalının birikimi sonucu olduğu düşünülmüştür. Daha çok oksidatif stres oluşumunun arttırıldığı durumlarda hem katalazın hem de süperoksid dismutaz enzim aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda ilaç veya radyasyonla indüklenen bir oksidatif stres bulunmadığından enzim seviyelerinde yükselme görülmemesi bu durumla ilişkilendirilebilir. Süperoksid dismutaz ve katalaz düzeylerinde istatistiksel anlamda bir değişiklik meydana gelmemesine rağmen, Mentha Spicata L.'nin kuru tozunun antioksidan kapasiteyi istatistiksel anlam ifade etmeyen rakamsal anlamda güçlendirmiş olması çalışmamız açısından olumlu kabul edilebilir. Çalışmamızda, GPx düzeylerinde MT deneme grubunda bir artış saptanmış ancak istatistiksel anlamlılık görülmemiştir. Kontrol grubu CMC grubunda ise GPx düzeyinde belirgin bir düşüş görülmüştür. Kontrol grubu CMC grubuna göre MD grubunda artış olmakla birlikte bu oran istatistiksel anlam ifade etmemektedir. Hücrel savunma elemanlarından glutasyon peroksidaz aktivitesinde görülen artışın GPx 'ın düşük konsantrasyonlarda bile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' ye daha yüksek afinite gösterdiğinin bir kanıtı ayrıca KAT ve SOD düzeylerinde istatistiksel anlamda artış görülmemesine rağmen MT ve MD gruplarında GPx 'ın artışının oksidan strese karşı etkili antioksidanlardan biri olduğunun ve lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etki yaptığının da bir göstergesidir. Ayrıca deneyimizde antioksidan hücrel savunma elemanlarından glutasyon peroksidaz ve süperoksid dismutaz enzimlerinin düzeyinin düşük olması kan düzeyinde antioksidan savunma sisteminin aşılış olabileceğini de ortaya koymaktadır. Deneme gruplarında glutasyon redüktaz düzeylerinde kontrol gruplarına göre istatistiksel anlam ifade eden bir artış saptanmamıştır. Ancak MS, MD deneme gruplarında ve özellikle rasyona Mentha Spicata L.'nin kuru tozu uygulanan MT deneme grubunda glutasyon redüktaz düzeylerinde kontrol gruplarına göre rakamsal bir artış olduğu gözlenmiş ve antioksidan sistemi az da olsa güçlendirdiğinin göstergesi olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda antioksidan hücrel savunma elemanlarından

glutasyon peroksidaz ve süperoksid dismutaz enzimlerinde olduğu gibi glutasyon redüktaz enzim düzeyinin de düşük olması, serbest radikal oluşumunun ve lipid peroksidasyonunun uzun süreli artışına bağlı olarak antioksidan savunma sisteminin aşılmış olabileceğini göstermektedir. Özellikle rasyona *Mentha Spicata* L. kuru tozu uygulanan MT deneme grubunda GR düzeylerinde kontrol gruplarına göre istatistiki anlam ifade etmese de artış olması, bizim çalışmamız açısından olumlu kabul edilebilir. Çalışmamızda MT deneme grubunda vitamin C düzeylerinde K kontrol grubuna göre bir artış saptanmış ancak istatistiksel anlamlılık görülmemiştir. İnsanlarda dışardan takviye edilmesi gereken bir vitamin olan C vitamininin etkisinin *Mentha Spicata* L.'nin kuru tozu ile rakamsal düzeyde arttırılmış olması bizim çalışmamız açısından dikkat çekici bir sonuçtur. Askorbik asidin fenolik antioksidanlar için çok kuvvetli sinerjik bir antioksidan etkiye sahip olması dolayısıyla diğer antioksidan enzimlerde belirgin bir artış olmaması, dolayısıyla C vitamininin sinerjizm göstermemesi olarak düşünülmüştür. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, vitamin C'nin serbest radikalleri ortamdaki temizlemede sulu ve dietil eterli ekstraktlarının çok etkili olmadığını göstermektedir.

## SONUÇ

*Mentha Spicata* L.'nin kuru tozu ve ekstraktlarının rasyona katılmasının hayvan yemine besleyici özellik katabileceği, ancak membran lipidlerine, proteinlere ve DNA'ya vereceği doğal oksidasyon reaksiyonlarının zararlı etkilerine karşı koruyucu etki sağlayamayacağı dolayısıyla antioksidan güce etkisinin az olduğu düşünülerek, aromatik bitkilerin canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma üzerine olan etkileri göz önüne alındığında daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. *Mentha Spicata* L.'nin kuru tozu ile ilgili yapılan çalışmalara rastlanmamış olması dikkat çekici olup toksik oksijen radikallerinin inaktivasyonu ve fenolik antioksidanların etkisinin arttırılmasını ön plana çıkaracak, *Mentha* nın değişik tür ve farklı miktarları ve uygulama sürelerinde elde edilecek sonuçların karşılaştırılarak parametre arttırılıp yapılacak çalışmalarla, daha net yorumlar yapılabilecek veriler elde edilecek ve lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerine karşı *Mentha*'nın koruyucu olduğuna yönelik diğer çalışmalara destek sağlayacaktır. Yaygın olarak hastalıkların tedavisinde kullanılan, bilinen en eski kültür ve tıbbi bitki olan, insan, pet ve çiftlik hayvanlarının beslenmesi açısından doğal gıda katkı maddesi özelliği taşıyan *Mentha* 'ın, yapılan bu çalışma ile nanenin tüm bilinen etkilerinin yanında antioksidan aktivitesinin tüm ayrıntılarıyla açığa çıkarabilecek , bitkisel kökenli doğal antioksidanların kullanımına ve hem insan hem de hayvan sağlığını korumada ve yeni rasyonların geliştirilmesinde yapılan çalışmalara destek olabileceği, ayrıca serbest

radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu durumlarda fitokimyasal ve yardımcı tedavi desteği olarak katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Karadoğan T.** Göller yöresinde lamiaceae familyasına dahilbitki türlerinin tespiti ve tıbbi ve aromatikdeğerlerinin belirlenmesi, Türkiye bilimsel ve Teknik araştırma kurumu 2003,
- Fux CA, Stoodley P, Hall-Stoodley L, Costerton JW.** (2003). Bacterial biofilms: A diagnostic and therapeutic challenge. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 1: 667–683.
- Schachter B.** (2003). Slimy business-the biotechnology of biofilms. *Nat. Biotechnol.* 21, 361–365.
- Lewis K.** (2001). Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 45: 999–1007.
- Francis G, Kerem Z, Makkar HPS, Becker K.** (2002). The Biological Action Of Saponins İn Animal Systems. *Br. J.Nutr.* 88: 587–605.
- Dündar Y.** (2001). Fitokimyasallar ve Sağlık Yaşam. *Kocatepe Tıp Dergisi.* 2: 131–138.
- Sen S, Makkar HPS, Becker K.** (1998). Alfalfa saponins and their implication in animal nutrition. *J.Agric. Food. Chem.* 46: 131–140.
- Bayşu Sözbilir N, Bayşu N.** (2008). Biyokimya, Güneş Tıp Kitapevleri, 1. Baskı. Ankara.
- Arzani A, Zeynalı H, Razmjo K.** (2007). Iron and Magnesium Concentrations of Mint Accessions (*Mentha* spp.) *Plant Physiology and Biochemistry.* 45: 323–329.
- Eryiğit F.** (2006). *Mentha Pulegium* L. ve *Salvia Tomentosa* Miller Bitkilerinin Metanol Özütlelerinin İn Vitro Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi.Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Beutler E, Duron O, Kelly BM.** Improved Method For The Determination of Blood Glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882–90.
- Draper H H, Hadley M.** (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 186: 421–30.
- Kway A.** (1978) A Simple Colorimetric Method For Ascorbic Acid Determination İn Blood Plasma. *Clin Chim Acta ;* 16: 151-157.
- Suzuki JP, Katoh NA.** (1990). A Simple and Cheap Method for Measuring Serum Vitamin A in Cattle Using Only Spectrophotometer. *Jpn. J. Vet. Sci.* 52: 1281–1283.

**Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V.** (2001) Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol.* 54: 356–361.

**Cayman Chemical Company** (2006a). Glutathione Peroxidase Assay Kit. Catalog No: 703102. 1180 E.Ellsworth Rd. Ann Arbor, MI 48108. Printed in U.S.A. 1–20.

**Cayman Chemical Company**(2006b). Glutathione Reductase Assay Kit. Catalog No: 703202. 1180 E.Ellsworth Rd. Ann Arbor, MI 48108. Printed in U.S.A. 1–22.

**Samarth RM , Panwar M, Kumar M, Kumar A.** (2006). Protective Effects of Mentha Piperita Linn on Benzo[a]pyrene-Induced Lung Carcinogenicity and Mutagenicity in Swiss Albino Mice. *Mutagenesis.* 21(1): 61–66

**Sharma MK, Sharma A, Kumar A, Kumar M.** (2007). Protective Efficacy of Leaves Extract of Mentha Piperita on Sodium Arsenite Induced Cellular Damage in Mouse. *Toxicology & toxicology Letters* 172S .S71-S72.

**Alçiçek A, Bozkurt M, and Çabuk M.** (2003). The effect of essential oil combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. *South Afr. J of Anim. Sci.* 33(2): 89-94.

**Mandal L, Biswas T, and Sarkar SK.** (2000). Broiler performs well on herbs or enzymes in maize diet. *World Poultry-Elsevier.* 16(5): 19–21.

**Mccartney E.** (2002). The natural empire strikes back. *Poult. International.* 41(1): 36-42.

**Tucker L.** (2002). Botanical Broilers: Plant Extracts to Maintain Poultry Performance. *Feed International.* 23(9): 26-29.

**Ramakrishna RR, Platel K, and Srinivasan K.** 2003. In vitro influence of species and spice-active principles on digestive enzymes of rat pancreas and small intestine. *Nahrung. Dec;* 47(6): 408-412.

**Langhout P.** (2000). New additives for broiler chickens. *World Poultry-Elsevier.* 16(3): 22–27.

**Djouvinov D, Pavlov D, Ilchev A, Enev E.** (1997). Peppermint (*Mentha Piperita* Huds) and Basil (*Ocimum Basilicum* L.) Etheric Oil By-Products as Roughages for Sheep Feeding. *Anim. Feed Sci. Tech.* 68: 287–294.

**Oğul YT.** (2006). Romatoid Artritli Hastalarda Antioksidan Tablo ve Eritrosit Membran Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz Aktivitesinin İncelenmesi.