



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



Yüksek Lisans Tezi

***Echium plantagineum* L. (Boraginaceae) POPÜLASYONLARINDA
TOHUM YAĞ ASİDİ VARYASYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

Fatma Nur BAŞTÜRK

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Programı

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Tamer ÖZCAN**

Ağustos, 2021

İSTANBUL

Bu çalışma, 10.08.2021 tarihinde aşığıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Botanik Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Tamer ÖZCAN(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Şener AKINCI
Marmara Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi

İntihal Programı Beyanı

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Proje Destekleri

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FYL-2020-36773 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri

--

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında, her türlü bilgi, öneri, yardım ve desteklerini esirgemeyerek akademik olarak yetiştirme ve gelişme sürecime katkıda bulunan danışman hocam Prof. Dr. Tamer ÖZCAN' a,

Yüksek lisans eğitim sürecim boyunca her zaman destek olan Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ' e,

Tezimin deneysel kısımlarında sürekli yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerini esirgmeden yol gösteren ve her zaman desteğini hissettiğim hocam Öğr. Gör. Dr. Yusuf Can GERÇEK' e,

Tezimin her aşamasında yanımda bulunan, deneysel süreçte ve yazım sürecinde yardımlarını göstererek çalışmamın ilerlemesine katkı sağlayan yüksek lisans arkadaşım Seran KIRKINCI'ya,

Bilgileriyle yol gösterip, destekleyen hocam Öğr. Gör. Dr. Hande MORGİL GERÇEK'e,

Örneklerin görüntülenmesindeki yardımlarından ve desteklerinden dolayı Arş. Gör. Almıla ÇİFTÇİ' ye,

Yaşadığı tecrübeler ile tez yazım sürecinde önerileri ile yol gösteren ve destek olan yüksek lisans arkadaşım Havva Fatıma ÖZDEMİR' e,

Varlığını sürekli yanımda hissettiğim, benden desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen sevgili annem Seher BAŞTÜRK, sevgili babam Ramazan BAŞTÜRK, sevgili kardeşlerim Ebru BAŞTÜRK ve Muhammet Emre BAŞTÜRK' e ve hayatımda her zaman düşünceleri ve fikirleri ile beni yönlendirip destekleyen anne yarım, sevgili teyzem Ayşe ÖZDEMİR' e tüm kalbimle teşekkür ederim.

Ağustos 2021

Fatma Nur BAŞTÜRK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ.....	xii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xiii
ÖZET	xv
SUMMARY	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1.1 Boraginaceae	3
2.1.2 <i>Echium plantagineum</i> L.	4
2.2 LİPİDLER	7
2.2.1 Triaçilgliseroller	8
2.2.2 Mum Esterleri.....	8
2.2.3 Fosfogliseritler.....	9
2.2.4 Sfingolipidler	10
2.2.5 Steroller	11
2.2.6 Yağ Asitleri	12
2.3 OMEGA-3 VE OMEGA-6 YAĞ ASİTLERİ VE ÖNEMİ.....	14
2.3.1 LC-PUFA'ların İnsan Sağlığı için Önemi	16
2.5 FİTOKİMYASAL MADDELER.....	21
2.5.1 Fenolik Maddeler.....	22
2.5.2 Flavonoidler.....	24
2.5.3 Antioksidan Maddeler	25
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	27
3.1 MALZEME	27
3.1.1 Örneklerin Toplanması.....	27
3.1.2 Örneklerin Teşhisi	28
3.1.3 Örneklerin Saklanması	29
3.2 YÖNTEM.....	29

3.2.1 Tohumlardan Toplam Yağ Miktarı Analizi İçin Yağ Asitlerinin Eldesi.....	29
3.2.2 Gaz Kromatografisi İçin Kullanılacak Olan Yağ Asitlerinin Eldesi	30
3.2.3 Yağ Asitlerinin Metil Esterlenmesi	31
3.2.4 GC-MS Analizleri	32
3.2.5 Toplam Fenolik Madde Tayini	34
3.2.6 Toplam Flavonoid Madde Tayini	35
3.2.7 CUPRAC Yöntemi ile Toplam Antioksidan Madde Tayini.....	37
3.2.8 DPPH Yöntemi ile Toplam Antioksidan Madde Tayini	39
3.2.9 Elde Edilen Sonuçların İstatistiksel Analizi	41
4. BULGULAR.....	42
4.1 TOHUMLARIN MORFOLOJİK İNCELEME SONUÇLARI	42
4.2 TOPLAM YAĞ MİKTARI SONUÇLARI.....	50
4.3 GC SONUÇLARI	53
4.4 TOPLAM FENOLİK MADDE TAYİNİ SONUÇLARI.....	67
4.5 TOPLAM FLAVONOİD MADDE TAYİNİ SONUÇLARI.....	69
4.6 CUPRAC SONUÇLARI.....	70
4.7 DPPH SONUÇLARI.....	71
4.8 SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLER VE YAĞ ASİTLERİNİN KORELASYON ANALİZİ SONUÇLARI.....	73
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	77
KAYNAKLAR.....	90
EKLER	96
EK 1: Gallik asit kalibrasyon grafiği.....	96
EK 2: Kateşin kalibrasyon grafiği	96
EK 3: CUPRAC için Troloks kalibrasyon grafiği.....	97
EK 4: DPPH için Troloks kalibrasyon grafiği.....	97
EK 5: FNB 1 numaralı örneğin GC kromatogramı.	98
EK 6: FNB 2 numaralı örneğin GC kromatogramı.	99
EK 7: FNB 3 numaralı örneğin GC kromatogramı.	100
EK 8: FNB 4 numaralı örneğin GC kromatogramı.	101
EK 9: FNB 5 numaralı örneğin GC kromatogramı.	102
EK 10: FNB 6 numaralı örneğin GC kromatogramı.	103
EK 11: FNB 7 numaralı örneğin GC kromatogramı	104
EK 12: FNB 8 numaralı örneğin GC kromatogramı.	105
EK 13: FNB 9 numaralı örneğin GC kromatogramı.	106

EK 14: FNB 10 numaralı örneğin GC kromatogramı.	107
EK 15: FNB 11 numaralı örneğin GC kromatogramı.	108
EK 16: FNB 12 numaralı örneğin GC kromatogramı.	109
EK 17: FNB 14 numaralı örneğin GC kromatogramı.	110
EK 18: FNB 15 numaralı örneğin GC kromatogramı	111
EK 19: FNB 16 numaralı örneğin GC kromatogramı.	112
EK 20: FNB 17 numaralı örneğin GC kromatogramı.	113
EK 21: FNB 18 numaralı örneğin GC kromatogramı.	114
EK 22: FNB 19 numaralı örneğin GC kromatogramı.	115
EK 23: FNB 20 numaralı örneğin GC kromatogramı.	116
EK 24: FNB 21 numaralı örneğin GC kromatogramı.	117
EK 25: FNB 23 numaralı örneğin GC kromatogramı.	118
EK 26: FAME Mix Standartının Kromatogramı.....	119
EK 27: SDA Standartının Kromatogramı.....	120
ÖZGEÇMİŞ	121

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: <i>E. plantagineum</i> L. türünün sistematik hiyerarşisi.	4
Şekil 2.2: <i>E. plantagineum</i> L. türünün Türkiye’de dağılım haritası	5
Şekil 2.3: <i>E. plantagineum</i> L. çiçeği.	5
Şekil 2.4: Lipidlerin sınıflandırılması.	7
Şekil 2.5: Triasilgliserol yapısı.	8
Şekil 2.6: Mum esteri yapısı.....	9
Şekil 2.7: Fosfoliseritlerin yapısı.	9
Şekil 2.8: Başlıca sfingolipid türlerinin yapıları.	10
Şekil 2.9: Bazı bitki steroller ve kimyasal yapıları.	12
Şekil 2.10: Bir doymamış yağ asidinin yapısı.....	13
Şekil 2.11: Çoklu doymamış yağ asitlerinin biyosentez yolağı.	15
Şekil 2.12: Omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin sentezi ve diyetle alınımı.....	16
Şekil 2.13: Bazı uzman kuruluşların önerdiği günlük alınması gereken omega-3 yağ asidi miktarları.....	18
Şekil 2.14: Fitokimyasal maddelerin sınıflandırılması.	22
Şekil 2.15: Fenol bileşiğinin aromatik halka yapısı.	22
Şekil 2.16: Fenolik bileşiklerin genel sınıflandırılması.	23
Şekil 2.17: Flavonoidlerin genel sınıflandırılması.	24
Şekil 2.18: ROS kaynakları.....	26
Şekil 3.1: <i>E. plantagineum</i> L. bitkisi.....	27
Şekil 3.2: <i>E. plantagineum</i> L. tohumu.	27
Şekil 3.3: Buchi ekstraksiyon sistemi B-811.	31
Şekil 3.4: GC deney koşulları.	32

Şekil 3.5: FCR tepkimesi.	34
Şekil 3.6: Alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi tepkimesi.....	36
Şekil 3.7: Cu (I)-Nc kompleksinin (kelatının) kimyasal yapısı.	38
Şekil 3.8: CUPRAC yöntemi ile gerçekleşen tepkime.....	38
Şekil 3.9: DPPH yöntemi ile gerçekleşen tepkime.	40
Şekil 4.1: FNB1 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	42
Şekil 4.2: FNB2 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	43
Şekil 4.3: FNB3 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	43
Şekil 4.4: FNB4 numaralı örneğin tohumunun 0,5x0,8 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	43
Şekil 4.5: FNB5 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	44
Şekil 4.6: FNB6 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	44
Şekil 4.7: FNB7 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	44
Şekil 4.8: FNB8 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	45
Şekil 4.9: FNB9 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	45
Şekil 4.10: FNB10 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	45
Şekil 4.11: FNB1 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	46
Şekil 4.12: FNB12 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	46
Şekil 4.13: FNB14 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	46
Şekil 4.14: FNB15 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	47

Şekil 4.15: FNB16 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	47
Şekil 4.16: FNB17 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	47
Şekil 4.17: FNB18 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	48
Şekil 4.18: FNB19 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	48
Şekil 4.19: FNB20 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	48
Şekil 4.20: FNB21 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	49
Şekil 4.21: FNB22 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	49
Şekil 4.22: FNB23 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.	49
Şekil 4.23: Örneklerin PCA dağılımı.	65
Şekil 4.24: Örneklerin PCA kümelenmesi.	66
Şekil 4.25: İncelenen yağ asitlerinin PCA kümelenmesi.	66
Şekil 4.26: İncelenen yağ asitlerinin PCA dağılımı.	67
Şekil 4.27: Toplam fenolik madde miktarı.	68
Şekil 4.28: Toplam flavonoid madde miktarı.	69
Şekil 4.29: CUPRAC sonuçları.	71
Şekil 4.30: DPPH sonuçları.	72
Şekil 4.31: Palmitik asit ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matriksi.	73
Şekil 4.32: Stearik asit ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matriksi.	74
Şekil 4.33: Oleik asit ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matriksi.	74
Şekil 4.34: LA ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matriksi.	75
Şekil 4.35: ALA ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matriksi.	75
Şekil 4.36: GLA ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matriksi.	76

Şekil 4.37: SDA ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matriksi. 76



TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Boraginaceae familyasından bazı bitkiler ve yüzde LA, GLA, ALA ve SDA miktarları.	19
Tablo 2.2: <i>E. plantaginum</i> L. üzerinde yapılan bazı çalışmalarda yüzde yağ asidi miktarı.....	20
Tablo 3.1: Örnekler ve örneklerin toplandığı bölgeler.	28
Tablo 3.2: Tez kapsamında kullanılan yağ asitleri.	33
Tablo 4.1: Örneklerin Soxhlet Ekstraksiyonu ile elde edilen % yağ miktarları.	51
Tablo 4.2: Örneklerin Bligh and Dyer Toplam Lipid metodu ile elde edilen % yağ miktarları.	52
Tablo 4.3: Araştırmada kullanılan yağ asitleri ve alıkonma süreleri.....	53
Tablo 4.4: C4:0-C15:0 doymuş yağ asidi miktarları (%).	56
Tablo 4.5: C16:0-C24:0 Doymuş yağ asidi miktarları (%).	58
Tablo 4.6: MUFA miktarları (%).	60
Tablo 4.7: PUFA miktarları (%).	62
Tablo 4.8: Örneklerin bazı yağ asidi miktarları ve oranları (%).	64
Tablo 4.9: Toplam fenolik madde miktarı.	68
Tablo 4.10: Toplam flavonoid madde miktarı.	69
Tablo 4.11: CUPRAC yöntemine göre toplam antioksidan madde kapasitesi.	70
Tablo 4.12: DPPH yöntemine göre toplam antioksidan madde kapasitesi.	71

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
dk	: Dakika
cm	: Santimetre
Cu	: Bakır
g	: Gram
L	: Litre
M	: Molar
m	: Metre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mmol	: Milimol
Mo	: Molibden
μL	: Mikrolitre
Nc	: Neocuproine
nm	: Nanometre
V	: Hacim
α	: Alfa
γ	: Gama
Δ	: Delta
ω	: Omega
ε	: Epsilon
%	: Yüzdelik
Σ	: Toplam
°C	: Santigrat

Kısaltmalar	Açıklama
AA	: Araşidonik asit
ALA	: α -Linolenik asit
DDT	: Dikloro-difenil-trikloro-etan
DHA	: Dokosahekzaenoikasit
DPA	: Dokosapentaenoik asit
EPA	: Eikosapentaenoik asit
FAME	: Yağ asidi metil esteri
FCR	: Folin-Ciocalteu Reaktifi
GLA	: γ -Linolenik asit
LA	: Linoleik asit
LC-PUFA	: Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
MUFA	: Tekli doymamış yağ asitleri
NaOH	: Sodyum hidroksit
NH₄Ac	: Sodyum Asetat
pH	: Hidrojen potansiyeli
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SDA	: Stearidonik asit
SFA	: Doymuş yağ asitleri
USFA	: Doymamış yağ asitleri

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Echium plantagineum L. (Boraginaceae) POPÜLASYONLARINDA TOHUM YAĞ ASİDİ VARYASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

Fatma Nur BAŞTÜRK

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Tamer ÖZCAN

E. plantagineum L. ülkemiz kıyı kesimlerinde yetişen, halk arasında “Kırkbatıran” olarak da bilinen kozmopolit bir bitkidir. Genellikle kıyılar, tarlalar ve kayalık yamaçlarda bulunurlar ve tüylü gövdeleri ve pembe-mor çiçekleriyle tanınmaktadırlar. Bitki tohumları küçük olmakla birlikte daha önce yapılan çalışmalarda tohumların %20 civarında yağ içerdiği bulunmuş ve tohumların yağ asidi içeriğinin ender yağ asitleri olan GLA ve SDA bakımından zengin olduğu raporlanmıştır. Bu çalışma kapsamında da bu ender yağ asitlerinin popülasyonlar arasındaki varyasyonlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu tez kapsamında farklı lokasyonlardan toplanan *E. plantagineum* L. türünün yağ asidi kompozisyonu araştırılmıştır. Tohum yağlarının eldesi için çözücü olarak hekzan kullanılarak Soxhlet ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sonrası tohumlardaki toplam yağ miktarı %20-25 aralığında tespit edilmiştir. Her bir lokasyondan elde edilen yağ örnekleri GC cihazında 38 yağ asidi bakımından incelenmiş ve bu yağ asitleri içerisinde Palmitik asit (16:0), Stearik asit (18:0), Oleik asit (18:1n-9), Linoleik Asit (18:2n-6), γ -Linolenik asit (18:3n-3), α -Linolenik asit (18:3n-6) ve Stearidonik asit (18:4n-3) söz konusu bitki için majör yağ asitleri olarak bulunmuştur. GC sonuçlarına göre tohum yağlarındaki SDA miktarı %5,44-13,098 aralığında, GLA miktarı ise %4,99-12,23 aralığında bulunmuştur. Elde edilen sonuçlarda *Echium plantagineum* L. türünün tohumlarında; doymamış yağ asitlerinin (USFA) doymuş asitlerine (SFA) göre daha fazla olduğu, PUFA’ların MUFA’lardan daha fazla bulunduğu, omega-3 yağ asitlerinin omega-6 yağ asitlerinden 2 kata kadar fazla bulunabildiği

gözlemlenmiştir. Tohumlardaki yağ asidi miktarları üzerinde yapılan tüm incelemeler sonucunda; İstanbul-Zeytinburnu, İstanbul-Yeşilköy, İstanbul-Soyak, İstanbul-Küçükçekmece ve Tekirdağ-Ganos Dağı lokasyonlarında yetişmiş olan popülasyonların en verimli popülasyonlar olduğu belirlenmiştir.

Tohum yağlarında toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid madde miktarı ve toplam antioksidan kapasite incelemeleri de yapılmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda tohum yağlarında bu fitokimyasal maddeler için yüksek yoğunluk gözlenmediği, ancak yüksek rakımda gelişen bitkilerin tohum yağ asitlerinde toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde miktarında bir artış olduğu gözlenmiştir.

Yapılan literatür araştırmaları ve tez çalışması kapsamında elde edilen verilere göre *Echium plantagineum* L. türünün nadir yağ asitleri olan SDA ve GLA'yı yüksek oranda içermesi, yüksek düzeyde olmasa bile tohum yağlarının antioksidan özelliğe sahip olması dolayısıyla akuatik omega-3 ve omega-6 kaynaklarına alternatif bir gıda kaynağı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Ağustos 2021, 139 sayfa.

Anahtar kelimeler: *E. plantagineum* L., Boraginaceae, yağ asidi, GLA, SDA, omega-3, omega-6

SUMMARY

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF SEED FATTY ACID VARIATIONS IN *Echium plantagineum* L. (Boraginaceae) POPULATIONS

Fatma Nur BAŞTÜRK

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Tamer ÖZCAN

E. plantagineum L. is a cosmopolit plant that grows in the coastal areas of our country and is also known as “Paterson’s Curse” among the people. They are commonly found on coasts, fields and rocky slopes and are known for their hairy stems and pink-purple flowers. Although the seeds of the plant are small, previous studies have found that the seeds contain around 20% oil, and the fatty acid content of the seeds has been reported to be rich in GLA and SDA, which are unusual fatty acids. Within the scope of this study, it was aimed to examine the variations of these unusual fatty acids between populations.

In the framework of this study, the fatty acid composition of *E. plantagineum* L. species collected from different locations were investigated. Soxhlet extraction was carried out using hexane as a solvent to obtain the seed oils. The total amount of oil in the seeds after extraction was determined in the range of 20-25%. Oil samples obtained from each location were examined in terms of 38 fatty acids in the GC device and among these fatty acids Palmitic acid

(16:0), Stearic acid (18:0), Oleic acid (18:1n-9), Linoleic Acid (18:2n-6), γ -Linolenic acid (18:3n-3), α -Linolenic acid (18:3n-6) and Stearidonic acid (18:4n-3) were found to be the major fatty acids for the plant in question. According to the GC results, the amount of SDA in the seed oils was found to be in the range of 5.44-13.098%, and the amount of GLA in the range of 4.99-12.23%. In the results obtained, in the seeds of *Echium plantagineum* L. It has been observed that unsaturated fatty acids are more than saturated acids (SFA), PUFAs are more than MUFAs, omega-3 fatty acids can be found up to 2 times more than omega-6 fatty acids in the seeds of *Echium plantagineum*. As a result of all the examinations made on the amount of fatty acids in the seeds it was determined that the populations grown in İstanbul-Zeytinburnu, İstanbul-Yeşilköy, İstanbul-Soyak, İstanbul-Küçükçekmece and Tekirdağ-Ganos Mountain locations were the most productive populations.

Total phenolic content, total flavonoid content and total antioxidant capacity were also investigated in seed oils. As a result of the investigations, it was observed that high concentrations of these phytochemicals were not observed in the seed oils, however, there was an increase in the amount of total phenolic substance and total flavonoid substance in the seed fatty acids of plants growing at high altitude.

According to the data obtained within the scope of literature research and the thesis study, *Echium plantagineum* L. species contains unusual fatty acids SDA and GLA at a high level. And even if not at high levels, the seed oils have antioxidant properties, so they can be an alternative food resource to aquatic omega-3 and omega-6 sources.

August 2021, 139 pages.

Keywords: *E. plantagineum* L., Boraginaceae, fatty acid, GLA, SDA, omega-3, omega-6

1. GİRİŞ

Yağlar, dehidrasyon tepkimeleriyle küçük moleküllerin bir araya gelmesiyle oluşan ve tüm canlıların yapısında bulunan organik bileşiklerdir. Gliserol ve yağ asitleri olmak üzere iki küçük molekülün bir araya gelmesiyle oluşmaktadırlar. Gliserol, üç karbonlu bir moleküldür ve her karbonu bir hidroksil grubu taşır. Yağ asitleri ise genellikle 16 ya da 18 karbon atomu içeren uzun karbon iskeletine sahiptir. Bu iskeletin en ucundaki karbon, karboksil grubunun bir parçasıdır. İskeletin geri kalan kısmı ise bir hidrokarbon zincirinden oluşmaktadır. Üç adet yağ asidinin her birinin bir ester bağı ile gliserole bağlanmasıyla triaçilgliserol olarak adlandırılan yağ oluşmaktadır.

İnsan beslenmesinde yağ asitlerinin etkisi açısından öncelikle doymuş yağ asitleri ve doymamış yağ asitleri kavramlarını incelememiz gerekir. Yağ asitlerini doymuş ve doymamış olarak iki başlıkta incelememizin sebebi, yağ asitlerinin hidrokarbon zincirlerinin yapısındaki farklılıklara dayanmaktadır. Doymuş yağ asitleri, hidrokarbon zincirlerinde çift bağ bulundurmeyen diğer bir deyişle hidrokarbon zincirine mümkün olan en fazla sayıda hidrojen atomu bağlayan yağ asitleridir. Hayvansal yağların çoğu doymuş yağ asitleridir ve oda sıcaklığında katı halde bulunurlar. Doymamış yağ asitleri ise hidrokarbon zincirlerinde bir ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitleridir. Doymamış yağ asitlerinin hidrokarbon zincirlerindeki çift bağ ile bağlı her bir karbon atomunda bir hidrojen eksiktir. Bitkisel yağlar ve balık yağı genellikle doymamış yağ asitleridir. Oda sıcaklığında sıvı halde bulunurlar.

Doymamış yağ asitleri kendi içerisinde tekli doymamış yağ asitleri (MUFA), çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (LC-PUFA) olarak sınıflandırılır. Tekli doymamış yağ asitleri hidrokarbon zincirlerinde bir tane çift bağ içeren yağ asitleridir ve Oleik asit (18:1) bu yağ asitlerine örnektir. Çoklu doymamış yağ asitleri hidrokarbon zincirlerinde iki veya daha fazla çift bağ bulunduran yağ asitleridir ve bu yağ asitlerine linoleik asit (18:2) ve alfa-linolenik asit (18:3) örnek verilebilir. Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri ise hidrokarbon zincirinde 12 karbon veya daha fazla karbon atomu içeren ve hidrokarbon zincirinde çok sayıda çift bağa sahip olan yağ asitleridir. Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerine ise Eikosapentaenoik asit (20:5) ve Dokosaheksaenoik asidi (22:6) örnek olarak verebiliriz.

Doymuş yağ asitlerinin fazla tüketilmesi insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. Bu sebeple diyetlerde doymamış yağ asitlerinin tüketilmesi önerilmektedir. Beslenme ile 14 karbon ve daha fazla karbon sayısına sahip olan yağ asitlerinin alınması önemlidir. Ayrıca bazı doymamış yağlar insan vücudunda sentezlenemediği için bu yağların beslenme yoluyla dışarıdan alınması gerekir ve bu yağlar esasiyel yağlar olarak adlandırılır. İnsan yaşamı için gerekli olan bu esasiyel yağlar omega-3 ve omega-6 yağ asitleri olarak bilinmektedir.

Omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin en yaygın bilinen kaynağı denizel canlılar olan balıklardır. Balıklar veya özel olarak üretilmiş olan balık yağları hem çoklu doymamış yağ asitleri hem de uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri açısından oldukça zengindir. Bu sebeple balık tüketimi sağlık açısından oldukça önemlidir (Reece ve diğ., 2013).

Son zamanlarda balıkların yaşam alanı olan su kaynaklarının kirlenmesi ve artan nüfus sebebiyle besin kaynaklarının dengeli dağılımının gerçekleşmeyeceği endişesiyle karasal omega-3 ve omega-6 kaynakları arayışı başlamıştır. Bu konu ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda ise *Echium plantagineum* L. türünün karasal omega-3 ve omega-6 kaynağı olmasının yanı sıra omega-3 türevi stearidonik asit (18:4) gibi bitkilerde sık rastlanmayan uzun zincirli çoklu doymamış yağ asidi içeriği açısından zengin bir potansiyeli olduğu ortaya konmuştur. Bu sebeple bu proje kapsamında farklı lokasyonlardan toplanan *Echium plantagineum* L. bitkisinin yağ asidi varyasyonlarının araştırılması ve ürün verimi yüksek kemotiplerin tespit edilerek literatüre kazandırılması amaçlanmaktadır.

Bu amaç doğrultusunda tezin “Genel Kısımlar” bölümünde *Echium plantagineum* L. türünün tanıtımı, yayılışı ve önemi; ayrıca omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin sentezi, bu yağ asitlerinin insan sağlığı açısından önemi, yağ içeriklerindeki toplam fenolik, flavonoid bileşenleri ile antioksidan özelliklerine değinilmiştir. Malzeme ve Yöntem kısmında bitki örneklerinin toplanması, bitki tohumlarından yağ asitlerinin elde edilmesi ve elde edilen bu yağ asitleri üzerinde yapılan analizler hakkında detaylı bilgiler verilmektedir. Tez projesi kapsamında yapılan analizler sonucunda elde edilen veriler, tezin “Bulgular” kısmında tablolar ve grafikler ile özetlenmiş ve açıklamaları yapılmıştır. Tartışma ve Sonuç kısmında ise deneysel verilerin daha önceki araştırma verileri ile karşılaştırmaları yapılmış olup, elde edilen sonuçlar değerlendirilerek ileride yapılabilecek çalışmalara ilişkin görüşlere yer verilmiştir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1 *Echium plantagineum* L. HAKKINDA GENEL BİLGİLER

2.1.1 Boraginaceae

Boraginaceae (Hodangiller) familyası, esas olarak Avrupa, Asya ve özellikle Akdeniz Bölgesi'nde iyi temsil edilen ve dünya çapında 148 cins ve 2700'den fazla tür ile çeşitli çalılar, ağaçlar ve otları içeren geniş bir familyadır (Ahmed ve Kordofani, 2012; Özcan ve Süzerer, 2020). Bu familya Türkiye'de farklı habitatlarda dağılmış, endemizm seviyesi yüksek olan (%35) 32 cins ve 315 türü kapsamaktadır (Özcan, 2008b).

Boraginaceae familyasının genel morfolojik özellikleri "Flora of Turkey and East Aegean Islands" kitabının ilgili cildinde aşağıdaki gibi tanımlanmıştır:

Yapraklar basit, stipulsuz ve alternattır. Bitkinin gövdesi ve yaprakları genellikle sert tüylerle kaplıdır; Çiçekler hermafrodit, aktinomorf, nadiren zigomorf. Kaliks 5 sepallı, sepaller serbest veya bileşik; korolla 5 petallı, petaller bileşiktir. Androkeum 5 stamenli, stamenler korollaya bileşik, stamenler petallerin karşısındadır; Ginekeum 2 bileşik karpelli, 4 lokuluslu, stilusginobazik, ovaryum üst durumludur; Meyve nuks, drupa veya şizokarptır (Davis, 1965-1985; Davis ve diğ., 1988; Güner ve diğ., 2000).

Boraginaceae familyası üzerinde yapılan çalışmalar ile bu familyaya ait olan bitkilerin biyolojik aktiviteye sahip olan fitokimyasallara ve yüksek yağ asidi miktarına sahip olduğunu göstermiştir (Guil-Guerrero, 2006; Özcan, 2008a; Eruygur ve diğ., 2016). Boraginaceae familyasına ait bitkilerin başlıca ikincil metabolitleri; alkaloidler, flavonoidler, polifenoller, fitosteroller ve terpenoidlerdir. Bu familyada gözlenen antioksidan, antienflamatuar, antitumöjenik ve antikanser aktiviteler gibi birçok biyolojik etki, bu bitki ailesinde yaygın olan fenolik ve flavonoid bileşiklerin varlığıyla ilişkilendirilmiştir (Gharib ve Godarzee, 2016). Ayrıca bitkilerde GLA ve SDA gibi bazı ender bulunan yağ asitlerinin varlığı Boraginaceae familyasını tıbbi ve endüstriyel olarak değerli kılmaktadır (Özcan, 2008b; Kitessa ve diğ., 2011).

2.1.2 *Echium plantagineum* L.

P.H. Davis'in "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" isimli kitabının altıncı cildine göre, Türkiye'de *Echium* cinsine ait 9 tür bulunmaktadır. *E.angustifolium* Miller, *E. arenarium* Guss, *Echium italicum* L., *E. plantagineum* L., *E.parviflorum* Moench, *E.vulgare* L., *E. orientale* L., *E. russicum* J.F.Gmel., *E. glomeratum* Poir. kitapta adı geçen 9 türdür.

Echium plantagineum L., ülkemizde ve dünyada geniş yayılış gösteren ve Boraginaceae familyasına ait olan bir bitki türüdür. Halk arasında Kırkbatıran olarak da bilinmektedir. Türkiye'de Adana, Gaziantep, İstanbul, Antalya, Aydın, Çanakkale, Erzurum, Muğla, Sakarya, Samsun, Sinop, Tekirdağ, Trabzon illerinde yayılış göstermektedir (Bakış ve diğ., 2011). Bitkinin sistematik hiyerarşisi Şekil 2.1'de, Türkiye'de dağılımı ise Şekil 2.2'de verilmiştir.

Alem: Plantae/ Bitkiler Alemi

Şube: Magnoliophyta/ Tohumlu Bitkiler

Altsınıf: Magnoliidae/ Manolya Altsınıfı

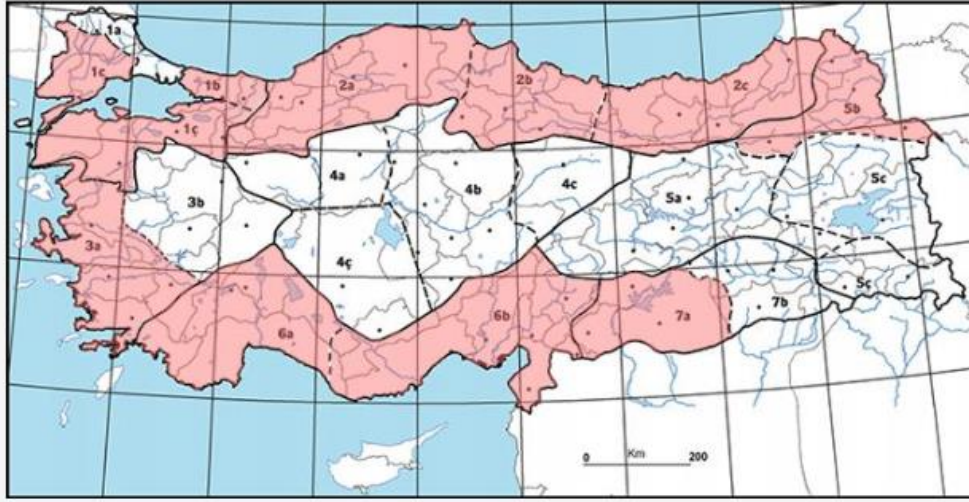
Aile: Boraginaceae/ Hodangiller

Cins: *Echium*/ Engerekotu

Tür: *Echium plantagineum*/ Kırkbatıran

Şekil 2.1: *E. plantagineum* L. türünün sistematik hiyerarşisi (Körüklü, 2012).

Echium plantagineum L. genellikle ülkemiz kıyı kesimlerinde yetişmektedir ve otsu yapıda olan bir veya iki yıllık bir bitkidir. Geniş bir rakım aralığında yetişmekte (0-2400 m) olup tarlalar, kıyılar, çimenlik ve kayalık yamaçlar genel yayılış alanlarını oluşturur (Bakış ve diğ., 2011).



(1b) Çatalca-Kocaeli Bölümü, (1c) Ergene Bölümü, (1ç) Güney Marmara Bölümü, (2a) Batı Karadeniz Bölümü, (2b) Orta Karadeniz Bölümü, (2c) Doğu Karadeniz Bölümü, (3a) Asıl Ege Bölümü, (5b) Erzurum-Kars Bölümü, (6a) Antalya Bölümü, (6b) Adana Bölümü, (7a) Orta Fırat Bölümü

Şekil 2.2: *E. plantagineum* L. türünün Türkiye’de dağılım haritası (Körüklü, 2012)



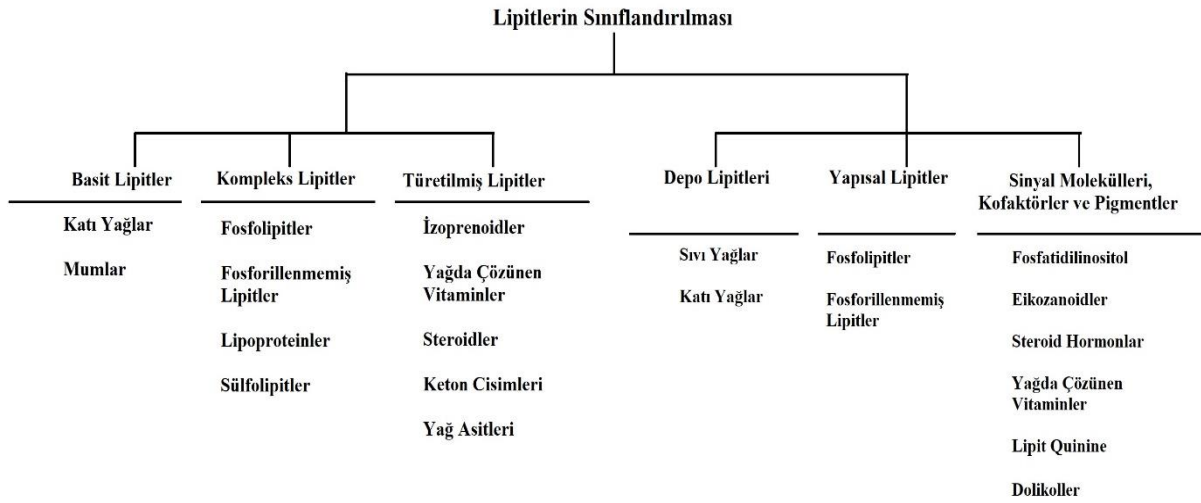
Şekil 2.3: *E. plantagineum* L. çiçeği.

E. plantagineum L. yumuşak setiform tüylü bir yıllık veya iki yıllık bir bitkidir. Gövde genellikle tabanda dallanmış ve 17-65 cm uzunluğundadır. Tabandaki yaprakları geniş ovalden dar eliptik şekilde, 5-28 x 1-3,5 cm uzunluğunda, bıçak şeklinde, sıklıkla aniden kısa bir yaprak sapına dönüşen belirgin yan damarları vardır. Genç bitkiler oval yapraklarla tabanda rozet oluşturur. Cauline yapraklar çok daha küçük, lineer-mızrak şeklinde, kordat ve hafif amplexicaul morfolojiye sahiptir. Çiçeklenme çok dallıdır. Kaliks çiçeklenme zamanında 7-9 mm, meyve verme zamanında 15 mm'ye kadar büyüme gösterir. Korolla parlak koyu mavi ve mor renkte, bazen pembe ve koyu kırmızı renkte, 19-32 mm uzunluğunda, 5 taç yaprak kaynaşmış, geniş infundibular ile biraz trompet şeklinde, kenarlarda ve damarlarda parlak veya seyrek setiform tüyler bulunur. Meyve oval piramitsi ve 4'l nutlet biçimindedir (Davis, 1965-1985; Davis ve diğ., 1988; Güner ve diğ., 2000).

2.2 LİPİDLER

Lipidler sıklıkla polar olmayan çözücülerde çözünebilir ancak suda çözünemeyen biyomoleküller olarak tanımlanmaktadır (Bruice, 2004). Bu kimyasal özellikler, yağ asitleri, fosfolipidler, steroller, sfingolipidler, terpenler ve diğerleri gibi çok çeşitli moleküllerde bulunur. Yağlar yapısal ve işlevsel bakımdan oldukça geniş ve heterojen bir molekül topluluğudur (Fahy ve diğ., 2011).

Lipidler yapılarına ve işlevlerine göre olmak üzere iki ana başlık altında sınıflandırılabilirler (Şekil 2.4). Yapılarına göre lipidler; basit lipidler (yağlar ve mumlar), kompleks lipidler (fosfolipidler, lipoproteinler vb.) ve türetilmiş lipidler (steroidler, yağ asitleri vb.) olarak üç gruba ayrılır. İşlevlerine göre lipidler ise depo lipidleri (katı yağlar ve sıvı yağlar), yapısal lipidler (fosfolipidler vb.) ve sinyal molekülleri, kofaktörler ve pigmentler (Steroid hormonlar, yağda çözünür vitaminler vb.) olarak üç grupta incelenmektedir (Baiwald ve diğ., 2014).

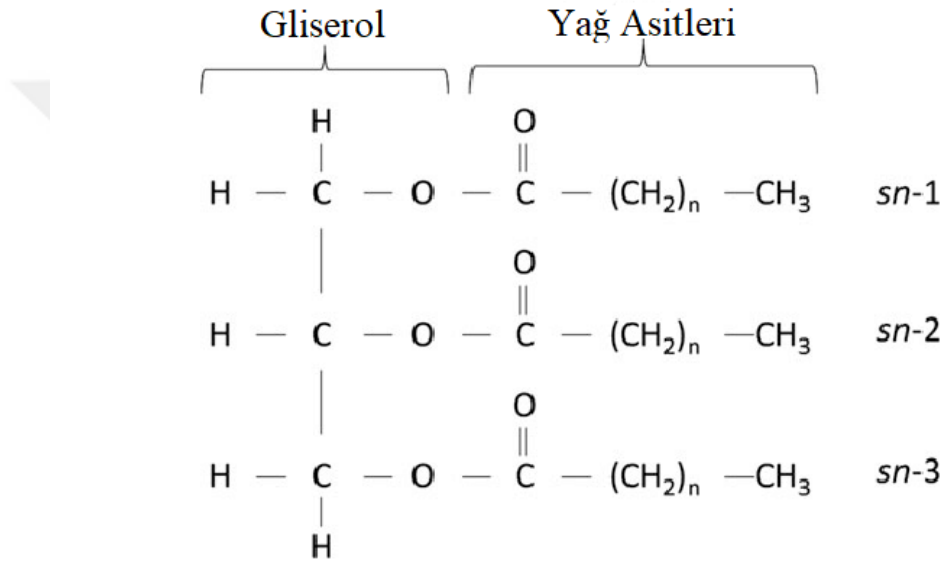


Şekil 2.4: Lipidlerin sınıflandırılması (Baiwald ve diğ., 2014).

Sargent ve diğ. (2002)'ne göre lipidler; triaçilgliseroller, mum esterleri, fosfogliseritler, sfingolipidler ve steroller olmak üzere beş başlık altında incelenmektedir. Yağ asitleri ise bu beş grubun içerisinde (kolesterol hariç) gliseridler halinde alkol gruplarına ve sfingolipidler halinde amino gruplarına esterlenmiş durumda bulunurlar.

2.2.1 Triaçilgliseroller

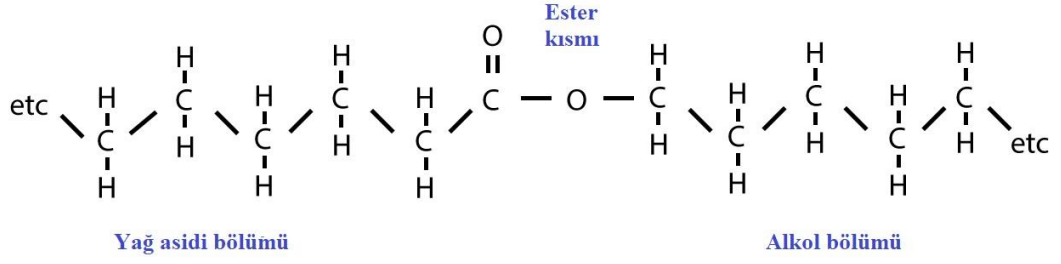
Triaçilgliserol (Şekil 2.5), üç adet yağ asidinin her birinin bir ester bağı ile gliserole bağlanmasıyla oluşmaktadır (Reece ve diğ., 2013). Tek bir yağ asidi gliserolün üç pozisyonuna birden bağlanabileceği gibi iki veya üç yağ asidi de bu pozisyonlara bağlanabilir. Genel olarak, doymuş yağ asitleri ve tekli doymamış yağ asitleri tercihen gliserolün sn-1 ve sn-3 konumlarında bulunurken, PUFA'lar tercihen gliserolün sn-2 konumunda bulunur. Bu durumun birçok istisnası bulunmaktadır (Sargent ve diğ., 2002).



Şekil 2.5: Triaçilgliserol yapısı (Mills ve diğ., 2017).

2.2.2 Mum Esterleri

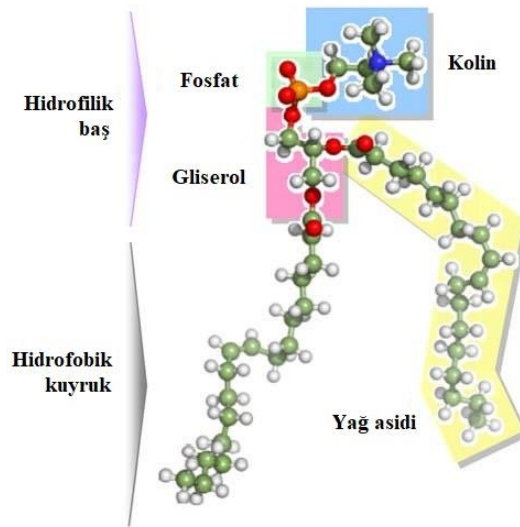
Mum esterleri, bir molekül yağ asidinin bir molekül yağ alkolüne esterlenmiş halidir (Şekil2.6). Bu yağ sınıfı deniz zooplanktonlarında, özellikle kalanoid kopepodlarda ve euphausiidlerde çok bol miktarda bulunmaktadır. Ayrıca bazı balık türlerinin vücut dokularında ve yumurtalarında yüksek miktarda bulunabilirler. Denizel kaynaklı mum esterlerinin yağ asitleri doymuş, tekli doymamış veya çoklu doymamış olabilir. Bu mum esterleri zooplanktonlar üzerinden beslenen balıkların vücudunda triaçilgliserollere dönüştürülmektedir (Sargent ve diğ., 2002).



Şekil 2.6: Mum esteri yapısı (Lents ve diğ., 2014).

2.2.3 Fosfogliseritler

Fosfogliseritler, fosfatidik asidin anahtar ara ürün olarak rol oynadığı bir de novo biyosentezi ile üretilirler. Fosfolipidlerin alt grubu olarak da bilinmektedirler (Sargent ve diğ., 2002). Membran lipidleri içerisindeki en önemli sınıftır. Şekil 2.7 'de gösterildiği gibi fosfogliseritler, gliserol omurgasının 1. ve 2. konumda bulunan karbonlarına bağlanmış esterlenmiş yağ asitlerinden ve 3 konumda bulunan karbon atomuna bağlanmış fosfat molekülünden oluşurlar. Lipidin adı, fosfat grubuna bağlı kısımdan, yağ asidi zincirlerinin uzunluğundan ve zincirler boyunca doymamış bölümlerin sayısından türetilmiştir (Siu, 2010). Örneğin Şekil 2.7'de bulunan fosfogliseritte fosfat grubuna kolin bağlandığı için bu lipidin adı fosfatidilkolin olarak bilinmektedir.

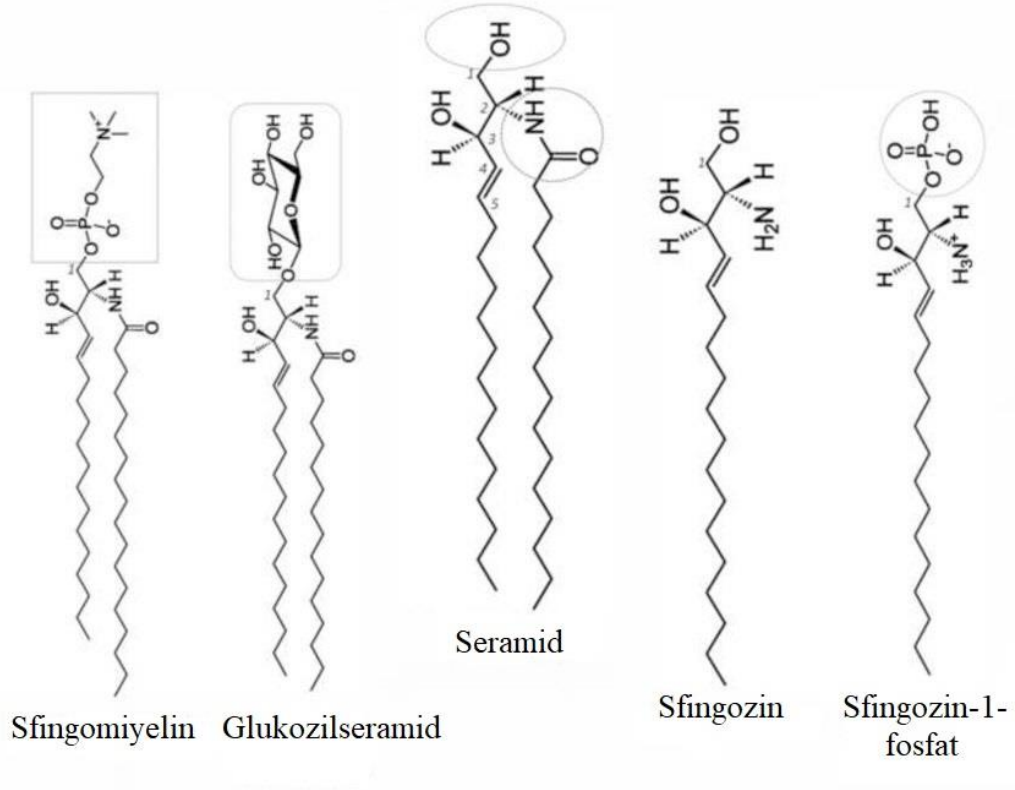


Şekil 2.7: Fosfogliseritlerin yapısı (Siu, 2010).

2.2.4 Sfingolipidler

Sfingolipidler ilk olarak J.L.W. Thudichum tarafından 1884 yılında beyin kimyasal bileşenlerini incelerken bulunmuştur. J. L. W. Thudichum, sfingolipidleri sfingozin omurgasına sahip olan yapılar olarak nitelendirmiştir. Sfingolipidlerin, fosfolipidlerin bir alt grubu olması dolayısı ile polar bir baş ve polar olmayan iki kuyruğu bulunmaktadır (Şekil 2.8).

En basit yapıları sfingolipid, sfingozinin amino azotuna bir yağ asidinin amid bağı ile bağlanması ile oluşan seramiddir. Seramiddeki primer alkol grubundaki H yerine başka grupların gelmesiyle çeşitli sfingolipidler oluşmuştur. Sfingolipidleri tek tek incelersek moleküler türlerinin sayısının binlerce olduğunu gözlemleriz. Bu sebeple en çeşitli ve aynı zamanda en karmaşık lipidler olarak bilinmektedirler (Vesper ve diğ., 1999; Sargent ve diğ., 2002; Altınışık, 2006).

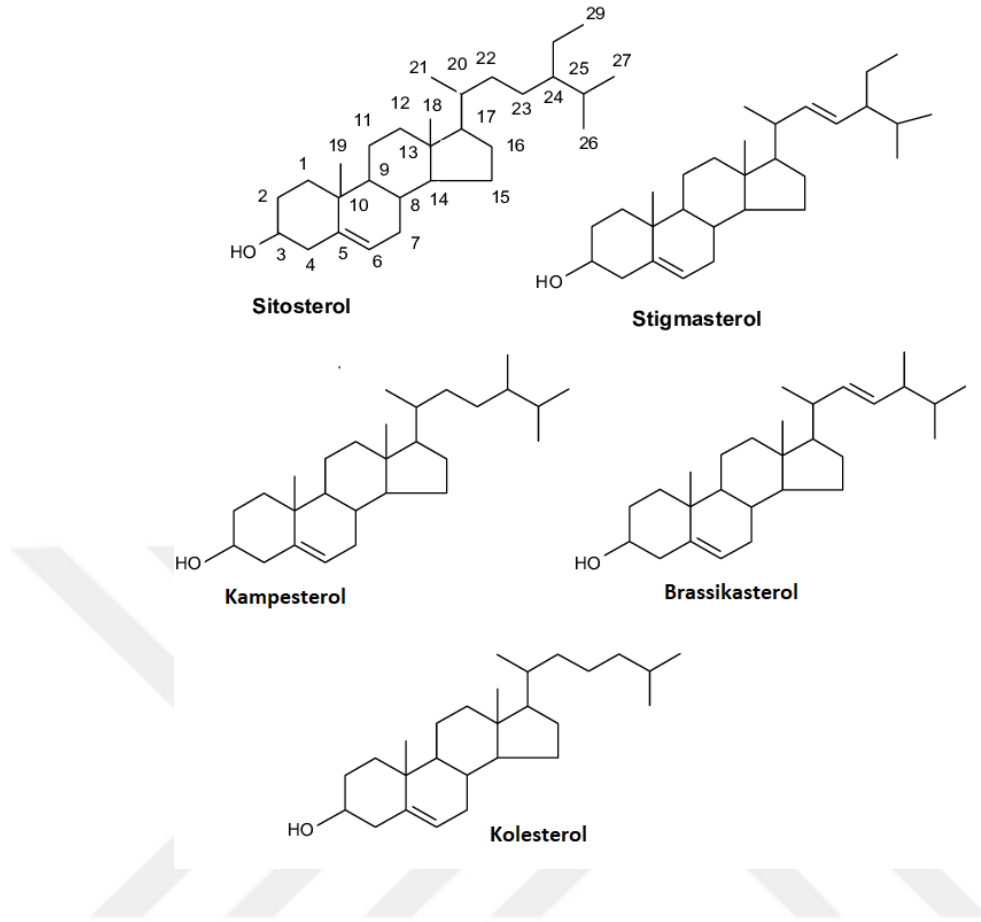


Şekil 2.8: Başlıca sfingolipid türlerinin yapıları (Chen ve diğ., 2014).

2.2.5 Steroller

Steroller, membran akışkanlığının korunması, fagositoz, stres toleransı ve hücre sinyalizasyonu dahil olmak üzere kritik hücresel fonksiyonlar için tüm ökaryotlar tarafından gerekli olan tetrasiklik triterpenoid lipidlerdir. Yapısal olarak steroller, A halkasının 3-pozisyonunda bir hidroksil grubu olan bir steroid alt grubudur. A halkasındaki hidroksil grubu polar, alifatik zincirin geri kalanı ise polar olmayan kısımdır. Steroller ile aynı kaynaşmış dört halka çekirdek yapısını da içeren steroidler, hormonlar ve sinyal molekülleri olarak farklı biyolojik rollere sahiptir.

Steroller öncelikle biyolojik fonksiyon temel alınarak alt bölümlere ayrılmaktadır. Kolesterol ve türevleri memeli sistemlerinde en yaygın olarak çalışılan sterollerdir. Aynı zamanda membran lipidlerinin de önemli bir bileşenidir. Ancak bu durum bitki hücreleri için de geçerli değildir. Bitki hücrelerinde kolesterol çok az miktarlarda bulunmaktadır. Bitki sterollerini ya da diğer bir deyişle fitosteroller 28-29 adet karbon atomundan oluşmuş olan steroid alkollerdir (Şekil 2.9). Bitkisel yağlarda temel olarak bulunan fitosteroller; sitosterol, kampesterol ve stigmasteroldür (Fahy, 2005; Tabee, 2008; Wei, 2016).

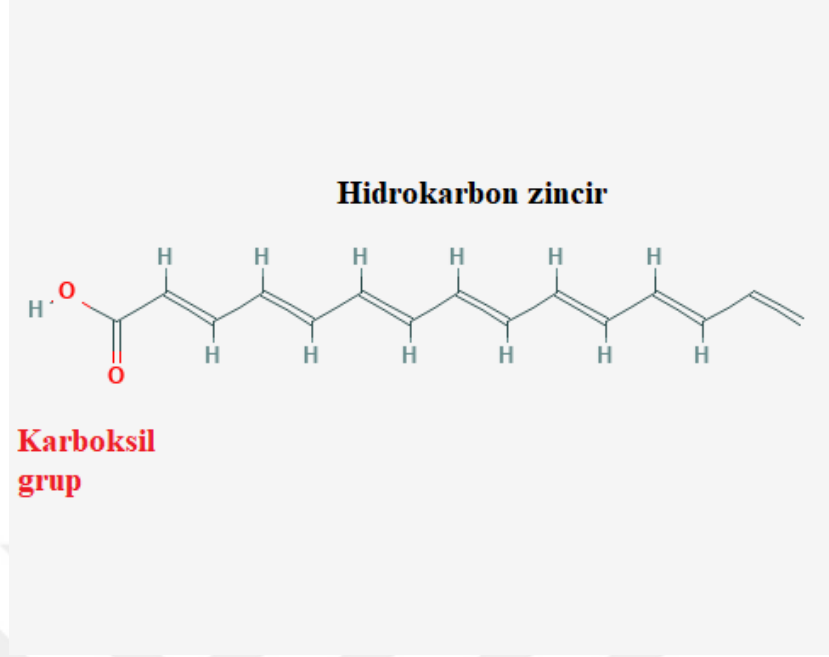


Şekil 2.9: Bazı bitki sterolleri ve kimyasal yapıları (Tabee, 2008).

2.2.6 Yağ Asitleri

Yağ asitleri (Şekil 2.10) genellikle 16 ve 18 karbon atomundan oluşan uzun bir hidrokarbon zincirine sahip karboksilik asitlerdir (Cseke ve diğ., 2006; Reece ve diğ., 2013).

16:0 ve 18:0 şeklinde tanımlanan doymuş yağ asitleri de novo biyosentezi ile tüm canlılarda üretilirler. Benzer şekilde tüm organizmalar Δ -9 desatüraz enzimi sayesinde 16:0 ve 18:0 yağ asitlerinin desatürasyonunu yaparak sırasıyla 16:1n-9 (palmitoleik asit) ve 18:1n-9 (oleik asit) yağ asitlerini oluşturabilirler (Sargent ve diğ., 2002). Üretilen bu yağ asitleri de diğer enzimlerin devreye girmesi ile çeşitli yağ asitlerine dönüşmektedirler.



Şekil 2.10: Bir doymamış yağ asidinin yapısı (CID 6437119 PubChem Bileşik Özeti).

Palmitik asit, Stearik asit, Oleik asit, LA ve ALA yaygın yağ asitleri olarak adlandırılmaktadır. Bu yağ asitlerinin yaygın yağ asitleri olarak adlandırılmalarının sebebi, membran lipidlerinin içerisinde yaygın olarak bulunmalarıdır. Nadir (olağan dışı) yağ asitleri olarak bilinen Kaprilik asit, GLA, SDA Risinoleik asit, Krepeninik asit ve Nebraskanik asit 16'dan az veya 18'den çok karbon atomu içeren yağ asitleridir. Ayrıca bu nadir yağ asitleri değişken çift bağ pozisyonları ve cis/trans yönelimleri, asetilenik veya üçlü bağlar, karbon yan zincir modifikasyonları veya bu yapısal özelliklerin bileşimlerini içermektedirler. Nadir yağ asitleri genellikle tohum yağlarının ana bileşenleri olarak bulunur, ancak tipik olarak zarlardan hariç tutulurlar (Cahoon ve Li-Beisson, 2020).

Yağ asitleri sabunlaşabilen lipidlerin yapı taşı bileşenleri olarak kullanılsa da, hücre ve dokularda sadece serbest asit formunda çok az miktarda bulunur. Normal olarak söz konusu olan bu yağ asitleri çeşitli bağlı formlarda bulunur ve kurutulmuş yaprak ağırlığının %7'si kadarını oluşturabilir. Bunlar, uzun zincirli esterleri (mumları), triaçilgliserolleri (yağlar) ve ayrıca gliserofosfolipidleri ve sfingolipidleri (zar lipidleri) içerir. Yüksek bitkilerde en bol bulunan yağ asitleri, 14 - 22 karbon atomuna sahip olan yağ asitleridir. Yüksek yapılı bitkilerde doymamış yağ asitleri baskın özelliktedir ve oleik asit (18:1) en yaygın bulunan yağ asitlerinden biridir.

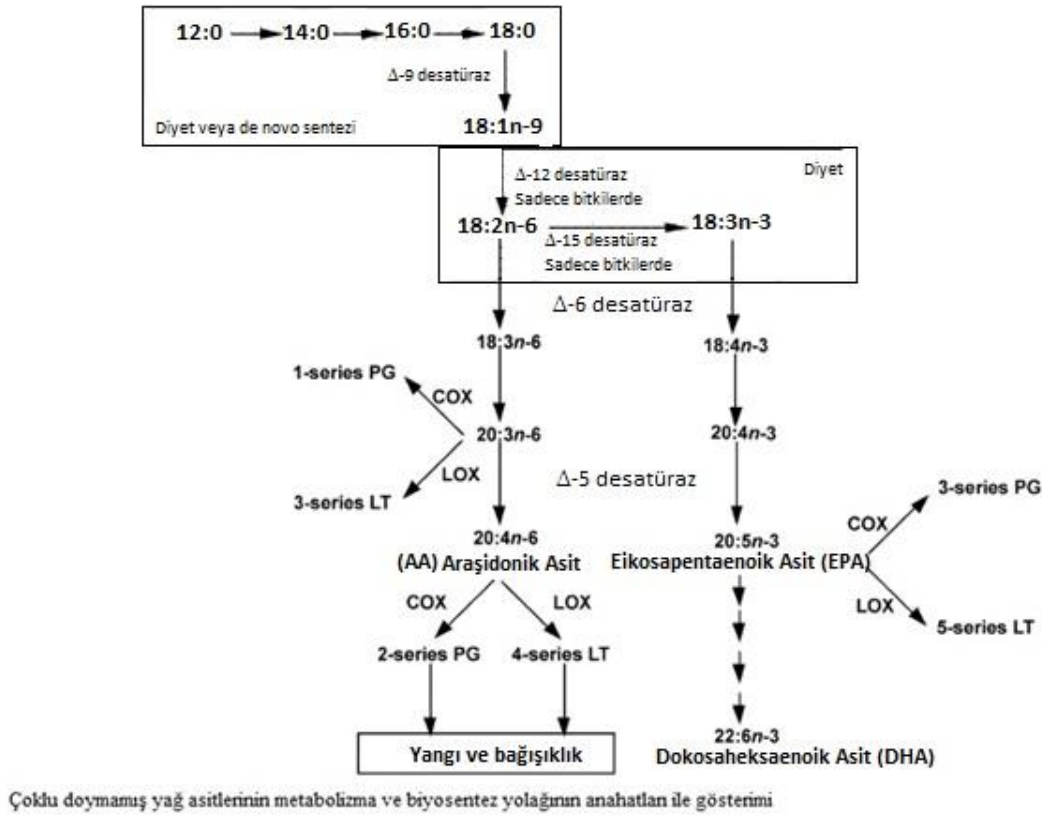
Doymuş yağ oranı yüksek diyetler, koroner kalp hastalığı, kanser ve diyabet riskinde artışla ilişkilendirilmiştir ve doymuş yağ kaynaklarının doymamış yağ kaynaklarıyla değiştirilmesi önerilmiştir. Ayrıca uygun omega-6 ve omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri dengesine sahip bir diyetin, Parkinson hastalığı ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif bozuklukların başlangıcını geciktirebileceği öne sürülmüştür. LA ve ALA gibi doymamış yağ asitlerini içinde barındıran omega-6 ve omega-3 yağ asitleri, insan beslenmesi için esasiyel yağ asitleridir. PUFA'ların biyosentetik öncüleri ve aynı zamanda esasiyel yağ asitleri olan LA ve ALA insanlar tarafından de novo sentezlenemez.

Linoleik asidin (LA) birincil kaynakları tohumlar, kabuklu yemişler, tahıllar ve baklagillerdir. α -Linolenik asit (ALA) ise fitoplankton ve algler dahil olmak üzere bitkilerin yeşil yapraklarında ve keten (*Linum usitatissimum*) tohumlarında, kanola (*Brassica napus*) tohumlarında, ceviz türlerinde (*Juglans spp.*) ve soya fasulyesinde (*Glycine max*) mevcuttur (Cseke ve diğ., 2006).

2.3 OMEGA-3 VE OMEGA-6 YAĞ ASİTLERİ VE ÖNEMİ

Her yağ asidinin kendine ait sistematik bir ismi olmasının yanı sıra yağ asitleri aynı zamanda kısa bir isimlendirme ile de tanımlanırlar. Bu kısa isimlendirme zincirdeki karbon atomu sayısı, zincirdeki çift bağ sayısı ve zincirin metil ucundaki ilk çift bağın konumunu belirtmektedir. Örneğin; 18:2n-6 isimlendirmesinde; 18 zincirdeki karbon sayısını, 2 zincirdeki çift bağ sayısını, n-6 ise hidrokarbon zincirindeki ilk çift bağın konumunu bildirmektedir.

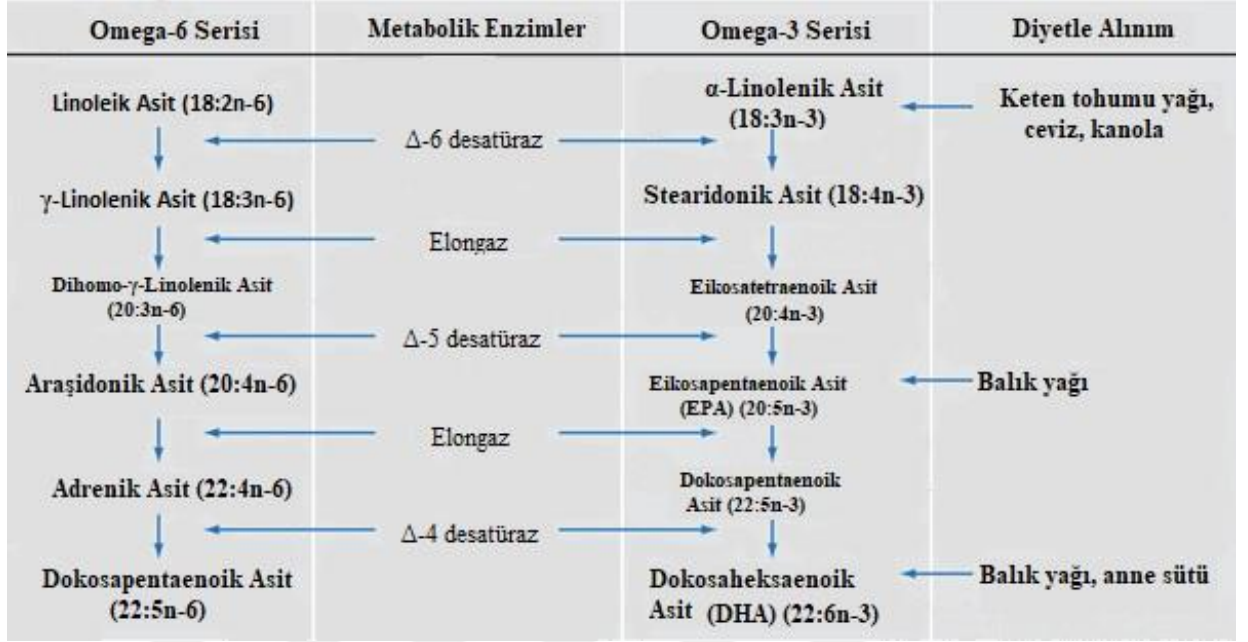
Yağ asitlerini genel olarak doymuş yağ asitleri ve doymamış yağ asitleri olarak sınıflandırabiliriz. Doymuş yağ asitleri ve tekli doymamış yağ asitlerinin çoğu glikoz veya aminoasitler gibi öncüllerden memeli dokularında sentezlenebilir. Ancak memeliler Δ -12-desatüraz ve Δ -15-desatüraz enzimlerine sahip olmadıkları için oleik asidi linoleik aside ve linoleik asidi α -linoleik aside dönüştüremezler (Şekil 2.11). Ayrıca memeliler Δ -15-desatüraz enzimine sahip olmadıkları için ω -6 ve ω -3 yağ asitlerini birbirine dönüştürememektedirler. Bu iki yağ asidi memeliler tarafından üretilmediği için esasiyel yağ asidi olarak adlandırılmaktadır (Calder ve Grimbél, 2002).



Şekil 2.11: Çoklu doymamış yağ asitlerinin biyosentez yolağı (Calder ve Grimbel, 2002).

Omega-3 ve omega-6 yağ asidi aileleri; 18-20 ya da daha fazla karbon içeren uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin (LC-PUFA) metil uç grubundaki ilk çift bağın konumuna bağlı olarak birbirinden ayrılmıştır (Venegas-Caler ve diğ., 2010). Omega-3 ailesi ana hatlarıyla, α -linolenik asitten (ALA) başlayarak, stearidonik asit (SDA), eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asitten (DHA) oluşmaktadır. Omega-6 ailesi ise linolenik asitten (LA) başlayarak, γ -linolenik asit (GLA), Araşidonik asit (AA) ve dokosapentaenoik asitten (DPA) oluşmaktadır (Şekil 2.12).

Memeliler oleik asitten (18:1n-9) LA ve ALA sentezleyemediği ve LA ve ALA'dan GLA ve SDA üretiminde kullanılan Δ -6-desatüraz enzim aktivitesi memelilerde düşük olduğu için memeli metabolizmasında LA ve ALA'nın AA, DHA ve EPA'ya dönüşüm verimliliği düşüktür (Horrobin, 1993; Abedi, 2014). Bu sebeple bu yağ asitlerinin doğrudan diyetle alımı önemlidir.



Şekil 2.12: Omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin sentezi ve diyetle alınımı (Parker ve diğ., 2006).

2.3.1 LC-PUFA'ların İnsan Sağlığı için Önemi

İnsanlarda omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin beyin, kalp ve immün sistem üzerinde etkileri olduğu yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır.

İnsanların yaklaşık 1 oranında ω -3/ ω -6 oranına sahip diyetle evrimleştiği ileri sürülmektedir. Ancak bu oranın günümüz batı diyetlerinde 1/15'e hatta bazı durumlarda 1/30'a kadar düştüğü görülmüştür. Bu orana göre diyetle ω -3 alımının oldukça azaldığı daha çok ω -6 kaynakları ile beslenildiği fark edilmektedir. Diyetle alınan ω 3/ ω 6 oranına bağlı yapılan çalışmada kardiyovasküler hastalıkların ikincil önlenmesinde alınan ω 3/ ω 6 oranının 1/4 olması toplam mortalitede %70'lik bir azalma göstermiştir. Astımlı hastalarda 1/5 oranında ω 3/ ω 6 alımını faydalı bir etki gösterirken, 1/2-3 oranında bu yağ asitlerinin alımını romatoid artritli hastalarda inflamasyonu baskılamıştır. Ancak kolorektal kanserli hastalarda 1/2,5 oranı rektal hücre proliferasyonunu azaltırken, aynı miktarda omega-3 PUFA ile 1/4 oranı hiçbir etki göstermediği gözlenmiştir (Simopoulos, 2002). Yapılan bu çalışma ile alınması gereken ω 3/ ω 6 oranının duruma göre farklılık göstermekte olduğu, aynı zamanda ω 3/ ω 6 oranının 1'e yaklaşması ile de olumlu etkilerin gözlenebileceği fark edilmiştir.

Abedi (2014) tarafından yapılan çalışmada ise LC-PUFA'ların bazı fonksiyonları aşağıdaki şekilde açıklanmıştır:

- 1) Vazoagresif düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) sentezinin inhibisyonu ve LDL eliminasyonunun hızlandırılması
- 2) Trombositte azalma, kanama süresinin uzaması ve kan basıncında azalma
- 3) DHA, insanlarda ve diğer memelilerde retinada ve beyinde yüksek oranda yoğunlaşmıştır ve normal görsel ve beyin fonksiyonu için gereklidir
- 4) DHA, nörotransmitter biyosentezini, sinyal iletimini, serotonin alımını, β -adrenerjik ve serotonerjik reseptörlerin bağlanması ve mono amin oksidaz aktivitesini doğrudan etkiler
- 5) Çoğu biyolojik membran fosfolipidinin ana bileşenidir ve membran yapısı ve işlevinde önemlidir

Yapılan başka bir çalışma ile de LA/ALA oranı kırmızı kan hücreleri üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. LA/ALA oranı düşük olduğu zaman kırmızı kan hücrelerindeki ALA ve EPA konsantrasyonları ve Σ EPA + DHA'nın nispi miktarlarının artış göstermekte olduğu, LA konsantrasyonlarının ise azalmakta olduğu gözlenmiştir. LA/ALA oranının yüksek olması ise kırmızı kan hücrelerindeki diğer tüm yağ asidi konsantrasyonlarını sabit tutarken, EPA'nın hafifçe düşmesine sebep olduğu tespit edilmiştir (Gibson ve diğ., 1994).

Yapılan bu çalışmalar ile omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin diyet ile alımının önemi ortaya konmaktadır. Omega-3 bakımından zengin yiyecekler tüketmek sağlığımız açısından oldukça önemlidir. Buna bağlı olarak bazı kuruluşlar tarafından alınması önerilen günlük omega-3 yağ asidi miktarı Şekil 2.13'te verilmiştir.

Yetişkinler için uzman kuruluşlar tarafından önerilen günlük alınması gereken omega-3 miktarları

Uzman Kuruluş	Yıl	Hedef Kitle	Günlük Önerilen Miktar
American Heart Association	2011	Kalp Sağlığı	Birincil korunma için iki öğün balık
Heart Foundation Australia	2008	Kalp Sağlığı	Birincil korunma için 500 mg EPA/DHA
FAO/WHO Expert Consultation	2010	Genel Sağlık	250mg EPA/DHA
European Food Safety Authority	2010	Genel Sağlık	250 mg EPA/DHA
Japanese Ministry of Health	2009	Genel Sağlık	> 1 g EPA/DHA
Health Council Netherlands	2006	Genel Sağlık	Balıktan 450 mg EPA/DHA
Australia New Zealand National Health and Medical Research Council	2006	Kronik Hastalıklar	n-3 LC-PUFA: Erkek için 610 mg Kadın için 430 mg
Belgian Superior Health Council	2009	Kalp Sağlığı	1 gr kapsül ya da günlük balık yağı
Agence Francais de Securite Sanitaire des Aliments	2014	Genel Sağlık	500mg EPA/DHA

Şekil 2.13: Bazı uzman kuruluşların önerdiği günlük alınması gereken omega-3 yağ asidi miktarları (Salem Jr ve Eggersdorfer, 2015).

2.4 OMEGA-3 VE OMEGA-6 YAĞ ASİDİ KAYNAKLARI VE *E. plantagineum* L.

LC-PUFA'ların ana kaynağı balıklar olarak bilinmektedir. EPA, DHA ve diğer uzun zincirli omega-3 yağ asitlerini fitoplanktonlar sentezler ve zooplanktonlar tarafından da bu yağ asitleri tüketilir. Bu yol üzerinden de LC-PUFA'lar balık besin zincirine girmektedir (Salem Jr ve Eggersdorfer, 2015). İnsanlar da açık denizlerden avlanarak ya da balık çiftliklerinde balıkları yetiştirerek bu besin değeri yüksek olan ürünü kendi günlük diyetlerine eklemişlerdir. Ancak bu esasiyel yağ asitlerinin balık yağı üzerinden alınmasında bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. Bu kısıtlamalar; teratojen, kanserojen özellik taşıyan dikloro-difenil-trikloro-etan (DDT) benzeri mutajen kirleticiler, metil civa, ağır metaller (Pb, Cr, Hg, Cd ve As) ve antibiyotikler gibi kanserojen olmayan kirleticiler, balık yağının balıklarda bulunan DHA ve EPA'nın düşük değerine bağlı olarak saflaştırma zorluğu yaşanması ve yüksek maliyette üretilmesi ve balık yağının istenmeyen kokulara, aromalara ve tatlara sahip olması şeklinde özetlenebilir. Bu kısıtlamalar sebebiyle denizel omega-3 ve omega-6 kaynaklarına alternatif olabilecek omega-3 ve omega-6 kaynağı arayışına girilmiştir (Abedi, 2014).

Alternatif omega-3 ve omega-6 kaynakları için yapılan çalışmalar ile alg, mantar ve tohumlu bitkilerin omega-3 ve omega-6 kaynağı olarak kullanılabileceği saptanmıştır. Dunstan (1993)'e göre *Pavlova lutheri* ve *Isochrysis sp.* mikroalglerinin SDA içerikleri yüksek bulunmuştur. Manocha ve Campbell (1978)' tarafından yapılan çalışmada *Thamnidium elegans* mantarı

üzerinde artan sıcaklık değerlerinin yağ asidi kompozisyonunu nasıl etkilediğine bakılmıştır. Çalışma sonucunda düşük sıcaklıkta *Thamnidium elegans*'ın ALA biyosentezi yaptığı ve SDA sentezinde de bir artış görüldüğü tespit edilmiştir.

Karasal bitkiler üzerinde yapılan çalışmalar ile az sayıda bitki familyasının SDA üretebildiği raporlanmıştır. SDA bulunduran bu bitki aileleri Aracauriaceae, Boraginaceae, Caryophyllaceae, Cannabinaceae, Primulaceae, Saxifragaceae ve Loasaceae olarak kayda geçmiştir (Guil-Guerrero, 2007). Ayrıca Boraginaceae, Scrophulariaceae, Onagraceae, and Ranunculaceae familyalarının da yüksek GLA içeriğine sahip olduğu saptanmıştır (Guil-Guerrero, 2001). Boraginaceae familyasının hem yüksek SDA'ya hem de yüksek GLA içeriğine sahip olması dolayısı ile bu tez kapsamında çalışılması planlanmıştır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: Boraginaceae familyasından bazı bitkiler ve yüzde LA, GLA, ALA ve SDA miktarları.

Bitkiler	18:2n-6 (LA)	18:3n-6 (GLA)	18:3n-3 (ALA)	18:4n-3 (SDA)
<i>Borago officinalis</i> (Özcan, 2008)	35,21	16,87	0,18	0,11
<i>Onosma sericeum</i> (Özcan, 2008a)	27,935	11,98	12,81	3,61
<i>Anchusa undulate</i> L. (Guil-Guerrero, 2006)	18,0	1,0	9,9	4,2
<i>Cynoglossum officinale</i> (Guil-Guerrero, 2017)	2,2	0,5	13,6	3,7
<i>Echium italicum</i> (Guil-Guerrero, 2017)	13,4	5,6	43,4	10,4
<i>Echium anchusoides</i> (Guil-Guerrero, 2017)	19,5	8,8	32,7	9,4
<i>Echium plantagineum</i> L. (Coupland, 2008)	15,0	11,8	29,0	13,0
<i>Paracaryum racemosum</i> (Erdemoğlu, 2004)	9,8	-	4,5	0,4
<i>P. erysimifolium</i> (Doğru-Koca ve diğ., 2016)	20,65	2,80	8,27	-
<i>P. lithospermifolium</i> subsp. <i>cariense</i> var. <i>erectum</i> (Doğru-Koca ve diğ., 2016)	8,61	3,14	7,54	-

Echium plantagineum L.' un % LA, ALA, GLA ve SDA miktarlarının diğer Boraginaceae bitkilerine göre görece daha yüksek miktarda olduğu gözlenmektedir. Bu özelliği açısından bitkinin değerli bir omega-3 ve omega-6 yağ asidi kaynağı olduğu saptanmıştır. Bitki ile daha önce yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde söz konusu bitkinin yağ asidi konsantrasyonları açısından farklı profiller gösterdiği belirtilmiştir (Tablo 2.2). Bu çalışma kapsamında, farklı lokasyonlardan toplanan tohumların yağ asitleri miktarları ve yağ asidi profillerinde herhangi bir farklılık bulunup bulunmadığının gözlenmesi, bitkinin karasal bir omega-3 ve omega-6 yağ asidi kaynağı potansiyeli olması dolayısı ile değerli olan popülasyonların araştırılması amaçlanmaktadır.

Tablo 2.2: *E. plantagenium* L. üzerinde yapılan bazı çalışmalarda yüzde yağ asidi miktarı.

Yapılan Çalışmalar	18:2n-6 (LA)	18:3n-3 (ALA)	18:3n-6 (GLA)	18:4n-3 (SDA)
Erdemoğlu, 2004	16,0	29,2		12,3
Özcan, 2008a	15,22	33,27	11,32	13,35
Guil-Guerrero, 2006	14,7	34,2	10,1	13,0
Guil-Guerrero, 2013	13,4	37,2	10,8	15,5
Guil-Guerrero, 2013	18,5	27,6	10,3	9,6
Guil-Guerrero, 2017	21,1	35,7	9,5	11,3
Kitessa ve Young, 2009	19,4	29,8	9,94	13,2
Coupland, 2008	15,0	29,0	11,8	13,0

Söz konusu bitkinin ülkemizde geniş yayılışa sahip, ekolojik toleransı yüksek, çeşitli habitatlara adaptasyon gösteren kozmopolit, kolay yetişen bir bitki olması da bitkinin ürün boyutuyla değerini artırmaktadır.

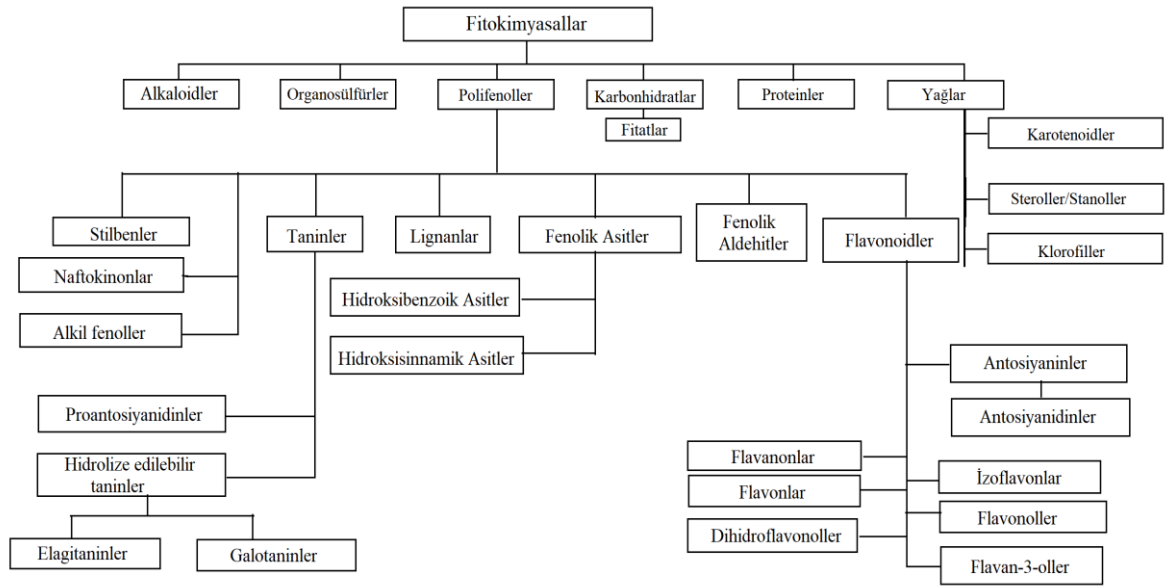
2.5 FİTOKİMYASAL MADDELER

Fitokimyasallar adından da anlaşılacağı üzere bitkilerin ürettiği kimyasal maddelerdir. Geçmişten günümüze uzun bir tarihi olan bu kimyasal maddeler ilaç olarak da kullanılabilmektedirler ve bu maddelerin çoğu bitkilerin ürettiği ikincil metabolit olarak sınıflandırılır (Cseke ve diğ., 2006).

Hasler ve Blumberg (1999)' e göre fitokimyasallar, biyolojik olarak aktif, bitkilerde bulunan ve insanlar için makro besinlere ve mikro besinlere atfedilenlerden daha fazla sağlık yararları sağlayan doğal olarak oluşan kimyasal bileşiklerdir. Genel olarak bitki hücrelerini kirlilik, stres, kuraklık, UV maruziyeti ve patojen saldırıları gibi çevresel tehlikelerden koruyan bitki kimyasalları fitokimyasallardır. Bitkileri hastalık ve zararlardan korurlar ve bitkinin rengine, tadına ve aromasına katkıda bulunurlar.

Fitokimyasallar genellikle ikincil metabolitler olarak bilinen maddelerdir. İkincil metabolitlerin de, antioksidan aktivite, antimikrobiyal etki, detoksifikasyon enzimlerinin modülasyonu, bağışıklık sisteminin uyarılması, trombosit agregasyonunun azalması, hormon metabolizmasının modülasyonu ve antikanser özelliği gibi biyolojik özellikleri vardır (Saxena ve diğ.; 2013).

İkincil metabolitler bitki fitokimyasalları içerisinde sayıları, yapısal farklılıkları ve dağılımları açısından çok büyük çeşitlilik gösteren bir gruptur (Campos-Vega ve Oomah; 2013). Fitokimyasalların genel olarak sınıflandırılması Şekil 2.14'te verilmiştir.

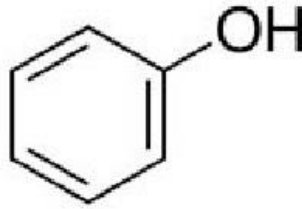


Şekil 2.14: Fitokimyasal maddelerin sınıflandırılması (Bolling ve diğ., 2011).

Proje kapsamında fitokimyasal maddelerle ilgili olarak, toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid madde miktarı ve toplam antioksidan kapasite analizleri yapılmıştır.

2.5.1 Fenolik Maddeler

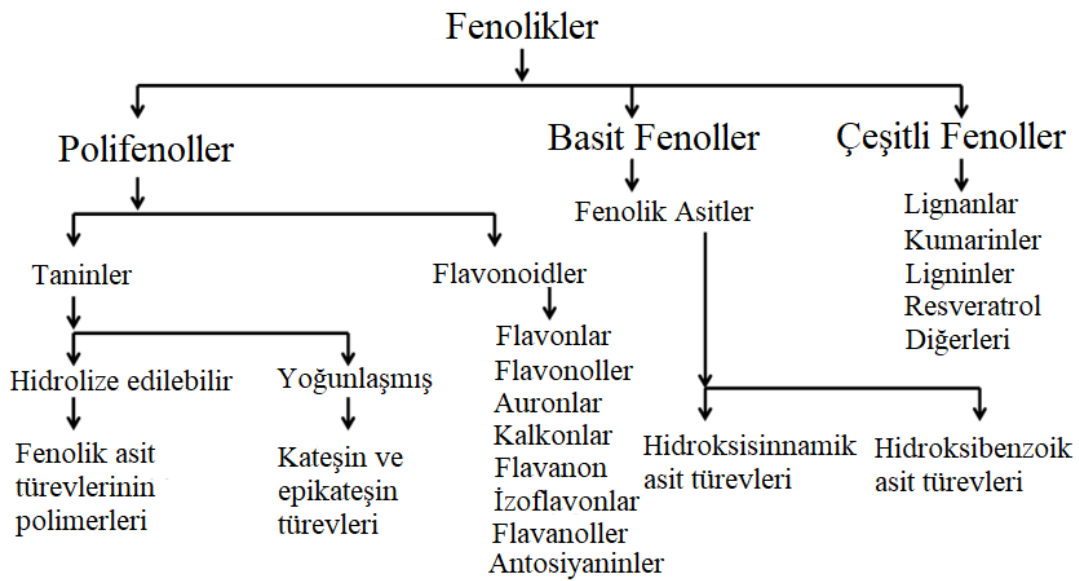
Fenolik bileşik terimi, ortak olarak bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan bir aromatik halkaya sahip olan çok çeşitli bitki maddelerini kapsar (Şekil 2.15) (Harborne, 1973).



Fenol

Şekil 2.15: Fenol bileşiğinin aromatik halka yapısı (Souza ve diğ., 2018).

Fenolik maddeler sıklıkla glikozitler halinde şekerle birleşmeleri sebebiyle suda çözünme eğilimine sahiptir. Genellikle hücre vakuolünde bulunurlar. Binden fazla yapısı bilinen doğal fenolik bileşikler arasında en büyük grubu flavonoidler oluşturur, ancak basit monosiklik fenoller, fenilpropanoidler ve fenolik kinonların hepsi önemli miktarda bu grubun içinde yer alır (Şekil 2.16). Bitkilerdeki lignin, melanin ve tanen gibi birkaç önemli polimerik malzeme grubu da polifenolik yapıdadır. Ayrıca proteinler, alkaloidler ve terpenoidler arasında da fenolik birimlere rastlanılabilmektedir (Harborne, 1973). Bunlara ek olarak çoğu fenolik maddenin antioksidan özelliği bulunmaktadır (Santos-Sánchez ve diğ., 2019).



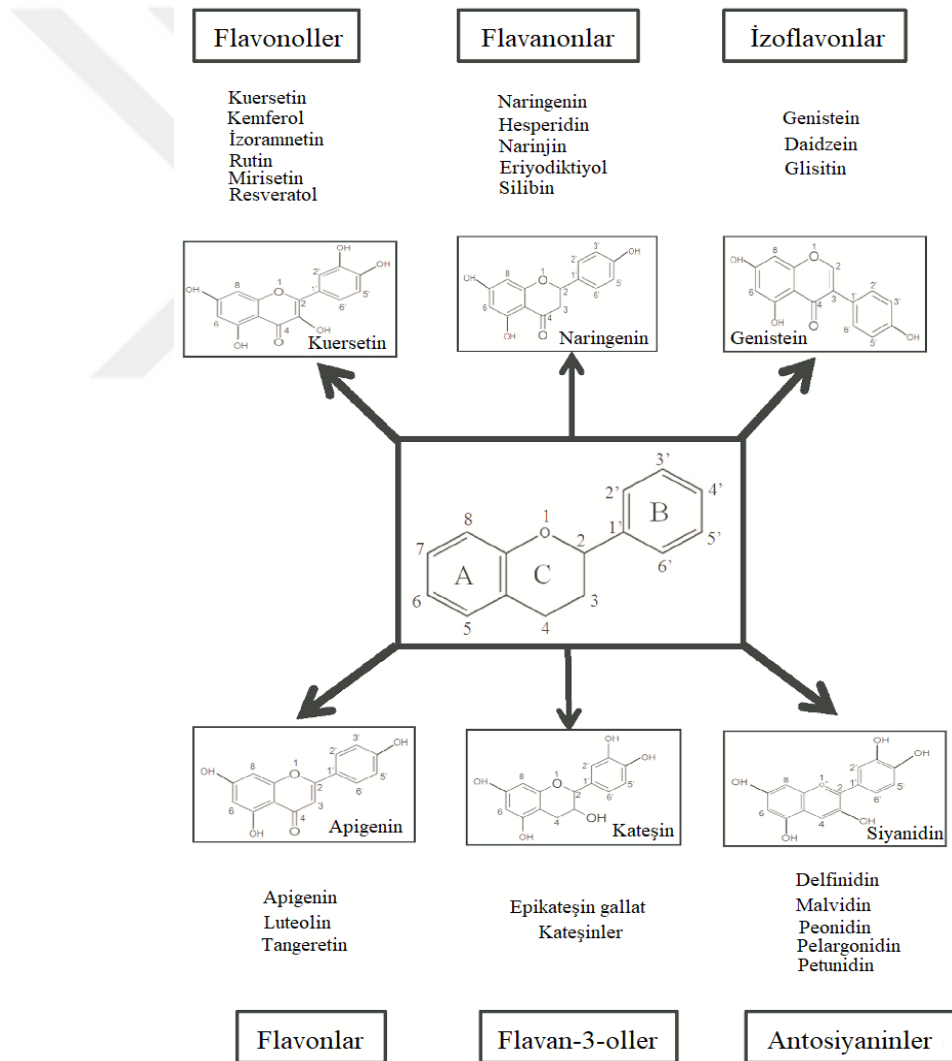
Şekil 2.16: Fenolik bileşiklerin genel sınıflandırılması (Ferreire ve diğ., 2010).

Proje kapsamında toplam fenolik madde miktarı Berker ve diğ.; (2013)’ne göre Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak bulunmuştur. Yöntem açıklaması ve deney prosedürü “Materyal ve Yöntem” kısmında yer almaktadır.

2.5.2 Flavonoidler

Flavonoidler, fenolik maddeler içerisinde bulunan bir gruptur ve tüm flavonid maddeler flavondan türetilmiştir. Flavonoidlerin bilinen sınıfları Şekil 2.17’de verilmiştir.

Flavonoidlerin çoğu suda çözünür ancak %70 etanol kullanılarak da flavonoid ekstraksiyonu yapılabilir. Fenolik bileşikler olması dolayısı ile baz veya amonyak ile bir işleme sokulduklarında renk değiştirirler. Bu sayede kolay bir şekilde saptanabilirler. Konjuge aromatik sistemler içermeleri sebebiyle spektrumun hem UV hem de görünür ışık bölgesinde yoğun bantlar göstermektedirler (Harbone, 1973).



Şekil 2.17: Flavonoidlerin genel sınıflandırılması (Hossain ve diğ., 2016).

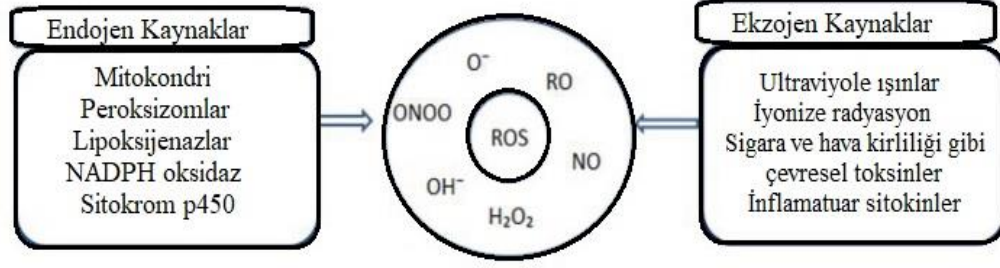
Proje kapsamında toplam flavonoid madde miktarı Chang ve diğ., (2002)'ne göre Alüminyum Klorür Kolorimetrik yöntemi kullanılarak bulunmuştur. Yöntem açıklaması ve deney prosedürü “Materyal ve Yöntem” kısmında yer almaktadır.

2.5.3 Antioksidan Maddeler

Antioksidan, düşük konsantrasyonlarda substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen maddelere verilen addır. Antioksidan bileşikler; hidrojen atomu transferi (HAT), tek elektron transferi (TET) ve geçiş metallerini şelatlama yeteneği gibi birkaç kimyasal mekanizma ile harekete geçerler.

Serbest radikallerin (SR) üretimi ile vücudun endojen ve ekzojen antioksidanları kullanarak bu ürünleri ortadan kaldırma yeteneği arasındaki dengesizlikten dolayı oksidatif stres adı verilen süreç meydana gelir. Metabolik süreçler sırasında hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\cdot-}$) gibi reaktif oksijen türlerinin (Şekil 2.18, ROS) öncü olduğu pek çok reaksiyon gerçekleşmektedir. Aşırı ROS varlığında biyolojik sistemlerde kardiyovasküler hastalıklardan kansere kadar birçok farklı patolojik sonuç ortaya çıkabilir. Bu sebeple biyolojik sistemlerde ROS'un inaktive olmasına izin veren enzimatik ve enzimatik olmayan yapıların hasarını kontrol etmek için antioksidan mekanizma bulunur. Endojen antioksidanlar, peroksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimlerdir veya bilirubin ve albümin gibi enzimatik olmayan birleşiklerdir.

Bir organizma yüksek konsantrasyonda ROS'a maruz kaldığında, endojen antioksidan sistem tehlikeye girer ve sonuç olarak organizmanın korunmasını tam olarak garanti edemez. Bu durumda antioksidan eksikliğini gidermek için vücut, gıda, besin takviyeleri veya ilaçlar yoluyla sağlanan ekzojen antioksidanları kullanır. En önemli ekzojen antioksidanlar arasında fenolik bileşikler, karotenoidler, C vitamini ve selenyum ve çinko gibi bazı mineraller yer alır (Santos-Sánchez ve diğ., 2019).



Şekil 2.18: ROS kaynakları (Aslankoç ve diğ., 2019).

Proje kapsamında yağ asitleri içerisinde bulunan toplam antioksidan kapasite incelenmiştir. Bu inceleme Cu (II)-Nc kompleksinin Cu (I)-Nc kompleksine indirgenmesine dayanan CUPRAC yöntemi ve DPPH yöntemi olmak üzere iki farklı metot kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Metotlara ait prosedürler “Malzeme ve Yöntem” kısmında detaylı olarak açıklanmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 MALZEME

3.1.1 Örneklerin Toplanması

Yapılan çalışmada *Echium plantagineum* L. türünün toprak üstü sürgün kısımları ile tohumları kullanılmıştır. Bu doğrultuda farklı lokasyonlardan örnekler toplanmıştır. Çalışmada yağ asidi eldesinde kullanılacak olan tohumlar aynı lokasyonda bulunun çok sayıda birey üzerinden toplanarak iyice kurutulmuş, nemsiz ve serin ortamda saklanmıştır.



Şekil 3.1: *E. plantagineum* L. bitkisi.



Şekil 3.2: *E. plantagineum* L. tohumu.

Örneklerin lokasyonlarına ayrı ayrı numaralar verilerek analizler bu numaralar üzerinden yapılmıştır. Her örneğe ait erişim numarası ve toplandığı bölge aşağıda verilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: Örnekler ve örneklerin toplandığı bölgeler.

Örnek No	Tür	Toplandığı Bölge	Örnek No	Tür	Toplandığı Bölge
FNB1	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Dudullu	FNB13	<i>E. plantagineum</i>	Sakarya
FNB2	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Zeytinburnu	FNB14	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Esenyurt
FNB3	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Zeytinburnu	FNB15	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/ Küçükçekmece
FNB4	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Yeşilköy	FNB16	<i>E. plantagineum</i>	Tekirdağ/Ganos Dağı
FNB5	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Soyak	FNB17	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Şile-İmrenli
FNB6	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Göztepe	FNB18	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Şile-Şuayipli
FNB7	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/ Küçükçekmece	FNB19	<i>E. italicum</i>	İstanbul/ Şile Yolu
FNB8	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Çamlıca	FNB20	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Firuzköy
FNB9	<i>E. plantagineum</i>	İstanbul/Kazlıçeşme	FNB21	<i>E. vulgare</i>	Kastamonu
FNB10	<i>E. plantagineum</i>	Kocaeli/Akçakoca	FNB22	<i>E. vulgare</i>	Kastamonu
FNB11	<i>E. plantagineum</i>	Kocaeli/Sepetçi	FNB23	<i>E. plantagineum</i>	Çanakkale/Gökçeada
FNB12	<i>E. plantagineum</i>	Kocaeli/Kartepe			

E. italicum ve *E. vulgare* örnekleri, *E. plantagineum* L. türünün sonuçlarına göre farklı türlerden de karşılaştırmalı veri sunabilmek için toplanmıştır.

3.1.2 Örneklerin Teşhisi

Bitki örnekleri toplanırken teşhisi doğru bir şekilde yapabilmek için bitkinin özellikleri not edilmiş ve bitkiler toplanmadan önce fotoğraflanmıştır. Toplanan örnekler incelenmiş ve alınan notlar da gözden geçirilerek “Flora of Turkey and East Aegean Islands” (Davis, 1965-1985; Davis ve diğ., 1988; Güner ve diğ., 2000) kaynağının ilgili ciltlerindeki teşhis anahtarları kullanılarak tür teşhisleri yapılmıştır.

3.1.3 Örneklerin Saklanması

Toplanan bitki örnekleri preslenerek kurutulmuştur. Kuruyan bitki örnekleri ve tohumlar 7-10 gün süreyle -25 °C’de saklanmıştır. Bu işlem kuru bitki örnekleri ve tohumlar üzerinde bulunabilecek böcek ve böcek yumurtalarından bitkilerin zarar görmemesi için yapılmaktadır. Soğutucudan alınan bitki ve tohum örnekleri nemsiz, kuru ve serin ortamda saklanmıştır. Örnekler kullanılacağı zaman bu ortamdan alınıp, tekrar düzgün bir şekilde muhafaza edilmiştir.

3.2 YÖNTEM

3.2.1 Tohumlardan Toplam Yağ Miktarı Analizi İçin Yağ Asitlerinin Eldesi

Tohum örneklerinin toplam yağ asidi miktarı Manirakiza (2001) tarafından yapılan çalışmaya göre Bilgh and Dyer Ekstraksiyon Metodu kullanılarak bulunmuştur. Deney üç tekrarlı olacak şekilde yapılmış olup tohum ağırlıkları sırasıyla 50 mg, 50 mg ve 250 mg olarak tartılmıştır.

50 mg Tohum İçin Uygulanan Prosedür: Tartılan tohum örnekleri havana alıp ezilmiştir. Yeterince parçalanmış tohumlar 15 mL’lik steril olmayan falconlara konulup üzerine 200 µL Metanol ve 100 µL Kloroform eklenmiş ve karışım 2 dakika vorteks ile karıştırılmıştır. Ardından 100 µL Kloroform eklenmiş ve karışım 2 dakika kuvvetli bir şekilde çalkalanmıştır. Karışıma 180 µL distile su eklendikten sonra karışım 2 dakika vortekslenmiştir. 2.000 rpm’de 10 dakika santirifüj yapılarak fazlar birbirinden ayrılmıştır. Alt faz darası alınan bir cam şişeye aktarılmıştır. %10 Metanol %90 Kloroform olacak şekilde 200 µL çözücü kalan karışıma eklenerek ikinci ekstraksiyona başlanmıştır. Karışım 2 dakika vorteks ile karıştırıldıktan sonra 2.000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Alt faz daha önce cam şişeye aktarılmış olan ilk ekstrakt ile birleştirilmiştir. Cam şişe içerisinde bulunan ekstrakt 104 °C’de yaklaşık 1 saat bekletilerek buharlaştırılmıştır.

250 mg Tohum İçin Uygulanan Prosedür: Tartılan tohum örnekleri havana alıp ezilmiştir. Güzelce parçalanmış tohumlar 15 mL’lik steril olmayan falconlara konulup üzerine 1000 µL Metanol ve 500 µL Kloroform eklenmiştir ve karışım 2 dakika vorteks ile karıştırılmıştır. Ardından 500 µL Kloroform eklenmiştir ve karışım 2 dakika kuvvetli bir şekilde çalkalanmıştır. Karışıma 900 µL distile su eklendikten sonra karışım 2 dakika vortekslenmiştir. 2.000 rpm’de 10 dakika santirifüj yapılarak fazlar birbirinden ayrılmıştır. Alt faz darası alınan bir cam şişeye

aktarılmıştır. %10 Metanol %90 Kloroform olacak şekilde 1 mL çözücü kalan karışıma eklenerek ikinci ekstraksiyona başlanmıştır. Karışım 2 dakika vorteks ile karıştırıldıktan sonra 2.000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Alt faz daha önce cam şişeye aktarılmış olan ilk ekstrakt ile birleştirilmiştir. Cam şişe içerisinde bulunan ekstrakt 104 °C’de yaklaşık 1 saat bekletilerek buharlaştırılmıştır.

Çözücünün uzaklaştırılmasının ardından şişe tekrar tartılmıştır ve elde edilen ağırlıklar % ham yağ miktarı eşitliğinde (Eşitlik 1) kullanılarak % toplam yağ miktarı hesaplanmıştır (AOAC, 1990).

3.2.2 Gaz Kromatografisi İçin Kullanılacak Olan Yağ Asitlerinin Eldesi

Gaz kromatografisi ölçümlerinde kullanılacak olan yağ asitleri Castejón ve diğ. (2018)’ne göre Buchi Extraction System B-811 cihazı kullanılarak elde edilmiştir (Şekil 3.3). İlk olarak tohum örneklerinin tartımı gerçekleştirilmiştir. Elimizde bulunan her bir tohum örneğinden 1 gr tartılmış ve öğütücüde tohumlar parçalanmıştır. Parçalanmış tohumlar selüloz ekstraksiyon kartuşlarına alınıp cihaza yerleştirilmiştir. Cihaza ait cam beherlerin darası alınmış ve ardından bu beherlere yaklaşık 150 mL Hekzan LC Grade konulmuştur. İçinde çözücü bulunan beherler cihaza yerleştirilmiş ve Buchi Soxleth Extraction Method B-811 çalıştırma kitapçığına uygun olarak yağ ekstraksiyon başlatılmıştır. Ekstraksiyonun aşamasında Soxleth Standart Ekstraksiyonu seçilmiştir. Soxleth Standart Ekstraksiyon’u için 5 saat ekstraksiyon aşaması, 1 saat yıkama aşaması ve 1 saat de kurutma aşaması olacak şekilde program ayarı yapılmıştır. Program bittikten sonra cam beherlerin tekrar tartımı yapılmıştır. Elde edilen veriler % ham yağ miktarı eşitliğinde (Eşitlik 1) kullanılarak % toplam yağ miktarı hesaplanmıştır (AOAC, 1990).

$$\% Yağ = \frac{M_1 - M_2}{m} \times 100$$

Eşitlik 1

M₁: Ekstraksiyon sonrası kabın ağırlığı

M₂: Kabın darası

m: Kullanılan örneğin ağırlığı



Şekil 3.3: Buchi ekstraksiyon sistemi B-811.

3.2.3 Yağ Asitlerinin Metil Esterlenmesi

100 mg'lık örnek 20 mL'lik bir deney tüpünde tartıldı. Örnek 10 ml'lik hekzanda çözüldü. Metanol içerisine 100 µL'lik 2N potasyum hidroksit (100 mL'de 11,2 g) eklendi. 30 saniye süreyle vortekslendi ve santrifüj edildi. Analizler için 2 ml süpernatant alındı (Regulation, 1991; David ve diğ., 2002).

3.2.4 GC-MS Analizleri

Kromatografik Sistem:	Agilent 7890A GC
İnlet	Split
Detektör	5975C MSD
Autosampler	Agilent 7683
Liner	Split liner (p/n 5183-4647)
Kolon	100 m x 0.25 mm ID, 0.2 µm HP-88

Deney Koşulları GC MS

İnlet sıcaklığı	250°C
Enjeksiyon hacmi	1 µL
Split oranı	1/20
Taşıyıcı gaz	Helyum
Basınç	300 kPa devamlı basınç (50°C'de 33 cm/s)
Detektör sıcaklığı	280°C
Detektör gazları	Helyum takviye gaz 30 mL/dk.

Şekil 3.4: GC deney koşulları.

Metilesterlenmiş yağ asidi örnekleri Agilent 7890A GC gaz kromatografi ve 5975C MSD kütle spektrometrisi cihazı kullanarak analiz edilmiştir. Analizlerde HP-88 100 m x 0.25 mm ID, 0.25 µm kolonu kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır. Fırın sıcaklık programı, HP-88 kolonu için 120 °C/dk 1 dakika tutuldu, 10 °C artışlar ile 175 °C'de 10 dakika beklendi, 5°C artışlar ile 210 °C'de 5 dk tutuldu ve yine 5 °C artışlar ile 240 °C'de 3 dakika tutuldu. 1 µL enjeksiyon yapıldı ve split oranı 1/20 ayarlandı (Regulation, 1991).

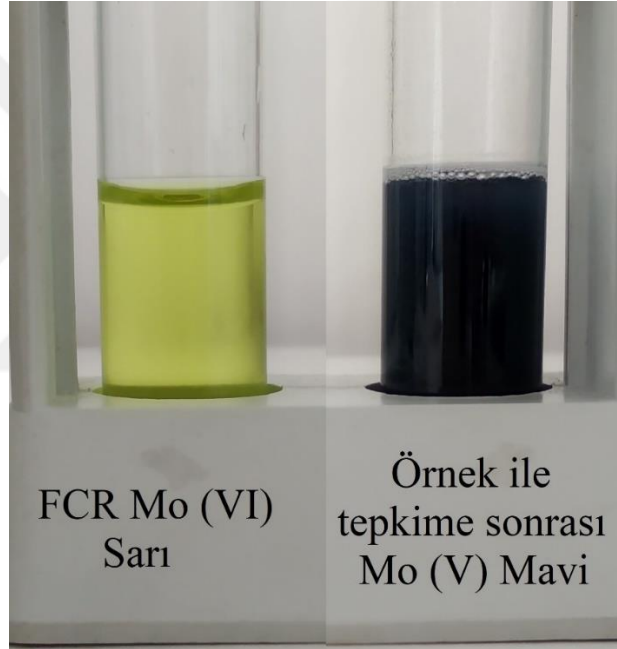
GC/MS cihazında yapılacak yağ asidi analizleri için standart olarak Supelco 37 Component FAME Mix kullanılmıştır. Çalışma kapsamında kullanılan Stearidonik Asit standardı Supelco 37 Component FAME Mix içerisinde bulunmamaktadır. Bu sebeple Stearidonic acid ≥99% SMB00291-1MG SIGMA yağ asidi standardı ek olarak kullanılmıştır. Kullanılan standartlar farklı ppm değerleri ile cihaza yüklenmiş ve cihaz kalibrasyonu Şekil 3.4'te verilen koşullara uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Alınan kalibrasyon kromatogramları GC/MS cihazına ait programda birleştirilerek FAME Mix ve SDA'nın birlikte bulunduğu (Tablo 3.2) yeni bir kalibrasyon oluşturulmuştur.

Tablo 3.2: Tez kapsamında kullanılan yağ asitleri.

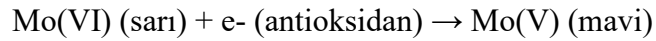
Yaygın Adı	Sistemik Adı	Kimyasal Formülü	Karbon Sayısı	Alıkonma Zamanı (dk)
Bütirik Asit	Bütanoik Asit	C ₄ H ₈ O ₂	C4:0	6,154
Kaproik Asit	Hekzanoik Asit	C ₆ H ₁₂ O ₂	C6:0	6,572
Kaprilik Asit	Oktanoik Asit	C ₈ H ₁₆ O ₂	C8:0	7,298
Kaprik Asit	Dekanoik Asit	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	C10:0	8,432
Hendecanoic acid	Undekanoik Asit	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	C11:0	9,164
Laurik Asit	Dodekanoik Asit	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	C12:0	10,019
Tridekanoik Asit	Tridekanoik Asit	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	C13:0	11,014
Miristik Asit	Tetradekanoik Asit	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	C14:0	12,192
Miristoleik Asit	Cis-9-tetradekanoik Asit	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	C14:1	13,273
Pentadesilik Asit	Pentadekanoik Asit	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	C15:0	13,613
Cis-10-Pentadekanoik Asit	Cis-10-Pentadekanoik Asit	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	C15:1	14,950
Palmitik Asit	Heksadekanoik Asit	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	C16:0	15,361
Palmitoleik Asit	Cis-9-Heksadekanoik Asit	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	C16:1	16,734
Margarik Asit	Heptadekanoik Asit	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	C17:0	17,498
10-Heptadekanoik Asit	Cis-10-Heptadekanoik Asit	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	C17:1	18,910
Stearik Asit	Oktadekanoik Asit	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	C18:0	19,648
Elaidik Asit	Trans-9-Oktadekanoik Asit	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	C18:1n-9 trans	20,445
Oleik Asit	Cis-9-Oktadekanoik Asit	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	C18:1n-9 cis	20,823
Linolelaidik Asit	Cis-9, Trans-12-Oktadekadienoik Asit	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	C18:2n-6 trans	21,707
Linoleik Asit (LA)	Cis-9,cis-12-Oktadekadienoik Asit	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	C18:2n-6 cis	22,514
Araşidik Asit	Eikosanoik Asit	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	C20:0	23,567
γ-Linolenik Asit (GLA)	6,9,12-Oktadekatrienoik Asit	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	C18:3n-6	23,656
alfa-Linolenik Asit(ALA)	9,12,15-Oktadekatrienoik Asit	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	C18:3n-3	24,372
Gondoik Asit	cis-11-Eikosenoik Asit	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	C20:1n-9	24,628
Heneikosilik Asit	Heneikosanoik Asit	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	C21:0	25,441
Stearidonik Asit (SDA)	6,9,12,15-Oktadekatetraenoik Asit	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	C18:4n-3	25,655
Eikosadienoik Asit	Cis-11,14-Eikosadienoik Asit	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	C20:2	26,347
Behenik Asit	Dokosanoik Asit	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	C22:0	27,463
Dihomo-γ-Linolenik Asit	8,11,14-Eikosatrienoik Asit	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	C20:3n-6	27,649
Dihomolinolenik asit	Cis-11,14,17-Eikosatrienoik Asit	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	C20:3n-3	28,677
Araşidonik Asit (ARA)	Cis-5,8,11,14-Eikosatetraenoik Asit	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	C20:4n-6	28,677
Erusik Asit	Cis-13-Dokosenoik Asit	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	C22:1n-9	28,674
Trikosilik Asit	Trikosanoik Asit	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	C23:0	29,622
Dokosadienoat	cis-13,16-Dokosadienoik Asit	C ₂₂ H ₄₀ O ₂	C22:2n-6	30,620
Eikosapentaenoik Asit (EPA)	Cis-5,8,11,14,17-Eikosapentaenoik Asit	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	C20:5n-3	30,887
Lignoserik Asit	Tetrakosanoik Asit	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	C24:0	31,587
Nervonik Asit	Cis-15-Tetrakosenoik Asit	C ₂₄ H ₄₆ O ₂	C24:1	32,678
Dokosahekzaenoik Asit (DHA)	Cis-4,7,10,13,16,19-Dokosahekzaenoik Asit	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	C22:6n-3	35,389

3.2.5 Toplam Fenolik Madde Tayini

Folin-Ciocalteu yöntemi önceleri protein analizi için geliştirilmiş olup daha sonra toplam fenolik madde tayininde kullanılmıştır (Folin ve Ciocalteu, 1927; Singleton ve diğ, 1999). Bu yöntem pH 10 ortamında çalışılan, Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR), molibdofosfotungstik heteropoliasit ($3\text{H}_2\text{O} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 13\text{WO}_3 \cdot 5\text{MoO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) ile gerçekleştirilmektedir. Metot, FCR da bulunan Mo(VI)'ın fenolik maddelerin varlığında Mo(V)'e indirgenmesiyle oluşan mavi renkli kompleksin 765 nm dalgaboyunda absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Şekil 3.5). Standart olarak genellikle gallik asit kullanılmaktadır ve elde edilen sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak (mg/L) ifade edilir.



Şekil 3.5: FCR tepkimesi.



Bu yöntemde elde edilen TAC değerleri yüksek çıkmaktadır. Bu durumun sebebi; fenolik antioksidanların pH 10'da protonlarını kaybetmesi, yükseltgenmeye daha müsait olması ve FCR'nin yüksek redoks potansiyeline sahip olması olarak açıklanabilir. Folin-Ciocalteu yöntemiyle toplam fenolik bileşen analizi sulu fazda bazik ortamda yapılmaktadır. Bahsedilen bu yöntem lipofilik antioksidan analizi için elverişli değildir. Amino asitler, sitrik asit, vitamin C ve indirgen sekerler bu yöntemde enterfere edici etki göstermektedirler. Ayrıca, yöntemin analiz süresinin uzun olması, rutin analizler için uygulamasını zorlaştırmaktadır (Magalhães ve diğ, 2006).

Folin-Ciocalteu (FC) yöntemi ile lipofilik antioksidanların ve askorbik asidin tayini yapılamamaktadır. Bu sebeple yöntem, *Berker ve diğ. (2013)* tarafından lipofilik ve hidrofilik antioksidanların beraber tayinine olanak sağlayacak şekilde modifiye edilmiştir. Modifiye Folin-Ciocalteu yönteminde FCR, iso-butyl alkol ile 1:2 (v/v) oranında seyreltilerek gerçekleştirilmiştir. Alkali ortamda çalışılan bu yöntemde (pH 10) orijinal folin yöntemine göre daha kısa sürede (20 dakika) analizler yapılabilmektedir.

Prosedür;

0,3 mL folin reaktifi + x mL antioksidant çözeltisi + 3,0 mL 0,1 M NaOH çözeltisi (6,7-x) mL H₂O olacak şekilde toplam hacim 10,0 mL olan çözeltiler hazırlanıp oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 665 nm de kör çözeltiliye (antiosidan veya örnek çözelti hariç diğer reaktifleri içeren çözelti) karşı absorbansları ölçülür (*Berker ve diğ., 2013*).

Hazırlanan ekstraktların mmol Gallik Asit/g örnek eşdeğeri cinsinden toplam fenolik miktarı, modifiye Folin-Ciocalteu yöntemi için eşitlik 1.3'den yararlanılarak hesaplandı (*Gerçek, 2020*).

$$\text{Toplam Fenolik miktarı (mmol Gallik Asit/g)} : (A / \epsilon_{\text{Gallik Asit}}) \times V_s / V_o \times SF \times V_E / m \quad (1.3)$$

A: Ölçülen absorbans

$\epsilon_{\text{Gallik Asit}}$: Gallik Asidin molar absorpsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)

V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (mL)

V_o : Örnek hacmi (mL)

SF: Seyreltme faktörü

V_E : Ekstraktların hazırlandığı son hacim (mL)

m: Örnek ağırlığı (g)

3.2.6 Toplam Flavonoid Madde Tayini

Çalışmada toplam flavonoid madde tayini AlCl_3 klorometrik yöntemi ile yapılmıştır (Şekil 3.6). Alüminyum klorür kolorimetrik metodun prensibi, alüminyum klorürün C-4 keto grubu ve flavonların ve flavonollerin C-3 veya C-5 hidroksil grubu ile asit kararlı kompleksler oluşturmalarına dayanmaktadır. Buna ek olarak, alüminyum klorür, flavonoidlerin A- veya B-halkasındaki ortodihidroksil gruplarıyla asit stabil kompleksler oluşturur. 15 standartlı komplekslerin alüminyum klorür ile yapılan dalga boyu taramaları, galangin, morin ve kaempferol gibi C-3 ve C-5 hidroksil gruplarına sahip flavonollerin yanı sıra orto-dihidroksil grupları olan flavonolların oluşturduğu komplekslerin (rutin, quercetin, quercitrin ve myseckin) maksimum absorpsiyonunun 415-440 nm'de olduğu görülmüştür (*Chang ve diğ., 2002*).

Çeşitli biyolojik aktivitelerle, gıda ürünlerinin kalitesini değerlendirmek için flavonoidlerin anahtar sekonder metabolit sınıfı olduğu kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, flavonoid içeriğini belirlemek için alüminyum klorür reaksiyonu kullanan uygun kolorimetrik yöntemin yalnızca flavonlar ve flavonoller için spesifik olduğu kanıtlanmıştır. Flavanoid olmayıp da katekolik grup içeren bileşiklerin (Klorojenik asit gibi) 415-440 nm'de absorbansının olmaması fakat 510 nm 'de absorbans verdiği görülmüştür (Pekal ve diğ., 2014).



Şekil 3.6: Alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi tepkimesi.

Prosedür;

x mL antioksidant çözeltisi + (4-x) mL ultra saf su + 0,3 mL % 5'lik NaNO_2 karışımı 5 dakika oda sıcaklığında bekletilerek 0,6 mL %10'luk AlCl_3 çözeltisi eklenmiş ve 6 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra 1 mL 1 M NaOH çözeltisi ve 3,1 mL distile su eklenerek toplam hacim 10 mL'ye ayarlanarak 10 dakika sonra 510 nm de kör çözeltiye (antioksidan veya örnek çözelti hariç diğer reaktifleri içeren çözelti) karşı absorbansları ölçülmüştür (Chang ve diğ., 2002).

Hazırlanan ekstraktların mmol Kateşin/g örnek eşdeğeri cinsinden toplam flavonoid miktarı AlCl_3 kolorimetrik yöntemi için eşitlik 1.4'den yararlanılarak hesaplandı (Gerçek, 2020).

$$\text{Toplam Flavonoid Miktarı (mmol Kateşin/g)} = (A/\epsilon_{\text{Kateşin}}) \times V_s / V_0 \times \text{SF} \times V_E / m \quad (1.4)$$

A: Ölçülen absorbens

$\epsilon_{\text{Kateşin}}$: Kateşin molar absorpsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)

V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (mL)

V_0 : Örnek hacmi (mL)

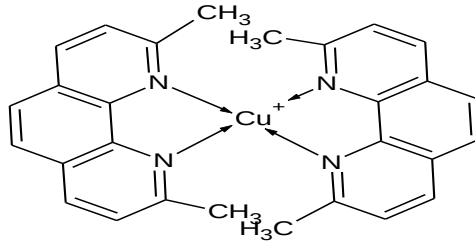
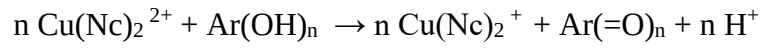
SF: Seyreltme faktörü

V_E : Ekstraktların hazırlandığı son hacim (mL)

m: Örnek ağırlığı (g)

3.2.7 CUPRAC Yöntemi ile Toplam Antioksidan Madde Tayini

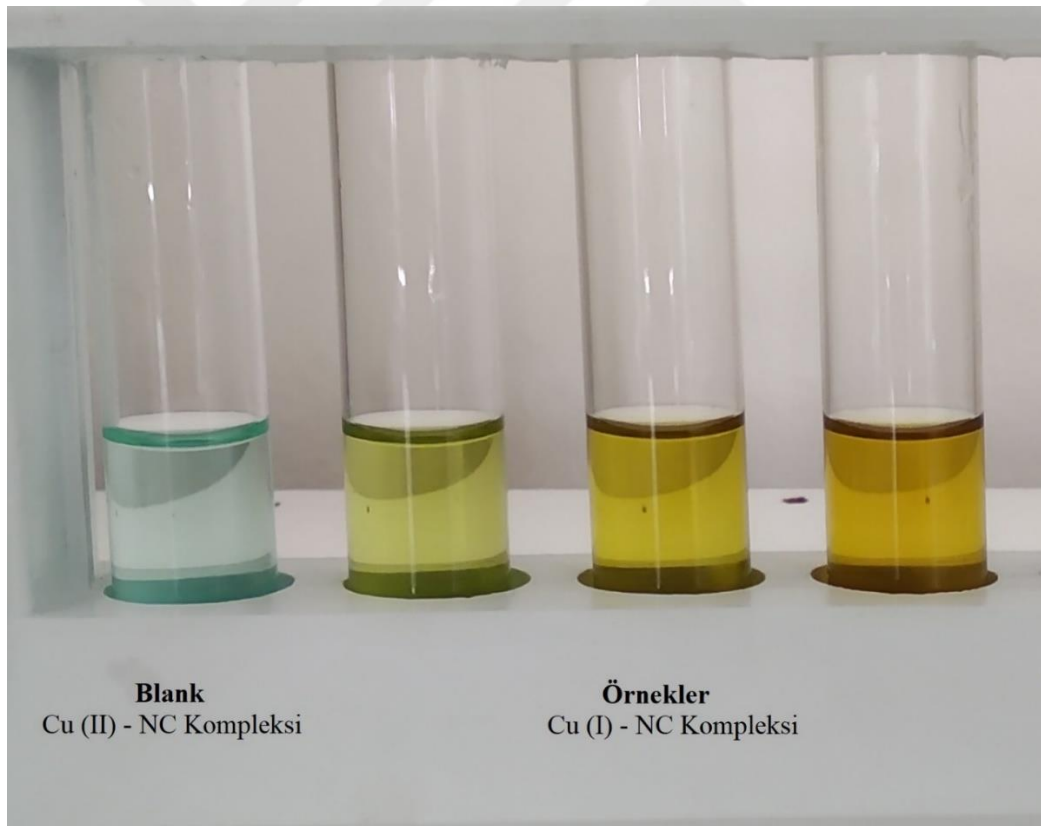
CUPRAC yöntemi, kromojenik bir oksidasyon aracı olan Cu(II)-Nc (bakır(II)-neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) reaktifinin indirgen özellikli antioksidanlar tarafından indirgenmesi sonucu oluşan Cu(I)-Nc (bakır(I)-neokuproin) kelatının 450 nm'de absorbansının ölçülmesi esasına dayanan spektrofotometrik antioksidan kapasite tayin yöntemidir (Apak ve diğ, 2004). CUPRAC yönteminde, Cu(II) klorür çözeltisi, neokuproin çözeltisi ve amonyum asetat (pH= 7 tamponu) çözeltilerinin karıştırılmasından sonra, çözeltinin üzerine antioksidan ilave edilir ve 30 dakika sonunda antioksidan bulunmayan referansa karşı 450 nm'de absorbans değerlerinin ölçülmesinden ibarettir. CUPRAC yöntemi hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanların toplam miktar tayinine elverişli, ucuz ve kolay bir yöntemdir. CUPRAC yöntemi oldukça yaygın bir kullanıma sahip olup, bitki çaylarına (Apak ve diğ, 2006), kayısı ekstraktlarına (Güçlü ve diğ, 2006), insan serumuna (Apak ve diğ, 2005), suda çözülebilen radikal süpürücülere (Bektaşoğlu ve diğ, 2006), bazı polifenolik bileşiklerin tayininde (Apak ve diğ, 2008), flavonoidler varlığında tek başına askorbik asit tayininde (Özyürek ve diğ, 2007a), zayıf asidik katyon değiştirici reçine kullanarak CUPRAC yöntemi reaksiyon ürünü olan $\text{Cu}(\text{Nc})_2^+$ kelat kompleksinin önderiştirilmesinde (Özyürek ve diğ, 2007b), lipofilik ve hidrofilik antioksidanların çözünmelerini kolaylaştırıcı bir oligosakkarid olan metil-beta-siklodekstrin kullanarak birlikte tayininde (Çelik ve diğ, 2007) modifiye edilerek yöntem başarıyla uygulanmıştır. Bu reaksiyonda polifenoller kendine tekabül eden kinonlara yükseltgenmektedirler.



CUPRAC: Bis(neocuproin)bakır(I) kelat katyonu

Şekil 3.7: Cu (I)-Nc kompleksinin (kelatının) kimyasal yapısı.

CUPRAC yönteminde oluşan mavi renkli Cu(II)-Nc kompleksi antioksidanlarla etkileşip sarı renkli Cu(I)-NC kompleksine indirgenmektedir (Şekil 3.8) (Apak ve diğ., 2004; Güçlü ve diğ., 2006). Bundan yararlanılarak bitki ve gıda örneklerindeki TAC'si hesaplanmaktadır.



Şekil 3.8: CUPRAC yöntemi ile gerçekleşen tepkime.

Prosedür;

1,0 mL $1,0 \times 10^{-2}$ M CuCl_2 çözeltisi + 1,0 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neocuproin (Nc) çözeltisi + 1,0 mL 1,0 M NH_4Ac çözeltisi + x mL antioksidant çözeltisi + (1,1-x) mL H_2O olacak şekilde toplam hacmi 4,1 mL olan çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 450 nm de kör çözeltiliye karşı absorbansları ölçüldü.

Hazırlanan ekstraktların mmol Troloks/g örnek eşdeğeri cinsinden TAC değerleri CUPRAC yöntemi için eşitlik 1.2'den yararlanılarak hesaplandı (Gerçek, 2020).

$$\text{TAC (mmol Troloks/g)} = (A/\epsilon_{\text{Troloks}}) \times V_s / V_o \times \text{SF} \times V_E / m \quad (1.2)$$

A: Ölçülen absorbans

$\epsilon_{\text{Troloks}}$: Troloksun molar absoprsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)

V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (mL)

V_o : Örnek hacmi (mL)

SF: Seyreltme faktörü

V_E : Ekstraktların veya infüzyonların hazırlandığı son hacim (mL)

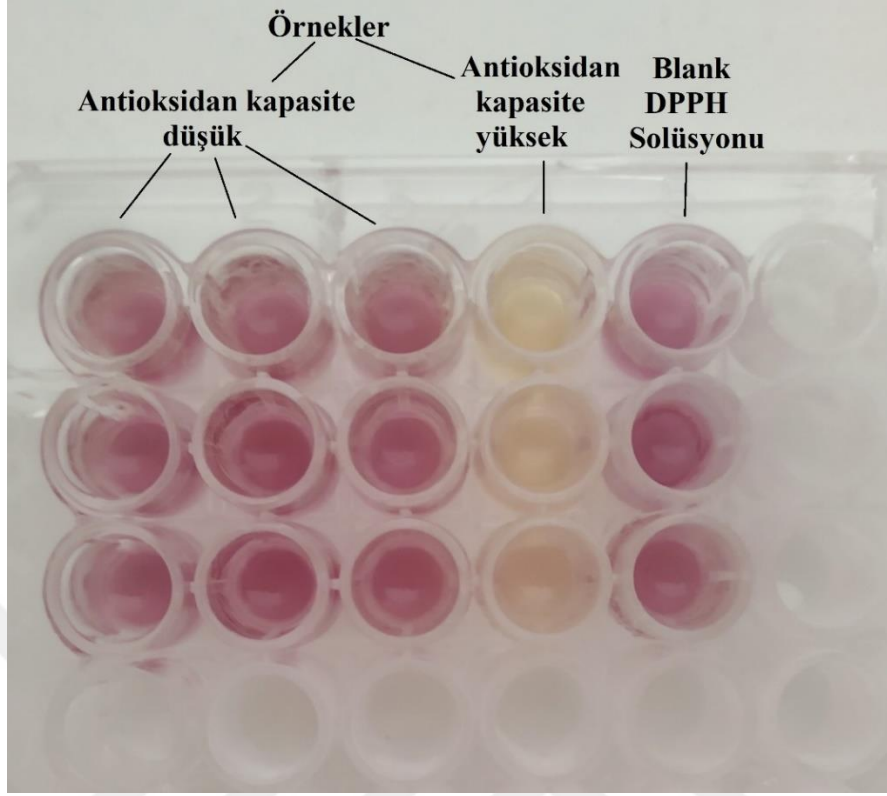
m: Örnek ağırlığı (g)

3.2.8 DPPH Yöntemi ile Toplam Antioksidan Madde Tayini

Toplam antioksidan madde tayini için kullanılan DPPH yönteminin prosedürü aşağıda verilmiştir.

Prosedür;

Uygun oranda seyreltilmiş olan ekstraktan 15 μL alınmıştır. Metanol içerisinde $150 \mu\text{mol L}^{-1}$ olacak şekilde hazırlanmış olan DPPH solüsyonundan da 185 μL alınarak ekstraktın üzerine eklenmiştir. Karışım 10 saniye vortekslenip ardından oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 45 dakika inkübe edildi (Şekil 3.9). İnkübasyon sonrası özütün absorbansı Epoch Mikroplate okuyucuda 515 nm'de ölçüldü. Trolox, kalibrasyon eğrisi için $50\text{-}500 \mu\text{mol L}^{-1}$ 'de standart olarak kullanıldı. Sonuçlar, g numune başına mg Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TAC) olarak ifade edildi (Bobo-García ve diğ., 2015).



Şekil 3.9: DPPH yöntemi ile gerçekleşen tepkime.

Hazırlanan ekstraktların mmol Troloks/g örnek eşdeğeri cinsinden TAC değerleri DPPH yöntemi için Eşitlik 1.5'ten yararlanılarak hesaplandı.

$$\text{TAC (mmol troloks/ g örnek)} = (A_s - A_0 / \epsilon_{\text{Troloks}}) \times (V_s / V_0) \times \text{SF} \times V_E / m$$

(Eşitlik 1.5)

A₀: Ölçülen absorbans

A_s: Solüsyonun absorbansı

$\epsilon_{\text{Troloks}}$: Troloksun molar absoprsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)

V_s: Absorbansın ölçüldüğü son hacim (mL)

V₀: Örnek hacmi (mL)

SF: Seyreltme faktörü

V_E: Ekstraktların veya infüzyonların hazırlandığı son hacim (mL)

m: Örnek ağırlığı (g)

3.2.9 Elde Edilen Sonuçların İstatistiksel Analizi

Toplam fenolik madde tayini, toplam flavonoid madde tayini, CUPRAC ve DPPH fitokimyasal analiz yöntemleri her bir örnek için üçer tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucunda alınan sonuçların GraphPad Prism 8.4.3 programında analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçların ortalama ve standart sapma değerleri de verilere eklenmiştir.



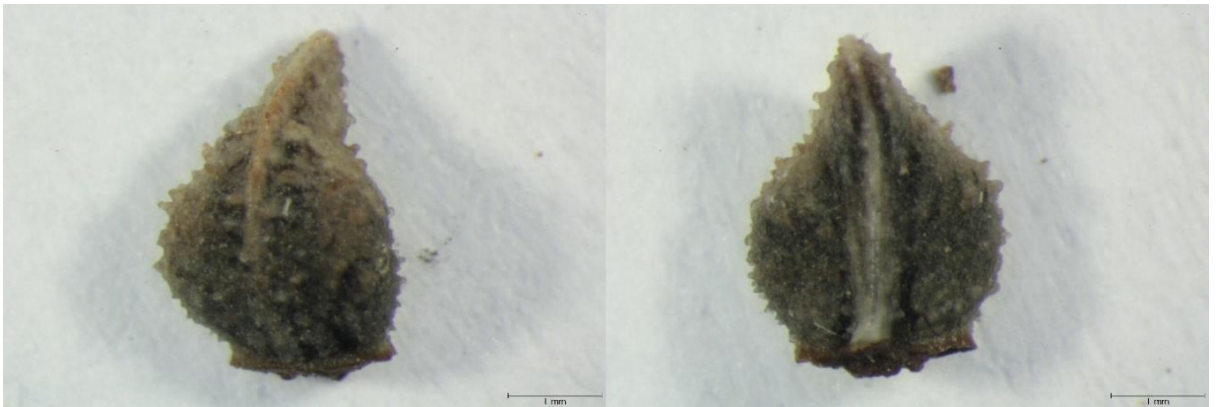
4. BULGULAR

4.1 TOHUMLARIN MORFOLOJİK İNCELEME SONUÇLARI

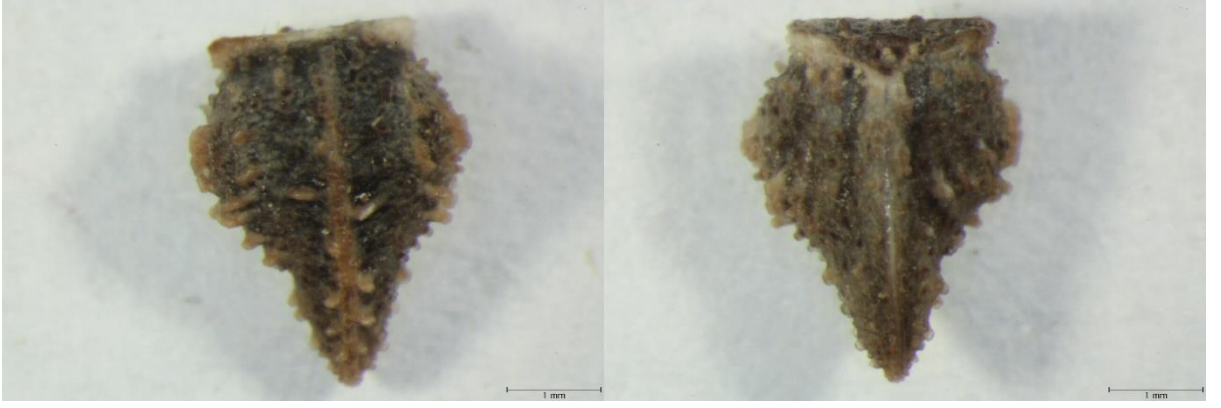
E. plantagineum L. türünün meyveleri şizokarpik meyve biçimindedir. Boraginaceae familyasının genel özelliği olan şizokarpik meyveler, iki karpelli ginekeumun olgunlaşmasıyla her yarım karpelin dört adet tek tohumlu merikarpidler oluşturacak şekilde parçalanmasıyla meydana gelir. Bu şizokarpik meyveler nutlet olarak da adlandırılmaktadır. Ayrıca nutlet üzerinde yoğun bir şekilde küçük yumrular ve çıkıntılar bulunmaktadır (Molinelli ve diğ., 2020).

Tez çalışmasına ait tohum örneklerinin stereo mikroskop altında çekilen görüntüleri Şekil 4.1-4.22 arasında verilmiştir. Şekillere göre tohum yüzey renginin beyazımsı gri ve siyah tonları arasında değişiklik gösterdiği gözlenmiştir. Renklenme yüzeydeki yumru ve çıkıntılara göre gerçekleşmektedir. Yumru ve çıkıntılar ne kadar fazla ise renklenmede gri tonları da o kadar artmaktadır.

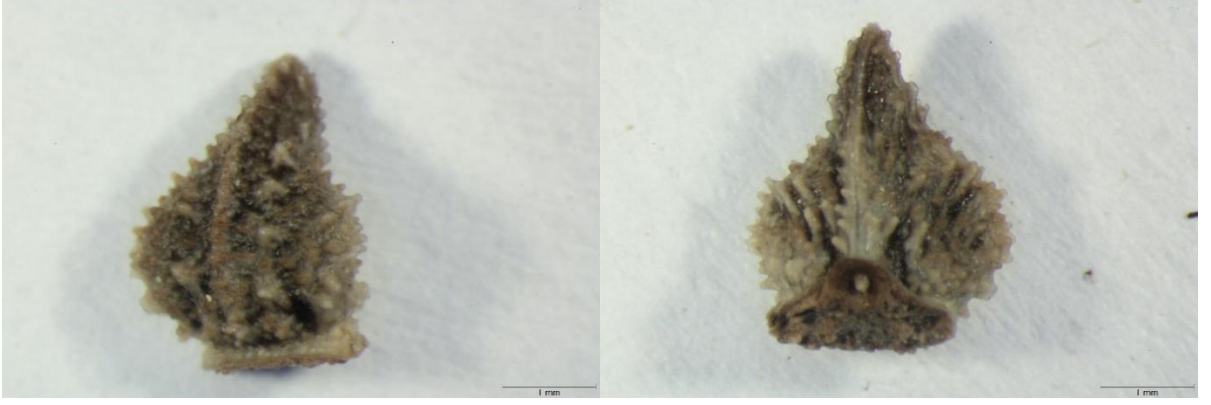
Meyve şekilleri incelendiğinde *E. plantagineum* L., *E. italicum* (FNB19) ve *E. vulgare* (FNB21 ve FNB 22) türleri arasında gözle görülebilecek derecede farklılıklar bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.18-4.22). Bu duruma göre tohum morfolojilerinin de sistematik açıdan tür ayırımında kullanılabileceği ortaya çıkmaktadır.



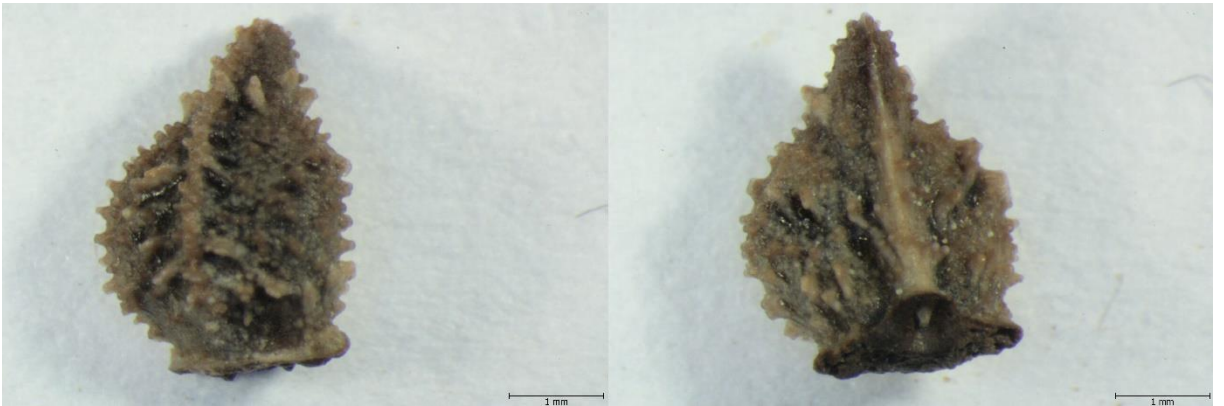
Şekil 4.1: FNB1 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



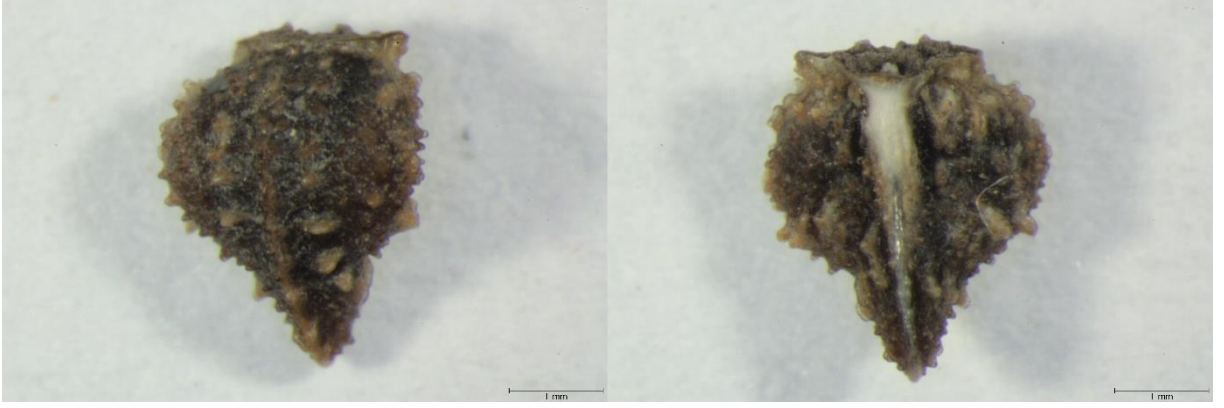
Şekil 4.2: FNB2 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



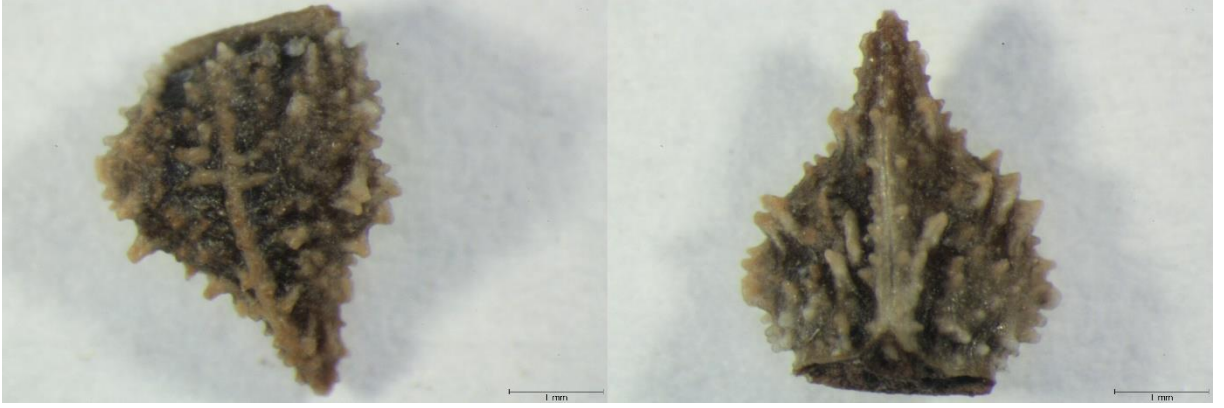
Şekil 4.3: FNB3 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



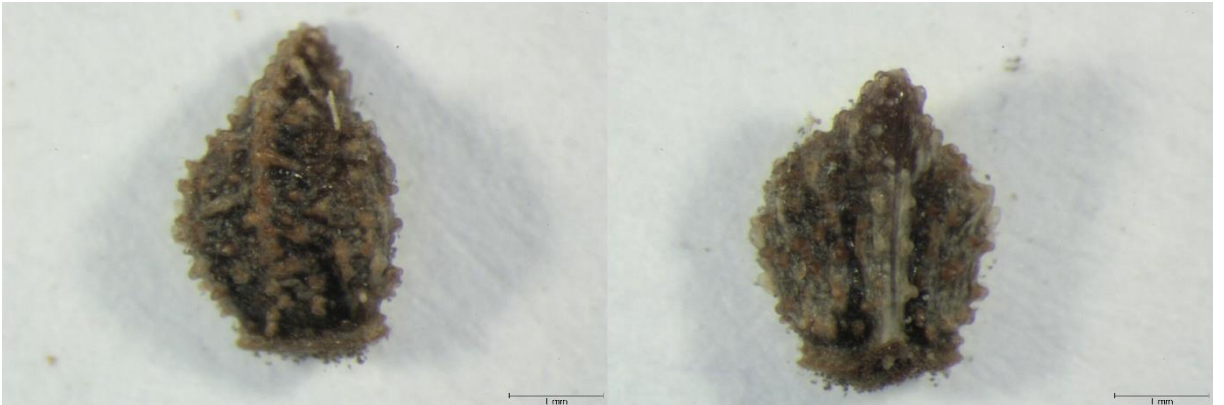
Şekil 4.4: FNB4 numaralı örneğin tohumunun 0,5x0,8 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



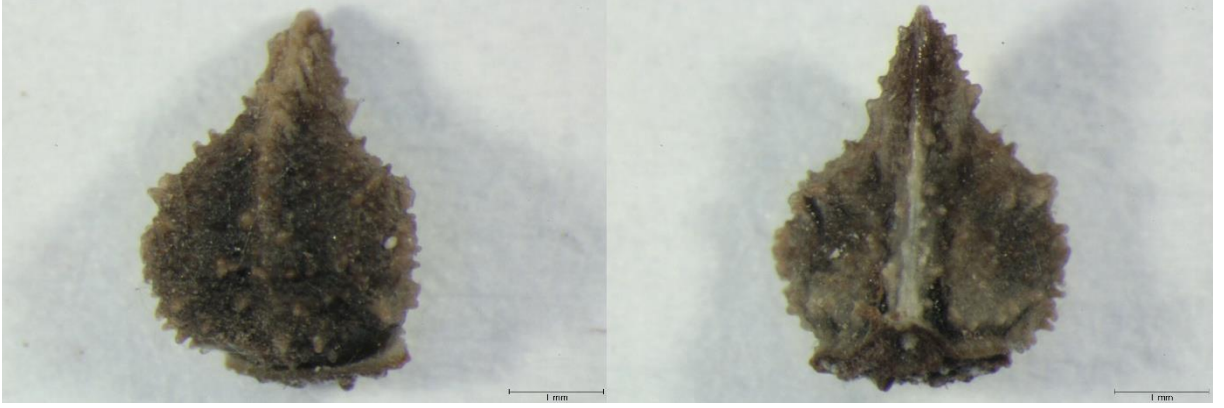
Şekil 4.5: FNB5 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



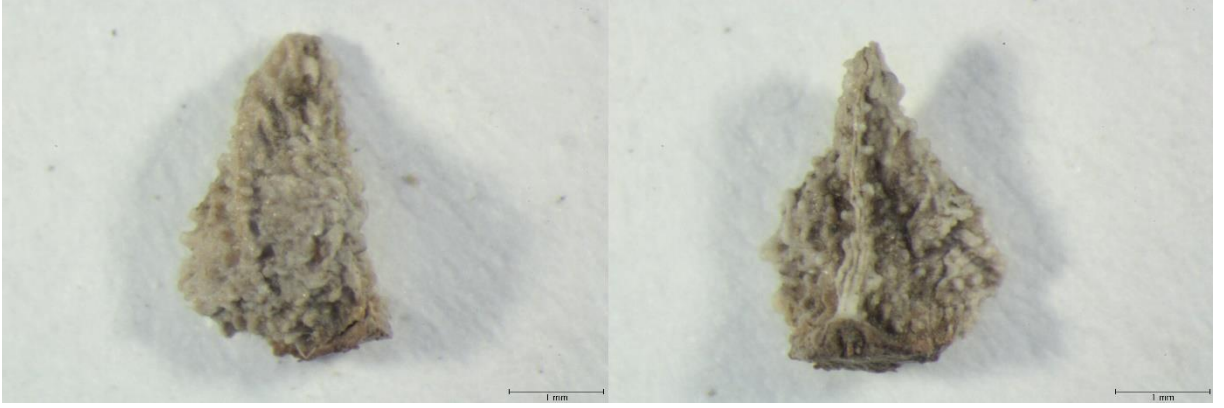
Şekil 4.6: FNB6 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



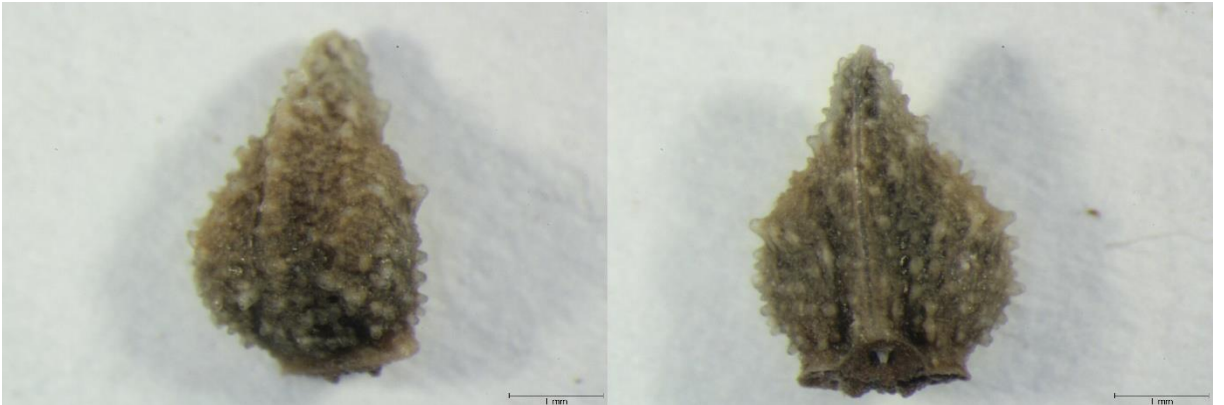
Şekil 4.7: FNB7 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



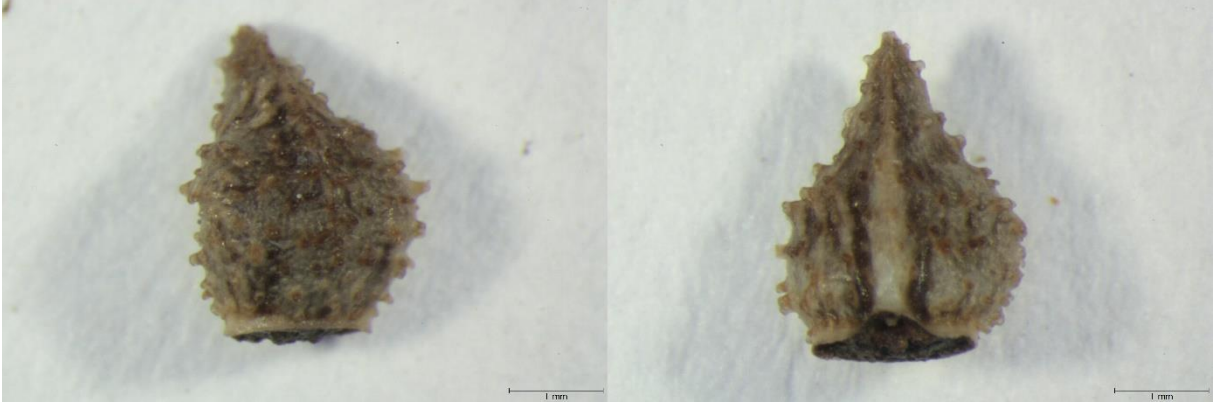
Şekil 4.8: FNB8 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



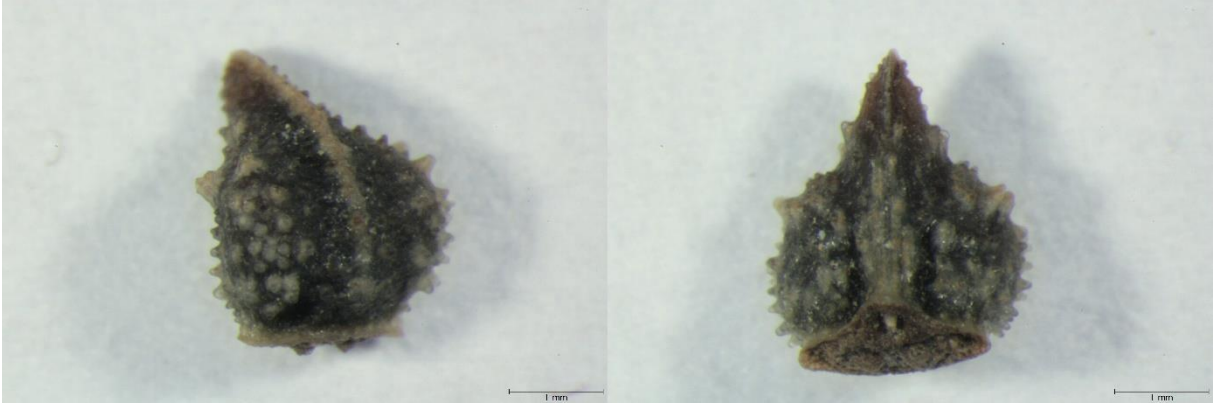
Şekil 4.9: FNB9 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



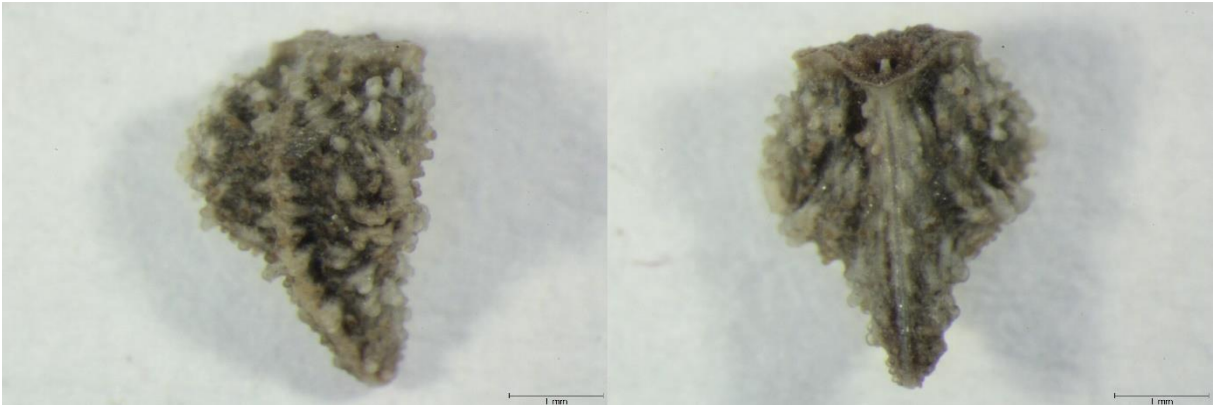
Şekil 4.10: FNB10 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



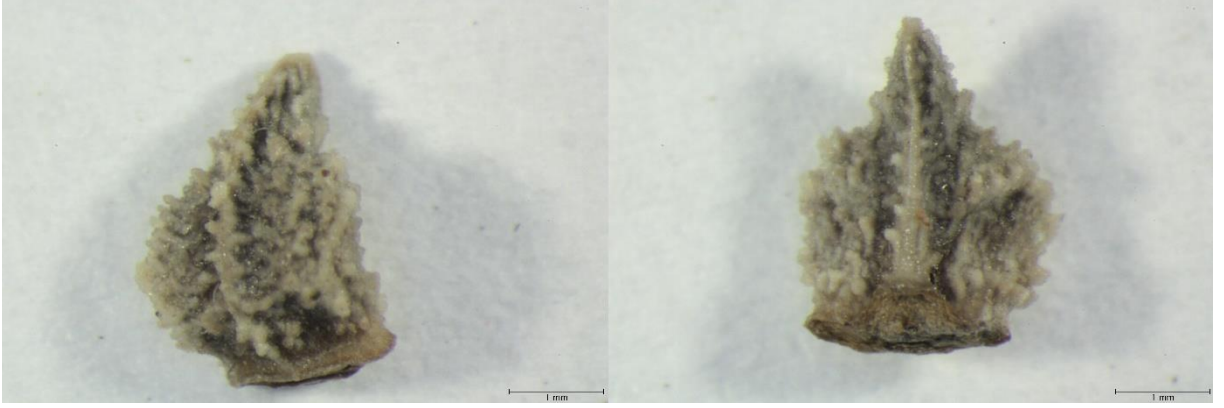
Şekil 4.11: FNB1 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



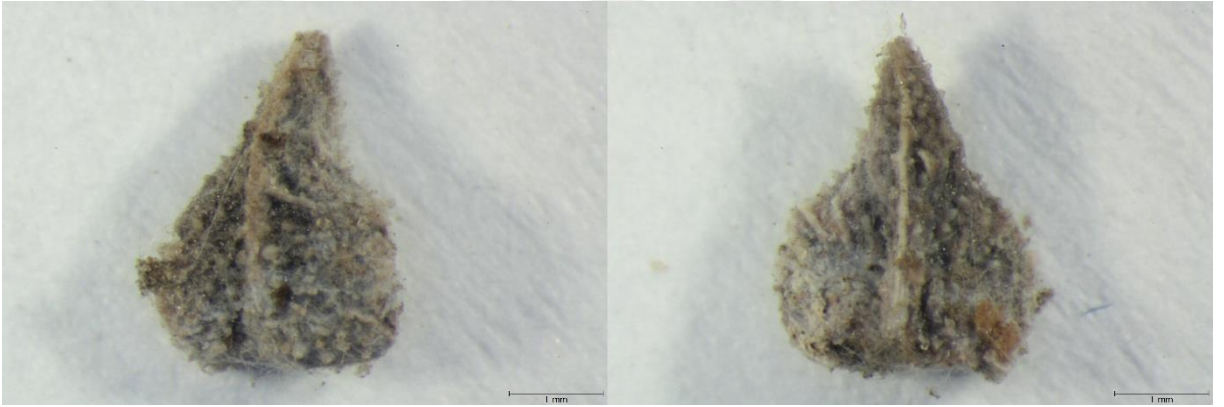
Şekil 4.12: FNB12 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



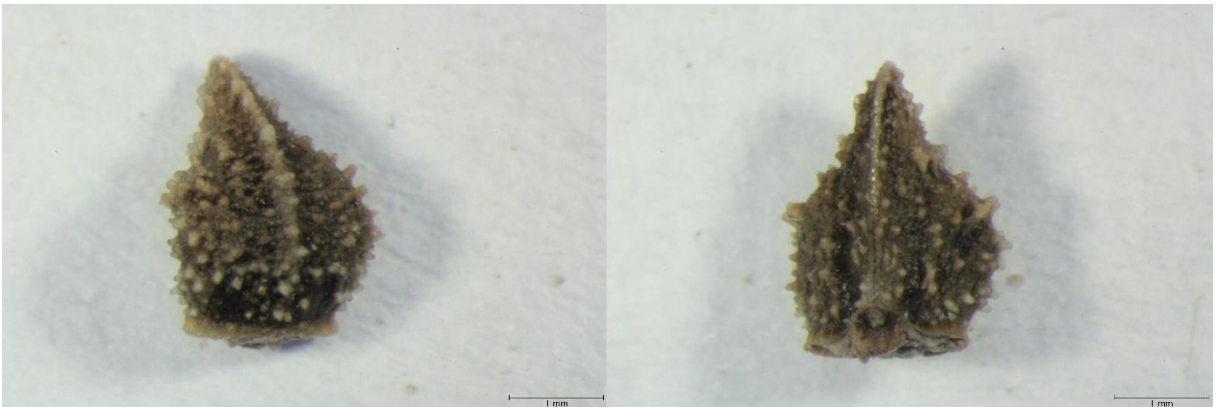
Şekil 4.13: FNB14 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



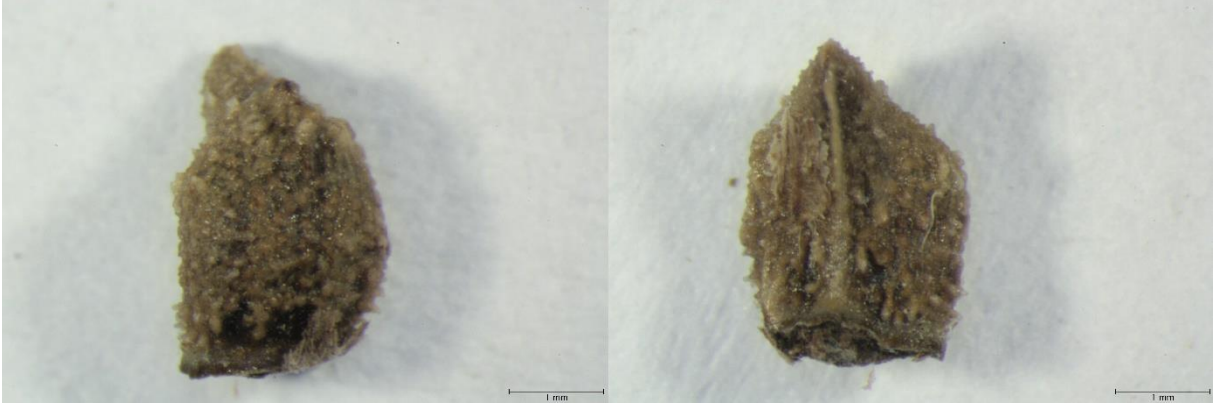
Şekil 4.14: FNB15 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



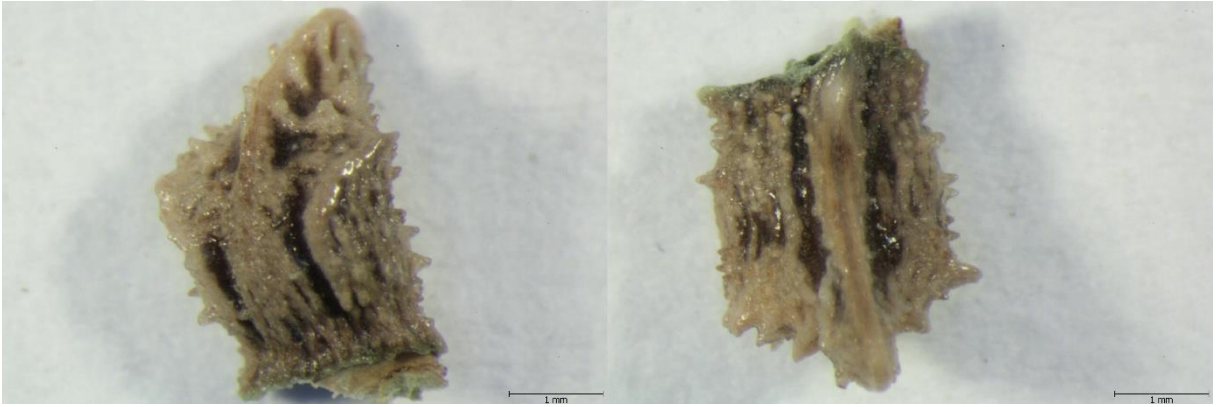
Şekil 4.15: FNB16 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



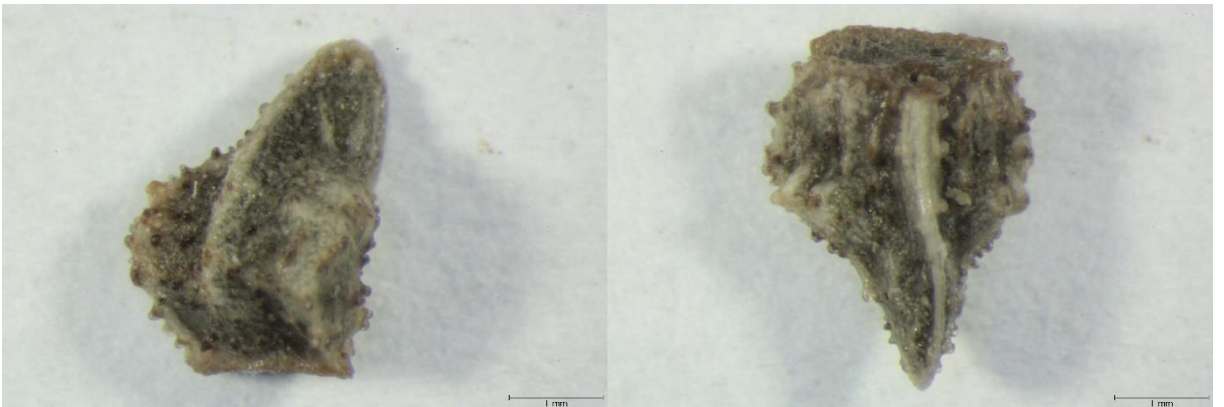
Şekil 4.16: FNB17 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



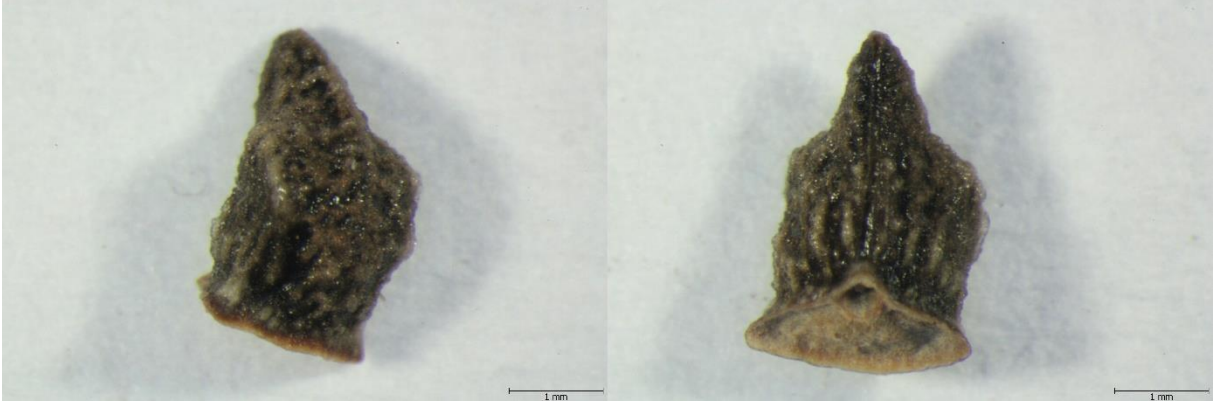
Şekil 4.17: FNB18 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



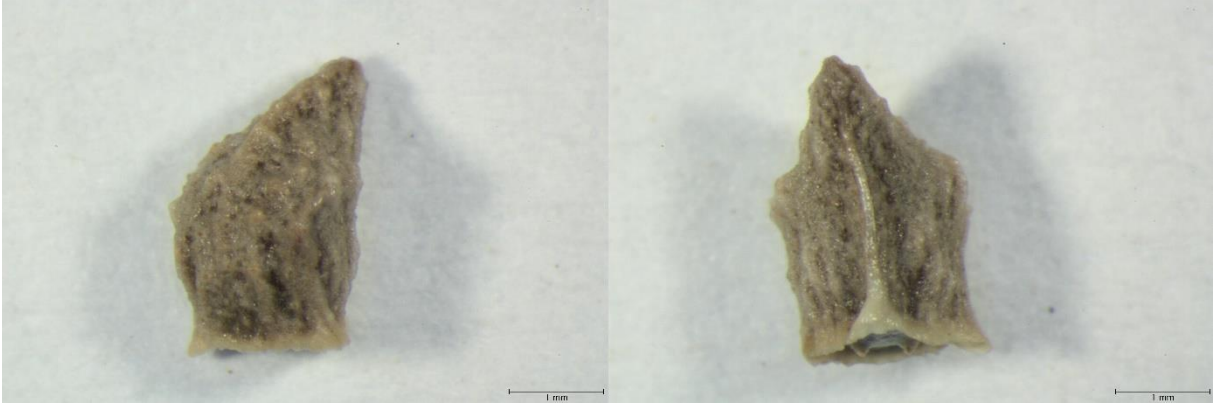
Şekil 4.18: FNB19 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



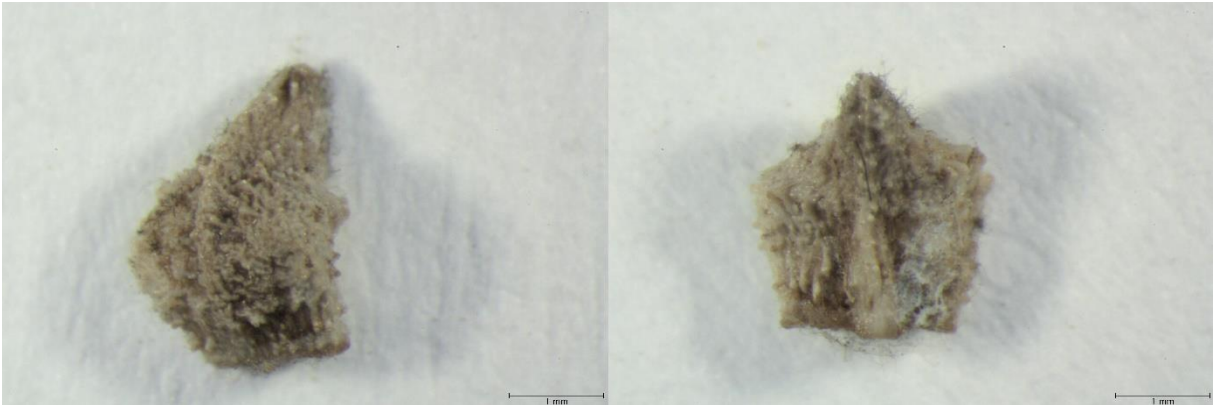
Şekil 4.19: FNB20 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



Şekil 4.20: FNB21 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



Şekil 4.21: FNB22 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.



Şekil 4.22: FNB23 numaralı örneğin tohumunun 0,5x1 ölçeğinde stereo mikroskop görüntüsü.

4.2 TOPLAM YAĞ MİKTARI SONUÇLARI

Tohumlardan yağlar, Soxhlet Ekstraksiyonu yöntemi ve Bligh and Dyer Toplam Lipid Metodu olmak üzere iki farklı yöntem kullanarak elde edilmiştir. Elde edilen yağ miktarları iki yöntem için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Veriler, Soxhlet Ekstraksiyonu için Tablo 4.1’ de, Bligh and Dyer Toplam Lipid Metodu için Tablo 4.2’ de verilmiştir.

Soxhlet Lipid Ekstraksiyon sonuçlarının bulunduğu Tablo 4.1’e göre tohumların yüzde yağ asidi miktarları %16-29 arasında değişiklik göstermektedir. Ancak yüzde yağ asidi miktar sonuçlarındaki bu değerler genellikle %20-25 arasında yoğunlaşmış olarak bulunmaktadır. En yüksek yüzde yağ asidi değerleri FNB 8 (%29,26) ve FNB 9 (%29,33) numaralı örneklerde gözlenmiştir.

Bligh & Dyer Toplam Lipid Ekstraksiyonu yöntemine göre ise tohumlardaki yüzde yağ asidi miktarı %14-23 arasında dağılım göstermektedir. Bu yöntem sonuçlarının incelenmesi sonucunda FNB 5 numaralı örneğin (%23) en yüksek yağ asidi miktarına sahip olan örnek olduğu saptanmıştır..

FNB13 numaralı örnekte tohum miktarı az olduğu için yalnız Soxhlet ekstraksiyonu için kullanılabilmiştir. Bligh and Dyer Toplam Lipid Metodu için elimizde yeterli örnek kalmadığından dolayı söz konusu örnek için bu metot uygulanamamıştır. Bu sebeple Tablo 4.2’de FNB 13 numaralı örneğin değerleri yer almamaktadır.

Tablo 4.1: Örneklerin Soxhlet Ekstraksiyonu ile elde edilen % yağ miktarları.

Örnek No	Tohumlardan Elde Edilen Ortalama Yağ Miktarı (mg)	%Yağ Miktarı
FNB1	208,6667	20,86
FNB2	205	20,5
FNB3	252,6667	25,26
FNB4	253,6667	25,36
FNB5	253,3333	25,33
FNB6	236	23,6
FNB7	245,3333	24,53
FNB8	292,6667	29,26
FNB9	293,3333	29,33
FNB10	261,6667	26,16
FNB11	257,6667	25,76
FNB12	283	28,3
FNB13	130	16,25
FNB14	273	27,3
FNB15	246	24,6
FNB16	174	17,4
FNB17	283,6667	28,36
FNB18	231,3333	23,13
FNB19	163	16,3
FNB20	227,6667	22,76
FNB21	234	23,4
FNB22	103	10,3
FNB23	248	24,8

Tablo 4.2: Örneklerin Bligh and Dyer Toplam Lipid metodu ile elde edilen % yağ miktarları.

Örnek No	50 mg Tohumdan Elde Edilen Yağ Miktarı (mg)	50 mg Tohumdan Elde Edilen Yağ Miktarı (mg)	250 mg Tohumdan Elde Edilen Yağ Miktarı (mg)	% Yağ Asidi Miktarı
FNB1	9,0	9,6	66,1	21,21
FNB2	7,8	7,6	57,8	17,97
FNB3	8,5	8,0	62,2	19,29
FNB4	9,5	7,2	55,1	18,48
FNB5	11,4	9,5	69,4	23,18
FNB6	7,1	7	41,5	14,93
FNB7	6,8	7,6	60,7	17,69
FNB8	7,7	7,5	43,7	15,96
FNB9	9,8	11,1	59,4	21,85
FNB10	9,8	10,8	52,7	20,76
FNB11	7,1	10,5	76,8	21,97
FNB12	9,5	10,3	62,9	21,58
FNB13	-	-	-	-
FNB14	8,1	7,9	73,8	20,5
FNB15	8,3	7,0	41,9	15,77
FNB16	5,4	4,2	30,1	10,41
FNB17	7,9	8,9	65,8	19,97
FNB18	6,1	7,1	48,9	15,32
FNB19	5,2	4,9	40,9	12,18
FNB20	5,5	5,8	35,4	12,25
FNB21	7,6	7,5	68,5	19,2
FNB22	1,0	1,4	25	4,93
FNB23	7,4	8,1	39,2	15,56

4.3 GC SONUÇLARI

Gaz kromatografisinde kullanılan standardımızdaki yağ asitleri ve bu yağ asitlerinin alıkonma süreleri Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3: Araştırmada kullanılan yağ asitleri ve alıkonma süreleri.

Yağ Asitleri Standartları	Yağ Asitlerinin Formülleri	Alıkonma Süresi (dk)	Kalibrasyon Değerleri (ppm)
Bütirik Asit	C4:0	6,154	40-1
Kaproik Asit	C6:0	6,572	40-1
Kaprilik Asit	C8:0	7,298	40-1
Kaprik Asit	C10:0	8,432	40-1
Undekanoik Asit	C11:0	9,164	20-1
Laurik Asit	C12:0	10,019	40-1
Tridekanoik Asit	C13:0	11,014	20-1
Miristik Asit	C14:0	12,192	40-1
Miristoleik Asit	C14:1	13,273	20-1
Pentadekanoik Asit	C15:0	13,613	20-1
cis-10-Pentadekanoik Asit	C15:1	14,95	20-1
Palmitik Asit	C16:0	15,361	60-1
Palmitoleik Asit	C16:1	16,734	20-1
Heptadekanoik Asit	C17:0	17,498	20-1
cis-10-Heptadekanoik Asit	C17:1	18,91	20-1
Stearik Asit	C18:0	19,648	40-1
Elaidik Asit	C18:1n-9 trans	20,445	20-1
Oleik Asit	C18:1n-9 cis	20,823	40-1
Linolelaidik Asit	C18:2n-6 trans	21,707	20-1
Linoleik Asit (LA)	C18:2n-6 cis	22,514	20-1
Araşidik Asit	C20:0	23,567	40-1
γ -Linolenik Asit (GLA)	C18:3n-6	23,656	20-1
α -Linolenik Asit(ALA)	C18:3n-3	24,372	20-1
cis-11-Eikosenoik Asit	C20:1n-9	24,628	20-1
Heneikosilik Asit	C21:0	25,441	20-1
Stearidonik Asit (SDA)	C18:4n-3	25,655	40-0,5
Eikosadienoik Asit	C20:2	26,347	20-1
Behenik Asit	C22:0	27,463	40-1
Dihomo- γ -Linolenik Asit	C20:3n-6	27,649	20-1
11,14,17-Eikosatrienoik Asit	C20:3n-3	28,677	20-1
Araşidonik Asit (ARA)	C20:4n-6	28,677	20-1
Erusik Asit	C22:1n-9	28,674	20-1
Trikosanoik Asit	C23:0	29,622	20-1
cis-13,16-Dokosadienoik Asit	C22:2	30,62	20-1
Eikosapentaenoik Asit (EPA)	C20:5n-3	30,887	20-1
Lignoserik Asit	C24:0	31,587	40-1
Nervonik Asit	C24:1	32,678	20-1
Dokosaheksaenoik Asit (DHA)	C22:6n-3	35,389	20-1

GC analizleri ile elde edilen yağ asidi sonuçları yüzde değerler ile Tablo 4.4-4.7’de verilmiştir. Toplam yağ asidi yüzdelerinde en düşük değer %90,64 ile FNB 20 numaralı örnekte gözlenmiştir. Diğer *E. plantagineum* örneklerinin toplam yağ asidi yüzdeleri birbirine yakın değerlerde olmakla birlikte bu değer yaklaşık %97 civarındadır.

Örnek kromatogramları incelendiğinde majör yağ asitleri ve bu yağ asitlerinin miktarları; %5,44-12,71 Stearidonik asit (C18:4 n-3); %6,45-%9,38 Palmitik asit (C16:0); %2,73-4,54 Stearik asit (C18:0); %11,2-17,9 Oleik asit (C18:1n-9c); %13,75-19,51 Linoleik asit (C18:2n-6c); %26,42-38,92 α -Linolenik asit (C18:3 n-3) ve %4,99-12,23 γ -Linolenik asit(C18:3 n-6) olarak bulunmuştur. Standart içerisinde bulunan diğer yağ asitlerinin miktarları örnekler arasında değişiklik göstermekte olup, bu yağ asitleri düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Ancak standart içerisinde bulunan yağ asitlerinin tümü örneklerde tespit edilememiştir. Bu yağ asitleri tablolarda ND (tespit edilemedi) olarak yer almaktadır.

Tespit edilen yağ asitleri doymuş yağ asitleri (SFA), tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) ve çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) olmak üzere üç farklı grupta incelenmiştir. Ortalama SFA miktarı %11,89, ortalama MUFA miktarı %15,27, ortalama PUFA miktarı %69,06 olarak bulunmuştur.

α -Linolenik asit (ALA), *E. plantagineum* örneklerinde %26-38 toplam yüzde aralığı ile en yüksek miktara sahip olan yağ asididir. Bu yağ asidi *E. italicum* (FNB 19) için %42, *E. vulgare* (FNB 21) için ise %32 değerinde bulunmuştur.

FNB 12 numaralı örnek diğer lokasyonlardan toplanan *E. plantagineum* örneklerinden farklı bir yağ asidi kompozisyonuna sahiptir. Majör yağ asitlerinin yanı sıra diğer örnekler içerisinde tespit edilemeyen yağ asitlerini (Kaproik asit, Kaprilik asit, Kaprik asit, Hendecanoic acid, Laurik asit ve Dokosadienoat) düşük konsantrasyonlarda da olsa ürettiği gözlenmiştir. Benzer şekilde FNB 23 numaralı örnekte de bu durum gözlenmiştir. Ancak FNB 23 numaralı örnekte bu durum Kaprik asit, Laurik asit ve cis 13-16-Dokosadienoik asit için geçerlidir.

LA:ALA oranı 0,8 ile FNB 2 numaralı örnekte en yüksek değeri göstermiştir. En düşük oran ise 0,26 ile FNB 20 numaralı örnektedir.

E. plantagineum örneklerinde doymamış yağ asitlerinin (USFA) oranının yüksek seviyelerde (ortalama %84,33) olduğu tespit edilmiştir. Örneklerde USFA:SFA oranı ortalama 7,092

bulunmuştur. USFA miktarı daha çok omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinden kaynaklanmaktadır. Omega-3 yağ asitlerinin oranı yaklaşık %44, omega-6 yağ asitlerinin oranı ise yaklaşık %25'tir. Örneklerdeki ortalama omega-3 yağ asidi miktarının omega-6 yağ asidi miktarından 1,75 kat fazla olduğu gözlenmiştir.

Lokasyonlar ayrı ayrı incelendiğinde en yüksek doymamışlık oranı FNB 6 (%87,35) ve FNB 7 (%87,048) numaralı örneklerde, en düşük doymamışlık oranı ise FNB 20 (%76,514) numaralı örnekte gözlenmiştir. Omega-3 yağ asidi ve omega-6 yağ asidi değerleri lokasyonlara göre değişiklik göstermektedir. FNB 4 numaralı örnekte omega-3 yağ asitleri, omega-6 yağ asitlerinden 2,28 kat daha fazladır ve bu oran incelenen lokasyonlar arasındaki en yüksek orandır. FNB 2 numaralı örnek ise bu oran bakımından 1,098 kat ile en düşük değere sahiptir.

Tablo 4.4: C4:0-C15:0 doymuş yağ asidi miktarları (%).

Örnek No	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C11:0	C12:0	C13:0	C14:0	C15:0
FNB 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,151 ± 0,0068	ND
FNB 2	0,01 ± 0,0006	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,064 ± 0,0021	ND
FNB 3	0,01 ± 0,001	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,056 ± 0,0032	ND
FNB 4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,042 ± 0,0015	ND
FNB 5	0,01 ± 0,0006	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,079 ± 0,0026	ND
FNB 6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,037 ± 0,0006	ND
FNB 7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,046 ± 0,0021	ND
FNB 8	0,01 ± 0,0006	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,037 ± 0,0011	ND
FNB 9	0,02 ± 0,0006	ND	ND	ND	ND	0,004 ± 0	ND	0,061 ± 0,00231	ND
FNB 10	0,04 ± 0,0029	ND	ND	ND	ND	0,006 ± 0,002	ND	0,054 ± 0,00252	ND

ND: Tespit edilemedi

Tablo 4.4 (devam):

FNB 11	0,03 ± 0,0011	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,037 ± 0,00115	ND
FNB 12	0,05 ± 0,0055	0,07 ± 0,001	0,09 ± 0,0038	0,009 ± 0,003	0,02 ± 0,0006	0,007 ± 0,001	ND	0,047 ± 0,002887	ND
FNB 14	0,06 ± 0,00058	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,032 ± 0,00115	ND
FNB 15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,049 ± 0,00173	ND
FNB 16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,062 ± 0,00058	ND
FNB 17	0,04 ± 0,0036	ND	ND	ND	ND	0,013 ± 0,0093	ND	0,049 ± 0,0021	ND
FNB 18	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,034 ± 0,0021	ND
FNB 19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,04 ± 0,00153	ND
FNB 20	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
FNB 21	0,10 ± 0,0053	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
FNB 23	0,04 ± 0,0023	ND	ND	0,01 ± 0,0035	ND	0,014 ± 0,0069	ND	0,053 ± 0,00569	ND

ND: Tespit edilemedi

Tablo 4.5: C16:0-C24:0 Doymuş yağ asidi miktarları (%).

Örnek No	C16:0	C17:0	C18:0	C20:0	C21:0	C22:0	C23:0	C24:0
FNB 1	8,772 ± 0,1616	ND	4,54 ± 0,0724	0,223 ± 0,058	ND	ND	ND	ND
FNB 2	7,544 ± 0,0216	0,172 ± 0,0006	3,445 ± 0,0072	0,185 ± 0,0085	ND	ND	ND	0,021 ± 0,0011
FNB 3	7,562 ± 0,0195	0,083 ± 0,0032	3,296 ± 0,0072	0,205 ± 0,0227	ND	ND	ND	ND
FNB 4	7,384 ± 0,0155	0,075 ± 0	3,697 ± 0,0065	0,229 ± 0,0084	ND	ND	ND	ND
FNB 5	7,1 ± 0,0131	0,077 ± 0,0032	3,272 ± 0,0089	0,193 ± 0,0075	ND	ND	ND	ND
FNB 6	7,118 ± 0,0057	0,091 ± 0,0023	3,220 ± 0,0093	0,195 ± 0,0155	ND	ND	ND	0,006 ± 0,004
FNB 7	6,447 ± 0,0208	0,093 ± 0,0036	3,516 ± 0,0156	0,21 ± 0,014	ND	ND	ND	ND
FNB 8	7,563 ± 0,0085	0,072 ± 0,0051	3,33 ± 0,0139	0,196 ± 0,0058	ND	ND	ND	0,058 ± 0,0437
FNB 9	7,43 ± 0,0173	0,09 ± 0,001	4,043 ± 0,009	0,226 ± 0,0134	ND	ND	0,015 ± 0,0015	0,03 ± 0,0066
FNB 10	7,953 ± 0,0321	0,084 ± 0,0006	3,932 ± 0,012	0,237 ± 0,0177	ND	ND	0,011 ± 0,0026	0,030 ± 0,0045

Tablo 4.5 (devam):

FNB 11	7,352 ± 0,0078	0,06 ± 0,0195	3,885 ± 0,0026	0,194 ± 0,018	ND	ND	ND	ND
FNB 12	9,377 ± 0,0786	0,146 ± 0,0006	4,331 ± 0,0336	0,262 ± 0,0487	ND	ND	0,017 ± 0,0061	0,032 ± 0,0035
FNB 14	7,150 ± 0,0127	0,109 ± 0,0025	3,644 ± 0,003	0,209 ± 0,0006	ND	ND	0,031 ± 0,0026	0,022 ± 0,0011
FNB 15	7,942 ± 0,0221	0,069 ± 0,0025	2,732 ± 0,0057	0,219 ± 0,0035	ND	ND	0,019 ± 0,007	0,018 ± 0,0038
FNB 16	8,647 ± 0,004	0,090 ± 0,0015	3,141 ± 0,0146	0,224 ± 0,0205	ND	ND	0,012 ± 0,006	0,039 ± 0,0053
FNB 17	8,234 ± 0,1907	0,118 ± 0,0301	3,728 ± 0,0712	0,283 ± 0,0223	ND	ND	0,048 ± 0,0502	0,028 ± 0,0015
FNB 18	7,214 ± 0,0219	0,091 ± 0,0023	3,417 ± 0,0146	0,247 ± 0,0332	ND	ND	ND	0,016 ± 0,003
FNB 19	8,125 ± 0,0132	0,11 ± 0,0011	4,309 ± 0,003	0,258 ± 0,0291	ND	ND	0,034 ± 0,0025	0,029 ± 0,002
FNB 20	9,003 ± 0,3493	0,05 ± 0,0860	4,830 ± 0,1622	0,247 ± 0,025	ND	ND	ND	ND
FNB 21	7,895 ± 0,1513	0,028 ± 0,0491	3,787 ± 0,0877	0,175 ± 0,006	ND	ND	ND	ND
FNB 23	9,052 ± 0,0282	0,093 ± 0,0089	3,209 ± 0,0203	0,246 ± 0,0175	ND	ND	0,018 ± 0,0006	0,026 ± 0,0029

ND: Tespit edilemedi

Tablo 4.6: MUFA miktarları (%).

Örnek No	C14:1	C15:1	C16:1	C17:1	C18:1c	C18:1t	C20:1	C22:1	C24:1
FNB 1	ND	ND	ND	ND	13,04 ± 0,1544	ND	ND	ND	1,0416 ± 0,2901
FNB 2	ND	ND	0,08933 ± 0,0021	0,0833 ± 0,0103	17,58 ± 0,0637	ND	ND	0,162 ± 0,0042	0,07 ± 0,0066
FNB 3	ND	ND	0,07633 ± 0,0006	0,0363 ± 0,0045	15,31 ± 0,0361	ND	ND	0,1703 ± 0,0126	0,1913 ± 0,0139
FNB 4	ND	ND	0,07066 ± 0,003	0,0323 ± 0,0025	13,08 ± 0,0166	ND	ND	0,128 ± 0,0095	0,1746 ± 0,0195
FNB 5	ND	ND	0,06533 ± 0,0015	0,033 ± 0,0026	14,42 ± 0,0127	ND	ND	0,142 ± 0,0072	0,152 ± 0,002
FNB 6	ND	ND	0,267 ± 0,3404	0,039 ± 0,0053	14,36 ± 0,0340	ND	ND	0,121 ± 0,0121	0,031 ± 0,001
FNB 7	ND	ND	0,056 ± 0,0017	0,036 ± 0,004	13,85 ± 0,136	ND	ND	0,0786 ± 0,0214	0,0683 ± 0,0055
FNB 8	ND	ND	0,07933 ± 0,0011	0,031 ± 0,0046	15,01 ± 0,0156	ND	ND	0,121 ± 0,0156	0,175 ± 0,011
FNB 9	ND	ND	0,07466 ± 0,0015	0,0403 ± 0,0038	14,25 ± 0,0381	ND	ND	0,0896 ± 0,0038	0,1466 ± 0,0093
FNB 10	ND	ND	0,08266 ± 0,0011	0,046 ± 0,0085	15,95 ± 0,0622	ND	ND	0,11 ± 0,0026	0,1596 ± 0,0049

Tablo 4.6 (devam):

FNB 11	ND	ND	0,0713 ± 0,0025	0,0363 ± 0,0051	16,4 ± 0,0127	ND	ND	0,1296 ± 0,0122	0,077 ± 0,016
FNB 12	ND	ND	0,098 ± 0,0026	0,069 ± 0,0056	17,55 ± 0,1435	ND	ND	0,169 ± 0,03	0,2193 ± 0,0081
FNB 14	ND	ND	0,074 ± 0	0,0477 ± 0,0006	14,01 ± 0,0319	ND	ND	0,1306 ± 0,0021	0,206 ± 0,0036
FNB 15	ND	ND	0,10433 ± 0,0011	0,0343 ± 0,0025	11,23 ± 0,0044	ND	ND	0,1356 ± 0,0068	0,247 ± 0,0354
FNB 16	ND	ND	0,09366 ± 0,0006	0,036 ± 0,002	14,05 ± 0,0282	ND	ND	0,1663 ± 0,012	0,2376 ± 0,02
FNB 17	ND	ND	0,10633 ± 0,0248	0,0653 ± 0,0266	15,23 ± 0,381	ND	ND	0,1603 ± 0,0629	0,171 ± 0,015
FNB 18	ND	ND	0,08133 ± 0,0011	0,0487 ± 0,0063	15,54 ± 0,0583	ND	ND	0,1426 ± 0,0091	0,229 ± 0,0046
FNB 19	ND	ND	0,05 ± 0,0026	0,0307 ± 0,0025	9,087 ± 0,0238	ND	ND	0,125 ± 0,006	0,0986 ± 0,0087
FNB 20	ND	ND	ND	ND	11,55 ± 0,4496	ND	ND	ND	1,592 ± 0,1447
FNB 21	ND	ND	ND	ND	9,964 ± 0,130	ND	ND	ND	1,2003 ± 0,2118
FNB 23	ND	ND	0,107 ± 0,0026	0,0557 ± 0,0006	17,91 ± 0,0564	ND	ND	0,1073 ± 0,0138	0,0913 ± 0,0021

ND: Tespit edilemedi

Tablo 4.7: PUFA miktarları (%).

Örnek No	C18:2c	C18:2t	C18:3n3	C18:3n6	C18:4n3	C20:2	C20:3n3	C20:3n6	C20:4n6	C20:5n3	C22:2	C22:6n3
FNB 1	13,76 ± 0,13	ND	29,31 ± 0,488	9,27 ± 0,222	11,38 ± 0,125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
FNB 2	21,16 ± 0,06	ND	26,42 ± 0,093	10,87 ± 0,02	8,58 ± 0,019	0,06 ± 0,2	ND	ND	ND	ND	ND	0,16 ± 0,014
FNB 3	15,22 ± 0,04	ND	34,94 ± 0,066	8,85 ± 0,014	11,01 ± 0,018	0,06 ± 0,01	0,03 ± 0,003	ND	0,03 ± 0,003	ND	ND	0,11 ± 0,023
FNB 4	14,31 ± 0,02	ND	38,92 ± 0,025	7,79 ± 0,017	11,43 ± 0,007	0,05 ± 0,004	0,04 ± 0,003	ND	0,04 ± 0,003	ND	ND	0,08 ± 0,016
FNB 5	14,50 ± 0,001	ND	33,23 ± 0,021	10,72 ± 0,006	13,10 ± 0,025	0,08 ± 0,005	0,02 ± 0,011	ND	0,02 ± 0,011	ND	ND	0,12 ± 0,009
FNB 6	14,29 ± 0,012	ND	36,30 ± 0,034	8,81 ± 0,01	12,71 ± 0,007	0,05 ± 0,001	0,03 ± 0,01	ND	0,03 ± 0,007	ND	ND	ND
FNB 7	15,11 ± 0,029	ND	36,19 ± 0,039	9,57 ± 0,007	11,90 ± 0,033	0,05 ± 0,001	ND	ND	ND	ND	ND	0,12 ± 0,031
FNB 8	14,54 ± 0,042	ND	35,27 ± 0,065	9,08 ± 0,012	12,09 ± 0,013	0,03 ± 0,013	0,02 ± 0,001	ND	0,02 ± 0,001	ND	ND	ND
FNB 9	14,12 ± 0,013	ND	33,24 ± 0,062	9,31 ± 0,016	12,63 ± 0,036	0,05 ± 0,011	0,03 ± 0,001	ND	0,02 ± 0,001	ND	0,03 ± 0,001	0,14 ± 0,008
FNB 10	15,42 ± 0,17	ND	30,82 ± 0,109	9,52 ± 0,032	11,49 ± 0,041	0,05 ± 0,013	0,02 ± 0,001	ND	0,02 ± 0,001	ND	0,04 ± 0,002	0,12 ± 0,011

Tablo 4.7 (devam):

FNB 11	15,70 ± 0,008	ND	32,25 ± 0,055	9,68 ± 0,02	11,22 ± 0,025	0,04 ± 0,008	0,03 ± 0,002	ND	0,02 ± 0,002	ND	ND	0,08 ± 0,007
FNB 12	15,89 ± 0,143	ND	28,06 ± 0,05	8,23 ± 0,02	8,38 ± 0,034	0,09 ± 0,034	0,03 ± 0,001	ND	0,03 ± 0,001	ND	0,05 ± 0,007	0,19 ± 0,009
FNB 14	15,89 ± 0,054	ND	36,38 ± 0,035	8,57 ± 0,018	10,61 ± 0,028	0,05 ± 0,001	0,03 ± 0,002	ND	0,01 ± 0,001	ND	ND	0,12 ± 0,008
FNB 15	14,78 ± 0,011	ND	37,05 ± 0,028	10,12 ± 0,011	12,47 ± 0,038	0,06 ± 0,002	0,04 ± 0,011	ND	0,03 ± 0,016	ND	ND	ND
FNB 16	16,78 ± 0,029	ND	29,75 ± 0,022	12,23 ± 0,045	11,55 ± 0,018	0,06 ± 0,006	0,03 ± 0,006	ND	0,02 ± 0,008	ND	ND	ND
FNB 17	17,51 ± 0,41	ND	30,46 ± 0,708	9,21 ± 0,181	9,80 ± 0,177	0,09 ± 0,046	0,02 ± 0,008	ND	0,04 ± 0,034	ND	0,10 ± 0,089	0,09 ± 0,007
FNB 18	16,18 ± 0,045	ND	34,24 ± 0,081	9,09 ± 0,013	10,77 ± 0,034	0,06 ± 0,014	0,03 ± 0,006	ND	0,12 ± 0,165	ND	ND	0,125 ± 0,003
FNB 19	11,43 ± 0,038	ND	42,94 ± 0,092	7,67 ± 0,03	13,39 ± 0,034	0,057 ± 0,003	0,06 ± 0,005	ND	0,06 ± 0,005	ND	ND	ND
FNB 20	15,26 ± 0,512	ND	27,59 ± 1,186	9,94 ± 0,194	10,58 ± 0,281	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
FNB 21	15,97 ± 0,302	ND	32,99 ± 0,615	9,06 ± 0,066	9,84 ± 0,16	ND	0,25 ± 0,034	ND	0,17 ± 0,032	ND	ND	ND
FNB 23	19,51 ± 0,029	ND	35,22 ± 0,046	4,99 ± 0,004	5,44 ± 0,007	0,05 ± 0,013	0,03 ± 0,011	ND	0,03 ± 0,011	ND	0,05 ± 0,004	ND

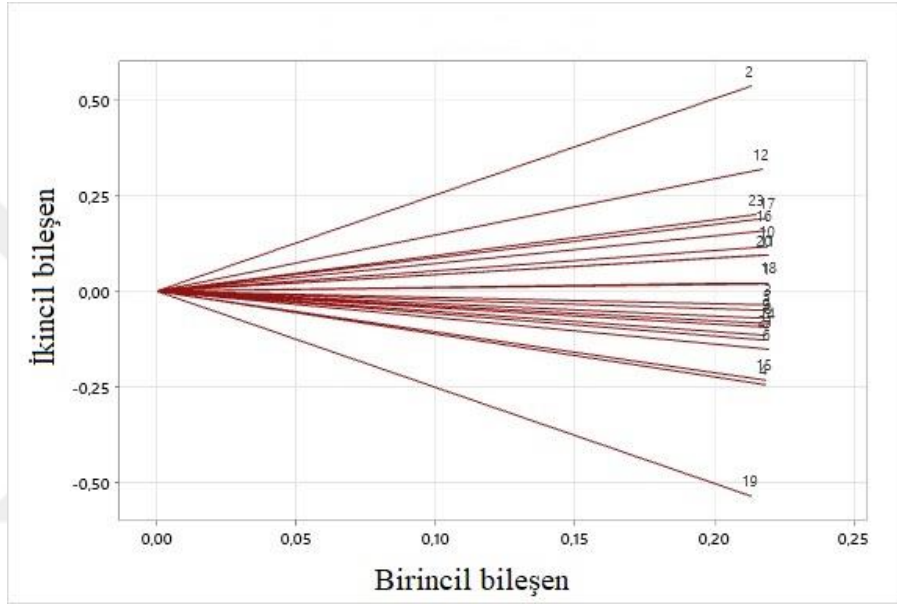
ND: Tespit edilemedi

Tablo 4.8: Örneklerin bazı yağ asidi miktarları ve oranları (%).

Örnek No	Σ SFA	Σ USFA	Σ MUFA	Σ PUFA	Σ n-3	Σ n-6	USFA/SFA	n-3/n-6
FNB1	13,7	77,8	14,1	63,7	40,7	23,0	5,7	1,8
FNB2	11,4	85,2	18,0	67,2	35,2	32,0	7,5	1,1
FNB3	11,2	86,0	15,8	70,2	46,0	24,1	7,7	1,9
FNB4	11,4	86,1	13,5	72,7	50,5	22,1	7,5	2,3
FNB5	10,7	86,6	14,8	71,8	46,5	25,2	8,1	1,8
FNB6	10,7	87,0	14,8	72,2	49,0	23,1	8,2	2,1
FNB7	10,3	87,0	14,1	72,9	48,2	24,7	8,4	1,9
FNB8	11,3	86,5	15,4	71,0	47,4	23,6	7,7	2,0
FNB9	11,9	84,2	14,6	69,6	46,0	23,5	7,1	2,0
FNB10	12,3	83,8	16,3	67,5	42,4	25,0	6,8	1,7
FNB11	11,5	85,7	16,7	60,0	43,6	25,4	7,4	1,7
FNB12	14,4	79,0	18,1	60,9	36,7	24,1	5,5	1,5
FNB14	11,2	86,1	14,5	71,7	47,1	24,5	7,7	1,9
FNB15	11,0	86,3	11,8	74,6	49,6	24,9	7,8	2,0
FNB16	12,2	85,0	14,6	70,4	41,3	29,0	7,0	1,4
FNB17	12,5	83,0	15,7	67,3	40,4	26,8	6,6	1,5
FNB18	11,0	86,7	16,0	70,6	45,2	25,4	7,9	1,8
FNB19	12,9	85,0	9,4	75,6	56,4	19,2	6,6	2,9
FNB20	14,1	76,5	13,1	63,4	38,2	25,2	5,4	1,5
FNB21	11,9	79,4	11,2	68,3	43,1	25,2	6,6	1,7
FNB23	12,8	89,6	18,3	65,3	40,7	24,5	6,5	1,7

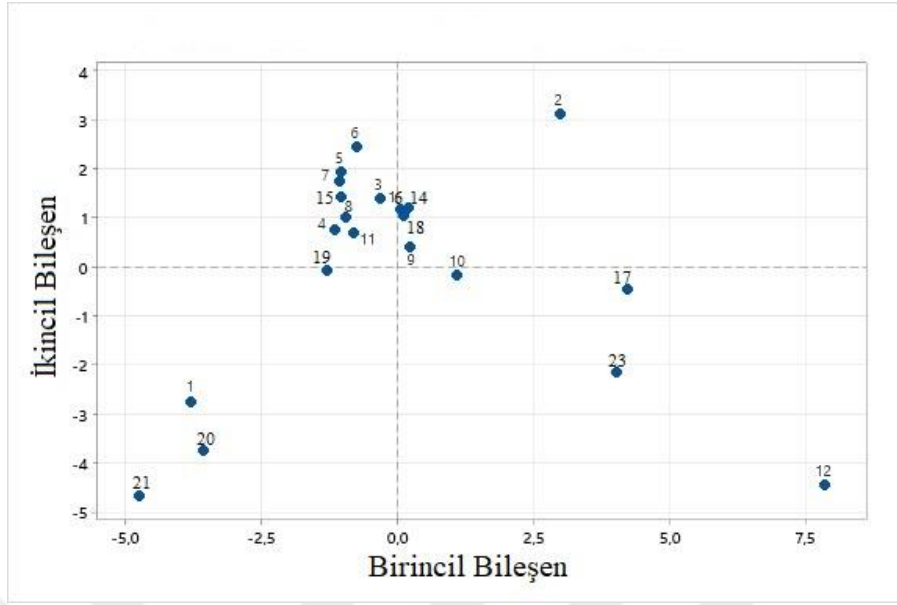
Yağ asidi verileri ile Minitab Software programında PCA analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda çıkan grafikler Şekil 4.23-4.26’da verilmiştir.

Şekil 4.23’e göre FNB 2 numaralı ve FNB 12 numaralı örneğin diğer örneklerden daha farklı bir yağ asidi kompozisyonuna sahip olduğunu görmekteyiz. FNB 19 numaralı örnek de diğer örneklerden farklı bir yağ asidi kompozisyonuna sahiptir. Ancak FNB 19 numaralı örnek *Echium italicum* türüne ait olduğu için gözlenen bu farklılık beklenen sonuçlar arasındadır.



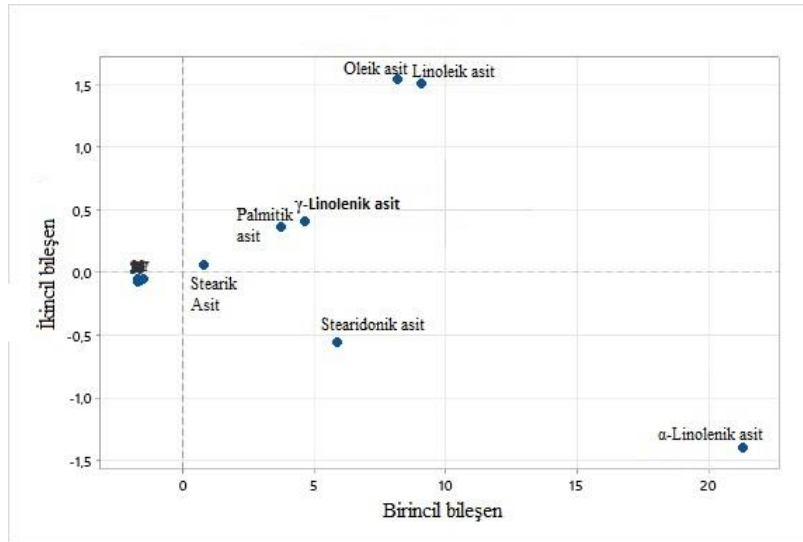
Şekil 4.23: Örneklerin PCA dağılımı.

Şekil 4.24’e göre FNB 1, FNB 2, FNB 12, FNB 17, FNB 20, FNB 21 ve FNB 23 numaralı örnekler dikkat çekecek şekilde farklı bir kümelenme göstermişlerdir. FNB 6, FNB 10 ve FNB 19 da yoğun kümelenmenin olduğu bölgenin dışına doğru yer alarak bir farklılık oluşturmuştur. Ancak bu farklılık diğer örnekler kadar dikkat çekmemektedir. FNB 19 (*Echium italicum*) ve FNB 21 (*Echium vulgare*) örnekleri kümelenme içerisinde ayrı noktalara düşmüşlerdir. Bu durum türler arasındaki farklılığı görmemize olanak sağlamıştır. Aynı zamanda FNB 19 ve FNB 21 numaralı örneklerin *E. plantagineum* örneklerinden çok farklı olmayan bir yağ asidi kompozisyonuna sahip olduklarını görmekteyiz.



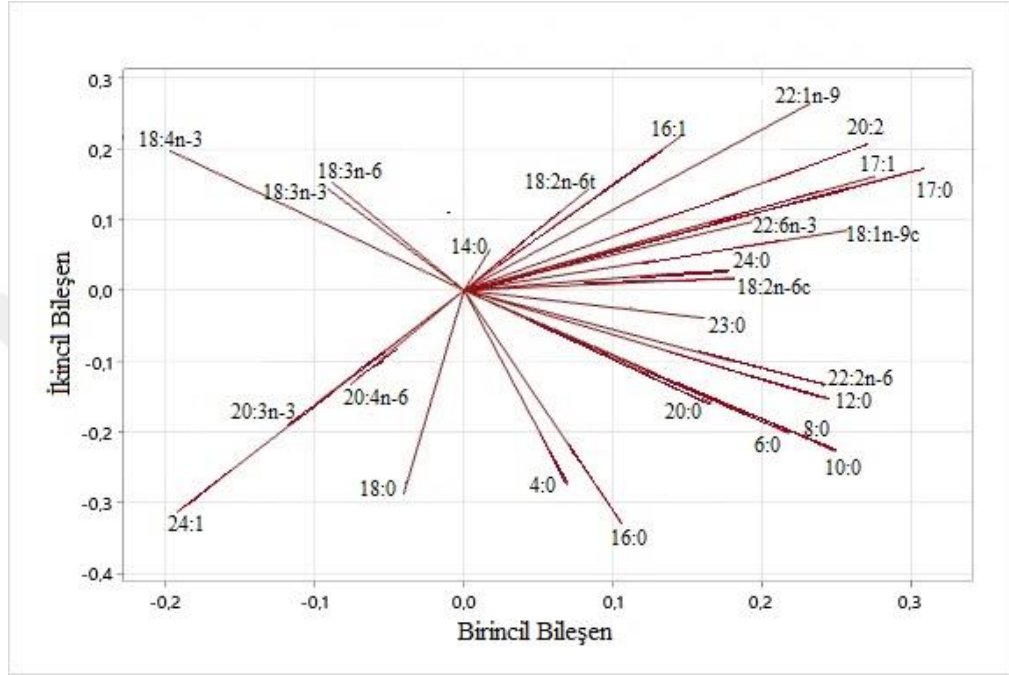
Şekil 4.24: Örneklerin PCA kümelenmesi.

PCA grafiklerini standartlar açısından incelediğimiz zaman majör yağ asitlerimiz olan Oleik asit, Linoleik asit, Palmitik asit, α -Linolenik asit, γ -Linolenik asit, Stearik asit ve Stearidonik asidin diğer yağ asitlerine göre farklı alanlarda kümelendiğini görmekteyiz (Şekil 4.25). Oleik asit ve Linoleik asit, Palmitik asit ve γ -Linolenik asit birbirine yakın kümelenme gösteren yağ asitlerimizdir.



Şekil 4.25: İncelenen yağ asitlerinin PCA kümelenmesi.

Şekil 4.26'ya göre ALA (18:3n-3) ve GLA (18:3n-6) birbirine benzer dağılım göstermektedir. SDA (18:4n-3), ALA ve GLA ya yakın konumlanmış olsa da aralarında farklılıklar bulunmaktadır. Cis-11,14,17-Eikosatrienoik Asit (20:3n-3), AA (20:4n-6) ve Nervonik asit (24:1) aynı doğrultu üzerinde konumlanmıştır.



Şekil 4.26: İncelenen yağ asitlerinin PCA dağılımı.

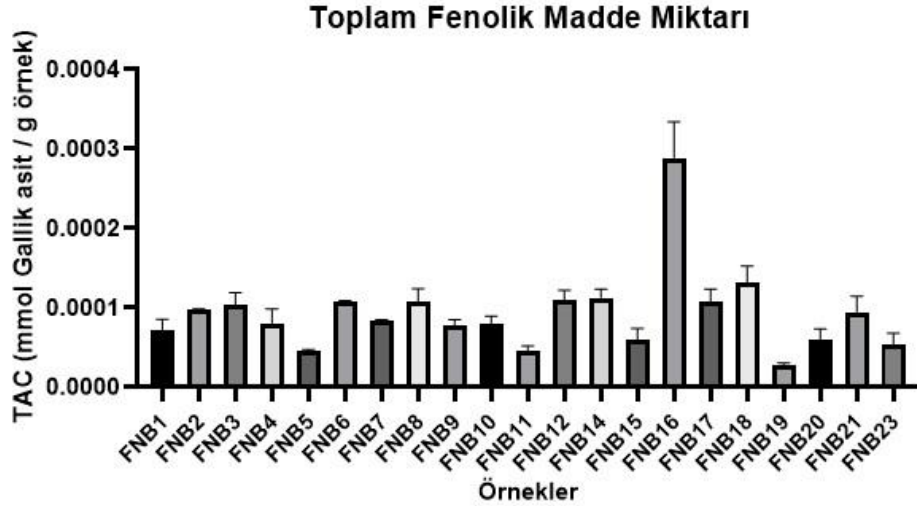
4.4 TOPLAM FENOLİK MADDE TAYİNİ SONUÇLARI

Toplam fenolik madde tayini için Hekzan LC Grade çözücüsü ile uygun oranda seyreltilmiş olan yağ örnekleri kullanılmıştır. Deney üç kere tekrarlı olacak şekilde yapılmış olup, spektrofotometrik ölçümler yapılarak sonuçları alınmıştır (Tablo 4.9). Elde edilen sonuçların GraphPad Prism 8.4.3 programında istatistiksel olarak analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda Şekil 4.27'deki sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 4.9: Toplam fenolik madde miktarı.

Örnek No	mmol Gallik Asit / g örnek	Örnek No	mmol Gallik Asit / g örnek
FNB1	$7,3E-05 \pm 1,026E-05$	FNB12	$0,00011 \pm 9,904E-06$
FNB2	$9,72E-05 \pm 9,434E-07$	FNB14	$0,000113 \pm 8,485E-06$
FNB3	$0,000105 \pm 1,038E-05$	FNB15	$5,94E-05 \pm 1,468E-05$
FNB4	$7,99E-05 \pm 1,551E-05$	FNB16	$0,000289 \pm 3,208E-05$
FNB5	$4,53E-05 \pm 2,668E-06$	FNB17	$0,000108 \pm 1,601E-05$
FNB6	$0,000108 \pm 1,887E-06$	FNB18	$0,000131 \pm 1,752E-05$
FNB7	$4,25E-05 \pm 2,398E-05$	FNB19	$2,83E-05 \pm 2,668E-06$
FNB8	$0,000109 \pm 1,283E-05$	FNB20	$6,04E-05 \pm 1,078E-05$
FNB9	$7,86E-05 \pm 5,41E-06$	FNB21	$9,5E-05 \pm 1,618E-05$
FNB10	$7,92E-05 \pm 8,577E-06$	FNB23	$5,35E-05 \pm 1,197E-05$
FNB11	$4,65E-05 \pm 4,706E-06$		

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde $0,000289$ mmol gallik asit/g örnek eşdeğerliği ile en yüksek sonuca sahip olan örneğin FNB16 numaralı örnek olduğu gözlenmektedir. En düşük toplam fenolik miktarına sahip örneğin ise $4,53E-05$ mmol gallik asit/g örnek eş değeri ile FNB5 numaralı örnek olduğu gözlenmektedir.

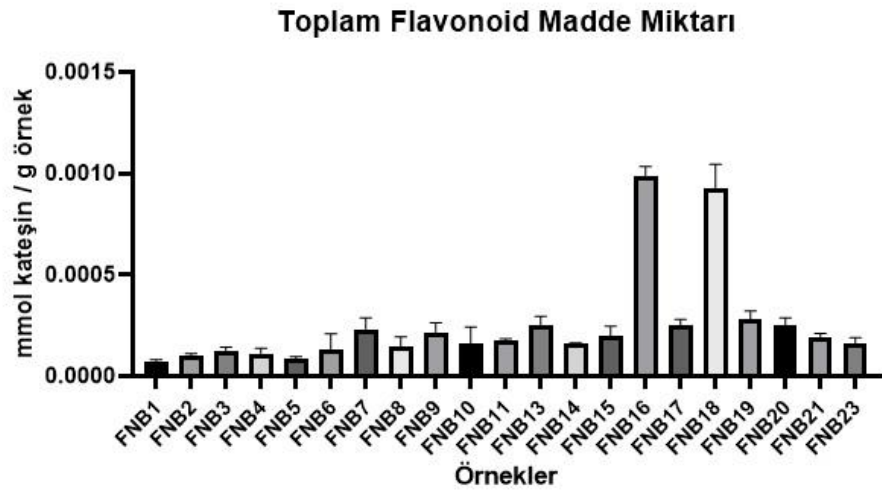
**Şekil 4.27:** Toplam fenolik madde miktarı.

4.5 TOPLAM FLAVONOİD MADDE TAYİNİ SONUÇLARI

Toplam flavonoid madde tayini için Hekzan LC Grade çözücüsü ile uygun oranda seyreltilmiş olan yağ örnekleri kullanılmıştır. Deney üç kere tekrarlı olacak şekilde yapılmış olup, spektrofotometrik ölçümler yapılarak sonuçları alınmıştır (Tablo 4.10). Elde edilen sonuçların GraphPad Prism 8.4.3 programında istatistiksel olarak analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda Şekil 4.28'deki sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 4.10: Toplam flavonoid madde miktarı.

Örnek No	mmol Kateşin / g örnek	Örnek No	mmol Kateşin / g örnek
FNB1	$7,35E-05 \pm 6,671E-06$	FNB12	$0,000248 \pm 3,793E-05$
FNB2	$9,8E-05 \pm 1,155E-05$	FNB14	$0,000161 \pm 3,851E-06$
FNB3	$0,000125 \pm 1,389E-05$	FNB15	$0,000196 \pm 4,166E-05$
FNB4	$0,000112 \pm 2,038E-05$	FNB16	$0,000989 \pm 3,466E-05$
FNB5	$8,44E-05 \pm 1,019E-05$	FNB17	$0,000251 \pm 2,343E-05$
FNB6	$0,000132 \pm 6,281E-05$	FNB18	$0,000923 \pm 9,827E-05$
FNB7	$0,000231 \pm 4,541E-05$	FNB19	$0,000281 \pm 3,291E-05$
FNB8	$0,000144 \pm 4,021E-05$	FNB20	$0,000248 \pm 3,152E-05$
FNB9	$0,000215 \pm 3,909E-05$	FNB21	$0,000191 \pm 1,679E-05$
FNB10	$0,000161 \pm 6,715E-05$	FNB23	$0,000158 \pm 2,525E-05$
FNB11	$0,000174 \pm 7,703E-06$		



Şekil 4.28: Toplam flavonoid madde miktarı.

Şekil 4.28 incelendiğinde FNB16 ve FNB 18 numaralı örneklerin toplam flavonoid miktarı açısından en yüksek değerlere sahip olduğu görülmektedir. FNB16 örneği için ortalama toplam flavonoid miktarı 0,000989333 mmol kateşin/g örnek, FNB18 örneği ise 0,000923333 mmol kateşin/g örnek oranını vermiştir. En düşük toplam flavonoid miktarına sahip olan örnek ise 7,35333E-05 mmol kateşin/g örnek eş değerliği ile FNB1 numaralı örnektir.

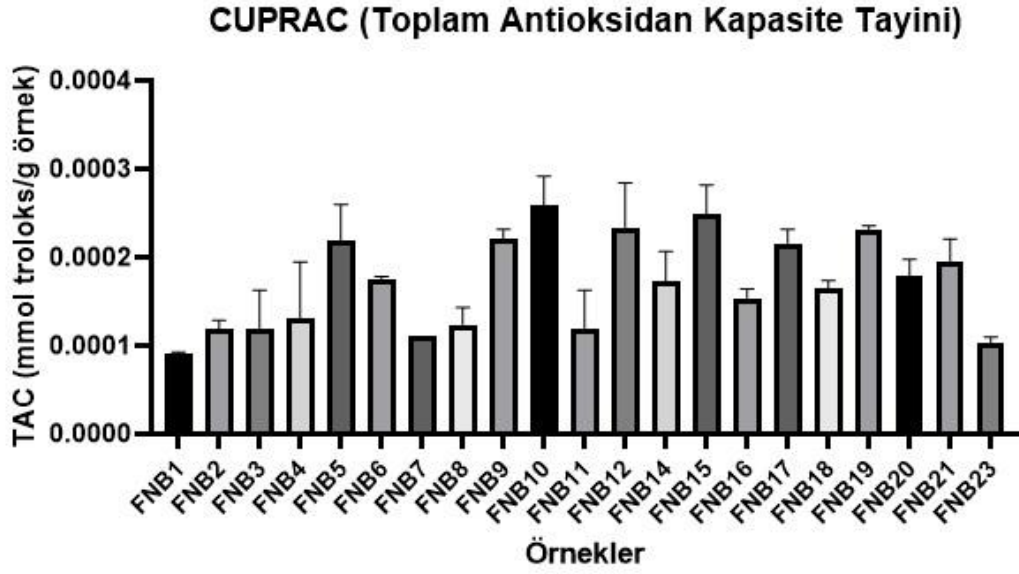
4.6 CUPRAC SONUÇLARI

CUPRAC için Hekzan LC Grade çözücüsü ile uygun oranda seyreltilmiş olan yağ örnekleri kullanılmıştır. Deney üç kere tekrarlı olacak şekilde yapılmış olup, spektrofotometrik ölçümler yapılarak sonuçları alınmıştır (Tablo 4.11). Elde edilen sonuçların GraphPad Prism 8.4.3 programında istatistiksel olarak analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda Şekil 4.29'daki sonuçlar elde edilmiştir.

CUPRAC sonuçları incelendiğinde 0,000258667 mmol troluks/g örnek değeri ile en yüksek antioksidan kapasiteye sahip örneğin FNB10 numaralı örnek olduğu görülmektedir. Bu örnek dışında FNB5, FNB9, FNB12, FNB15, FNB17 ve FNB19 numaralı örneklerde de diğer örneklerle göre daha yüksek miktarda antioksidan aktivite olduğu saptanmıştır. Ek olarak en düşük antioksidan kapasiteye sahip örneğin ise 0,0009333 mmol troluks/g örnek eş değerliği ile FNB1 numaralı örnek olduğu ortaya çıkmıştır.

Tablo 4.11: CUPRAC yöntemine göre toplam antioksidan madde kapasitesi.

Örnek No	mmol Troluks / g örnek	Örnek No	mmol Troluks / g örnek
FNB1	9E-05 ± 2,315E-06	FNB12	0,000234 ± 4,129E-05
FNB2	0,000119 ± 7,589E-06	FNB14	0,000173 ± 2,707E-05
FNB3	7,94E-05 ± 6,147E-05	FNB15	0,000249 ± 2,722E-05
FNB4	0,00013 ± 5,315E-05	FNB16	0,000154 ± 8,346E-06
FNB5	0,000219 ± 3,32E-05	FNB17	0,000214 ± 1,422E-05
FNB6	0,000116 ± 8,22E-05	FNB18	0,000166 ± 6,444E-06
FNB7	7,37E-05 ± 5,208E-05	FNB19	0,000232 ± 3,062E-06
FNB8	0,000124 ± 1,62E-05	FNB20	0,000178 ± 1,557E-05
FNB9	0,000221 ± 8,738E-06	FNB21	0,000193 ± 2,125E-05
FNB10	0,000259 ± 2,722E-05	FNB23	0,000104 ± 5,045E-06
FNB11	0,000119 ± 3,543E-05		



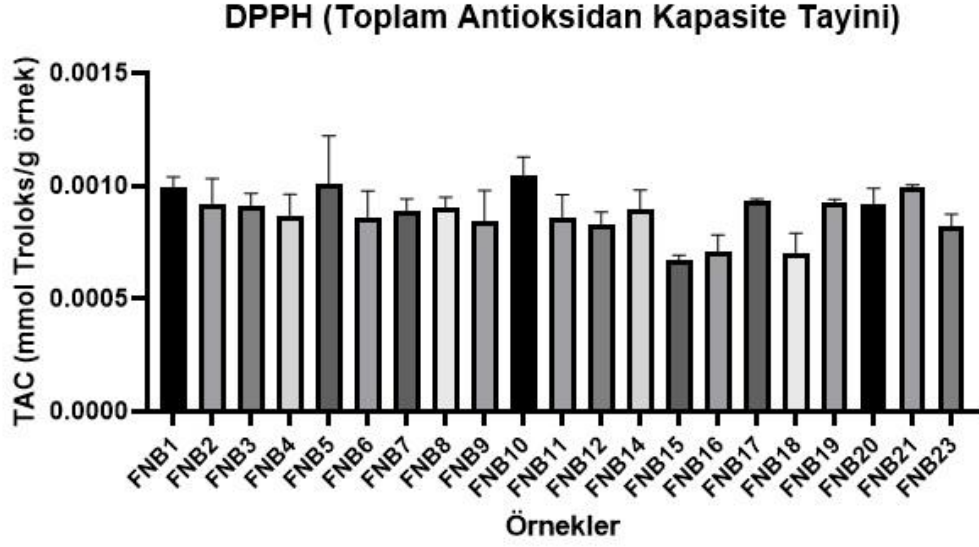
Şekil 4.29: CUPRAC sonuçları.

4.7 DPPH SONUÇLARI

DPPH için Hekzan LC Grade çözücüsü ile uygun oranda seyreltilmiş olan yağ örnekleri kullanılmıştır. Deney üç kere tekrarlı olacak şekilde yapılmış olup, spektrofotometrik ölçümler yapılarak sonuçları alınmıştır (Tablo 4.12). Elde edilen sonuçların GraphPad Prism 8.4.3 programında istatistiksel olarak analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda Şekil 4.30'daki sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 4.12: DPPH yöntemine göre toplam antioksidan madde kapasitesi.

Örnek No	mmol Troloks / g örnek	Örnek No	mmol Troloks / g örnek
FNB1	0,000996 ± 3,588E-05	FNB12	0,000914 ± 0,0001256
FNB2	0,000922 ± 9,057E-05	FNB14	0,000893 ± 7,223E-05
FNB3	0,000914 ± 4,295E-05	FNB15	0,000672 ± 1,724E-05
FNB4	0,000867 ± 7,736E-05	FNB16	0,000705 ± 6,382E-05
FNB5	0,001009 ± 0,0001736	FNB17	0,000857 ± 0,0001038
FNB6	0,000861 ± 9,637E-05	FNB18	0,000698 ± 7,567E-05
FNB7	0,000753 ± 0,000194	FNB19	0,00087 ± 8,146E-05
FNB8	0,000903 ± 3,893E-05	FNB20	0,000824 ± 0,0001404
FNB9	0,000845 ± 0,0001092	FNB21	0,000922 ± 9,772E-05
FNB10	0,000961 ± 0,0001251	FNB23	0,00082 ± 4,462E-05
FNB11	0,00086 ± 8,152E-05		



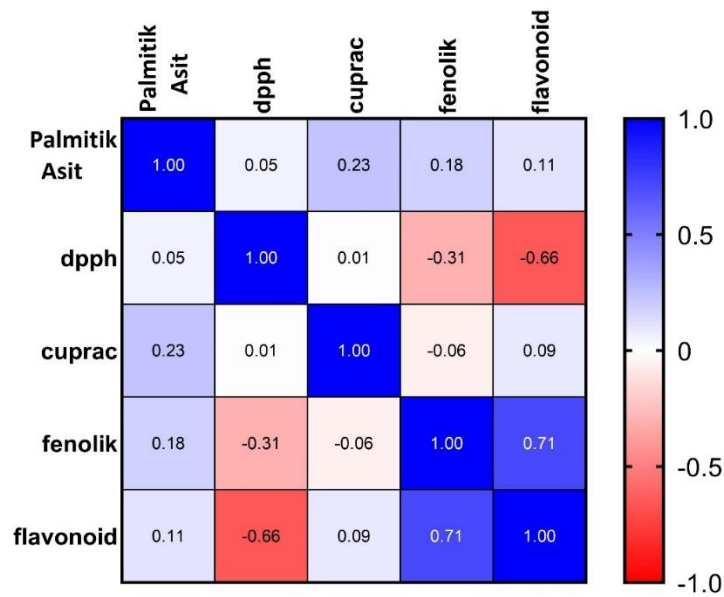
Şekil 4.30: DPPH sonuçları.

Alınan sonuçlar doğrultusunda yapılan hesaplamalar ile elde edilen yukarıdaki grafik incelediğinde örneklerden elde edilen sonuçlarının genel olarak büyük oranda benzerlik gösterdiğini tespit edilmiştir. Bu yöntemde de CUPRAC yönteminde olduğu gibi en yüksek antioksidan kapasiteye sahip örneğin FNB10 numaralı örnek olduğu görülmektedir. DPPH yönteminde FNB10 numaralı örnek ortalama 0,0010425 mmol trolox/g örnek eş değerliği sonucunu vermektedir. Buna karşın en düşük sonuca ortalama 0,000672 mmol trolox/g örnek eş değerliği ile FNB15 numaralı örneğin sahip olduğu dikkat çekmektedir.

4.8 SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLER VE YAĞ ASİTLERİNİN KORELASYON ANALİZİ SONUÇLARI

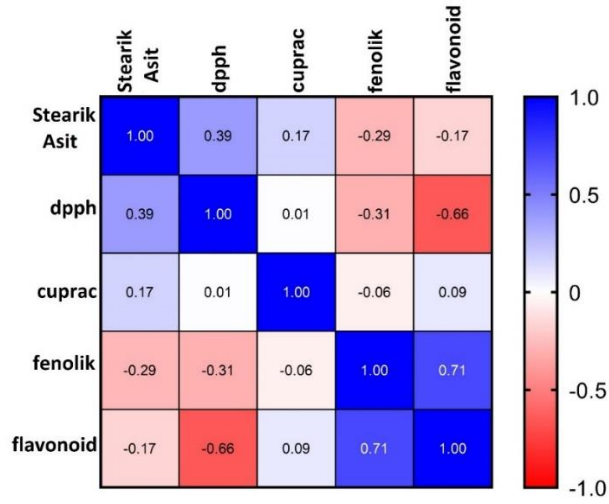
Çalışma sonucunda elde edilen yağ asitleri sonuçları ve tohum yağlarında bulunan fitokimyasal maddelerin miktarları arasında bir ilişki olup olmadığını incelemek amacı ile bu iki parametre arasında korelasyon analizi yapılmıştır. Bunun için yağ asidi bulgularında majör yağ asitleri olarak tanımladığımız Palmitik asit, Stearik asit, Oleik Asit, LA, ALA, GLA ve SDA yağ asitleri seçilmiştir. Bu yağ asitleri miktarlarındaki değişimlerin toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid madde miktarı ve toplam antioksidan kapasite üzerinde bir olumlu veya olumsuz yönde bir etkisinin olup olmadığı GraphPad Prism 8.4.3 programı kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Pearson Korelasyon analizi kullanılarak matriks formunda Şekil 4.31-4.37’te verilmiştir.

Palmitik asit için yapılan Pearson korelasyon analizi sonuçları incelendiğinde Palmitik asit ve DPPH arasında pozitif yönde bir korelasyon olduğu gözlemlenmektedir (Şekil 4.31).



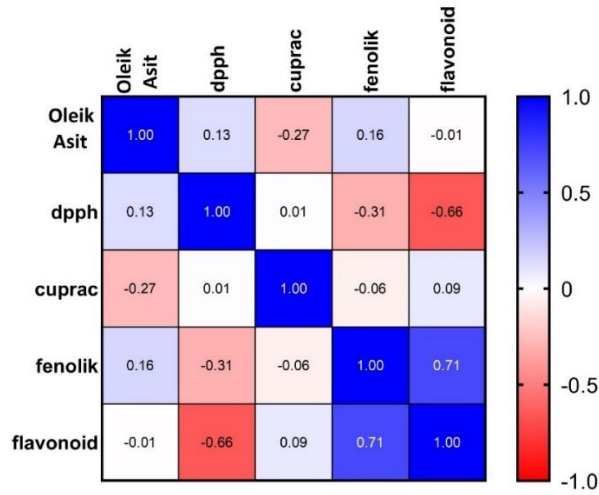
Şekil 4.31: Palmitik asit ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matriksi ($p < 0,05$).

Stearik asit sonuçları için yapılan Pearson korelasyon maktriğine bakıldığında ise Stearik asit ve spektrofotometrik yöntemler arasında ne pozitif ne de negatif yönde bir korelasyon olduğunu görmekteyiz (Şekil 4.32).



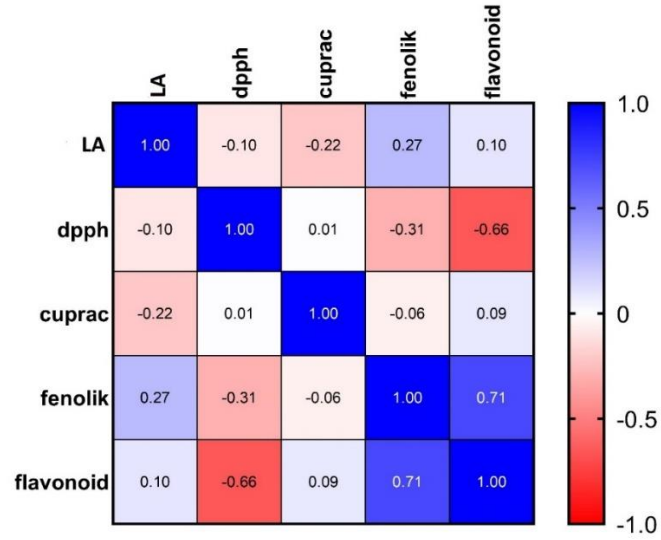
Şekil 4.32: Stearik asit ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matriksi ($p < 0,05$).

Oleik asidin Pearson korelasyon matriksinde flavonoid sonuçları ve Oleik asit arasında -0,01 p değeri ile bu parametreler arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu ortaya çıkmaktadır (Şekil 4.33).



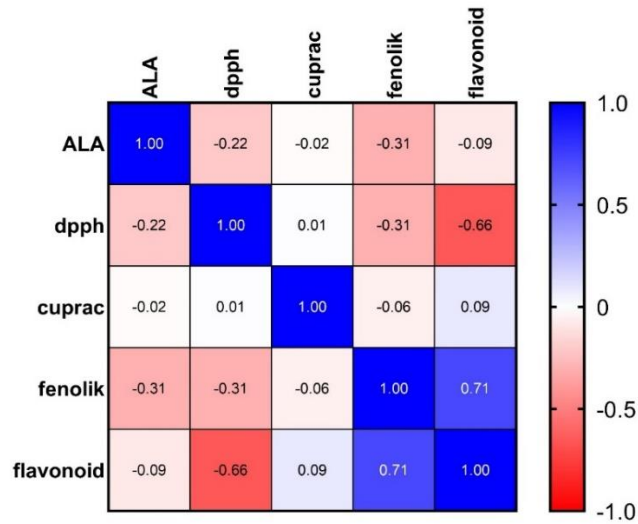
Şekil 4.33: Oleik asit ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matriksi ($p < 0,05$).

LA (Linoleik asit) için Pearson korelasyon matriksini incelediğimiz zaman Stearik asit örneğinde olduğu gibi LA ve spektrofotometrik yöntemler arasında bir korelasyon oluşmadığını görmekteyiz (Şekil 4.34).



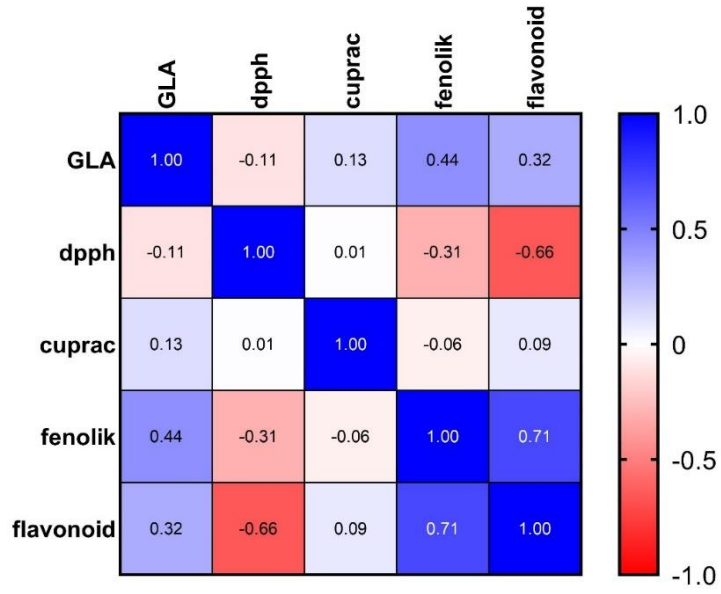
Şekil 4.34: LA ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matrisi ($p < 0,05$).

ALA (α -Linolenik asit) sonuçları ile spektrofotometrik yöntemler arasındaki korelasyon analizi sonuçlarına göre ALA ve CUPRAC sonuçları arasında negatif yönde bir korelasyon bulunmaktadır (Şekil 4.35).



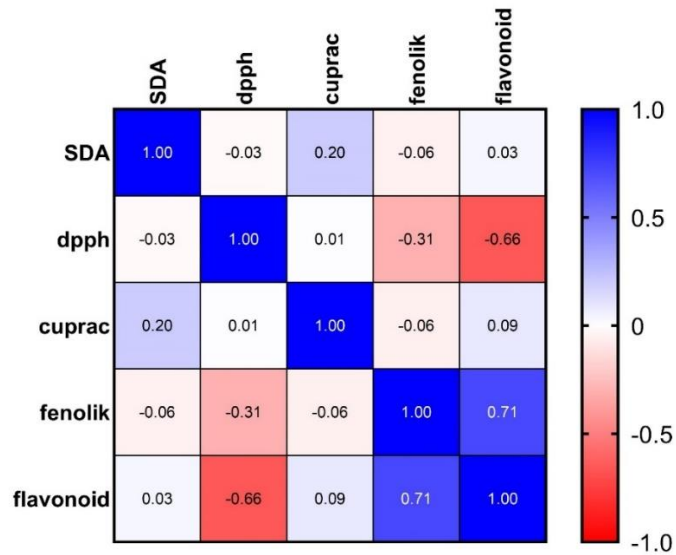
Şekil 4.35: ALA ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matrisi ($p < 0,05$).

GLA (γ -Linolenik asit) için yapılan Pearson korelasyon analizi sonuçlarına göre hiçbir spektrofotometrik yöntem ile GLA arasında bir korelasyon bulunmamaktadır (Şekil 4.36).



Şekil 4.36: GLA ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matrisi ($p < 0,05$).

SDA yağ asidi için yapılan korelasyon analizinde SDA ile DPPH sonuçları arasında negatif yönde bir korelasyon, SDA ve toplam flavonoid miktarı sonuçları arasında ise pozitif yönde bir korelasyon olduğu saptanmıştır (Şekil 4.37).



Şekil 4.37: SDA ve spektrofotometrik yöntemlerin korelasyon matrisi ($p < 0,05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yirmi farklı lokasyondan *E. plantagineum* L. türüne ait tohumlar toplanmış olup bu tez kapsamında tohum yağlarının yağ asidi kompozisyonları ve bazı fitokimyasal maddelerin miktar analizleri yapılmıştır.

Tohumlardaki toplam yağ asidi miktarı Soxhlet Lipid Ekstaksiyonu yöntemine göre %16 ile %29 arasında dağılım göstermiştir ve bu dağılım %20-25 arasında yoğunlaşmaktadır. Elde edilen bu yağ asidi miktarları Özcan (2008a) ve Guil-Guerrero (2006) tarafından tespit edilen yüzde yağ asidi miktarları verisi ile örtüşmektedir. Bunun yanı sıra yağ asidi miktarlarının Erdemoğlu (2004) ve Guil-Guerrero (2013, 2017) tarafından elde edilen yağ asidi miktarlarından daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Bligh & Dyer Toplam Lipid Ekstraksiyonu yöntemine göre ise tohumlardaki toplam yağ asidi miktarı %14-23 arasında dağılım göstermektedir. Verilerin daha önce yapılan çalışmalar (Özcan, 2008; Guil-Guerrero, 2006, 2013, 2017) ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Yağ asidi miktarları Erdemoğlu (2004) tarafından yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında ise tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçların daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Erdemoğlu (2004) yaptığı çalışmada çözücü olarak petrol eteri kullanarak 4 saatlik bir Soxhlet Ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir. Ek olarak çalışma için kullanılan örneklerin Ekim 1998'de toplandığı bilgisi de çalışma içerisinde yer almaktadır. Bu çalışmadan farklı olarak yürütülen tez projesinde tohum örnekleri Haziran-Ağustos arasında toplanmış olup, örnekler toplanmalarının ardından ekstraksiyona alınmıştır. Hem örneklerin toplandığı dönemlerin aynı olmaması hem de farklı çözücülerin kullanılması sebebiyle bu iki çalışma arasında farklı değerlerin gözlenmiş olduğu düşünülmektedir.

E. plantagineum L. türü hakkında daha önce yapılan çalışmalarda yüzde yağ miktarları; Erdemoğlu (2004) tarafından %11,1; Özcan (2008) tarafından %20,6; Guil-Guerrero (2006; 2013; 2017) tarafından % 2,05-24,6 olarak raporlanmıştır.

Yağ asidi eldesi için kullanılan her iki yöntem ile literatüre uygun olarak veriler elde edilmiştir. Ancak iki yöntem birbiri ile karşılaştırıldığında örnekler arasındaki dağılımın paralellik göstermediği fark edilmiştir. Soxhlet Lipid Ekstaksiyonu sonuçlarına göre en yüksek yağ asidi miktarları FNB 9 (%29) ve FNB 10 (%29) numaralı örneklerde gözlenirken, Bligh & Dyer

Toplam Lipid yöntemi sonuçlarına göre FNB 5 numaralı örnek (%23) en yüksek yağ asidi miktarına sahip olan örnektir. Bu durumun gözlenme sebebinin yöntemler arasındaki farklılıklar olduğu düşünülmektedir. Soxleth Lipid Ekstraksiyonu kapalı sistemde cihaz içerisinde gerçekleştirilmekte ve toplam ekstraksiyon 5 saat sürmektedir. Bligh & Dyer Toplam Lipid yöntemi ise 1 saat içerisinde bitmektedir. Ekstraksiyon sürelerindeki bu farklılık yağ asidi verilerindeki değişimlerin ana sebebi olabilir. Bunlara ek olarak; kullanılan çözücü farklılığı, yöntemlerin kapalı sistemde cihaz tarafından gerçekleştirilmesi veya manuel olarak ekstraksiyonun yapılması gibi faktörler de bu tarz farklılıklara sebep olmuş olabilir.

Tez kapsamında çalışılan yağ asitlerine göre *E. plantagineum* L. türünün genel olarak yağ asidi profili; Bütirik asit % 0,005-0,046; Miristik Asit % 0,032-0,151; Palmitik Asit % 6,45-9,38; Palmitoleik asit %0,05-0,27; Margarik asit % 0,03-0,17; 10-Heptadekanoik Asit % 0,03-0,08; Stearik Asit % 2,73-4,83; Oleik Asit % 11,22-17,91; Linoleik Asit % 13,76-21,16; Arakidik Asit % 0,18-0,28; γ -Linolenik asit % 4,99-12,23; α -Linolenik asit % 26,42-38,92; Stearidonik asit % 5,44-13,09; Eikosadienoik Asit % 0,034-0,092; Dihomolinolenik asit % 0,018-0,057; Araşidonik Asit (AA) % 0,01-0,12; Erusik asit % 0,08-0,17; Trikosanoik Asit % 0,01-0,05; Lignoserik asit % 0,006-0,058; Nervonik asit % 0,03-1,59; Dokosaheksaenoik Asit (DHA) % 0,08-0,19 olarak bulunmuştur. Bu verilere göre Palmitik asit, Stearik asit, Oleik asit, Linoleik Asit, γ -Linolenik asit, α -Linolenik asit ve Stearidonik asit *E. plantagineum* L. türünün majör yağ asitleridir. Özcan (2008a) tarafından Boraginaceae familyası türleri üzerinde yapılan çalışmada bu familyaya ait majör yağ asitleri Palmitik asit, Stearik asit, Oleik asit, Eikosenoik asit, LA, ALA, GLA ve SDA olarak bulunmuştur.

Stearik asit değerleri örnekler arasında birbirine yakın değerlerde dağılım göstermiştir. Tüm örneklerde miktar olarak en fazla olan yağ asidi ALA' dır.

Yüzde yağ asidi miktarı verilerine göre bitki tohumlarında $\sum$ USFA (%76,5-%87,05) miktarı $\sum$ SFA (%10,3-14,4) miktarından daha fazladır. Örneklere göre $\sum$ USFA/ $\sum$ SFA oranı %5,4-8,4 aralığında değişmektedir. En yüksek $\sum$ USFA miktarı (%87,05) FNB 7 numaralı örnekte, en düşük $\sum$ USFA miktarı (%76,51) FNB 20 numaralı örnekte gözlenmiştir. En yüksek $\sum$ SFA miktarı (%14,45) FNB 12 numaralı örnekte bulunurken en düşük $\sum$ SFA miktarı (%10,31) FNB 7 numaralı örnekte bulunmuştur. FNB 7 numaralı örnek %8,44 oranı ile en yüksek $\sum$ USFA/ $\sum$ SFA oranına sahipken %5,41 ile FNB 20 numaralı örnek en düşük $\sum$ USFA/ $\sum$ SFA oranına sahiptir. Yüksek doymamışlık oranına sahip olan FNB 7 numaralı örnek bu özelliği ile

dikkat çekmektedir. Özcan (2008)'a göre *E. plantagineum* L. tohum yağ asitlerinde Σ USFA miktarı %88,34, Σ SFA miktarı %10,98 olarak bulunmuştur. Elde edilen veriler Özcan (2008a)'nın bulmuş olduğu sonuçlarla paralellik göstermektedir. Literatürde yer alan diğer makalelerde Σ USFA ve Σ SFA verilerine değinilmemiştir. Ancak yağ asitleri hakkında verilen bilgiler incelendiğinde Erdemoğlu (2004)'na göre Σ USFA değeri yaklaşık %75, Σ SFA değeri yaklaşık %11; Guil-Guerrero (2006)'ya göre Σ USFA değeri %85,1, Σ SFA değeri %11,5; Guil-Guerrero (2013)' ya göre Σ USFA değeri %86,3-89,8 aralığında, Σ SFA değeri %9,7-13,1 aralığında; Guil-Guerrero (2017)'ya göre Σ USFA değeri % 61 ve %87,1, Σ SFA değeri %12,8 ve %39 bulunmuştur. Tez kapsamında elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında genel olarak yağ asidi bulgularının verilen bu sonuçlar ile uyduğu gözlemlenmiştir.

Σ MUFA ve Σ PUFA sonuçları incelendiğinde en yüksek Σ MUFA miktarının %18,27 ile FNB 23 numaralı örnekte, en düşük Σ MUFA miktarının ise %11,75 ile FNB 15 numaralı örnekte olduğu ortaya çıkmıştır. Σ PUFA sonuçlarında ise en yüksek miktar FNB 15 numaralı örnekte, en düşük Σ PUFA miktarı da FNB12 numaralı örnekte bulunmaktadır. Σ PUFA/ Σ MUFA değerlerine bakıldığında ise FNB12 numaralı örneğin 3,36 değeri ile en düşük orana sahip olduğu, FNB15 numaralı örneğin 6,35 değeri ile en yüksek orana sahip olduğu ortaya konmuştur. Özcan (2008a) tarafından yapılan çalışmada Σ PUFA/ Σ MUFA oranı 4,92 olarak bulunmuştur. Yapılan diğer çalışmalarda bu değere değinilmemiştir ancak çalışmalarda verilen yağ asidi verilerine göre Σ PUFA/ Σ MUFA değeri hesaplanmıştır. Buna bağlı olarak Erdemoğlu (2004)'na göre, Σ PUFA/ Σ MUFA oranı yaklaşık 3,29; Guil-Guerrero (2006)'ya göre Σ PUFA/ Σ MUFA oranı 5,5; Guil-Guerrero (2013)'ya göre Σ PUFA/ Σ MUFA oranı 3,1 ile 6,87 değerleri arasında; Guil-Guerrero (2017)'ya göre Σ PUFA/ Σ MUFA oranı 3,98 ve 5,97 değerlerinde bulunmuştur. Çalışma sonucunda elde edilen veriler literatür bilgisi ile karşılaştırıldığında genel olarak değer aralığı, daha önce bulunmuş olan sonuçları kapsamaktadır. Ancak Guil-Guerrero (2013) tarafından yapılan çalışmada Σ PUFA/ Σ MUFA oranının 6,57 ve 6,87 değerlerini de aldığı bulunmuştur. Bu değerler bizim bulduğumuz sonuçlardan daha yüksektir. Ancak yapılan çalışmalar arasında incelenen yağ asidi farklılıkları bu sonucu sağlamış olabilir. Guil-Guerrero (2006, 2013, 2017) tarafından yapılan çalışmalarda daha çok çoklu doymamış yağ asitlerine (PUFA) ağırlık verilmiş olup bazen 1 bazen de 2-3 tane MUFA incelenmiştir. Bu sebeple Σ PUFA/ Σ MUFA oranının yüksek değerlere sahip olduğu düşünülmektedir.

Tez kapsamında PUFA kategorisinin içerisinde bulunan omega-3 ve omega-6 yağ asidi miktarları da incelenmiştir. Bu yağ asitlerinin insan sağlığı açısından oldukça önemli oldukları yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur. LA ve ALA, omega-3 ve omega-6 metabolizması için elzem yağ asitleri olup EPA, DHA ve AA üretimi için canlı bünyesinde mutlaka bulunmaları gerekmektedir. LA ve ALA'dan $\Delta 6$ desatüraz enzim aktivitesi ile üretilen SDA ve GLA yağ asitleri de bu yolla önemli bir yer tutmaktadırlar. Ender yağ asitleri olarak da bilinen SDA ve GLA'nın diyetle alınması memeli metabolizması için önemlidir. $\Delta 6$ desatüraz enzim aktivitesi memeli canlılarda yok denecek kadar azdır. Bu sebeple memeliler LA ve ALA'dan SDA ve GLA üretimini gerçekleştiremezler. Bu durumdan omega-3 ve omega-6 sentezinin diğer basamakları da etkileneceği için LA ve ALA'nın EPA, DHA ve AA'ya dönüşüm oranı da kısıtlanmaktadır. Buna bağlı olarak memeli metabolizmasında SDA ve GLA'nın diyet ile vücuda alınımı EPA, DHA ve AA üretimini artırıcı etkiye sahip olacaktır (Calder ve Grimbél, 2002; Abedi, 2014).

İncelenen *E. plantaginum* L. tohumlarında ALA (%26,42-38,92) en yüksek yağ asidi olarak bulunmuştur. LA ise %13,75 ve %21,16 değerleri arasında dağılım göstermiştir. ALA miktarının en yüksek olduğu örnek FNB4 numaralı örnek iken en düşük olduğu örnek FNB2 numaralı örnektir. LA miktarının en yüksek olduğu örnek FNB2 numaralı örnek iken en düşük olduğu örnek FNB1 numaralı örnek olarak bulunmuştur.

LA/ALA oranı kırmızı kan hücreleri üzerinde etkilidir. LA/ALA oranı düşük olduğu zaman kırmızı kan hücrelerindeki ALA ve EPA konsantrasyonları ve Σ EPA + DHA'nın nispi miktarlarının artış göstermekte olduğu, LA konsantrasyonlarının ise azalmakta olduğu gözlenmiştir. LA/ALA oranının yüksek olması ise kırmızı kan hücrelerindeki diğer tüm yağ asidi konsantrasyonlarını sabit tutarken, EPA'nın hafifçe düşmesine sebep olmuştur (Gibson ve diğ., 1994). Alınan LA/ALA oranının da vücut üzerine etkisi bulunması sebebiyle çalışma kapsamında tohum yağlarındaki bu yağ asitlerinin oranına da bakılmıştır. En yüksek LA/ALA oranı (0,8) FNB 2 numaralı örnekteyken en düşük LA/ALA oranı (0,27) FNB 20 numaralı örnekte saptanmıştır. *E. plantagineum* L. tohumlarının yağ asidi sonuçlarında LA/ALA oranının düşük olduğu gözlenmiştir. Özcan (2008a) tarafından yapılan çalışmada da bu oranın 0,45 bulunduğu tespit edilmiş olup, bu değer çalışma kapsamında elde edilen sonuç aralığı içerisinde yer almaktadır.

Palmitik asit, Stearik asit, Oleik asit, LA ve ALA bitkilerde sık sık rastlanan yağ asitleridir. Bu yağ asitleri yaygın yağ asitleri olarak adlandırılmaktadır. Bunun sebebi ise, membran lipidlerinin içerisinde yaygın olarak bulunmalarıdır. Ancak bu yağ asitleri dışında nadir (olağan dışı) yağ asitleri olarak bilinen Kaprilik asit, GLA, SDA Risinoleik asit, Krepeninik asit ve Nebraskanik asit 16'dan az veya 18'den çok karbon atomu içeren yağ asitleri de bitkilerde bulunmaktadır. Ayrıca bu nadir yağ asitleri değişken çift bağ pozisyonları ve cis/trans yönelimleri, asetilenik veya üçlü bağlar, karbon yan zincir modifikasyonları veya bu yapısal özelliklerin bileşimlerini içermektedirler. Nadir yağ asitleri genellikle tohum yağlarının ana bileşenleri olarak bulunur, ancak tipik olarak zarlardan hariç tutulurlar (Cahoon ve Li-Beisson, 2020). Nadir yağ asitleri arasında bulunan SDA ve GLA'nın *E. plantagineum* L. bitkisinin tohum yağlarındaki varlığı hem daha önce yapılan çalışmalar ile hem de tez çalışması ile ortaya konmuştur.

Çalışma sonucunda elde edilen bulgulara tohum yağlarındaki SDA miktarı %5,44-13,098 arasında dağılım göstermektedir. %5,44 değeri ile en düşük SDA konsantrasyonuna sahip olan örnek FNB23 numaralı örnektir. En yüksek SDA konsantrasyonuna %13,098 değeri ile FNB5 numaralı örnek sahiptir. Bitki tohumlarında bulunan diğer bir nadir yağ asidi olan GLA ise %4,99-12,23 değerleri arasında dağılım göstermiştir. %4,99 değeri ile en düşük GLA konsantrasyonuna sahip olan FNB5 numaralı örnekken, en yüksek değere sahip olan örnek %12,23 değeri ile FNB16 numaralı örnektir. Özcan (2008a) tarafından yapılan çalışmada tohum yağlarındaki SDA miktarı %13,35, GLA miktarı ise 11,32 olarak; Erdemoğlu (2004) tarafından yapılan çalışmada SDA miktarı %12,3, GLA miktarı %12,2 olarak; Guil-Guerrero (2006) tarafından yapılan çalışmada SDA miktarı %13, GLA miktarı %10,1 olarak; Guil-Guerrero (2013) tarafından yapılan çalışmada SDA miktarı %9,6-15,5, GLA miktarı %8,9-13 olarak; Guil-Guerrero (2017) tarafından yapılan çalışmada SDA miktarı %8,3 ve %15, GLA miktarı %7,4 ve %9,3 olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçları literatür bilgisi ile karşılaştırıldığında SDA ve GLA miktarlarının uygun aralık içerisinde olduğu gözlenmiştir. Ancak FNB23 numaralı örneğin SDA ve GLA miktarının genel marj sınırı altında kaldığı fark edilmiştir. FNB23 numaralı örnek dışında SDA ve GLA yağ asidi verileri ile uyumsuzluk gösteren başka bir örnek bulunmamaktadır. FNB23 numaralı örnek tohumları, Çanakkale/Gökçeada lokasyonundan toplanmış olup bitkinin yaşadığı habitat diğer lokasyonlara göre farklılık göstermektedir. Çamurlu ve tuzcul özellik gösteren bir toprakta yetişen bu bitkinin tuz stresine bağlı olarak gen ekspresyon farklılıkları geçirmiş olabileceği ve bu durumun da SDA ve GLA

üretiminden sorumlu olan $\Delta 6$ desatüraz enzim aktivitesinde bir düşüşe sebep olmuş olabileceği düşünülmektedir.

İnsanlar için diyetle alınan LA/ALA oranı gibi omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin oranı da önem taşımaktadır. Simopoulos (2002)'a göre insanlar yaklaşık 1 oranında ω -3/ ω -6 oranına sahip diyetle evrimleşmişlerdir. Ancak bu oran günümüz batı diyetlerinde 1/15'e hatta bazı durumlarda 1/30'a kadar düşmüştür. Bu oranlar bize ω -3 alımının oldukça düşük olduğunu göstermektedir. Kardiyovasküler hastalıkların ikincil önlenmesinde alınan ω 3/ ω 6 oranının 1/4 olması toplam mortalitede %70'lik bir azalma göstermiştir. Astımlı hastalarda 1/5 oranında ω 3/ ω 6 alımını faydalı bir etki gösterirken, 1/2-3 oranında bu yağ asitlerinin alımını romatoid artritli hastalarda inflamasyonu baskılamıştır. Ancak kolorektal kanserli hastalarda 1/2,5 oranı rektal hücre proliferasyonunu azaltırken, aynı miktarda omega-3 PUFA ile 1/4 oranı hiçbir etki göstermemiştir. Simopoulos (2002) yapmış olduğu bu çalışma ile alınması gereken ω 3/ ω 6 oranının duruma göre farklılık göstermekte olduğunu, ancak bu oranın 1'e yaklaşması ile de olumlu etkilerin gözlenebileceğini ortaya koymuştur.

Tez çalışması kapsamındaki örnekler incelendiğinde en yüksek omega-3 yağ asidi miktarı %50,46 ile FNB4 numaralı örnekte gözlenirken en düşük omega-3 yağ asidi miktarı %35,16 ile FNB2 numaralı örnekte gözlemlenmiştir. Omega-6 yağ asidi için ise en yüksek miktar %32,03 değeri ile FNB2 numaralı örnekte bulunurken en düşük miktar ise %22,14 ile FNB4 numaralı örnekte bulunmuştur. Bu yağ asitlerinin oranlarına bakıldığında örnekler içerisindeki dağılımın 1,098 ile 2,28 arasında olduğu ortaya konmuştur. En düşük ω 3/ ω 6 oranına 1,098 ile FNB2 numaralı örnekte, en yüksek ω 3/ ω 6 oranına ise 2,28 ile FNB4 numaralı örnekte rastlanmıştır. Elde edilen sonuçlar *E. plantagineum* L. bitkisini ω 3/ ω 6 oranı açısından değerli bir kaynak haline getirmektedir.

Tez projesi kapsamında yağ asidi miktar analizi dışında tohum yağlarında bulunan fitokimyasal maddelerin varlığı da araştırılmıştır. Bu araştırma kapsamında toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid madde miktarı ve toplam antioksidan kapasite değerleri hesaplanmıştır.

Fenolik maddeler, bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan ve bir aromatik halkaya sahip olan bileşiklerdir (Harborne, 1973). Fenolik maddeler yiyeceklere buruk acımtırak tadı veren maddelerdir. Bu maddeler çoğunlukla antioksidan aktivitede artışa sebep olan ürünlerdir (Santos-Sánchez ve diğ., 2019). Bu özellikleri sebebiyle tohum yağlarında söz konusu olan bu

fenolik maddelerin varlığı araştırılmak istenmiştir. Bu doğrultuda toplam fenolik madde miktarı analizi için Berker ve diğ. (2013) tarafından uygulanan Folin-Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar “Bulgular” kısmında mmol gallik asit/g örnek olarak verilmiştir. Folin-Ciocalteu yöntemi sonuçları incelendiğinde 0,000289 mmol gallik asit/g örnek eşdeğerliği ile en yüksek sonuca sahip olan örneğin FNB16 numaralı örnek olduğu gözlenmektedir. En düşük toplam fenolik miktarına sahip örneğin ise 0,0000453 mmol gallik asit/g örnek eş değeri ile FNB5 numaralı örnek olduğu bulunmuştur. Rincón-Cervera ve diğ., (2020) tarafından yapılan çalışmada *E. plantagineum* L. bitkisi için pek çok farklı yağ ekstraksiyon metodu kullanılmıştır. Bizim çalışmamıza en uygun olduğunu düşündüğümüz Hekzan çözeltisi ile yapılan Randall ekstraksiyonu sonuçlarına göre veriler karşılaştırılmıştır. Rincón-Cervera ve diğ., (2020) yaptıkları çalışmada *E. plantagineum* L. bitkisinin tohum yağında 0,0000764 mmol gallik asit/g örnek eş değeri içinde toplam fenolik madde tespit etmişlerdir. *E. plantagineum* L. bitkisinin 19 lokalitesi için yapılan toplam fenolik madde miktarı testinin ortalama değeri 0,000094 mmol gallik asit/g örnek olarak bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı deneyinde elde edilen sonuçlardan bazıları Rincón-Cervera ve diğ., (2020) tarafından yapılan araştırma sonucuna göre düşük olsa da genel olarak sonuçlarımız bu değere yakın veya 0,0000764 mmol gallik asit/g örnek eş değeri içinde daha yüksek bulunmuştur.

Flavonoidler, fenolik maddeler içerisinde bulunan bir gruptur ve tüm flavonid maddeler flavonoidden türetilmiştir (Harborne, 1973). Proje kapsamında toplam flavonoid madde miktarı Chang ve diğ., (2002)'ne göre Alüminyum Klorür Kolorimetrik yöntemi kullanılarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre FNB16 (0,000989 mmol kateşin/g örnek) ve FNB18 (0,000923 mmol kateşin/g örnek) numaralı örnekler en yüksek toplam flavonoid madde miktarına sahiptirler. En düşük toplam flavonoid miktarının ise FNB1 numaralı örnekte (0,00007 mmol kateşin/g örnek) olduğu tespit edilmiştir.

Antioksidan maddeler, düşük konsantrasyonlarda substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen maddelerdir. Diğer bir deyişle organizmada metabolik süreçler sonucunda ortaya çıkan serbest oksijen türlerinin (ROS) organizmaya zarar vermesini önlemek için canlıda bulunan maddeler olarak da adlandırılabilirler. Bu durum için canlılar endojen ve ekzojen olmak üzere iki tip antioksidan maddeleri kullanmaktadırlar. Bu tez kapsamında bizim incelediğimiz antioksidan maddeler ekzojen antioksidan maddeler sınıfına girmektedir. En önemli ekzojen

antioksidanlar arasında fenolik bileşikler, karotenoidler, C vitamini ve selenyum ve çinko gibi bazı mineraller yer almaktadır (Santos-Sánchez ve diğ., 2019).

Tez kapsamında toplam antioksidan aktivite deneyleri CUPRAC ve DPPH olmak üzere iki farklı yöntem kullanılarak yapılmıştır. CUPRAC yöntemi Cu (II)-Nc kompleksinin antioksidan madde varlığında Cu (I)-Nc kompleksine indirgenmesine dayanmaktadır. Bu yöntem mavi renkli olan Cu (II)-Nc kompleksinin sarı renkli Cu (I)-Nc kompleksine dönüşmesi ile alınan spektrofotometrik ölçümler ile hesaplanmaktadır. DPPH yöntemi ise 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) adlı mor renkli maddenin antioksidan madde varlığında indirgenerek renginin değişmesine dayanan spektrofotometrik bir yöntemdir.

Alınan spektrofotometrik ölçümler sonucunda yapılan CUPRAC hesaplamalarına göre 0,000259 mmol troloks/g örnek eşdeğerliği ile en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olan örneğin FNB10 numaralı örnek olduğu bulunmuştur. Ek olarak FNB5, FNB9, FNB12, FNB15 ve FNB17 numaralı *E. plantagineum* L. örneklerinin de diğer örneklerle göre yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. CUPRAC yöntemine göre en düşük antioksidan kapasiteye sahip olan örnek 0,0009 mmol troloks/g örnek eş değeri ile FNB1 numaralı örnek olarak bulunmuştur.

DPPH yöntemine göre toplam antioksidan kapasite sonuçları incelendiğinde ise en yüksek antioksidan kapasitenin 0,00104 mmol troloks/g örnek eş değeri ile yine FNB10 numaralı örnek olduğu gözlenmektedir. En düşük toplam antioksidan kapasite ise CUPRAC sonuçlarından farklı olarak 0,000672 mmol troloks/g örnek eş değeri ile FNB15 numaralı örnek olarak bulunmuştur.

CUPRAC ve DPPH yöntemlerinin sonucunda aynı örnek numaralarının farklı değerlerde sonuçlar verdiği gözlenmiş ve DPPH değerlerinin CUPRAC değerlerinden daha yüksek çıktığı tespit edilmiştir. Bu durumun sebebinin iki yöntemin farklı kimyasal maddeler ile farklı prensiplere göre çalışması olduğu düşünülmektedir. İki yöntem arasında farklı sonuçlar gözlenmiş olmasına rağmen yağ asitleri ve spektrofotometrik yöntemler arasında yapılan Pearson korelasyon analizi sonuçlarına göre bu iki yöntem arasında olumlu yönde bir ilişki olduğu ortaya çıkmıştır ($p < 0,05$).

Rincón-Cervera ve diğ., (2020) tarafından yapılan çalışmada toplam antioksidan kapasite tayini ORAC yöntemi ile yapılmıştır. Toplam antioksidan kapasite tayini sonuçlarının doğru bir

şekilde karşılaştırılabilmesi için çalışmadan Hekzan çözeltisi ile yapılan Randall ekstraksiyonu verileri seçilmiştir. Araştırmadaki verilere göre 0,00013 mmol troloks/g örnek eş değerliğinde toplam antioksidan aktivite hesaplanmıştır. Tez çalışması kapsamında elde edilen CUPRAC ve DPPH verileri genel olarak Rincón-Cervera ve diğ., (2020) tarafından yapılan çalışmada elde edilen 0,00013 mmol troloks/g örnek eş değerliğinden yüksek bulunmuştur. Sonuçlar arasındaki farklılığın sebebinin kullanılan ekstraksiyon yöntemi ve toplam antioksidan kapasite tayin yöntemleri arasındaki farklılıktan dolayı olabileceği düşünülmektedir.

Tüm veriler incelendiğinde FNB2, FNB4, FNB5, FNB7, FNB15 ve FNB16 numaralı örnek lokasyonları öne çıkmaktadır. FNB2 numaralı örnek yüksek LA ve LA/ALA oranı ile dikkat çekmektedir. FNB4 numaralı örnek yüksek ALA, yüksek ω -3 ve ω -3/ ω -6 oranına sahip olduğu için önemli bir kemotip olma özelliğindedir. FNB5 numaralı örnek tohum yağları arasındaki en yüksek değere sahip olan örnektir. Bunun yanında tüm örnekler arasındaki en yüksek SDA miktarına sahip olan örnek de FNB5 numaralı örnek olarak bulunmuştur. Yüksek Σ USFA ve Σ USFA/SFA oranının yanında düşük Σ SFA miktarları ile FNB7 numaralı örnek karşımıza çıkmaktadır. FNB15 numaralı örneğin tüm örnekler arasında en yüksek Σ PUFA ve Σ PUFA/MUFA oranına sahip olması bu lokasyonu değerli kılmaktadır. En yüksek miktardaki GLA'ya sahip olan FNB16 numaralı örneğimiz olmuştur. Bu örneğimizin toplam fenolik miktarı ve toplam flavonoid miktarı araştırmalarında da yüksek oranlara sahip olduğu görülmektedir.

FNB7 ve FNB15 numaralı örnekler İstanbul-Küçükçekmece'den farklı alanlardan toplanmışlardır. İki örneğin de deniz seviyesinde yetişmekte olduğu arazi notlarına kaydedilmiştir. Toplanan alanlar birbirine çok uzak olmaması sebebiyle örneklerin yağ asidi sonuçları benzer özellikler göstermiştir. Elde edilen bilgiler bu iki lokasyonun USFA değerleri açısından önemli olduğunu göstermektedir.

FNB2 numaralı örnek İstanbul-Zeytinburnu'dan toplanmıştır. Bitki park içinde yetişmektedir. Zeytinburnu sahile yakın bir konumda bulunmaktadır. Ancak park duvarlarının denizin sert rüzgarını kesmesi sebebiyle bitki için farklı bir yetiştirme ortamı sağlanmıştır. Tohumların toplanmış olduğu bireyler, uzun boylu ve rahatça gelişmiş, çevresindeki bitkiler ile çok fazla rekabete girerek strese girmemiş bireylerdir. FNB2 numaralı örneğimiz yüksek LA ve LA/ALA oranı ile dikkat çekmekteydi. Zeytinburnu sahil şeridi boyunca yetişen FNB3 numaralı örneğimiz ile bu değerlerini karşılaştırdığımız zaman FNB2 numaralı örneğin LA miktarı

%21,16 iken FNB3 numaralı örneğin LA miktarı %15,22 bulunmuştur. LA/ALA oranları incelendiğinde ise FNB2 numaralı örnek 0,8 LA/ALA oranına sahipken FNB3 numaralı örnek 0,44 LA/ALA oranına sahiptir. İki örnek lokasyonun arasında yaklaşık 0,5-1 km arasında mesafe bulunmaktadır. Bu kadar yakın konumlanan lokasyonların arasında büyük miktarda farklılıkların çıkmasının sebebinin FNB2 numaralı örneğin deniz rüzgarı, yüksek nem ve tuzluluk stresine girmeden yetişmesi olduğu düşünülmektedir.

İstanbul-Soyak lokasyonundan toplanmış olan FNB5 numaralı örnek en yüksek SDA miktarına sahip olan örneğimiz olmuştur. Bitki yol kenarı, boş arsada yetişmektedir. Bitkinin yetiştiği bölgenin ve yetiştirme koşullarının ayırt edici bir özelliği bulunmamaktadır. Tohumların toplandığı zamanın, tohumların geç olgunlaşma evresinde olması dolayısı ile SDA miktarı en yüksek seviyeye ulaşmış olabileceği düşünülmektedir.

FNB4 numaralı örnek İstanbul-Yeşilköy lokasyonundan toplanmış bulunmaktadır. Bu lokasyondan alınan yağ asidi sonuçlarına göre tohum örnekleri yüksek ALA miktarına, yüksek ω -3 miktarına ve ayrıca yüksek ω -3/ ω -6 oranına sahiplerdir. Örneğin bulunduğu lokasyondaki bitki popülasyonu yaklaşık 30m’lik bir alanı kaplamaktadır. Yetiştirme alanı dar ve kısıtlı olmasına rağmen popülasyon içindeki bireylerin farklı fenotipik özellikler gösterdiği tespit edilmiştir. Bu fenotipik özellikler bitkideki tüy yoğunluğu ve çiçek durumunun sürgün üzerinde kapladığı alan olarak iki farklı başlık altında açıklanabilir. Tüy yoğunluğu açısından üç farklı fenotip gözlemlenmiştir. Bitkiler az tüylü, orta yoğunlukta tüylü ve çok yoğun tüylü olarak sınıflandırılabilir şekilde fark edilir derece tüy yoğunluğu değişikliği göstermektedir. Çiçek durumunun sürgündeki alanı için ise çiçeklerin sürgün üzerinde geniş bir alan kapladığı ya da sürgün ucunda yoğunlaşan sıkıca paketlenmiş bir çiçek durumunun olduğu bireyler karşımıza çıkmaktadır. Hem çok yoğun tüylü hem de çiçek durumu sıkı paketlenmiş olan bireylerde resaptakuluma tutunmuş bulunan tohum sayısının indirgenmediği dikkat çekmiştir. Bu lokasyondan toplanan tohum örnekleri karışık şekilde toplanmıştır. Lokasyonun yüksek ω -3 değerine sahip olması lokasyon içerisinde bulunan farklı fenotiplerin, farklı bir kemotipe sahip bireyleri doğurup doğurmadığı konusunda merak uyandırmaktadır. İleriki çalışmalarda bu lokasyona ait popülasyonun daha detaylı şekilde araştırılması gerektiği fark edilmiştir.

Tekirdağ-Ganos Dağı'ndan toplanmış olan FNB16 numaralı örnek yağ asidi parametreleri açısından sadece yüksek GLA miktarına sahiptir. Ancak bu lokasyondan toplanan tohumların yağlarında diğer örneklerle göre daha yüksek fenolik madde ve flavonoid maddeye rastlanmıştır.

Bu durumun sebebi olarak bitkinin 170m rakımda yetişmesi gösterilebilir. Benzer şekilde deniz seviyesinden yüksekte 60m rakımda yetişen FNB18 numaralı örneğimiz de FNB16 numaralı örneğimize yakın bir değerde flavonoid miktarına sahiptir. Ancak FNB18 numaralı örneğin fenolik madde miktarı FNB16 numaralı örneğin fenolik madde miktarının yarısından daha azdır. Bu durum bize yüksekliğin artmasının bitkinin tohum yağlarındaki fenolik ve flavonoid madde içeriklerinin artmasına sebep olacağını göstermektedir. Ancak elde edilen sonuçlardan da görülebileceği gibi yüksekliğin asıl etkilediği durum toplam fenolik madde miktarıdır.

Bulgular kısmındaki PCA grafikleri bize FNB2, FNB12, FNB20 ve FNB 23 numaralı örneklerin yağ asidi tipleri açısından farklı gruplandığını göstermiştir. Bu grafikler doğrultusunda elimizdeki veriler incelendiğinde FNB2, FNB12 ve FNB 23 numaralı örneklerin çok az miktarlarda da olsa diğer popülasyonların üretmediği doymuş yağ asitlerini barındırdığı görülmüştür. FNB20 numaralı örnekte ise FNB2, FNB12 ve FNB23 numaralı örneklerde farklılığa sebep olan bu doymuş yağ asitlerinin üretilmediği ancak bitkinin ürettiği majör yağ asitleri miktarlarında diğer örneklere göre farklı sonuçlar gösterdiği saptanmıştır.

Proje kapsamında *E. italicum* ve *E. vulgare* örnekleri, *E. plantagineum* bitkisi ile aralarında nasıl bir yağ asidi kompozisyonu farklılığı olduğu görülmesi amacı ile toplanmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda FNB19 numaralı *E. italicum* bitkisinin tohumlarında bulunan Σ MUFA miktarının *E. plantagineum* bitkisine ait tohumlardakinden daha düşük bir miktarda olduğu gözlenmiştir. Bunun yanında *E. italicum* bitkisinin tohumlarındaki Σ PUFA, Σ PUFA/MUFA oranı, omega-3 miktarı ve ω -3/ ω -6 oranının *E. plantagineum* L. bitkisinden görece daha fazla olduğu saptanmıştır. Ek olarak *E. italicum* bitkisinin ALA ve SDA miktarlarının da *Echium plantagineum* bitkisine göre daha fazla miktarda bulunduğu ancak bu fazlalığın SDA için anlamlı bir farklılık oluşturacak kadar çok olmadığı gözlemlenmiştir. FNB 21 numaralı *E. vulgare* bitki örneğinin tohum yağlarında ise Σ MUFA miktarının *E. plantagineum* L. bitkisine göre daha düşük olduğu, incelenen diğer parametrelerin ise paralellik gösterdiği fark edilmiştir.

Tez kapsamında yapılan incelemeler arasında bulunan toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid madde miktarı ve toplam antioksidan kapasite tayini deneylerinde bu üç tür arasındaki farklara bakıldığında en büyük farklılığın toplam fenolik madde miktarında olduğu gözlemlenmiştir. Söz konusu bu farklılık FNB 19 numaralı *E. italicum* örneği için olup toplam fenolik madde miktarında 0,000028 mmol gallik asit/g örnek değeriyle en düşük değere sahip

olduğu bulunmuştur. Diğer spektrofotometrik ölçümlerin hepsinde türler arasında anlamlı bir farklılık oluşmadığı görülmüştür.

Deney kapsamında tüm parametler incelendiğinde *E. plantagineum* L., ve *E. vulgare* türleri arasında benzer yağ asidi kompozisyonlarının bulunduğu ancak *E. italicum* bitkisinin *E. plantagineum* L. bitkisinden tohumlarında depolanan yağ asidi miktarlarındaki farklılıklar sebebiyle kemotaksonomik olarak ayrıldığı gözlemlenmiştir. Bu ayrım “Bulgular” kısmında yer alan PCA grafikleri ile görsel olarak da desteklenmektedir. Tétényi (1974)' ye göre, Boraginaceae familyasında familya ve alt familya altında ve cins düzeyinden üst basamaklarda farklı yağ asidi profilleri bulunmaktadır. Boraginaceae'deki tohum yağının yağ asidi bileşiminin kemotaksonomik önemi yaygın olarak kabul edilmektedir (Guil-Guerrero, 2007). Deney kapsamında elde ettiğimiz veriler Tétényi (1974) ve Guil-Guerrero (2007) tarafından yapılan çalışmaları destekleyici özellik taşımaktadır.

Söz konusu üç *Echium* türünün nadir yağ asitlerini (SDA ve GLA) bulundurmaları sebebiyle fonksiyel gıda olarak kullanılma ihtimalleri mevcuttur. Yağ asidi verilerine göre *E. italicum* türü yağ asidi içeriği açısından *E. plantagineum*'a göre daha verimli bir tür olarak görülebilir. Ancak *E. plantagineum* L. bitkisinin yüksek risk ihtiva eden istilacı tür kategorisine girecek kadar kolay bir şekilde yetişmesi bitki yetiştiriciliği açısından büyük kolaylık sağlayacaktır (USDA, 2017). *E. vulgare* bitkisi ise *E. plantagineum* L. bitkisi ile neredeyse benzer bir yağ asidi profili gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sebeple tarımsal açıdan yetiştirme kolaylığı sağlayacak olan *E. plantagineum* L. bitkisine yönelmek daha elverişli olacaktır.

E. plantagineum L. türünün memelilerde karaciğer, böbrek ve akciğer hasarına yol açan pirolizidin alkaloidlerini ürettiğini unutulmamalıdır (Peterson ve Jago, 1984; Weston, 2013). Bu sebeple *E. plantagineum* L. bitkisinden gıda olarak tüketim amaçlı elde edilen yağların pirolizidin alkaloidlerinin uzaklaştırılması için filtrasyon sistemlerinden geçmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, yapılan araştırma ile *E. plantagineum* L. türünün yüksek oranlarda ω -3 ve ω -6 yağ asidi miktarına sahip olduğu bulunmuştur. Tüm parametreler incelendiğinde FNB2, FNB4, FNB5, FNB7, FNB15 ve FNB16 numaralı örnekler ait, İstanbul-Zeytinburnu, İstanbul-Yeşilköy, İstanbul-Soyak, İstanbul-Küçükçekmece ve Tekirdağ-Ganos Dağı lokasyonlarının diğer lokasyonlara göre daha verimli olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışma söz konusu bitki üzerinde tür içi diğer araştırmalar için örnek teşkil edici olması sebebiyle önem taşımaktadır. Dar bir alanda yapılan tez çalışmamız *E. plantagineum* L. bitkisinin coğrafi değişikliklere bağlı olarak farklı metabolitler üretebildiğini ve yağ asidi kompozisyonları açısından da kendi içerisinde değişiklikler gösterebildiğini ortaya koymuştur. Ek olarak *E. plantagineum* L. türünün kültür bitkisi olarak yetiştirilme potansiyeline sahip olduğu ve balık yağının yerine geçebilecek, karasal omega-3 ve omega-6 yağ asidi kaynağı olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir. Zengin çeşitliliğe sahip Türkiye Florasında kayıtlı bulunan *Echium plantagineum* L. türünün, ülkemizdeki doğal yayılış alanlarının genişliği ve dolayısı ile farklı ekolojik koşullara uyum sağlamış yüksek varyasyon gösteren genotipleriyle çok zengin bir gen havuzuna sahip olduğu düşünüldüğünde, çeşitli ülkelerde tarımsal ve endüstriyel uygulamaları bulunan söz konusu türün alternatif bir gen kaynağı ve tarımsal bitki olarak ürün verimi yüksek genotip ve kemotiplerin tespiti ve karakterizasyonu ile tarıma kazandırılması, ilgili biyoaktif bileşikleri kodlayan genlerin seleksiyonu ile genitör olarak biyoteknolojik ıslah programlarında kullanılması ve tohum gen ve veri bankalarının oluşturulması önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- Abedi, E., ve Sahari, M. A., 2014, Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties, *Food Science & Nutrition*, 2(5), 443-463.
- Ahmet H. O. ve Kordofani, M. A., 2012, Leaf and Stem Anatomy of five species from the genus *Heliotropium* L. (Boraginaceae) in Sudan, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(10), 4575-4581.
- Altınışık, M., 2006, LİPİDLERİN YAPISAL VE İŞLEVSEL ÖZELLİKLERİ VII, <https://slideplayer.biz.tr/slide/3054741/>, [Ziyaret tarihi: 21.07.2021].
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E., 2004, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970 –7981.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E. Ş., Yılmaz, B., 2019, Oksidatif Stres Durumunda Antioksidan Enzimlerin Rolü – Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx), *Med J. SDU*, 26(3), 362-369.
- Baiwald, S. A., Singh, N., Jani, D. R., Patil, P., Singh, M., Deep, G., Singh, S., 2014, Alterations in serum lipid profile patterns in oral cancer: correlation with histological grading and tobacco abuse, *Oral Health and Dental Management*, 13(3), 573-579.
- Bakış, Y., Babaç M. T., Uslu, E., 2011, Updates and improvements of Turkish Plants Data Service (TÜBİVES), In *Health Informatics and Bioinformatics (HIBIT)*, 2011 6th International Symposium on, 136-140.
- Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Vírveda, P., Marín-Arroyo, M. R., & Navarro, M., 2015, Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204-209.
- Bolling, B. W., Chen, C. Y. O., McKay, D. L., and Blumberg, J. B., 2011, Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. A systematic review of almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts, *Nutrition Research Reviews*, 24, 244-275.
- Bruice, P.Y., 2004, *Organic Chemistry 4th Edition*, Pearson Education, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, ISBN: 9780131407480.
- Cahoon, E. B., & Li-Beisson, Y., 2020, Plant unusual fatty acids: learning from the less common, *Current Opinion in Plant Biology*, 55, 66-73.
- Calder, P. C., Grimble, R. F., 2002, Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity, *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, 14-19.

- Campos-Vega, R. And Oomah B. D., 2006, *Chemistry and Health*, Handbook of Plant Food Phytochemicals: Source, Stability and Extraction, In: Tiwari, B. K., Brunton, N. P., Brennan, C. (ed.), Part 1, Wiley Blackwell, West Sussex, UK, ISBN: 978-1-118-46469-4.
- Castejón, N., Luna, P., & Señoráns, F. J., 2018, Alternative oil extraction methods from *Echium plantagineum* L. seeds using advanced techniques and green solvents. *Food chemistry*, 244, 75-82.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C., 2002, Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- Chen, H., Chan, A. Y., Stone, D. U., Mandal, N. A., 2014, Beyond the cherry-red spot: Ocular manifestations of sphingolipid-mediated neurodegenerative and inflammatory disorders, *Survey of Ophthalmology*, 59(1), 64-76.
- Coupland, K., 2008, Stearidonic acid: A plant produced omega-3 PUFA and a potential alternative for marine oil fatty acids, *Lipid Technology*, 20(7), 152-154.
- Cseke, L. J., Kirakosyan, A., Kaufman, P. B., Warber, S., Duke, J. A., Brielmann, H. L., 2006, *Natural Products from Plants*, CRC Press, USA, ISBN: 9780849329760.
- David, F., Sandra, P., & Wylie, P. L., 2002, Improving the analysis of fatty acid methyl esters using retention time locked methods and retention time databases. Agilent Technologies—Application.
- Doğru-Koca, A., Özcan, T., Yıldırım, Ş., 2016, Chemotaxonomic perspectives of the *Paracaryum* (Cynoglosseae, Boraginaceae) taxa based on fruit fatty acid composition, *Phytochemistry*, 131, 100-106.
- Dunstan, G. A., Volkman, J. K., Barrett, S. M., Garland, C. D., Changes in the lipid composition and maximization of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture, *J Appl Phycol.*, 5, 71–83.
- Erdemoğlu, N., Küsmenoğlu, Ş., Vural, M., 2004, α -Linolenic acid content and fatty acid composition of Boraginaceae seed oils, *Eur J Lipid Sci Technol*, 106, 160-164.
- Eruygur N., Yılmaz G., Kutsal O., Yücel G., & Üstün O., 2016, Bioassay-guided isolation of wound healing active compounds from *Echium* Species growing in Turkey, *Journal of Ethnopharmacology*, 185, 370-376.
- Fahy, E., Subramaniam, S., Brown, H. A., Glass, C. K., Merrill, A. H. Jr., Murphy, R. C., Raetz, C. R. H., Russell, D. W., Seyama, Y., Shaw, W., Shimizu, T., Spener, F., van Meer, G., VanNieuwenhze M. S., White, S. H., Witztum, J. L. & Dennis E. A., 2005, A comprehensive classification system for lipids, *Journal of Lipid Research*, 46, 839-861.
- Fahy, E., Cotter, D., Sud, M., Subramaniam, S., 2011, Lipid classification, structures and tools, *Biochim. Biophys Acta*, 1811(11), 637-647.

- Ferreira, J. F. S., Luthria, D. L., Sasaki, T. & Heyerick, A., 2010, Flavonoids from *Artemisia annua* L. as Antioxidants and Their Potential Synergism with Artemisinin against Malaria and Cancer, *Molecules*, 15(5), 3135-3170.
- Gerçek, Y. C., 2020, *Türkiye’de Yayılış Gösteren Cerasus L. (Rosaceae) Cinsi Taksonları Üzerinde Filogenetik ve Fitokimyasal Analizler*, Doktora, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Gharib, A., Godarzee, M., 2016, Determination of secondary metabolites and antioxidant activity of some boraginaceae species growing in Iran, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(11), 2459-2465.
- Gibson, R. A., Makrides, M., Neumann, M. A., Simmer, K., Mantzioris, E. & James, M. J., 1994, Ratios of linoleic acid to α -linolenic acid in formulas for term infants, *The Journal of Pediatrics*, 125(5), 48-55.
- Guil-Guerrero, J. L., García Maroto, F. F., Giménez Giménez, A., 2001, Fatty Acid Profiles from Forty-nine Plant Species That Are Potential New Sources of γ -Linolenic Acid, *JAOCS*, 78, 677–684.
- Guil-Guerrero, J. L., López-Martínez, J. C., Gómez-Mercado, F., Campra-Madrid, P., 2006, Gamma-linolenic and stearidonic acids from Moroccan Boraginaceae, *Eur J Lipid Sci Technol*, 108, 43-47.
- Guil-Guerrero, J. L., 2007, Stearidonic acid (18:4n-3): Metabolism, nutritional importance, medical uses and natural sources, *Eur J Lipid Sci Technol*, 109(12), 1226–1236.
- Guil-Guerrero, J. L., Rincón-Cervera, M. Á., Gómez-Mercado, F., Ramos-Bueno, R. P., Venegas-Venegas, E., 2013, New seed oils of Boraginaceae rich in stearidonic and gamma-linolenic acids from the Maghreb region, *Journal of Food Composition and Analysis*, 31,20-23.
- Guil-Guerrero, J. L., Gómez-Mercado, F., Ramos-Bueno, R. P., González-Fernández, M. J., Urrestarazu, M., Rincón-Cervera, M. Á., 2017, Sardinian Boraginaceae are new potential sources of gamma-linolenic acid, *Food Chemistry*, 218, 435-439.
- Harborne, J. B., 1973, *Phenolic Compounds*, Phytochemical Methods, Chapter 2, 33-88.
- Hasler, C. M., Blumberg J.B., 1999, Symposium on Phytochemicals: Biochemistry and Physiology, *Journal of Nutrition*, 129, 756-757.
- Horrobin, D. F., 1993, Fatty acid metabolism in health and disease: the role of Δ -6-desaturase, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57(5), 732-737.
- Hossain, M. K., Dayem, A. A., Han, J., Yin, Y., Kim, K., Saha, S. K., Yang, G. M., Choi, H. Y. & Cho, S. G., 2016, Molecular Mechanisms of the Anti-Obesity and Anti-Diabetic Properties of Flavonoids, *International Journal of Molecular Sciences*, 17(4), 569-600.
- Kitessa, S. M., & Young, P. (2009). Echium oil is better than rapeseed oil in enriching poultry meat with n-3 polyunsaturated fatty acids, including EPA and DPA, *British Journal of Nutrition*, 101, 709-715.

- Kitessa, S. M., Nichols P. D., Abeywardena M., 2011, *Purple Viper's Bugloss (Echium plantagineum) Seed Oil in Human Health*, Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention, In: Preedy, V. R., Watson, R. R., Patel, V. B. (ed.), 112, Academic Press, ISBN: 978-0-12-375688-6, 951-958.
- Körüklü, S. T., 2012, *Echium*, <http://www.bizimbitkiler.org.tr> [Ziyaret tarihi: 25.06.2021]
- Lents, N. H., Stark, L., Denmark, B., 2014, *Lipids: An introduction*, <https://www.visionlearning.com/en/library/Biology/2/Lipids/207>, [Ziyaret tarihi: 16.07.2021].
- Manirakiza, P., Covaci, A., Schepens, P., 2001, Comparative Study on Total Lipid Determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer Extraction Methods, *Journal of Food Composition and Analysis*, 14, 93-100.
- Manocha, M. S., & Campbell, C. D., 1978, The effect of growth temperature on the fatty acid composition of *Thamnidium elegans*, *Can J Microbiol.*, 24(6), 670–674.
- Mills, C. E., Hall, W. L., & Berry S. E. E., 2017, What are interesterified fats and should we be worried about them in our diet?, *Nutrition Bulletin*, 42, 153-158.
- Molinelli, M. L., Tarifa, R., & Perissé, P., 2020, Morpho-Anatomy of the *Echium plantagineum* L. (Boraginaceae) Diaspores in Relation with Water Uptake and Germination, *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 89(2), 345-360.
- National Center for Biotechnology Information, 2021, PubChem Compound Summary for CID 6437119, Fatty acids, C14-18 and C16-18-unsatd., https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fatty-acids_-C14-18-and-C16-18-unsatd., [Ziyaret tarihi: 26.07.2021]
- Özcan, T., 2008a, Analysis of the total oil and fatty acid composition of seeds of some Boraginaceae taxa from Turkey, *Plant Syst. Evol.*, 274, 143-153.
- Özcan, T., 2008b, Fatty acid profiles of the seed oils in two groups of *Anchusa officinalis* L., *IUFS Journal of Biology*, 67(1), 65–71.
- Özcan, T., ve Süzerer, V., 2020, Variation of some seed oil components at altitudinal range in a widely distributed species, *Echium italicum* L. (Boraginaceae) from Turkey, *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 11(4), 540-550.
- Parker, G., Gibson, N. A., Heruc, G., Rees, A. M., Hadzi-Pavlovic, D., 2006, Omega-3 Fatty Acids and Mood Disorders, *Am J Psychiatry*, 163(6), 969–978.
- Peterson J. E., ve Jago, M. V., 1984, Toxicity of *Echium plantagineum* (Paterson's curse). II. Pyrrolizidine alkaloid poisoning in rats, *Aust J Agric Res*, 35, 305–315.
- Reece, J. B., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., Jackson, R. B., 2013, *Campbell Biyoloji*, Palme Yayıncılık, Ankara, ISBN: 978-605-355-147-8

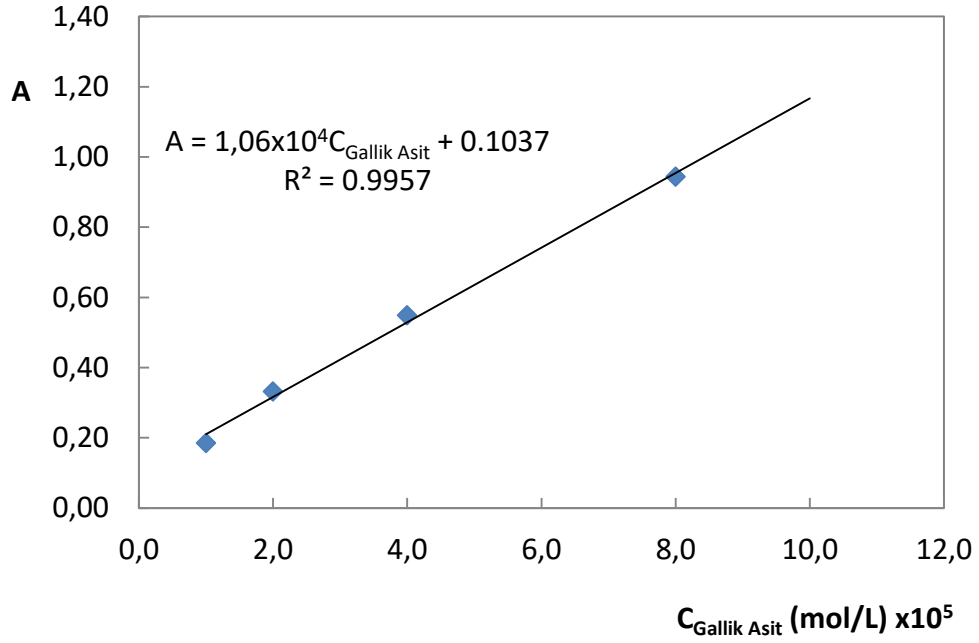
- Regulation, H., 1991, Commission Regulation (EEC) No. 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis, *Official Journal L*, 248, 1-83.
- Rincón-Cervera, M. Á., Galleguillos-Fernández, R., González-Barriga, V., Valenzuela, R., Speisky, H., Fuentes, J., Valenzuela, A., 2020, Fatty Acid Profile and Bioactive Compound Extraction in Purple Viper's Bugloss Seed Oil Extracted with Green Solvents, *J Am Oil Chem Soc*, 97(3), 319-327.
- Salem, N., ve Eggersdorfer, M., 2015, Is the world supply of omega-3 fatty acids adequate for optimal human nutrition?, *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 18(2), 147-154.
- Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva, C., Hernández-Carlos, B., 2019, *Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism*, Antioxidant Physiology, In: Shalaby, E. (ed.), Chapter 2, Intech Open, London, UK, ISBN: 978-1-83962-7255.
- Sargent, J. R., Tocher, D.R., & Bell, J. G., 2002, *The lipids*, Fish Nutrition, 3rd ed., In: Halver, J. E. & Hardy, R. W. (ed.), Elsevier (Academic Press), San Diego, California, 181-257.
- Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D., & Gupta, A., 2013, Phytochemistry of Medicinal Plants, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(6), 168-182.
- Simopoulos, A. P., 2002, The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids, *Biomed Pharmacother*, 56, 365–379.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M., 1999, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods Enzymol*, 299, 6287-6293.
- Siu, W. I., 2010, Biomolecular Transport Across and Along Membranes studied by Molecular Dynamics Simulations, Doktora, der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät II.
- Souza, E. L., Albuquerque, T. M. R., Santos, A. S., Massa, N. M. L., & Brito Alves, J. L., 2018, Potential interactions among phenolic compounds and probiotics for mutual boosting of their health-promoting properties and food functionalities - A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(10), 1-15.
- Tabee, E., 2008, *Lipid and Phytosterol Oxidation in Vegetable Oils and Fried Potato Products*, Doktora, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences.
- Tétényi, P., 1974, Données chimiotaxonomiques sur les Boraginacées. *Acta Bot Acad Sci Hung*. 20, 159–167.
- USDA, 2017, Weed Risk Assessment for *Echium plantagineum* L. (Boraginaceae) – Paterson's Curse, *United States Department of Agriculture*, 1, 1-25.
- Venegas-Caleron, M., O. Sayanova, O., & Napier, J. A., 2010, An alternative to fish oils: metabolic engineering of oil-seed crops to produce omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids, *Prog. Lipid Res.*, 49 (2), 108–119.

- Vesper, H., Schmelz, E. M., Nikolava-Karakashian, M. N., Dillehay, D. L., Lynch, D. V. & Merrill, A. H. Jr., 1999, Sphingolipids in Food and the Emerging Importance of Sphingolipids to Nutrition, *American Society for Nutritional Sciences*, 1239-1250.
- Wei, J. H., Yin, X., & Welandar, P. V., 2016, Sterol Synthesis in Diverse Bacteria, *Frontiers in Microbiology*, 7(990).
- Weston, P. A., Weston, L. A., Hildebrand, S., 2013, Metabolic profiling in *Echium plantagineum*: presence of bioactive pyrrolizidine alkaloids and naphthoquinones from accessions across southeastern Australia, *Phytochem Rev*, 12, 831-837.



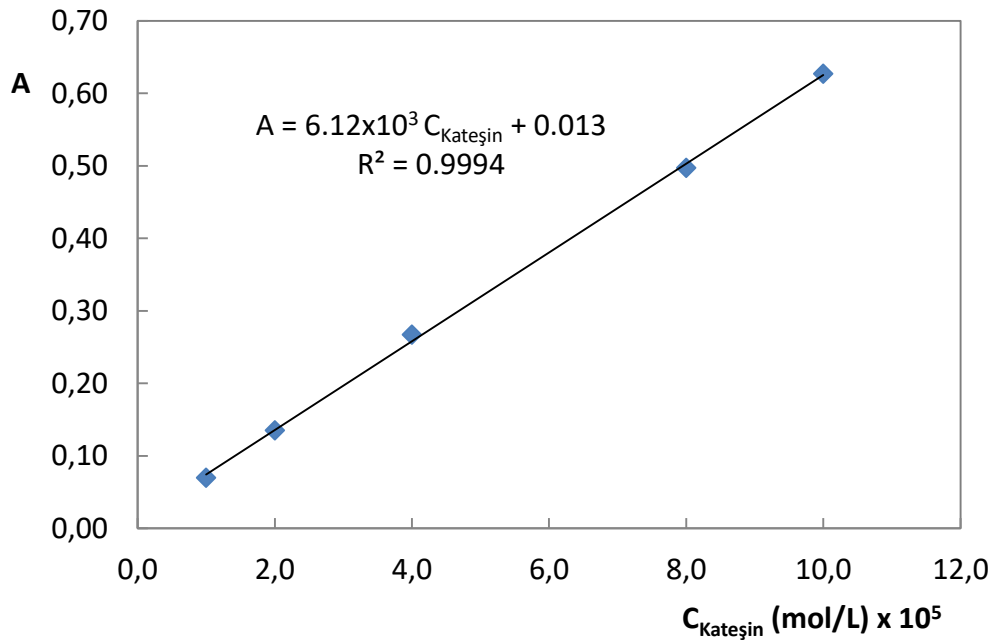
EKLER

EK 1: Gallik asit kalibrasyon grafiği.



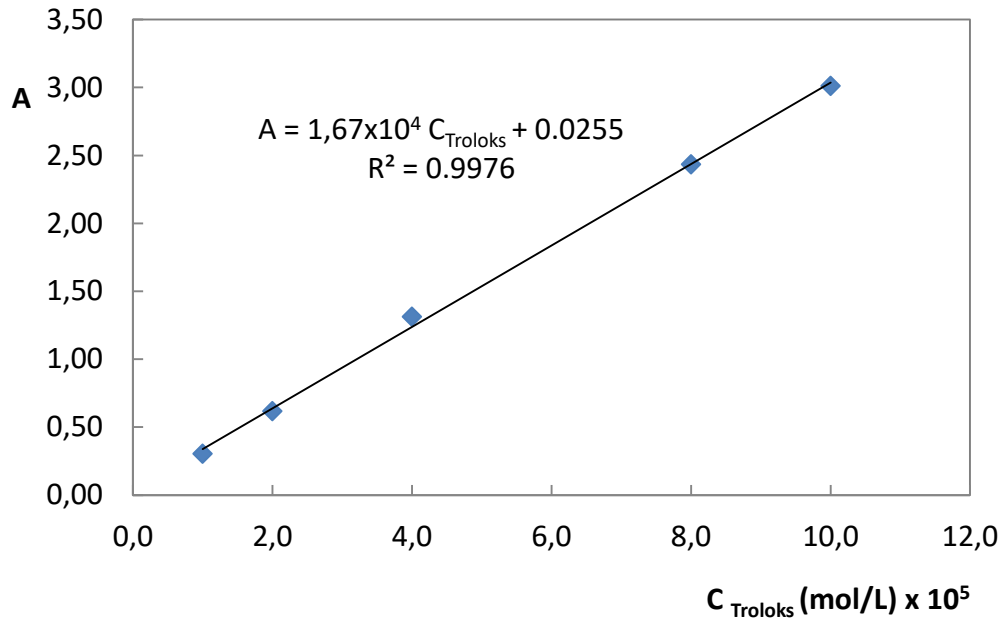
Gerçek, 2020

EK 2: Kateşin kalibrasyon grafiği



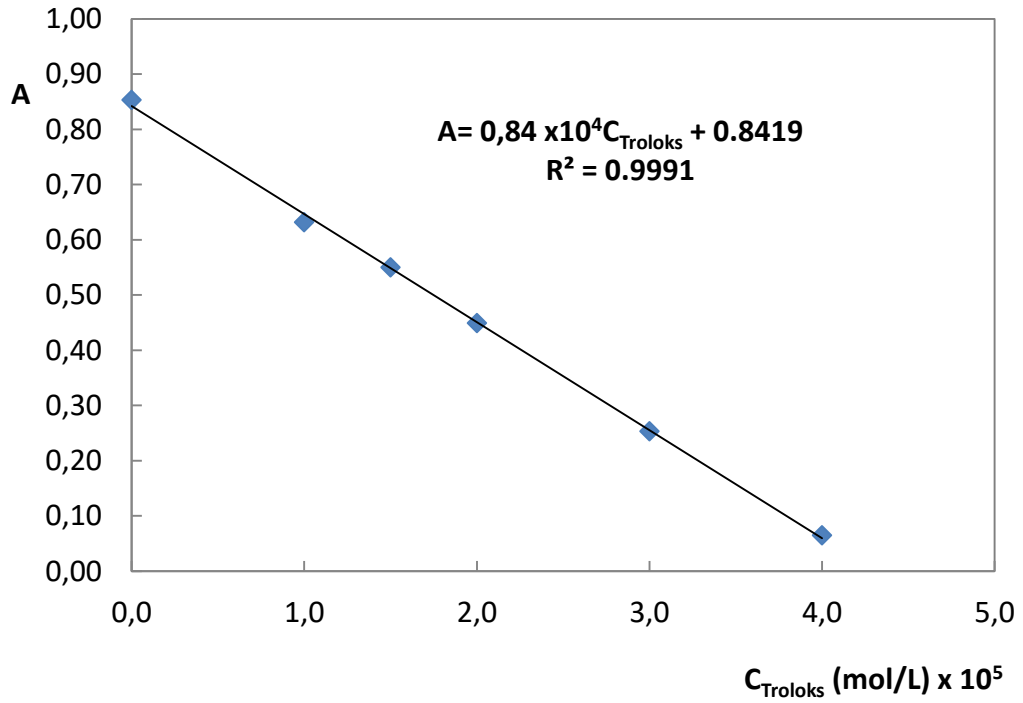
Gerçek, 2020

EK 3: CUPRAC için Troloks kalibrasyon grafiği

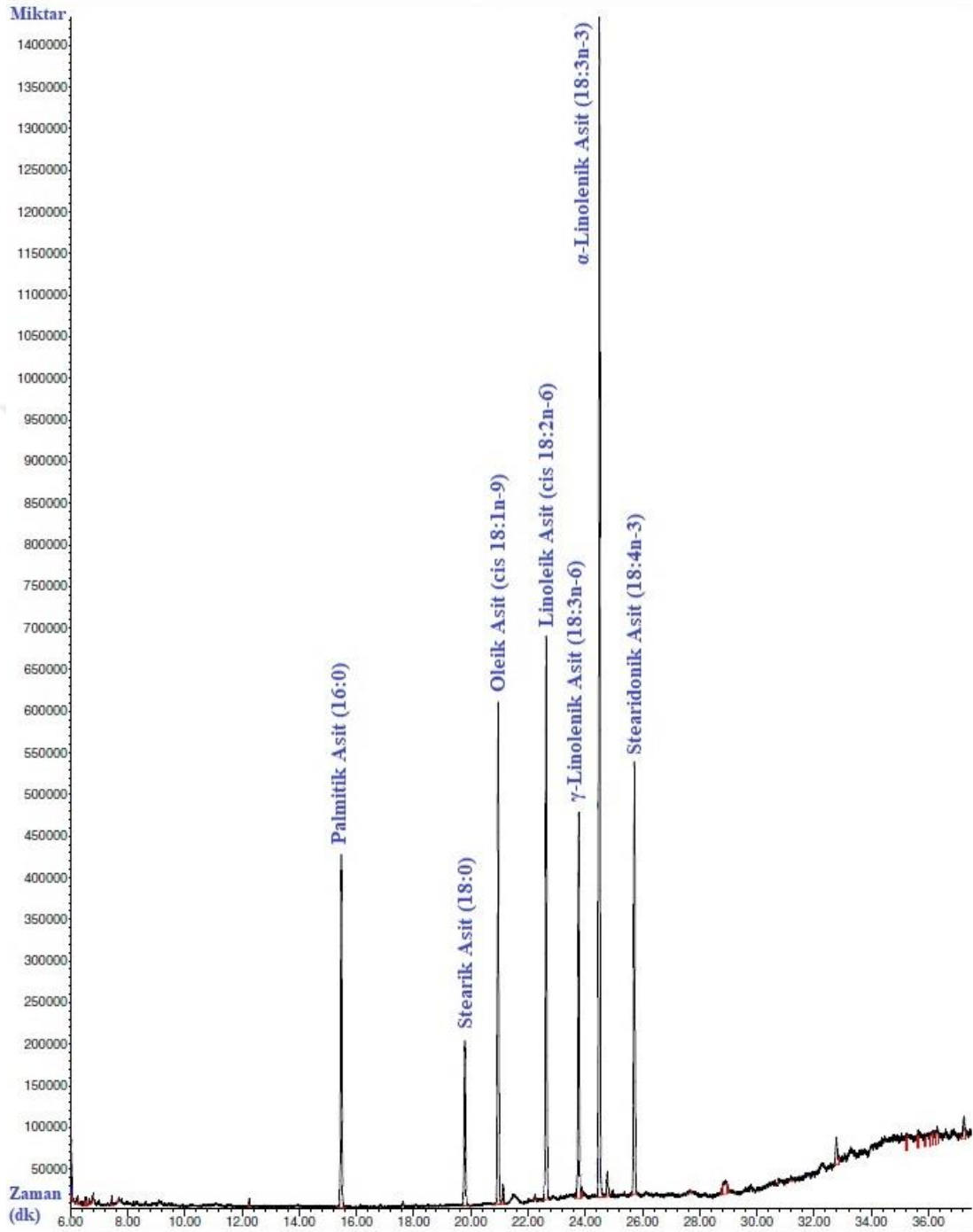


Gerçek, 2020

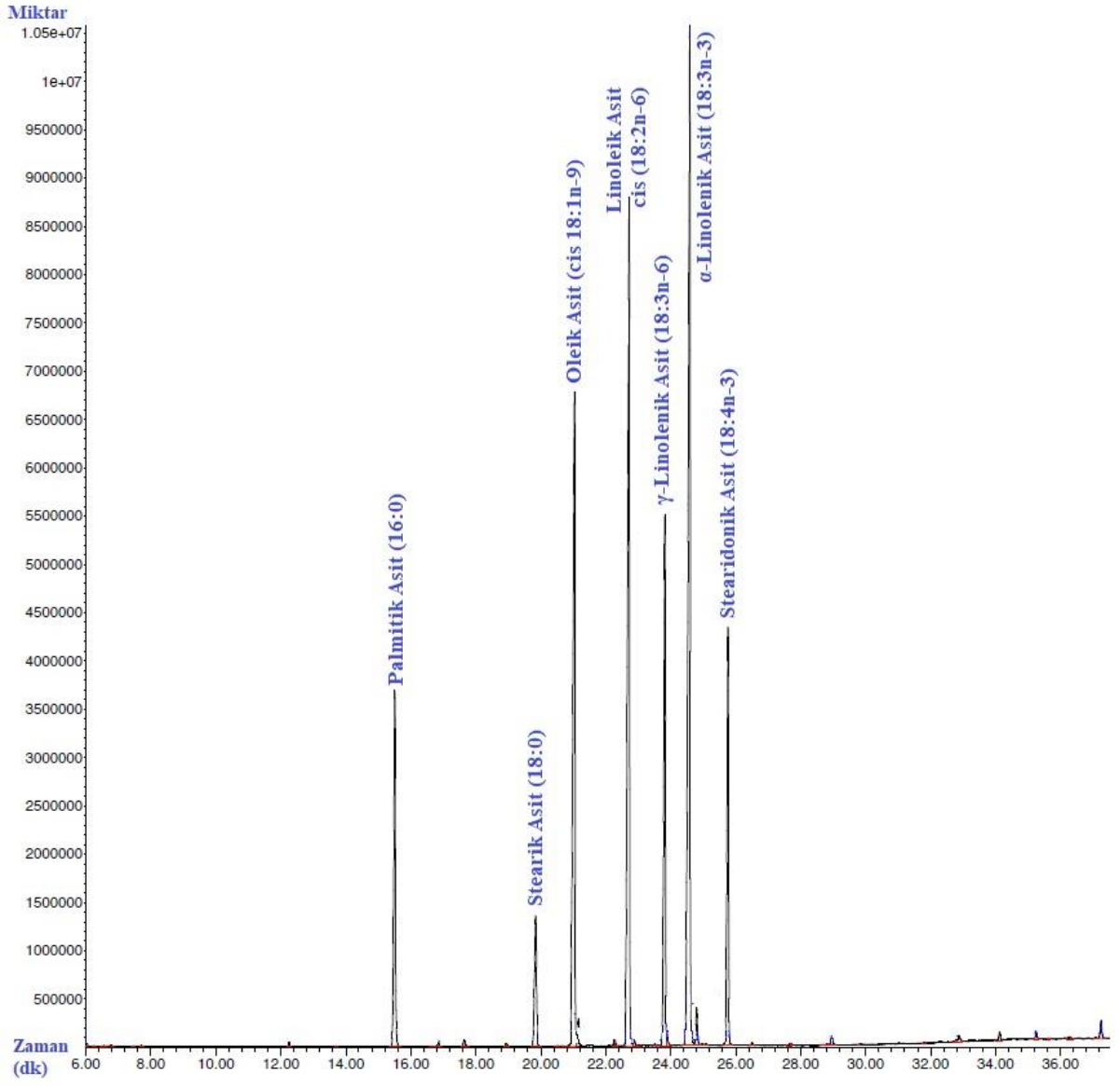
EK 4: DPPH için Troloks kalibrasyon grafiği.



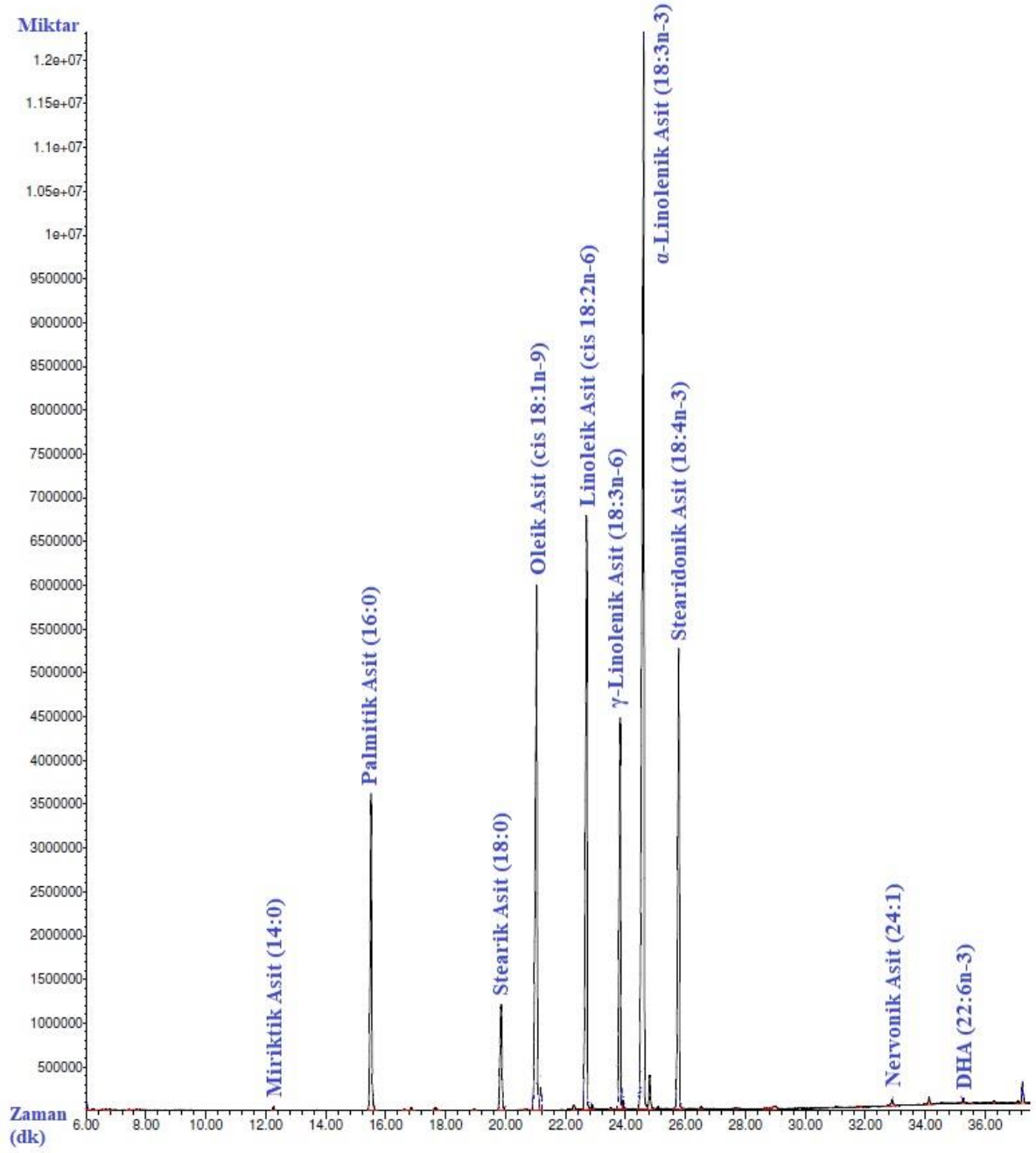
Gerçek, 2020

EK 5: FNB 1 numaralı örneğin GC kromatogramı.

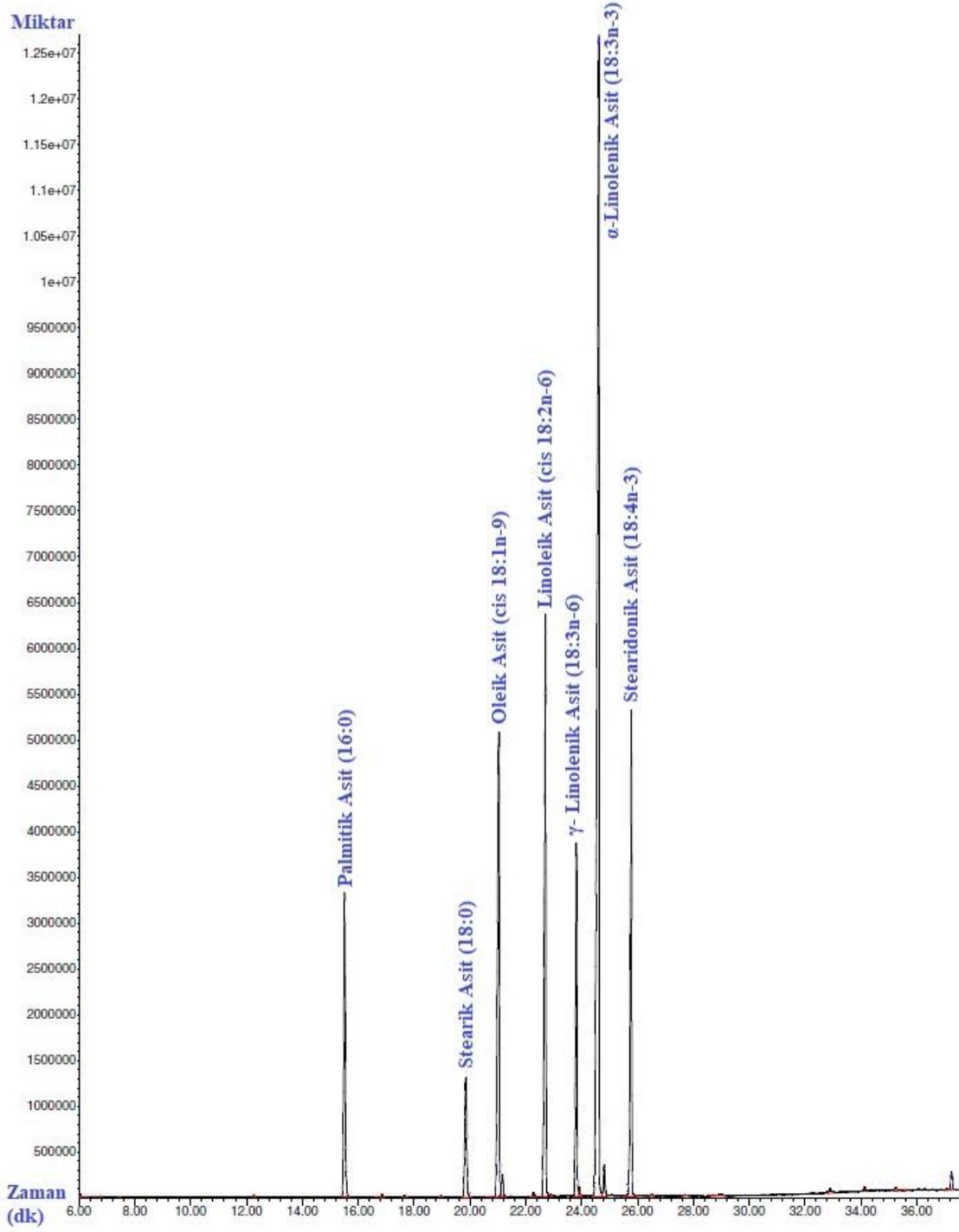
EK 6: FNB 2 numaralı örneğin GC kromatogramı.



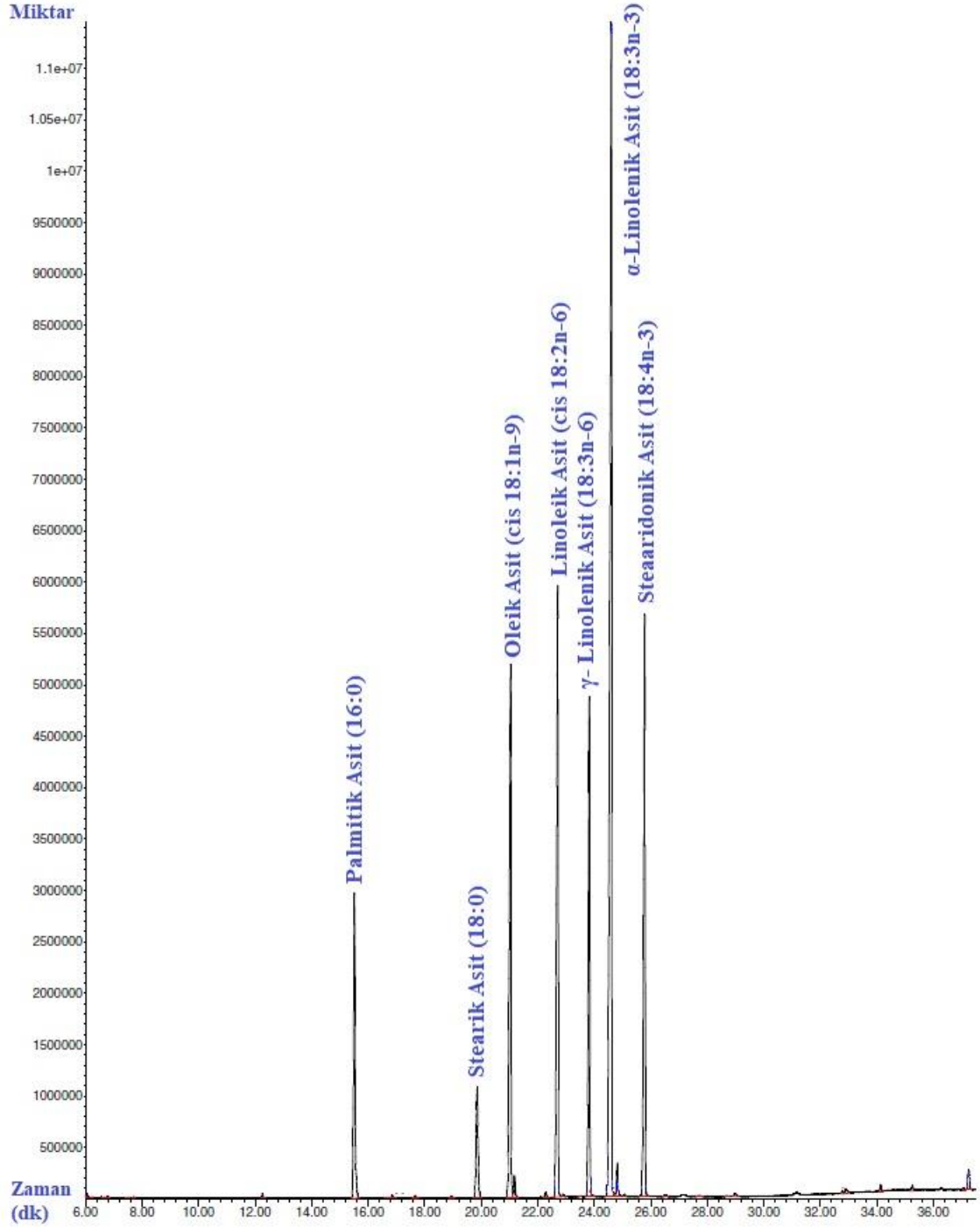
EK 7: FNB 3 numaralı örneğin GC kromatogramı.



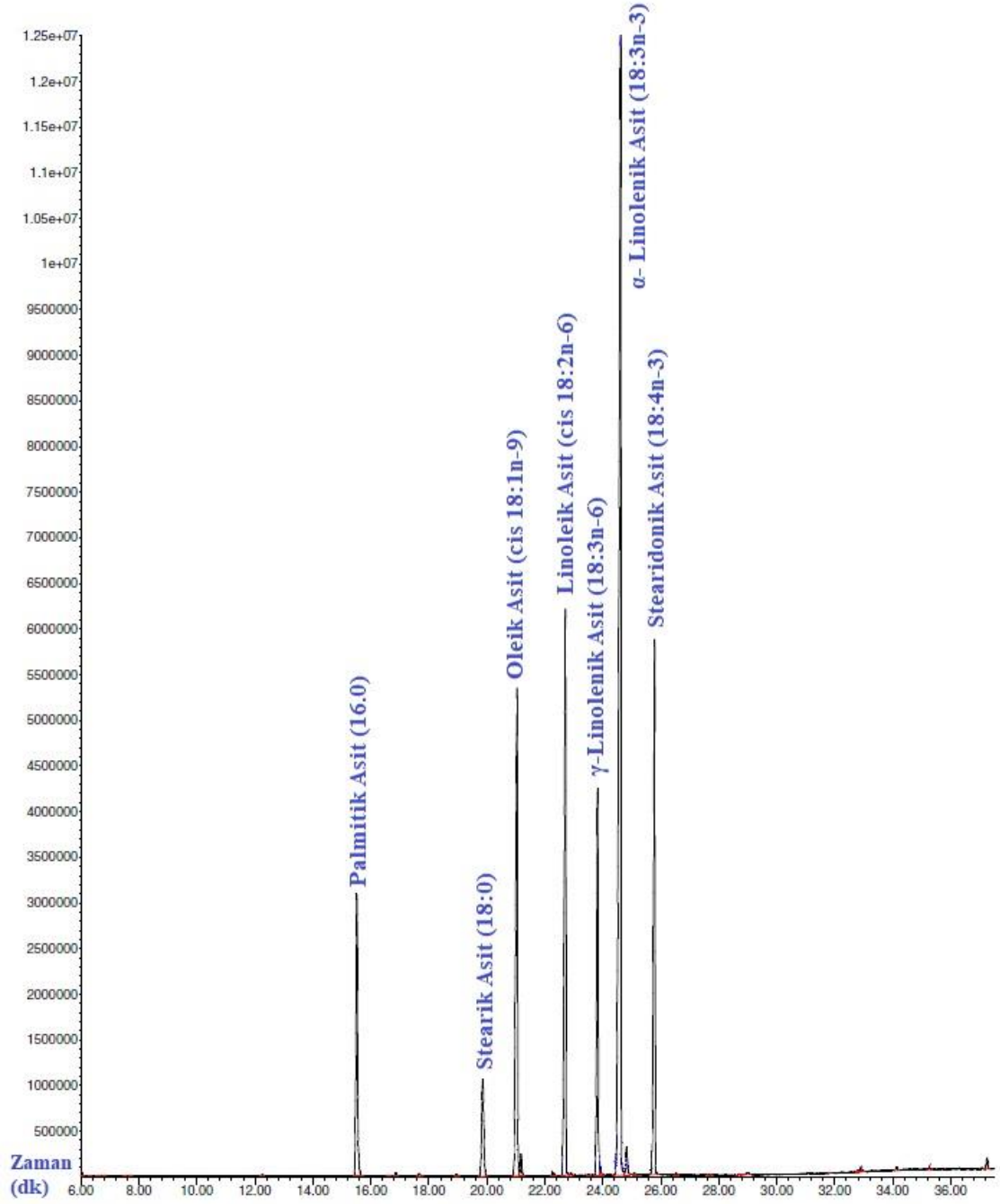
EK 8: FNB 4 numaralı örneğin GC kromatogramı.



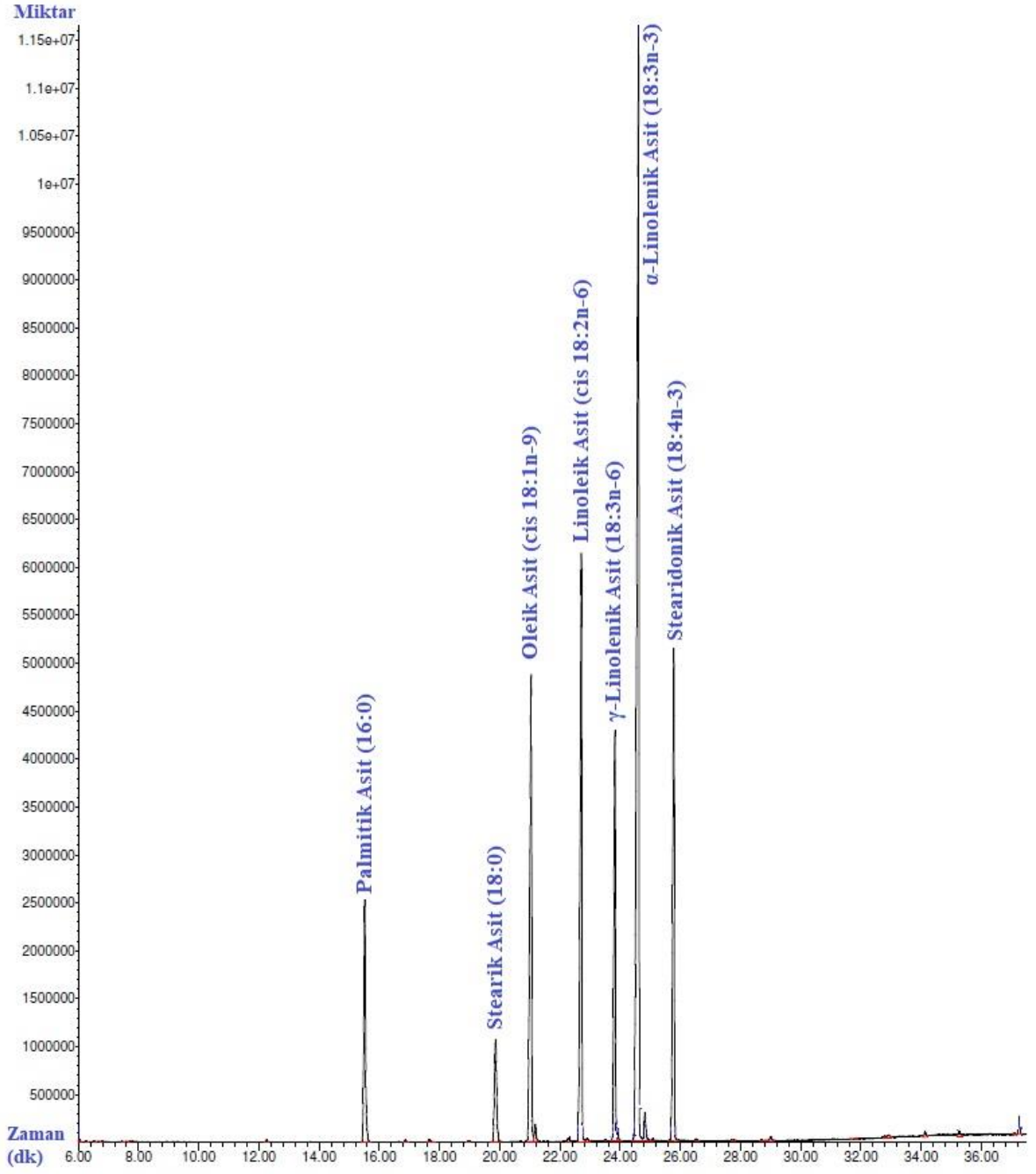
EK 9: FNB 5 numaralı örneğin GC kromatogramı.



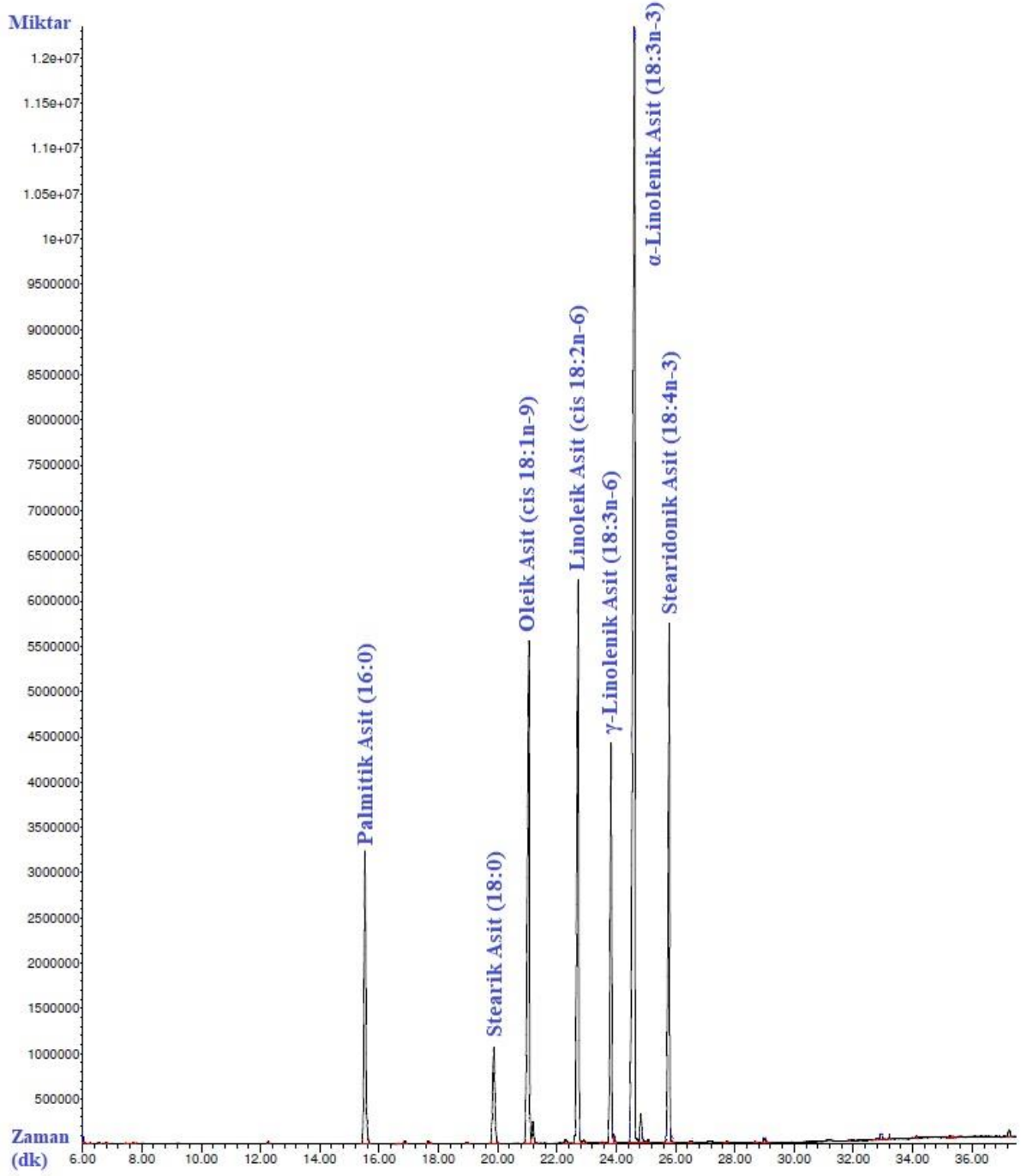
EK 10: FNB 6 numaralı örneğin GC kromatogramı.



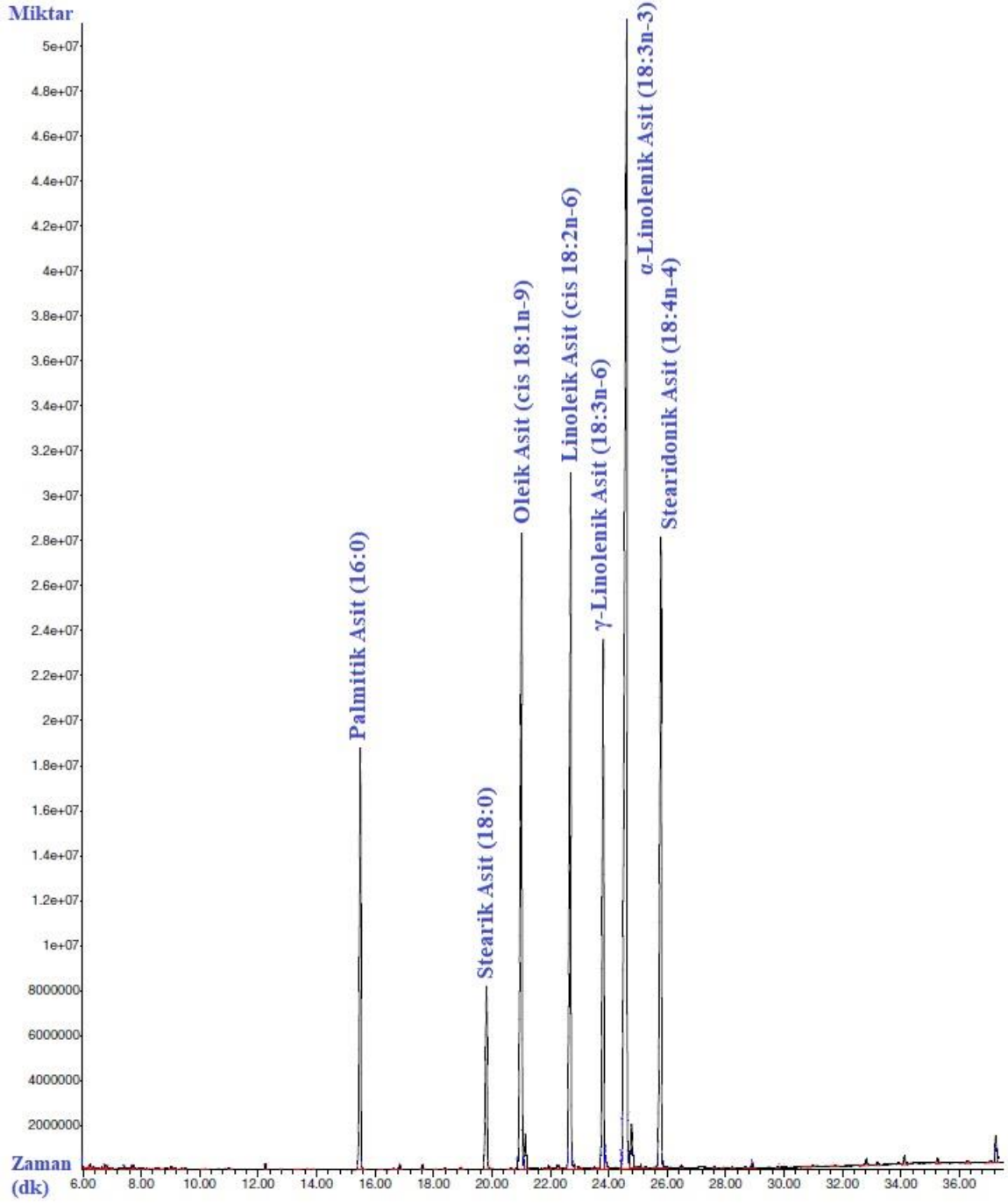
EK 11: FNB 7 numaralı örneğin GC kromatogramı



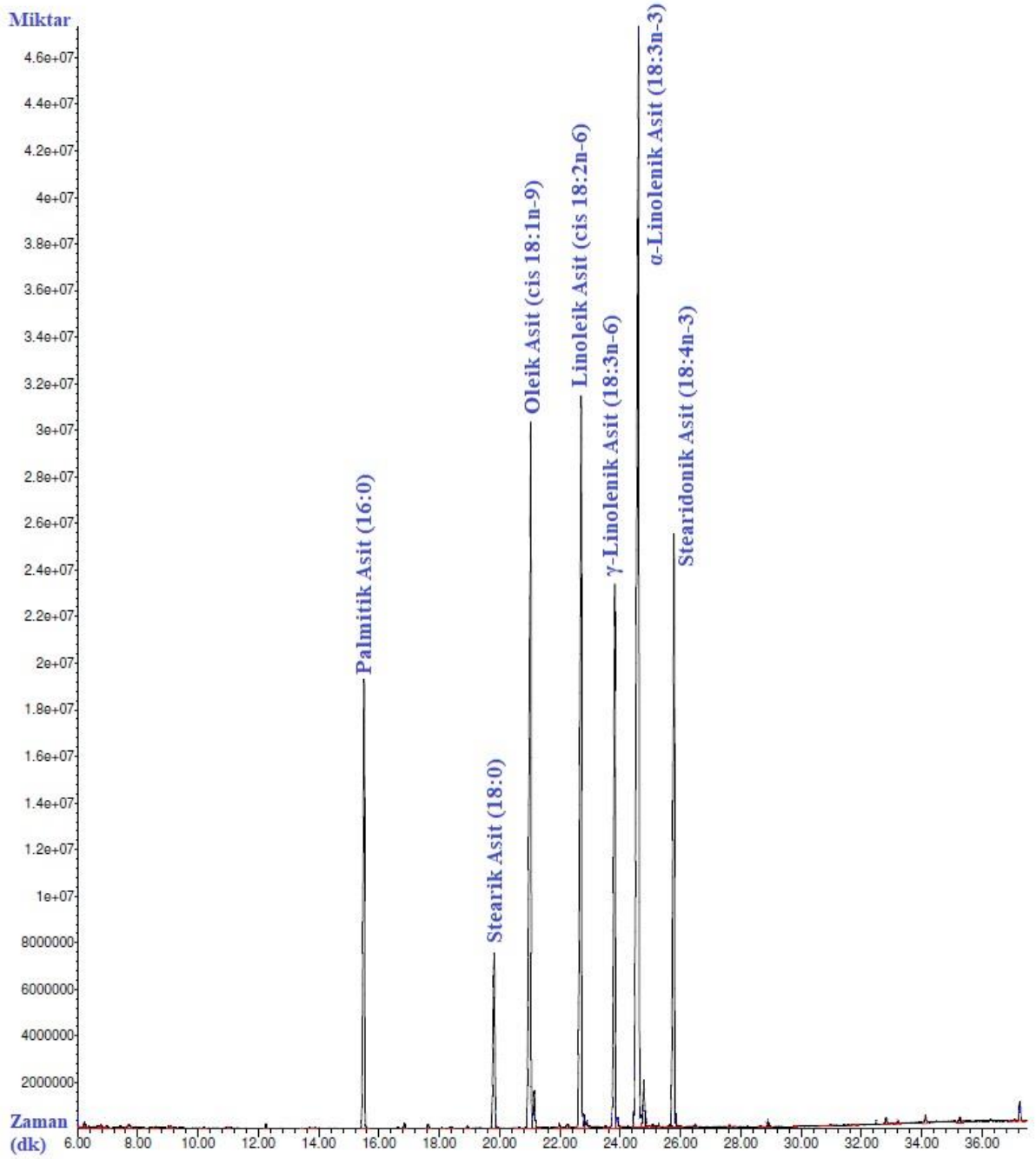
EK 12: FNB 8 numaralı örneğin GC kromatogramı.



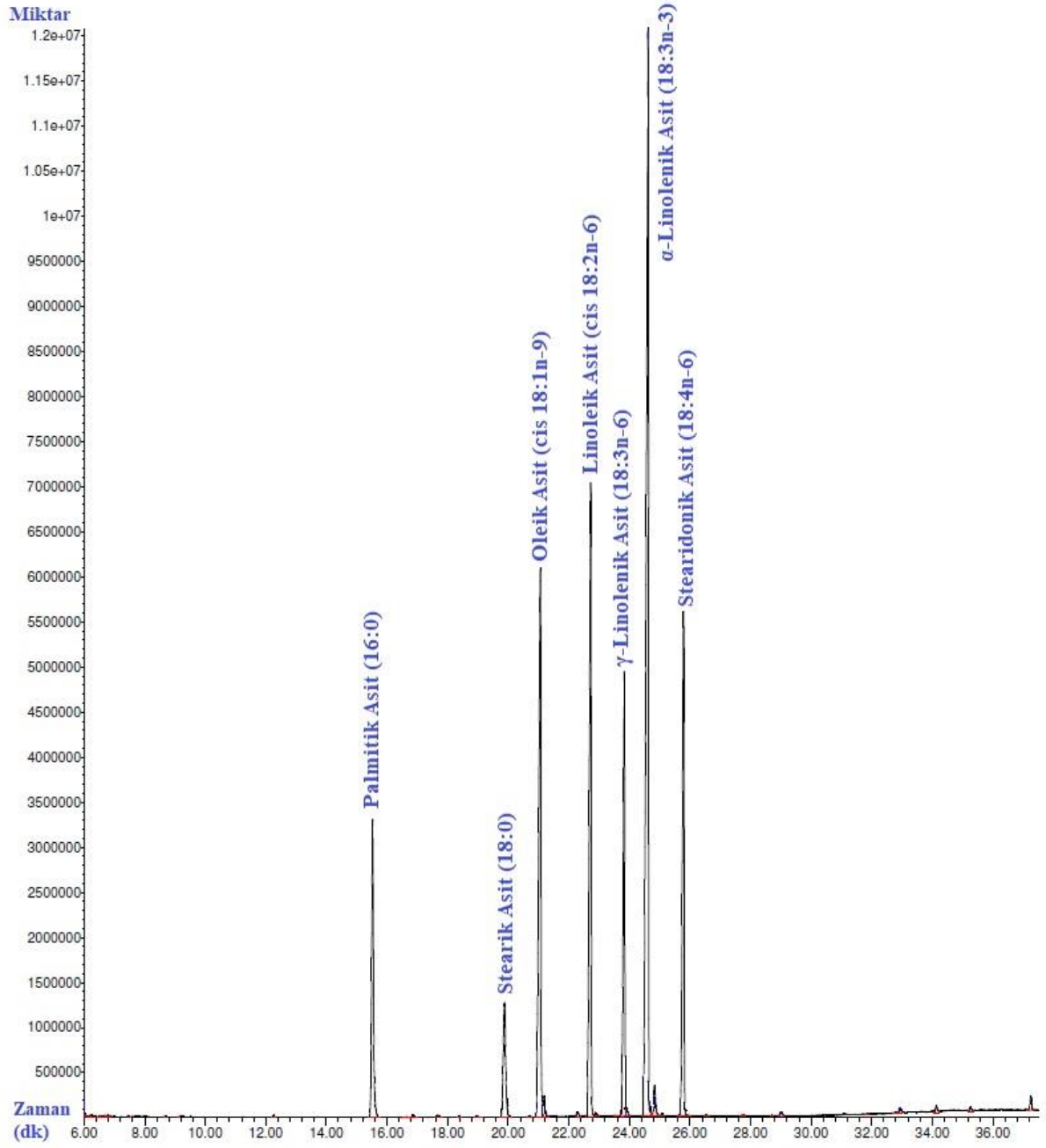
EK 13: FNB 9 numaralı örneğin GC kromatogramı.



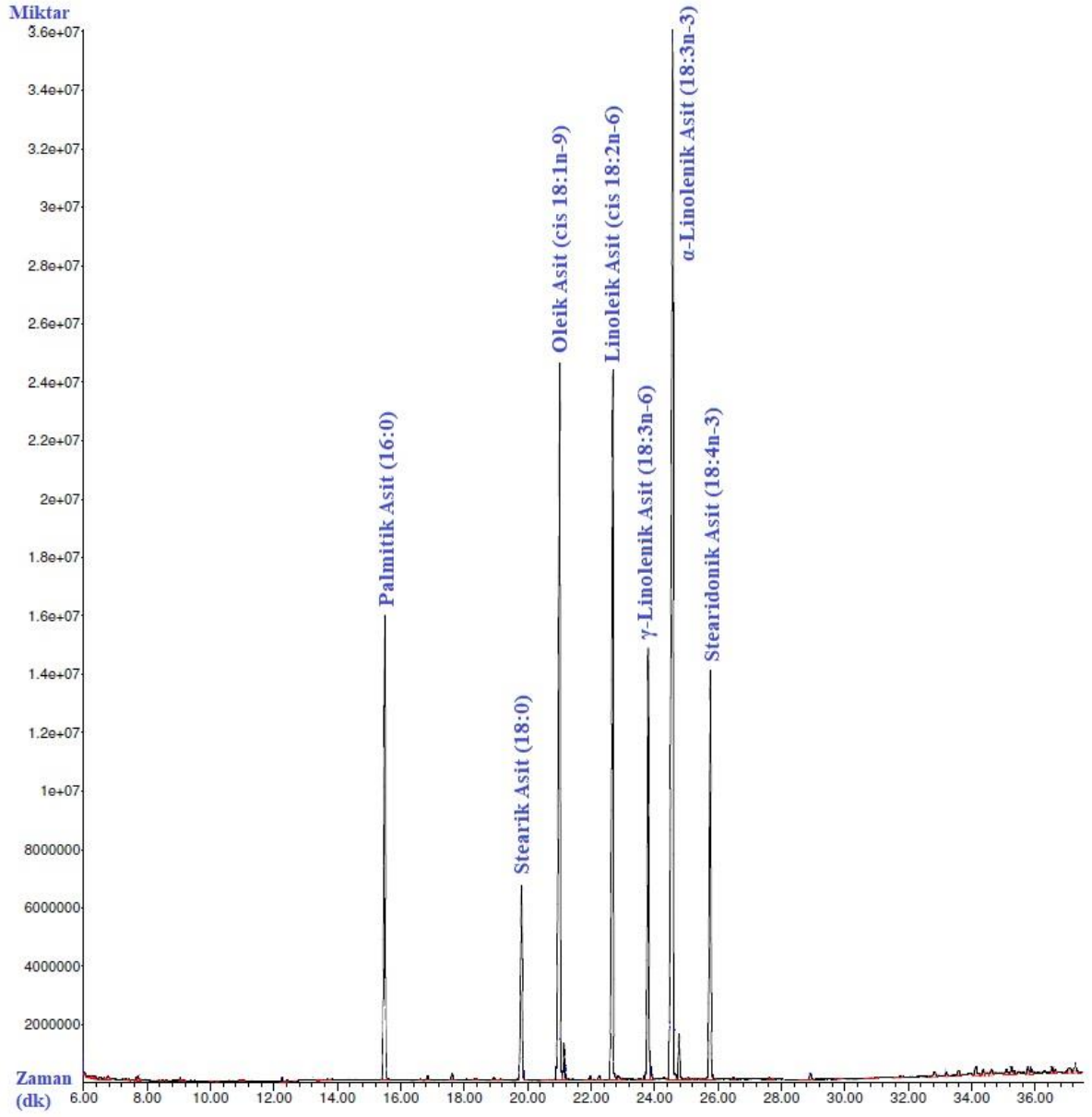
EK 14: FNB 10 numaralı örneğin GC kromatogramı.



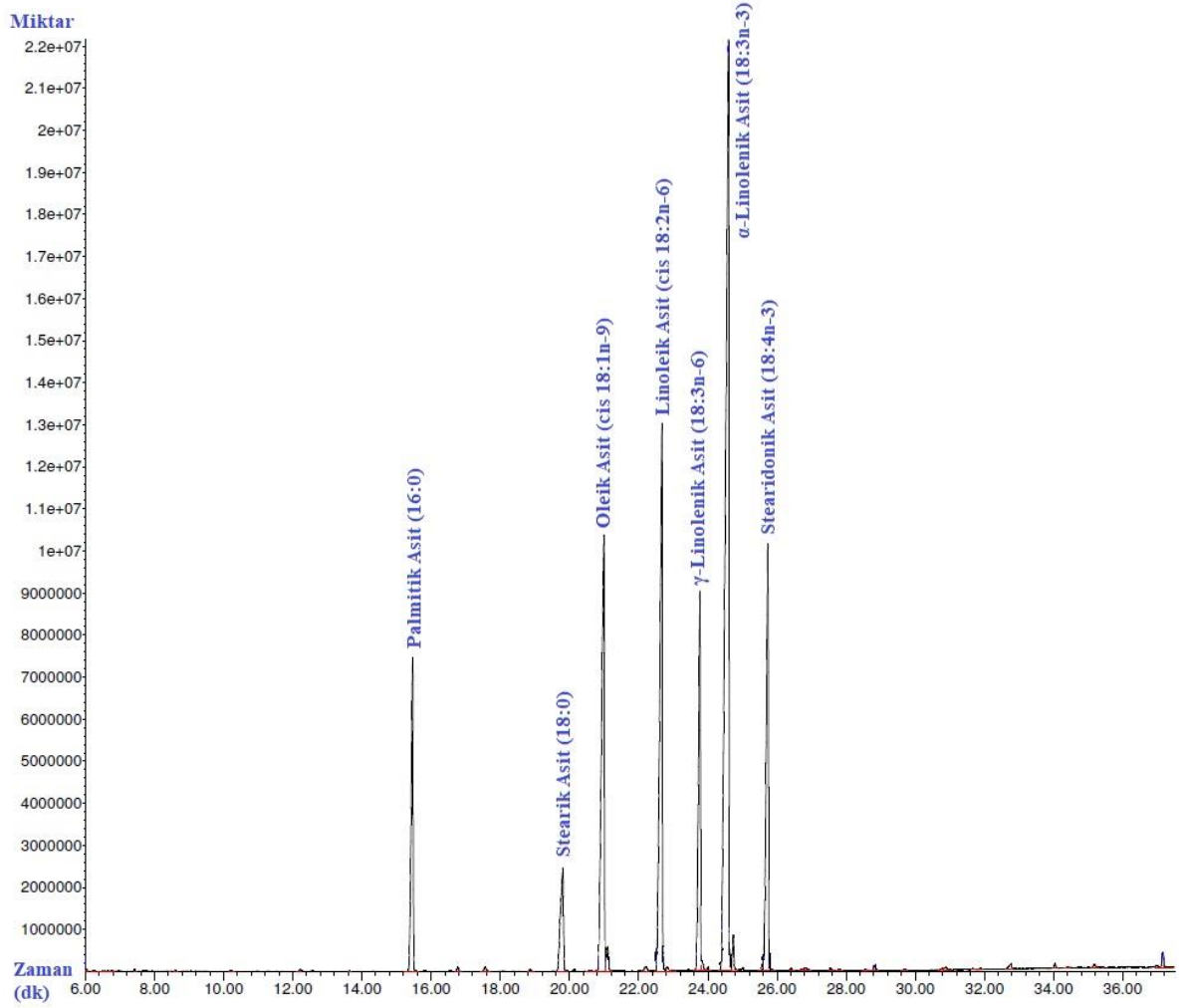
EK 15: FNB 11 numaralı örneğin GC kromatogramı.



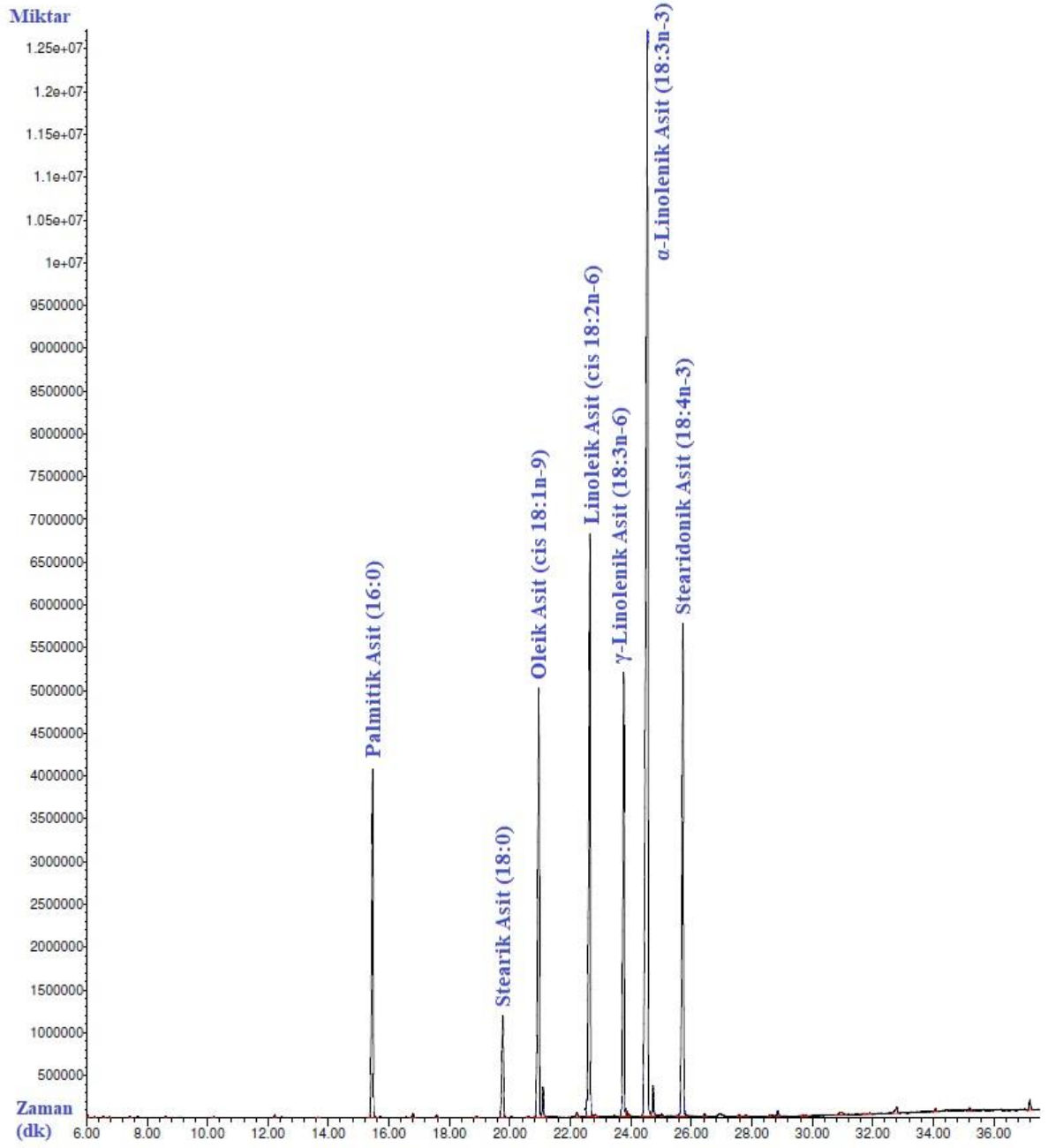
EK 16: FNB 12 numaralı örneğin GC kromatogramı.



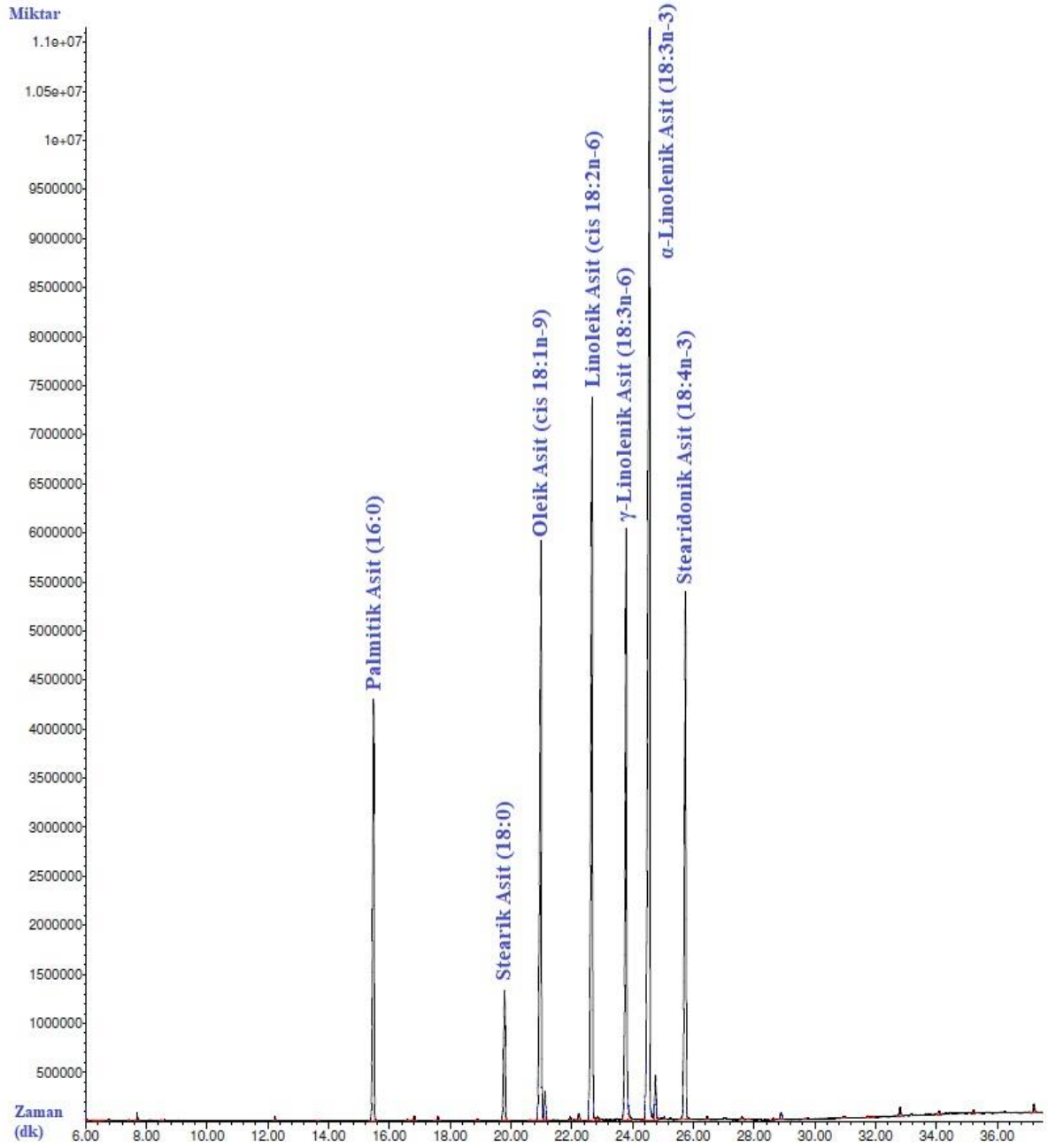
EK 17: FNB 14 numaralı örneğin GC kromatogramı.



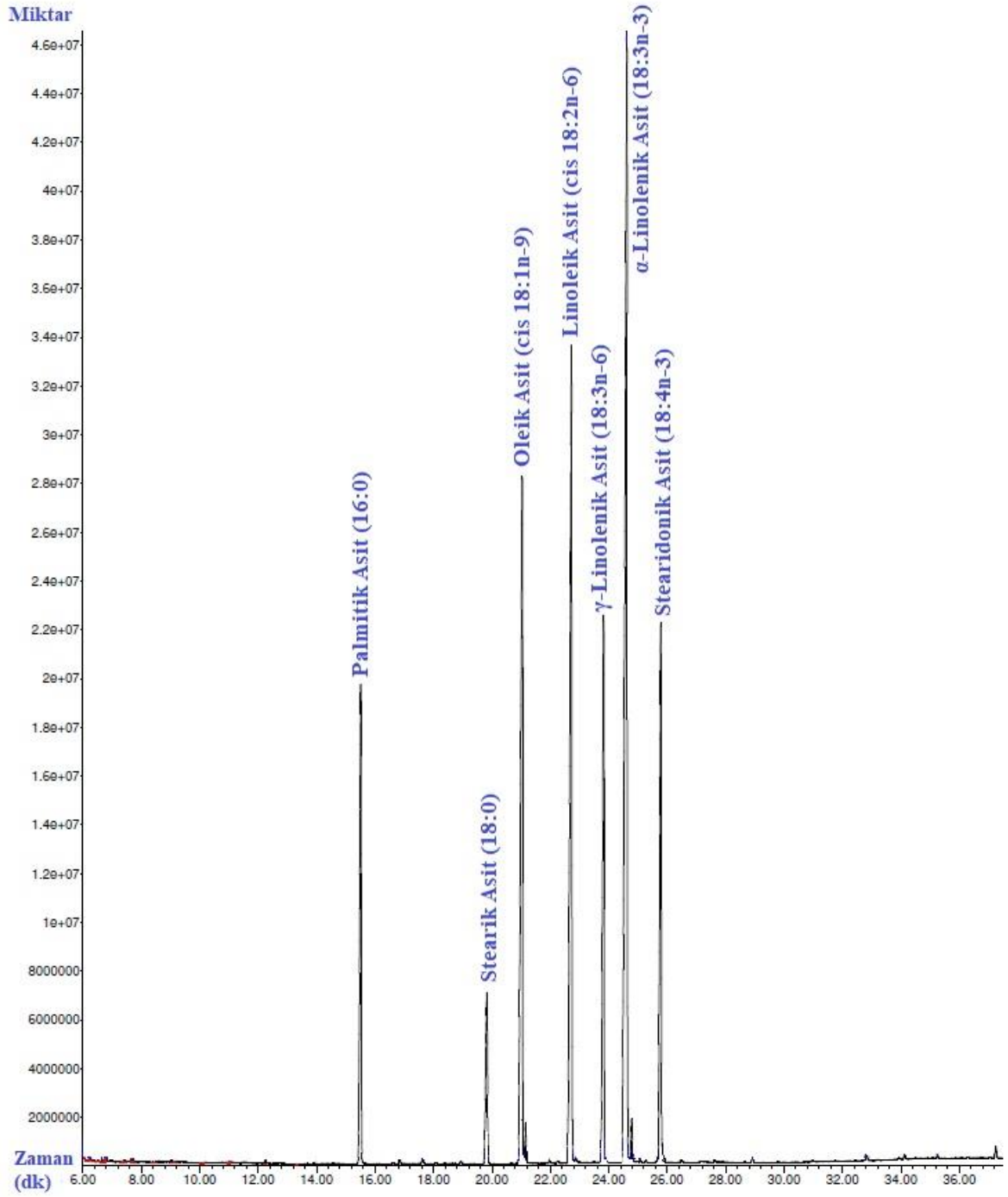
EK 18: FNB 15 numaralı örneğin GC kromatogramı



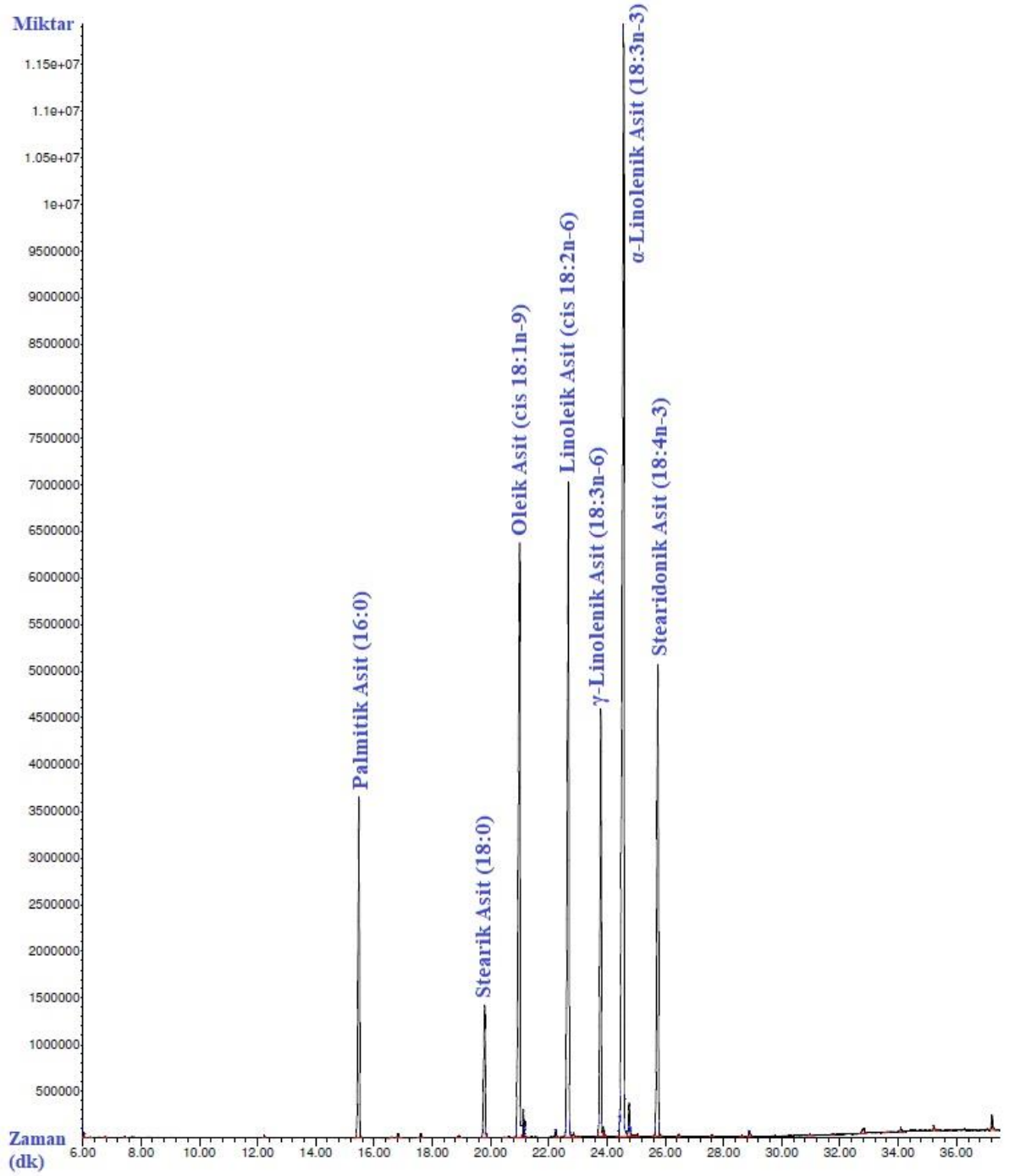
EK 19: FNB 16 numaralı örneğin GC kromatogramı.



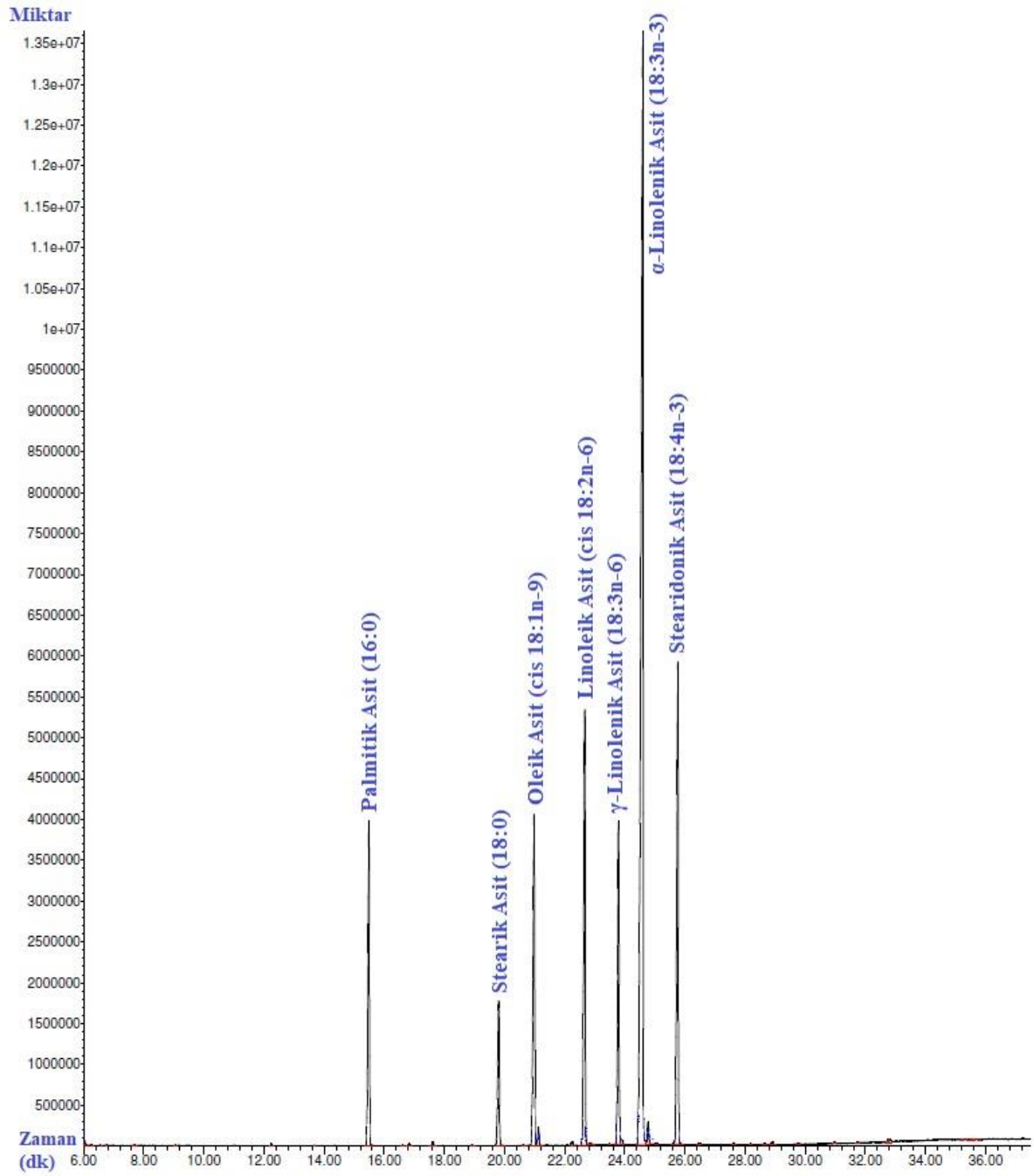
EK 20: FNB 17 numaralı örneğin GC kromatogramı.



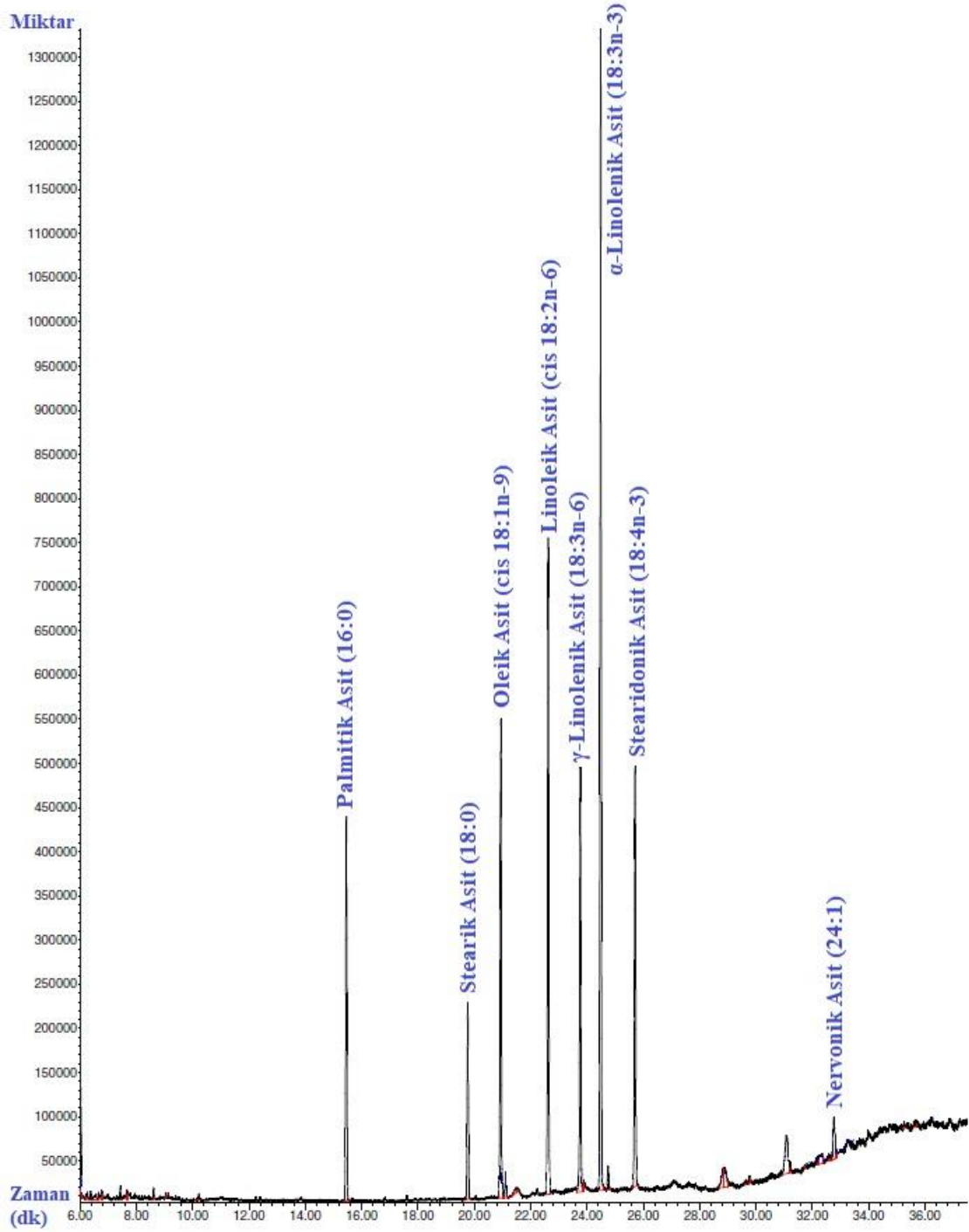
EK 21: FNB 18 numaralı örneğin GC kromatogramı.



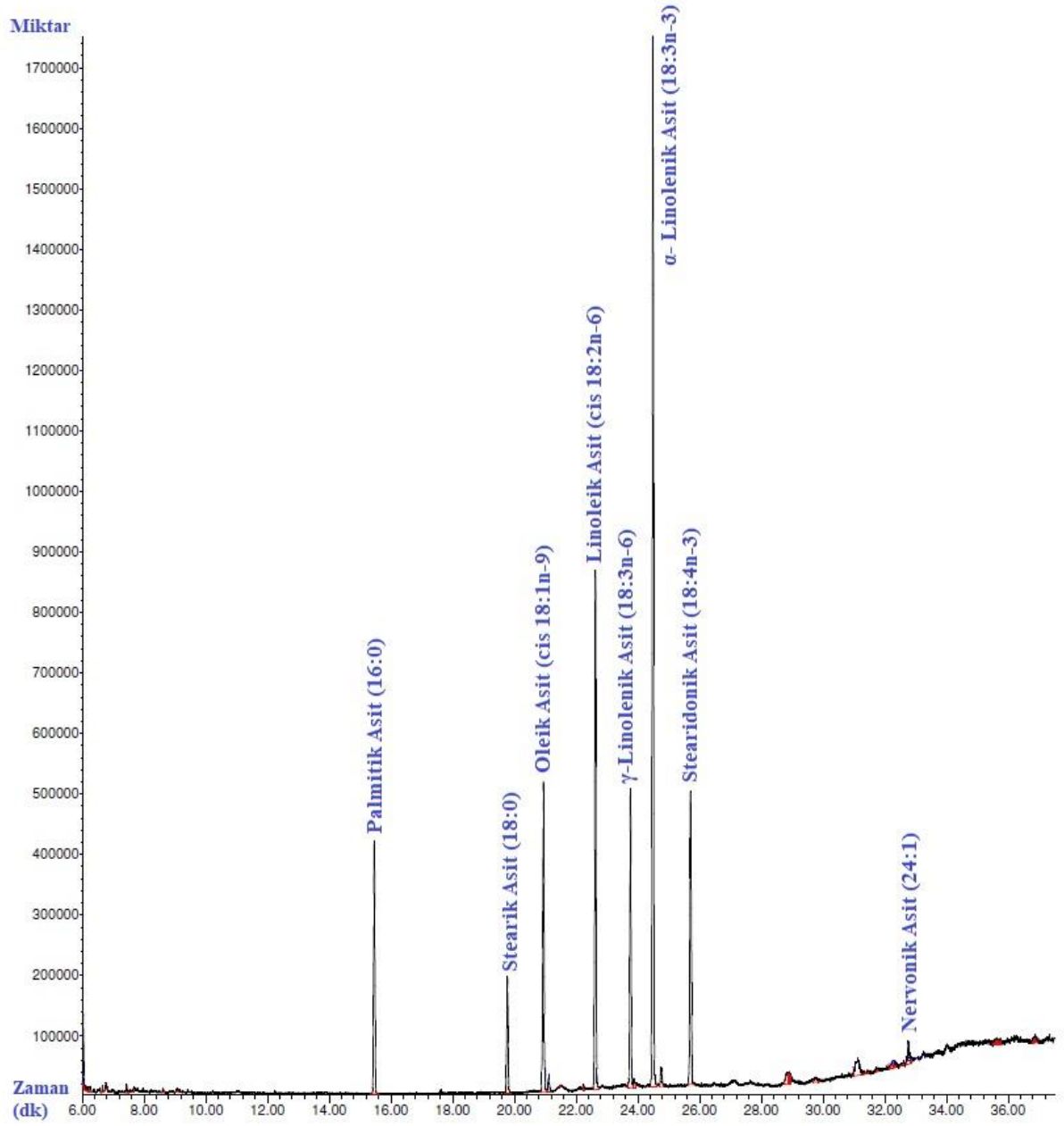
EK 22: FNB 19 numaralı örneğin GC kromatogramı.



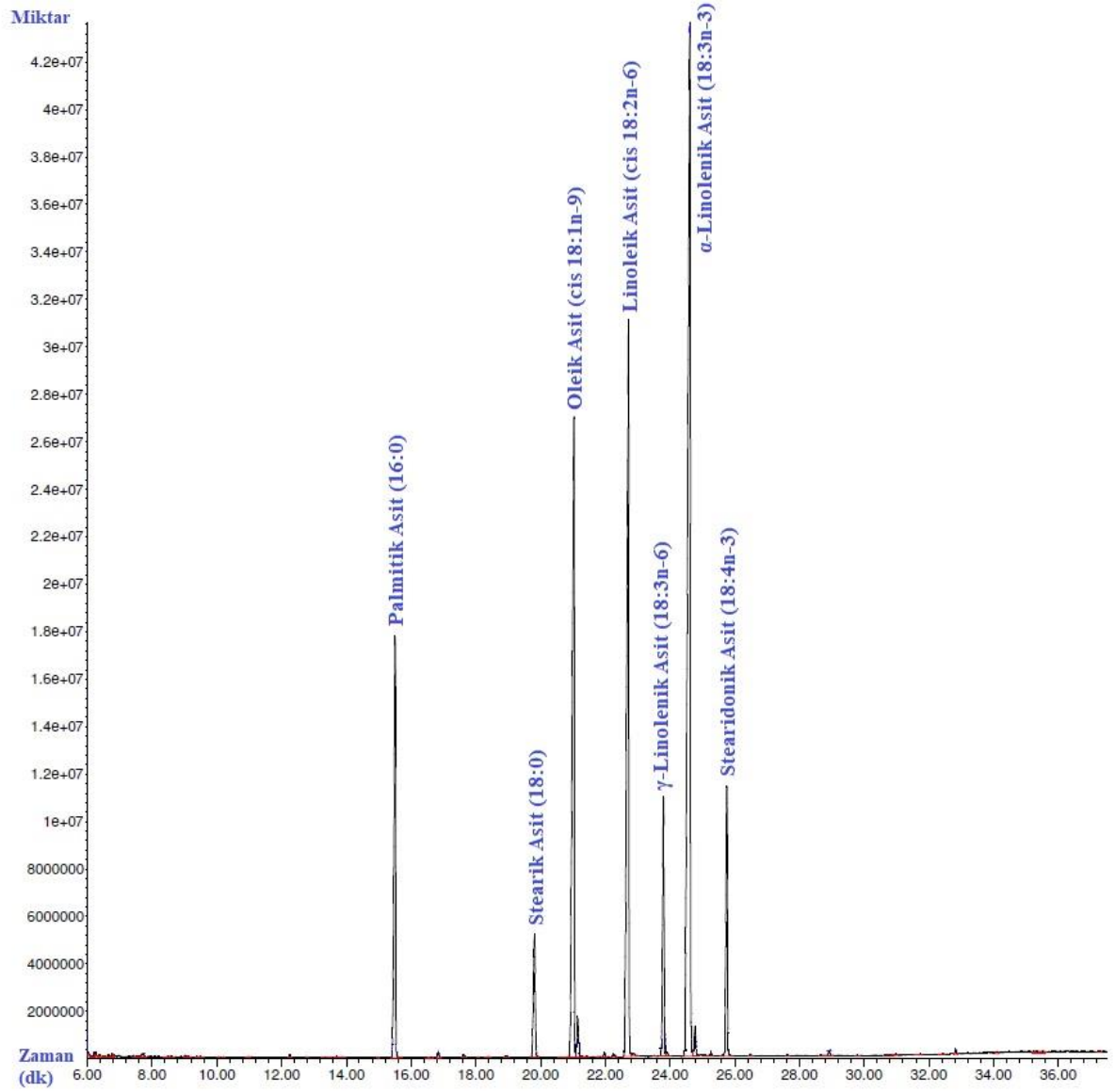
EK 23: FNB 20 numaralı örneğin GC kromatogramı.

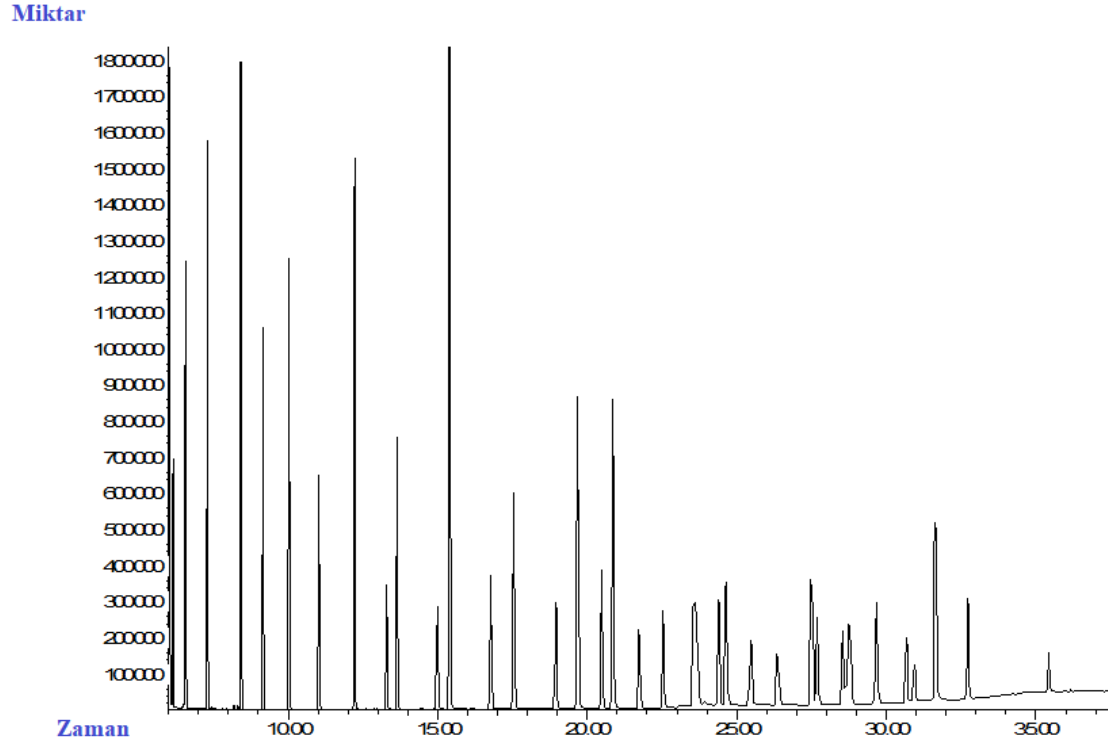


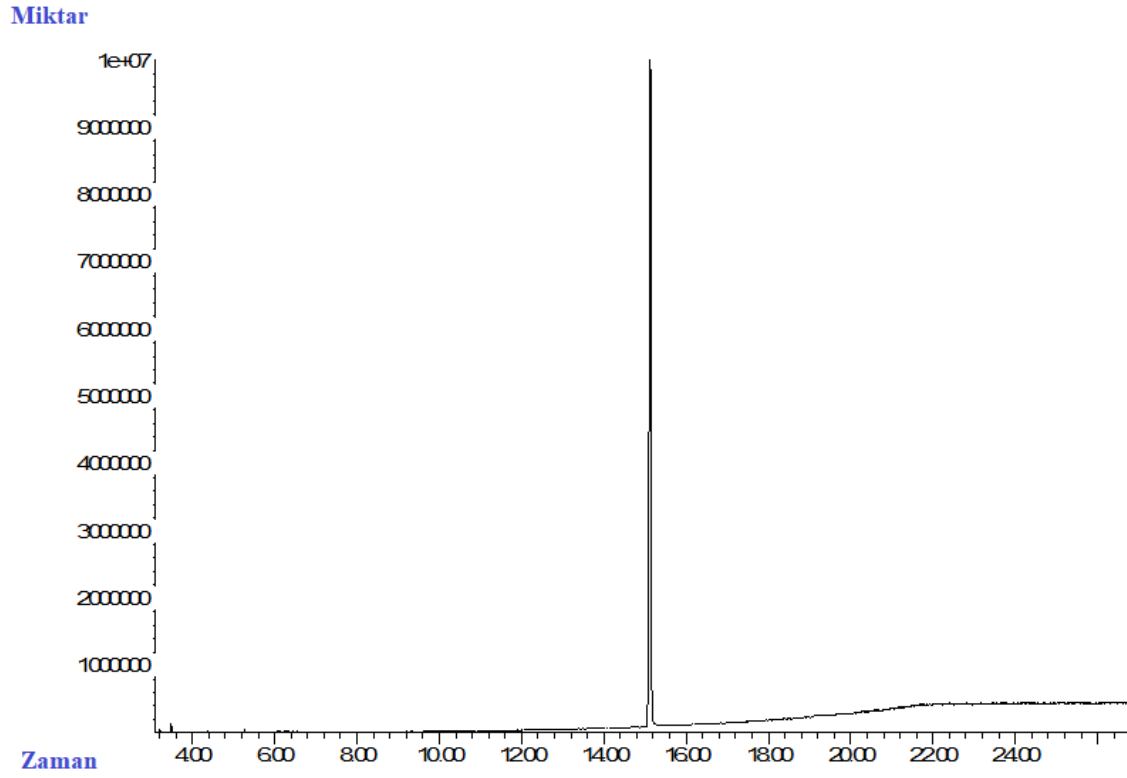
EK 24: FNB 21 numaralı örneğin GC kromatogramı.



EK 25: FNB 23 numaralı örneğin GC kromatogramı.



EK 26: FAME Mix Standartının Kromatogramı

EK 27: SDA Standartının Kromatogramı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı Fatma Nur BAŞTÜRK
Doğum Yeri
Doğum Tarihi
Uyruğu ☒ T.C. ☐ Diğer: Telefon
E-Posta Adresi
Web Adresi

Eğitim Bilgileri

Lisans

Üniversite Hacettepe Üniversitesi
Fakülte Fen Fakültesi
Bölümü Biyoloji
Mezuniyet Yılı Tarih girmek için tıklayın veya dokununuz.

Yüksek Lisans

Üniversite İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı Biyoloji Anabilim Dalı
Programı Botanik Programı