

**FARKLI LOKASYONLARIN VE HASAT DÖNEMLERİNİN BAZI REYHAN
(*Ocimum basilicum* L.) GENOTİPLERİNİN FENOLİK BİLEŞİK İÇERİĞİ VE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ömer Kayır

**Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı**

Prof. Dr. Mahfuz ELMATAŞ

**2014
Her Hakkı Saklıdır**

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Y.LİSANS TEZİ

FARKLI LOKASYONLARIN VE HASAT DÖNEMLERİNİN BAZI REYHAN
(*Ocimum basilicum* L.) GENOTİPLERİNİN FENOLİK BİLEŞİK İÇERİĞİ VE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ömer KAYIR

TOKAT
2014

Her Hakkı Saklıdır

Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ danışmanlığında, Ömer KAYIR tarafından hazırlanan bu çalışma 26 /12 /2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK

İmza : 

Üye: Prof. Dr. Adem ÖNAL

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ

İmza : 

Üye : Prof. Dr. İsa TELCİ

İmza : 

Üye: Prof. Dr. İsa GÖKÇE

İmza : 

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Mehmet Ali SAKIN
Enstitü Müdürü

23. 01. 2015



TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdığı yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Ömer KAYIR



ÖZET

Y. Lisans Tezi

FARKLI LOKASYONLARIN VE HASAT DÖNEMLERİNİN BAZI REYHAN (*Ocimum basilicum* L.) GENOTİPLERİNİN FENOLİK BİLEŞİK İÇERİĞİ VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ömer KAYIR

Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ
İkinci Danışman: Prof. Dr. İsa TELCİ

Reyhan genotiplerinin lokasyonlar arasındaki fenolik bileşik ve antioksidan aktivite içeriklerinin araştırılması amacıyla, Tokat Gaziosmanpaşa, Bursa Uludağ ve Eskişehir Osmangazi Üniversiteleri Ziraat Fakültesi araştırma ve uygulama bahçelerinde yetiştirilen 14 farklı reyhan genotipi çiçeklenme başlangıcı döneminde hasat edilerek analizler yapıldı. Hasat dönemleri arasındaki fenolik bileşikler ve antioksidan aktivite içeriklerinin araştırılması için Bursa Uludağ Üniversitesi'nde 14 farklı reyhan genotipi vejetatif, çiçeklenme başlangıcı ve tam çiçeklenme dönemlerinde hasat edilerek analiz edilmiştir. Reyhan örnekleri içerisinde 9 Fenolik bileşik tespit edilmiş ve fenolik bileşiklerin miktarı 1-26225 (mg/kg kuru doku) arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Reyhan genotiplerinde en yüksek miktarda bulunan fenolik bileşik Rozmarinik Asit (2754-26225 mg/kg kuru doku) olup daha sonra sırasıyla Sisorik Asit (786-3833 mg/kg kuru doku), Rutin (1-3894 mg/kg kuru doku) ve Kafeik asit (19-87 mg/kg kuru doku) gelmektedir. Lokasyonlar arasındaki fenolik bileşiklerin karşılaştırılmasında genotipler arasında tam bir doğrusallık olmamasına karşın, genel olarak rozmarinik asit en yüksek miktarda Tokat ekolojisinde bulunurken kafeik asit ise en yüksek miktarda Bursa ekolojisinde olduğu belirlenmiştir. ABTS, DPPH ve FRAP antioksidan aktivitelerinin lokasyonlar arasındaki dağılımlarına bakıldığında, genel olarak en fazla aktivite Tokat ekolojisinde olduğu ve bunun rozmarinik asitle korale olduğu görülmüştür. Biçim dönemleri arasındaki fenolik bileşiklerin karşılaştırılmasında, R-23, Y-7, Y20 genotipleri dışındaki tüm genotiplerin dönemler arasındaki fenolik bileşiklerin miktarlarının birbirlerine yakın olduğu belirlenmiştir. ABTS, DPPH ve FRAP antioksidan aktivitelerinin biçim dönemleri arasındaki dağılımlarına bakıldığında dönemler arasında önemli farklılıkların bulunmadığı tespit edilmiştir. Antioksidan aktiviteler ile her bir fenolik bileşik arasındaki korelasyon ilişkisi incelendiğinde, Rozmarinik asidin baskın olduğu lokasyon ve dönemlerde Antioksidan aktivitenin yüksek olduğu belirlenmiştir.

2015, 95 sayfa

Anahtar Kelimeler: Reyhan (*Ocimum basilicum* L.), LC-TOF, Antioksidan aktivite, Fenolik bileşikler, Lokasyon, Biçim dönemleri

ABSTARCT

M. Sc. Thesis

EVALUATE THE EFFECTS OF DIFFERENT LOCALITY AND HARVESTING PERIODS ON PHENOLIC COMPOUNDS CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN SOME BASIL (*Ocimum basilicum* L.) GENOTYPES

Ömer KAYIR

University of Gaziosmanpasa
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ
Second Supervisor: Prof. Dr. İsa TELCİ

14 different basil genotypes grown in faculty of agriculture gardens of Tokat-University of Gaziosmanpasa, Eskisehir- University of Osmangazi and Bursa- University of Uludag were analyzed by harvested in beginning of flowering period in order to explore phenolic compounds and antioxidant activity of contents between locations of basil genotypes. 14 different basil genotypes grown in agriculture garden of Bursa- University of Uludag were analyzed by harvested in vegetative, beginning of flowering and full bloom period in order to explore phenolic compounds and antioxidant activity of contents between harvest periods. It was determined 9 phenolic compounds in basil samples and amount of phenolic compounds were observed changing from 1-26225 mg/kg dried basil. As main component in basil samples was found Rosmarinic Acid (2754-26225 mg/kg dried basil), afterwards, it was determined Chicoric acid (786-3833 mg phenolic/ kg dried basil), Rutin (1-3894 mg phenolic/ kg dried basil) and Caffeic acid, respectively. Although there is no exactly linearity compared to phenolic compounds between locations, generally, Caffeic Acid was observed the highest in Bursa location while Rosmarinic acid was observed the highest in Tokat location. When we look at the distribution between locations of ABTS, DPPH and FRAP antioxidant activity, the highest activity has generally in Tokat and this situation show parallelism with the presence of Rosmarinic acid. Compared to phenolic compounds between harvest periods, it was determined that all genotypes except for R-23, Y-7, Y20 genotypes to be close to each other amount of phenolic compounds. There is no significant diversity between locations and harvest periods in other phenolic compound of determined. When we look at the distribution between harvest periods of ABTS, DPPH and FRAP antioxidant activity, it was determined that there are no significant differences. When it is examined correlation between antioxidant activity and phenolic compounds content, antioxidant activity has a maximum value in location and period that dominant of Rosmarinic acid.

2015, 95 pages

Keywords: Basil (*Ocimum basilicum* L.), LC-TOF, Antioxidant activity, Phenolic Compounds, Locations, Harvest Period

ÖNSÖZ

Yüksek lisans süresi boyunca gerek ders aşamasında gerekse tez aşamasında ilgi ve desteğini esirgemeyen, her zaman tecrübeleri ve bilgileriyle bir yol gösterici olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ' a;

Bitkiyi temin etme ve ayrıca onlarla ilgili çalışmalarım konusunda yardımlarını esirgemeyen, her zaman bilgi birikimlerini benimle paylaşan ikinci danışman hocam olan Prof. Dr. İsa TELCİ' ye;

Yüksek lisans ve tez çalışması süresince her zaman yanımda olan, düşüncelerini ve deneyimlerini paylaşan ve yol gösterici olan, Uzman Hüseyin AKŞİT'e, Uzman Nusret GENÇ'e ve Uzman Özkan ŞEN'e;

Fenolik bileşiklerin analizi için çalışma imkânı sağlayan Çankırı Karatekin Üniversitesinde öğretim üyesi olan Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ'a ve bu çalışmalar sırasında yardımlarını esirgemeyen Fatih GÜL ve Ali Rıza TÜFEKÇİ'ye

Ekstraksiyon ve antioksidan çalışmaları esnasında yardımlarını esirgemeyen, Beşir İSNAÇ, Süleyman M. ÇELİK, Bilal MERAL ve Bitki Araştırma Laboratuvarı ekibine;

Bölümümüzün her türlü imkânından faydalanmamı sağlayan Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü yöneticilerine ve manevi desteğini esirgemeyen bütün öğretim elemanlarına;

Bu çalışmamı 111 O 677 proje no ile destekleyen TÜBİTAK'a;

Bugünlere gelmemde çok büyük emeklere sahip olan, maddi-manevi hiçbir konuda desteğini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan değerli Aileme;

Çok teşekkür ederim.

Ömer KAYIR

Ocak 2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTARCT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1. Sekonder Metabolitler ve Fenolik Bileşikler	5
2.2. Fenolik Bileşiklerin Bitkilerdeki Önemi ve Sınıflandırılması	6
2.3. Flavonoidler	7
2.4. Fenolik Asitler	8
2.4.1. Hidroksibenzoik Asitler.....	10
2.4.2. Hidroksisinamik asitler.....	10
2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidan Aktivite.....	11
2.5.1. Serbest Radikaller.....	11
2.5.2. Antioksidan Aktivite	16
2.6. Kaynak Özetleri	20
3. MATERYAL VE METOT	27
3.1. Bitkisel Materyal.....	27
3.1.1. Ekolojik Koşullar.....	27
3.2. Kimyasal Analizler İçin Ekstrelerin Hazırlanması	29
3.3. Antioksidan Aktivite Testleri.....	29
3.3.1. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH [•]).....	30
3.3.2. Katyon Radikali Giderme Aktivitesi (ABTS ^{•+})	30
3.3.3. İndirgeme Gücü Aktivitesi (FRAP).....	31
3.3.4. Ferrik Tiyosiyanat ile Antioksidan Aktivite Analizi	31

3.3.5. Total Fenolik Bileşik Tayini.....	32
3.4. Fenolik Bileşiklerin LC-TOF ile Kalitatif ve Kantitatif Tayini.....	32
3.4.1 Numunelerin hazırlanması:	32
3.4.2. Standart çözeltilerin hazırlanması:	32
3.4.3. Kantitatif analiz:	32
3.5. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistik Analizi.....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. Farklı Lokasyonlardaki Çalışmaların Verileri	36
4.1.1. Farklı Lokasyonların Fenolik Bileşik İçerikleri	36
4.1.2. Farklı Lokasyonların Antioksidan Aktivite İçerikleri	40
4.2. Biçim Dönemi Çalışmalarının Verileri.....	47
4.2.1. Farklı Biçim Dönemlerindeki Fenolik Bileşik İçerikleri.....	47
4.2.2. Farklı Biçim Dönemlerindeki Antioksidan Aktivite İçerikleri	51
4.3. Reyhan Örneklerinin Antioksidan Aktivitesi ile Fenolik bileşik miktarları arasındaki korelasyon ilişkisi.....	58
5. SONUÇ ve TARTIŞMA.....	62
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	79
EKLER.....	80
EK-1 HPLC Analizinde Kullanılan Standartların Kalibrasyon Grafikleri	80

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. Rozmarinik Asit.....	3
Şekil 2. 1. Flavonoid Altsınıflarının Temel Yapıları (Alan Crozier ve ark., 2006).....	8
Şekil 2. 2. Gallik Asit.....	9
Şekil 2. 3. Gallik Asit ve p-hidroksibenzoik Asit	10
Şekil 2. 4. Kafeik Asit ve Ferulik Asit.....	11
Şekil 2. 5. Oksijen Radikallerinin Oluşumu	14
Şekil 2. 6. Fenton ve Haber-Weiss Reaksiyonları	15
Şekil 2. 7. Serbest Radikallerin Giderilmesi	17
Şekil 2. 8. Bazı sentetik antioksidanların açık kimyasal yapıları	19
Şekil 3. 1. Farklı Morfolojik Tiplerde Çiçeklenme (hasat) Dönemine Gelmiş Bitkiler	28
Şekil 3. 2. Fenolik bileşiklerin kantitatif analizlerinin yapıldığı LC-TOF cihazı.....	33
Şekil 3. 3. Standart olarak kullanılan fenolik bileşiklerin LC-TOF kromatogramı	34
Şekil 3. 4. Bir reyhan örneğinin LC-TOF kromatogramı	34
Şekil 4. 1. Rozmarinik Asidin farklı ekolojiler arasındaki değişimi	38
Şekil 4. 2. Sisorik Asidin farklı ekolojiler arasındaki değişimi	39
Şekil 4. 3. Rutin' in farklı ekolojiler arasındaki değişimi	39
Şekil 4. 4. Kafeik Asidin farklı ekolojiler arasındaki değişimi	40
Şekil 4. 5. ABTS' nin ekolojik değişimleri	41
Şekil 4. 6. DPPH' in ekolojik değişimleri	42
Şekil 4. 7. FRAP' in ekolojik değişimleri	42
Şekil 4. 8. Toplam Fenolik' in ekolojik değişimleri	43
Şekil 4. 9. Ekolojiler arasındaki toplam antioksidan aktivitesinin 50. saat ölçüm karşılaştırması	46
Şekil 4. 10. Rozmarinik Asidin biçim dönemleri arasındaki değişimi	49
Şekil 4. 11. Sisorik Asidin biçim dönemleri arasındaki değişimi.....	49
Şekil 4. 12. Rutin' in biçim dönemleri arasındaki değişimi	50
Şekil 4. 13. Kafeik Asidin biçim dönemleri arasındaki değişimi	50
Şekil 4. 14. ABTS' nin biçim dönemi değişimleri	52
Şekil 4. 15. DPPH' in biçim dönemi değişimleri	52
Şekil 4. 16. FRAP' in biçim dönemi değişimleri	53
Şekil 4. 17. Toplam Fenolik' in biçim dönemi değişimleri	54
Şekil 4. 18. Biçim dönemleri arasındaki toplam antioksidan aktivitesinin 50. saat ölçüm karşılaştırması	57
Şekil 4. 19. Rozmarinik Asit ile DPPH aktivitesinin korelasyon ilişkisi	58
Şekil 4. 20. Rozmarinik Asit ile ABTS aktivitesinin korelasyon ilişkisi	59
Şekil 4. 21. Rozmarinik Asit ile FRAP aktivitesinin korelasyon ilişkisi.....	60

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. Fenolik ve polifenolik bileşiklerin yapısal iskeleti.....	6
Çizelge 2. 2. Fenolik Asitlerin Genel Yapısı	9
Çizelge 2. 3. Serbest Radikal Kaynakları	13
Çizelge 2. 4. ROS'un önde gelen radikal ve radikal olmayan örnekleri (Gulcin, 2012)15	
Çizelge 2. 5. Antioksidanların farklı şekillerde sınıflandırılması	18
Çizelge 3. 1. Reyhan Genotipleri ve Klon Kodları	29
Çizelge 3. 2. Mobil Faz Programı	33
Çizelge 3. 3. Standart Fenolik bileşikler ve alıkonma süreleri	35
Çizelge 4. 1. Fenolik bileşiklerin ekolojik olarak değişimi (a,b,c)	37
Çizelge 4. 2. Antioksidan Aktivitelerin ekolojik olarak değişimi	41
Çizelge 4. 3. Toplam Fenolik miktarının ekolojik değişimi	43
Çizelge 4. 4. Ekolojiler arasındaki toplam antioksidan aktivitesinin 50 saat boyunca ölçümlerinin karşılaştırması (a,b,c,d,e)	46
Çizelge 4. 5. Sentetik bileşiklerin toplam antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesi	46
Çizelge 4. 6. Fenolik bileşiklerin biçim dönemlerine göre değişimi (a,b,c).....	48
Çizelge 4. 7. Antioksidan Aktivitelerin dönemsel olarak değişimi	51
Çizelge 4. 8. Toplam Fenolik miktarının dönemsel değişimi.....	54
Çizelge 4. 9. Biçim dönemleri arasındaki toplam antioksidan aktivitesinin 50 saat boyunca ölçümlerinin karşılaştırması (a,b,c,d,e).....	57
Çizelge 4. 10. Reyhan örneklerindeki Fenolik bileşik miktarları ile Antioksidan aktiviteleri arasındaki korelasyon ilişkisi	61

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simge

g	Gram
mg	Miligram
kg	Kilogram
mL	Mililitre
μ L	Mikrolitre
nm	Nanometre
<i>p</i> -	Para konum
<i>o</i> -	Orto konum
°C	Santigrad Derece
%	Yüzde

Açıklama

Kısaltma

HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
LC-TOF	Uçuş zamanlı Sıvı Kromatografisi Kütle Spektroskopisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi
UV-VIS	Ultra Viyole Görünür Bölge
IC 50	Yüzde aktivitenin yarısı kadar aktivite gösteren derişim
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anisol
DNA	Deoksiribonükleik asit
UV	Ultraviyole
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
TBHQ	Tersiyer-Butil Hidrokinon
PG	Propil Gallat
DPPH [•]	2,2-difenil-1-pikril hidrazil radikali
ABTS ^{•+}	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
FRAP	Demir (III) İyonu İndirgenmesine Dayalı Antioksidan Gücü
HeLa	İnsan Servikal Kanser Hücresi
HEp-2	İnsan Laringeal Epitelial Karsinoma Hücresi

Kısaltma	Açıklama
NIH 3T3	Fare Embriyonik Fibroblast
LPx	Lipid Peroksidasyon
LOOH	Lipid hidroperoksit
HOCl	Hipokloröz Asit
$O_2^{\bullet-}$	Süperoksit Anyon Radikali
$OH^{\bullet}$	Hidroksil Radikali
$NO^{\bullet}$	Nitrik Oksit Radikali
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
TEAC	Trolox Equivalent Activity
$FeCl_3$	Demir-III-klorür
$K_3Fe(CN)_6$	Potasyum Ferrik Siyanür
TCA	Tri Kloro Asetik Asit
KH_2PO_4	Monopotasyum Fosfat
Na_2CO_3	Sodyum Karbonat
$K_2S_2O_8$	Potasyum Persülfat
RT	Alıkonma Süresi
FTC	Ferrik Tiyosiyanat
$-CH_3O$	Metoksi
C	Karbon
$H^{\bullet}$	Hidrojen Radikali
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
Et_2O	Dietileter
$CHCl_3$	Triklorometan
EtOAc	Etilasetat
<i>n</i> -BuOH	<i>n</i> -Bütanol
STD Sapma	Standart Sapma

1. GİRİŞ

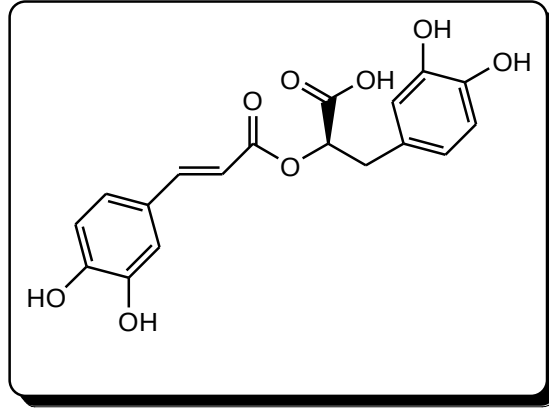
Bitkiler, insanların var olduğu günden bu yana sağlık hizmetlerinde her zaman çok önemli bir yer tutmuştur. İnsanlar eski çağlardan bu yana kendi ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla doğada bulunan hayvan ve bitki kaynaklarını verimli bir şekilde kullanmaya çalışmıştır (Shipman ve ark., 2002). Günümüze baktığımız zaman ise bitkiler, antioksidan aktivite, sindirim uyarıcı, antiemflamatuar, antimikrobiyel, hipolipidemik, antimutajenik etki ve de antikanseronejik potansiyel gibi etkilere sahip olduğundan dolayı tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra beslenme, tatlandırıcı, boyama, içecekler, kovucular, kokular ve kozmetik olmak üzere birçok alanda hâlâ insan yaşamı için önemini korumaktadır (Aaby ve ark., 2004; Luo ve ark., 2004; Djeridane ve ark., 2006). Bitkiler, onları faydalı kılan protein, aminoasit ve vitamin gibi çeşitli bileşenleri içerse de, son zamanlarda araştırmacılar, hastalıkları engellemede önemli rol oynayan sekonder metabolitler üzerinde yoğunlaşmıştır (Arts ve Hollman, 2005). Bitkilerde mevcut olan polifenoller yapı ve genel sınıflandırma bakımından birbirlerinden önemli ölçüde ayrılmaktadır. Polifenoller, çok iyi antioksidan özellik göstermesine ek olarak, radikalleri giderme ve yok etme, nitrik oksitleri düzenleme, lökosit hareketsizliğini azaltma, apoptosisi teşvik etme, hücre çoğalması ve anjiyogenez aktivitesi gösterme gibi etkilere sahiptir. Bu etkiler kanser ve kardiyovasküler hastalıklarda da potansiyel olarak koruyucu etki sağlamaktadırlar (Adlercreutz ve Mazur, 1997; Higdon ve Frei, 2003). Tıbbi bitkilerde önemli bileşikleri taşıyan tür ve genotiplerin belirlenmesi; ticari değeri yanında bilinçli tüketimi de teşvik etmektedir. Günümüzde özellikle belli standartlara uygun ürünlerin yetiştirilmesi, iç ve dış ticarete tıbbi bitkilerin rekabetini artıracaktır. Ayrıca bu bitkilerde sanayi için gerekli etkili maddelerin yüksek olması, ürünlerin birim alandaki katma değerine katkıda bulunacaktır.

Labiatae familyasına ait olan *Ocimum* cinsi; Asya, Afrika ve Güney Afrika'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde dağılım gösteren yıllık ve çok yıllık yumuşak otsu bir bitkidir (Darrah, 1988). Reyhan farklı iklim ve ekolojik koşullarda yetiştirilebilmesine rağmen, en uygun koşul sıcak bir iklime sahip yerlerdir. Reyhan yetiştirmek için temel ekolojik gereksinimler sıcaklık, ışık ve nemdir. Reyhanın don olayına karşı oldukça duyarlı olduğu bilinmektedir.

Reyhanın yetiştiği yerdeki sıcaklık, reyhanın karakteristik özelliğini dolaylı olarak etkilediği rapor edilmiştir (Nykänen, 1986; Hålvä, 1987; Sörensen ve Henriksen, 1992). *Ocimum* taksonomisi, hibridizasyon, ekolojik koşullar ve poliploid cinslerinden dolayı oldukça karmaşıktır. Reyhanın 150'nin üzerinde türün varlığından bahsedilmesine rağmen (Pushpangadan ve Bradu, 1995), 65 türün bulunduğunu ortaya konulmuştur (Paton ve ark., 1999).

Reyhanlar farklı formlarına göre değişik bir çok alanda kullanım özelliklerine sahiptir. Örneğin; reyhanın taze formu soslar, yemekler, salata, turşu, sirke veya baharat olarak kullanılırken, reyhanların uçucu yağları ve yağlı reçineleri şekerleme, unlu mamuller, et ürünleri ve likörler gibi alanlar dâhil olmak üzere gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Reyhanlardan elde edilen uçucu yağların temel tüketim alanı ise parfümeri, sabun, şampuan ve dental (diş ürünleri) sektörüdür. Reyhan yağlarının kimyasal bileşimleri parfümeri sektöründe çok önemlidir. Reyhanlar ayrıca, baş ağrısı, öksürük, ishal, kabızlık, siğiller, solucanlar ve böbrek problemleri gibi çeşitli hastalıklar için tıbbi bir bitki olarak kullanılmış ve böcek kovucu, antibakteriyel, antifungal, antioksidan, stomachicum, gaz giderici ve anti-malaria gibi etkilere sahip olduğu da rapor edilmiştir (Wome, 1982; Giron ve ark., 1991).

Reyhan Türkiye'de doğal olarak yayılış göstermemekte, sadece kültür formlarının tarımı yapılmaktadır (Davis, 1982). Türkiye'de sadece *O. basilicum* L. ve *O. minimum* L. olmak üzere iki türün kültürünün yapıldığı belirtilmiştir. Bazı kaynaklarda *O. minimum*'un *O. basilicumun* bir varyetesi (*O. basilicumun* var. *minimum*) olarak kabul edilse de (Silva ve ark., 2003) son kaynaklarda, *O. minimum* ayrı bir tür olarak yer almaktadır (Grayer ve ark., 1996; Paton ve ark., 1999; Telci ve ark., 2009). Türkiye'de çoğunlukla *O. basilicum* reyhan, *O. minimum* ise fesleğen olarak isimlendirilmektedir. *Ocimum* türlerinde uçucu yağ içeriğinin yetiştirme tekniklerine göre değişimi üzerinde yoğun çalışmalar bulunmasına rağmen fenolik bileşikler üzerindeki çalışmalar sınırlıdır. Literatürde reyhan türlerindeki ana bileşen olan rosmarinik asit miktarındaki değişim sınırları oldukça geniş olduğu görülmüştür. Bu değişim, çevresel faktörler (Rozema ve ark., 1997; OH ve ark., 2009), genetik yapı (Javanmardi ve ark., 2002; Grayer ve ark., 2004) ve yetiştirme yöntemlerine (Nguyen ve Niemeyer, 2008; Nguyen ve ark., 2010) göre değişiklik göstermektedir.



Şekil 1. 1. Rozmarinik Asit

Reyhan bitkisi üzerinde önemli çalışmalar bulunmasına rağmen, bu maddelerin yerel çeşitlerdeki değişiminin araştırılması, yeni kemotipler ile tıbbi ve ticari öneme sahip olanların belirlenmesi önem arz etmektedir. Kültürü yapılan veya doğal yetişen tıbbi bitkilerinde mevcut türler arası ve tür içi varyasyonun uçucu yağ kompozisyonu bakımından yoğun incelenmesine rağmen (Hiltunen ve Holm, 1999; Nacar ve Tansi, 2000; Telci ve ark., 2006), flavonoid ve fenolik asit değişimi üzerindeki çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Bitkilerde primer metabolitlerin (karbonhidrat, protein, yağ vd.) genetik ve çevreye göre değişimi ve de genetik çevre interaksiyonları üzerinde yoğun çalışmalar bulunmasına rağmen, tıbbi bitkilerdeki sekonder metabolitlerin özellikle fenolik asitlerin genotip ve çevreye göre nasıl değiştiği, farklı çevrelerde hangi bileşiklerin değişken hangilerinin sabit olduğu konularında bilgiler yok denecek kadar azdır.

Bitkinin genetik yapısı yanında gün uzunlukları, sıcaklık, gece gündüz sıcaklık farkı, ışık yoğunluğu gibi iklim faktörleri fenolik bileşiklerin miktar ve kompozisyonunu belirlemektedir (Rozema ve ark., 1997; OH ve ark., 2009). Ayrıca bitki gelişme dönemlerinde meydana gelen önemli biyokimyasal değişimlerin bilinmesi hasat zamanları ve hasat sonrası işlemlerin kaliteli ürün elde etmeye göre ayarlanmasını sağlar. Pek çok bitkide, flavonoid ve fenolik asit değişimi çevre, gelişme dönemleri, hasat sonrası işlemlere göre değişimi ile ilgili birçok çalışma bulunmasına rağmen, reyhan bitkisinde bu konu üzerindeki çalışmalara rastlanmamıştır.

Baharat bitkileri ve özellikle bunlardaki etken maddelerin genetik çevre etkileşimleri üzerindeki çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Aromatik bitkilerde verim yanında fizyolojik etkiye sahip biyoaktif bileşiklerin iklim koşullarına göre değişiminin belirlenmesi kaliteli ürün yetiştirmek için önemli bir avantaj sağlayacaktır.

Tıbbi bitkiler ticaretinde rekabet edebilmek için standartlara uygun, kaliteli ürünlerin yetiştirilmesi gerekmektedir. Bu bitkilerde kalite; amaçlanan etkili madde oranlarının yüksek olmasını ifade eder.

Bu nedenle son yıllarda tıbbi bitkilerdeki çalışmalar, doğal ve kültür popülasyonlarının kimyasal bakımından karakterizasyonu ve önemli olanların kültüre kazandırılması üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Bu çalışmada bazı reyhan genotiplerinde ekolojik ve hasat zamanı farklılıklarında antioksidan özelliklerin ve fenolik bileşik kompozisyonlardaki değişimin belirlenmesi sonucunda reyhan genotiplerinin fitokimyasal özellik açısından hangi şartlarda daha uygun olduğu belirlenecek ve bu genotiplerin o uygun şartlarda yetiştirilmesi tavsiye edilecektir. Bu şekilde Türkiye'nin tıbbi ve aromatik bitkiler pazarında daha etkili olmasına katkı sağlayacaktır. Fonksiyonel bileşik ve antioksidan kapasite bakımından önemli bir verim almak adına en uygun şartların belirlenmesi değerli katkılar sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

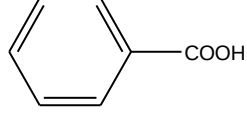
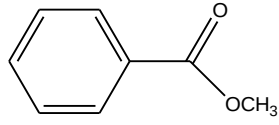
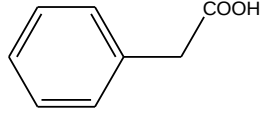
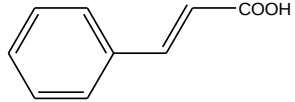
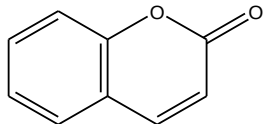
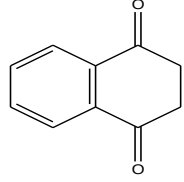
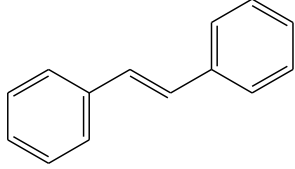
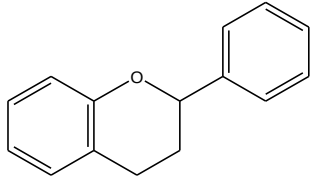
Ocimum türleri içinde *O. basilicum* en fazla ekonomik öneme sahip olup, morfolojik ve kimyasal olarak geniş varyasyon göstermektedir (Darrah, 1974). Ticari öneme sahip reyhan varyetelerini farklı morfolojik gruplara ayırmıştır. Türkiye reyhanlarının morfolojik incelemesinde (Darrah, 1988) tarafından belirtilen morfolojik gruplara ait bitkilere rastlanmıştır (Telci ve ark., 2006). Reyhandaki morfolojik ve kimyasal varyasyon bu türün süs, baharat, bitkisel çay, gıda ve kozmetik gibi geniş alanlarda kullanımına neden olmaktadır. Tıbbi bitkilerde olduğu gibi reyhanın geniş alanlarda kullanımı içerdiği sekonder metabolitlerden (uçucu yağlar, flavonoidler, antosyaninler, fenolik asitler vd.) kaynaklanmaktadır.

2.1. Sekonder Metabolitler ve Fenolik Bileşikler

Bitkiler, primer ve sekonder metabolitler olmak üzere birçok organik molekül sentezlerler. Primer metabolitler, fotosentez, solunum, büyüme ve gelişme ile ilgili temel rolleri sağlayan metabolitlerdir. Bunlar yapısal olarak farklıdır ve çoğu bitki âlemi içerisinde çok sınırlı türler arasında dağılım göstermektedir ve bu sayede kemotaksonomik çalışmalarda tanımlayıcı unsur olabilir. İkincil metabolitler boyalar, elyaflar, yapıştırıcılar, yağlar, mumlar, aroma maddeleri, ilaçlar ve parfümler gibi sektörlerde de kullanıldığından dolayı ilgi çekicidir ve ilaçlar, antibiyotikler, insektisit ve herbisitlerin yeni doğal potansiyel kaynakları olarak ta kullanılmaya başlanmıştır. Son zamanlarda koruyucu diyet bileşenleri gibi bazı sekonder metabolitlerin rolü insan-beslenme araştırma alanında giderek çok önemli bir hale gelmiştir. Kısa süreli iyileşme sağlayan vitaminlerin aksine, sekonder metabolitlerin mütevazı bir şekilde uzun vadeli tüketimi kardiyovasküler ve tip2 diyabet dahil kanser ve bir çok kronik hastalıklara karşı olumlu etkilere sahip olduğunun kanıtları her geçen gün artmaktadır (Croteau ve ark., 2000).

Bitki sekonder metabolitleri kendi kökenine dayanan 3 temel gruba ayrılmaktadır.

1. Flavonoidler ve onların müttefiki olan fenolik ve polifenolik bileşikler
2. Terpenoidler
3. Azot ihtiva eden alkaloidler ve kükürt ihtiva eden bileşikler (Croteau ve ark., 2000)

Karbon Sayısı	İskelet	Sınıflandırma	Örnek	Basit Yapı
7	C6-C1	Fenolik Asit	Gallik Asit	
8	C6-C2	Asetofenon	Gallasetofenon	
8	C6-C2	Fenil asetik Asit	p-hidroksifenil asetik asit	
9	C6-C3	Hidroksisinnamik Asit	p-kumarik Asit	
9	C6-C3	Kumarinler	Eskuletin	
10	C6-C4	Naftakinonlar	Juglon	
14	C6-C2-C6	Stilbenzenler	Resveratrol	
15	C6-C3-C6	Flavonoidler	Naringenin	

Çizelge 2. 1. Fenolik ve polifenolik bileşiklerin yapısal iskeleti (hidroksil grupları gösterilmemiştir)

2.2. Fenolik Bileşiklerin Bitkilerdeki Önemi ve Sınıflandırılması

Fenolik bileşikler, hücre çeperine destek materyali olarak büyük önem taşımaktadır (Wallace ve Fry, 1994; Strack, 1997). Bunlar, lignin gibi özellikle polimerik formda olup hücre duvarı yapısının ayrılmaz bir parçasını oluştururlar.

Flavonoidlerin en önemli özelliği (özellikle flavon ve flavonoller ile birlikte antosiyaninler) ko-pigment olarak görev yaparak bitki ve meyvelere kendi renklerini vermektedir (Harborne, 1993; Strack, 1997). Bu polenleme ve tohumların dağılması için insektisitleri ve kuşları bitkilere çekmek için çok önemlidir.

Flavonoid ve fenolik asitlerin en önemli özelliklerinden birisi de savunma mekanizmalarında rol almasıdır. Aşırı UV ışığı, yaralanma veya enfeksiyon gibi stres koşulları, fenolik bileşiklerin biyosentezini uyardığından dolayı çevresel faktörler bitkide flavonoid ve fenolik asitlerin içeriği ve konsantrasyonunda dikkate değer bir farklılığa sebebiyet vermektedir (Bennett ve Wallsgrove, 1994; Strack, 1997).

Fenolikler en az bir aromatik halka ve bir veya daha fazla hidroksil gurubuna sahip bileşikler olarak tanımlanmaktadır. 8000 den fazla fenolik yapısı rapor edilmiş ve bunlar bitki âlemlerine geniş çapta yayılmıştır. Fenolikler, düşük molekül ağırlığı ve tek aromatik halkalı bileşik olan basit bileşiklerden daha karmaşık olan tannin ve polifenoller aralığına kadar geniş bir yelpazeye sahiptir. Bunlar karbon atomu sayısı ve numarasına göre sınıflandırılabilir ve genel olarak şekerler ve organik asitlerle konjüge halde bulunurlar (Alan Crozier ve ark., 2006).

Polifenolikler **Flavanoid** ve **Fenolik Asitler** olarak iki ana gruba ayrılabilirler.

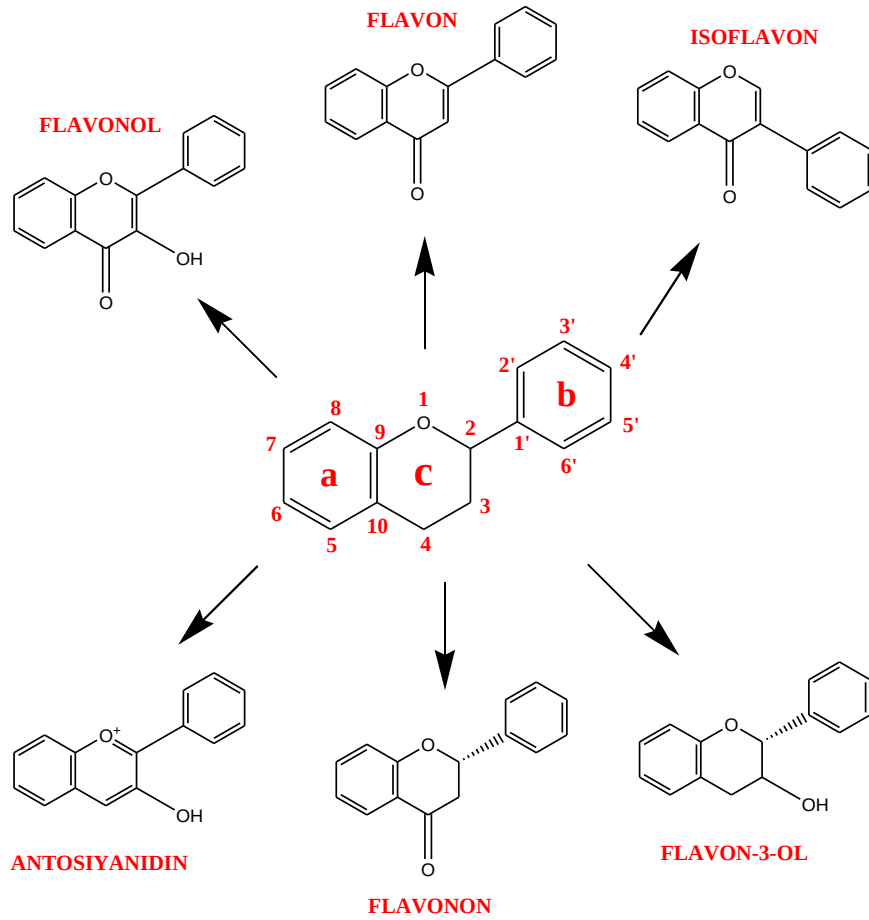
2.3. Flavonoidler

Flavonoidler 3 karbonlu bir köprü tarafından bağlı, 2 aromatik halkalı 15 karbon içeren polifenolik bileşiklerdir. Bunların çoğu fenoliktir ve bitki âlemlerinde bulunmaktadır (Harborne, 1993). Bunlar çeşitli rol ve öneme sahip olan sekonder metabolitler olarak yaprakların epidermis dokusu ve meyvelerin üst kısmında mevcuttur (Koes ve ark., 1994; Pierpoint, 2000).

Temel flavon iskeletleri sayısız süstitüente sahip olabilir. Hidroksil grupları genelde 4, 5 ve 7 pozisyonunda bulunur. Şekerler, glikozitler gibi doğada mevcut flavonoidlerin çoğunluğunda yaygındır. Hem şekerler hem de hidroksil grupları flavonoidlerin sudaki çözünürlüğünü artırırken, metil grupları veya izopentil birimleri gibi diğer süstitüentler flavonoidleri lipofilik yapmaktadır.

Flavonoidlerin temel alt sınıfları;

- ✓ Flavonol
- ✓ Flavon
- ✓ Flavon-3-ol
- ✓ Antosiyanidin
- ✓ Flavonon
- ✓ İzoflavon

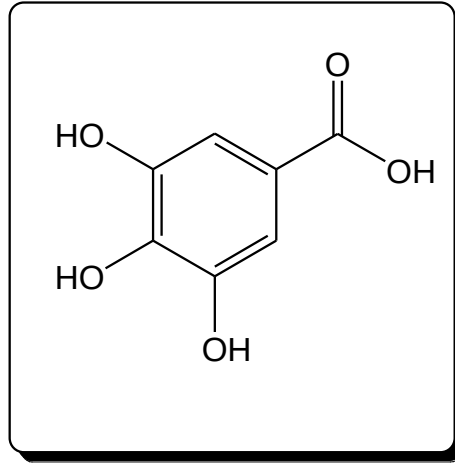


Şekil 2. 1. Flavonoid Alt sınıflarının Temel Yapıları (Alan Crozier ve ark., 2006)

2.4. Fenolik Asitler

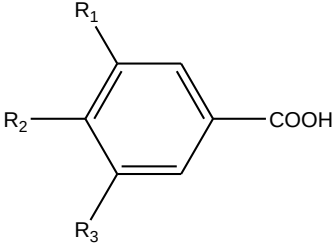
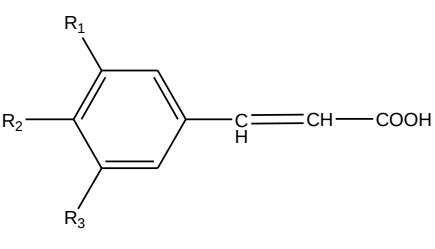
En önemli fenolik asitlerden olan gallik asit, polifenol ailesinin en basit üyesidir. Bitkisel örneklerde özellikle bitkisel çaylarda bol miktarda bulunmaktadır.

Antiseptik, antikanserojen, analjezik etkisinin yanında uyarıcı etki yaptığı da tespit edilmiştir. Şekil 2.2’de gallik asitin molekül yapısı verilmiştir (Pierpoint, 2000).



Şekil 2. 2. Gallik Asit

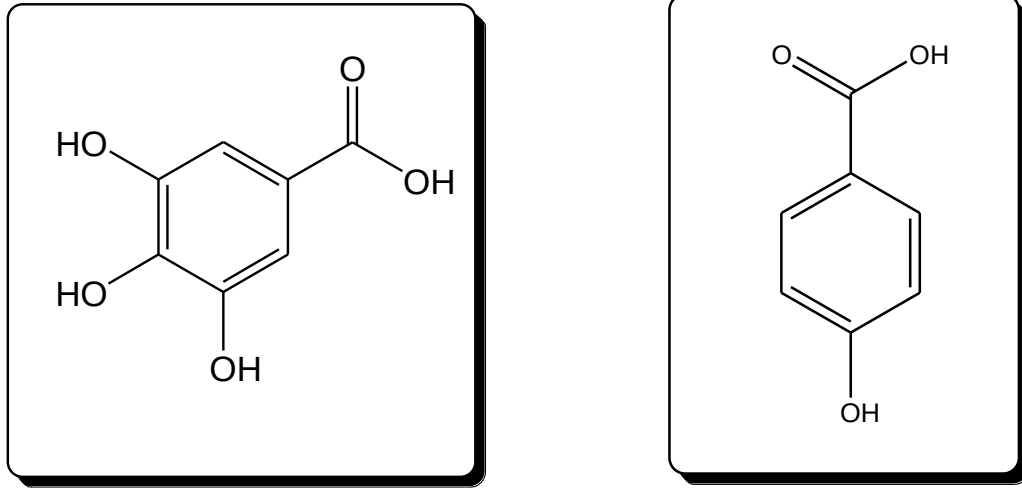
Fenolik Asitler; **Hidroksi benzoik ve Hidroksisinamik asitler** olarak iki gruba ayrılırlar. Bitkilerde büyük bir kısmı organik asitler ve şekerlerle esterleşmiş halde bulunan fenolik asitlerin kimyasal yapıları Çizelge 2.2.'de görülmektedir (Balasundram ve ark., 2006; Saldamlı, 2007).

 Benzoik Asit Türevleri				 Sinamik Asit Türevleri			
Asit	R1	R2	R3	Asit	R1	R2	R3
p-hidroksibenzoik Asit	H	OH	H	p-Kumarik Asit	H	OH	H
Prokateşek Asit	H	OH	OH	Kafeik Asit	H	OH	OH
Vanilik Asit	CH ₃ O	OH	H	Ferulik Asit	CH ₃ O	OH	H
Şiringiç Asit	CH ₃ O	OH	CH ₃ O	Sinamik Asit	CH ₃ O	OH	CH ₃ O
Gallik Asit	OH	OH	OH				

Çizelge 2. 2. Fenolik Asitlerin Genel Yapısı

2.4.1. Hidroksibenzoik Asitler

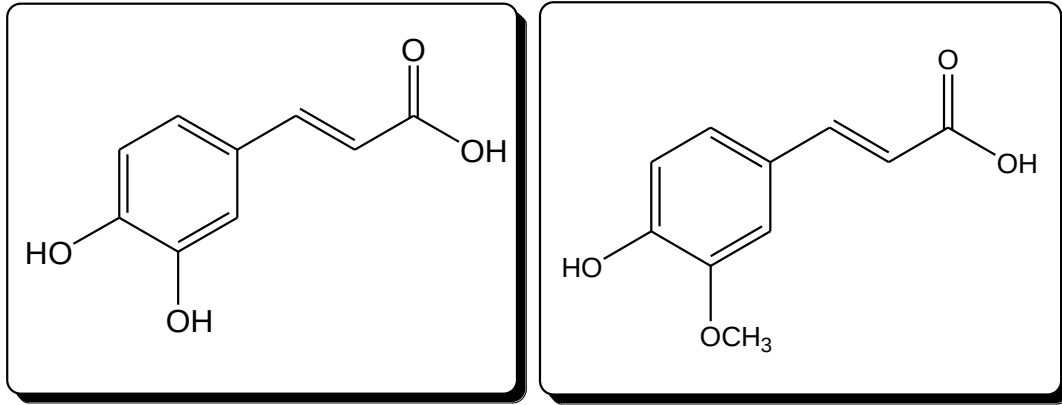
Hidroksibenzoik asitler C_6-C_1 fenilmetan yapısına sahip ve renksiz bileşiklerdir (Maier ve ark., 1990; Cemeroglu ve ark., 2001). Hidroksibenzoik asitler, lignin ve hidrolize edilebilir tanen gibi karmaşık yapıların bileşenidirler. Hidroksibenzoik asitler ayrıca organik asit ya da şeker türevi halinde de bulunabilirler (Schuster ve Herrmann, 1985).



Şekil 2. 3. Gallik Asit ve p-hidroksibenzoik Asit

2.4.2. Hidroksisinamik asitler

Hidroksisinamik asitler, C_3-C_6 yapısına sahip Sinamik asitlerden türetilmektedir ve fenilpropan halkasına bağlanan hidroksil grubunun konumu ve sayısına göre farklı özellik gösterirler. Meyvelerde ve sebzelerde bulunan en yaygın hidroksisinamatlar; p-kumarik, kafeik, ve ferulik asitlerdir (Maier ve ark., 1990; Acar, 1998; Cemeroglu ve ark., 2001).



Şekil 2. 4. Kafeik Asit ve Ferulik Asit

2.5. Serbest Radikaller ve Antioksidan Aktivite

2.5.1. Serbest Radikaller

Dünya üzerinde canlıların büyük çoğunluğu varlıklarını sürdürebilmek için oksijene ihtiyaç duyarlar, oksijenin ise reaktif oksijen türleri üreterek yaşayan organizmalara zarar veren oldukça yüksek reaktifliğe sahip bir molekül olması metabolizmadaki bir tezatlıktır (Sies, 1997).

Bir atomdan diğerine elektronların transfer edilmesine oksidasyon denir. Oksidasyon metabolizmanın ve aerobik yaşamın zorunlu bir parçasını temsil eder. Çünkü oksijen ATP formunda enerji üreten elektron transport zincirinde (ETS) son elektron alıcısıdır (Davies, 1995). Elektron akışı esnasında, ortaklanmamış elektronlar oluşur. Bu elektronlar ise serbest radikaller oluşturarak, organizmada çeşitli hasarlara yol açarlar (Gulcin, 2012).

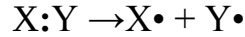
Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Eşleşmemiş elektron bulunması kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırdığı için, radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal türlerdir. Hücrenin tüm bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliğine sahiptirler. Pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötr olabilirler. Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipit peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir (Mercan, 2004; Kopani ve ark., 2006).

Serbest radikaller küçük moleküllerdir, düşük aktivasyon enerjisine sahiptirler ve kısa ömürlüdürler.

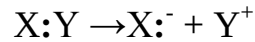
Boyutlarının küçük olması hücre membranlarından kolaylıkla geçmelerine olanak sağlar (Jensen, 2003). Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS) veya diğer serbest radikaller ile antioksidan sistem arasındaki dengenin bozulması sonucunda oluşur. Neticede de bu dengesizlik hücrenin DNA, karbohidrat, membran lipidleri ve protein yapıları gibi en önemli kısımlarında oksidatif hasarlara, yani geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilir (Akkuş, 1995).

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler:

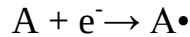
a) Kovalent bağların homolitik kırılması ile: Kovalent bağın kopması sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır.



b) Normal bir molekülden tek bir elektronun ayrılması ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi sonucu kovalent bağı oluşturan her 2 elektronun atomlardan birinde kalması ile;



c) Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesiyle;

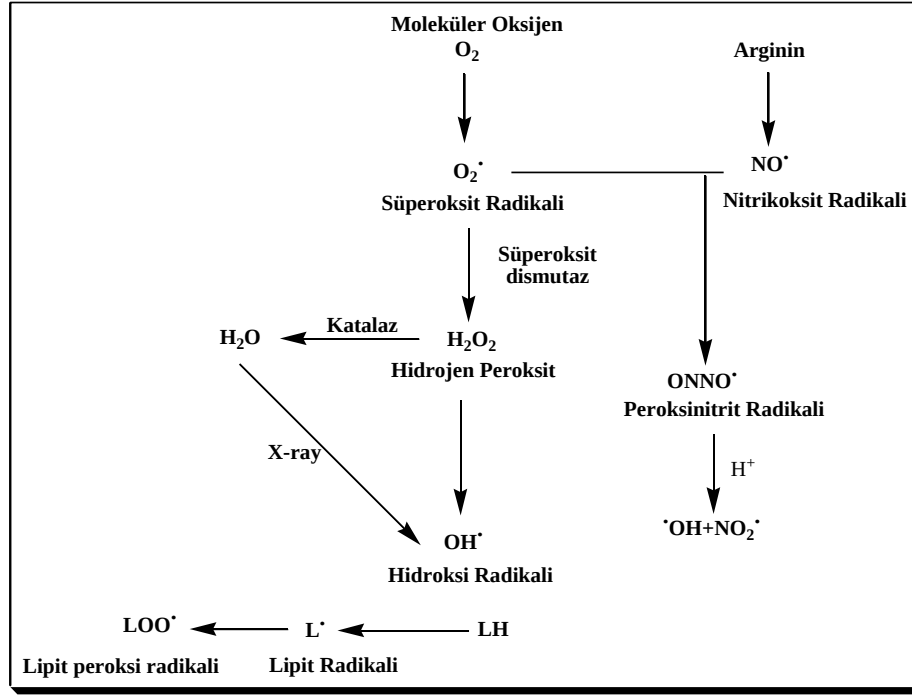


Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijen kaynaklı meydana gelen serbest radikallerdir (Akkuş, 1995). Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşmasına neden olan kaynaklar ikiye ayrılmaktadır. Bunlar çizelge 2.3.'de gösterilmiştir (Akkuş, 1995).

Eksojen Kaynaklar	Endojen Kaynaklar
Organik Çözücüler	Oksijenli Solunum
İlaçlar	Mitokondriyal Elektron Taşıma Zinciri
Anestezikler	Oksidatif Stres
Güneş Işınları (UV)	Araşidonik Asit Metabolizması
Radyasyon (X-Işınları)	Fagositik Hücreler (Nötrofiller, Makrofajlar, Monositler)
Egzoz Gazları	Kronik Hastalıklar
Sigara Dumanı	Oksidan Enzimler
Fazla Yağlı Beslenme	Plazma Membranı
Alkol Tüketimi	Geçiş Metalleri
Pestisidler	Malabsorpsiyon
Ozon	Ağır Egzersizler
Kirleticiler	Otoksidasyon Reaksiyonları

Çizelge 2. 3. Serbest Radikal Kaynakları

Moleküler haldeki oksijenden serbest radikallerinin oluşumu Şekil 2.5.'de gösterilmiştir. Ayrıca bazı enzimatik reaksiyonlar da serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır (Stahl ve Sies, 2002).



Şekil 2. 5. Oksijen Radikallerinin Oluşumu

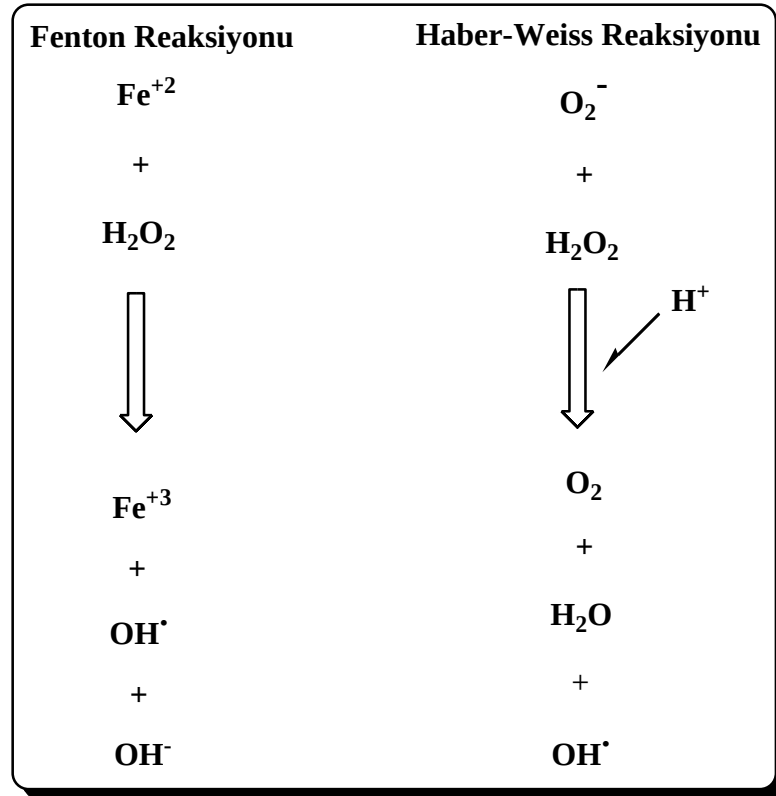
Hücre ve dokuların yapısal bütünlüğünün korunmasında ve normal fonksiyonlarını yerine getirmelerinde oksidan ve antioksidan sistemler arasında bulunan dengenin bozulmaması gerekir. Bu dengenin bozulması durumunda serbest radikaller oluşur ve metabolizmadaki lipid, protein, nükleik asit ve karbonhidrat gibi biyomoleküllerin oksidatif hasarına sebep olurlar (Gulcin ve ark., 2003; Serafini ve Del Rio, 2004). Serbest radikallerin hücre ve dokularda sebep olduğu bu hasarlar şöyle sıralanabilir (Halliwell ve Cross, 1991; Kehre ve Smith, 1994).

- ✓ DNA' nın mutasyonu ve hasarı
- ✓ Nükleotit yapılı ko-enzimlerin yıkımı
- ✓ Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler
- ✓ Mukopolisakkaritlerin yıkımı
- ✓ Proteinlerde yapısal hasarların oluşumu
- ✓ Lipit peroksidasyonu ve buna bağlı membran yapısının bozulması
- ✓ Membran proteinlerinde hasar ve membran transport sistemlerinin bozulması
- ✓ Steroit ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi (Gulcin, 2012)

RADİKAL	NON-RADİKAL
Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil Radikali ($OH^{\cdot}$)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Hidroperoksil Radikali ($H_2O^{\cdot}$)	Hipokloröz Asit (HOCl)
	Singlet Oksijen($^1O_2$)

Çizelge 2. 4. ROS'un önde gelen radikal ve radikal olmayan örnekleri (Gulcin, 2012)

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe^{2+} veya diğer geçiş metallerinin varlığında **Fenton reaksiyonu** sonucu, süperoksit radikalinin ($O_2^{\cdot-}$) varlığında ise **Haber-Weiss reaksiyonu** sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) oluşturur. Fenton reaksiyonunun hızı ortalama 4000 kat daha fazladır (Halliwell ve Cross, 1991).



Şekil 2. 6. Fenton ve Haber-Weiss Reaksiyonları

2.5.2. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar, aerobik canlılarda radikalik zincir reaksiyonlarının yayılmasını veya başlamasını önleyerek diğer moleküllerin oksidasyonlarını geciktiren veya durduran biyoaktif bileşikler veya sistemler olarak tanımlanır (Velioğlu ve ark., 1998). Antioksidanlar insan vücudunu serbest radikallere ve ROS'ne karşı koruma sağlar (Lai ve ark., 2001; Gulcin ve ark., 2004; Gulcin, 2006).

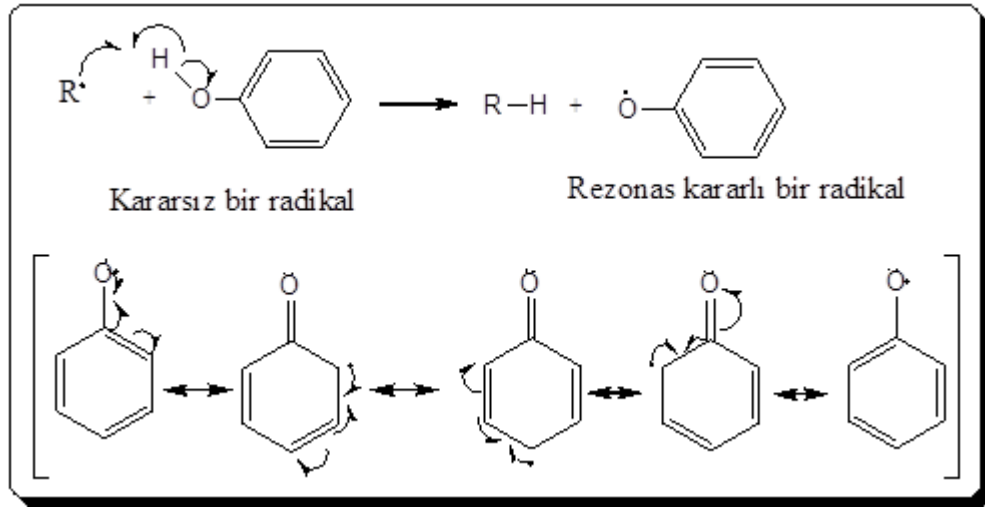
Biyolojik olarak ise antioksidan madde, havanın oksijeni ile bozulan ürünlere ilave edilerek bu bozulmayı engelleyen veya geciktiren sentetik ya da doğal madde olarak tanımlanmaktadır.

Biyolojik sistemlerde antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin varlığı yaşam için temel bir ihtiyaçtır. Antimutajenik, antikarsinojenik, antiaging gibi pek çok biyolojik fonksiyonun antioksidanlardan kaynaklandığı bilinmektedir (Cook ve Samman, 1996). Normal bir hücrede uygun bir pro-oksidan ve antioksidan dengesi vardır. Ancak bu denge esnasında antioksidanların seviyesi azaldığında ya da radikal oksijen türlerinin üretimi arttığında denge pro-oksidanlar lehine değişir. Bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır (Gulcin, 2012).

Oksidatif stres; yapısı değişmiş antioksidan enzimler veya toksinler tarafından antioksidan bileşenlerin konsantrasyonu azaltılarak oluşur veya kronik enflamasyon sonucunda aktifleşen fagositlerin sebep olduğu oksijen, azot veya karbon temelli reaktif türlerin hasarı sonucu meydana gelir (Somogyi ve ark., 2007; Gulcin, 2012).

Doğal bitkisel kaynaklardan oluşan çoğu antioksidan bileşikler, serbest radikal veya aktif oksijen tutucular olarak tespit edilmiştir Yenilebilir/yenilemez bitki türlerinin içerisinde bulunan fenolik asitler, flavanoidler, antosiyaninler, taninler, lignanlar ve kateşinler antioksidan aktiviteye sahip bileşikler olarak rapor edilmiştir (Yen ve Chen, 1995).

Fenollerin serbest radikal mekanizmasında genel olarak incelendiğinde; kararsız serbest radikal fenol ile tepkimeye girip hidrojen ile bağ yapar. Serbest radikal kararlı bir yapı oluşturur. Fenol grubu rezonans kararlı bir radikal oluşturur. Bu sayede serbest radikali zararsız hale getirir. Şekil 2.7 'de mekanizma gösterilmiştir.



Şekil 2. 7. Serbest Radikallerin Giderilmesi

Serbest radikallerin oluşumunu ve zararlı etkilerini engellemek için antioksidan savunma sistemleri başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler (Young ve Woodside, 2001; Sözmen, 2002; Taysi ve ark., 2002; Cherubini ve ark., 2005; Telci ve ark., 2006).

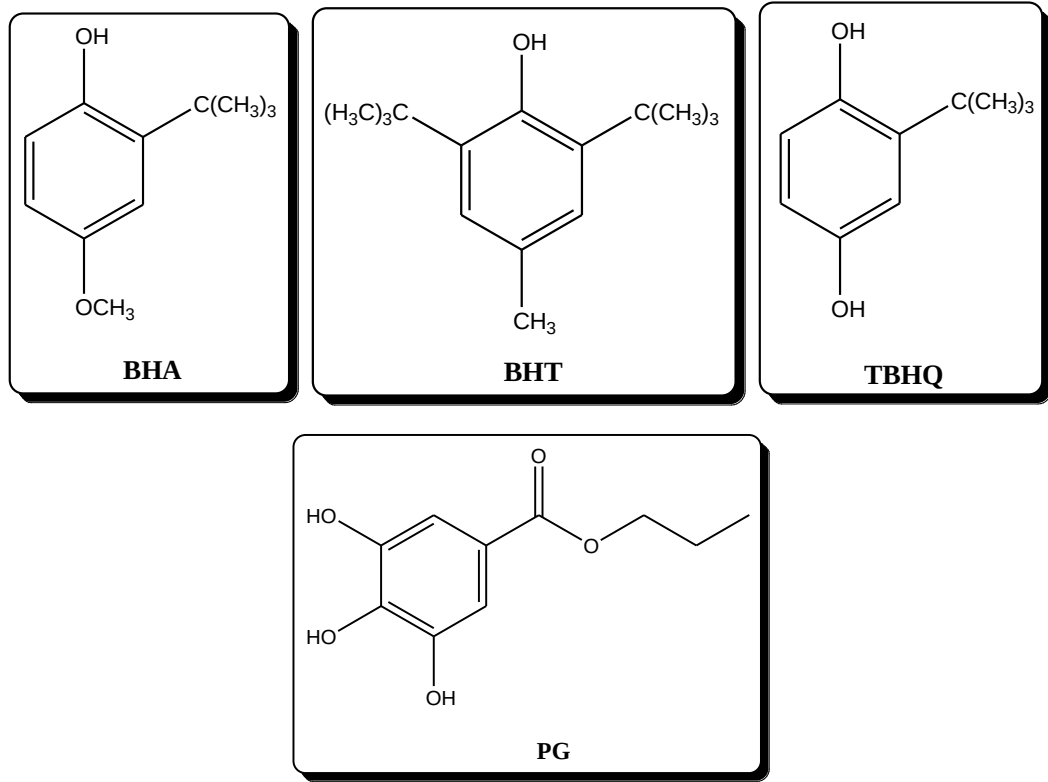
1. Giderme (scavenging) etkisi: Enzimler tarafından oksidan molekülleri zayıf hale getirilip oksijen ile reaksiyona girerek oksijen konsantrasyonunu azaltırlar.
2. Söndürme (quenching) etkisi: Antioksidanlar oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive ederler. Vitaminler ve flavanoitler bu şekilde etki eder.
3. Zincir kırma (chain breaking) etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır.
4. Onarma (repair) etkisi: Oksidatif olarak hasar görmüş biyomolekölü onararak etkisizleştirirler.

Antioksidanlar vücutta sentezlenebildiği gibi diyet ile dışarıdan da alınabilirler. Canlılarda antioksidan savunma sistemi iki ana gruba ayrılır. Bunlar; metabolizmada üretilen (endojen) ve dışarıdan diyet ile alınan (ekzojen) antioksidan sistemleridir. Endojen antioksidanlar küçük molekül yapısına sahip basit bileşikler olabildiği gibi karmaşık yapıdaki enzimler halinde de olabilirler (Bursal, 2012).

ANTIÖKSİDANLAR			
Endojen Antioksidanlar		Eksojen Antioksidanlar	
<i>Enzimler</i>	<i>Küçük Moleküller</i>	<i>Sentetik</i>	<i>Doğal</i>
Katalaz	Askorbik Asit	BHA	Tokoferoller
Peroksidaz	Glutasyon	BHT	Karotenler
Süperoksit dismutaz	Melatonin	TBHQ	Fenoller
Glutasyon peroksidaz	Serotonin	Propilgallat	Flavonlar
Glutasyon redüktaz	Adrenalin	Troloks	Kateşinler

Çizelge 2. 5. Antioksidanların farklı şekillerde sınıflandırılması

Antioksidanlar, gıda endüstrisinde ürünlerin kalitesini korumak ve besin değerlerini muhafaza etmek amacıyla sonradan da ilave edilebildikleri gibi, besin maddelerinde doğal olarak da bulunurlar. Bunlar besinlerin tatlarının acılaşmasını, ekşimesini ve kokularının bozulmasını geciktirici özelliğe sahip bir grup kimyasal madde olup özellikle yağlarda, havadaki oksijenin sebep olduğu otooksidasyonu yavaşlatmak için kullanılmaktadırlar. Böylelikle yağların tadını, kokusunu, rengini yani kalitesini ve raf ömrünü uzatırlar. Ortamda pek az miktarda bulunsalar bile etkin olan maddelerdir. Şu anda, en yaygın kullanılan antioksidanlar bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propilgallat (PG) ve tersiyerbütıl hidrokinondur (TBHQ) (Türk Gıda Kodeksi, 2008). Bir antioksidanın, besin maddelerinde kullanılmadan önce sağlığa zararı olmadığı kesin olarak saptanmalıdır (Efsa, 2012). Bu bağlamda, BHA ve BHT'nin toksik ve kanserojen etkileri nedeniyle kullanımı yasal olarak kısıtlanmıştır (Gulcin, 2012).



Şekil 2. 8. Bazı sentetik antioksidanların açık kimyasal yapıları

Doğal antioksidanlar bitkilerin yaprak, gövde ve tohumları başta olmak üzere bütün dokularında bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar, sebze ve meyve bakımından zengin bir beslenmenin hastalıklara yakalanma, kalp-damar hastalıkları, bazı kanser türleri, diyabet, Alzheimer hastalığı ve katarakt riskini kayda değer bir şekilde azalttığını göstermiştir (Ak ve Gulcin, 2008; Gulcin, 2012).

Doğal antioksidanlar en çok yeşil sebzelerde (Gulcin ve ark., 2004; Gulcin, 2007), tohumlarda (Gulcin ve ark., 2005; Gulcin, 2007), baklagiller ve meyvelerde, A vitamini, C vitamini, E vitamini ve bazı B vitamini içeren besinlerde bulunur (Gulcin ve ark., 2005). Ayrıca sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde ve köklerde bol miktarda bulunmaktadır (Pratt ve Hudson, 1990; Gulcin ve ark., 2003; Gulcin, 2007). Başlıca doğal antioksidanlar; flavonoid türevleri, kumarinler, tokoferoller, askorbik asit ve fenolik maddelerdir (Gulcin, 2012).

Sentetik antioksidanların zararlı etkilerinin olduğu şüphelerini göz önüne alırsak, Doğal antioksidanların ne kadar önemli olduğu aşîkârdır. Bu nedenle doğal antioksidan üzerine yapılan çalışmalar tüm hızıyla devam etmektedir.

2.6. Kaynak Özetleri

Lamiaceae familyasına mensup tıbbi bir bitki olan *Ocimum L.* özellikle fenolik asitler olmak üzere zengin polifenolik bileşiklere sahiptir (Zgorka ve Glowniak, 2001; Capecka ve ark., 2005). Polifenoller bitkilerde farklı fonksiyon ve yapılaraya sahip sekonder metabolitlerdir (Crozier ve ark., 2006) ve antioksidan özelliğe sahip oldukları bilinmektedir (Rice-Evans ve ark., 1997). Son zamanlarda yapılan araştırmalar, polifenollerce zengin bitkilerin, bazı kanser türleri ve kardiovasküler hastalıkların oluşumuna karşı koruyucu etkiye sahip olabildiğini göstermişlerdir (Gross, 2004; Neuhouser, 2004).

Reyhanda fenolik asit kompozisyonu ile ilgili çalışmalar özetlendiğinde; güçlü antioksidan etkiye sahip rozmarinik asidin en fazla bulunan fenolik asit olduğu belirlenmiştir. Rozmarinik asit daha çok *Lamiaceae* familyası türlerinde bulunan önemli bir antioksidan kaynağıdır. Literatürde reyhan türlerinde rozmarinik asit miktarındaki değişim sınırları oldukça geniş olduğu görülmüştür. Bu değişim, çevresel faktörler (Rozema ve ark., 1997; OH ve ark., 2009), genetik yapı (Javanmardi ve ark., 2002; Grayer ve ark., 2004) ve yetiştirme yöntemlerine (Nguyen ve Niemeyer, 2008; Nguyen ve ark., 2010) göre değişiklik gösterdiği rapor edilmiştir. (Lee, 2010) reyhandaki rozmarinik asit miktarının 40.63 mg/100 g olduğunu; (Lee ve Scagel, 2010) ise 138.6 mg/100 g (taze örnekte)’a kadar çıktığını belirtmiştir.

Bitkisel çay ve baharat olarak kullanılan 10 farklı *Lamiaceae* türünün fenolik asitler bakımından karşılaştırıldığı çalışmada; reyhanda bulunan rozmarinik asit miktarının *Satureja horsensis*’ten sonra ikinci sırada yer aldığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada, literatürde rozmarinik asit miktarının en fazla bulunduğu bilinen oğul otu (*Melissa officinalis L.*) ve biberiyeden (*Rosmarinus officinalis L.*) daha fazla bulunduğu belirlenmiştir (Zgorka ve Glowniak, 2001).

Reyhanda rozmarinik asit dışında; gallik asit, kafeik asit, klorojenik asit, protokateşuik asit, 4-hidroksibenzoik asit tanımlanan diğer fenolik asitlerdir (Hiltunen, 1999). Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Ocimum* türleri için yeni fenolik asitler tanımlanmaktadır. (Lee ve Scagel, 2010) yaptıkları çalışmada; rozmarinik asitten sonra en fazla bulunan fenolik asidin sisorik asit olduğu belirlenmiştir.

(Javanmardi ve ark., 2002)'nın İran reyhanı yerel çeşitlerin fenolik asit bakımından incelediği çalışmada; rozmarinik asit ana bileşik olmasına rağmen, genotipler arasında fenolik asit kompozisyonu bakımından önemli varyasyonun bulunduğunu açıklamışlardır. Bu çalışmadan anlaşılabileceği gibi, verim ve morfolojik özellikler yanında kimyasal varyasyonun bilinmesi kullanım amaçlarına göre daha kaliteli bitkilerin yetiştirilmesine neden olacaktır. Türkiye'de bulunan reyhan genotipleri üzerinde böyle bir çalışmanın bulunmaması tıbbi önemi yüksek daha kaliteli çeşit adaylarının seçimini zorlaştırmaktadır.

(Lee ve Scagel, 2010)'in reyhanda fenolik asitlerden sisirik asidin ilk kez belirlendiği çalışmada; tatlı reyhan ve Thai reyhan varyeteleri arasında rozmarinik asit bakımından değerler bir birine yakın olurken (112 ve 128 mg/100g) sisirik asit bakımından önemli farklılıklar (58 ve 88 mg/100g) bulunmuştur. 21 reyhan örneğinde fenolik asitler bakımından belirgin farklılıkların bulunduğunu belirtilmiştir (Javanmardi ve ark., 2002).

Yüksek fenolik içerikli bitkileri, 4 hafta boyunca 30 °C de sıcaklıkta sabit tutarak, çözülebilir fenoliklerin, fenollerin, rozmarinik asit biyosentezinin ve antioksidan kapasitesinin sıcaklık stresiyle meydana gelebilecek değişimleri araştırılmıştır. Isı stresinin toplam fenolik asit ve çözülebilir fenol içeriğinde bir azalmaya sebep olduğunu ve buna bağlı olarak toplam antioksidan aktivitesinde ilk haftadan (%21–60) 4. haftaya (%95) kadar belirgin bir azalış olduğunu görmüşlerdir. HPLC ile bütün bitkilerin rozmarinik içeriğinin hemen hemen tamamen kaybolduğunu tespit etmişlerdir. Isı stresi olmadan yüksek sıcaklıklarda bitkinin kurutulması da aynı sonucu gösterdiğini fakat düşük sıcaklıklarda kurutulup da sonra yüksek sıcaklıklara maruz kalan türlerde bir değişiklik gözlenmediğini ortaya koymuşlardır. Bu sonuç ile ısı stresinin rozmarinik asit biyosentezini olumsuz yönde etkilediğini ve dokulardaki rozmarinik asit biyosentezinin hızlı bir şekilde bozulmasına sebep olduğunu göstermişlerdir (Kott ve ark., 2005).

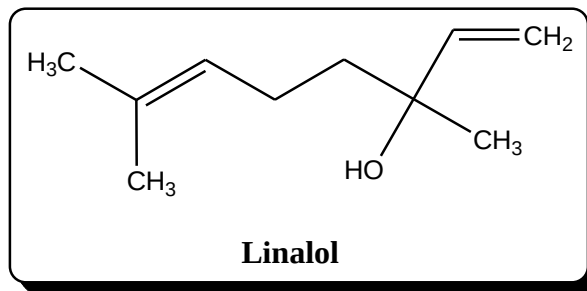
(Kaurinovic ve ark., 2011), *Ocimum basilicum* L. ve *Origanum vulgare* L. örneklerine, beş farklı ekstraksiyon işlemi uygulanarak (Et₂O, CHCl₃, EtOAc, *n*-BuOH ve H₂O) antioksidan özelliklerini incelemişlerdir.

Altı farklı antioksidan testi yapılmıştır. DPPH, OH, $O_2^{\cdot-}$, NO ve H_2O_2 radikal giderme testleri yapılmış ve bunlara ek olarak TBA yöntemi kullanılarak lipozomlarda (LPx) lipid peroksidasyon koruma etkisi incelenmiştir. Ayrıca toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarları da belirlenmiştir. *O. basilicum* ve *O. Vulgare* örneklerinin EtOAc, *n*-BuOH ve H_2O ekstraktlarının çok yüksek radikal giderme aktivitesi gösterdiği, ayrıca önemli derecede LPx inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Diğer yandan, Et_2O ve $CHCl_3$ ekstraktlarının DPPH, $O_2^{\cdot-}$, NO ve H_2O_2 nötralizasyonunda çok daha düşük etkiye sahip olduğunu görmüşlerdir. OH radikallerinin oluşumu ve LPx inhibisyonu incelendiği zaman Et_2O ve $CHCl_3$ ekstraktlarının düşük prooksidatif özelliğe sahip olduğu tespit etmişlerdir. Antioksidan aktivitelerindeki gözlenen farklılıklar kısmen, incelenen *O. basilicum* ve *O. Vulgare* ekstraktlarındaki flavonoid ve fenolik seviyesiyle açıklanabileceği belirtilmiştir.

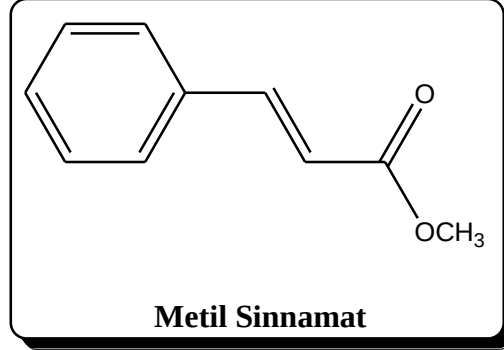
Reyhan (*Ocimum Basilicum* L.)’ da uçucu yağ kompozisyonu ile ilgili çalışmalar incelendiğinde ise;

Araştırmalar reyhan türleri içerisinde uçucu yağ kompozisyonu bakımından oldukça farklı kemotiplerin bulunduğunu göstermiştir. (Vernin ve Metzger, 1984) ile (Simon ve ark., 1999) reyhanları uçucu yağ kompozisyonu bakımından 4 farklı grupta özetlemişlerdir. Bunlar:

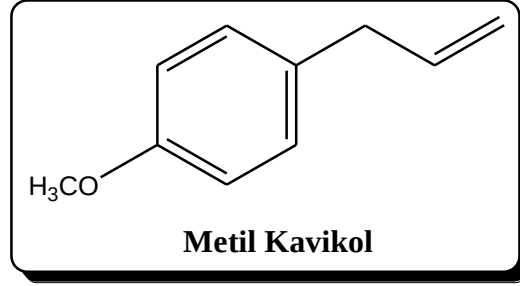
1. Linalol: Avrupa ülkelerindeki (İtalya, Fransa, Bulgaristan) reyhanlar ile Mısır ve Güney Afrika orijinli reyhanlar linaloolca zengindir. Avrupa kemotipleri olarak da bilinir.



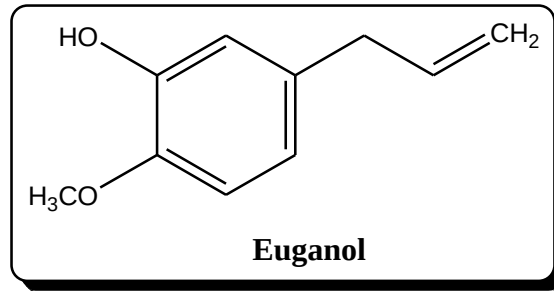
2. Metil sinnamat: Tropik bölgelerdeki (Hindistan, Guatemala) reyhanlar bu gruba dahildir. Bu nedenle tropik bölge kemotipleri olarak gruplandırılmıştır.



3. Metil kavikol (Reunion kemotipler) Tayland, Madagaskar ve Vietnam orijinli reyhanlar bu gruba dahildir.



4. Eugenol: Bu kemotiplere Rusya ve Kuzey Afrika orijinli reyhanlarda rastlanmıştır.



Son yıllarda yapılan çalışmalarda reyhan uçucu yağında yeni kemotiplere rastlanmıştır (Telci ve ark., 2006). Türkiye’den toplanan popülasyonlarda 7 farklı kemotipin (linalol, metil sinnamate, metil sinnamate/linalol, metil eugenol, sitral, metil kavikol ve metil kavikol/sitral) bulunduğunu ve bunlardan metil kavikol/sitral’ın Türkiye’ye ait yeni bir kemotip olduğu belirlenmiştir.

Reyhanların uçucu yağları ile yapılan bazı çalışmalar ise,

(Kathirvel ve Ravi, 2012), Güney Hindistan'ın batı Ghtas bölgesinde yetiştirdikleri *Ocimum Basilicum*'un taze yapraklarından elde ettiği uçucu yağları GC-MS ile analiz ederek 11 adet bileşik belirlemişlerdir. Ana bileşen olarak metil sinnamat (70,1%) olmak üzere linalol (17,5%), beta elemen (2,6%) ve kamfor (1,52%) bileşiklerini tespit etmişlerdir. Bir metiltiazol tetrazolyum deneyi, insan servikal kanser hücre çizgisi (HeLa), insan laringeal epitelial karsinoma hücre çizgisi (HEp-2) ve NIH 3T3 fare embriyonik fibroblastlara karşı sitotoksity taraması için yapmış ve IC 50 değerlerini sırasıyla 90,5- 96,3 g/mL olarak bulmuştur. Sonuçların bu reyhanın türünün sitotoksik potansiyele sahip olduğunu belirlemiştir.

(Tarakemeh ve Abutalebi, 2012), Reyhan (*Ocimum Basilicum*) üzerinde yaptıkları çalışmada ise, en yüksek uçucu yağ verimini elde etmek amacıyla en iyi kurutma metodunu belirlemeyi amaçlamışlardır. Bu nedenle çiçeklenmeden önce hasat ettikleri bu bitkileri üç farklı kurutma metoduyla kurutmuşlardır (güneşte kurutma- gölgede kurutma- 45°C lik bir fırında kurutma). Uçucu yağları Clevenger aparatı yoluyla ekstrakte etmiş ve ölçmüşlerdir. Sonuçlar kurutma metotları arasında önemli farklılıklar olduğunu göstermiş ve en yüksek yağ miktarını gölgede kurutma metoduyla elde etmişlerdir.

Ocimum Basilicum L. üzerinde ekolojik ve hasat dönemi çalışmaları mevcut değildir. Fakat farklı ticari öneme sahip bitkiler üzerinde yapılan bazı çalışmalar ekolojik ve hasat dönemleri çalışmalarının önemini ortaya koymaktadır.

(Telci ve ark., 2011), Nane (*Mentha piperita* L.) bitkisi üzerine yapmış olduğu bir çalışmada, iki tane nane klonunun (klon 3 - klon 8) nitelikli özelliklerini ve verimini belirlemek için saha denemeleri 2007 ve 2008 yıllarında Türkiye' de dört farklı lokasyonda (Aydın, Bursa, İzmir ve Tokat) yürütmüştür. Sıcak iklime sahip lokasyonlar (Aydın 37,0 t/ha ve İzmir 36,8 t/ha) daha yüksek taze bitki verimi verdiğini tespit etmiştir. Gölgede yetiştirilen bitkiler maksimum taze bitki verimine sahip olsa da, toprağa yakın yerlerdeki yaprakların dökülmesinden dolayı kurumuş yaprak verimini düşürdüğünü vurgulamıştır.

Farklı ekolojilerde, ana bileşenler olan mentol ve menton belirgin varyasyon gösterdiğini beyan etmiş ve Mentol içeriği ılıman lokasyonlarda (Tokat ve Bursa) daha yüksekken menton içeriğinin daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Klon 3' ün yağ bileşenindeki farklılıklar, farklı iklimlere göre Klon 8 e ait olanından daha düşük olduğunu görmüştür. Bu nedenle Klon 3, Klon 8 ile kıyaslandığında yağ bileşenleri için çeşitli ekolojik şartlarda geniş ölçüde yetiştirilebileceği belirlemişlerdir. Ayrıca sıcak bölgelerin yüksek mentol içerikli nane yağı üretimi için daha uygun olduğu ortaya koymuşlardır.

Baharat ve uçucu yağ üretimi için önemli aromatik bitkilerden biri Nane (*Mentha spicata* L.) üzerine (Telci ve ark., 2010)'nın yapmış olduğu başka bir çalışmada; Yeni Türk pulegon-piperiton'un zengin kemotipinde çevre değişimi belirlemek için tarla denemeleri yapılmıştır. Bu nedenle bu kemotipler Türkiye'nin 4 farklı yerine nakletmişlerdir. Uçucu yağ bileşimi GC-MS ile belirlenmiş ve araştırmaların sonucu olarak; bitkinin kemotipindeki uçucu yağ içeriği % 2,41 ve % 2,74 arasında olduğu belirlenmiştir. Ana bileşenleri, pulegon ve piperiton dahil olmak üzere oksijenli monoterpenler, uçucu yağın en önemli terpenoid gruplarından olduğu tespit edilmiştir. Lokasyonların farklı çevresel faktörleri kantitatif yağ kompozisyonları etkilemiş olduğunu tespit etmişler. Sonuç olarak, monoterpen hidrokarbonların (d-limonene ve β -phellandrene) ılıman iklimlerde daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Öte yandan uçucu yağda trans- β -caryophyllene, germacrene-D ve büyük seski terpen hidrokarbonlar sıcak iklim bölgelerinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ana bileşen pulegon, piperiton ve diğer oksijenli monoterpen 1,8-sineol de farklı ekolojilerde önemli değişim gözlenmiştir.

Yeşil kişniş bitkisi Türkiye'nin doğusunda popülerdir. Taze bitkinin verimi küçük kişniş meyvesinin bitkisel kısmında, uçucu yağ içeriği ve uçucu yağ bileşimi farklı olgunlaşma dönemlerinde hasat edilerek incelenmiştir. Deneysel lokasyon Türkiye'nin kuzey Anadolu bölgesi ve Tokat'ta yapılmıştır. Uçucu yağ kompozisyonu GC/MS ile belirlenmiştir. Taze bitki verimi her iki olgunlaşma sezonunda da çiçeklenme aşamasında düzenli olarak arttığı belirlenmiştir. Yaz sezonunda (ilkbahar ekim) kuru madde verimi bahar mevsimine (sonbahar ekim) göre daha kısa bir bitkisel dönem sonucunda daha düşük olduğu ortaya konulmuştur. Uçucu yağ içeriği erken büyüme dönemlerinde düşük ve sonraki dönemlerde düzenli olarak artış göstermiştir.

Bitki yağının ana bileşenlerinin, (E)-2-dekenal ve alifatik aldehit dekanal olduğu görülmüştür. (E)-2-dekenal erken büyüme aşamalarına göre ön çiçeklenme dönemi ve tam çiçeklenme aşamasında daha yüksek oranlarda olduğu gözlemlenmiştir.

Büyüme mevsimi göz önüne alındığında, yaz sezonunda büyüyen bitkilerde (E)-2-dekenal ve metil eugenol gibi bazı bileşenlerin çarpıcı değişimler gösterdiği görülmüştür. Düşük bitki veriminden ve yüksek (E)- dekenal içeriğinden dolayı, deneysel alanlarda taze ya da kuru bitki olarak kullanımında kişniş yetiştiriciliği daha uygun olduğu belirtilmiştir (Telci ve Hisil, 2008).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitkisel Materyal

“Türkiye’de Yetiştirilen Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) Genotiplerinin Flavonoid ve Fenolik Asit Kompozisyonlarının Belirlenmesi, Antioksidan Potansiyelleri ve Farklı Ekolojilere Göre Değişimi” isimli 111 O 677 no’lu TÜBİTAK proje çalışması (Telci, 2012) kapsamında, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri bölümünde görev yapmış olan Prof. Dr. İsa TELCİ önderliğinde, üstün 14 farklı reyhan genotipi (Çizelge 3.1.) belirlenmiştir. Ekolojiler arasındaki fenolik bileşik ve antioksidan özelliklerin belirlenmesi amacıyla bu 14 farklı reyhan genotipi Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü ve Eskişehir Osmangazi Üniversiteleri Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme alanlarında yetiştirilmiştir.

3.1.1. Ekolojik Koşullar

Farklı reyhan genotipleri Bursa, Eskişehir ve Tokat olmak üzere 3 farklı iklim koşullarında yetiştirilmiştir. Tarla denemelerinin yapıldığı illerin tarımsal ve iklim özellikleri kısaca aşağıda açıklanmıştır.

Bursa: Akdeniz ile Karadeniz iklimleri arasında bir geçiş niteliği göstermektedir. Kışların çok sert geçmediği ilde, yaz dönemlerinde şiddetli kuraklıklar görülmez. Marmara Denizi’nin etkisi ile ılımanlık kazanan ilin sıcaklık değerleri de deniz etkisinin bu niteliğini açıkça ortaya koymaktadır. En çok yağış, kış ve ilkbahar aylarında düşmektedir. Bu nedenle, ilde yağış rejimi bakımından Akdeniz ikliminin egemen olduğu söylenebilir. İlde bazı baharat bitkilerinin tarımı yapılmaktadır. İstanbul’a yakın olması nedeniyle tıbbi ve baharat bitkileri ticaretinde önemli bir konumdadır.

Eskişehir: Ege, Marmara ve İç Anadolu Bölgeleri arasında bir geçiş noktasında bulunan Eskişehir’de Ege ve İç Anadolu’ya özgü iklim özellikleri görülsede merkez ilçe sert bir kara iklime sahiptir. Eskişehir’de yağışlar, kışın kar ve yağmur halinde görülür. Aralık ayından itibaren yağışlar daha çok kar şeklindedir. Önemli tarım merkezlerinden olan Eskişehir’de tahıllar toplam üretimde önemli paya sahiptir.

Arazilerin sulamaya elverişli olmaması nedeniyle arazilerin çoğunda kuru tarım gerçekleştirilmektedir. Tıbbi bitkiler içerisinde kuru tarıma uygun kimyon, çemen gibi bitkiler yöre için yetiştirme potansiyeline sahiptir. Nane reyhan gibi bitkiler sulama imkânının bulunduğu alanlar için önemlidir. Eskişehir'in İstanbul ve Ankara gibi merkezlere yakın olması ve ulaşım kolaylığı nedeniyle süs ve tıbbi bitkiler tarımını önemli kılmaktadır.

Tokat: İklim bakımından Orta Anadolu ile Orta Karadeniz bölgesi arasındaki Orta Kuzey Geçit bölgesinde yer almaktadır. Çoğunluğu merkez ilçe sınırları arasında yer alan önemli bir tarımsal potansiyele sahip olan Kazova kışları ılıman yazları yarı kurak özellik gösteren bir iklime sahiptir.

İlde ilkbahar boyunca yağışlar yeterli olup Haziran ortalarından sonra kuraklık başlar ve ekim ortalarına kadar sürer. İlde topraklarının % 85'inde tarla tarımı yapılmaktadır. Ekim alanı bakımından tahıllar ilk sırayı almakta ve bunu endüstri bitkileri izlemektedir. İlde sınırlı alanlarda da olsa nane, reyhan, dereotu, maydanoz gibi baharat bitkilerinin tarımı yapılmaktadır. Ancak iç ve dış pazarlara yönelik üretim sınırlıdır.

Hasat dönemleri arasındaki farkı incelemek adına Bursa şehrinde yetiştirilen reyhanlar, vejetatif dönem, çiçeklenme başlangıcı dönemi ve tam çiçeklenme olmak üzere 3 farklı dönemde hasat edilmiştir. Eskişehir ve Tokat'ta ise ekoloji çalışmalarına ilişkin olarak sadece çiçeklenme başlangıcı döneminde hasat yapılmıştır. Hasat edilen reyhan türleri güneş ışığına maruz bırakılmadan kurutuldu.



Şekil 3. 1. Farklı Morfolojik Tiplerde Çiçeklenme (hasat) Dönemine Gelmiş Bitkiler

Kodu	Orijini
R-1	Erzurum
R-4	Kırşehir
R-3K	Amasya
R-15	Afyon
R-16	Malatya
R-19	Osmaniye
R-23	Mersin-Anamur
Y-8	ABD (Holy Basil)
R-10A	Tokat
R-17	Malatya
R-20	Antalya
Y-7	Fransa (Fr. Brush)
Y-15	ABD (organik basil genovese sweet)
Y-20	ABD (Siam queen basil)

Çizelge 3. 1. Reyhan Genotipleri ve Klon Kodları

Bu çalışmada, ekstraksiyon işlemi ve antioksidan aktivite testleri GOPÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Bitki Araştırma Laboratuvarı ve Biyokimya Araştırma Laboratuvarında yapılırken, LC-TOF ile Fenolik bileşiklerin analizi Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Bitki Araştırma Laboratuvarında yapıldı.

3.2. Kimyasal Analizler İçin Ekstrelerin Hazırlanması

Çalışma kapsamında, kurutulan reyhan örneklerinin yaprak kısmından yaklaşık 5'er g alınarak sıvı azot ile havanda parçalandıktan sonra 200 mg kapaklı cam tüplerin içerisine tartıldı ve üzerlerine 10 mL metanol/diklorometan karışımı (5:1) ilave edildi. Vortekslenip 30 dakika ultrasonik banyoda bekletildi ve 2 gün süre ile ekstrakte edildi. Elde edilen ekstrakt hem antioksidan aktivite analizleri hem de LC-TOF analizinde kullanıldı.

3.3. Antioksidan Aktivite Testleri

Bu çalışmada farklı 3 ekolojide yetiştirilen ve 3 farklı hasat döneminde toplanan 14 farklı reyhan genotipinin antioksidan aktivite kapasiteleri belirlenmiştir. Antioksidan aktivite kapasitelerinin belirlenmesi Serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH[•]), Katyon radikal giderme aktivitesi (ABTS^{•+}), İndirgeme gücü aktivitesi (FRAP) ve Ferrik tiyosiyanat aktivitesi testleri ile yapılmıştır.

3.3.1. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH[•])

Serbest radikal (DPPH[•]) giderme aktivitesi Blois ve arkadaşlarının uyguladığı metoda göre yapıldı (Blois, 1958). 0,26 mM'lik DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) çözeltisi etanol içerisinde hazırlandı. Reyhan numunelerinin stok çözeltilerinden 40 µL alınarak üzerine 1mL DPPH (0,26 mM) çözeltisi eklendikten sonra tüpün içindeki çözeltinin hacmi 4mL oluncaya dek üzerine etanol eklendi. Daha sonra vorteks yapıldı ve 30 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon işlemi sona erdikten sonra her bir numunenin absorbansı 517 nm'de spektrofotometre ile ölçüldü. Uygulamalar üç tekrarlı olarak yapıldı. Elde edilen absorbans değerleri Trolox kalibrasyon grafiği ile hesaplanarak µmol Trolox eşdeğeri/g kuru doku olarak belirlendi.

Abs_{kontrol}: etanol + DPPH çözeltisinin absorbansı

Abs_{kör} = etanol

Standart = Trolox

3.3.2. Katyon Radikali Giderme Aktivitesi (ABTS^{•+})

Bu analiz (Re ve ark., 1999) tarafından uygulanan metoda göre yapıldı. Bu yöntemeye göre, 0,1M pH:7,4 PO₄³⁻ tampon çözeltisi hazırlandı. Daha sonra fosfat tamponu ile hazırlanmış 2 mM ABTS (2,2'-Azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) çözeltisi ile yine fosfat çözeltisi ile hazırlanmış 2,45 mM K₂S₂O₈ (potasyumpersülfat) çözeltisi 1:2 oranında karıştırılarak, karanlık ortamda 6 saat bekletildi.

Reyhan numunelerinin stok çözeltilerinden 40 µL alınarak üzerine hacmi 3mL oluncaya kadar fosfat tamponu eklendi. Daha sonra ise üzerine 1mL ABTS^{•+} çözeltisi eklenerek çözeltinin karıştırılması için vorteks yapıldı. Çözelti karşımı oda şartlarında 1 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra spektrofotometrede 734 nm'de absorbansı okundu. Elde edilen absorbans değerleri Trolox kalibrasyon grafiği ile hesaplanarak µmol Trolox eşdeğeri/g kuru doku olarak belirlendi.

Abs_{kontrol}:ABTS^{•+} çözeltisinin absorbansı

Abs_{kör} = PO₄³⁻ tamponu

Standart = Trolox

3.3.3. İndirgeme Gücü Aktivitesi (FRAP)

Bu analiz Oyaizu metodunun (Oyaizu, 1986) bazı modifikasyonlarına (Elmastas ve ark., 2006)'a göre yapıldı. 40 µL bitki ekstraktı alınarak fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ile hacmi 1,25 mL'ye tamamlandı ve üzerine 1,25 mL potasyum ferrik siyanür $[K_3Fe(CN)_6]$ (%1) ilave edildi. Bu karışım 50 °C'de 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, bu karışıma TCA (1,25 mL, % 10) ve $FeCl_3$ (0,25 mL, % 0.1) ilave edildi. Elde edilen son karışımın absorbansları 700 nm'de kaydedildi ve absorbans değerleri Trolox (10–100 µmol/L) kalibrasyon grafiği kullanılarak µmol Trolox eşdeğeri/g kuru doku olarak hesaplandı.

$Abs_{k\ddot{u}r} = \text{numune ve } FeCl_3 \text{ hariç tüm matrix}$

Standart = Trolox

3.3.4. Ferrik Tiyosiyanat ile Antioksidan Aktivite Analizi

Toplam antioksidan aktiviteleri ferrik tiyosiyanat (FTC) metoduna göre yapıldı (Mitsuda ve ark., 1996). Bu metotta in vitro koşullarda linoleik asit oksidasyonu oluşturuldu ve oksidasyon sırasında Fe^{+2} iyonu Fe^{+3} iyonlarına yükseltgendi. Hazırlanan stok çözeltiler 37°C 'de inkübasyona bırakıldıktan sonra 10 saatte 1 ölçüm yapıldı. Oluşan Fe^{+3} iyonu, SCN^- ile kompleks oluşturarak, 500 nm'de maksimum absorbans gösterir. Sonuçlar antioksidan etkiye sahip olan butillenmiş hidroksi toluen (BHT), butillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve α - tokoferol gibi standart antioksidan maddelerle karşılaştırıldı. Örnek ve standart olarak kullanılan bileşiklerin yüzde olarak (%) lipid peroksidasyon inhibisyonu aşağıdaki formülle belirlendi.

$$\text{Lipit Peroksidasyon İnhibisyon Yüzdesi (\%)} = [(A_k - A_s)/A_k] \times 100$$

A_k : Kontrolün absorbansı

A_s : Reyhan örenği veya standartların absorbansı

3.3.5. Total Fenolik Bileşik Tayini

Numunelerin total fenolik bileşik tayini Folin-Ciocalteu reaktifi ile yapıldı (Slinkard ve Singleton, 1977). 100 µl numune üzerine 4,5 ml destile su ilave edildikten sonra 100 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildi. 3 dk. beklendikten sonra %2'lik 300 µl sodyum karbonat (Na_2CO_3) ilave edildi. Bu karışım vortekslendikten sonra oda şartlarında 2 saat inkübe edildi. Numuneler oda sıcaklığına getirildikten sonra 760 nm'deki absorbansları spektrofotometrede kaydedildi. Standart olarak kullanılan gallik asidin farklı derişimleri ile elde edilen kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Sonuçlar mg gallik aside eşdeğer fenolik bileşik/g kuru doku olarak verildi.

3.4. Fenolik Bileşiklerin LC-TOF ile Kalitatif ve Kantitatif Tayini

3.4.1 Numunelerin hazırlanması:

Ekstrakt çözeltileri 1:20 seyreltilip, 0,45 mikronluk filtrelerden şırınga yardımıyla süzülerek viallere konuldu ve HPLC-TOF' a verildi.

3.4.2. Standart çözeltilerin hazırlanması:

22 adet fenolik standartların 100 ppm'lik çözeltilerinden 25,50,100,250,500,1000 ve 2500 ppb'lik karışım çözeltileri hazırlandı. Daha sonra HPLC-TOF' a verildi.

3.4.3. Kantitatif analiz:

Bu çözeltiler HPLC-TOF cihazına verilerek (m/z oranları ve alıkonma zamanları dikkate alınarak) her bir fenolik bileşiğin kalibrasyon eğrileri çizildi. Kalibrasyon grafiği EK-1 de verilmektedir. Bu kalibrasyon eğrilerinden yararlanılarak cihaza verilen örneklerdeki fenolik bileşiklerin miktarları ppb cinsinden tespit edildi.

Hareketli faz programı Çizelge 3.2. 'de verilmiştir

	Zaman (dk)	%0,1 Formik asitli su	Asetonitril
1	0	90%	10%
2	1	90%	10%
3	20	50%	50%
4	23	20%	80%
5	25	90%	10%
6	30	90%	10%

Çizelge 3. 2. Mobil Faz Programı

Analiz yapılan cihaz ile ilgili bilgiler

Agilent technologies

1260 infinity LC, 6210 TOF-MS

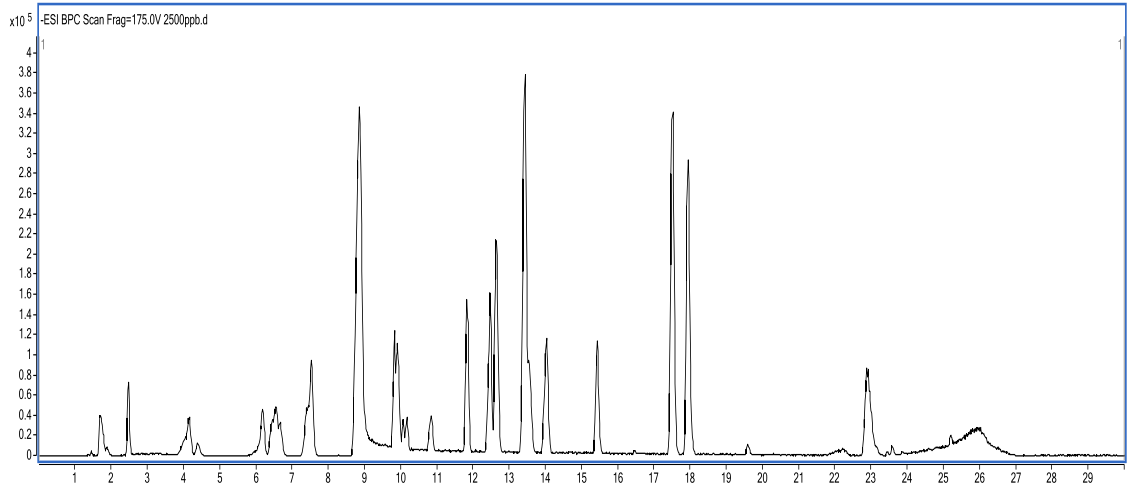
Enjeksiyon hacmi: 10 µL

Kolon sıcaklığı: 35 °C

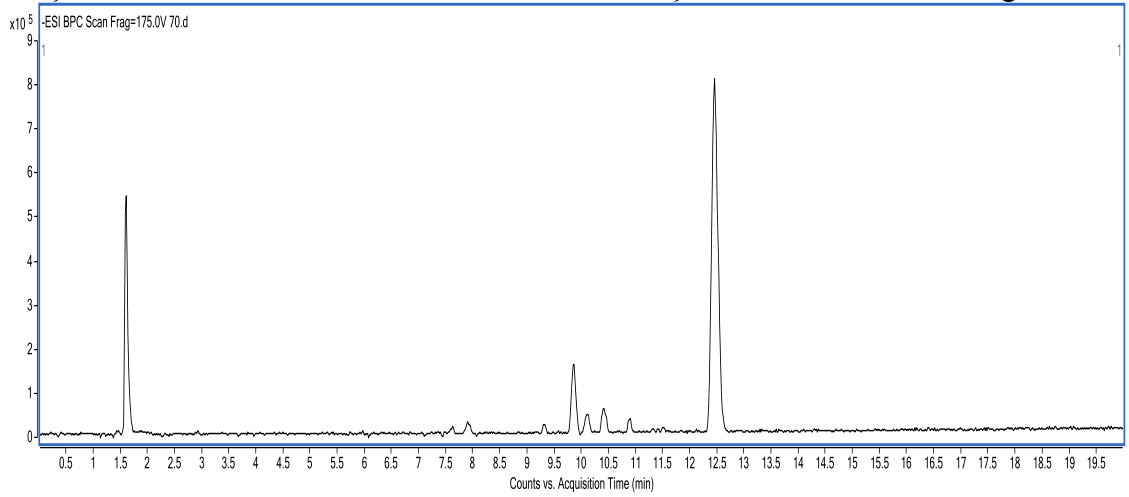
Kolon: ZORBAX SB-C18 4,6x100mm, 3.5µm



Şekil 3. 2. Fenolik bileşiklerin kantitatif analizlerinin yapıldığı LC-TOF cihazı
(Liquid Chromatography- Time of Flying)



Şekil 3. 3. Standart olarak kullanılan fenolik bileşiklerin LC-TOF kromatogramı



Şekil 3. 4. Bir reyhan örneğinin LC-TOF kromatogramı

Reyhan örneklerinin içerisindeki fenolik bileşikler tespit etmek için LC-TOF cihazına tanıtılan Fenolik bileşikler ve alıkonma süreleri Çizelge 3.3.'de verilmiştir.

RT(dk)	Fenolik Bileşik	RT(dk)	Fenolik Bileşik
2,552	Gallik asit	10,196	Sisorik asit
4,251	Gentisik asit	10,261	Ellagic asit
6,286	Kateşin	10,934	Ferulik asit
6,302	Klorojenik asit	11,879	Hesperidin
6,671	4-hidroksibenzoik asit	11,911	Apigenin-7 glikozit
6,783	Protokateşuik asit	12,536	Rozmarinik asit
7,632	Kafeik asit	13,498	Protokateşuik asit etil ester
7,728	Vanilik asit	13,610	Salisilik asit
8,962	Hidroksibenzaldehit	15,485	Kuarsetin
9,908	Rutin	17,536	Naringenin
10,020	p-kumarik asit	17,969	Kamferol

Çizelge 3. 3. Standart Fenolik bileşikler ve alıkonma süreleri

3.5. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistik Analizi

Elde edilen fenolik bileşiklerin kantitatif miktarları ile antioksidan aktivite verileri arasındaki korelasyon ilişkisi SPSS 17.0 programıyla yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Farklı Lokasyonlardaki Çalışmaların Verileri

4.1.1. Farklı Lokasyonların Fenolik Bileşik İçerikleri

14 farklı Reyhan genotipindeki lokasyon çalışmaları; Tokat, Bursa ve Eskişehir’de çiçeklenme başlangıcı dönemlerinde hasat edilen reyhan genotipleri üzerinde yapıldı.

Çalışılan reyhan örneklerindeki fenolik bileşik miktarlarının ekolojilere göre karşılaştırma verileri Çizelge 4.1.’ de sunulmuştur.

mg/kg kuru doku									
	Gallik Asit			Gentisik Asit			4-Hidroksibenzoik Asit		
	Bursa	Eskişehir	Tokat	Bursa	Eskişehir	Tokat	Bursa	Eskişehir	Tokat
R-1	5,05	5,54	5,56	8,82	9,59	5,97	15,03	18,75	24,20
R-4	5,66	6,25	6,38	6,26	5,98	7,05	19,01	21,53	21,18
R-3K	5,63	5,35	3,12	4,50	4,36	11,96	16,14	17,48	20,20
R-15	5,62	5,86	5,61	3,20	4,11	2,49	25,98	10,62	9,88
R-16	5,30	5,73	5,24	3,53	12,74	4,95	11,84	21,52	10,78
R-19	5,02	5,93	5,36	4,25	5,78	2,51	19,43	13,00	24,20
R-23	5,77	5,42	5,75	5,60	4,79	5,71	16,45	12,93	9,38
Y-8	6,76	2,77	5,22	5,74	4,43	2,32	29,96	13,08	17,85
R-10A	5,20	6,42	5,41	7,68	6,73	4,08	15,40	11,60	10,76
R-17	5,88	5,57	5,04	8,40	4,64	2,11	11,61	11,30	9,55
R-20	5,72	2,60	5,09	1,59	4,46	2,53	13,93	5,75	14,60
Y-7	5,38	5,89	5,13	15,36	10,37	2,95	10,16	11,25	12,60
Y-15	5,80	6,44	5,97	18,40	17,28	9,81	11,27	11,19	11,34
Y-20	5,38	5,40	5,31	9,84	2,57	2,60	11,31	16,79	12,05

(a)

mg/kg kuru doku									
	Kafeik Asit			Rutin			Sisorik Asit		
	Bursa	Eskişehir	Tokat	Bursa	Eskişehir	Tokat	Bursa	Eskişehir	Tokat
R-1	61,43	45,19	34,12	5,38	1,11	6,98	1706,73	1936,15	2562,71
R-4	65,91	46,79	40,25	241,47	1188,37	3774,45	1961,08	1873,18	4251,39
R-3K	59,62	39,92	52,65	269,94	671,09	738,77	1970,93	1692,81	4848,77
R-15	71,67	42,61	30,40	399,90	777,41	3046,15	1772,50	2909,44	5030,06
R-16	51,91	46,61	45,06	283,08	1184,77	535,74	786,23	1336,28	1309,16
R-19	87,55	69,78	52,54	119,62	663,21	5,89	2379,32	2366,37	5931,11
R-23	39,47	55,29	29,52	875,39	2448,13	3894,17	2204,60	3684,01	6805,33
Y-8	47,08	21,77	19,71	112,79	137,86	167,60	1950,27	1437,92	2645,99
R-10A	56,83	33,61	36,95	910,96	635,94	1857,60	2017,03	2375,31	2584,44
R-17	53,37	47,60	25,93	103,57	275,21	617,74	2078,11	2331,60	3333,64
R-20	64,98	28,80	28,69	541,69	370,29	2744,36	2351,37	750,45	2780,10
Y-7	76,19	52,82	33,61	742,68	1157,51	2324,44	1765,86	1614,37	2212,45
Y-15	50,48	52,84	27,98	276,05	1225,51	3446,83	889,71	1289,47	2183,90
Y-20	77,50	55,44	44,29	822,89	837,05	2275,68	2714,67	2332,83	3833,18

(b)

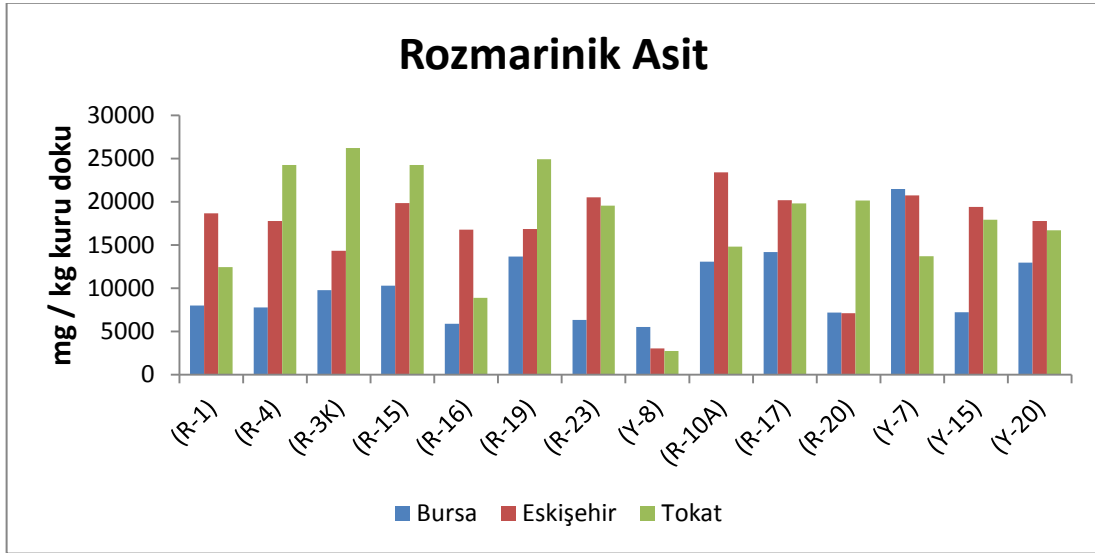
mg/kg kuru doku									
	Ferulik Asit			Rozmarinik Asit			Kuarsetin		
	Bursa	Eskişehir	Tokat	Bursa	Eskişehir	Tokat	Bursa	Eskişehir	Tokat
R-1	6,53	5,23	0,29	8011,20	18667,78	12439,77	5,99	6,14	7,02
R-4	4,37	7,00	12,08	7778,02	17761,52	24235,71	6,13	6,05	6,45
R-3K	10,71	7,24	30,74	9769,78	14314,33	26225,02	5,96	5,90	6,23
R-15	24,54	17,95	13,36	10281,56	19837,58	24249,63	6,23	6,07	6,70
R-16	0,00	0,00	0,00	5900,42	16775,75	8883,88	6,11	6,87	6,69
R-19	21,46	0,00	6,75	13663,63	16848,65	24927,49	5,98	6,24	7,44
R-23	13,48	0,94	9,06	6318,78	20525,54	19551,86	6,19	6,00	6,11
Y-8	0,00	0,00	0,00	5503,15	3023,39	2754,50	6,20	6,10	6,34
R-10A	23,74	24,59	18,38	13081,57	23389,93	14819,77	6,80	8,55	11,09
R-17	46,54	27,42	39,08	14179,11	20174,48	19798,27	6,08	7,01	7,22
R-20	19,44	5,68	3,77	7181,40	7111,31	20141,00	6,13	3,18	6,46
Y-7	20,68	0,00	1,20	21459,01	20749,51	13719,78	6,04	5,96	6,28
Y-15	4,85	15,97	3,92	7231,87	19387,25	17911,93	6,03	6,00	6,28
Y-20	25,31	15,42	7,49	12965,05	17760,95	16696,43	5,90	5,98	6,20

(c)

Çizelge 4. 1. Fenolik bileşiklerin ekolojik olarak değişimi (a,b,c)

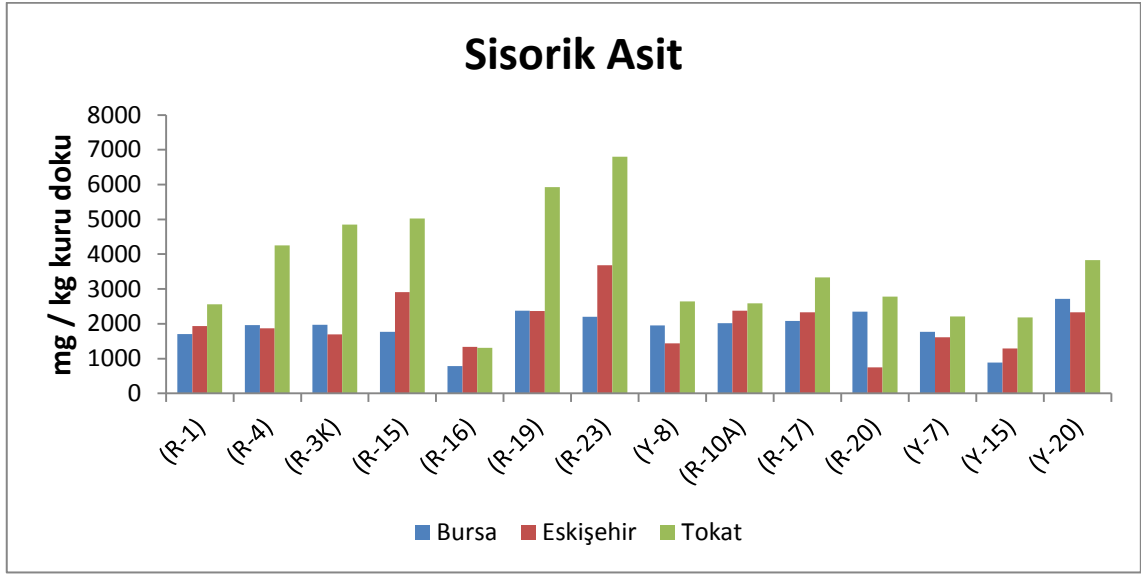
Reyhan örnekleri içerisinde LC-TOF ile 22 standart fenolik bileşik taraması yapıldı ve Şekil 3.3. ve Şekil 3.4.'de görüldüğü gibi örneklerin içerisinde 9 adet fenolik bileşik tespit edildi. Reyhan örnekleri içerisinde bulunan bu fenolik bileşiklerin kantitatif olarak ekolojilere göre miktarları değerlendirildiğinde; 2754-26225 (mg/kg kuru doku) arasında değişen miktarıyla en fazla bulunan fenolik bileşik rozmarinik asit olup daha

sonra sırasıyla sisorik asit (786-3833 mg /kg kuru doku), rutin (1-3894 mg/kg kuru doku) ve kafeik asit (19-87 mg/kg kuru doku) olduğu görülmüştür. Ekolojiler arasındaki farkları daha iyi gözlemlemek adına reyhan örnekleri içerisinde en çok bulunan 4 fenolik bileşiğin verileri grafiğe dönüştürülmüştür.



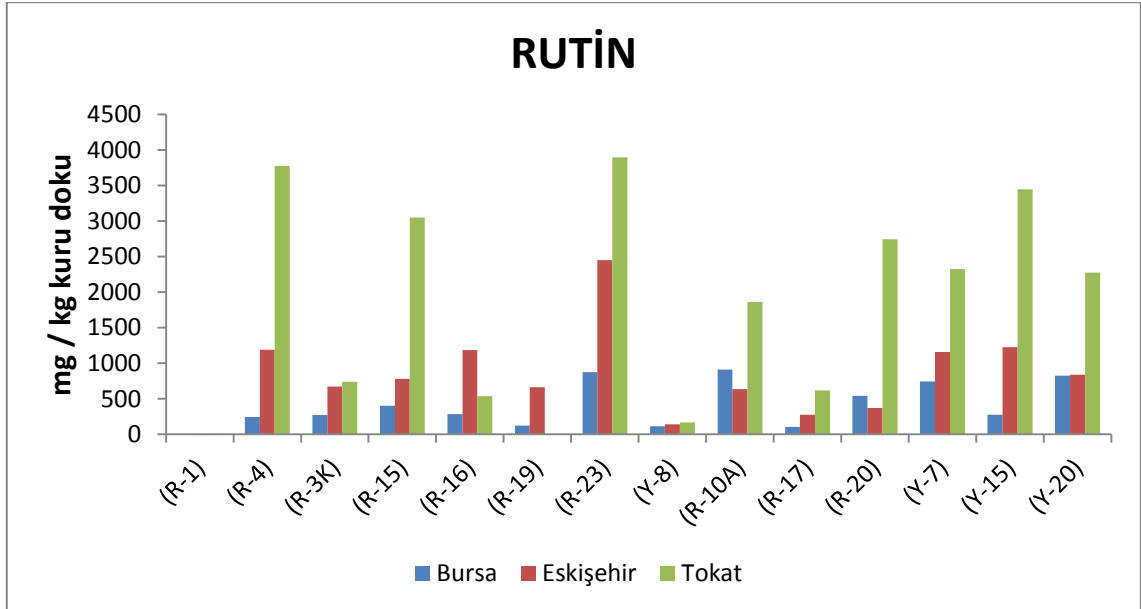
Şekil 4. 1. Rozmarinik Asidin farklı ekolojiler arasındaki değişimi

Reyhan örneklerinin içerisinde en fazla miktarda bulunan Rozmarinik Asidin ekolojiler arasındaki değişimi incelendiğinde; R-4, R-3K, R15, R-19 ve R-20 genotiplerinde Tokat'ta daha yüksek iken, R-23, R-17, Y15 ve Y-20 genotiplerinde ise Eskişehir ve Tokat illerinde yakın değerlere sahip olduğu görülmektedir. R-1, R-16, R-10A genotiplerinde rozmarinik asit miktarının Eskişehir'de daha yüksek olduğu görülürken, Y-7 ve Y-8 genotiplerinde ise Bursa'da daha yüksek olduğu göze çarpmaktadır.



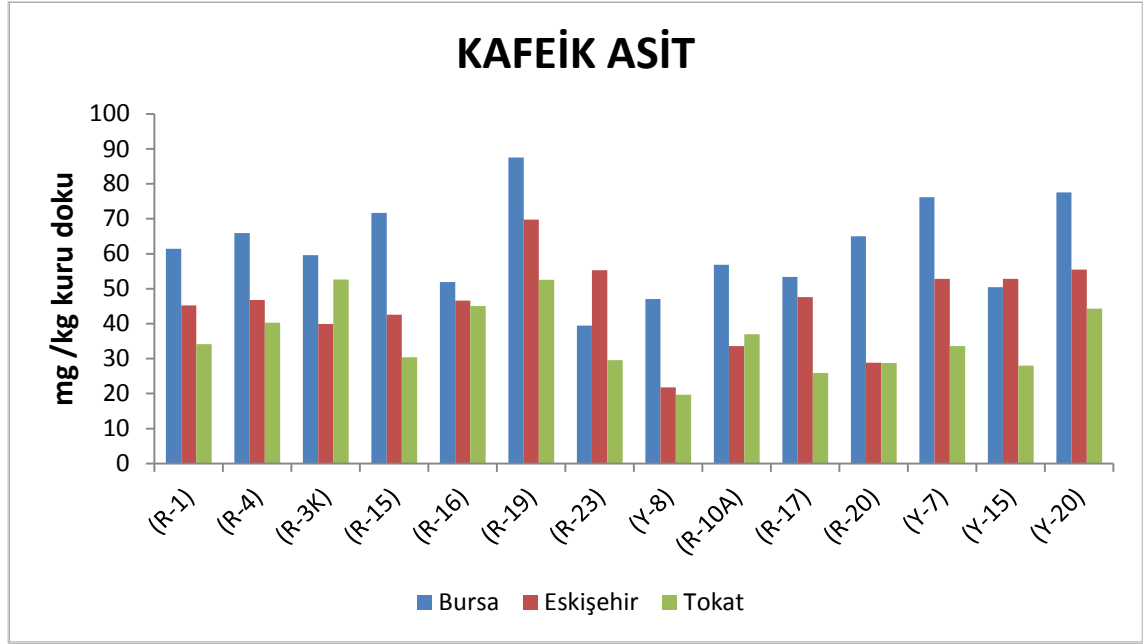
Şekil 4. 2. Sisorik Asidin farklı ekolojiler arasındaki değişimi

Reyhan örnekleri içerisinde, rozmarinik asitten sonra en çok bulunan fenolik bileşik sisorik asittir. Sisorik asidin ekolojiler arasındaki değişimi incelendiğinde; genel itibarıyla Tokat lokasyonunda yüksek, Bursa ve Eskişehir lokasyonlarında ise birbirlerine yakın değerlerde olduğu görülmüştür (Şekil 4.2.). Bursa lokasyonunda R-20 genotipindeki sisorik asidin, Eskişehir lokasyonundan daha yüksek olduğu görülmüştür.



Şekil 4. 3. Rutin' in farklı ekolojiler arasındaki değişimi

R-16 ve R-19 genotipi Eskişehir lokasyonunda, rutin en yüksek miktarda bulunurken diğer genotiplerin rutin içeriği Tokat lokasyonunda en yüksek bulunmuştur. Bursa lokasyonunda rutin yüksek olduğu bir genotipi görülmemiştir.



Şekil 4. 4. Kafeik Asidin farklı ekolojiler arasındaki değişimi

R-23 ve Y-15 genotipleri Eskişehir lokasyonunda, kafeik asit miktarı en yüksek olduğu, diğer genotiplerin Bursa lokasyonunda daha yüksek olduğu görülmüştür. Genel itibarıyla Tokat lokasyonunda kafeik asit miktarının en düşük olduğu belirlenmiştir.

4.1.2. Farklı Lokasyonların Antioksidan Aktivite İçerikleri

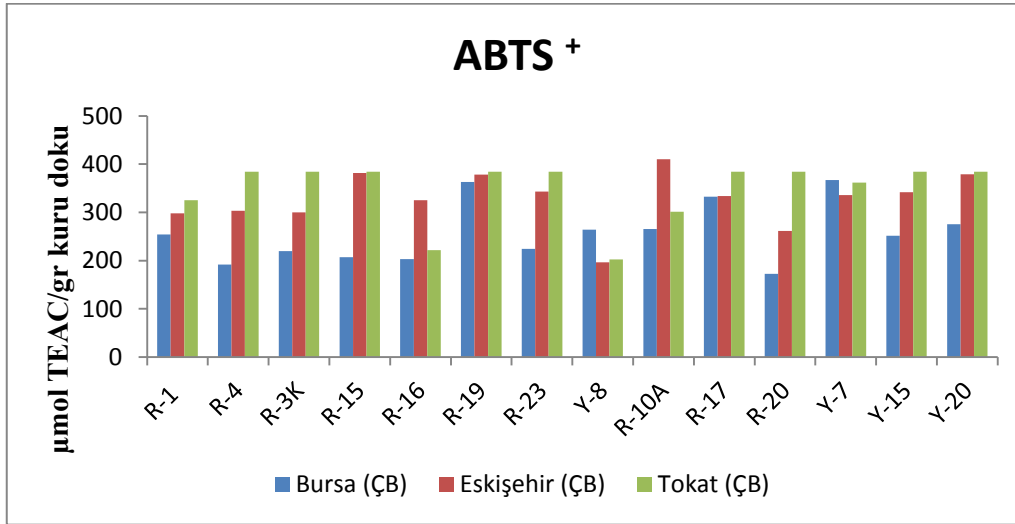
Farklı ekolojilerde yetiştirilen ve toplanan Reyhan örneklerinin ekstrelerine katyon radikali giderme aktivitesi, serbest radikal giderme aktivitesi, indirgeme gücü aktivitesi, ferrik tiyosiyanat aktivitesi ve toplam fenolik bileşik tayini yapılarak belirlendi.

Çalışılan reyhan örneklerindeki antioksidan aktivitelerin ekolojik karşılaştırma verileri Çizelge 4.2. 'de verilmiştir.

	ABTS+ ($\mu\text{mol TEAC/gr}$ kuru doku)			DPPH ($\mu\text{mol TEAC/gr}$ kuru doku)			FRAP ($\mu\text{mol TEAC/gr}$ kuru doku)		
	Bursa	Eskişehir	Tokat	Bursa	Eskişehir	Tokat	Bursa	Eskişehir	Tokat
R-1	254,14	298,32	325,48	67,70	90,29	118,39	133,23	166,80	194,76
R-4	192,09	303,48	384,53	78,27	101,09	209,94	125,62	175,17	330,51
R-3K	219,95	300,23	384,53	91,38	101,27	224,29	146,96	184,58	340,64
R-15	207,01	381,34	384,53	63,48	174,66	285,49	122,71	266,13	327,32
R-16	203,35	325,10	221,78	61,89	88,51	58,06	116,18	178,50	108,98
R-19	363,00	378,18	384,53	115,56	113,86	280,38	223,89	207,79	325,18
R-23	224,20	342,89	384,53	81,67	110,68	251,76	132,22	189,58	283,39
Y-8	263,81	196,36	202,68	51,91	55,65	74,06	122,90	90,77	95,76
R-10A	265,79	410,32	301,05	53,09	271,51	160,11	163,88	320,43	222,76
R-17	332,67	334,09	384,53	142,43	147,39	272,09	199,61	203,60	280,87
R-20	172,83	261,59	384,53	36,31	81,38	208,97	86,03	168,08	263,18
Y-7	366,95	336,10	361,90	86,48	101,71	159,15	234,89	207,22	217,72
Y-15	251,27	341,84	384,53	80,50	91,40	339,45	132,44	173,74	340,54
Y-20	275,27	378,75	384,53	72,24	147,20	312,28	149,24	244,73	304,45

Çizelge 4. 2. Antioksidan Aktivitelerin ekolojik olarak değişimi

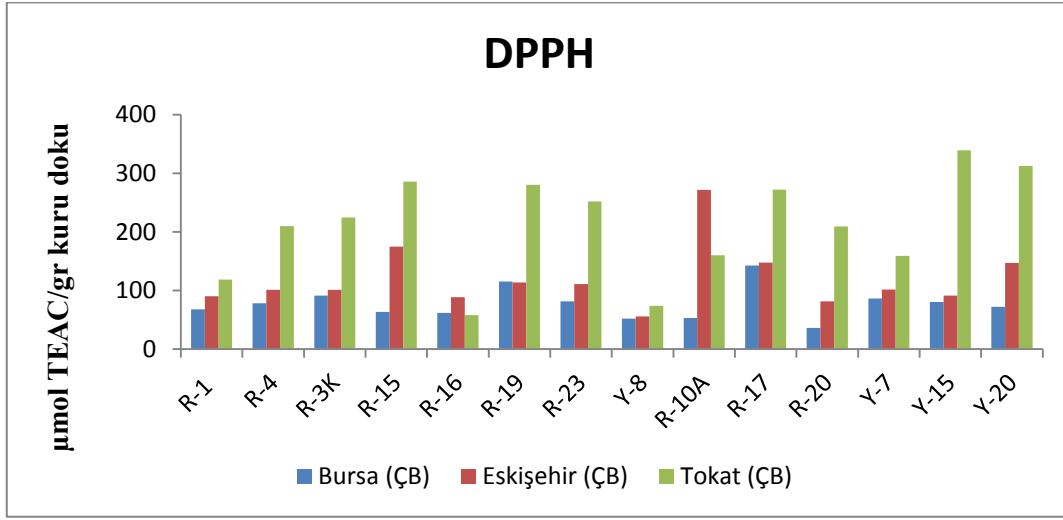
a. ABTS+



Şekil 4. 5. ABTS' nin ekolojik değişimleri

R-10A ile R-16 genotiplerinde en yüksek ABTS antioksidan aktivitesinin Eskişehir lokasyonunda olduğu belirlenirken, Y-8 ve Y-7 genotiplerindeki en yüksek aktivitenin Bursa lokasyonunda olduğu belirlenmiştir. Diğer genotiplerde ise en yüksek aktivitenin Tokat lokasyonunda olduğu tespit edilmiştir.

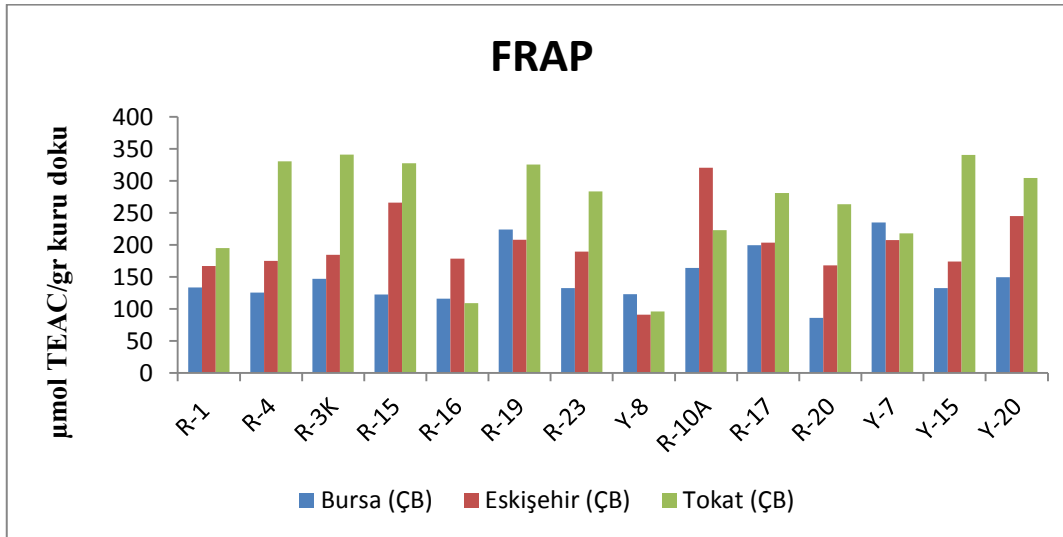
b. DPPH



Şekil 4. 6. DPPH' in ekolojik değişimleri

R-16 ve R-10A genotiplerinde en yüksek DPPH antioksidan aktivitesinin Eskişehir lokasyonunda olduğu, diğer genotiplerde en yüksek aktivite Tokat lokasyonunda olduğu belirlenmiştir. Bursa lokasyonunda en yüksek DPPH aktivitesine sahip bir genotip gözlenmemiştir.

c. FRAP



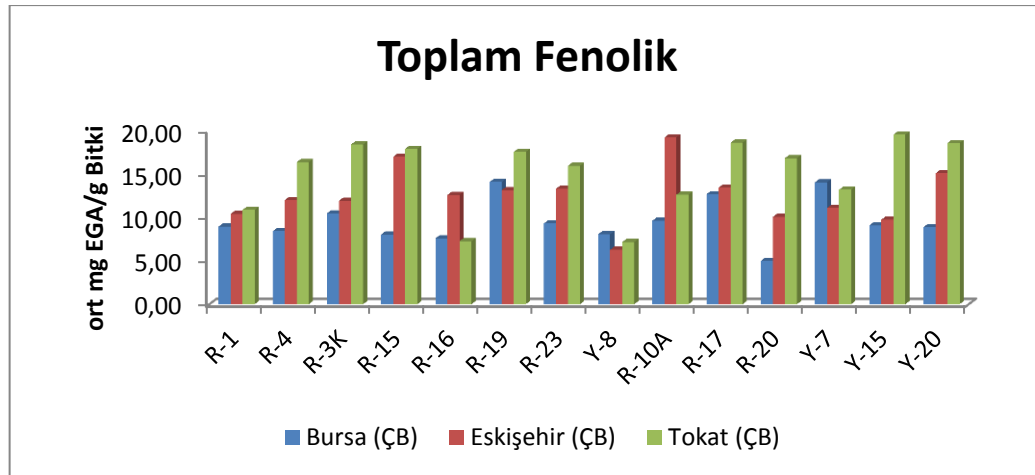
Şekil 4. 7. FRAP' in ekolojik değişimleri

R-16 ile R-10A genotiplerinde en yüksek FRAP aktivitesi Eskişehir lokasyonunda olduğu, Y-8 ve Y-7 genotiplerinde ise en yüksek Bursa lokasyonunda olduğu belirlenmiştir. Diğer tüm genotiplerde en yüksek aktivitenin Tokat lokasyonunda olduğu görülmüştür.

d. Toplam Fenolik Bileşik Tayini

Toplam Fenolik ort mg EGA/g kuru doku			
	Bursa	Eskişehir	Tokat
R-1	8,94	10,40	10,87
R-4	8,42	12,00	16,39
R-3K	10,47	11,93	18,41
R-15	8,04	16,99	17,92
R-16	7,59	12,60	7,27
R-19	14,08	13,15	17,55
R-23	9,30	13,30	15,95
Y-8	8,06	6,28	7,16
R-10A	9,61	19,21	12,62
R-17	12,68	13,43	18,62
R-20	4,99	10,06	16,83
Y-7	14,05	11,08	13,20
Y-15	9,07	9,74	19,54
Y-20	8,88	15,09	18,59

Çizelge 4. 3. Toplam Fenolik miktarının ekolojik değişimi



Şekil 4. 8. Toplam Fenolik' in ekolojik değişimleri

R-16 ve R-10A genotiplerinde en yüksek toplam fenolik miktarı Eskişehir lokasyonunda olduğu, Y-8 ve Y-7 genotiplerinde ise Bursa lokasyonunda olduğu belirlenmiştir. Diğer genotiplerde en yüksek toplam fenolik miktarı Tokat lokasyonunda olduğu gözlenmiştir.

e. Ferrik Tiyosiyonat Antioksidan Aktivitesi (Toplam Antioksidan)

Toplam antioksidan aktivite testinde her 10 saatte bir lipid peroksidasyonunun durumunu belirlemek amacıyla ölçüm yapıldı ve bu işlem toplamda 50 saat sürdü. 50 saat sonunda örneklerdeki peroksidasyonun ekolojiler arasındaki durumu karşılaştırılarak çizelgelerde sunulmuştur.

10.SAAT						
	Bursa		Eskişehir		Tokat	
	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma
R-1	46,89	0,73	29,27	0,83	40,50	0,31
R-4	52,23	0,96	34,12	1,44	25,43	1,08
R-3K	53,50	0,97	36,08	0,42	22,79	0,49
R-15	40,52	0,44	32,08	0,68	20,53	0,52
R-16	57,54	0,79	33,68	1,08	35,91	0,45
R-19	31,44	0,28	33,67	0,72	23,37	0,53
R-23	44,16	0,73	27,09	0,51	21,85	0,30
Y-8	42,81	0,55	47,63	0,81	38,77	0,70
R-10A	39,04	0,95	25,89	0,60	26,06	0,40
R-17	34,21	0,57	28,67	0,60	23,84	0,25
R-20	53,09	1,39	33,60	0,70	23,42	0,47
Y-7	39,55	0,62	35,17	0,71	43,68	0,41
Y-15	43,41	0,63	20,18	0,19	21,37	0,20
Y-20	33,25	0,28	36,16	0,45	26,33	0,16

(a)

20.SAAT						
	Bursa		Eskişehir		Tokat	
	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma
R-1	60,52	0,93	37,65	0,43	52,39	0,35
R-4	64,32	0,21	45,24	0,46	31,96	0,38
R-3K	65,29	0,39	46,22	0,67	28,87	0,18
R-15	49,51	0,57	36,47	0,47	26,18	0,16
R-16	70,86	0,74	41,29	0,58	45,37	0,51
R-19	39,49	0,33	41,68	0,81	28,81	0,21
R-23	54,52	0,67	33,89	0,13	27,20	0,18
Y-8	52,35	0,53	59,96	0,73	48,58	0,32
R-10A	48,04	0,34	32,09	0,25	32,66	0,31
R-17	43,75	0,37	35,08	0,58	29,93	0,17
R-20	66,62	0,58	43,31	0,40	29,28	0,39
Y-7	50,44	0,79	45,71	0,59	51,71	2,35
Y-15	55,16	0,44	25,70	0,25	25,91	0,17
Y-20	42,74	0,17	45,99	0,37	31,84	0,55

(b)

30.SAAT						
	Bursa		Eskişehir		Tokat	
	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma
R-1	58,50	1,00	37,28	0,31	53,36	0,35
R-4	60,80	0,43	44,34	0,55	32,16	0,24
R-3K	64,24	0,55	46,07	0,45	29,54	0,22
R-15	48,18	0,52	38,05	0,34	26,60	0,13
R-16	68,59	0,75	42,65	0,27	46,60	0,19
R-19	38,01	0,14	42,28	0,50	29,37	0,15
R-23	53,41	0,27	34,49	0,19	27,60	0,21
Y-8	51,98	0,54	60,73	0,38	49,43	0,41
R-10A	47,30	0,33	32,98	0,17	33,49	0,33
R-17	43,05	0,22	35,63	0,18	30,65	0,12
R-20	66,05	0,47	44,08	0,42	29,78	0,37
Y-7	50,31	0,70	46,41	0,49	54,85	0,42
Y-15	55,07	0,50	26,07	0,21	27,08	0,29
Y-20	41,89	0,23	46,94	0,34	33,17	0,25

(c)

40.SAAT						
	Bursa		Eskişehir		Tokat	
	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma
R-1	62,77	0,30	40,00	0,22	55,82	0,35
R-4	66,22	0,32	48,25	0,51	34,16	0,31
R-3K	69,36	1,44	49,20	0,28	30,77	0,21
R-15	51,99	0,34	40,03	0,29	27,67	0,15
R-16	75,21	0,46	44,63	0,21	48,58	0,76
R-19	41,27	0,36	44,43	0,23	30,71	0,03
R-23	58,19	0,55	36,22	0,16	28,91	0,25
Y-8	56,38	0,16	63,63	0,49	51,84	0,24
R-10A	51,21	0,36	34,61	0,28	35,25	0,33
R-17	46,42	0,31	37,69	0,26	31,98	0,28
R-20	71,18	0,47	46,27	0,34	31,27	0,33
Y-7	54,03	0,38	48,61	0,44	57,46	0,33
Y-15	59,30	0,83	27,54	0,17	28,19	0,29
Y-20	45,47	0,22	49,09	0,21	34,14	0,20

(d)

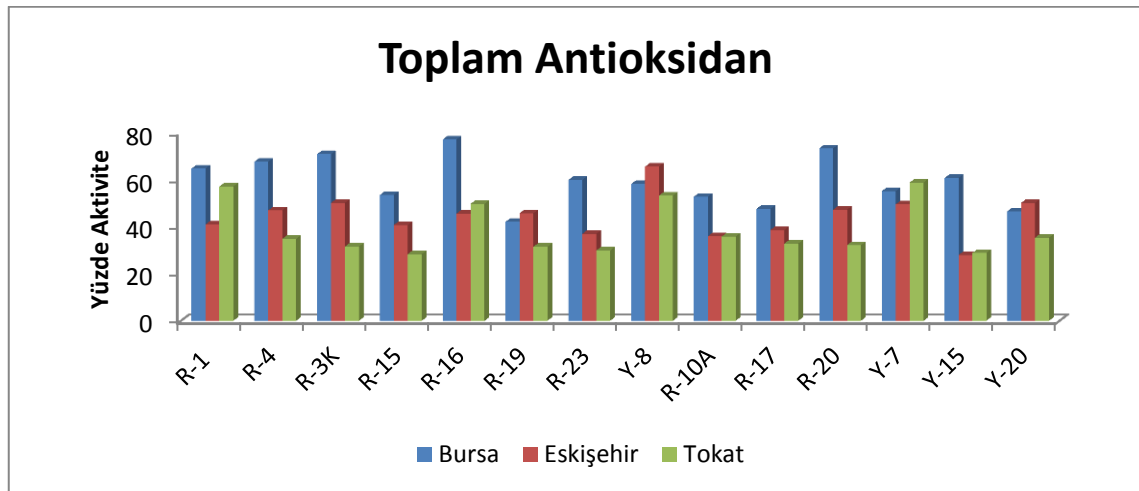
50.SAAT						
	Bursa		Eskişehir		Tokat	
	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma
R-1	64,70	0,55	40,91	0,22	57,11	0,23
R-4	67,59	0,24	46,96	0,31	34,79	0,19
R-3K	70,86	0,52	50,15	0,33	31,56	0,10
R-15	53,51	0,50	40,73	0,11	28,37	0,26
R-16	77,09	0,26	45,63	0,27	49,74	0,17
R-19	42,06	0,20	45,70	0,33	31,49	0,13
R-23	59,86	0,44	36,95	0,28	29,89	0,11
Y-8	58,16	0,95	65,55	0,30	53,22	0,44
R-10A	52,73	0,33	35,91	0,59	35,81	0,20
R-17	47,62	0,26	38,63	0,28	32,84	0,17
R-20	73,29	0,51	47,21	0,20	32,15	0,22
Y-7	55,15	0,35	49,52	0,17	58,81	0,26
Y-15	60,70	0,40	27,96	0,07	28,85	0,18
Y-20	46,53	0,53	50,14	0,23	35,34	0,25

(e)

Çizelge 4. 4. Ekolojiler arasındaki toplam antioksidan aktivitesinin 50 saat boyunca ölçümlerinin karşılaştırması (a,b,c,d,e)

	10.saat		20.saat		30.saat		40.saat		50.saat	
	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma
BHA	63,01	1,16	73,85	0,92	78,10	0,17	81,21	0,13	83,21	0,25
BHT	63,11	0,82	74,76	0,85	78,34	0,51	81,42	0,35	83,39	0,09
Trolox	61,59	0,73	73,43	0,85	77,73	0,03	79,69	0,25	82,40	0,31

Çizelge 4. 5. Sentetik bileşiklerin toplam antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesi



Şekil 4. 9. Ekolojiler arasındaki toplam antioksidan aktivitesinin 50. saat ölçüm karşılaştırması

Toplam antioksidan aktivitesinin 50. saat sonunda ekolojiler arasındaki değişimini incelediğimizde, R-1, R-4, R-3K, R-15, R-16, R-23, R-10A, R-17, R-20, Y-15 genotiplerinde Bursa lokasyonunda en yüksek aktivitenin olduğu, R-19, Y-8 ve Y-20 genotiplerinde ise Eskişehir lokasyonunda daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Y-7 genotipinde Tokat lokasyonunda daha yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Toplam antioksidan aktivitesini zamanla kıyasladığımızda 50. saat sonunda dahi örneklerin aktivitesini koruduğu tespit edilmiştir.

4.2. Biçim Dönemi Çalışmalarının Verileri

4.2.1. Farklı Biçim Dönemlerindeki Fenolik Bileşik İçerikleri

Ekoloji çalışmaları için kullanılan standart bileşikler, biçim dönemi çalışmalarında da kullanılmıştır. Reyhan örnekleri içerisinde bulunan bu fenolik bileşiklerin kantitatif olarak hasat dönemlerine göre değişimi incelenmiştir.

mg/kg kuru doku									
	Gallik Asit			Gentisik Asit			4-Hidroksibenzoik Asit		
	V.	Ç.B.	T.Ç.	V.	Ç.B.	T.Ç.	V.	Ç.B.	T.Ç.
R-1	6,41	5,05	5,23	7,83	8,82	5,61	16,01	15,03	14,07
R-4	5,65	5,66	5,24	15,31	6,26	6,87	28,08	19,01	10,35
R-3K	3,86	5,63	5,94	7,32	4,50	7,19	11,66	16,14	10,13
R-15	5,82	5,62	5,68	7,00	3,20	8,16	32,20	25,98	12,90
R-16	5,20	5,30	5,37	12,28	3,53	4,84	13,59	11,84	9,05
R-19	6,29	5,02	5,81	7,75	4,25	4,97	29,84	19,43	9,85
R-23	6,16	5,77	5,75	6,22	5,60	4,61	33,39	16,45	13,27
Y-8	7,92	6,76	6,37	11,69	5,74	7,44	26,62	29,96	12,74
R-10A	5,56	5,20	5,65	9,52	7,68	4,59	11,46	15,40	10,35
R-17	6,46	5,88	5,23	12,18	8,40	3,25	32,40	11,61	18,80
R-20	5,88	5,72	5,75	4,28	1,59	5,68	25,79	13,93	13,40
Y-7	7,41	5,38	6,95	14,78	15,36	4,03	42,50	10,16	28,37
Y-15	8,09	5,80	7,43	14,33	18,40	17,15	24,57	11,27	20,11
Y-20	6,02	5,38	5,53	6,52	9,84	5,32	20,84	11,31	12,15

(a)

mg/kg kuru doku									
	Kafeik Asit			Rutin			Sisorik Asit		
	V.	Ç.B.	T.Ç.	V.	Ç.B.	T.Ç.	V.	Ç.B.	T.Ç.
R-1	94,86	61,43	39,61	5,43	5,38	3,24	2054,89	1706,73	1257,11
R-4	89,85	65,91	38,82	134,90	241,47	300,81	1960,47	1961,08	1030,19
R-3K	56,69	59,62	47,01	157,95	269,94	403,16	1623,41	1970,93	1858,39
R-15	111,63	71,67	47,75	287,94	399,90	346,09	2057,85	1772,50	1494,89
R-16	74,54	51,91	37,29	329,64	283,08	575,22	1012,51	786,23	965,27
R-19	60,72	87,55	63,29	0,89	119,62	157,22	1803,05	2379,32	1896,16
R-23	74,68	39,47	40,94	645,32	875,39	1023,22	3763,87	2204,60	1742,16
Y-8	76,75	47,08	30,52	125,74	112,79	146,19	2920,55	1950,27	1837,96
R-10A	72,00	56,83	43,12	108,48	910,96	228,41	1669,98	2017,03	1579,76
R-17	85,43	53,37	38,93	59,98	103,57	98,36	1879,30	2078,11	1351,55
R-20	75,30	64,98	47,29	296,64	541,69	873,03	2318,93	2351,37	1630,26
Y-7	88,57	76,19	40,12	480,38	742,68	2058,33	2438,90	1765,86	1039,65
Y-15	72,71	50,48	37,35	142,06	276,05	628,67	1524,62	889,71	867,15
Y-20	101,72	77,50	54,49	381,91	822,89	1086,42	3557,74	2714,67	1809,75

(b)

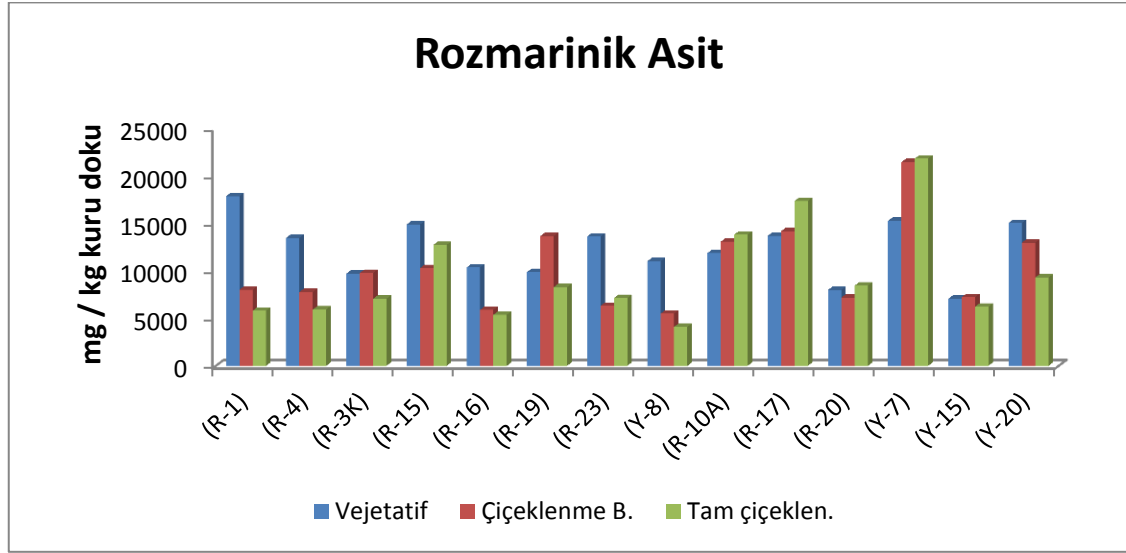
mg/kg kuru doku									
	Ferulik Asit			Rozmarinik Asit			Kuarsetin		
	V.	Ç.B.	T.Ç.	V.	Ç.B.	T.Ç.	V.	Ç.B.	T.Ç.
R-1	29,54	6,53	0,12	17856,10	8011,20	5809,78	6,42	5,99	7,03
R-4	16,56	4,37	1,98	13478,20	7778,02	5936,44	6,31	6,13	5,86
R-3K	24,29	10,71	13,51	9714,66	9769,78	7058,09	6,05	5,96	5,92
R-15	30,81	24,54	10,50	14874,19	10281,56	12731,04	6,04	6,23	5,96
R-16	0,63	0,00	0,00	10365,02	5900,42	5382,96	6,62	6,11	6,43
R-19	10,99	21,46	13,05	9872,38	13663,63	8284,94	8,19	5,98	6,00
R-23	25,58	13,48	5,49	13619,21	6318,78	7133,98	6,20	6,19	6,03
Y-8	2,88	0,00	0,00	11012,97	5503,15	4104,82	6,59	6,20	5,91
R-10A	12,94	23,74	34,84	11877,13	13081,57	13823,28	7,57	6,80	6,66
R-17	34,73	46,54	27,82	13691,23	14179,11	17358,17	6,77	6,08	6,02
R-20	16,74	19,44	14,43	7983,81	7181,40	8453,82	6,09	6,13	6,12
Y-7	22,79	20,68	3,40	15280,70	21459,01	21829,97	6,05	6,04	6,19
Y-15	4,81	4,85	7,30	7058,51	7231,87	6224,65	6,22	6,03	5,96
Y-20	29,52	25,31	4,62	15041,75	12965,05	9299,39	5,95	5,90	5,94

(c)

Çizelge 4. 6. Fenolik bileşiklerin biçim dönemlerine göre değişimi (a,b,c)

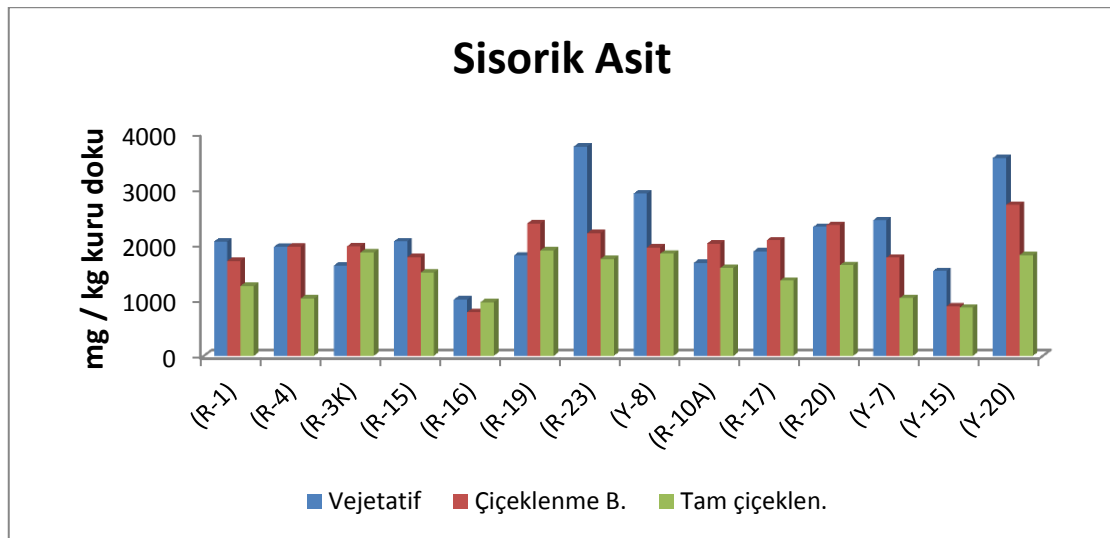
Çizelge 4.6.'da görüldüğü gibi 4104-21829 (mg /kg kuru doku) arasında değişen miktarıyla en fazla bulunan fenolik bileşik rozmarinik asit olup daha sonra sırasıyla sisorik asit (786-3763 mg/kg kuru doku), rutin (3-2058 mg/kg kuru doku) ve kafeik asit (30-111 mg/kg kuru doku) gelmektedir.

Biçim dönemleri arasındaki farkları daha iyi gözlemlemek adına reyhan örnekleri içerisinde en çok bulunan 4 fenolik bileşiğin verileri grafiğe dönüştürülmüştür



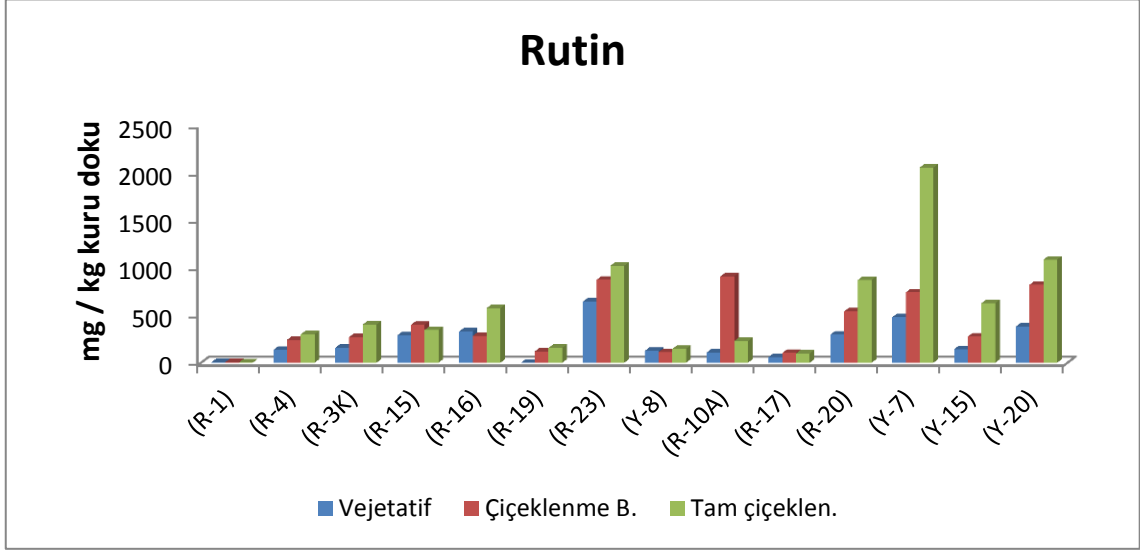
Şekil 4. 10. Rozmarinik Asidin biçim dönemleri arasındaki değişimi

R-1, R-4, R-15, R-16 R-23, Y-8 ve Y-20 genotiplerindeki en yüksek rozmarinik asit miktarının vejetatif dönemde olduğu, R-19 genotipinde ise en yüksek çiçeklenme başlangıcı döneminde olduğu görülmüştür. Diğer genotiplerde biçim dönemleri arasında önemli farklılıkların bulunmadığı belirlenmiştir. Tam çiçeklenme döneminde rozmarinik asidin en yüksek olduğu bir genotip görülmemiştir.



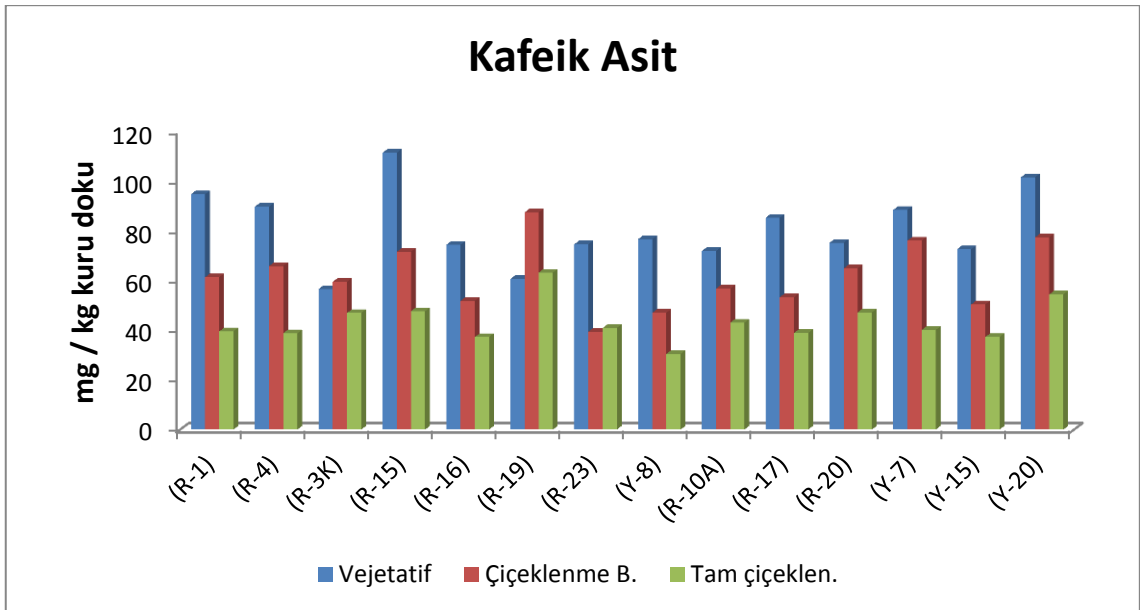
Şekil 4. 11. Sisorik Asidin biçim dönemleri arasındaki değişimi

R-23, Y-8 ve Y-20 genotiplerinde en yüksek sisorik asit miktarı vejetatif dönemde olduğu görülürken, diğer genotiplerde dönemler arasında önemli farklılıkların olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4. 12. Rutin' in biçim dönemleri arasındaki değişimi

R-23, R-20, Y-7, Y-15 ve Y-20 reyhan genotiplerinde en yüksek rutin miktarı tam çiçeklenme döneminde olduğu, R-10 genotipinde ise en yüksek çiçeklenme başlangıcı döneminde olduğu görülmüştür. Diğer genotiplerdeki rutin miktarı, dönemler arasında önemli sayılabilecek farklara sahip olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4. 13. Kafeik Asidin biçim dönemleri arasındaki değişimi

R-3K ve R-19 genotiplerinde en yüksek kafeik asit miktarı çiçeklenme başlangıcı döneminde olduğu, diğer genotiplerde ise en yüksek kafeik asit miktarının vejetatif dönemde olduğu belirlenmiştir. Tam çiçeklenme döneminde en yüksek kafeik asit miktarına sahip bir genotip görülmemiştir.

4.2.2. Farklı Biçim Dönemlerindeki Antioksidan Aktivite İçerikleri

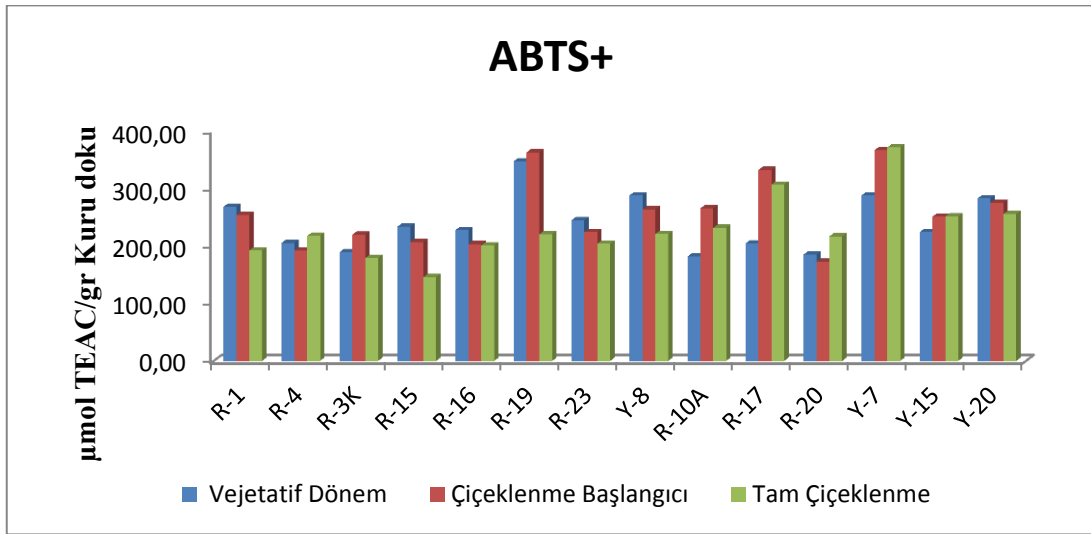
Farklı biçim dönemlerinde toplanan Reyhan örneklerinin ekstrelerine katyon radikali giderme aktivitesi, serbest radikal giderme aktivitesi, indirgeme gücü aktivitesi, toplam antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik bileşik tayini yapılarak belirlendi.

Çalışılan reyhan örneklerindeki antioksidan aktivitelerin dönemsel karşılaştırma verileri Çizelge 4.7. 'de sunulmuştur.

	ABTS+ ($\mu\text{mol TEAC/gr}$ kuru doku)			DPPH ($\mu\text{mol TEAC/gr}$ kuru doku)			FRAP ($\mu\text{mol TEAC/gr}$ kuru doku)		
	V.	Ç.B.	T.Ç.	V.	Ç.B.	T.Ç.	V.	Ç.B.	T.Ç.
R-1	268,33	254,14	192,39	71,97	67,70	49,19	156,02	133,23	89,83
R-4	205,33	192,09	217,87	43,84	78,27	77,59	114,43	125,62	111,04
R-3K	189,29	219,95	179,25	39,80	91,38	60,22	110,66	146,96	135,35
R-15	233,90	207,01	145,92	64,62	63,48	49,15	137,26	122,71	91,61
R-16	227,93	203,35	201,16	65,43	61,89	68,97	119,00	116,18	118,17
R-19	347,46	363,00	220,59	88,39	115,56	59,94	186,26	223,89	123,06
R-23	245,05	224,20	204,11	63,39	81,67	57,09	137,76	132,22	118,30
Y-8	288,38	263,81	220,97	67,20	51,91	69,33	147,84	122,90	125,65
R-10A	181,96	265,79	231,93	42,98	53,09	77,36	100,61	163,88	147,59
R-17	204,55	332,67	306,89	60,03	142,43	117,65	124,23	199,61	226,65
R-20	185,28	172,83	216,88	51,05	36,31	65,75	105,87	86,03	136,75
Y-7	288,38	366,95	372,04	88,89	86,48	182,76	166,83	234,89	339,18
Y-15	224,21	251,27	251,64	48,28	80,50	85,62	115,95	132,44	136,91
Y-20	283,10	275,27	255,84	75,46	72,24	84,94	169,65	149,24	155,96

Çizelge 4. 7. Antioksidan Aktivitelerin dönemsel olarak değişimi
(V.= Vejetatif Dönem, Ç.B. = Çiçeklenme Başlangıcı, T.Ç. = Tam Çiçeklenme)

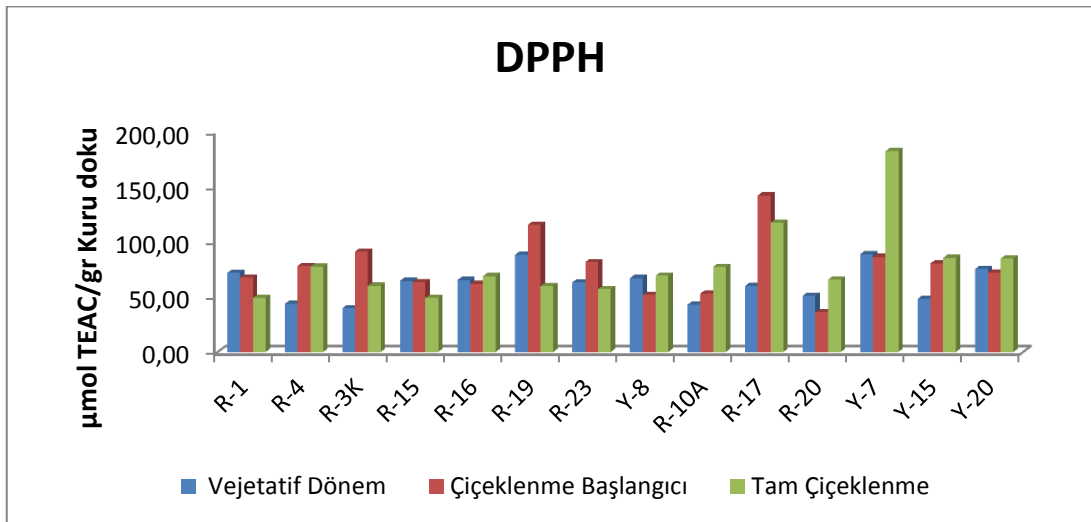
a. ABTS⁺



Şekil 4. 14. ABTS' nin biçim dönemi değişimler

ABTS antioksidan aktivite içeriği bakımından biçim dönemleri arasında önemli farklar görünmezken, R-1, R-15, R-16, R-23, Y-8, Y-20 genotiplerinde küçük farklılıklarla en yüksek aktivitenin vejetatif dönemde olduğu belirlenmiştir. R-19 genotipinde en yüksek aktivitenin çiçeklenme başlangıcı döneminde olduğu görülmüştür.

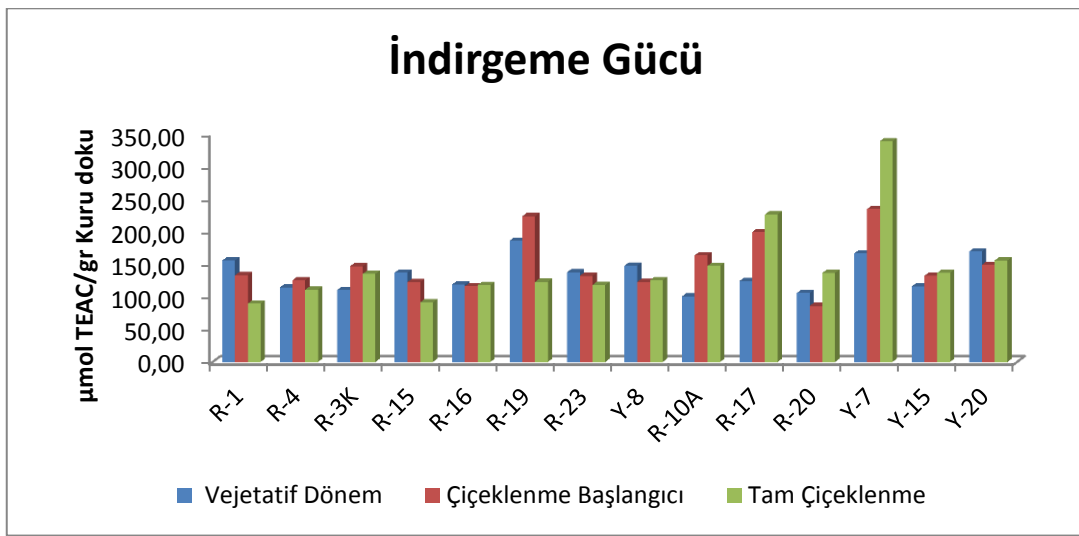
b. DPPH



Şekil 4. 15. DPPH' ın biçim dönemi değişimleri

R-3K, R-19, R-23, R-17 genotiplerinde en yüksek DPPH aktivitesi vejetatif dönemde olduğu belirlenmiştir. Y-7 genotipinde en yüksek DPPH aktivitesinin çarpıcı bir şekilde tam çiçeklenme döneminde olduğu belirlenmiştir. Diğer genotipler arasında önemli sayılabilecek farklılıklar bulunmadığı gözlenmiştir.

c. FRAP



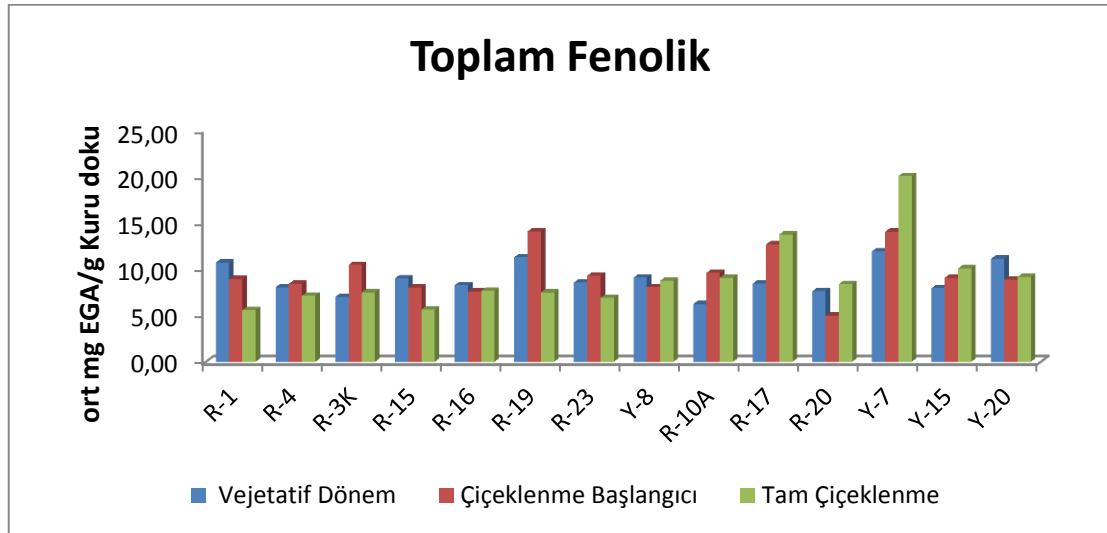
Şekil 4. 16. FRAP' ın biçim dönemi değişimleri

R-17 ve Y-7 genotiplerinde en yüksek FRAP aktivitesinin tam çiçeklenme döneminde olduğu, R-19 genotipinin en yüksek aktivitesinin ise çiçeklenme başlangıcında olduğu görülmüştür. Diğer genotiplerde dönemler arasında önemli farklılıkların bulunmadığı belirlenmiştir.

d. Toplam Fenolik Bileşik Tayini

	Toplam Fenolik ort mg EGA/g kuru doku		
	Vejetatif Dönem	Çiçeklenme Başlangıcı	Tam Çiçeklenme
R-1	10,72	8,94	5,58
R-4	8,05	8,42	7,14
R-3K	7,01	10,47	7,50
R-15	9,02	8,04	5,64
R-16	8,28	7,59	7,67
R-19	11,30	14,08	7,49
R-23	8,57	9,30	6,91
Y-8	9,11	8,06	8,77
R-10A	6,24	9,61	9,08
R-17	8,46	12,68	13,76
R-20	7,64	4,99	8,39
Y-7	11,94	14,05	20,06
Y-15	7,96	9,07	10,09
Y-20	11,13	8,88	9,18

Çizelge 4. 8. Toplam Fenolik miktarının dönemsel değişimi



Şekil 4. 17. Toplam Fenolik' in biçim dönemi değişimleri

Y-7 genotipinde fenolik bileşik miktarının Tam çiçeklenme döneminde yüksek olduğu, R-19 genotipinde ise en yüksek fenolik bileşik miktarının çiçeklenme başlangıcı döneminde olduğu belirlenirken, Diğer genotiplerde biçim dönemleri arasında önemli farklılıkların bulunmadığı gözlenmiştir.

e. Ferrik Tiyosiyonat Antioksidan Aktivitesi (Toplam Antioksidan)

Toplam antioksidan aktivite testinde her 10 saatte bir lipid peroksidasyonunun durumunu belirlemek amacıyla ölçüm yapıldı ve bu işlem toplamda 50 saat sürdü. 50 saat sonunda örneklerdeki peroksidasyonun biçim dönemleri arasındaki durumu karşılaştırılarak Çizelge 4.9. 'de sunulmuştur.

10.SAAT						
	Vejetatif		Çiçeklenme Başlangıcı		Tam Çiçeklenme	
	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma
R-1	28,44	0,46	46,89	0,73	48,04	0,38
R-4	47,41	0,60	52,23	0,96	55,67	0,50
R-3K	40,54	0,49	53,50	0,97	51,68	0,51
R-15	38,52	0,86	40,52	0,44	40,51	0,21
R-16	49,64	1,25	57,54	0,79	52,85	1,19
R-19	30,58	0,50	31,44	0,28	40,38	0,59
R-23	43,84	0,90	44,16	0,73	40,84	0,93
Y-8	37,41	0,64	42,81	0,55	48,65	1,54
R-10A	47,27	0,66	39,04	0,95	41,74	0,96
R-17	39,87	0,28	34,21	0,57	33,17	0,96
R-20	48,31	0,74	53,09	1,39	43,00	1,41
Y-7	55,20	0,66	39,55	0,62	34,30	0,88
Y-15	52,14	0,66	43,41	0,63	44,12	1,66
Y-20	39,29	0,49	33,25	0,28	35,95	0,70

(a)

20.SAAT						
	Vejetatif		Çiçeklenme başlangıcı		Tam çiçeklenme	
	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma
R-1	34,11	0,42	60,52	0,93	60,84	0,35
R-4	56,38	0,29	64,32	0,21	70,34	1,00
R-3K	49,71	0,40	65,29	0,39	63,36	0,14
R-15	47,97	0,53	49,51	0,57	50,49	0,69
R-16	64,09	0,81	70,86	0,74	65,82	0,20
R-19	37,59	0,38	39,49	0,33	51,92	0,46
R-23	56,43	0,21	54,52	0,67	52,66	0,40
Y-8	46,86	0,31	52,35	0,53	62,91	0,79
R-10A	59,94	0,42	48,04	0,34	53,96	0,50
R-17	49,84	0,50	43,75	0,37	43,20	0,46
R-20	60,64	0,43	66,62	0,58	56,72	0,39
Y-7	70,30	0,61	50,44	0,79	44,42	0,27
Y-15	66,57	0,37	55,16	0,44	58,39	0,55
Y-20	50,81	0,37	42,74	0,17	47,03	0,29

(b)

30.SAAT						
	Vejetatif		Çiçeklenme başlangıcı		Tam çiçeklenme	
	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma
R-1	33,35	0,25	58,50	1,00	60,24	0,33
R-4	56,21	0,65	60,80	0,43	70,02	0,17
R-3K	48,66	0,77	64,24	0,55	63,14	0,28
R-15	45,92	0,38	48,18	0,52	50,89	0,54
R-16	60,05	0,74	68,59	0,75	65,44	0,43
R-19	36,80	0,25	38,01	0,14	51,76	0,66
R-23	52,92	0,39	53,41	0,27	52,17	0,40
Y-8	46,00	0,34	51,98	0,54	61,93	0,45
R-10A	58,36	0,49	47,30	0,33	53,37	0,29
R-17	48,66	0,34	43,05	0,22	42,82	0,57
R-20	59,66	0,87	66,05	0,47	56,98	0,87
Y-7	67,88	0,28	50,31	0,70	44,54	0,63
Y-15	64,66	0,65	55,07	0,50	57,19	0,71
Y-20	48,82	0,47	41,89	0,23	46,19	0,51

(c)

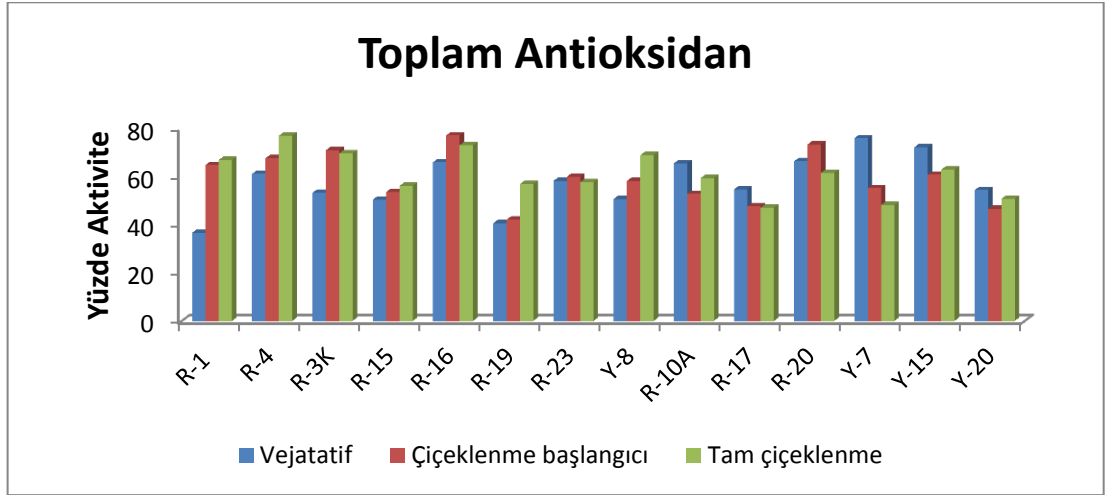
40.SAAT						
	Vejetatif		Çiçeklenme başlangıcı		Tam çiçeklenme	
	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma
R-1	36,42	0,28	62,77	0,30	65,47	0,66
R-4	60,87	0,50	66,22	0,32	75,78	0,64
R-3K	53,03	0,29	69,36	1,44	67,62	0,55
R-15	50,27	0,32	51,99	0,34	54,38	0,71
R-16	65,85	0,69	75,21	0,46	70,51	0,84
R-19	40,29	0,21	41,27	0,36	55,64	0,70
R-23	57,94	0,43	58,19	0,55	56,61	0,67
Y-8	49,81	0,32	56,38	0,16	67,38	0,59
R-10A	62,86	0,49	51,21	0,36	57,81	0,31
R-17	52,45	0,24	46,42	0,31	46,14	0,32
R-20	63,64	0,32	71,18	0,47	60,66	0,83
Y-7	73,00	0,40	54,03	0,38	47,30	0,12
Y-15	69,55	0,34	59,30	0,83	61,92	0,35
Y-20	52,50	0,17	45,47	0,22	50,13	0,42

(d)

50.SAAT						
	Vejetatif		Çiçeklenme başlangıcı		Tam çiçeklenme	
	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma	Yüzde Aktivite	STD sapma
R-1	36,53	0,38	64,70	0,55	66,85	0,59
R-4	61,11	0,68	67,59	0,24	76,94	0,57
R-3K	53,19	0,32	70,86	0,52	69,58	0,62
R-15	50,30	0,43	53,51	0,50	56,08	0,31
R-16	65,89	0,49	77,09	0,26	73,02	0,45
R-19	40,54	0,59	42,06	0,20	56,84	0,63
R-23	58,14	0,71	59,86	0,44	57,62	0,15
Y-8	50,65	0,57	58,16	0,95	68,86	0,51
R-10A	65,42	0,39	52,73	0,33	59,29	0,20
R-17	54,62	0,52	47,62	0,26	47,07	0,20
R-20	66,33	0,54	73,29	0,51	61,44	0,34
Y-7	75,87	0,70	55,15	0,35	48,10	0,73
Y-15	72,18	0,57	60,70	0,40	62,81	0,48
Y-20	54,32	0,31	46,53	0,53	50,69	0,22

(e)

Çizelge 4. 9. Biçim dönemleri arasındaki toplam antioksidan aktivitesinin 50 saat boyunca ölçümlerinin karşılaştırması (a,b,c,d,e)



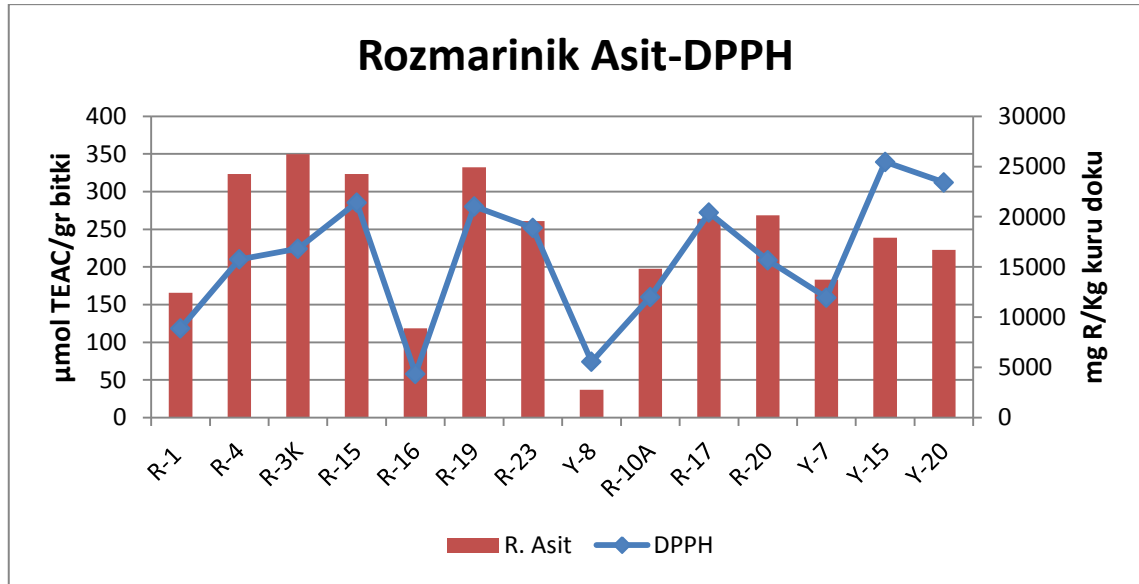
Şekil 4. 18. Biçim dönemleri arasındaki toplam antioksidan aktivitesinin 50. saat ölçüm karşılaştırması

R-1, R-4, R-19, Y-8, genotiplerinde en yüksek aktivitenin tam çiçeklenme döneminde olduğu, R-16 ve R-20 genotiplerinde ise en yüksek aktivitenin çiçeklenme başlangıcı döneminde olduğu belirlenmiştir. Vejetatif dönemde en yüksek aktiviteye sahip olan genotipin Y-7 olduğu gözlenmiştir.

4.3. Reyhan Örneklerinin Antioksidan Aktivitesi ile Fenolik bileşik miktarları arasındaki korelasyon ilişkisi

Korelasyon katsayısı (r) 0 ile 1 arasında bir değer alır. 0 hiç ilişki olmadığını, 1 ise tam bir ilişki olabileceğini bildirir. Katsayı (+) ya da (-) olabilir. Örneğin +0,89 olursa iki değişken arasında pozitif bir ilişki var demektir. Biri artınca diğeri de artacaktır diye beklenir. -0,89 olursa, biri artınca diğeri azalacaktır ve negatif ilişki vardır denir. Ancak korelasyon bir neden-sonuç ilişkisi değildir.

Tokat ekolojisinde yetiştirilen ve çiçeklenme başlangıcı döneminde hasat edilen reyhan örneklerindeki fenolik bileşiklerin miktarı ile bu örneklerdeki DPPH, ABTS ve FRAP aktiviteleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Şekil 4.19. , Şekil 4.20. ve Şekil 4.21. 'de bu ilişkiler sunulmuştur.

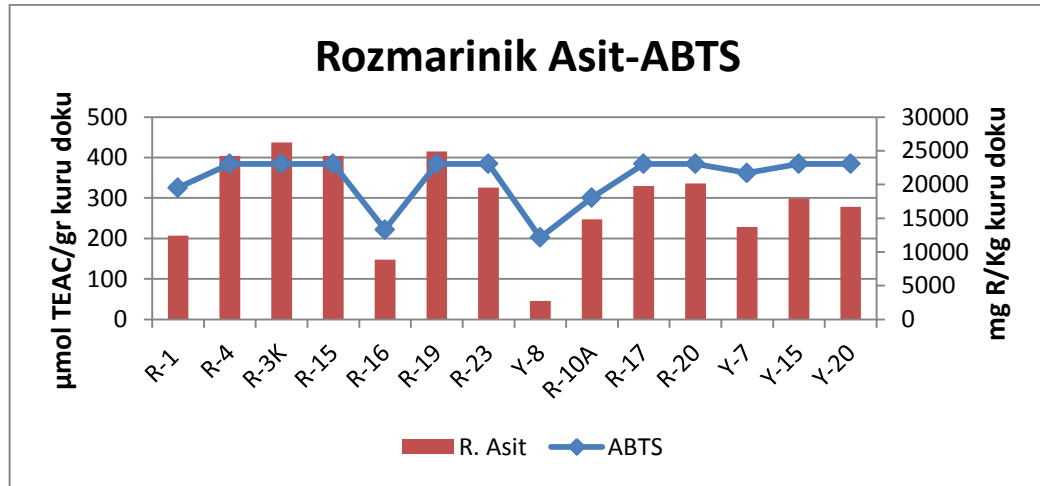


Değişkenler	DPPH	Rozmarinik Asit
DPPH	1	.72**
Rozmarinik Asit	.72**	1

** p < 0.01 level, n = 14

Şekil 4. 19. Rozmarinik Asit ile DPPH aktivitesinin korelasyon ilişkisi

Tokatta yetiştirilen ve çiçeklenme başlangıcı döneminde hasat edilen reyhan örneklerinin DPPH antioksidan aktivitesi ile örneklerin içinde bulunan rozmarinik asit miktarlarının korelasyon ilişkisi incelendi. Elde edilen grafiğe bakıldığında ABTS ile rozmarinik asit arasında % 72 lik pozitif bir ilişki olduğu belirlendi. Bu oran değerlendirildiğinde, anlamlı ve yüksek bir ilişki olduğu söylenilebilir.

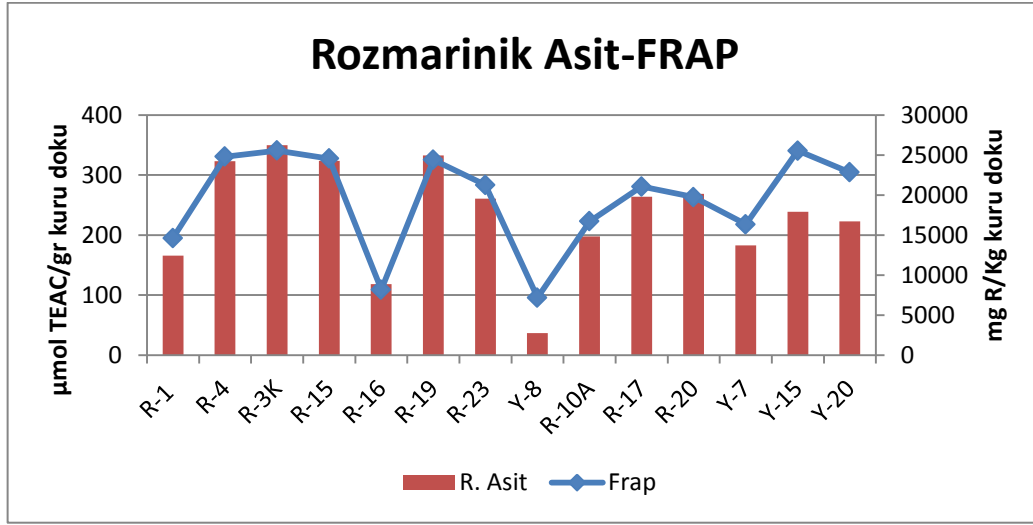


Değişkenler	ABTS	Rozmarinik Asit
ABTS	1	,87(**)
Rozmarinik Asit	,87(**)	1

**** p < 0.01 level, n = 14**

Şekil 4. 20. Rozmarinik Asit ile ABTS aktivitesinin korelasyon ilişkisi

Tokatta yetiştirilen ve çiçeklenme başlangıcı döneminde hasat edilen reyhan örneklerinin ABTS antioksidan aktivitesi ile örneklerin içinde bulunan rozmarinik asit miktarlarının korelasyon ilişkisi incelendi. Edilen korelasyon ilişkisi ve grafiğe bakıldığında ABTS ile rozmarinik asit arasında % 87 lik pozitif bir ilişki olduğu belirlendi. Bu oran değerlendirildiğinde, anlamlı ve yüksek bir ilişkinin var olduğu söylenebilir.



Değişkenler	FRAP	Rozmarinik Asit
FRAP	1	,92(**)
Rozmarinik Asit	,92(**)	1

** $p < 0.01$ level, $n = 14$

Şekil 4. 21. Rozmarinik Asit ile FRAP aktivitesinin korelasyon ilişkisi

Tokatta yetiştirilen ve çiçeklenme başlangıcı döneminde hasat edilen reyhan örneklerinin FRAP antioksidan aktivitesi ile örneklerin içinde bulunan rozmarinik asit miktarlarının korelasyon ilişkisi incelendi. Elde edilen korelasyon ilişkisi ve grafiğe bakıldığında FRAP ile rozmarinik asit arasında % 92 lik pozitif bir ilişki olduğu belirlendi. Bu oran değerlendirildiğinde, anlamlı ve yüksek bir ilişkinin var olduğu gözlenmiştir.

Tokatta yetiştirilen ve çiçeklenme başlangıcı döneminde hasat edilen reyhan örneklerindeki diğer fenolik bileşikler ile antioksidan aktiviteleri arasındaki korelasyon ilişkisi Çizelge 4.10. da sunulmuştur.

	ABTS	DPPH	FRAP
Rozmarinik Asit	0,87(**)	0,72(**)	0,92(**)
Sisorik Asit	0,55(*)	0,52	0,61(*)
Rutin	0,51	0,47	0,49
4-hidroksibenzoik Asit	-0,04	-0,20	0,4
Ferulik Asit	0,38	0,36	0,45
Gallik Asit	0,01	0,11	-0,10
Gentisik Asit	0,18	0,12	0,34
Kuarsetin	-0,20	-0,16	-0,13
Kafeik Asit	0,18	0,09	0,3

Çizelge 4. 10. Reyhan örneklerindeki Fenolik bileşik miktarları ile Antioksidan aktiviteleri arasındaki korelasyon ilişkisi

Fenolik bileşikler ile antioksidan aktivite testleri arasındaki korelasyon ilişkileri incelendiğinde, en yüksek korelasyon ilişkisinin rozmarinik asit ile FRAP aktivitesi arasında olduğu belirlendi. Daha sonra sırasıyla ABTS ve DPPH aktiviteleri ile olan ilişkileri gelmektedir. Bu bulgu rozmarinik asidin, antioksidan aktivite üzerine doğrudan etki ettiğinin bir göstergesi olarak sunulabilir. Sisorik asit ile antioksidan aktiviteler arasında orta seviyelerde korelasyon ilişkisi olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada reyhan örneklerinin içerisinde bulunan diğer fenolik bileşikleri ile antioksidan aktiviteler arasında korelasyon ilişkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada; Bursa Uludağ Üniversitesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi ve Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü araştırma ve uygulama alanında yetiştirilen 14 farklı reyhan (*Ocimum Basilicum*) genotipinin farklı lokasyonlardaki ve farklı biçim dönemlerindeki fenolik bileşik kompozisyonları ve antioksidan aktiviteleri değişimi araştırılarak daha sonra bu ikisi arasındaki korelasyon ilişkileri incelenmiştir.

14 farklı reyhan genotipi lokasyon çalışmaları için, Bursa, Eskişehir ve Tokat ekolojilerinde yetiştirilip çiçeklenme başlangıcı dönemlerinde hasat edilerek kurutuldu. Biçim dönemi çalışmaları için, Bursa ilinde yetiştirilen reyhan genotipleri vejetatif, çiçeklenme başlangıcı dönemi ve tam çiçeklenme dönemi olmak üzere 3 farklı dönemde hasat edildi ve kurutuldu. Çalışma kapsamında Reyhan örnekleri içerisindeki 9 adet fenolik bileşiğin varlığı ve miktarları LC-TOF cihazı yardımı ile belirlendi. Belirlenen fenolik bileşikler ve miktarlarının lokasyon değişimi Çizelge 4.1. de verilirken biçim dönemleri değişimleri Çizelge 4.6. de sunulmaktadır.

Reyhan ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda rozmarinik asidin reyhan genotiplerinde baskın fenolik bileşik olduğu rapor edilmiştir (Javanmardi ve ark., 2002; Jayasinghe ve ark., 2003; Nguyen ve Niemeyer, 2008). *Lamiaceae* familyasının pek çok türünde (adaçayı, kekik, biberiye ve nane) ana fenolik bileşik olarak rozmarinik asit olduğu daha önceki çalışmalarda belirtmektedirler (Kivilompalo ve Hyotylainen, 2007; Fecka ve Turek, 2008). Ayrıca, reyhan genotiplerinde rozmarinik asidin yanı sıra ikinci baskın fenolik bileşiğin sisorik asit olduğunu rapor etmişlerdir (Lee ve Scagel, 2010).

Yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre bütün genotiplerin, ekoloji ve biçim dönemleri fenolik bileşik değişimlerinin aynı paralellikte olmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle, incelenen genotiplerin fenolik bileşik içerikleri yüksek olduğu ekoloji ve biçim dönemleri aşağıdaki şekilde sıralanabilir;

R-1 genotipi için;

En yüksek rozmarinik asit miktarı Eskişehir lokasyonunda olup ardından Tokat ve Bursa lokasyonları gelmektedir. Sisorik asit miktarı bakımından incelendiğinde en yüksek Tokat lokasyonunda olup daha sonra sırasıyla Eskişehir ve Bursa illeri takip etmektedir. R-1 genotipinin en çarpıcı özelliklerinden biri rutin miktarının diğer genotiplerden çok düşük olduğudur ve ekolojiler arasında önemli bir fark bulunmamasıdır. Kafeik asit miktarı bakımından incelediğimizde, en fazla Bursa lokasyonunda olup bunu sırasıyla Eskişehir ve Tokat ili takip etmektedir. Diğer fenolik bileşikler bu genotipte olduğu gibi tüm genotiplerde miktarları az olduğu için ekolojiler arasında önemli farklılıkların mevcut olmadığı görülmüştür.

R-1 genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit, sisorik asit ve kafeik asit miktarları en fazla vejetatif dönemde olup bunu sırasıyla çiçeklenme başlangıcı ve tam çiçeklenme dönemleri takip etmektedir. Rutin miktarı R-1 genotipinde az olduğu için dönemler arasında farklılık görülmemiştir.

R-4 genotipi için;

En yüksek rozmarinik asit miktarı Tokat lokasyonunda olup ardından Eskişehir ve Bursa lokasyonları gelmektedir. Sisorik asit miktarı bakımından incelendiğinde, en yüksek Tokat lokasyonunda olduğu, daha sonra sırasıyla Bursa ve Eskişehir lokasyonlarının takip ettiği belirlenmiştir. R-4 genotipindeki rutin miktarının Tokat lokasyonunda diğer lokasyonlardan çok daha yüksek olduğu görülmektedir ve daha sonra sırasıyla bunu Eskişehir ve Bursa lokasyonlarının takip ettiği görülmüştür. Kafeik asit miktarı bakımından R-4 genotipinin lokasyonlar arasındaki dağılımı, R-1 genotipi ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

R-4 genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit ve kafeik asit miktarları en yüksek vejetatif dönemde olduğu, bunu sırasıyla çiçeklenme başlangıcı ve tam çiçeklenme dönemlerinin takip ettiği belirlenmiştir. Sisorik asit miktarı en yüksek vejetatif ve çiçeklenme başlangıcı döneminde olurken birbirlerine yakındır. Rutin miktarı en yüksek tam çiçeklenme döneminde olurken bunu sırasıyla çiçeklenme başlangıcı ve vejetatif dönem takip ettiği görülmüştür.

R-3K genotipi için;

Rozmarinik asit, sisorik asit ve rutin miktarlarının lokasyonlar arasındaki dağılımları R-4 genotipi ile benzerlik göstermektedir ve R-3K genotipler arasında en fazla rozmarinik aside sahip bir genotip olduğu belirlenmiştir. Kafeik asit miktarında ise en yüksek Bursa lokasyonunda olduğu bunu sırasıyla Tokat ve Eskişehir lokasyonları takip ettiği görülmüştür.

R-3K genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit miktarı vejetatif dönem ile çiçeklenme başlangıcı dönemlerinde birbirlerine yakın ve en yüksek bu dönemlerde olduğu belirlenmiştir. Sisorik asit miktarı en yüksek çiçeklenme başlangıcı döneminde olduğu bunu sırasıyla tam çiçeklenme ve vejetatif dönemlerinin takip ettiği belirlenmiştir. R-3K genotipindeki rutin miktarı R-4 genotipindeki dağılım ile benzerlik gösterdiği bulunmuştur. Kafeik asit miktarı en yüksek çiçeklenme başlangıcı döneminde olduğu bunu sırasıyla vejetatif ve tam çiçeklenme dönemlerinin takip ettiği görülmüştür.

R-15 genotipi için;

Rozmarinik asit, sisorik asit, rutin ve kafeik asit miktarlarının lokasyonlara göre dağılımları R-4 genotipinin lokasyonlar arasındaki dağılımı ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

R-15 genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit miktarı en yüksek vejetatif dönemde olduğu bunu sırasıyla tam çiçeklenme ve çiçeklenme başlangıcı dönemlerinin takip ettiği belirlenmiştir. Sisorik asit ve kafeik asit miktarları R-1 genotipindeki dağılım ile benzerlik gösterdiği görülmüştür. Rutin miktarı en yüksek çiçeklenme başlangıcı döneminde olduğu bunu sırasıyla tam çiçeklenme ve vejetatif dönemlerinin takip ettiği belirlenmiştir.

R-16 genotipi için;

En yüksek rozmarinik asit miktarı Eskişehir lokasyonunda olduğu, ardından Bursa ve Tokat lokasyonlarının geldiği görülmüştür. Sisorik asit miktarı bakımından incelendiğinde, Eskişehir ve Tokat lokasyonlarının birbirlerine yakın olduğu ve bu iki lokasyonun Bursa lokasyonundan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Rutin miktarı en yüksek Eskişehir lokasyonunda olduğu bunu sırasıyla Tokat ve Bursa lokasyonlarının takip ettiği görülmüştür. Kafeik asit miktarı en yüksek Bursa lokasyonunda olduğu, Eskişehir ve Tokat lokasyonlarının da birbirlerine yakın olduğu tespit edilmiştir.

R-16 genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit ile kafeik asit miktarları R-1 genotipindeki dağılım ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Sisorik asit miktarı en yüksek vejetatif dönemde olduğu bunu sırasıyla tam çiçeklenme ve çiçeklenme başlangıcı dönemlerinin takip ettiği görülürken, rutin miktarının dağılımı çoktan aza doğru sırlandığında tam çiçeklenme dönemi, vejetatif ve çiçeklenme başlangıcı dönemlerinin geldiği belirlenmiştir.

R-19 genotipi için;

Rozmarinik asit ve sisorik asit miktarlarının lokasyonlar arasındaki dağılımları bakımından R-4 genotipi ile paralellik gösterdiği görülmüştür. Rutin miktarının Eskişehir’de en yüksek olduğu bunu sırasıyla Bursa ve Tokat lokasyonlarının takip ettiği belirlenmiştir. Kafeik asit miktarı bakımından; çalışılan bütün genotipler arasında en yüksek R-19 genotipinin Bursa lokasyonunda olduğu tespit edilmiştir.

R-19 genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit, sisorik asit ve kafeik asit miktarları en yüksek çiçeklenme başlangıcı döneminde olduğu, vejetatif ile tam çiçeklenme dönemindeki miktarların birbirlerine yakın ve daha düşük olduğu belirlenmiştir. Rutin miktarı, R-4 genotipinin dağılımı ile benzerlik gösterdiği görülmüştür.

R-23 genotipi için;

Rozmarinik asit miktarı, en yüksek Eskişehir lokasyonunda olmasına rağmen Tokat lokasyonu ile aralarında önemli bir fark görülmemiştir. Çalışılan 14 genotip arasında en yüksek sisorik asit ve rutin miktarları, R-23 genotipinin Tokat lokasyonunda olduğu tespit edilmiştir.

Rutin ve sisorik asidin lokasyonlar arasındaki dağılımında daha sonra sırasıyla Eskişehir ve Tokat'ın takip ettiği belirlenmiştir. Kafeik asit miktarı en yüksek Eskişehir de olup sırasıyla Bursa ve Tokat lokasyonlarının takip ettiği görülmüştür.

R-23 genotipindeki fenolik bileşik miktarların biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit ile kafeik asit miktarları en yüksek vejetatif dönemde olduğu, bunu sırasıyla tam çiçeklenme ve çiçeklenme başlangıcı dönemlerinin takip ettiği görülmüştür. Sisorik asit miktarı R-1 genotipinin dağılımı ile benzerlik gösterirken, rutin miktarı R-4 genotipi ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Y-8 genotipi için;

Çalışılan 14 reyhan genotipinden en düşük rozmarinik asit miktarı bu genotipin tam çiçeklenme döneminde bulunduğu görülmüştür. Bu genotipin lokasyonlar arasındaki değişimi incelendiğinde, en yüksek Bursa lokasyonunda olduğu, daha sonra sırasıyla Eskişehir ve Tokat lokasyonlarının takip ettiği belirlenmiştir. Sisorik asit miktarının lokasyonlar arasındaki dağılımı R-3K genotipi ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Rutin miktarının en yüksek Tokat lokasyonunda olduğu daha sonra sırasıyla Eskişehir ve Bursa lokasyonlarının bunu takip ettiği görülmüştür. Kafeik asit miktarının en yüksek Bursa lokasyonunda olduğu bunu sırasıyla Eskişehir ve Tokat lokasyonlarının izlediği belirlenmiştir.

Y-8 genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit, sisorik asit ve kafeik asit miktarlarındaki dağılım R-1 genotipi ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Rutin miktarının dağılımı ise R-16 ile benzerlik gösterdiği görülmüştür.

R-10A genotipi için;

Rozmarinik asit miktarının lokasyonlar arasındaki değişimleri bakımından R-16 ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Sisorik asit miktarı en yüksek Tokat lokasyonunda olduğu bunu sırasıyla Eskişehir ve Bursa lokasyonlarının izlediği, rutin miktarının en yüksek Tokat lokasyonunda olduğu bunu sırasıyla Bursa ve Eskişehir lokasyonlarının takip ettiği görülmüştür. Kafeik asit miktarının en yüksek Bursa lokasyonunda olduğu Eskişehir ve Tokat lokasyonlarındaki miktarların ise yakın olduğu tespit edilmiştir.

R-10A genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit miktarı en yüksek tam çiçeklenme döneminde olduğu, bunu sırasıyla çiçeklenme başlangıcı ve vejetatif dönemlerin izlediği görülmüştür. Sisorik asit miktarı dağılımı R-19 genotipi ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Rutin miktarı en yüksek çiçeklenme başlangıcı döneminde bulunup, bunu sırasıyla tam çiçeklenme ve vejetatif dönemlerin takip ettiği görülmüştür. Kafeik asit miktarının dağılımı R-1 genotipi ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

R-17 genotipi için;

Rozmarinik asit, sisorik asit ve rutin miktarlarının ekolojiler arasındaki değişimi bakımından R-23 genotipi ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Kafeik asit miktarının lokasyonlar arasındaki değişimi bakımından R-1 genotipi ile benzerlik görülmüştür.

R-17 genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit, sisorik asit, rutin ve kafeik asit miktarlarının dağılımı R-10A genotipi ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

R-20 genotipi için;

Rozmarinik asit miktarı en yüksek Tokat lokasyonunda olduğu, Eskişehir ve Bursa lokasyonlarında birbirlerine yakın olduğu görülmüştür. Sisorik asit miktarı Y-8 genotipinde olan ekolojik değişim ile benzerlik gösterirken, rutin ve kafeik asit miktarları R-10A genotipi ile paralellik göstermektedir.

R-20 genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit miktarı en yüksek tam çiçeklenme döneminde olduğu, bunu sırasıyla vejetatif ve çiçeklenme başlangıcı dönemlerinin takip ettiği görülmüştür. Sisorik asit, rutin ve kafeik asit miktarlarının dağılımı ise R-4 genotipi ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Y-7 genotipi için;

Rozmarinik asit, sisorik asit, rutin ve kafeik asit miktarlarının lokasyonlar arasındaki dağılımları Y-8 genotipi ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Y-7 genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit ve kafeik asit miktarlarının dağılımı R-10A genotipi ile benzerlik gösterirken, sisorik asit ile rutin miktarları R-23 genotipi ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Y-15 genotipi için;

Rozmarinik asit ve sisorik asit miktarlarının lokasyonlar arasındaki dağılımı bakımından R-1 ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Rutin ve kafeik asit miktarları ise R-23 genotipi ile paralellik gösterdiği bulunmuştur.

Y-15 genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, Rozmarinik asit miktarı R-3K genotipinin dağılımıyla benzerlik gösterirken, sisorik asit miktarının en yüksek vejetatif dönemde olduğu belirlenmiştir. Rutin ve kafeik asit miktarlarının dağılımı ise R-4 genotipi ile benzerlik göstermiştir.

Y-20 genotipi için;

Rozmarinik asit ve kafeik asit miktarları R-1 genotipi ile benzerlik gösterdiği görülürken, sisorik asit ve rutin miktarlarının lokasyonlar arasındaki dağılımları R-3K genotipi ile benzerlik göstermiştir.

Y-20 genotipindeki fenolik bileşik miktarlarının biçim dönemlerindeki dağılımı incelendiğinde, rozmarinik asit, sisorik asit, rutin ve kafeik asit miktarlarının dağılımı R-4 genotipinin dağılımı ile benzerlik içindedir.

ABTS, DPPH ve FRAP antioksidan aktivitelerinin ekolojik ve biçim dönemlerine göre değişimleri şu şekilde sıralanabilir.

Ekolojik karşılaştırma;

ABTS antioksidan aktivite testinde, R-16, Y-8, R-10A ve Y-7 genotipleri dışındaki bütün genotiplerin aktiviteleri çoktan aza doğru sırasıyla Tokat, Eskişehir ve Bursa lokasyonları olarak dizildiği belirlenmiştir (Şekil 4.5).

DPPH antioksidan aktivite testinde, R-16 ve R-10A genotipleri dışındaki tüm genotiplerin aktiviteleri çoktan aza doğru Tokat, Eskişehir ve Bursa lokasyonları olarak sıralandığı tespit edilmiştir (Şekil 4.6).

FRAP antioksidan testinde R-16, Y-7, Y-8 ve R-10A genotipleri dışındaki tüm genotiplerin aktiviteleri çoktan aza doğru Tokat, Eskişehir ve Bursa lokasyonları olarak sıralandığı tespit edilmiştir (Şekil 4.7).

Toplam Fenolik bakımından R-16, Y-8, R-10A ve Y-7 genotipleri dışındaki tüm genotiplerin çoktan aza doğru Tokat, Eskişehir ve Bursa lokasyonları olarak sıralandığı görülmüştür (Şekil 4.8).

R-16 ve R-10A genotiplerinin ABTS, DPPH ve FRAP aktivitelerindeki genellemenen farklı olan sıralaması, çoktan aza doğru Eskişehir, Tokat ve Bursa lokasyonları olarak seyrettiği görülmüştür.

Y-8 genotipinin ABTS ve FRAP aktivitelerindeki sıralama çoktan aza doğru sıralandığında en yüksek Bursa lokasyonunda olduğu, Eskişehir ve Tokat lokasyonlarının birbirlerine yakın aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Y-7 genotipinin ABTS ve FRAP aktivitelerindeki değişimde ise her üç lokasyonda da birbirlerine yakın olduğu tespit edilmiştir.

Genel olarak lokasyonlar arasındaki antioksidan aktivitelerindeki sıralamaların bu şekilde seyretmesinin nedeni olarak rozmarinik asit miktarı gösterilebilir. Antioksidan aktivitelerin genellemesi dışında kalan genotiplere bakıldığı zaman rozmarinik asidin en fazla olduğu yerlerde aktivitenin de en fazla olduğu göze çarpmaktadır. Bu sonuçların, Şekil 4.19, Şekil 4.20 ve Şekil 4.21 de verilen korelasyon ilişkisini desteklediği görülmektedir.

Toplam antioksidan aktivitelerinin lokasyonlar arasındaki dağılımı incelendiğinde, 50.saatın sonunda genel olarak Bursa lokasyonunda yüzde aktivitelerin daha yüksek olduğu, bunu Eskişehir ve Tokat lokasyonlarının izlediği görülmüştür (Şekil 4.9).

Biçim dönemleri karşılaştırması;

ABTS antioksidan aktivitesi bakımından çalışılan reyhan genotiplerinde genel olarak dönemler arasında büyük ölçüde farklar bulunmazken bazı genotiplerde biçim dönemindeki aktivitelerin değiştiğini görmek mümkündür. Bu genotipler R-19, R-17 ve Y-7 genotipleri olup, R-19 ve R-17 genotipinde çiçeklenme başlangıcı döneminde aktivitenin daha yüksek olduğu, Y-7 genotipinde de tam çiçeklenme döneminde fazla olduğu görülmüştür (Şekil 4.14).

DPPH antioksidan aktivitesi bakımından çalışılan reyhanlarda, ABTS aktivitesinde olduğu gibi bazı genotipler dışında dönemler arasında önemli farklılıklar bulunmamaktadır. DPPH aktivitesi bakımından R-3K, R-19 ve R-17 genotiplerinin aktivitesi en fazla çiçeklenme başlangıcı döneminde olurken, Y-7 genotipinde ise tam çiçeklenme döneminde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.15).

FRAP antioksidan aktivitesi bakımından çalışılan reyhanlarda, ABTS aktivitesinde olduğu gibi dönemler arasındaki dağılım ile benzerlik göstermektedir (Şekil 4.16.).

Toplam Fenolik bileşik bakımından dönemler arasındaki dağılım incelendiği zaman, R-19, R-17 ve Y-7 genotipleri dışındaki tüm genotiplerde dönemler arasında önemli farklılıklar bulunmamaktadır. R-19 genotipinde en yüksek toplam fenolik bileşik tam çiçeklenme döneminde belirlenirken, R-17 ve Y-7 genotiplerinde ise tam çiçeklenme dönemlerinde olduğu bulunmuştur (Şekil 4.17).

Toplam antioksidan aktivitelerindeki dönemsel değişim incelendiği zaman, 50.saatin sonunda Y-7 genotipi hariç tüm genotiplerde aktivitenin birbirlerine yakın olduğu tespit edilmiş ve Y-7 genotipinde de vejetatif dönemde aktivitenin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.18.).

Sonuçlar değerlendirildiğinde, incelenen 14 farklı reyhan genotipinin fenolik bileşik ve antioksidan aktivite içerikleri lokasyon ve biçim dönemlerine göre değişebileceği görülmüştür.

Üzerinde çalışılan 14 farklı reyhan genotipinin hepsinde en fazla rozmarinik asidin bulunduğu ve ardından sırasıyla sisorik asit, rutin ve kafeik asidin geldiği belirlenmiştir. Yapılan korelasyon çalışmalarıyla antioksidan aktivitelerin reyhan örnekleri içerisinde bulunan tüm fenolik bileşikler ile nasıl değiştiği belirlenerek bunların ekolojik ve biçim dönemleri arasındaki ilişkileri incelenmiştir.

Antioksidan aktiviteye en fazla katkı yapan bileşiğin rozmarinik asit olduğu tespit edilmiştir. Reyhan örnekleri içerisinde en fazla bulunan bu fenolik bileşiğin, antiviral, anti-bakteriyel, antioksidan gibi biyolojik aktivitelere sahip olduğu daha önce yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Charvat ve ark., 2006).

Rozmarinik asidin yanı sıra reyhanlarda en fazla bulunan diğer önemli 3 fenolik bileşik olan sisorik asit, rutin ve kafeik asidin daha önce yapılan çalışmalarda ortaya çıkan bazı özellikleri şunlardır;

Sisorik asidin HIV-1 virüsünü inhibe ettiği ve bu virüse karşı koruyucu etki gösterdiği ortaya konulmuştur (Charvat ve ark., 2006).

Rutin'in serbest radikal giderme aktivitesi, DNA hasarına karşı koruyucu etkisi, anti-tümör, anti-bakteriyel ve anti-enflamatuar özellikleri ve insan platelet agregasyonunun inhibe ettiği rapor edilmiştir (Lin ve ark., 2006).

Kafeik asidin ise anti-enflamatuar (iltihaplanmayı önleyici), antioksidan ve bağışıklık sistemini düzenleyici etkilerini içeren farmakolojik aktivitelerinin geniş spektrumuna sahip olduğu ortaya konulmuştur (Challis ve Bartlett, 1995; Chan ve Ho, 1997; Gulcin, 2006). Farmakolojik çalışmalar sonucunda, kafeik asidin beyinde (Pereira ve ark., 2006) ve beyin iskemisindeki hidrojen peroksitle uyarılmış oksidatif zarara karşı koruyucu etki sergilediğini ve alüminyumun neden olduğu davranışsal ve biyokimyasal değişimler gibi beyin hasarlarını önlediğini göstermiştir (Zhou ve ark., 2006).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre incelenen Reyhan genotiplerinin fenolik asit ve antioksidan aktivite içerikleri lokasyonlara ve hasat edilecek zamana göre değişebileceği görülmüştür. Lokasyonlar arasındaki değişimlerin kaynakları birçok etkene bağlı olabileceği düşünülmektedir. Lokasyonlardaki sıcaklık, nem, yükseklik, ışık ve toprak verimi gibi koşulların bitkilerin sentez yollarında strese neden olduğu şüphesizdir. Biçim dönemlerindeki değişimin kaynağı olarak ise bitkilerin gelişme evrelerindeki sentez reaksiyonlarının durumu verilebilir. Fenolik bileşikler fenilpropanoid metabolik yolu ara ürünlerindendir. Bu metabolik yolda polifenollerin de sentezlendiği bir metabolik yoldur.

Fenilalanin ve trozin amino asitlerinden bir seri enzimle birlikte sentezlenen polifenoller enzimatik kontrol altındadırlar. Enzimlerin aktivitesinin değişmesiyle bu bileşiklerin sentezi değişim göstermektedir. Enzim aktiviteleri birçok faktörler tarafından etkilenmektedir.

Sekonder metabolitlerin sentezi; genetik, pH, iyonik şiddet, allelopatik etkiler, ışık, sıcaklık, iklimatik değişiklikler gibi etkenlerde etkilenmektedir (Dixon ve Paiva, 1995). Enzimlerin aktivitesi bitkinin gelişim sürecindeki büyüme ve gelişmeden de değişiklik gösterebilmektedir. Bu bağlamda, reyhan bitkisinin biçim dönemleri aşamalarına bağlı olarak enzim aktiviteleri de değişebilmektedir. Bu değişimden dolayı da sekonder metabolitlerin üretiminde değişiklik meydana gelebilir.

Bu çalışmada elde edilen bulgular ışığında düşünüldüğünde, çalışmada kullanılan reyhan genotiplerinin fonksiyonel bileşikçe (fenolik asit ve flavonoidler) zengin bir ürünün yetiştirilmesi, en uygun lokasyonun ve hasat dönemlerinin genotiplere göre seçilmesi gerekli olduğu açıkça görülmektedir. Bu çalışmanın bulgularına bakıldığında, rozmarinik asit bakımından zengin bir R-16 genotipi elde edilmek istenirse bunun Eskişehir lokasyonunda yetiştirilmesi ve vejetatif dönemde hasat edilmesi gerektiği, sisorik asit bakımından zengin bir R-23 genotipi elde edilmek istenirse bunun Tokat lokasyonunda yetiştirilmesi ve vejetatif dönemde hasat edilmesi gerektiği görülmektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre tıbbi öneme sahip olan reyhan genotiplerinin tıp, eczacılık ve kozmetik sanayinde kullanılabilirliği içermiş olduğu fitokimyasallara göre belirlenmesi gerekir. Bunun için öne çıkan R-15, R-19, R-23 genotipleri, sisorik asit bakımından zengin olduğundan dolayı bunlarla ilgili antiviral ve antikanser çalışmaların yapılması önerilebilir. Gıda sanayinde antioksidan olarak kullanabilmesi için rozmarinik asit bakımından zengin olan R-3K, R-4, R-15 genotiplerin gıda sanayinde kullanılabilirliğinin araştırılması önerilebilir.

Bu tezin üretildiği 111 O 677 no'lu TÜBİTAK projesinde 96 reyhan genotiplerinin fitokimyasal ve antioksidan bakımından araştırmaları yapılarak bu iki özellik bakımından ön plana çıkan 14 reyhan genotipinin rozmarinik asit ve sisroik asit içeriklerinin yüksek olduğu görülmüştür. Bu maddelerin saflaştırılarak saf halde tüketilmesini moleküllerin kimyasal kararsızlığından dolayı güç olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle reyhan bünyesinde bu bileşiklerin yapısı bozulmayacak şekilde kurutma işlemleri ve yöntemlerinin araştırılması gerektiği kanaatine varılmıştır. Bu sayede ticari ve tıbbi kullanım potansiyeline yardımcı olmasının yanı sıra ileride yapılacak bilimsel çalışmalara ışık tutması bakımından önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Aaby, K., Hvattum, E., Skrede, G., 2004. Analysis of flavonoids and other phenolic compounds using high-performance liquid chromatography with coulometric array detection: Relationship to antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(15), 4595-4603.
- Acar, J., 1998. Fenolik bileşikler ve doğal renk maddeleri. Hacettepe Univ. Yayınları 435-452.
- Adlercreutz, H., Mazur, W., 1997. Phyto-oestrogens and Western diseases. *Annals of Medicine*, 29(2), 95-120.
- Ak, T., Gulcin, I., 2008. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chem Biol Interact*, 174(1), 27-37.
- Akkuş, I., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya.
- Alan Crozier, Jaganath, I. B., Clifford, M. N. 2006. *Plant Secondary Metabolites*. University of Glasgow, UKBlackwell.
- Arts, I. C. W., Hollman, P. C. H., 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 317s-325s.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.
- Bennett, R. N., Wallsgrove, R. M., 1994. Secondary Metabolites in Plant Defense-Mechanisms. *New Phytologist*, 127(4), 617-633.
- Blois, M. S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature Materials*, 26 1199-1200.
- Bursal, E. 2012. Kivi meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin belirlenmesi, karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Capecka, E., Mareczek, A., Leja, M., 2005. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. *Food Chemistry*, 93(2), 223-226.
- Cemeroglu, B., Yemenicioglu, A., Ozkan, M., 2001. Fenolik bileşikler: Meyve ve sebzelerin bileşimi, soğukta depolanmaları. Ankara, 78.
- Challis, B. C., Bartlett, C. D., 1995. Possible carcinogenic effects of coffee constituents. *Nature Materials*, 254 532-533.
- Chan, J. H., Ho, C., 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxy cinnamic acid compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45 2374-2378.
- Charvat, T. T., Lee, D. J., Robinson, W. E., Chamberlin, A. R., 2006. Design, synthesis, and biological evaluation of chicoric acid analogs as inhibitors of HIV-1 integrase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(13), 4552-4567.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M. C., Mecocci, P., 2005. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology and Medicine*, 39(7), 841-852.
- Cook, N. C., Samman, S., 1996. Flavonoids - Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(2), 66-76.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., Lewis, N. G., 2000. Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plant*. American Society of Plant Physiologists 1250-1318.
- Crozier, A., Jaganath, I. B., Clifford, M. N., 2006. Phenols, polyphenols, and tannins: An overview Plantsecondary metabolites. Oxford Blackwell Publishing 1-24.

- Darrah, H., 1974. Investigation of the cultivars of the basils (*Ocimum*). *Economic Botany* 28(1), 63-67.
- Darrah, H. H., 1988. *The Cultivated Basil*. Buckeye Printing, Independence, MO.
- Davies, K. J. A., 1995. Oxidative stress: The paradox of aerobic life. *Free Radicals and Oxidative Stress: Environment, Drugs and Food Additives*(61), 1-31.
- Davis, P. H., 1982. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburg University, 7.
- Dixon, R. A., Paiva, N. L., 1995. Stres-induced phenylpropanoid metabolism. *American Society of Plant Physiologists*, 7 1085-1097.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660.
- Efsa, 2012. Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); Scientific opinion on the re-evaluation of butylated hydroxytoluene – BHT (E 321) as a food additive. *European Food Safety Authority Journal*, 10 2588.
- Elmastas, M., Gulcin, I., Beydemir, S., Kufrevioglu, O. I., Aboul-Enein, H. Y., 2006. A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (*Juniperus communis* L.) fruit extracts. *Analytical Letters*, 39(1), 47-65.
- Fecka, I., Turek, S., 2008. Determination of polyphenolic compounds in commercial herbal drugs and spices from lamiaceae: thyme, wild thyme and sweet marjoram by chromatographic techniques (vol 108, pg 1039, 2008). *Food Chemistry*, 110(4), 1051-1052.
- Giron, L. M., Freire, V., Alonzo, A., Caceres, A., 1991. Ethnobotanical Survey of the Medicinal Flora Used by the Caribs of Guatemala. *J Ethnopharmacol*, 34(2-3), 173-187.
- Grayer, R. J., Kite, G. C., Goldstone, F. J., Bryan, S. E., Paton, A., Putievsky, E., 1996. Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*, 43(5), 1033-1039.
- Grayer, R. J., Vieira, R. F., Price, A. M., Kite, G. C., Simon, J. E., Paton, A. J., 2004. Characterization of cultivars within species of *Ocimum* by exudate flavonoid profiles. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32(10), 901-913.
- Gross, M., 2004. Flavonoids and cardiovascular disease. *Pharmaceutical Biology*, 42 21-35.
- Gulcin, I., 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2-3), 213-220.
- Gulcin, I., 2007. Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa. *Amino Acids*, 32(3), 431-438.
- Gulcin, I., 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol*, 86(3), 345-391.
- Gulcin, I., Alici, H. A., Cesur, M., 2005. Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propofol. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 53(3), 281-285.
- Gulcin, I., Oktay, M., Kirecci, E., Kufrevioglu, O. I., 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83(3), 371-382.
- Gulcin, I., Sat, I. G., Beydemir, S., Kufrevioglu, O. I., 2004. Evaluation of the in vitro antioxidant properties of broccoli extracts (*Brassica oleracea* L.). *Italian Journal of Food Science*, 16(1), 17-30.

- Halliwell, B., Cross, C. E., 1991. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and Acquired-Immunodeficiency-Syndrome - Sense or Speculation. *Archives of Internal Medicine*, 151(1), 29-31.
- Hälvä, S., 1987. Studies on production techniques of some herb plants. I. Effect of Agryl P17 mulching on herb yield and volatile oils of basil (*Ocimum basilicum* L.) and marjoram (*Origanum majorana* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 59.
- Harborne, J. B., 1993. *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. Chapman & Hall, London.
- Higdon, J. V., Frei, B., 2003. Tea catechins and polyphenols: Health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(1), 89-143.
- Hiltunen, R., 1999. Chemical composition of *Ocimum* species In: Holm. *Medicinal and Aromatic Plants e Industrial Profiles*. Harwood Academic, Amsterdam, 67-75.
- Hiltunen, R., Holm, Y., 1999. *Medicinal and Aromatic Plants e Industrial Profiles*. Harwood Academic 77-111.
- Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H. P., Vivanco, J. M., 2002. Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 5878-5883.
- Jayasinghe, C., Gotoh, N., Aoki, T., Wada, S., 2003. Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(15), 4442-4449.
- Jensen, S. J. K., 2003. Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure-Theochem*, 666 387-392.
- Kathirvel, P., Ravi, S., 2012. Chemical composition of the essential oil from basil (*Ocimum basilicum* Linn.) and its in vitro cytotoxicity against HeLa and HEP-2 human cancer cell lines and NIH 3T3 mouse embryonic fibroblasts. *Natural Product Research*, 26(12), 1112-1118.
- Kaurinovic, B., Popovic, M., Vlasisavljevic, S., Trivic, S., 2011. Antioxidant Capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. Extracts. *Molecules*, 16(9), 7401-7414.
- Kehre, J. P., Smith, J. V., 1994. Free radicals in biology: sources, reactivities and roles in etiology of human diseases; in Frei B(ed): *natural antioxidants in human health and disease*. San Diego, Academic Press 25-62.
- Kivilompolo, M., Hyotylainen, T., 2007. Comprehensive two-dimensional liquid chromatography in analysis of Lamiaceae herbs: Characterisation and quantification of antioxidant phenolic acids. *Journal of Chromatography A*, 1145(1-2), 155-164.
- Koes, R. E., Quattrocchio, F., Mol, J. N. M., 1994. The Flavonoid Biosynthetic-Pathway in Plants - Function and Evolution. *Bioessays*, 16(2), 123-132.
- Kopani, M., Celec, P., Danisovic, L., Michalka, P., Biro, C., 2006. Oxidative stress and electron spin resonance. *Clin Chim Acta*, 364(1-2), 61-66.
- Kott, L. S., Fletcher, R. S., Slimmon, T., McAuley, C. Y., 2005. Heat stress reduces the accumulation of rosmarinic acid and the total antioxidant capacity in spearmint (*Mentha spicata* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85 2429-2436.

- Lai, L. S., Chou, S. T., Chao, W. W., 2001. Studies on the antioxidative activities of hsian-tsao (*Mesona procumbens* Hemsl) leaf gum. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(2), 963-968.
- Lee, J., 2010. Caffeic acid derivatives in dried Lamiaceae and Echinacea purpurea products. *Journal of Functional Foods*, 2(2), 158-162.
- Lee, J., Scagel, C. F., 2010. Chicoric acid levels in commercial basil (*Ocimum basilicum*) and Echinacea purpurea products. *Journal of Functional Foods*, 2(1), 77-84.
- Lin, X.-Q., He, J.-B., Zha, Z.-G., 2006. Simultaneous determination of quercetin and rutin at a multi-wall carbon-nanotube paste electrodes by reversing differential pulse voltammetry. *Sensors and Actuators B*, 119 608-614
- Luo, Y., Cai, Q., Sun, M., Corke, H., 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Science*, 74 2157–2184.
- Maier, G., Mayer, P., Dietrich, H., Wucherpfennig, K., 1990. Polyphenoloxidasen und ihre Anwendung bei der Stabilisierung von Fruchtsäften. *Flüssiges Obst*, 57 (4), 230-239.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1-2), 91-96.
- Mitsuda, K., Y., Iwami, K., 1996. Antioxidation action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Journal of Japanese Society of Food and Nutrition (Eiyo to Shokur)*, 19 210-214.
- Nacar, S., Tansi, S., 2000. Chemical components of different basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown in Mediterranean regions in Turkey. *Israel Journal of Plant Sciences*, 48(2), 109-112.
- Neuhouser, M. L., 2004. Dietary flavonoids and cancer risk: Evidence from human population studies. *Nutrition and Cancer-an International Journal*, 50(1), 1-7.
- Nguyen, P. M., Kwee, E. M., Niemeyer, E. D., 2010. Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry*, 123(4), 1235-1241.
- Nguyen, P. M., Niemeyer, E. D., 2008. Effects of nitrogen fertilization on the phenolic composition and antioxidant properties of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(18), 8685-8691.
- Nykänen, I., 1986. High resolution gas chromatographic-mass-spectrometric determination of the flavour composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivated in Finland. *Z. Lebensm Unters Forsch* 182 205–211.
- OH, M. M., Carey, E. E., Rajashekar, C. B., 2009. Environmental stresses induce health-promoting phytochemicals in lettuce. *Plant Physiol Biochem*, 47(7), 578-583.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction-antioxidative activities of products browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44 307-315.
- Paton, A., Harley, R. M., Harley, M., 1999. *Ocimum* e an overview of relationships and classification. *Medicinal and Aromatic Plants e Industrial Profiles*. Harwood Academic, Amsterdam,, 1 38.
- Pereira, P., Oliveira, P., Ardenghi, P., Rotta, L., Henriques, J., Piccada, J., 2006. Neuropharmacological analysis of caffeic acid in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 99 374–378.

- Pierpoint, W. S., 2000. Why do plants make medicines? *Biochemistry*, 22 37–40.
- Pratt, D., Hudson, B., 1990. Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants. Elsevier; Amsterdam 17-192.
- Pushpangadan, P., Bradu, B. L., 1995. Basil. In: Chadha, K.L., Gupta, R. (Eds.), *Advances in Horticulture. Medicinal and Aromatic Plants*, 11 627-657.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rice-Evans, C. A., Miller, J., Paganga, G., 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152-159.
- Rozema, J., van de Staaij, J., Bjorn, L. O., Caldwell, M., 1997. UV-B as an environmental factor in plant life: stress and regulation. *Trends Ecol Evol*, 12(1), 22-28.
- Saldamlı, İ., 2007. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları 463-492.
- Schuster, B., Herrmann, K., 1985. Hydroxybenzoic and Hydroxycinnamic Acid-Derivatives in Soft Fruits. *Phytochemistry Letters*, 24(11), 2761-2764.
- Serafini, M., Del Rio, D., 2004. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool? *Redox Report*, 9(3), 145-152.
- Shipman, J. P., Cunningham, D. J., Holst, R., Watson, L. A., 2002. The informationist conference: report. *J Med Libr Assoc*, 90(4), 458-464.
- Sies, H., 1997. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82(2), 291-295.
- Silva, M. G. D., Matos, F. J. D., Machado, M. I. L., Craveiro, A. A., 2003. Essential oils of *Ocimum basilicum* L., *O. basilicum*. var. *minimum* L. and *O. basilicum*. var. *purpurascens* Benth. grown in north-eastern Brazil. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(1), 13-14.
- Simon, J. E., Quinn, J. F., Murray, R. G., 1999. Basil: a source of essential oils. Timber press, Portland, OR 484-489.
- Slinkard, K., Singleton, V. L., 1977. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28 49-55.
- Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., Nagy, G., 2007. Antioxidant measurements. *Physiological Measurement*, 28(4), R41-R55.
- Sörensen, L., Henriksen, K., 1992. Effects of seed rate, plastic covering, and harvest time on yield and quality of Danish grown basil (*Ocimum basilicum*). *Danish Journal of Plant and Soil Science*, 96 499–506.
- Sözmen, E. Y., 2002. Yaşlanma Biyokimyas. Palme Yayıncılık, Ankara 665-674.
- Stahl, W., Sies, H., 2002. Introduction: Reactive oxygen species. *Research Monographs*.
- Strack, D., 1997. Phenolic metabolism. In P.M. Dey and J.B. Harborne (eds). *Plant Biochemistry* 387–416.
- Tarakemeh, A., Abutalebi, A., 2012. Effect of Drying Method on the Essential Oil Quantity of Basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(3), 503-505.
- Taysi, S., Polat, F., Gul, M., Sari, R. A., Bakan, E., 2002. Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*, 21(5), 200-204.

- Telci, I., Bayram, E., Yilmaz, G., Avci, B., 2006. Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(6), 489-497.
- Telci, I., Demirtas, I., Bayram, E., Arabaci, O., Kacar, O., 2010. Environmental variation on aroma components of pulegone/piperitone rich spearmint (*Mentha spicata* L.). *Industrial Crops and Products*, 32(3), 588-592.
- Telci, I., Elmastas, M., Sahin, A., 2009. Chemical composition and antioxidant activity of *Ocimum* minimum essential oils. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(4), 568-571.
- Telci, I., Hisil, Y., 2008. Biomass Yield and Herb Essential Oil Characters at different Harvest Stages of Spring and Autumn Sown *Coriandrum sativum*. *European Journal of Horticultural Science*, 73(6), 267-272.
- Telci, I., Kacar, O., Bayram, E., Arabaci, O., Demirtas, I., Yilmaz, G., Ozcan, I., Sonmez, C., Goksu, E., 2011. The effect of ecological conditions on yield and quality traits of selected peppermint (*Mentha piperita* L.) clones. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 1193-1197.
- Velioğlu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B. D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46 4113–4117.
- Vernin, G., Metzger, J., 1984. Analysis of basil oils by GC-MS data bank. *Perfum. Flavor* 971-86.
- Wallace, G., Fry, S. C., 1994. Phenolic components of the plant cell wall. *Int Rev Cytol*, 151 229-267.
- Wome, B., 1982. Febrifuge and antimalarial plants from Kisangani. *Bulletin de la Societe Royale de botanique de Belgique*, 115 243–250.
- Yen, G. C., Chen, H. Y., 1995. Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 43(1), 27-32.
- Young, I. S., Woodside, J. V., 2001. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, 54(3), 176-186.
- Zgorka, G., Glowniak, K., 2001. Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family. *J Pharm Biomed Anal*, 26(1), 79-87.
- Zhou, Y., Fang, G., Ye, Y., Chu, L., Zhang, W., Wang, M., 2006. Caffeic acid ameliorates early and delayed brain injuries after focal cerebral ischemia in rats. *Acta Pharmacol Sin*, 27 1103–1110.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Ömer KAYIR
Doğum Tarihi ve Yer : 29.11.1989- İskenderun
Medeni Hali : Bekâr
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 0539 348 8020
Faks : -
e-mail : omerkayir89@gmail.com

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2015
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2012
Lise	Barbaros Lisesi	2006

Yayınlar

1. Bayir, B., Gunduz, H., Usta, T., Sahin, E., Ozdemir, Z., Sen, O., Kayir, O., Aksit, H., Elmastas, M., Erenler, R., 2014. Chemical Composition of Essential Oil from *Marrubium Vulgare* L. Leaves. Journal of New Results in Science, 6 44-50.
2. Kaya, G., Karakaya, R., Tilgel, E., Sandikci, M., Yucel, E., Cicek, G., Kayir, O., Aksit, H., Telci, I., Guzel, A., Elmastas, M., Erenler, R., 2014. Essential Oil Constituents of *Thuja orientalis* Berries. Journal of New Results in Science, 7 1-6.
3. Turkmen, N., Sonmez, A., Erol, T., Gulumser, D., Yurdakul, B., Kayir, O., Elmastas, M., Erenler, R., 2014. Chemical Composition of Essential Oil from *Rosmarinus Officinalis* L. Leaves. Journal of New Results in Science, 6 27-31.
4. Nusret GENÇ, Ömer KAYIR, Duygu MISIRLI, Zülfikar KARAÇAY, Mahfuz ELMASTAŞ, İsa TELCİ, İbrahim DEMİRTAŞ, Türkiye’de Kültürü Yapılan Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) Genotiplerinde, Fenolik bileşiklerin LC-TOF ile Analizi. Kromatografi kongresi, 19-22 Haziran 2013, Bursa

EKLER

EK-1 HPLC Analizinde Kullanılan Standartların Kalibrasyon Grafikleri

