

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**BALKABAĞINDAN (*Cucurbita maxima*) ELDE EDİLEN  
ÜRÜNLERDE *in vitro* KAROTENOİD  
BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ, ANTİOKSİDAN KAPASİTE  
VE ANTİDİYABETİK AKTİVİTENİN SAPTANMASI**

**Cansu ÖZEL**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sedef Nehir EL**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Sunuş Tarihi: 16.12.2015**

**Bornova-İZMİR**

**2015**



Cansu ÖZEL tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak sunulan “Balkabağından Elde Edilen Ürünlerde *in vitro* Karotenoid Biyoerişilebilirliği, Antioksidan Kapasite ve Antidiyabetik Aktivitenin Saptanması” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 16.11.2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Sedef Nehir EL

Raportör Üye : Prof. Dr. Sibel KARAKAYA

Üye : Prof. Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU




# EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Balkabağından (*Cucurbita maxima*) Elde Edilen Ürünlerde *in vitro* Karotenoid Biyoerişilebilirliği, Antioksidan Kapasite ve Antidiyabetik Aktivitenin Saptanması” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

16/11/2015



Cansu ÖZEL



**ÖZET****BALKABAĞINDAN (*Cucurbita maxima*) ELDE EDİLEN  
ÜRÜNLERDE *in vitro* KAROTENOİD BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ,  
ANTIOKSİDAN KAPASİTE VE ANTİDİYABETİK AKTİVİTENİN  
SAPTANMASI**

ÖZEL, Cansu

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sedef Nehir EL

Aralık 2015, 49 Sayfa

Balkabağı (*Cucurbita maxima*) kullanılarak iki farklı fermente ürün elde edilmiştir. İlk ürün olan balkabağı turşusu, ticari turşu hazırlama karışımı yardımıyla, ikinci ürün olan fermente balkabağı tozu ise, yüzey sterilizasyonu uygulanmış balkabaklarına *Lactobacillus plantarum* ve *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizmalarının inokulasyonunun ardından elde edilmiş, sonrasında ürün kurutulmuş ve öğütülerek elenmiştir. Ürünlerde troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan kapasite, antidiyabetik özelliklerin belirlenmesinde yardımcı olan  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon kapasiteleri, toplam karotenoid ve  $\beta$ -karoten miktarları belirlenmiştir. Ardından *in vitro* sindirim uygulanmış ve yeniden yapılan toplam karotenoid ve  $\beta$ -karoten tayinleriyle, hem toplam karotenoid, hem de  $\beta$ -karoten biyoerişilebilirlik yüzdelerine ulaşılmıştır. Elde edilen sonuçlar, balkabağı turşusunda buharda haşlanmış balkabağına göre daha yüksek toplam karotenoid ve  $\beta$ -karoten biyoerişilebilirliği, fermente balkabağı tozunda ise yüksek antioksidan kapasite ve yüksek  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon kapasiteleri şeklindedir. Sonuç olarak balkabağı turşusu direkt tüketime hazır halde, fermente balkabağı tozu ise ortamda yağ bulunan bir gıda matrisi içerisinde kullanılabilir bir ara ürün şeklinde tasarlanmış, karotenoid miktarı açısından zengin ve antioksidan ve antidiyabetik özelliklere sahip bir gıda ve bir gıda ara ürünü olarak, hem gıdaların A vitamini ile zenginleştirilmesinde, hem de Tip 2 Diyabeti hedef alan fonksiyonel gıdaların üretiminde kullanılabilir iki üründür.

**Anahtar sözcükler:** Balkabağı, *Cucurbita maxima*, beta-karoten biyoerişilebilirliği, antidiyabetik aktivite, antioksidan kapasite, fermente ürün



**ABSTRACT****DETERMINATION OF *in vitro* CAROTENOID  
BIOACCESSIBILITY, ANTIOXIDANT CAPACITY AND  
ANTIDIABETIC ACTIVITY OF PRODUCTS OBTAINED FROM  
PUMPKIN (*Cucurbita maxima*)**

ÖZEL, Cansu

MSc in Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Sedef Nehir EL

December 2015, 49 Pages

Two different fermented products were obtained by using pumpkin (*Cucurbita maxima*). The first product pumpkin pickles were prepared using a commercial pickle preparation mixture, and the second product fermented pumpkin powder was prepared by the inoculation of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* microorganisms to surface-sterilized pumpkin slices. Then the fermented slices were dried, grinded and screened. Trolox equivalent antioxidant capacity,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase enzyme inhibition activities that helps to evaluate the antidiabetic activity and both total carotenoids and  $\beta$ -carotene contents and bioaccessibilities were detected on both products. Results obtained showed higher carotenoid and  $\beta$ -carotene bioaccessibilities on pumpkin pickles when compared to steamed pumpkins, and high  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase enzyme inhibition activities on fermented pumpkin powder. Finally, pumpkin pickles were designated for direct consumption and fermented pumpkin powder with a high carotenoid content, antioxidant capacity and antidiabetic activity, was prepared as a by-product for using oily food matrices to either enrichment applications with Vitamin A or tailor-made functional foods for Type 2 Diabetes management.

**Keywords:** Pumpkin, *Cucurbita maxima*, beta-carotene bioaccessibility, antidiabetic activity, antioxidant capacity, fermented product



**TEŞEKKÜR**

Bir birey olarak sahip olduğum tüm fikirlerin ışığı, ulu önder Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK başta olmak üzere,

Yüksek lisans tez çalışmam süresince, bilgi ve tecrübesiyle her zaman yol göstericim olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Sedef Nehir EL'e,

Tez çalışmam boyunca bilgi ve desteğini her zaman hissettiğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Sibel KARAKAYA'ya,

Her konuda yardım ve desteklerine erişme şansını bana veren değerli hocalarım Sayın Dr. Şebnem ŞİMŞEK ve Sayın Dr. Sırma YEĞİN'e,

Çalışmalarımın bir kısmını rahatça gerçekleştirebilmem için bana laboratuvarlarının kapılarını açan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Kamile Nazan TURHAN ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Betül ÖZTÜRK'e,

Ayrıca, hayatımda sahip olmaktan en çok mutluluk duyduğum, çok değerli babam Metin ÖZEL ve annem Gülşen ÖZEL'e,

Tüm çalışmalarım boyunca yanımda olduğundan her zaman emin olduğum ve olacağım en büyük desteğim Serhan TAŞCI'ya,

Tanımdan en çok mutluluk duyduğum iki dostum Özge BABAOĞLU ve Onur ORHAN'a,

Tüm yüksek lisans öğrenimim boyunca çok şey paylaştığım sevgili çalışma arkadaşlarım, Şerif Türker ARACI, Alper Tolga EKER, Hülya İLYASOĞLU BÜYÜKKESTELLİ, Aslı KANCABAÇ KILINÇ ve Pınar ERCAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı, sahip olduğum en değerli kişiler annem, babam ve 1994 yılında kaybettiğim günden beri her gün daha çok özlediğim, canım dayım Mehmet BOZKIZ'a ithaf ederim.

**Cansu ÖZEL**



**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
TEŞEKKÜR .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xix
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1.Balkabağı ile İlgili Genel Bilgiler ve Sağlık Üzerine Etkileri .....	3
2.2.Balkabağı ve Tip 2 Diyabet .....	5
2.3.Balkabağı ve Antioksidan Aktivite .....	7
2.4.Balkabağı ve Karotenoidler .....	7

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
2.5.Balkabağı Kullanılarak Tasarlanan Fonksiyonel Gıdalar .....	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
3.1.Materyal.....	11
3.2.Çalışma Planı .....	12
3.3.Ürünlerin Eldesi .....	12
3.3.1. Kontrol Ürün (Haşlanmış Balkabağı).....	12
3.3.2. Balkabağı Turşusu.....	13
3.3.3. Fermente Balkabağı Tozu.....	14
3.4.Analizler .....	16
3.4.1. pH ve Titre Edilebilir Asitlik Tayini .....	16
3.4.2. Tuz Tayini.....	16
3.4.3. Nem Tayini .....	17
3.4.4. Antioksidan Aktivite Tayini (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, Trolox Eşdeğeri Cinsinden Antioksidan Kapasite, TEAC) .....	17

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
3.4.5. <i>In vitro</i> $\alpha$ -amilaz Enzim İnhibisyon Kapasitesinin Belirlenmesi .....	18
3.4.6. <i>In vitro</i> $\alpha$ -glukozidaz Enzim İnhibisyon Kapasitesinin Belirlenmesi	19
3.4.7. <i>In vitro</i> Sindirim Uygulaması .....	20
3.4.8. Karotenoid Analizleri .....	22
3.5. İstatistiksel Değerlendirme .....	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	25
4.1. Balkabağı Turşusuna Uygulanan Analizler .....	25
4.1.1. pH ve Titre Edilebilir Asitlik .....	25
4.1.2. Tuz .....	25
4.2. Nem .....	25
4.3. Antioksidan Kapasite .....	26
4.4. <i>In vitro</i> Karbonhidrat Sindirim Enzimleri İnhibisyon Kapasiteleri .....	28
4.4.1. <i>In vitro</i> $\alpha$ -amilaz Enzimi İnhibisyon Kapasitesi .....	28
4.4.2. <i>In vitro</i> $\alpha$ -glukozidaz Enzimi İnhibisyon Kapasitesi .....	29

**İÇİNDEKİLER (devam)****Sayfa**

4.4.3. <i>In vitro</i> $\alpha$ -amilaz ve $\alpha$ -glukozidaz Enzim İnhibisyon Sonuçlarının Birbirleri ve Önceki Çalışmalarla Kıyaslanması .....	31
4.5. Toplam Karotenoid Miktarı ve Biyoerişilebilirliği .....	32
4.6. $\beta$ -karoten Miktarı ve Biyoerişilebilirliği .....	34
5. GENEL SONUÇLAR .....	37
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	40
ÖZGEÇMİŞ .....	49
EKLER	

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. <i>Cucurbita maxima</i> .....	3
2.2. Karotenoidlerin yapısı ve bazı örnekleri .....	10
3.1. Çalışma planı .....	13
3.2. Balkabağı turşusu.....	14
3.3. Balkabağı dilimlerinin fermantasyon ortamı .....	15
3.4. Fermantasyonun ardından (a) kuruyan, (b) öğütülen ve elenen balkabağı dilimleri .....	16
4.1. TEAC Grafikleri. (a) Çiğ balkabağı, (b) Kontrol, (c) Balkabağı Turşusu ve (d) Fermente Balkabağı Tozu örnekleri.....	27
4.2. <i>In vitro</i> $\alpha$ -amilaz enzimi inhibisyonu grafikleri. (a) Çiğ balkabağı, (b) Kontrol, (c) Balkabağı Turşusu ve (d) Fermente Balkabağı Tozu Örnekleri.....	29
4.3. <i>In vitro</i> $\alpha$ -glukozidaz enzimi inhibisyonu grafikleri. (a) Çiğ Balkabağı, (b) Kontrol, (c) Balkabağı Turşusu ve (d) Fermente Balkabağı Tozu örnekleri.....	31

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Çiğ balkabağı ( <i>Cucurbita maxima</i> ) besin değerleri (USDA Veritabanı, rapor no: 11489).....	4
4.1. Antioksidan kapasite (TEAC) sonuçları.....	26
4.2. <i>In vitro</i> $\alpha$ -amilaz enzimi inhibisyon kapasiteleri .....	28
4.3. <i>In vitro</i> $\alpha$ -glukozidaz enzimi inhibisyon kapasiteleri.....	30
4.4. Toplam karotenoid miktarları ve biyoerişilebilirlik yüzdeleri .....	32
4.5. $\beta$ -karoten miktarları ve biyoerişilebilirlik yüzdeleri .....	35

**KISALTMA VE SEMBOLLER DİZİNİ**

<u>Simge</u>	<u>Açıklama</u>
$A_{1\text{ cm}}^{1\%}$	Karotenoidin petrol eterindeki sönümlenme katsayısı
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
Abs	Absorbans
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists (Resmi Ziraat Kimyagerleri Birliği)
ANOVA	Analysis of Variance (Varyans Analizi)
Da	Dalton
DAD	Photodiode Array Detector (Fotodiyot Array Dedektörü)
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography (Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi)
HDL	High Density Lipoprotein (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein)
IC	Inhibition Concentration (İnhibisyon Konsantrasyonu)
IDF	International Diabetes Federation (Uluslararası Diyabet Federasyonu)
LDL	Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
ODS	Oktadesil Sülfat

**KISALTMA VE SEMBOLLER DİZİNİ (devam)**

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
PBS	Phosphate Buffered Saline (Tuz içeren Fosfat Tamponu)
pNPG	4-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranozid
PTFE	Polytetrafluoroethylene (Teflon®)
RP	Reverse Phase (Zıt Faz)
SGF	Simulated Gastric Fluid (Simule Mide Sıvısı)
SIF	Simulated Intestinal Fluid (Simule İntestinal Sıvı)
SLAMENGHI	Species of carotenoids, Linkages at molecular levels, Amount of carotenoids, Matrix, Effectors, Nutrient Status, Genetics, Host-related factors, Interactions among these variables (Karotenoid türü, Moleküler düzeydeki bağlar, Karotenoid miktarı, Matriks, Efektör organ, Besin durumu, Genetik faktörler, Kişisel faktörler, Bu değişkenler arasındaki interaksiyonlar)
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences (IBM Firmasının istatistik programı)
SSF	Simulated Saliva Fluid (Simule Ağız Sıvısı)
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (Troloks Eşdeğeri Cinsinden Antioksidan Kapasite)
T2D	Tip 2 Diyabet

## KISALTMA VE SEMBOLLER DİZİNİ (devam)

Kısaltmalar

Açıklama

UV

Ultra Viyole

## 1. GİRİŞ

Günümüzde, teknolojinin gelişmesine paralel olarak, toplumların yaşam standartlarında geçmişe kıyasla ciddi değişiklikler gerçekleşmiştir. Kırsal kesimlerden kentlere olan göç, teknolojik yenilikler ve çoğunlukla masa başında geçirilen yoğun iş saatleri, kişilerin sedental yaşam tarzına sebep olmuş ve tüketime hazır ve işlenmiş gıdaların üretimine olan talep artmıştır. Gıda endüstrisi başlarda bu talebe yönelik, yüksek enerji değerlerine sahip gıdaları piyasaya sunmuş ve tüketiciler tarafından çoğunlukla tercih edilmiştir. Özellikle tüketime hazır gıdalar sunan restoran zincirleri, tüm dünyaya yayılarak birçok kültürün içine nüfuz etmiştir. Fakat, sözü geçen tüm bu yaşam değişiklikleri, başta hareketsiz ve yeterli ve dengeli olmayan beslenme modelleri bir takım hastalıkların riskini de beraberinde getirmiştir. Bugün, tüm dünyayı etkileyen yüksek tansiyon, kalp-damar hastalıkları, kanser ve diyabet gibi hastalıklar, yaşam kalitesinde azalışa ve hatta ölümlere neden olmaktadır. Yaşam kalitesini etkileyen bu hastalıkların yıllar içinde giderek daha fazla artacağı düşünülmektedir. Öte yandan, özellikle gelişmiş ülkeler, dengeli ve besleyici beslenme ve düzenli egzersiz konusunda halklarını bilinçlendirmeye çalışmaktadırlar.

Gıda endüstrisi, artan söz konusu hastalıklardan korunma amacı ile çeşitli fonksiyonel gıdaları piyasaya sürmektedir. İlk olarak Japonya'da ortaya çıkan fonksiyonel gıda anlayışı, Avrupa Komisyonu tarafından 'günlük diyet ile tüketilen, hastalık riskini azaltmaya ve iyi olma halini korumaya yönelik biyoaktif bileşenler içeren gıdalar' olarak tanımlanmıştır (Mohamed, 2014). Bu tanımın ardından, biyolojik olarak aktif kabul edilen maddeler içeren gıdalar, değişik formlarda ve/veya farklı hammaddelerle birleştirilerek fonksiyonel gıda olarak piyasaya sunulmuştur. Tüketicilerin yoğun talebi doğrultusunda da fonksiyonel gıdalar ve tüm dünyada fonksiyonel gıda üretimi yeni ve büyümekte olan bir pazar halini almıştır.

Tip 2 Diyabet (T2D), dünyada görülen diyabet hastalıklarının %85-95'ini oluşturan ve insülin direncine bağlı olarak çevresel (periferik) hücrelerde glukoz kontrolünün azalması, karaciğer tarafından aşırı glukoz üretimi, pankreatik B-hücrelerinde hasar ve azalma, insülin salgılanmasında ve hassasiyetinde aksaklıklar

ile karakterize edilen bir hastalıktır (Nyenwe et al., 2011; Bharti et al., 2013; Mohamed, 2014). T2D, gelecekte tüm dünyayı etkileyecek bir sağlık sorunu olarak görülmektedir (Chang et al., 2012). T2D tedavisinde gerekli klinik müdahalenin yanı sıra düzenli egzersiz ve destekleyici fonksiyonel gıdalar önerilmektedir (Vats et al., 2005). Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun 2013 yılı verilerine göre Türkiye'nin diyabet hastaları Avrupa kayıtlarının %14.8'i ile ilk sırayı almaktadır (IDF, 2013; Simpson and Morris, 2014). Bu veriden anlaşılacağı üzere, ülkemizde diyabet, giderek daha ciddi boyutlara ulaşacaktır.

Balkabağı (*Cucurbita maxima*), ülkemizde genellikle çekirdeği için tüketilen veya meyvesinden şerbetli tatlısı yapılan bir gıda olarak bilinmektedir. Ancak sahip olduğu biyoaktif bileşenler ve kimyasal yapısı, fonksiyonel gıda üretimine oldukça elverişlidir. Ayrıca, Caili et al. (2006) balkabağının sahip olduğu biyoaktif polisakkaritlerin fermantasyonla daha yararlı bir forma dönüştüğünü bildirmiştir.

Tez çalışması kapsamında balkabağından fermantasyon yoluyla iki gıda üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu gıdalardan ilki, balkabağı turşusu olup, piyasadan satın alınan turşu yapma karışımları kullanılarak elde edilmiştir. İkinci fermente ürün, yüzey sterilizasyonu uygulanmış balkabaklarına turşuda baskın iki tür olan *Saccharomyces cerevisiae* ve *Lactobacillus plantarum* maya ve bakteri türlerinin dışarıdan eklenmesi, fermantasyonu ve sonrasında ürünün kurutularak toz haline getirilmesiyle elde edilen fermente balkabağı tozudur. Bu iki üründe, antioksidan kapasite, antidiyabetik aktiviteyle ilişkilendirilen *in vitro*  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonları saptanmıştır. Ayrıca toplam karotenoid ve  $\beta$ -karoten *in vitro* biyoerişebilirliği tüketilebilir ve fermente olmayan balkabağı formu olarak düşünülmüş kontrol ürün olan buharda haşlanmış balkabağı ile kıyaslanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Balkabağı ile İlgili Genel Bilgiler ve Sağlık Üzerine Etkileri

Balkabağı, literatürde çoğunlukla antidiyabetik olarak açıklanan özellikleri ile yer alan bir gıdadır. İlk olarak Amerika yerlileri tarafından kültürü yapılmış olan bu bitki *Cucurbitae* familyasından gelmektedir (Smith, 1997). *Cucurbitae* familyası, içerisinde kabak (*Cucurbita pepo* var. *melo*), kavun (*Cucumis melo*), karpuz (*Citrullus lanatus*) ve balkabağı (*Cucurbita* sp.) bitkilerini bulunduran geniş bir ailedir. Balkabağı, temel olarak üç tür halinde yetiştirilmektedir: *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* ve *Cucurbita maxima* (Martínez-Valdivieso et al. 2015). Dünyanın farklı bölgelerinde yetiştirilen ve tüketilen türler değişiklik göstermektedir. Örneğin *Cucurbita pepo* türü balkabakları, genellikle Orta Avrupa'da çekirdeklerinden ekstrakte edilen yağ için yetiştirilmektedir. *Cucurbita moschata* ise Çin ve Orta Amerika'da geleneksel tıp ve günlük tüketimde değişik ürünler içerisinde tüketilmektedir. Ülkemizde genellikle tatlı tür yiyeceklerle tüketilen balkabağı türü *Cucurbita maxima*'dır. *C. maxima*, kış kabağı olarak da bilinen ve çoğunlukla pulpu kullanılan ve dünyada meyve suyu, püre, reçel, çorba gibi çok farklı gıda gruplarının formülasyonuna giren bir sebzedir (Aydın ve Gocmen, 2015). Ülkemizde de tüketilen balkabağı türünün sahip olduğu besin değerleri, Çizelge 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. *Cucurbita maxima*

Çizelge 2.1. Çiğ balkabağı (*Cucurbita maxima*) besin değerleri (USDA Veritabanı, rapor no: 11489)

Besin ögesi	100 g içinde	Besin maddesi	100 g içinde
<b>Nem</b>	88.00 g	<b>Vitaminler</b>	
<b>Enerji</b>	40 kcal	C Vitamini, (askorbik asit)	11.0 mg
<b>Protein</b>	2.00 g	Tiamin	0.070 mg
<b>Toplam yağ</b>	0.50 g	Riboflavin	0.040 mg
Toplam doymuş yağ asitleri	0.103 g	Niasin	0.500 mg
Toplam tekli doymamış yağ asitleri	0.037 g	B <sub>6</sub> Vitamini	0.154 mg
Toplam çoklu doymamış yağ asitleri	0.210 g	Folat	16 µg
Kolesterol	0 mg	B <sub>12</sub> Vitamini	0.00 µg
<b>Karbonhidratlar</b>	8.70 g	A Vitamini (Retinal Aldehit)	68 µg
Toplam diyet lifi	3.9 g	E Vitamini (alfa-tokoferol)	0.16 mg
Toplam şeker	3.95 g	D Vitamini (D2+D3)	0.00 µg
<b>Mineraller</b>		K Vitamini	1.3µg
Kalsiyum, Ca	14 mg		
Magnezyum, Mg	19 mg		
Fosfor, P	21 mg		
Sodyum, Na	7 mg		
Çinko, Zn	0.13 mg		

Balkabağı için antioksidan, antidiyabetik, antimikrobiyal, hipokolesterolemik, antikanser, immunomodülatör, antimutajenik, antihelmintik (bağırsak zararlılarını öldürücü) ve mesane taşıma karşı etkili özellikleri bildirilmiştir (Caili et al., 2006; Kaushik et al., 2010; Jacobo-Valenzuela et al.,

2011; Zhou et al., 2014; Aydin ve Gocmen, 2015). Balkabağının gösterdiği bu özellikler bileşiminde bulunan biyoaktif polisakkaritler, protein ve peptitler, para-aminobenzoik asit ve sterollerden kaynaklanmaktadır (Adams et al., 2011; Ahmed et al., 2014). Ayrıca yüksek karotenoid ve pektin içeriği sebebiyle birçok araştırmacı tarafından fonksiyonel gıda geliştirilmesinde kullanılmıştır (Jun et al., 2006; Guiné et al., 2011; Ahmed et al., 2014; Berman et al., 2014). Özellikle ağır metal birikiminin az olması sebebiyle bebek gıdalarında (Konopacka et al., 2010) ve düşük enerji değeri nedeniyle enerji azaltmaya yönelik uygulamalarda (Nawirska-Olszańska et al., 2014) kullanımı önerilmektedir.

## 2.2. Balkabağı ve Tip 2 Diyabet

Balkabağının sahip olduğu polisakkaritler, araştırmacılar tarafından çoğunlukla antidiyabetik ve antioksidan aktivitelerin incelenmesi yoluyla araştırılmıştır. de Escalada Pla et al. (2007) *C. pepo* cinsi balkabağının yapısında bulunan diyet lifinin glukoz alıkonmasına yol açtığı ve bu yolla da hipoglisemik etkiye sebep olduğunu, uygulamış oldukları *in vitro* çalışmaların sonucunda bildirmişlerdir. Zhu et al. (2015) balkabağından sıcak su ekstraksiyonuyla elde ettikleri polisakkaritleri streptozotosin (insülin üreten beta hücrelerine toksik etkisi olan bir kimyasal madde) tarafından hasara uğratılmış hücrelerde incelemişler ve programlı hücre ölümü olan apoptozun inhibisyonunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, balkabağı polisakkaritlerini, T2D tedavisi için yeni bir ajan olarak nitelendirmişlerdir. Aldoza redüktaz enzim inhibisyonunun çalışıldığı bir araştırmada balkabağı, çalışmanın pozitif kontrolü olan aminoguanidinden (diyabetik böbrek yetmezliği tedavisi için kullanılan bir bileşen) daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Sonuç olarak, balkabağı T2D tedavisi için terapötik etkili bir ajan olarak yorumlanmıştır (Wang et al., 2012). Antidiyabetik etkiler, çoğunlukla hayvan denemeleri veya *in vivo* çalışmalar ile değerlendirilmiştir. Yine su ve etanolik ekstraksiyonla elde edilen balkabağı polisakkaritlerinin, alloksan (toksik bir glukoz analogu) ile indüklenmiş diyabetik tavşanlarda toplam kolesterol, toplam trigliserit ve glikozil hemoglobin değerlerini kayda değer bir şekilde düşürmesinin ardından, araştırmacılar tarafından potansiyel bir antidiyabetik ajan olarak balkabağı polisakkaritlerini önermesine neden olmuştur (Zhang et al., 2013). Jin et al. (2013) tarafından yapılan bir başka çalışmada balkabağı tozundan su ile

hipoglisemik olarak nitelendirilen komponentlerin ekstraksiyonu yapılmış ve sonrasında protein ve diğer düşük molekül ağırlıklı bileşenlerin uzaklaştırılmasıyla liyofilize edilen üründe, gaz kromatografisiyle analiz edildiğinde, glukoz, galaktoz, arabinoz ve ramnoz bulunduran heterojen bir polisakkarit yapı tespit edilmiştir. Aynı ekstrakt, daha sonra alloksan-indüklü diyabet fareler üzerinde denenmiş ve 200 mg/kg vücut ağırlığı olarak verilen miktarın kan glukoz seviyesini  $15.30 \pm 3.21$  mM'den  $7.19 \pm 2.54$  mM'e düşürdüğünü belirlemişlerdir. Beyaz küçük balkabağı olarak bilinen ve balkabağı ile taksonomik olarak akraba olan *Cucurbita ficifolia* ile yapılan klinik bir araştırmada ise, dört erkek ve altı kadın denekte ağız yoluyla tüketiminin ardından hipoglisemik aktivite bildirilmiştir (Acosta-Patiño et al., 2001).

Antidiyabetik etki ile ilgili çalışmalar, literatürde çoğunlukla fenolik maddeler ile gerçekleştirildiği için, metanolik ekstraktların inhibisyon kapasite verileri söz konusudur. Ayrıca çeşitli biyoaktif peptitler de bu özelliklere sahip olabilirler. İçinde buldukları kaynaklarda büyük protein yapılarına bağlı olan bu peptitler, fermentasyon ve enzimatik hidroliz gibi işlemlerden sonra biyoaktif olarak nitelendirilen özellikler kazanabilirler (Soarez de Castro and Sato, 2015). Söz konusu olan biyoaktif peptitler için literatürde antidiyabetik aktivitenin yanı sıra, antihipertansif, antiobezite, antioksidan, bağışıklık sistemini düzenleyici ve mineral bağlama gibi özellikler de bildirilmiştir (Nongonierma and FitzGerald, 2015; Soarez de Castro and Sato, 2015). Biyoaktif peptitlerin en bilinen hayvansal kaynağı süt ve süt ürünleri (Hafeez et al., 2014; Nongonierma and FitzGerald, 2015), bitkisel kaynağı ise soyadır (Soarez de Castro and Sato, 2015). Biyoaktif peptitler, üretim ve saflaştırma aşamalarını geçirdikten sonra tanımlanırlar. Bu yolla, spesifik etki gösteren biyoaktif peptitler için çeşitli veritabanları oluşturulmuştur (Iwaniak et al., 1999). Biyoaktif özellikleri saptamanın en önemli *in vitro* yöntemlerinden biri, belirli enzimler üzerine gösterilen inhibisyon aktiviteleridir. Fermentasyon işlemi uygulanan süt (Solieri et al., 2015), bezelye (Jakubczyk et al., 2013) ve nohut (Xiao et al., 2015) gıdaları için anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibisyonu saptanmış ve sonuçta oluşan ürünler antihipertansif olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca Kore usulü üretilen fermente soya sosu için de  $\alpha$ -glukozidaz enzimi üzerine inhibisyon aktivitesi bildirilmiştir (Shukla et al., 2016). Yine fermente bir ürün olan ve soya içeren bir lezzetlendirici diyabetik fareler

üzerinde denenmiş ve hem  $\alpha$ -amilaz, hem de  $\alpha$ -glukozidaz enzimleri için inhibisyon etkisi bildirilmiştir (Ademiluyi and Oboh, 2013).

### 2.3. Balkabağı ve Antioksidan Aktivite

Balkabağına haşlama, mikrodalga pişirme, sirke ile marinasyon, şarapla pişirme ve liyofilizasyon gibi farklı gıda işleme prosesleri uygulanarak antioksidan kapasitesi değerlendirilmiştir. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) kullanılarak yapılan analizde  $\mu\text{M}$  Troloks/10g çiğ pulp cinsinden en düşük antioksidan aktiviteyi liyofilize örnek, en yüksek aktiviteyi ise şarapla pişirilmiş örnek göstermiştir. Çalışmanın bir başka önemli noktası da, liyofilizasyon dışındaki bütün gıda işleme proseslerinin, çiğ balkabağına göre antioksidan aktivitede artışa sebep olmasıdır (Dini et al., 2013). Balkabağı polisakkaritlerinin antioksidan kapasitesinin çalışıldığı iki çalışmada, asetilasyon (Song et al., 2013) ve fosforilasyon (Song et al., 2015) işlemleri uygulanmış olan balkabağı polisakkaritlerinde, söz konusu işlemlerin uygulanmadığı polisakkaritlere göre daha yüksek antioksidan kapasite göstermiştir. Hücre denemesi içeren bir çalışmada ise, balkabağının etanolik polisakkarit ekstraktı, hidrojen peroksit ile hasara uğratılmış fare peritoneal makrofajları üzerinde antioksidan aktivite göstermiştir (Yang et al., 2007).

### 2.4. Balkabağı ve Karotenoidler

Karotenoidler, bitkilerde renk maddesi olarak bulunan ve sağlık üzerine olumlu etkileri bildirilmiş biyoaktif bileşenlerdir. Çeşitlerine bazı örnekler Şekil 2.2'de verilmiştir. Karotenoidler bitkilerde serbest formda veya yağ asitleriyle ester bağı yapmış olarak bulunabilirler. Bulunduğu bitkilerdeki miktar ve çeşitleri, hasat sonrası faktörler, genotip, olgunlaşma zamanı, yetiştirilme metodu, iklimsel özellikler ve işleme yöntemlerine bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Saini et al., 2015). Gıda işleme prosesleri, *cis*- ve *trans*- formların birbirine dönüşmesine neden olabilir.  $\beta$ -karoten, tüm karotenoidler arasında en çok çalışılmış olandır. Kimyasal olarak 536 Da boyutunda ve yağda çözünebilen bir pigment olarak tanımlanabilir (Csepanyi et al., 2015). A vitamini ön maddesi olması, yani insan vücuduna girdiğinde  $\beta$ -karoten 15,15'-monooksijenaz enzimi yardımıyla retinale çevrilmesi nedeniyle, gıdaların A vitaminiyle zenginleştirilmesi gibi uygulamalarda sıklıkla

kullanılmaktadır (Bai et al., 2011). Günümüze kadar keşfedilen yaklaşık 700 farklı karotenoid türünün 50'sinin A vitamini ön maddesi olduğu bilinmektedir (Amorim-Carrilho et al., 2014). Bir karotenin A vitamini aktivitesi gösterebilmesi için yapısında en az 11 karbon ve oksitlenmemiş  $\beta$ -halkası bulunmalıdır. Gıdaların A vitamini ile zenginleştirilmesi uygulamalarında çoğunlukla  $\beta$ -karotenin çalışılıyor olması,  $\beta$ -karotenin 6 mg'ı, diğer provitamin A maddelerinin ise 12 mg'ının 1 mg retinole eşit olmasıdır (Fernández-García et al., 2012). Vücuda alınan  $\beta$ -karotenin ise yaklaşık %17'sinin A vitaminine dönüştürüldüğü bildirilmiştir (Acar ve Gökmen, 2014).

Vücuttaki karotenoid emilimi intestinal mukozada gerçekleşir. Karotenoid emilimini gıdanın matris formu, biyokimyasal ve metabolik faktörler ve kişinin tüketim anından sahip olduğu sağlık durumu gibi faktörler de etkilese de, en önemli değişken ortamda bulunan yağdır. Vücut içerisine alındıktan sonra taşınmada ise karoten çeşidine göre değişiklik gözlemlenir. Daha apolar yapıya sahip olan  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten ve likopen gibi karotenoidler düşük yoğunluklu lipoproteinler olan LDL, göreceli olarak daha polar yapıya sahip olan lutein gibi karotenoidler ise yüksek yoğunluklu lipoproteinler olan HDL'ler yardımıyla taşınır. Karotenoidler hedef organlara ulaştıktan sonra çoğunlukla A vitamini gereksinimi için veya singlet oksijen türlerine karşı antioksidan olarak kullanılırlar (Rock, 1997).

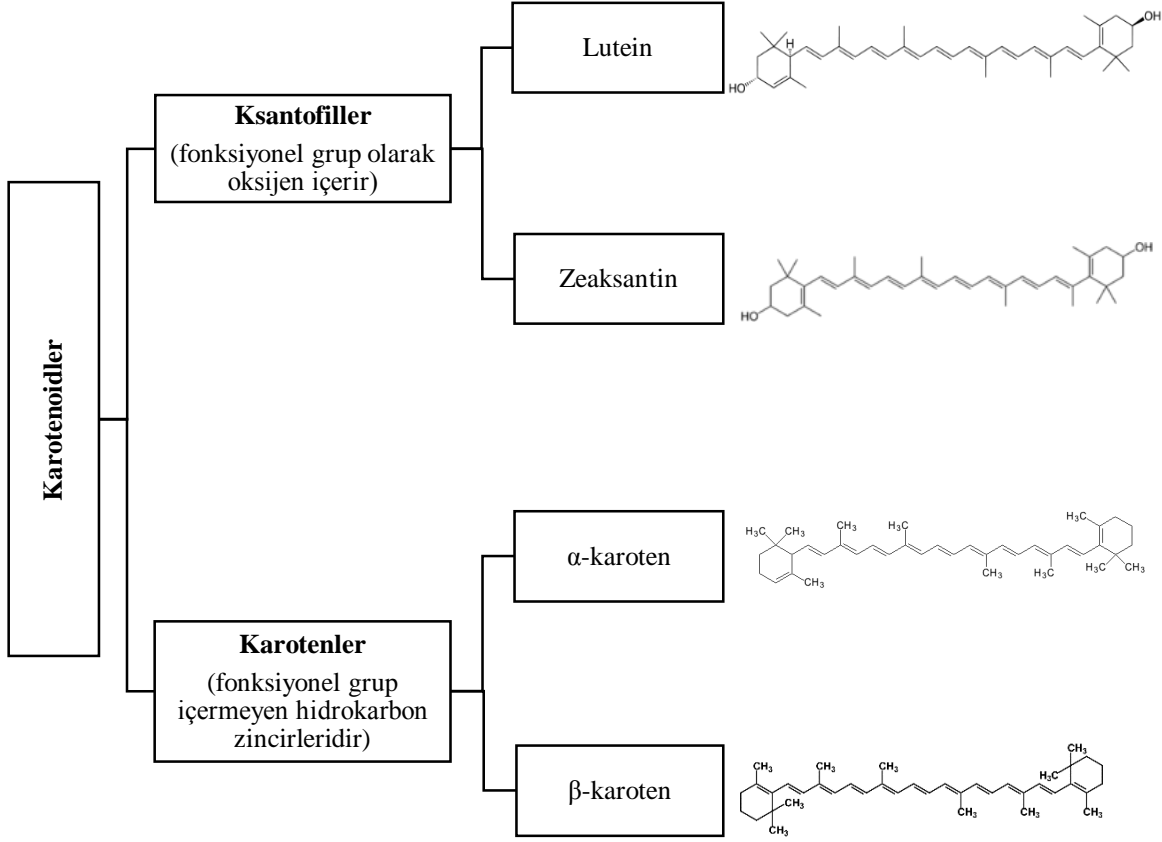
Balkabağı karotenleri arasından en önemli ikisi  $\alpha$ - ve  $\beta$ -karotendir. Yapılan çalışmalar da, karotenoid miktarları ve biyoyararlılıkları üzerine yoğunlaşmaktadır. Biyoerişilebilirlik, sindirim sonrası gıdanın yapısından ayrılan maksimum miktarı olarak tanımlanmaktadır (Ekesa et al., 2012). Balkabağında karotenoid biyoerişilebilirliği uygulanan *in vitro* veya *in vivo* sindirim yöntemi, gıdanın yapısı, ekstraksiyon ve tayin yöntemlerine göre değişiklik göstermektedir. Bu faktörler SLAMENGIH kısaltmasıyla ifade edilmektedir. Kısaltmadaki harfler sırasıyla karotenoid türü (species of carotenoids, S), moleküler düzeydeki bağlar (linkages at molecular levels, L), karotenoid miktarı (amount of carotenoids, A), matris (matrix, M), efektör organ (effectors, E), besin ögesi durumu (nutrient status, N), genetik faktörler (genetics, G), konakçı ile ilişkili faktörler (host-related factors, H) ve bu değişkenler arasındaki interaksiyonlar (interactions among these variables, I) olarak ifade edilmektedir (van het Hof et al., 2000; Knockaert et al., 2012; Amorim-

Carrilho et al., 2014). Lipofilik karaktere sahip olan karotenoidlerin çözünmesi ve dolayısıyla da biyoerişilebilirlik değerleri, ortamda bulunan yağ miktarına bağlıdır (Pérez-Gálvez et al., 2005). Yapılan çalışmalar, ayçiçek ve soya gibi yağların sahip olduğu trigliseritlere göre daha uzun trigliseritlere sahip olan zeytinyağının, karotenoid biyoerişilebilirliğini daha da arttırabileceğini göstermiştir (Lemmens et al., 2014). Reboul et al. (2006) tarafından  $\alpha$ -karoten için  $\%6.71 \pm 0.63$ ,  $\beta$ -karoten için ise  $\%1.30 \pm 0.22$  olarak bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada uygulanan *in vitro* sindirimin ardından HPLC ile belirlenen % biyoerişilebilir  $\beta$ -karoten balkabağında tek başına %15.8 iken, misket limonu ile birlikte sindirildiğinde %31.8 olarak hesaplanmıştır (Veda et al., 2008). van Lieshout et al. (2003) ise, Endonezya'da yaşayan çocuklar üzerinde yapmış oldukları *in vivo* çalışmada, çocukların balkabağı ve ıspanak tüketiminin ardından dışkılarını incelemişler ve balkabağı  $\beta$ -karoteni biyoerişilebilirliği miktar olarak ıspanak  $\beta$ -karoteni biyoerişilebilirliğine göre 1.7 kat daha fazla olsa da, tüketilen miktarlar göz önüne alındığında ve yüzde olarak hesaplama yapıldığında yaklaşık olarak eşit yüzde biyoerişilebilirlik rapor etmişlerdir. Son yıllarda, düşük karotenoid biyoyararlılığını arttırmak üzere nano-taşıyıcı sistemler tasarlanıyor olsa da, bu sistemlerin ticari olarak hayata geçirilmesi henüz mümkün olmamıştır (Shin et al., 2015).

## 2.5. Balkabağı Kullanılarak Tasarlanan Fonksiyonel Gıdalar

Sahip olduğu biyoaktif bileşenler ve fizikokimyasal özellikleri nedeniyle balkabağı, fonksiyonel gıda üretimi için araştırmacılar tarafından elverişli kabul edilmekte ve değişik formulasyonlara uygulanmaktadır. Bir uygulamada, balkabağı demir ve askorbik asitçe zenginleştirilmiş ve kurutma işlemi uygulanmıştır. Renk koyulaşmasının gözlemlendiği sonuçlar için, araştırmacılar fonksiyonel bir gıda olarak nitelendirilmeden önce duyu analizlerin ve tüketici kabulünün gerekliliğine dikkat çekmiştir (Genevois et al., 2014). Balkabağının uzun süreli depolama esnasında sahip olduğu biyoaktif bileşenleri korumak için, Łozicki et al. (2015), kurutulmuş şeker pancarı kullanmışlar ve depolama sırasında polifenol miktarında artış, karotenoid ve  $\alpha$ -tokoferol miktarında ise azalma tespit etmişlerdir. Antioksidan aktivite uygulamanın öncesinde ve sonrasında değişiklik göstermemiştir. Bir başka uygulamada, Hokkaido tipi balkabaklarının tozu, askorbik asit ve ufalanmış mısır taneleri, ekstrüzyon yöntemi ile biraraya getirilmiş

ve meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ekstrüzyon yağ miktarında azalmaya ve protein miktarında artışa sebep olmuştur.  $\alpha$ - ve  $\beta$ -karotenler ise, ekstrüzyon işlemi ile değredasyona uğramışlardır. Askorbik asit ve balkabağı tozunun birlikte eklenmesi polifenollerin ve antioksidan aktivitenin artışıını sağlamıştır (Obradović et al., 2015). Son yıllarda yapılan tüm bu uygulamalar, balkabağının çeşitli formülasyonlarda denenmesinin ardından endüstriyel boyutta fonksiyonel gıda üretimine geçişe katkıda bulunacaktır.



Şekil 2.2. Karotenoidlerin yapısı ve bazı örnekleri

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Araştırmada kullanılan balkabakları (*Cucurbita maxima*), İzmir'deki semt pazarlarından temin edilmiştir ve aynı gün üretimler gerçekleştirilmiştir. Kontrol (haşlanmış) ve balkabağı turşusu örnekleri 50 g'lık paketler halinde -20°C'de dondurularak, fermente balkabağı tozu örneği ise oda sıcaklığında, hava, ışık ve nem geçirgenliği düşük ambalaj içerisinde analizlere kadar saklanmıştır. Balkabağı turşusu üretiminde kullanılan turşu hazırlama karışımı (Dr. Oetker, Türkiye) ve elma sirkesi (Kemal Kükrer, Türkiye), İzmir ili içerisindeki süpermarketlerden temin edilmiştir.

Analizlerde kullanılan MRS Broth (110661), MRS Agar (110660), sodyum klorür (106404), petrol eteri (101775) ve sodyum hidroksit (106462) Merck (Darmstadt, Almanya); sodyum metabisülfid (S9000), metanol (34860), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (D9132), 6-hidroksi-2,5,7,8-tatrametil-kroman-2-karboksilik asit (238813), sodyum fosfat monobazik (04269), sodyum fosfat dibazik (795410), potasyum iyodür (746428), iyot (207772), hidroklorik asit (320331), nişasta (33615), fare intestinal aseton tozu ( $\alpha$ -glukozidaz enzimi) (I1630), 4-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranozid (N1377), aseton (270725), insan ağız amilazı (A1031), pepsin (P6887), pankreatin (P7545), safra (B3883), 4-Amidino-N $\alpha$ -(naftalen-2-sülfonilglisil-DL-fenilalanin-piperidin asetat tuzu (76308), potasyum klorür (746436), potasyum fosfat monobazik (795488), sodyum bikarbonat (792159), magnezyum klorür heksahidrat (M9272), amonyum karbonat (207861), kalsiyum klorür dihidrat (C8106), sentetik beta-karoten standardı (C4582), kloroform (650498), asetonitril (34998), hekzan (34859), trietilamin (17924), fenolftalein (33518), gümüş nitrat (209139) ve potasyum kromat (216615) Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya); pankreatik  $\alpha$ -amilaz Megazyme International Ireland Limited (Wicklow, İrlanda), akarboz tablet Glucobay® Bayer (İstanbul, Türkiye), sodyum sülfat Carlo Erba (Val-de-Reuil, Fransa) firmalarından satın alınmıştır. Mikrobiyolojik kültürler; *Saccharomyces cerevisiae* ve *Lactobacillus plantarum* Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

Analizlerde kullanılan ekipmanlar; ev tipi buharlı pişirici (Braun, Multigourmet Plus FS20R, Almanya), dolap tipi inkübatör (Jeio Tech. Co. Ltd., Kore), mikrobiyolojik ekim kabini (Nüve, LN 090/120, Türkiye), etüv (Memmert, UNB 400, Almanya), ev tipi kahve öğütücü (Sinbo, SCM-2914, Türkiye), vakumlu etüv (Gallenkamp, İngiltere), görünür bölge spektrofotometre (Novaspec Plus Visible Spectrophotometer, Amersham Biosciences, General Electric, Türkiye), santrifüj (Thermo Scientific, IEC C1312 Multispeed Centrifuge, Almanya), su banyosu (Memmert, WNB14, Almanya), homojenizatör (IKA, T25 Digital Ultra-Turrax, Almanya), mikrolaka okuyucu (Thermo Scientific, Varioskan Flash, Finlandiya), vakumlu evaporatör (Polyscience, 120V, ABD), çalkalamalı inkübatör (Stuart, S1500 OSA, Birleşik Krallık), HPLC (Agilent Technologies, 1200 Series, Almanya) ve pH metre (WTW, inoLab® pH 7110, Almanya)'dır.

### **3.2. Çalışma Planı**

Projenin çalışma planı Şekil 3.1'de verilmiştir. Analizler farklı balkabaklarından üç ayrı ürün elde edildikten sonra, üç tekrar ve üç paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **3.3. Ürünlerin Eldesi**

#### **3.3.1. Kontrol ürün (Haşlanmış balkabağı)**

Balkabakları eşit büyüklükte (~2cmx2cm) küpler halinde dilimlenmiş ve buharlı pişirme makinasında 8 dakika boyunca haşlama işlemi uygulanmıştır. Sonrasında küçük miktarlarda partilere ayrılmış ve dondurularak (-20°C) saklanmıştır.



Şekil 3.1. Çalışma Planı

### 3.3.2. Balkabağı turşusu

Salamura, ticari turşu hazırlama karışımının ambalajındaki talimata göre hazırlanmıştır. Bu işlem için, 750 mL saf su kaynatıldıktan sonra oda sıcaklığına soğutulmuştur. Soğutma işlemi esnasında mikrobiyal kontaminasyonu önlemek amacıyla kap kapalı tutulmuştur. Soğumanın ardından, turşu hazırlama tozu tel süzgeç ile suya eklenmek suretiyle eritilmiştir. Böylece tane karabiber ve defne

yaprağı gibi uygulanacak olan analizlerin sonucunu etkileyebilecek materyaller ortamdaki elimine edilmiştir. Daha sonra 250 mL elma sirkesi ilave edilmiştir. 2.5 cm boyutunda ve küp şeklinde dilimlenen balkabakları yaklaşık 370 g olacak şekilde kavanozlara dizilmiş ve üzerine hazırlanan salamura sıvısı hava boşluğu kalmayacak şekilde aktarılmıştır. Turşu kavanozları, ışık geçirmeyen, 25°C sabit sıcaklıktaki inkübatörde 10 gün boyunca fermentasyona bırakılmıştır. Onuncu günün sonunda fermentasyon sonlandırılarak ürün daha küçük miktarda partilere ayrılmış ve hemen dondurulmuştur (-20°C).



Şekil 3.2. Balkabağı turşusu

### 3.3.3. Fermente balkabağı tozu

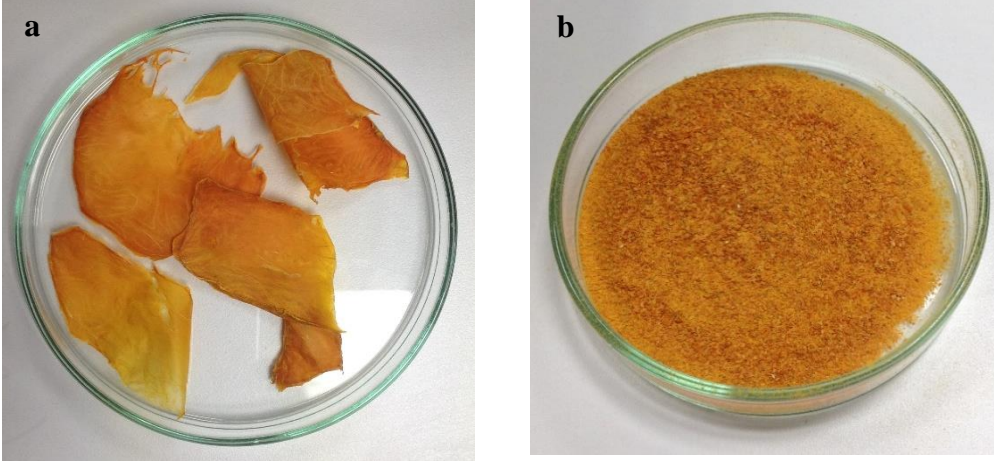
Öncelikle *Saccharomyces cerevisiae* ve *Lactobacillus plantarum* kültürlerine canlandırma uygulanmış ve ürün içerisine eklenecek olan konsantrasyonlar her iki mikroorganizmadan da başlangıç mikroorganizma yükü  $10^6$  ila  $10^8$  kob/g olacak şekilde belirlenmiştir. Bu amaçla yayma plak yöntemi kullanılmıştır. MRS Broth içerisinde *S. cerevisiae* için 48, *L. plantarum* için 36 saat canlandırma uygulanan sıvı kültürler, %0.9 NaCl içeren steril fizyolojik su ile çeşitli konsantrasyonlarda seyreltilmiş ve katı MRS Agar üzerine 100 µL inokulasyonun ardından büyümeye bırakılmıştır. Koloni oluşumu sonucunda sayım işlemi gerçekleştirilmiş ve başlangıç mikroorganizma yükü olarak belirlenen konsantrasyon aralığının denk geldiği seyreltme oranı tespit edilerek, yeniden canlandırma işlemi uygulanmış ve gerekli seyreltmelerden sonra üretime geçilmiştir.

Kültürlerin hazırlanmasının ardından balkabakları ~0.5 cm kalınlıkta dilimlenmiş ve 30 dakika boyunca 1000 ppm sodyum metabisülfid çözeltisinde yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. İşlemin sonunda, balkabağı dilimleri steril ultra saf su ile üç kez yıkanarak sodyum metabisülfidin uzaklaşması sağlanmıştır. UV sterilizasyonu uygulanmış fermantasyon kaplarına 300 g kadar olacak şekilde balkabağı dilimleri, 2:1 oranında *L. plantarum* ve *S. cerevisiae* kültürleri (sırasıyla 3 ve 1.5 mL) ve 600 mL steril ultra saf su eklenmiş ve fermantasyon kapları, hem hava girişi, hem de kontaminasyonu önlemek için parafilm şeritleri ile sıkıca sarılmıştır. 30°C sabit sıcaklığa sahip olan inkübatöre alınan kaplar, 72 saat süresince fermantasyona bırakılmıştır.



**Şekil 3.3. Balkabağı dilimlerinin fermantasyon ortamı**

Fermantasyon süresinin sonunda, balkabağı dilimleri cam tepsilere dizilmiş ve 60°C sıcaklıktaki etüvde kurutulmuştur. Kuruyan fermente balkabağı dilimleri ev tipi bir öğütücüde toz haline getirilmiş ve standart partikül boyutuna ulaşabilmek için 0.54 mm por çaplı elek kullanılarak elenmiştir. Son ürün, ışık, nem ve hava geçirmeyen ambalajda ve oda koşullarında saklanmıştır.



Şekil 3.4. (a) Kurutulmuş, (b) Öğütülmüş ve elenmiş balkabağı dilimleri

### 3.4. Analizler

#### 3.4.1. pH ve titre edilebilir asitlik tayini

Titre edilebilir asitlik tayini AOAC (1990) standart prosedürü ile uygulanmıştır. Bu amaçla, 5 mL salamura suyu, bir erlenmayere alınarak üzerine 3 damla fenolftalein indikatör çözeltisi (%5, etanol içerisinde) eklenmiştir. 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisiyle titrasyon sonucunda elde edilen sarfiyat ile laktik asit cinsinden (g/L) titre edilebilir asitlik hesaplanmıştır.

*Titre edilebilir asitlik*

$$= \frac{\text{Sarfiyat (mL)} \times \text{NaOH normalitesi (N)} \times \text{Laktik asit eşdeğeri (mEq)} \times 1000}{\text{Örnek miktarı (mL)}} \quad (1)$$

Laktik asit eşdeğeri, 0.090 mEq'dir.

#### 3.4.2. Tuz tayini

Tuz miktarı, Mohr Yöntemi (Mohr, 1856) olarak bilinen klor tayin yöntemiyle tespit edilmiştir. Yönteme göre, 5 mL salamura örneği, 95 mL kaynar ultra saf su ile 30 saniye boyunca karıştırılmış, 1 dakika bekleme süresinin ardından 30 saniye daha karıştırma işlemi uygulanmış ve 1 mL %5'lik potasyum kromat indikatör çözeltisi eklenerek 0.1 N gümüş nitrat ile titrasyon yapılmıştır. Sonuçlar, % sodyumklorür cinsinden hesaplanmıştır.

$$\%Sodyumklorür = \frac{Sarfiyat (mL) \times AgNO_3 Normalitesi (N) \times MW_{NaCl} \left(\frac{g}{mol}\right)}{\text{örnek miktarı (mL)}} \times 100 \quad (2)$$

Sodyum klorürün molekül ağırlığı 58.5 g/mol'dür.

### 3.4.3. Nem tayini

Elde edilen ürünlerin nem tayinleri için, AOAC (1990) metodu uygulanmıştır. Buna göre nem kapları, 105°C'de 3 saat boyunca kurutulup, desikatörde oda sıcaklığına getirildikten sonra daraları alınmıştır. Kontrol örneği, çataalla ezilerek, balkabağı turşusu bir bıçak yardımıyla çok ince kıyılarak homojen hale getirilmiş, fermente balkabağı tozu ise homojen kabul edilip ilk iki örnekten 5 g, son örnekten 1g kadar tartılarak vakumlu etüvde 10 bar, 60°C koşullarında 96 saat boyunca nem analizine tabi tutulmuştur. Sürenin sonunda örnekler yeniden tartılarak önceden belirlenen nem kaplarının daraları çıkarılarak ilk ve son tartımlara ulaşılmış ve formül hesaplaması ile % nem miktarı bulunmuştur.

$$\% Nem = \frac{\text{kurutma öncesi tartılan örnek miktarı} - \text{kurutma sonrası tartılan örnek miktarı}}{\text{kurutma öncesi tartılan örnek miktarı}} \quad (3)$$

### 3.4.4. Antioksidan aktivite tayini (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, Troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan kapasite, TEAC)

Örneklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde Re et al. (1999) ve Dini et al. (2013) yöntemlerinden yararlanılmış ve bazı modifikasyonlar yapılmıştır. Buna göre 10g (fermente balkabağı tozu 1g) olarak tartılan örneklerin üzerine 15 mL 80:20 metanol:su çözeltisi eklenmiş, vortekslendikten sonra 4°C, 3000xg koşullarında, 15 dakika santrifüj uygulanmıştır. Aynı işlem 3 kez daha tekrar edildikten sonra ekstraktlar birleştirilip, 50mL'e tamamlanmış ve analiz aşamasına geçilmiştir.

Analiz için test tüplerine 180 µL, 60 µM DPPH radikali konulmuş ve 30'ar saniye ara ile örnek ekstraktından sırasıyla 20, 30, 40, 50 ve 60 µL eklenerek

vortekslenmiş, ardından örnekler karanlıkta 90 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda yine 30'ar saniye ara ile, spektrofotometrede 515 nm'de absorbans ölçülmüştür. İnhibisyon yüzdesi aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{Abs_{DPPH} - Abs_{\text{örnek}}}{Abs_{DPPH}} \times 100 \quad (4)$$

Hesaplanan inhibisyon değerleri, örnek miktarına karşı grafiğe yerleştirilmiş ve elde edilen lineer doğrunun eğimi tespit edilmiştir. Analiz aşaması için uygulanan işlemlerin aynısı örnek miktarları yerine 5, 10, 25, 50, 75, 100 ve 150 µM Troloks konsantrasyonları ile tekrar edilmiş ve aynı basamaklar takip edilerek Troloks standart grafiği oluşturulmuştur. Son olarak elde edilen eğimlerin Troloks standart grafiği eğimlerine bölünmesiyle µM Troloks/g örnek cinsinden TEAC hesaplanmıştır.

### **3.4.5. *In vitro* α-amilaz enzim inhibisyon kapasitesinin belirlenmesi**

Ürünlerin karbonhidrat sindirim enzimlerini inhibisyon kapasiteleri α-amilaz ve α-glukozidaz enzim inhibisyon kapasitelerinin belirlenmesi ile saptanmıştır. Koh et al. (2010) ve Şimşek vd. (2014) tarafından kullanılan yöntem, ekstraksiyon kısmında bazı değişiklikler yapıldıktan sonra kullanılmıştır. Buna göre ekstraksiyon aşaması için kontrol ve turşu örneklerinden 10 g, fermente balkabağı tozu örneğinden 1 g tartılarak üzerine 10 mL pH 6.9, 6.85 mM NaCl içeren fosfat tamponu (PBS) ilave edilmiş ve 5 dakika boyunca vortekslenmiştir. Sonrasında, 1 dakika 107 W ultrasonik prob uygulaması yapılan örnekler, 8500xg'de 15 dakika santrifüjlenerek, sıvı kısım ayrılmış ve analiz aşamasına geçilmiştir. Ekstraktlar PBS ile 2, 5 ve 10 kat seyreltilmiştir. α-amilaz enzimi (104 U/mg toz) PBS ile hazırlanmış ve enzimin bir kısmı kaynar su banyosunda 5 dakika boyunca tutularak inaktive edilmiştir.

Analiz için dört farklı test tüpü hazırlanmıştır. Bu tüplerden ilki PBS ve aktif enzim (Kontrol), ikincisi PBS ve inaktif enzim (Kontrol-Kör), üçüncüsü örnek ve

aktif enzim (Örnek) ve sonuncusu da örnek ve inaktif enzim (Örnek-Kör) içermiştir. Test tüplerine örnekler veya PBS'den 410 µL konulmuş ve üzerlerine aktif veya inaktif α-amilaz enziminden 50 µL eklenmiştir. Sonra, 40 µL %1'lik nişasta çözeltisi eklenerek 37°C'lik su banyosunda 12 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Sürenin sonunda 250 µL %10'luk HCl ile reaksiyon sonlandırılmış ve kalan nişastayı boyamak amacıyla tüplere 75 µL 0.0025M I<sub>2</sub> ve 0.0065M KI içeren iyot çözeltisi eklenmiştir. Son olarak 620 nm'de absorbans ölçümü yapılmış ve aşağıdaki formüle göre inhibisyon yüzdesi hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{(Abs_{kontrol} - Abs_{kontrol-kör}) - (Abs_{örnek} - Abs_{örnek-kör})}{Abs_{kontrol} - Abs_{kontrol-kör}} \times 100 \quad (5)$$

IC<sub>50</sub> değeri için, reaksiyon ortamı konsantrasyonunun (mg örnek/mL reaksiyon ortamı) logaritmasına karşı % inhibisyon olarak GraphPad Prism programı ile grafik çizdirilmiştir. Daha sonra tüm işlemler; 20, 30, 40, 50, 70, 90, 100, 500, 750, 1000 µM akarboz ile yeniden tekrarlanmış ve akarboz standart grafiği oluşturulmuştur. Son olarak, IC<sub>50</sub> değerlerinin birbirlerine bölünmesiyle ve gerekli birim çevirmelerle, mg örnek/mg akarboz cinsinden α-amilaz enzim inhibisyon kapasitesi değerleri elde edilmiştir.

### **3.4.6. *In vitro* α-glukozidaz enzim inhibisyon kapasitesinin belirlenmesi**

Ekstraksiyon aşamasında, α-amilaz enzim inhibisyon kapasitesinin belirlenmesinde kullanılan ekstraksiyon aşamasının aynısı tekrar edilmiştir. Ekstraktlar 2, 5 ve 10 kat seyreltilmiştir. Analizin 25 mg/mL konsantrasyondaki enzim hazırlama aşamasında ise tartılan enzim PBS ile tamamlandıktan sonra 5 dakika vortekslenmiştir. Daha sonra, 4°C'de 10000xg'de 30 dakika santrifüj sonrası sıvı kısım ayrılarak kullanılmıştır. Hazırlanan enzimin bir kısmı kaynar su banyosunda inaktive edilmiş ve aktif ve inaktif enzimlerle, PBS ve örnek içerek dört farklı kombinasyon oluşturulacak şekilde test tüpleri hazırlanmıştır.

Analiz aşamasında test tüplerine örnekler veya PBS'den 340 µL konmuş, üzerlerine 20 µL α-glukozidaz enzimi eklenmiş ve 37°C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Sürenin sonunda 40 µL, 30 mM pNPG substratı eklenmiş ve 37°C'de 15 dakika daha inkübasyona bırakılmıştır. Reaksiyonu sonlandırmak için 190 µL 1M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> eklenmiş ve 400 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır.

İnhibisyon yüzdesi 5. nolu eşitlik kullanılarak hesaplanmış ve örnek konsantrasyonlarının logaritmalarına karşı % inhibisyon değerlerinin grafikleri GraphPad Prism programında çizdirilerek IC<sub>50</sub> değerleri elde edilmiştir. Analizde uygulanan işlemler aynı şekilde 10, 20, 30, 60, 100, 250, 500, 1000 ve 1500 µM akarboz konsantrasyonları için yeniden yapılarak akarboz standart grafiği çıkarılmıştır. Elde edilen IC<sub>50</sub> değerlerinin birbirlerine oranlanmasıyla mg örnek/mg akarboz cinsinden α-glukozidaz enzim inhibisyon kapasiteleri bulunmuştur.

### 3.4.7. *In vitro* sindirim uygulaması

Biyoerişilebilir toplam karotenoid ve β-karoten miktarını saptamak için örneklerle *in vitro* sindirim uygulaması yapılmış ve bunun için de Minekus et al. (2014) metodu uygulanmıştır. Yöntem, simule sindirim sıvılarının ve sindirim enzimlerinin kullanımıyla uygulanan statik bir *in vitro* sindirim metodudur.

İlk aşamada, 15.1 mmol/L KCl, 3.7 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 13.6 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>, 0.15 mmol/L MgCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>, ve 0.06 mmol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> içeren simule ağız sıvısı (Simulated Saliva Fluid, SSF) hazırlanmıştır. Sonrasında 6.9 mmol/L KCl, 0.9 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>, 47.2 mmol/L NaCl, 0.1 mmol/L MgCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>, ve 0.5 mmol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> içeren simule mide sıvısı (Simulated Gastric Fluid, SGF) hazırlanmıştır. Son olarak, 6.8 mmol/L KCl, 0.8 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 85 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>, 38.4 mmol/L NaCl ve 0.33 mmol/L MgCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub> içeren simule intestinal sıvı (Simulated Intestinal Fluid, SIF) hazırlanarak sindirim sıvıları tamamlanmıştır. Ayrıca, sindirim işleminden hemen önce enzim aktivasyonlarını sağlamak üzere 0.3 mol/L CaCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub> hazırlanmıştır.

Enzimler, uygulamada belirtildiği şekilde ultrasaf su veya sindirim sıvılarında hazırlanmıştır. Buna göre 75 U/mL aktivitede ağız amilazı, 2000 U/mL aktivitede pepsin ve 100 tripsin U/mL olacak şekilde pankreatin sindirim enzimleri olarak hazırlanmıştır. Enzimlere ek olarak, 10 mM konsantrasyonda safra hazırlanmıştır.

Sindirim işlemi için, kontrol ve balkabağı turşusu örnekleri ev tipi bir kıyma makinasından geçirilerek 5 g tartılmış, fermente balkabağı tozu ise 1 g tartılıp 10 mL ultrasaf su içerisinde çözüldükten sonra, 5 mL alınarak analize geçilmiştir. Örneklerin üzerine 3.5 mL SSF, 0.5 mL ağız amilazı, 25 µL 0.3 M CaCl<sub>2</sub> ve 975 mL ultrasaf su eklenerek 100 rpm, 37°C'de 2 dakika, çalkalamalı su banyosunda inkübasyona bırakılarak sindirim işleminin ağız aşaması tamamlanmıştır.

Sürenin sonunda vakit kaybetmeksizin 7.5 mL SGF, 1.6 mL pepsin ve 5 µL CaCl<sub>2</sub> eklenerek 6M HCl ile pH 3'e ayarlanmış ve bu işlem için harcanan HCl miktarı kaydedilmiştir. Son hacim 20 mL olacak şekilde, eklenen HCl de göz önünde bulundurularak bir hesaplama yapıldıktan sonra eksik olan kısım ultrasaf su ile tamamlanıp 100 rpm, 37°C'de 2 saat boyunca sürecek olan inkübasyon başlatılmıştır. İki saatin sonunda 11 mL SIF, 5 mL pankreatin, 2.5 mL safra ve 40 µL CaCl<sub>2</sub> eklenip 1 M NaOH kullanılarak pH 7'ye ayarlanmıştır. Yine toplam hacim bu defa 40 mL olacak şekilde, harcanan NaOH miktarı da göz önünde bulundurularak eksik kısım ultrasaf su ile tamamlanmış ve 100 rpm, 37°C'de 2 saat daha inkübasyona bırakılmıştır. Tüm sindirim süresinin sonunda, ortama 150 mM Pefabloc® enzim inhibitörü eklenerek reaksiyon durdurulmuştur.

Sindirim işleminin sonunda elde edilen sıvı öncelikle 1000xg'de santrifüjlenerek sindirime uğramamış katı kısım uzaklaştırılmıştır. Daha sonra kalan sıvı kısım, 0.45 µm selüloz asetat filtreden geçirilerek filtre altında kalan kısım biyoerişilebilir materyalde toplam karotenoid ve β-karoten analizleri yapılmıştır (Courraud et al., 2013).

### 3.4.8. Karotenoid analizleri

#### Toplam karotenoid tayini

Spektrofotometrik toplam karotenoid miktarının saptanmasında Rodriguez-Amaya (2001) ve de Carvalho et al. (2012) kaynaklarından yararlanılmıştır. Yöntem, aseton ve petrol eteri kullanılarak ekstraksiyon yapıldıktan sonra doğrudan absorbans ölçümüne dayanmaktadır. Buna göre kontrol ve balkabağı turşusu örneklerinden 2.5 g, fermente balkabağı tozundan ise 0.25 g tartıldıktan sonra 5 mL soğuk aseton eklenmiş ve örnekler homojenizatörde parçalanmıştır. Homojenizatörde kalan örnek, 5 mL daha soğuk aseton ile yıkanarak alınmış ve tüm sıvı kaba filtre kağıdından geçirilmiştir. 5 mL daha soğuk aseton eklenerek kaba filtre kağıdında renk kalmayana kadar, toplamda 25 mL aseton ile karotenoidlerin yapıdan ayrılması sağlanmıştır.

Sonraki aşamada bir ayırma hunisine 20 mL petrol eteri konulmuş ve aseton:örnek ekstraktı ayırma hunisine aktarılmıştır. 150 mL ultrasaf su, kenardan sızdırılarak eklenmiş ve örneğin petrol eteri fazında çözünmesi sağlanmıştır. Fazların ayrılmasının beklenmesinin ardından alt faz alınmış ve toplamda 400 mL ultrasaf su ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemin sonucunda petrol eteri:karotenoid fazı elde edilmiştir.

Bir huninin dar kısmına cam yünü yerleştirildikten sonra üzerine 7.5 g sodyum sülfat eklenmiş ve kalıntı suyun uzaklaştırılması için faz buradan geçirilmiştir. Sonra, ayırma hunisi, 5 mL daha petrol eteri ile yıkanarak sodyum sülfat ve camyününden geçirilmiş ve tüm karotenoidler petrol eteri fazında toplandıktan sonra hacim tamamlaması yapılmıştır. Son olarak, 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmış ve aşağıdaki formülden toplam karotenoid miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam karotenoid} \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Abs} \times \text{toplam ekstrakt hacmi (mL)} \times 10^4}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times \text{örnek miktarı (g)}} \quad (6)$$

Bu formülde  $A_{1cm}^{1\%}$  için,  $\beta$ -karotenin petrol eterindeki sönümlenme katsayısı olan 2592 değeri kullanılmıştır.

### **$\beta$ -karoten analizi**

$\beta$ -karoten miktarının belirlenmesinde Bhatnagar-Panwar et al. (2013) yöntemi uygulanmıştır. Yöntem, dereceli elüsyonla ölçüm yapmaktadır. Ekstraksiyon aşaması için farklı bir yöntem kullanılmamış, fakat spektrofotometrik toplam karotenoid tayininde kullanılan ekstraksiyon yöntemi tekrar edildikten sonra, ekstraktlar vakumlu evaporatörde 50°C'de mutlak şekilde kurutulmuş ve karotenoidler, uygulanan yöntemin yürütücü fazı ile çözüldükten sonra 0.45  $\mu$ m PTFE filtreden geçirilerek viallere alınmıştır.

Yöntem için 30°C sıcaklık, 1.2 mL akış hızı, 20  $\mu$ L enjeksiyon, DAD dedektör koşulları sisteme programlanmıştır. Kullanılan kolon, ODS-2 RP C18 (5 $\mu$ , 4.6mmx250mm) (Thermo Scientific, ABD) özelliklerine sahiptir. Dereceli elüsyon iki farklı solventle gerçekleştirilmiştir. Solvent A; 50:40:10 oranında sırasıyla %0.5 trietilamin içeren metanol, asetonitril ve kloroform, Solvent B ise; 35:35:30 oranında sırasıyla %0.5 trietilamin içeren metanol, asetonitril ve kloroform içermektedir. Program ilk 2 dakika solvent A, sonraki 8 dakika boyunca lineer şekilde artan solvent B ve kalan dakikalarda yeniden lineer şekilde artacak biçimde solvent A olarak programlanmıştır. Absorbans ölçümleri 450 nm'de yapılmıştır. Tek analiz süresi 20 dakikadır.

$\beta$ -karoten standardı ise 1 mg/mL stok konsantrasyon olacak şekilde n-hekzanda çözülmüş ve sırasıyla 0, 0.001, 0.010, 0.100 ve 0.500 mg/mL olacak şekilde seyreltikten sonra sisteme verilmiş ve konsantrasyona karşı pik alanı grafiği elde edilmiştir.

### **Biyoerişilebilirlik:**

Biyoerişilebilir kısmın saptanması için, aşağıda verilen formül kullanılmıştır.

% Biyoerişilebilirlik

$$= \frac{\text{sindirim sonrasında bulunan karotenoid miktarı } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{g}}\right)}{\text{sindirim öncesinde bulunan karotenoid miktarı } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{g}}\right)} \times 100 \quad (7)$$

### 3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırmanın tüm istatistiksel analizleri, SPSS version 15.0 for Windows paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve bağımsız örnekler t-testi ile değerlendirilmiştir. Enzim inhibisyonlarının tespitinde GraphPad Prism 5 for Windows, versiyon 5.03 programı kullanılmıştır. Diğer veri hesaplamaları Microsoft Excel 2010 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## **4. BULGULAR VE TARTIŞMA**

### **4.1. Balkabağı Turşusuna Uygulanan Analizler**

#### **4.1.1. pH ve titre edilebilir asitlik**

Balkabağı turşusunun pH' sı  $3.13 \pm 0.03$ , titre edilebilir asitliği ise laktik asit cinsinden  $1.43 \pm 0.05$  g/L olarak saptanmıştır.

Bu tarihe dek yapılan araştırmalar sonucunda literatürde balkabağı turşusu örneğine rastlanmamıştır. Ancak balkabağı turşusu içinde bulunan laktik asit miktarı, farklı sebzelerden üretilen turşu ve benzeri fermente ürünlerin laktik asit miktarlarıyla uyum göstermektedir. Örneğin, Akbudak vd. (2007), salatalık turşusu için %0.13 ila 0.21 arası titre edilebilir asitlik değerleri bildirmiştir. Balkabağı turşusunda bulunan laktik asit miktarı yüzde olarak hesaplandığında ise veri, %0.14 dir.

#### **4.1.2. Tuz**

Balkabağı turşusunda  $4.79 \pm 0.13$  NaCl saptanmıştır. Tuz miktarı literatürde farklı sebzelerin turşuya işlenmesinde genellikle %8 NaCl olarak verilmektedir (Zhao and Ding, 2008; Li et al., 2009). Bu anlamda, ticari turşu hazırlama karışımının içerisinde bulunandan fazla tuz eklenmemiş olan balkabağı turşusunda bulunan  $4.79 \pm 0.13$  değeri, düşük olarak değerlendirilebilir.

### **4.2. Nem**

Nem içeriği, çiğ balkabağı için  $91.27 \pm 1.14$ , buharda haşlama yapılan kontrol örnek için  $90.94 \pm 1.14$ , balkabağı turşusu için  $89.18 \pm 0.44$  ve fermente balkabağı tozu için  $12.69 \pm 0.64$  olarak bulunmuştur. Daha önce yapılan ön denemelerde, fermente olan ürüne uygulanan daha uzun kurutma işlemleri, renkte koyulaşmaya neden olduğu için, kurutma aşaması güvenli kabul edilen bir değer olan %12-14 aralığında sonlandırılmıştır.

Örnekler kendi aralarında kıyaslandığında, çiğ balkabağı, kontrol ve balkabağı turşusu birbirlerine yakın sonuçlara sahiptir. Fermente balkabağı tozu ise, kuru gıda sayılabilecek özelliklere sahip olduğundan diğer örneklerle göre daha düşük nem yüzdesine sahiptir. Balkabağının ve balkabağından elde edilen ürünlerin

bileşimi, yetiştiği bölgenin iklim ve toprak özellikleri, işleme şekli ve tür özellikleri gibi bir çok faktör tarafından etkilenmektedir. USDA Veritabanında çiğ balkabağı için nem %88 olarak verilmiştir (Çizelge 2.1). Wang and Sang (2011) sıcak hava ile kuruttukları balkabağı dilimlerinin yüzde nem değerini %7.8 olarak bildirmişlerdir.

### 4.3. Antioksidan Kapasite

Troloks eşdeğeri (TEAC) cinsinden antioksidan kapasitenin belirlenmesinde elde edilen grafikler Şekil 4.1’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar ise Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Antioksidan kapasite (TEAC) sonuçları\*

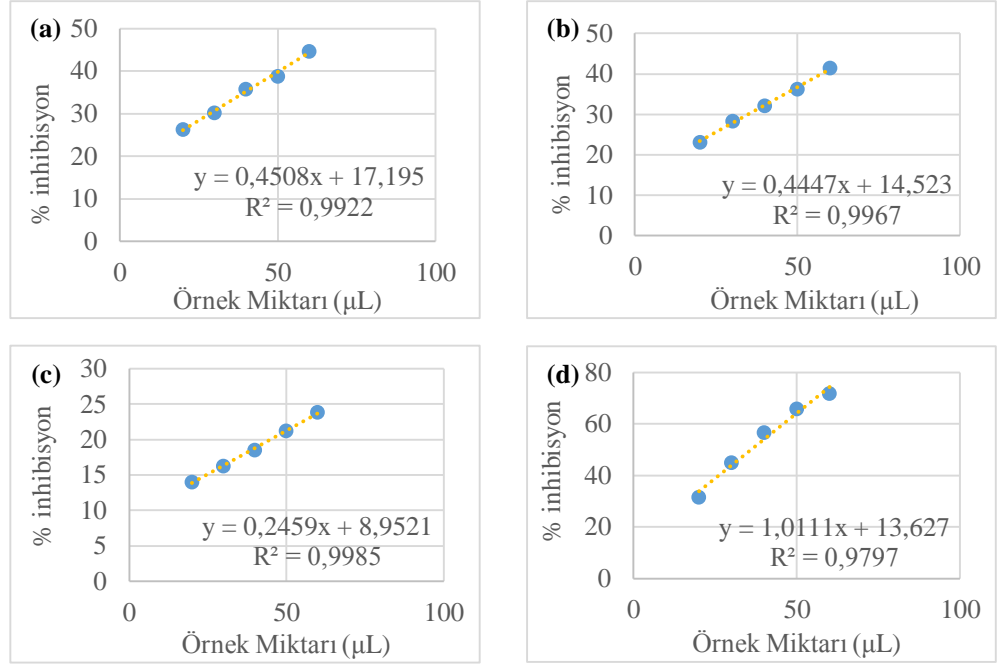
Örnekler	TEAC (mmol Troloks/g KM*** örnek)
Çiğ Balkabağı	11.36±0.28 <sup>a, x, α</sup>
Kontrol**	14.67±0.73 <sup>a, y, α</sup>
Balkabağı Turşusu	19.97±0.13 <sup>a, z</sup>
Fermente Balkabağı Tozu	62.53±0.14 <sup>b, β</sup>

\* Farklı üssel harfler, tüm örnekler arasındaki, farklı x-y-z harfleri fermenten balkabağı tozu hariç olan örnekler arasındaki ve α-β harfleri balkabağı turşusu hariç olan örnekler arasındaki farkların önemli olduğunu göstermektedir ( $P<0.05$ ).

\*\*Kontrol, 8 dakika boyunca buharda haşlama yapılmış balkabağı örneğidir.

\*\*\*KM, kurumaddeyi ifade etmektedir.

Troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan kapasite, farklı araştırmaların sonuçlarıyla kıyaslama yapabilmeyi sağlayan bir yöntemdir. Örnekler değerlendirildiklerinde, çiğ balkabağı, kontrol ve balkabağı turşusu arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ). Fermente balkabağı tozu ise, en yüksek antioksidan kapasiteye sahip örnektir ( $p<0.05$ ). İstatistiksel analize fermente balkabağı tozu alınmadığında, tüm örnekler birbirinden farklı olarak görülmektedir ( $p<0.05$ ). Balkabağı turşusu istatistiksel analiz dışı bırakıldığında ise, fermente balkabağı tozu, çiğ balkabağı ve kontrole göre farklı olarak bulunmaktadır ( $p<0.05$ ).



**Şekil 4.1. TEAC Grafikleri. (a) Çiğ Balkabağı, (b) Kontrol, (c) Balkabağı Turşusu ve (d) Fermente Balkabağı Tozu örnekleri.**

Deng et al. (2013) 56 farklı sebzenin antioksidan kapasitelerini incelemiş ve balkabağı türleri için antioksidan kapasitenin incelenen diğer örneklere kıyasla düşük olduğunu rapor etmiştir. Kunyanga et al. (2012), *C. maxima* türü balkabaklarının metanolik ekstraktları ile yaptıkları çalışmada DPPH radikalini inhibe edici aktivitesini çiğ balkabağı için  $81.0 \pm 0.59$ , sıcak suda haşlanmış balkabağı için  $83.0 \pm 0.59$  ve haşlama işleminden sonra hemen soğuk suya alınmış (*blanching* işlemi) balkabağı için ise  $78.0 \pm 1.77$  olarak rapor etmişlerdir. Benzer şekilde, Que et al. (2008), sıcak hava kullanılarak kuruttukları balkabağı dilimleri için %80-90 arası DPPH radikali inhibisyonu saptamışlardır. Dini et al. (2013), balkabağına uyguladıkları farklı proseslerden sonra DPPH kullanarak TEAC belirlemişlerdir. Sirke ile marinasyon ve liyofilizasyon işlemleri sonrasında antioksidan aktiviteyi sırasıyla  $388.68 \pm 6.4$  ve  $295.51 \pm 1.0$  µmol Troloks/10 g olarak saptamışlardır. Çalışmalarda elde edilen veriler arasındaki farklılıklar balkabağının yetişmesi sırasında rol oynayan iklim, toprak koşulları gibi zirai etkenlerle açıklanabilir. Fermente balkabağı tozunun TEAC verilerindeki yükseklik, fermantasyon ortamında bulunan maya ve bakteri faaliyetlerinin bir göstergesi olabilir.

#### 4.4. *In vitro* Karbonhidrat Sindirim Enzimleri İnhibisyon Kapasiteleri

##### 4.4.1. *In vitro* $\alpha$ -amilaz enzimi inhibisyon kapasitesi

Enzim inhibisyon grafikleri, Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Elde edilen % inhibisyon değerlerinin GraphPad Prism programında IC<sub>50</sub> hesaplamaları gerçekleştirilmiş ve bulunan değerler, pozitif kontrol olan akarboz ile oranlanmıştır. IC<sub>50</sub> değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *In vitro*  $\alpha$ -amilaz enzimi inhibisyon kapasiteleri\*

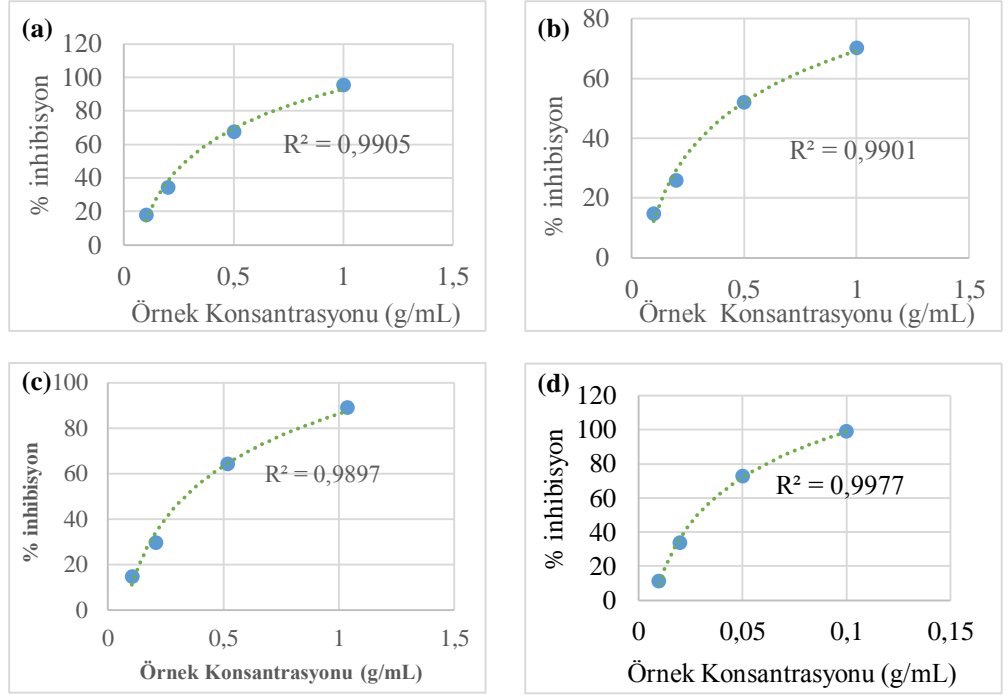
Örnekler	IC <sub>50</sub> (mg KM** örnek/mL)	IC <sub>50</sub> (mg KM örnek/mg akarboz)
Çiğ Balkabağı	24.55 <sup>a, x, <math>\alpha</math></sup>	13.36±3.28 <sup>a, x, <math>\alpha</math></sup>
Kontrol	23.08 <sup>a, x, <math>\alpha</math></sup>	13.01±3.01 <sup>a, x, <math>\alpha</math></sup>
Balkabağı Turşusu	20.26 <sup>b, x</sup>	12.24±1.15 <sup>a, x</sup>
Fermente Balkabağı Tozu	1.82 <sup>c, <math>\beta</math></sup>	62.48±5.04 <sup>b, <math>\beta</math></sup>

\* Farklı üssel harfler, tüm örnekler arasındaki, farklı x-y-z harfleri fermenten balkabağı tozu hariç olan örnekler arasındaki ve  $\alpha$ - $\beta$  harfleri balkabağı turşusu hariç olan örnekler arasındaki farkların önemli olduğunu göstermektedir ( $P<0.05$ ).

\*\*KM, kuru maddeyi ifade etmektedir.

Antidiyabetik özelliklerle ilişkilendirilen *in vitro*  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzimlerinin inhibisyon kapasiteleri, IC<sub>50</sub> değeriyle ifade edilmektedir. Reaksiyon ortamının mililitresinde bulunan miligram örneğin kurumaddesi (mg KM örnek/mL) birimi üzerinden değerlendirme yapıldığında tüm örnekler arasında en düşük IC<sub>50</sub> değeri fermente balkabağı tozuna aittir. Balkabağı turşusu ise, çiğ balkabağı ve kontrole göre anlamlı bir farka sahiptir ( $p<0.05$ ). Fermente balkabağı tozu istatistiksel analize dahil edilmediğinde, balkabağı turşusu ile çiğ balkabağı ve kontrol arasında istatistiksel olarak bir fark görülmemektedir ( $p>0.05$ ). Fermente balkabağı turşusu analize benzer şekilde dahil edilmezse, fermente balkabağı tozu, çiğ balkabağı ve kontrol örneğin onda birinden daha az bir IC<sub>50</sub> değerine sahiptir ( $p<0.05$ ). Tüm bu sonuçlar, fermente balkabağına uygulanan işlemlerin  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonunu arttırdığı şeklinde yorumlanabilir. Örnekler için miligram akarboza karşı eşdeğer miligram kurumadde miktarı üzerinden (mg KM örnek/mg

akarboz) değerlendirme yapılacak olursa, çiğ balkabağı, kontrol ve balkabağı turşusu arasında istatistiksel bir fark yoktur. Fermente balkabağı tozu ise en yüksek IC<sub>50</sub> değerine sahiptir ( $p < 0.05$ ). Fermente balkabağı tozu analize dahil edilmediğinde, örnekler arasında benzer şekilde fark görülmemektedir ( $p > 0.05$ ). Balkabağı turşusu değerlendirmeye alınmadığında ise, fermente balkabağı tozunun 1 mg akarboza olan eşdeğer kurumadde ağırlığı oldukça yüksektir.



Şekil 4.2. *In vitro* α-amilaz Enzimi İnhibisyonu Grafikleri. (a) Çiğ Balkabağı, (b) Kontrol, (c) Balkabağı Turşusu ve (d) Fermente Balkabağı Tozu örnekleri.

#### 4.4.2. *In vitro* α-glukozidaz enzimi inhibisyon kapasitesi

Örneklerin *in vitro* α-glukozidaz enzim inhibisyon grafikleri Şekil 4.3'te verilmiştir. Bir önceki uygulama olan *in vitro* α-amilaz enzim inhibisyonunda olduğu gibi, yine elde edilen %inhibisyon değerlerinin GraphPad Prism programında IC<sub>50</sub> hesaplamaları gerçekleştirilmiş ve bulunan değerler, pozitif kontrol olan akarboz ile oranlanmıştır. Çizelge 4.3, elde edilen verilere göre hesaplanan IC<sub>50</sub> verilerini içermektedir.

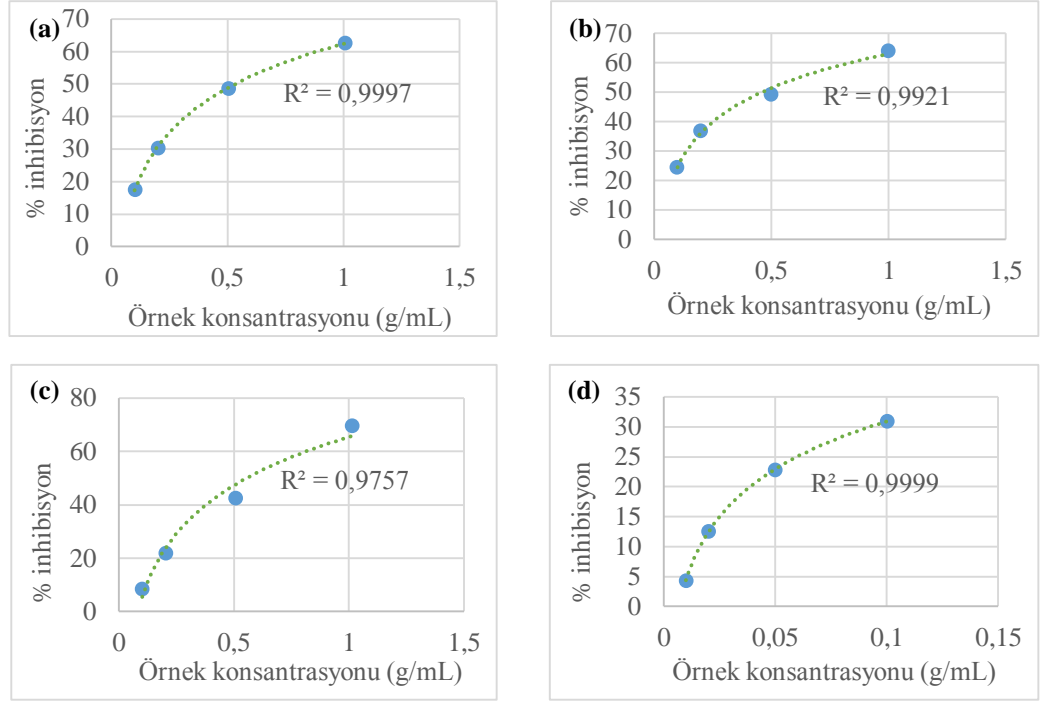
Çizelge 4.3. *In vitro*  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon kapasiteleri\*

Örnekler	IC <sub>50</sub> (mg KM** örnek/mL)	IC <sub>50</sub> (mg KM** örnek/mg akarboz)
Çiğ Balkabağı	11.32 <sup>a, x, <math>\alpha</math></sup>	0.41±0.01 <sup>a, x, <math>\alpha</math></sup>
Kontrol	13.84 <sup>b, y, <math>\beta</math></sup>	0.52±0.05 <sup>a, x, <math>\alpha</math></sup>
Balkabağı Turşusu	39.21 <sup>c, z</sup>	1.78±0.06 <sup>b, y</sup>
Fermente Balkabağı Tozu	1.22 <sup>d, <math>\gamma</math></sup>	2.26±0.75 <sup>b, <math>\beta</math></sup>

\* Farklı üssel harfler, tüm örnekler arasındaki, farklı x-y-z harfleri fermenten balkabağı tozu hariç olan örnekler arasındaki ve  $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$  harfleri balkabağı turşusu hariç olan örnekler arasındaki farkların önemli olduğunu göstermektedir ( $P<0.05$ ).

\*\*KM, kurumaddeyi ifade etmektedir.

IC<sub>50</sub> değerleri, kurumadde miktarları üzerinden ve reaksiyon ortamının 1 mL'sinde görülen kurumadde örneğin mg'ı (mg KM örnek/mL) üzerinden değerlendirildiğinde, örneklerin hepsi istatistiksel olarak birbirinden farklıdır. En düşük IC<sub>50</sub> değeri ise, kontrol örneğin onda biri olan bir değerle fermente balkabağı tozuna aittir ( $p<0.05$ ). Fermente balkabağı tozu istatistiksel analize dahil edilmediğinde, çiğ balkabağı, kontrol ve fermente balkabağı tozu kendi aralarında farklıdır, balkabağı turşusunun daha yüksek bir IC<sub>50</sub> değerine sahip olduğu görülmektedir ( $p<0.05$ ). Balkabağı turşusu aynı şekilde varyans analizine dahil edilmediğinde, yine tüm örneklerin farklılığı görülmekle birlikte, fermente balkabağı tozunun IC<sub>50</sub> değerinin çiğ balkabağı ve kontrole kıyasla çok daha düşük olduğu sonucuna varılmaktadır. Tüm bu analizlerden çıkarılan ortak sonuç, fermente balkabağı tozuna uygulanan proseslerin,  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonu üzerinde etkili olduğu şeklindedir. Örneklerin mg'ının akarboz eşdeğeri olarak değerlendirildiği analizde ise, çiğ balkabağı ile kontrol, balkabağı turşusu ile de fermente balkabağı tozu arasında istatistiksel olarak bir fark yoktur. Ancak ürünlerin IC<sub>50</sub> değerleri, kontrol örnekten daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Fermente balkabağı tozu olmadan yapılan değerlendirmede, balkabağı turşusunun istatistiksel olarak farklı ve daha yüksek IC<sub>50</sub> değerine, balkabağı turşusu olmadan uygulanan varyans analizinde ise fermente balkabağı tozunun benzer şekilde farklı ve daha yüksek IC<sub>50</sub> değerine sahip olduğu sonucuna varılmaktadır.



**Şekil 4.3. *In vitro*  $\alpha$ -glukozidaz Enzimi İnhibisyonu Grafikleri. (a) Çiğ Balkabağı, (b) Kontrol, (c) Balkabağı Turşusu ve (d) Fermente Balkabağı Tozu örnekleri.**

#### 4.4.3. $\alpha$ -amilaz ve $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon sonuçlarının birbirleri ile ve önceki çalışmalarla kıyaslanması

Kunyanga et al. (2012), balkabağının yenilebilir kısımlarının metanolik ekstraktları için çiğ olarak, sıcak suda pişirilmiş olarak ve haşlama işleminin ardından soğuk suya alınmış olarak sırasıyla,  $\%28.33 \pm 6.49$ ,  $\%8.66 \pm 1.53$  ve  $\%11.66 \pm 0.29$  *in vitro*  $\alpha$ -amilaz;  $\%13.33 \pm 5.91$ ,  $\%17.67 \pm 5.91$  ve  $\%22.67 \pm 7.08$  *in vitro*  $\alpha$ -glukozidaz inhibisyonu rapor etmişlerdir. Wongsa et al. (2012) ise, *C.moschata* türü balkabağının yapraklarının metanolik ekstraktının hem  $\alpha$ -amilaz, hem de  $\alpha$ -glukozidaz enzimlerini  $\%20$  inhibe ettiği sonucuna varmıştır. Duraiswamy et al. (2015) içerisinde Cucurbitae ailesinden acı kabak ve ayrıca guava, amla, jamun ve jimnema gibi tropikal meyveler ve çemenotu bulunan bir formülasyon geliştirmişler ve  $\alpha$ -amilaz için  $0.41 \pm 0.03$  mg/mL,  $\alpha$ -glukozidaz için ise  $0.51 \pm 0.01$  mg/mL gibi  $IC_{50}$  değerleri rapor etmişlerdir. Bu formülasyonda, kullanılan hammaddelerin çeşitliliği ve başta fenolik maddeler olmak üzere, bir çok biyoaktif maddenin sinerjistik çalışması bu  $IC_{50}$  verisine ulaşmayı sağlamış olabilir. Çalışma kapsamında bulunan ürünler fermentasyon işlemi geçirmiş olduklarından,

fermente ürünlerin  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon verilerinin de bu kapsamda değerlendirilmesi gerekmektedir. Örneğin; Shukla et al. (2016) Kore bölgesinde soya fasulyesinin fermente edilmesiyle elde edilen bir ürün olan *Doenjang* isimli ürün için değişik starter kültürler kullanarak hazırladıkları formülasyonlarda  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonunu incelemişler ve 27.40-40.98 mg/mL IC<sub>50</sub> verileri elde etmişlerdir, ancak bu çalışmanın sonuçları akarboz ile kıyaslanmamıştır. Simsek vd. (2014) ise, mercimek ve börülcenin çimlenmiş tohum ve filizlerini içeren fermente sebze suları için 149±17  $\mu$ M  $\alpha$ -amilaz ve 350±54  $\mu$ M  $\alpha$ -glukozidaz IC<sub>50</sub> değerleri rapor etmişlerdir.

#### 4.5. Toplam Karotenoid Miktarı ve Biyoerişilebilirliği

Spektrofotometrik toplam karotenoid miktarının saptanmasında Rodriguez-Amaya (2001), metodu uygulanmış olup, *in vitro* sindirim işleminden sonra aynı analizin tekrarından elde edilen sonuçlarla da, % biyoerişilebilirlik verilerine ulaşılmıştır. Bulgular, Çizelge 4.4'te verilmiştir. Çiğ balkabağı örneklerine çiğ tüketilmediği için sindirim işlemi uygulanmamıştır.

Çizelge 4.4. Toplam karotenoid miktarları ve biyoerişilebilirlik yüzdeleri \*

Örnekler	<i>in vitro</i> Sindirim Öncesi Toplam Karotenoid Miktarı ( $\mu$ g/g KM <sup>**</sup> )	<i>in vitro</i> Sindirim Sonrası Toplam Karotenoid Miktarı ( $\mu$ g/g KM)	% Biyoerişilebilirlik
Çiğ balkabağı	886.05±0.64 <sup>a</sup>	-	-
Kontrol	953.31±17.13 <sup>b</sup>	29.26±0.19 <sup>a</sup>	3.07±0.07 <sup>a</sup>
Balkabağı turşusu	210.68±8.64 <sup>c</sup>	30.43±5.08 <sup>a</sup>	14.41±1.82 <sup>b</sup>
Fermente balkabağı tozu	650.60±2.63 <sup>d</sup>	6.41±0.90 <sup>b</sup>	1.00±0.19 <sup>c</sup>

\* Aynı kolonda bulunan farklı üssel harfler, örnekler arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

\* KM, kurumaddeyi ifade etmektedir.

Kurumadde miktarları üzerinden yapılan değerlendirme sonucunda, en yüksek karotenoid miktarının buharda haşlanmış olan kontrolde bulunduğu saptanmıştır. Buharda haşlama işlemi, hücre yapısını bozarak, daha fazla karotenoidin açığa çıkmasına neden olmuş olabilir. Azizah et al. (2009) *Cucurbita*

*moschata* türü balkabaklarında haşlama ve kızartma olarak uygulanan ısı işleminin sonucunda inceledikleri karotenoidlerin hepsinde farklı oranlarda artış tespit etmişlerdir. Fermente balkabağı tozu üretimi süresince karotenoid kaybı söz konusudur. Bu kayıp, kurutma süresince ürünün hava ile temasına bağlanabilir. Zira, karotenoid yapıdaki bileşikler yüksek sıcaklıklarda stabil kalsalar da ışık ve üretim sürecinde maruz kaldıkları kuru havadan aldıkları oksijene duyarlı bileşiklerdir (Acar ve Gökmen, 2014). Balkabağı turşusu, kurumadde miktarı üzerinden yapılan değerlendirmede de en fazla karotenoid kaybına uğramış örnek olarak tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Buna karotenoidlerin turşu fermantasyonu sırasında degrade olmaları neden olabilir. Minguez-Mosquera et al. (1989) sofralık zeytin üretimi için uygulanan fermantasyon ve salamurada saklama yöntemleri için  $\beta$ -karoten ve lutein dışındaki karotenoidlerde izomerlerine dönüşüm bildirmiştir. Farklı bir çalışmada ise bu degradasyon mekanizmalarını açıklamışlardır (Minguez-Mosquera and Gandul-Rojas, 1994). Kun et al. (2008) ise, Bifidobakterleri kullandıkları fermente havuç suyu üretiminin 24 saatlik fermantasyonundan sonra  $\alpha$ - ve  $\beta$ -karoten miktarlarında düşüş saptamışlardır. Bir başka muhtemel neden de, turşu balkabağı küplerinden salamura suyuna karotenoid geçişi olasılığıdır. Balkabağı turşusuna spektrofotometrik toplam karotenoid analizi, turşu haline gelen balkabağı küpleri kullanılarak uygulanmış, salamura tüketimi genellikle olmadığından, örneğin sıvı kısmı analize dahil edilmemiştir. Fermente balkabağı tozu, birim ağırlıkta daha fazla karotenoid miktarına sahiptir ( $p<0.05$ ).

Gıdalarda bulunan karotenoid miktarları gıdaların çeşidinin dışında, aynı tür gıdanın da çeşit, iklimsel, coğrafi, gıdada bulunduğu kısım, yetiştirme ve yetiştirme sonrasındaki işleme ve depolama şartlarından oldukça fazla etkilendikleri için kendi aralarında da oldukça çeşitlilik göstermektedirler (Rodriguez-Amaya, 2010; Saini et al., 2015). Bhaskarachary et al. (1998) çalışmasında *C. maxima* türü balkabakları için  $20.6\pm 7.7$  ve Iacuzzo and Dalla Costa (2005) da, yine aynı tür için  $58-68 \mu\text{g/g}$  toplam karotenoid miktarı bildirmişlerdir. Projede çalışılan tür olan *C. maxima* için mevcut sonuçlar çiğ balkabaklarında  $74.28\pm 5.32$ , kontrol örnekte  $85.36\pm 2.06 \mu\text{g/g}$  olarak bulunmuştur. Ayrıca, Wang and Sang (2011) sıcak hava kullanılarak kurutulmuş *C. maxima* dilimleri için  $235.27\pm 2.87 \mu\text{g/g}$  toplam karotenoid miktarı rapor etmişlerdir. Tarafımızca yapılan çalışma kapsamında fermantasyon işleminin

ardından kurutulan fermente balkabağı tozu için ise  $568.03 \pm 2.29$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  toplam karotenoid miktarı tespit edilmiştir.

Örneklere *in vitro* sindirim işlemi uygulanmasının ardından tekrar edilen toplam karotenoid tayininin sonuçları, sindirim öncesine göre önemli düşüşler olduğunu belirlemiştir. Bunun temel nedeni, ortamda karotenoidlerin çözülmesini sağlayacak yağ miktarı bulunmamasıdır. Örneklerin geçirdiği fermantasyon süreçleri de, yağda çözünen bileşiklerin biyoerişilebilir materyale geçişini sağlamamıştır.

*In vitro* sindirim sonrası örnekler değerlendirildiğinde, kontrol ve balkabağı turşusu arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Fermente balkabağı tozu, kurumaddede en düşük karotenoid miktarını vermiştir ( $p < 0.05$ ).

#### 4.6. $\beta$ -karoten Miktarı ve Biyoerişilebilirliği

HPLC ile  $\beta$ -karoten miktarının saptanmasında ise Bhatnagar-Panwar et al. (2013) yöntemi uygulanmış olup, sonuçlar benzer şekilde Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Farklı ekstraksiyon ve HPLC programlarıyla  $\beta$ -karoten, her tür balkabağının karbonhidratlarıyla birlikte en çok çalışılan biyoaktif bileşenidir. Çeşitli HPLC yöntemleri ile *C. maxima* türü çiğ balkabaklarında belirlenen  $\beta$ -karoten miktarları;  $14-74$   $\mu\text{g}/\text{g}$  (Murković et al., 2002),  $13.38 \pm 2.55$   $\mu\text{g}/\text{g}$  (Provesi et al., 2011),  $11.6 \pm 5.7$   $\mu\text{g}/\text{g}$  (Bhaskarachary et al., 1998),  $362 \pm 89.3$   $\mu\text{g}/\text{g}$  (Hels et al., 2004) gibi verilerden de anlaşılacağı gibi çeşitlilik göstermektedir. Diğer iki tür olan *C. moschata* için  $244.22 \pm 9.63$  (de Carvalho et al., 2012) ve  $8540 \pm 289$   $\mu\text{g}/\text{g}$  (Kidmose et al., 2006), *C. pepo* için ise  $1133.7 \pm 4.1$   $\mu\text{g}/\text{g}$  (Medoua and Oldewage-Theron, 2011) gibi oldukça farklı sonuçlar bildirilmiştir. Tripathi et al. (2014) *C. pepo* türü balkabaklarını koruma amaçlı uygulama yaptıkları bir çalışmada çiğ balkabakları için ilk günde  $4.75 \pm 1.21$ , 21. günde  $3.42 \pm 0.65$   $\mu\text{g}/\text{g}$ ; aynı balkabaklarına 1kGy radyasyon uygulaması yaptıktan sonra ilk gün için  $4.80 \pm 0.96$  ve 21. gün için  $2.40 \pm 0.26$   $\mu\text{g}/\text{g}$   $\beta$ -karoten miktarı rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.5.  $\beta$ -karoten miktarları ve % biyoerişilebilirlik değerleri\*

Örnekler	<i>in vitro</i> Sindirim Öncesi $\beta$ -karoten Miktarı ( $\mu\text{g/g KM}^{**}$ )	<i>in vitro</i> Sindirim Sonrası $\beta$ -karoten Miktarı ( $\mu\text{g/g KM}$ )	% Biyoerişilebilirlik
Kontrol	149.51 $\pm$ 28.18 <sup>a</sup>	22.91 $\pm$ 3.96 <sup>a</sup>	15.03 $\pm$ 2.16 <sup>a</sup>
Balkabağı turşusu	46.88 $\pm$ 9.13 <sup>b</sup>	17.17 $\pm$ 0.78 <sup>b</sup>	36.80 $\pm$ 5.70 <sup>b</sup>
Fermente balkabağı tozu	181.05 $\pm$ 18.44 <sup>c</sup>	22.81 $\pm$ 4.19 <sup>a</sup>	12.68 $\pm$ 2.56 <sup>a</sup>

\*Farklı üsse01 harfler, örnekler arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ )

\*\*KM, kurumaddeyi ifade etmektedir.

Örnekler için değerlendirme yapıldığında, en yüksek  $\beta$ -karoten miktarının, fermente balkabağı tozunda olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ). Toplam karotenoid miktarında saptanan düşüğe karşın,  $\beta$ -karoten miktarının yüksek olması,  $\beta$ -karotenoidlerin, diğer karotenoidlerle kıyaslandığında daha dayanıklı olarak değerlendirildiği verileri doğrulamaktadır. Balkabağı turşusunda gerçekleşen fermentasyon işlemi ise, toplam karotenoid miktarında olduğu gibi, yine düşüğe neden olmuştur.

*In vitro* sindirim sonrası açığa çıkan biyoerişilebilir  $\beta$ -karoten değerlendirildiğinde, kontrol ve fermente balkabağı tozu örnekleri arasında istatistiksel olarak bir fark tespit edilememiştir. Balkabağı turşusunda ise daha düşük miktarda  $\beta$ -karoten açığa çıkmıştır ( $p<0.05$ ). Ancak, balkabağı turşusu örneğinin, yukarıda da belirtildiği üzere, *in vitro* sindirim işlemine tabi tutulmadan önce, fermentasyon aşamasında  $\beta$ -karoten kaybına uğradığı, değerlendirme açısından önemlidir.

Toplam karotenoid biyoerişilebilirlik değerleri, sindirim sonrası toplam karotenoid miktarları ile benzer şekilde düşüktür. Toplam karotenoid biyoerişilebilirliği için örnekler arasında anlamlı farklar bulunmaktadır ( $p<0.05$ ). Fermente balkabağı tozu, üç örnek arasında en düşük, balkabağı turşusu ise en yüksek toplam karotenoid biyoerişilebilirliğine sahip olan örneklerdir.

$\beta$ -karoten biyoerişilebilirliği değerlendirilecek olursa, toplam karotenoidlere göre daha yüksek biyoerişilebilirlik verileri elde edilmiştir. Bu farklanmanın nedeni,  $\beta$ -karoten dışında kalan karotenoidlerde  $\beta$ -karotene kıyasla daha fazla oluşmuş olabilecek kayıplar veya yöntemler arasındaki ölçüm farklılıkları olabilir. Ancak, sayısal olarak farklı değerler bulunsa da, en yüksek  $\beta$ -karoten biyoerişilebilirliği değerine  $36.80 \pm 5.70$  ile balkabağı turşusu sahiptir ( $p < 0.05$ ) ve diğer iki örnek olan kontrol ve balkabağı turşusu arasında bir fark bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ). Balkabağı turşusu için elde edilen  $\beta$ -karoten biyoerişilebilirliği, kontrol örneğin iki katından fazladır.

Karotenoid biyoerişilebilirliği, havuç ve turuncu renkli domates (Palmero et al., 2013), tatlı patates (Tumuhimise et al., 2009), havuç ve ıspanak (Courraud et al., 2013) gibi farklı gıdalarla da denenmiştir. Balkabağı ile ise, Veda et al. (2006) iki farklı *in vitro* sindirim ve iki farklı pişirme yöntemi denedikleri çalışmada basınçla pişirilmiş balkabaklarında kullandıkları her iki metot ile de %0, yağda kızarttıkları balkabaklarında ise %53 ve %10  $\beta$ -karoten biyoerişilebilirliği bildirmişlerdir. Bu çalışma, karotenoidlerin sindiriminde ortamda yağ bulunmasının yarattığı farkı açıklamaktadır. Jeffery et al. (2012), kış kabağı olarak bilinen bir balkabağı türünü de içeren farklı gıdalarla yapmış oldukları çalışmada,  $\beta$ -karoten için %16.5 biyoerişilebilirlik sonucuna varmışlardır. Balkabağı ile taksonomik olarak aynı ailede bulunan turuncu etli kavun (*Cucumis melo*) için ise %3.2 gibi oldukça düşük karotenoid biyoyararlılığı bildirilmiştir (Fleshman et al., 2011). Karotenoid biyoerişilebilirliğini SLAMENGHI olarak kısaltılan bir çok faktör etkilemektedir. SLAMENGHI ile ilgili bilgi, literatür özeti kısmında ayrıntılı şekilde verildiğinden bu kısımda ayrıntıya girilmeyecektir. Ayrıca uygulanan *in vitro* sindirim yönteminden gelebilecek farklılıkların da, kıyaslamada göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Özet olarak, yapılan bir çok çalışmada, ortamda yağ bulunmayan durumlar için karotenoid biyoerişilebilirlik verileri oldukça düşüktür.

## 5. GENEL SONUÇLAR

Ülkemizde yetiştirilen ve semt pazarlarında kolay ulaşılabilir durumda olan balkabağı (*Cucurbita maxima*), birçok araştırmacı tarafından Tip 2 Diyabetten korunma ve tedavide, önemli bir ajan olarak rapor edilmiştir. Ancak ülkemizde balkabağı tüketimi, en bilinen haliyle şerbetli tatlı ile sınırlı kalmıştır. Balkabağı, belirtilen antidiyabetik etkisini büyük ölçüde sahip olduğu polisakkarit yapısı ve yapısında oldukça fazla bulunan  $\beta$ -karoten biyoaktif bileşenleri etkisiyle göstermektedir.

$\beta$ -karoten, molekül yapısında iki  $\beta$ -iyonon halkası bulundurması nedeniyle tanımlanmış olan diğer A vitamini ön maddelerine göre iki kat daha fazla A vitamini aktivitesi göstermesi açısından tektir. Bu nedenle, gıdaların A vitamini ile zenginleştirilmesi çalışmalarında en fazla kullanılan biyoaktif bileşen konumundadır. Ancak, biyoyararlılığı araştırmalarda, çoğu gıdanın içinde istenilenden daha az bulunmaktadır.  $\beta$ -karoten biyoyararlılığını etkileyen toplamda 9 faktör belirtilmektedir. Bu etkiler ve birbirleriyle olan ilişkilerin incelenmesi sonucu tasarlanacak olan gıdalar, biyoyararlılığı arttırmaya yönelik adımlar olacaktır. Türlerin sahip oldukları enzimlerin farklı olmasından dolayı biyoyararlılık araştırmaları, hayvan denemelerinden ziyade, insanlar üzerinde çalışıldığında daha güvenilir sonuçlar vermektedir. Ancak, insan denemeleri, pahalı, zaman alan ve kontrolü oldukça zor olan çalışmalar olduğundan, ilk etapta biyoyararlılık hakkında ön bilgi edinilmesini kolaylaştıran bir yöntem olan *in vitro* biyoerişilebilirlik yüzdelerinin saptanması oldukça önemli bilgilerin edinilmesine yardımcı olmaktadır.

Elde edilen veriler, balkabağının fermantasyon içeren bir üretim prosesinin ardından, antidiyabetik etkisinin arttığı yönündedir. Bu amaçla tez çalışması kapsamında iki farklı fermantasyon aşaması uygulanmış olan gıda üretimi gerçekleştirilmiştir. İlk ürün olan balkabağı turşusu, ev ortamında uygulanan ve ticari olarak piyasada bulunan turşu hazırlama karışımı kullanılarak üretilmiştir. İkinci ürün, fermente balkabağı tozu, balkabağının sahip olduğu doğal mikrofloranın yüzey sterilizasyonu uygulamasıyla elimine edilmesinin ardından, kontrollü şekilde gerçekleştirilen bir fermantasyon prosesiyle üretilmiş ve

fermantasyonun ardından balkabağı dilimleri kurutulup öğütüldükten sonra elenerek toz bir ara ürün eldesi gerçekleştirilmiştir. Kontrol ürün olarak, buharda haşlanmış balkabağı kullanılması, fermentasyonun etkilerini gözlemlemeyi amaçlamıştır. Kontrol ürün, aynı zamanda çiğ balkabağı ile de kıyaslanmış ve yapılan bütün çalışmalarda çiğ balkabağı ve kontrol arasında istatistiksel bir fark bulunmadığı için, tüketimi daha muhtemel olan haşlanmış balkabağı ile kıyaslama seçilmiştir. Elde edilen ürünlerde antioksidan kapasite, antidiyabetik özelliklerle ilişkilendirilen  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzimlerini inhibe etme kapasitesi, toplam karotenoid ve özellikle  $\beta$ -karoten miktar ve biyoerişilebilirlikleri, yapılan analizler yardımıyla incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda;

- ❖ Kontrol için  $14.67 \pm 0.73$ , balkabağı turşusu için  $19.97 \pm 0.13$  ve fermente balkabağı tozu için  $62.53 \pm 0.14$  mmol Troloks/g KM örnek olarak antioksidan kapasite,
- ❖ Kontrol örnekte  $13.01 \pm 3.01$ , balkabağı turşusunda  $12.24 \pm 1.15$  ve fermente balkabağı tozunda  $62.48 \pm 5.04$  mg KM örnek/mg akarboz  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyon kapasitesi,
- ❖ Kontrol örnekte  $0.52 \pm 0.05$ , balkabağı turşusunda  $1.78 \pm 0.06$  ve fermente balkabağı tozunda  $2.26 \pm 0.75$  mg KM örnek/mg akarboz  $\alpha$ -glukozidaz inhibisyon kapasitesi,
- ❖ Kontrol için  $953 \pm 17$ , balkabağı turşusu için  $211 \pm 9$  ve fermente balkabağı tozu için  $651 \pm 3$   $\mu\text{g/g}$  KM toplam karotenoid miktarı,
- ❖ Uygulanan prosedürün ardından yapılan hesaplamalarla kontrol için  $\%3.07 \pm 0.07$ , balkabağı turşusu için  $\%14.41 \pm 1.82$  ve fermente balkabağı tozu için  $\%1.00 \pm 0.19$  toplam karotenoid biyoerişilebilirlik değerleri,
- ❖ Kontrol örnek için  $150 \pm 28$ , balkabağı turşusu için  $47 \pm 9$  ve fermente balkabağı tozu için  $181 \pm 18$   $\mu\text{g/g}$  KM  $\beta$ -karoten,
- ❖ Yine *in vitro* sindirim uygulamasının ardından saptanan  $\beta$ -karoten miktarları ile yapılan benzer hesaplama sonucunda kontrol örnek için  $\%15.03 \pm 2.16$ , balkabağı turşusu için  $\%36.80 \pm 5.70$  ve fermente balkabağı tozu için  $\%12.68 \pm 2.56$   $\beta$ -karoten biyoerişilebilirliği bulunmuştur.

Yapılan çalışmanın sonuçları antidiyabetik aktivite açısından değerlendirildiğinde literatüre olumlu sonuçlar sağlamıştır. Uygulanan

fermantasyon prosesleri,  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon kapasitelerinde örnekler üzerinden değerlendirildiğinde artış sonucu verse de, kurumadde miktarları göz önünde bulundurulduğunda artışa neden olmasa da, düşüş sağlamamıştır.

Toplam karotenoid ve  $\beta$ -karoten biyoerişilebilirlik değerleri incelendiğinde, balkabağı turşusu örneği, kontrole göre daha yüksek biyoerişilebilirlik değeri gösterse de, mevcut değerler sonuç itibarıyla düşük kalmaktadır.

Fermente balkabağı tozu, bir ara ürün olarak tasarlanmıştır. Üretilen bu ara ürün, çeşitli emülsiyonların veya direkt olarak yağ içeren gıdaların tasarımında kullanıldığında toplam karotenoid ve  $\beta$ -karoten biyoerişilebilirlik yüzdelerinde artış olması öngörülmektedir.

Sonuç olarak, balkabağı turşusu ve fermente balkabağı tozu, özellikle antidiyabetik etki açısından toplumun tüketimine sunulabilecek iki gıda tasarım örneği olabilir. Özellikle fermente balkabağı tozu, yapısında yağ bulunan gıdalarla birleştiğinde tip 2 diyabetten korunma ve tedavisine yardımcı olma ve A vitamini eksikliğini giderebilme açısından umut vaadeden bir ara ürün olma potansiyeli taşımaktadır.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Acar, J. ve Gökmen, V.**, 2014, Bölüm 9, *Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri*, **Saldamlı, İ. (Ed.)**, Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 583s.
- Acosta-Patiño, J.L., Jiménez-Balderas, E., Juárez-Oropeza, M.A. and Díaz-Zagoya, J.C.**, 2001, Hypoglycemic action of *Cucurbita ficifolia* on Type 1 diabetic patients with moderately high blood glucose levels. *Journal of Ethnopharmacology*, 77(1), 99-101pp.
- Adams, G.G., Imran, S., Wang, S., Mohammad, A., Kok, S., Gray, D.A., Channell, G.A., Morris, G.A. and Harding, S.E.**, 2011, The hypoglycaemic effect of pumpkins as anti-diabetic and functional medicines. *Food Research International*, 44(4), 862-867pp.
- Ademiluyi, A.O. and Oboh, G.**, 2013, Soybean phenolic-rich extracts inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes ( $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) *in vitro*. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65(3), 305-309pp.
- Ahmed, J., Al-Foudari, M., Al-Salman, F. and Almusallam, A.S.**, 2014, Effect of particle size and temperature on rheological, thermal, and structural properties of pumpkin flour dispersion. *Journal of Food Engineering*, 124, 43-53pp.
- Akbudak, B., Ozer, M.H., Uylaser, V. ve Karaman, B.**, 2007, The effect of low oxygen and high carbon dioxide on storage and pickle production of pickling cucumbers cv. 'Octobus'. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1034-1046s.
- Amorim-Carrilho, K.T., Cepeda, A., Fente, C. and Regal, P.**, 2014, Review of methods for analysis of carotenoids. *Trends in Analytical Chemistry*, 56, 49-73pp.
- AOAC, Association of Analytical Chemists**, 1990, Official Methods of Analysis, 15th Ed., AOAC, Washington, D.C.
- Aydin, E. ve Gocmen, D.**, 2015, The influences of drying method and metabisulfite treatment on the color, functional properties and phenolic acids contents and bioaccessibility of pumpkin flour. *LWT – Food Science and Technology*, 60(1), 385-392s.
- Azizah, A.H., Wee, K.C., Azizah, O. and Azizah, M.**, 2009, Effect of boiling and stir frying on total phenolics, carotenoids and radical scavenging activity of pumpkin (*Cucurbita moschato*). *International Food Research Journal*, 16, 45-51pp.
- Bai, C., Twyman, R.M., Farré, G., Sanahuja, G., Christou, P., Capell, T. and Zhu, C.**, 2011, A golden era – pro-vitamin A enhancement in diverse crops. *In vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 47(2), 205-221pp.
- Berman, J., Zorrilla-López, U., Farré, G., Zhu, C., Sandmann, G., Twyman, R.M., Capell, T. and Christou, P.**, 2014, Nutritionally important carotenoids as consumer products. *Phytochemistry Reviews*, July.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bharti, S.K., Kumar, A., Sharma, N.K., Prakash, O., Jaiswal, S.K., Krishnan, S., Gupta, A.K. and Kumar, A.**, 2013, Tocopherol from seeds of *Cucurbita pepo* against diabetes: Validation by *in vivo* experiments supported by computational docking. *Journal of the Formosan Medical Association*, 112(11), 676-690pp.
- Bhatnagar-Panwar, M., Bhatnagar-Mathur, P., Bhaaskarla, V.V.A., Reddy, D.S. and Sharma, K.K.**, 2013, Rapid, accurate and routine HPLC method for large-scale screening of pro-vitamin A carotenoids in oilseeds. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, September.
- Bhaskarachary, K., Sankar Rao, D.S., Deosthale, Y.G. and Reddy, V.**, 1995, Carotene content of some common and less familiar foods of plant origin. *Food Chemistry*, 54(2), 189-193pp.
- Caili, F., Huan, S. and Quanhong, L.**, 2006, A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant Foods for Human Nutrition*, 61(2), 73-80pp.
- Chang, C.-H., Jiang, Y.-D., Chung, C.-H., Ho, L.-T. and Chuang, L.-M.**, 2012, National trends in anti-diabetic treatment in Taiwan, 2000-2009. *Journal of the Formosan Medical Association*, 111(11), 617-624pp.
- Courraud, J., Berger, J., Cristol, J.P. and Avallone, S.**, 2013, Stability and bioaccessibility of different forms of carotenoids and vitamin A during *in vitro* digestion. *Food Chemistry*, 136(2), 871-877pp.
- Csepanyi, E., Czompa, A., Haines, D., Lekli, I., Bakondi, E., Balla, G., Tasaki, A. and Bak, I.**, 2015, Cardiovascular effects of low versus high-dose beta-carotene in a rat model. *Pharmacological Research*, Accepted Manuscript.
- de Carvalho, L.M.J., Gomes, P.B., de Oliveira Godoy, R.L., Pacheco, S., Fernandes do Monte, P.H., de Carvalho, J.L.V., Regini Nutti, M., Lima Neves, A.C., Rodrigues Alves Vieira, A.C. and Ramalho Ramos, S.R.**, 2012, Total carotenoid content,  $\alpha$ -carotene and  $\beta$ -carotene of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study. *Food Research International*, 47(2), 337-340pp.
- de Escalada Pla, M.F., Ponce, N.M., Stortz, C.A., Gerschenson, L.N. and Rojas, A.M.**, 2007, Composition and functional properties of enriched fiber products obtained from pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret). *LWT – Food Science and Technology*, 40(7), 1176-1185pp.
- Deng, G., Lin, X., Xu, X., Gao, L., Xie, J. and Li, H.**, 2013, Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 260-266pp.
- Dini, I., Tenore, G.C. and Dini, A.**, 2013, Effect of industrial and domestic processing on antioxidant properties of pumpkin pulp. *LWT – Food Science and Technology*, 53(1), 382-385pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Duraiswamy, A., Devanand, S., Sasikumar, C.S., Cherian, S.M. and Cherian, K.M.**, 2015. Development of an antidiabetic formulation (ADJ6) and its inhibitory activity against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, In press, corrected proof.
- Ekesa, B., Poulaert, M., Davey, M.W., Kimiywe, J., Van den Bergh, I., Blomme, G. and Dhuïque-Mayer, C.**, 2012, Bioaccessibility of provitamin A carotenoids in bananas (*Musa* spp.) and derived dishes in African countries. *Food Chemistry*, 133(4), 1471-1477pp.
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Jarén-Galán, M., Garrido-Fernández, J., Pérez-Gálvez, A. and Hornero-Méndez, D.**, 2012, Carotenoids bioavailability from foods: from plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*, 46(2), 438-450pp.
- Fleshman, M.K., Lester, G.E., Riedl, K.M., Kopec, R.E., Narayanasamy, S., Curley, R.W., Jr., Schwartz, S.J. and Harrison, E.H.**, 2011, Carotene and novel apocarotenoid concentrations in orange-fleshed *Cucumis melo* melons: determinations of  $\beta$ -carotene bioaccessibility and bioavailability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4448-4454pp.
- Genevois, C., Flores, S. and de Escalada Pla, M.**, 2014, Effect of iron and ascorbic acid addition on dry infusion process and final color of pumpkin tissue. *LWT – Food Science and Technology*, 58(2), 563-570pp.
- Guiné, R.P.F., Pinho, S. and Barrocai M.J.**, 2011, Study of the convective drying of pumpkin (*Cucurbita maxima*). *Food and Bioproducts Processing*, 89(4), 422-428pp.
- Hafeez, Z., Cakir-Kiefer, C., Roux, E., Perrin, C., Mielo, L. and Dary-Mourot, A.**, 2014, Strategies of producing bioactive peptides from milk proteins to functionalize fermented milk products. *Food Research International*, 63, 71-80pp.
- Hels, O., Larsen, T., Christensen, L.P., Kidmose, U., Hassan, N. and Haraksingh Thilsted, S.**, 2004, Contents of iron, calcium, zinc and  $\beta$ -carotene in commonly consumed vegetables in Bangladesh. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(5), 587-595pp.
- Iacuzzo, F. and Dalla Costa, L.**, 2009, Yield performance, quality characteristics and fruit storability of winter squash cultivars in sub-humid areas. *Scientia Horticulturae*, 120(3), 330-335pp.
- International Diabetes Federation**, Diabetes Atlas, Sixth Ed., [http://www.idf.org/sites/default/files/EN\\_6E\\_Atlas\\_Full\\_0.pdf](http://www.idf.org/sites/default/files/EN_6E_Atlas_Full_0.pdf), (Erişim Tarihi: 23.08.2015).
- Iwaniak, A., Minkiewicz, P., Dziuba, J. and Dziuba, J.**, 1999, Database of biologically active peptide sequences. *Nahrung*, 43, 190-195pp.
- Jacobo-Valenzuela, N., Maróstica-Junior, M.R., Zazueta-Morales, J. de J. and Gallegos-Infante, J.A.**, 2011, Physicochemical, technological properties, and health benefits of *Cucurbita moschata* Duchesne vs. Cehualca. A review. *Food Research International*, 44(9), 2587-2593pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Jakubczyk, A., Karas, M., Baraniak, B. and Pietrzak, M.,** 2013, The impact of fermentation and *in vitro* digestion on formation angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from pea proteins. *Food Chemistry*, 141(4), 3774-3780pp.
- Jeffery, J.L., Turner, N.D. and King, S.R.,** 2012, Carotenoid bioaccessibility from nine raw carotenoid-storing fruits and vegetables using an *in vitro* model. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(13), 2603-2610pp.
- Jin, H., Zhang, Y.-J., Jiang, J.-X., Zhu, L.-Y., Chen, P., Li, J. and Yao, H.-Y.,** 2013, Studies on the extraction of pumpkin components and their biological effects on blood glucose of diabetic mice. *Journal of Food and Drug Analysis*, 21(2), 184-189pp.
- Jun, H.-I., Lee, C.-H., Song, G.-S. and Kim, Y.-S.,** 2006, Characterization of the pectic polysaccharides from pumpkin peel. *LWT – Food Science and Technology*, 39(5), 554-561pp.
- Kaushik, G., Satya, S., Khandelwal, R.K. and Naik, S.N.,** 2010, Commonly consumed Indian plant food materials in the management of diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 4(1), 21-40pp.
- Kidmose, U., Yang, R., Thilsted, S., Christensen, L. and Brandt, K.,** 2006, Content of carotenoids in commonly consumed Asian vegetables and stability and extractability during frying. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 562-571pp.
- Knockaert, G., Lemmens, L., Van Buggenhout, S., Hendrickx, M. and Van Loey, A.,** 2012, Changes in  $\beta$ -carotene bioaccessibility and concentration during processing of carrot puree. *Food Chemistry*, 133(1), 60-67pp.
- Koh, L.W., Wong, L.L., Loo, Y.Y., Kasapis, S. and Huang, D.,** 2010, Evaluation of different teas against starch digestibility by mammalian glucosidases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 148-154pp.
- Konopacka, D., Seroczyńska, A., Korzeniewska, A., Jesionkowska, K., Niemirowicz-Szczytt, K. and Plochanski, W.,** 2010, Studies on the usefulness of *Cucurbita maxima* for the production of ready-to-eat dried vegetable snacks with a high carotenoid content. *LWT – Food Science and Technology*, 43(2), 302-309pp.
- Kun, S., Rezessy-Szabó, J.M., Nguyen, Q.D. and Hoschke, Á.,** 2008, Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. *Process Biochemistry*, 43(8), 816-821pp.
- Kunyanga, C., Imungi, J., Okoth, M., Biesalski, H. and Vadivel, V.,** 2012, Total phenolic content, antioxidant and antidiabetic properties of methanolic extract of raw and traditionally processed Kenyan indigenous food ingredients. *LWT – Food Science and technology*, 45(2), 269-276pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lemmens, L., Colle, I., Van Buggenhout, S., Palmero, P., Van Loey, A. and Hendickx, M.**, 2014, Carotenoid bioaccessibility in fruit- and vegetable-based food products as affected by product (micro) structural characteristics and the presence of lipids: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 38(2), 125-135pp.
- Li, K., Chen, H., Wang, Y., Shan, Z., Yang, J. and Brutto, P.**, 2009, A salt-free pickling regime for hides and skins using oxazolidine. *Journal of Cleaner Production*, 17(17), 1603-1606pp.
- Łozicki, A., Koziarzewska, A., Halik, G., Dymnicka, M., Arkuszewska, E., Niemiec, T. and Bogdan, J.**, 2015, Effect of ensiling pumpkin (*Cucurbita maxima* D.) with dried sugar beet pulp on the content of bioactive compounds in silage and its antioxidant potential. *Animal Feed Science and Technology*, 206, 108-113pp.
- Martínez-Valdivieso, D., Gómez, P., Font, R., Alonso-Moraga, A. and del Río-Celestino, M.**, 2015, Physical and chemical characterization in fruit from 22 summer squash (*Cucurbita pepo* L.) cultivars. *LWT – Food Science and Technology*, Accepted Manuscript.
- Medoua, G. and Oldewage-Theron, W.**, 2011, Bioactive compounds and antioxidant properties of selected fruits and vegetables available in the Vaal region, South Africa. *Journal of Food Biochemistry*, 35(5), 1424-1433pp.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W. and Bradkorb, A.**, 2014, A standardized static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113-1124pp.
- Minguez-Mosquera, M.I. and Gandul-Rojas, B.**, 1994, Mechanism and kinetics of carotenoid degradation during the processing of green table olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(7), 1551-1554pp.
- Minguez-Mosquera, M.I., Gorrindo-Fernández, J. and Gandul-Rojas, B.**, 1989, Pigment changes in olives during fermentation and brine storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 8-11pp.
- Mohamed, S.**, 2014, Functional foods against metabolic syndrome (obesity, diabetes, hypertension and dyslipidemia) and cardiovascular disease. *Trends in Food Science & Technology*, 35, 114-128pp.
- Mohr, C.F.**, 1856, Neue Massanalytische Bestimmung des Chlors in Verbindungen. *Justus Liebig's Annalen der Chemie*, 97, 335-338pp.
- Murković, M., Mülleder, U. and Neunteufl, H.**, 2002, Carotenoid content in different varieties of pumpkins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(6), 633-638pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Nawirska-Olszańska, A., Biesiada, A., Sokót-Łętowska, A. and Kucharska, A.Z.**, 2014, Characteristics of organic acids in the fruit of different pumpkin species. *Food Chemistry*, 148, 415-419pp.
- Nongonierma, A.B. and FitzGerald, R.J.**, 2015, Bioactive properties of milk proteins in humans: A review. *Peptides*, 73, 20-34pp.
- Nyenwe, E.A., Jerkins, T.W., Umpierrez, G.E. and Kitabchi, A.E.**, 2011, Management of type 2 diabetes: evolving strategies for the treatment of patients with type 2 diabetes. *Metabolism Clinical and Experimental*, 60(1), 1-23pp.
- Obradović, V., Babić, J., Šubarić, D., Jozinović, A., Ačkar, Đ. and Klanić, I.**, 2015, Influence of dried Hokkaido pumpkin and ascorbic acid addition on chemical properties and colour of corn extrudates. *Food Chemistry*, 183, 136-143pp.
- Palmero, P., Lemmens, L., Ribas-Agusti, A., Sosa, C., Met, K., de Dieu Umtoni, J., Henrickx, M. and Loey, A.V.**, 2013, Novel targeted approach to better understand how natural structural barriers govern carotenoid *in vitro* bioaccessibility in vegetable-based systems. *Food Chemistry*, 141(3), 2036-2043pp.
- Pérez-Gálvez, A. and Mínguez-Mosquera, M.I.**, 2005, Esterification of xanthophylls and its effect on chemical behavior and bioavailability of carotenoids in the human. *Nutrition Research*, 25(7), 631-340pp.
- Provesi, J., Dias, C. and Amante, E.**, 2011, Changes in carotenoids during processing and storage of pumpkin puree. *Food Chemistry*, 128(1), 195-202pp.
- Que, F., Mao, L., Fang, X. and Wu, T.**, 2008, Comparison of hot air-drying and freeze-drying on the physicochemical and antioxidant activities of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) flours. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(7), 1195-1201pp.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C.**, 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9-10), 1231-1237pp.
- Reboul, E., Richelle, M., Perrot, E., Desmoulins-Malezet, C., Pirisi, V. and Borel, P.**, 2006, Bioaccessibility of carotenoids and Vitamin E from their main dietary sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8749-8755pp.
- Rock, C.L.**, 1997, Carotenoids: biology and treatment. *Pharmacology and Therapeutics*, 75(3), 185-197pp.
- Rodriguez-Amaya, D.B.**, 2001, A guide to carotenoid analysis in foods. ILSI Press, Washington, D.C.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rodriguez-Amaya, D.B.**, 2010, Quantitative analysis, *in vitro* assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids – a review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(7), 726-740pp.
- Saini, R.K., Nile, S.H. and Park, S.W.**, 2015, Carotenoids from fruits and vegetables: chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Research International*, Accepted Manuscript.
- Shin, G.H., Kim, J.T. and Park, H.J.**, 2015, Recent developments in nanoformulations of lipophilic functional foods. *Trends in Food Science and Technology*, Article in Press.
- Shukla, S., Park, J., Kim, D.-H., Hong, S.-Y., Lee, J.S. and Kim, M.**, 2016, Total phenolic content, antioxidant, tyrosinase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of water soluble extracts of noble starter culture Doenjang, a Korean fermented soybean sauce variety. *Food Control*, 59, 854-861pp.
- Simpson, R. and Morris, G.A.**, 2014, The anti-diabetic potential of polysaccharides extracted from members of the cucurbit family: a review. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 3(2), 106-114pp.
- Simsek, S., El, S.N., Kancabas Kilinc, A. and Karakaya, S.**, 2014, Vegetable and fermented vegetable juices containing germinated seeds and sprouts of lentil and cowpea. *Food Chemistry*, 156, 289-295pp.
- Smith, B.D.**, 1997, The initial domestication of Cucurbita pepo in Americas 10,000 years ago. *Science*, 276(5314), 932-934pp.
- Soarez de Castro, R.J. and Sato, H.H.**, 2015, Biologically active peptides: Processes for their generation, purification and identification and applications as natural additives in the food and pharmaceutical industries. *Food Research International*, 74, 185-198pp.
- Solieri, L., Rutella, G.S. and Tagliazucchi, D.**, 2015, Impact of non-starter lactobacilli on release of peptides with angiotensin-converting enzyme inhibitory and antioxidant activities during bovine milk fermentation. *Food Microbiology*, 51, 108-116pp.
- Song, Y., Yang, Y., Zhang, Y., Duan, L., Zhou, C., Ni, Y., Liao, X., Li, Q. and Hu, X.**, 2013, Effect of acetylation and antioxidant and cytoprotective activity of polysaccharides isolated from pumpkin (*Cucurbita pepo*, lady godiva). *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 686-691pp.
- Song, Y., Zhao, J., Ni, Y. and Li, Q.**, 2015, Solution properties of heteropolysaccharide extracted from pumpkin (*Cucurbita pepo*, lady godiva). *Carbohydrate Polymers*, 132, 221-227pp.
- Tripathi, J., Gupta, S., Mishra, P., Variyar, P. and Sharma, A.**, 2014, Optimization of radiation dose and quality parameters for development of ready-to-cook (RTC) pumpkin cubes using a statistical approach. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 26, 248-256pp.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tumuhimbise, G.A., Namutebi, A. and Muyonga, J.H.**, 2009, Microstructure and *in vitro* beta carotene bioaccessibility of heat processed orange fleshed sweet potato. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(4), 312-318pp.
- USDA, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service.**, 2011, USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.ars.usda.gov/ba/Bhcnic/ndl>. (Erişim Tarihi: 23.08.2015)
- van het Hof, K.H., West, C.E., Weststrate, J.A. and Hautvast, J.G.A.J.**, 2000, Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. *The Journal of Nutrition*, 130(3), 503-506pp.
- van Lieshout, M., West, C.E., van de Bovenkamp, P., Wang, Y., Sun, Y., van Breemen, R.B., Muhilal, D.P., Verhoeven, M.A., Creemers, A.F.L. and Lutenburg, J.**, 2003, Extraction of carotenoids from feces, enabling the bioavailability of  $\beta$ -carotene to be studied in Indonesian children. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(17), 5123-5130pp.
- Vats, R.K., Kumar, V., Kothari, A., Mital, A. and Ramachandran, U.**, 2005, Emerging targets for diabetes. *Current Science*, 88(2), 241-249pp.
- Veda, S., Platel, K. and Srinivasan, K.**, 2008, Influence of food acidulants and antioxidant species on the bioaccessibility of  $\beta$ -carotene from selected vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18), 8714-8719pp.
- Wang, S., Yu, D. and Song, K.**, 2011, Physicochemical property of pumpkin slices dehydrated with red algae extract. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 54(6), 921-925pp.
- Wang, X., Zhang, L.-S. and Dong, L.-L.**, 2012, Inhibitory effect of polysaccharides from pumpkin on advanced glycation end-products formation and aldose reductase activity. *Food Chemistry*, 130(4), 821-825pp.
- Wongsa, P., Chaiwarit, J. and Zamaludien, A.**, 2012, *In vitro* screening of phenolic compounds, potential inhibition against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase of culinary herbd in Thailand. *Food Chemistry*, 131(3), 964-971pp.
- Xiao, Y., Xing, G., Rui, X., Li, W., Chen, X., Jiang, M. and Dong, M.**, 2015, Effect of solid-state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18 on physicochemical and functional properties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) flour. *LWT - Food Science and Technology*, Article in Press.
- Yang, X., Zhao, Y. and Lv, Y.**, 2007, Chemical composition and antioxidant activity of an acidic polysaccharide extracted from *Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 4684-4690pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

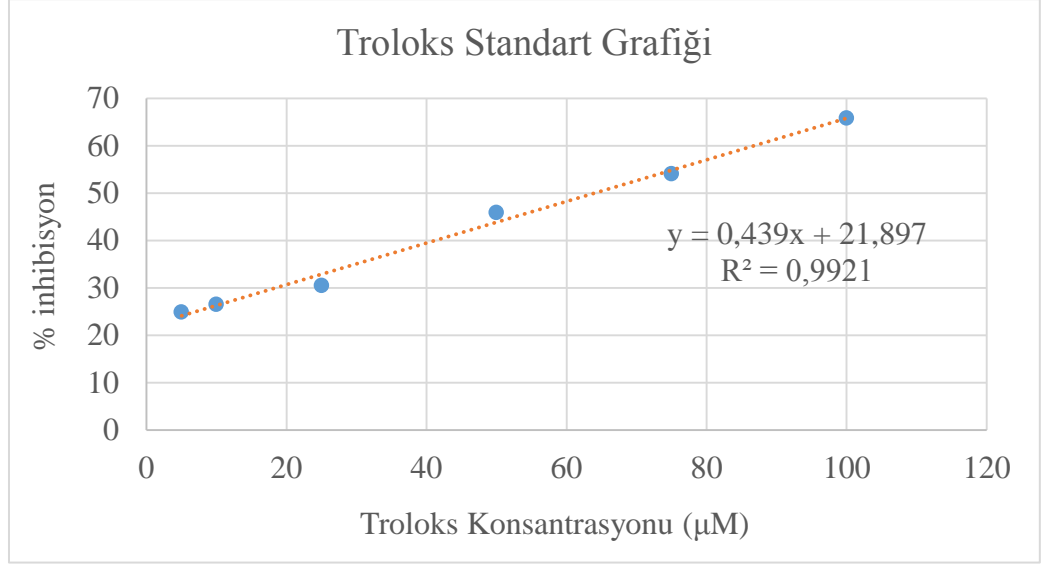
- Zhang, Y., Chen, P., Zhang, Y., Jin, H., Zhu, L., Li, J. and Yao, H.,** 2013, Effects of polysaccharide from pumpkin on biochemical indicator and pancreatic tissue of the diabetic rabbits. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 574-581pp.
- Zhao, D. and Ding, X.,** 2008, Studies on the low-salt Chinese potherb mustard (*Brassica juncea*, Cross.) pickle. I – The effect of a homofermentative L(+)-lactic acid producer *Bacillus coagulans* on starter culture in the low-salt Chinese potherb mustard pickle fermentation. *LWT – Food Science and Technology*, 41(3), 474-482pp.
- Zhou, C.-L., Liu, W., Zhao, J., Yuan, C., Song, Y., Chen, D., Ni, Y.-Y. and Li, Q.-H.,** 2014, The effect of high hydrostatic pressure on the microbiological quality and physical-chemical characteristics of pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch.) during refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 21, 24-34pp.
- Zhu, H.-Y., Chen, G.-T., Meng, G.-L. and Xu, J.-L.,** 2015, Characterization of pumpkin polysaccharides and protective effect on streptozotocin-damaged islet cells. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 13(3), 199-207pp.

## ÖZGEÇMİŞ

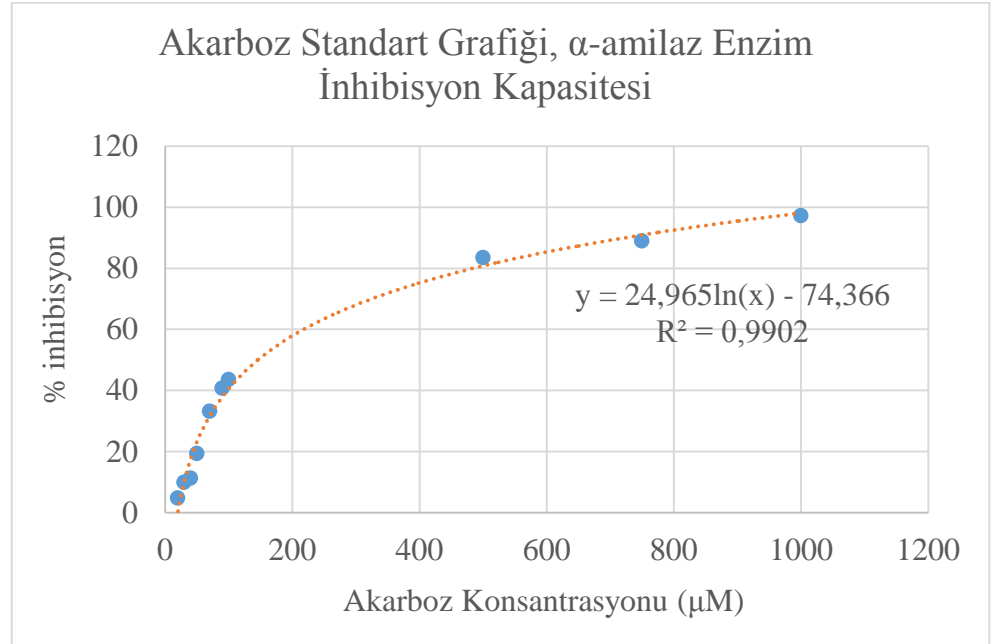
1989 yılında Kahramanmaraş'da doğmuş, ilk, orta ve lise öğrenimini Mersin'de tamamlamıştır. Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nde lisans öğrenimini 2012 yılında tamamlamıştır. Bir süre özel sektörde çalıştıktan sonra, aynı yıl, Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nde yüksek lisans öğrenimine başlamıştır. 2014 yılından beri İzmir Ekonomi Üniversitesi, Mühendislik ve Bilgisayar Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.

## EKLER

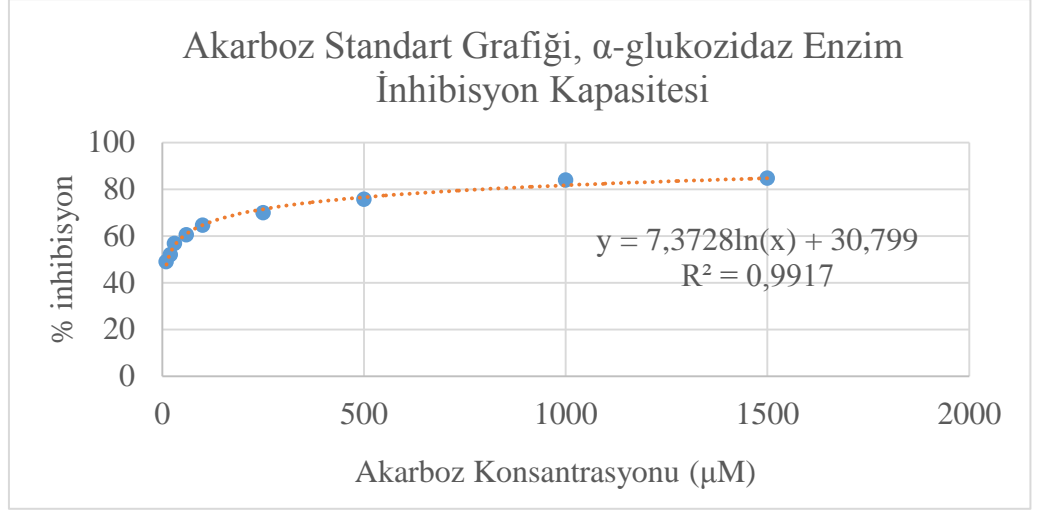
- Ek 1 Çalışmada kullanılan örneklerin metanolik ekstraktlarının TEAC verilerini saptama amacı ile hazırlanmış Troloks standart eğrisi (% inhibisyon – Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ ))
- Ek 2 Çalışmada kullanılan örneklerin PBS ile elde edilen ekstraktlarının *in vitro*  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyon kapasitesini saptama amacı ile hazırlanan Akarboz standart eğrisi (% inhibisyon – Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ ))
- Ek 3 Çalışmada kullanılan örneklerin PBS ile elde edilen ekstraktlarının *in vitro*  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon kapasitesini saptama amacı ile hazırlanan Akarboz standart eğrisi (% inhibisyon – Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )).
- Ek 4 Çalışmada kullanılan örneklerin *in vitro* sindirim öncesi HPLC kromatogramları. (a) çiğ balkabağı, (b) kontrol, (c) balkabağı turşusu ve (d) fermente balkabağı tozu.
- Ek 5 Çalışmada kullanılan örneklerin *in vitro* sindirim sonrası HPLC kromatogramları. (a) kontrol, (b) balkabağı turşusu ve (c) fermente balkabağı tozu.
- Ek 6 Çalışmada kullanılan örneklerin HPLC ile  $\beta$ -karoten miktarlarının saptanması amacı ile hazırlanan  $\beta$ -karoten standart kromatogramı (1 mg/mL) ve çeşitli konsantrasyonlar için hazırlanan eğrisi (Pik Alanı – Konsantrasyon (mg/mL)).



Ek 1 Çalışmada kullanılan örneklerin metanolik ekstraktlarının TEAC verilerini saptama amacı ile hazırlanmış Troloks standart eğrisi (% inhibisyon – Konsantrasyon (µM))

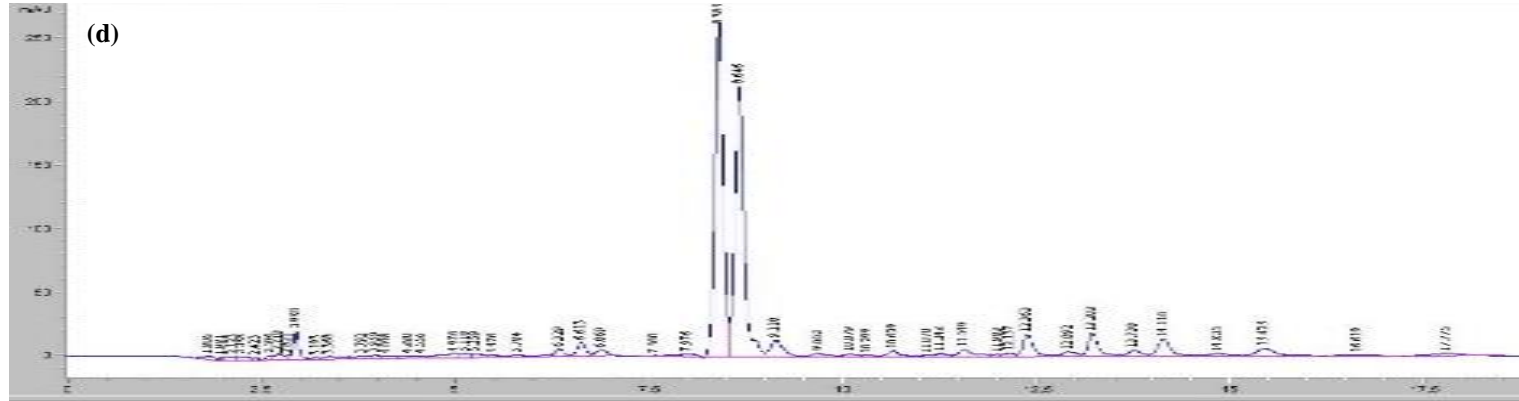
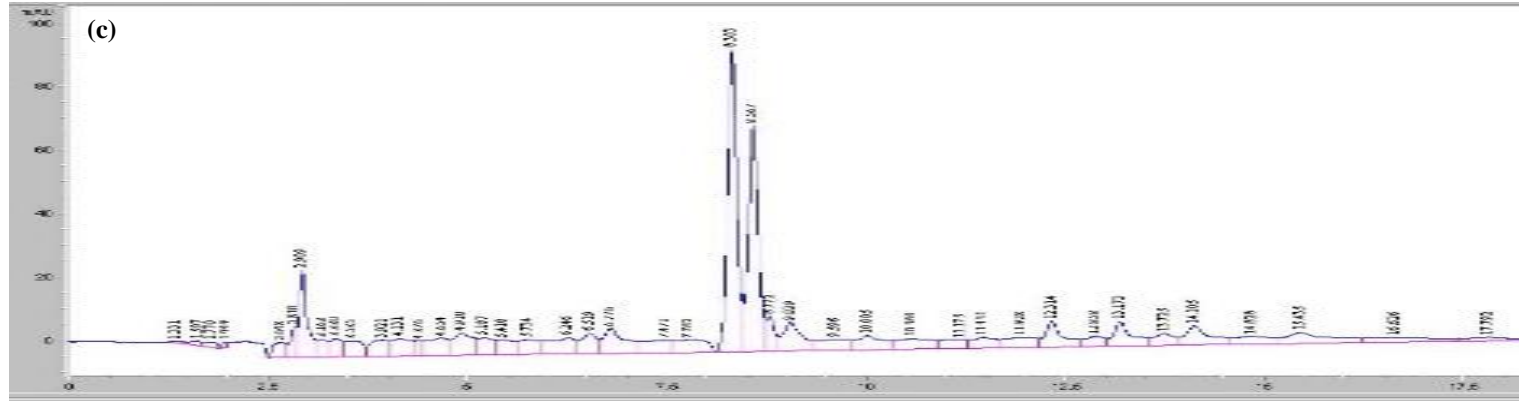


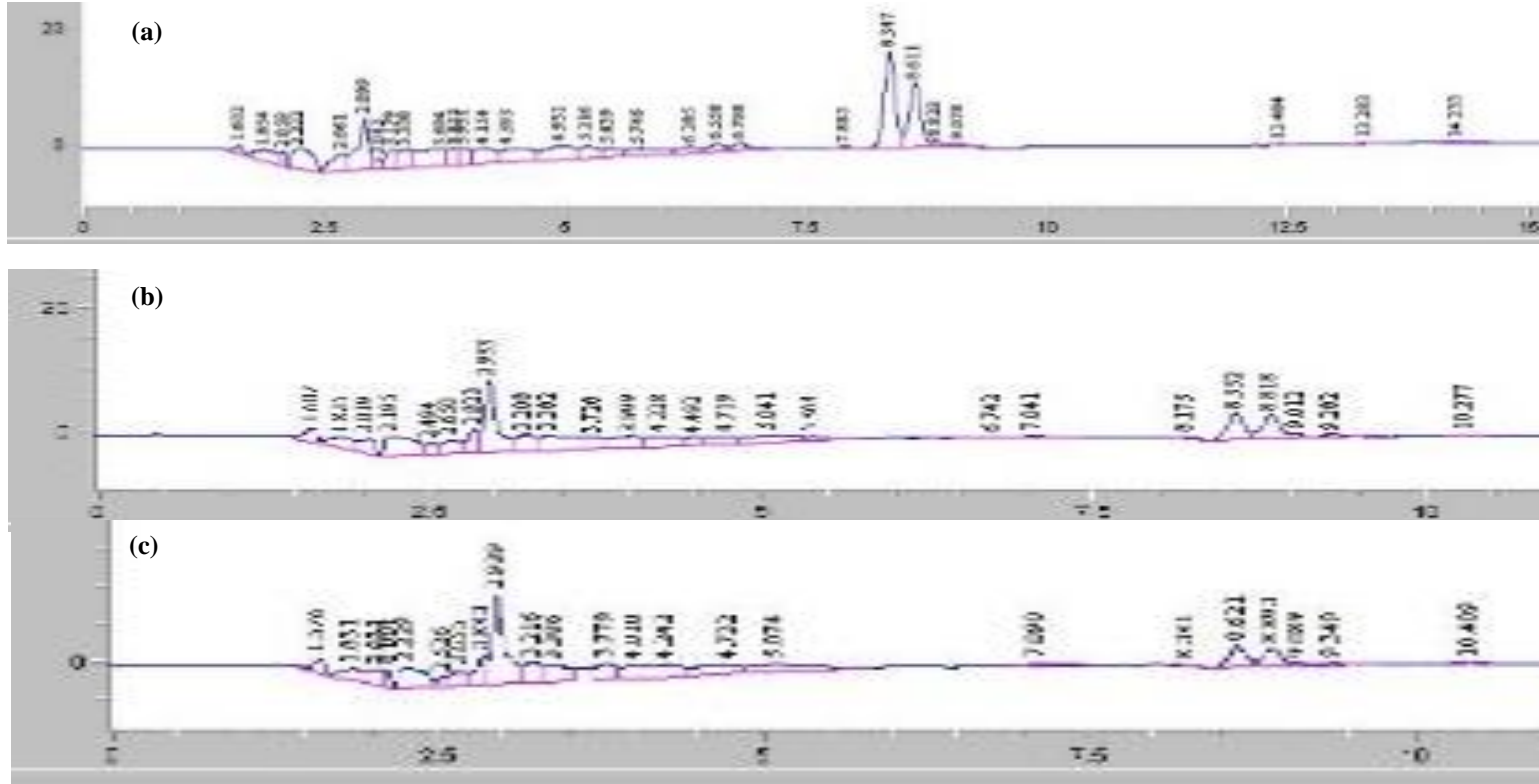
Ek 2 Çalışmada kullanılan örneklerin PBS ile elde edilen ekstraktlarının *in vitro* α-amilaz enzim inhibisyon kapasitesini saptama amacı ile hazırlanan Akarboz standart eğrisi (% inhibisyon – Konsantrasyon (µM))

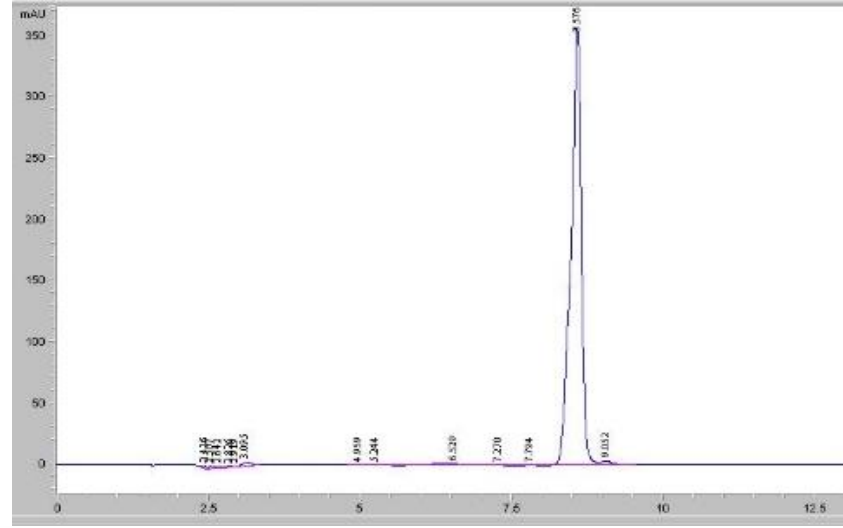
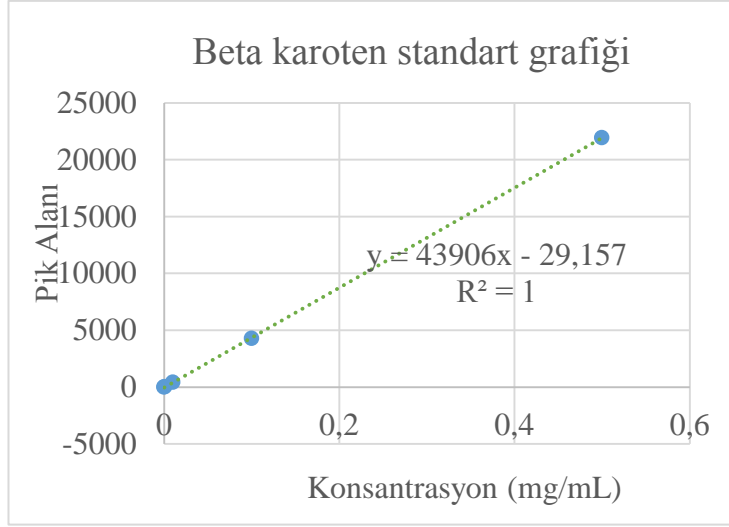


Ek 3 Çalışmada kullanılan örneklerin PBS ile elde edilen ekstraktlarının *in vitro*  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon kapasitesini saptama amacı ile hazırlanan Akarboz standart eğrisi (% inhibisyon – Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )).









Ek 6 Çalışmada kullanılan örneklerin HPLC ile  $\beta$ -karoten miktarlarının saptanması amacı ile hazırlanan  $\beta$ -karoten standart kromatogramı (1mg/mL) ve çeşitli konsantrasyonlar için hazırlanan eğrisi (Pik Alanı – Konsantrasyon (mg/mL)).