

T.C.
HACETTEPE UNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ PİŞİRME YÖNTEMLERİNİN
SEBZELERİN FENOLİK BİLEŞİK VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTE DEĞERLERİ
ÜZERİNE ETKİSİ

İndrani KALKAN

Beslenme ve Diyetetik Programı
DOKTORA TEZİ

ANKARA
2007

T.C.
HACETTEPE UNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ PİŞİRME YÖNTEMLERİNİN
SEBZELERİN FENOLİK BİLEŞİK VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTE DEĞERLERİ
ÜZERİNE ETKİSİ

İdrani KALKAN

Beslenme ve Diyetetik Programı
DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Sevinç Yücecan

ANKARA
2007

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne:

Bu çalışma, jürimiz tarafından Beslenme Programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sevinç Yücecan
Hacettepe Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Tanju Besler
Hacettepe Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Mine Yurttagül
Hacettepe Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Nevin Şanlıer
Gazi Üniversitesi

Üye: Yrd. Doç. Dr. Muhittin Tayfur
Başkent Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Doktora Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hakan S. Orer
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde aşağıda adı geçen kişilere içten teşekkür ederim.

Sayın Prof. Dr. Sevinç YÜCECAN, çalışmanın planlaması ve yürütülmesi için gerekli ortamın sağlanmasında ve tezin her aşamasında sonsuz tecrübesini, bilgisini, zamanını ve manevi desteğini esirgememişlerdir.

Sayın Prof. Dr. Tanju Besler ve Prof. Dr. Mine Yurttagül, çalışma sırasında çok önemli tavsiyelerde bulunmuş, yol gösterici olmuşlardır.

Sayın Atilla Güleç ve tüm çalışma arkadaşları, bilgilerini paylaştığı ve çalışma sırasında iyi niyetleriyle desteklerini sürdürmüşlerdir.

Sevgili eşim Cumali Kalkan'a, hep yanımda ve her konuda destekleyici olduğu için çok özel teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

Kalkan İ., Çeşitli Pişirme Yöntemlerinin Sebzelerin Fenolik Bileşik ve Antioksidan Aktivite Değerleri Üzerine Etkisi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme Bilimleri Programı Doktora Tezi, Ankara 2007.

Bu çalışma, sebzelerin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri üzerinde farklı pişirme yöntemlerinin etkilerini saptamaya yönelik olarak planlanmıştır. Araştırma kapsamına kabak, patlıcan ve patates olmak üzere üç çeşit sebze alınmıştır ve bol su, az su, buharlı pişirici, düdüklü tencere, mikrodalga, yağda kızartma olmak üzere altı pişirme yöntemi uygulanmıştır. Önce, çiğ olarak sebzelerin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri saptanmıştır. Daha sonra sebzeler, yukarıda belirtilen altı farklı yöntemle göre pişirilip, pişirilmiş örneklerin pişirme sırasındaki toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite kayıpları değerlendirilmiştir. Toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri kuru madde üzerinden hesaplandığı için, bütün örneklerin kuru madde değerleri de saptanmıştır. Her bir süreç, üç ayrı zaman diliminde üçer kez tekrarlanmıştır. Çiğ sebzelerde, kuru madde ağırlık üzerinden hesaplanmış toplam fenolik madde (TFM) içerikleri kabak, patlıcan ve patates için 173.09 ± 10.15 , 912.64 ± 29.67 ve 349.76 ± 30.89 mg/100 g (gallik asit eşdeğeri, GAE) olarak bulunurken, toplam antioksidan aktiviteleri (TAA) 5.01 ± 0.61 , 51.20 ± 4.51 ve 3.12 ± 0.32 $\mu\text{mol}/100$ g (trolox eşdeğeri, TE) olarak saptanmıştır. En fazla TFM kaybı, kızartma (% 49.10 ± 1.96 – 62.22 ± 1.34) ve bol suda pişirme (% 34.51 ± 0.75 – 39.22 ± 1.77) sırasında görülürken, en fazla TAA kaybı kızartma (% 48.78 ± 1.61 – 61.73 ± 2.39) ve bol suda pişirme (% 35.46 ± 1.47 – 39.75 ± 2.10) esnasında bulunmuştur. En iyi sonuçlar buharlı pişirici ile alınmıştır. Buharlı pişirici ile toplam fenolik madde kaybı % 9.50 ± 0.81 - 15.92 ± 2.22 arasında kaydedilirken, toplam antioksidan aktivite kaybı % 10.80 ± 0.97 – 11.98 ± 1.60 arasında bulunmuştur. Bütün sebzelerde tüm pişirme yöntemleri, genel olarak sebzelerin toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivitelerini düşürmüştür ($p < 0.0001$). Ancak, istatistiksel olarak, kayıp açısından bazı yöntemler arasındaki farklar önemsiz olarak saptanmıştır. Araştırmadan elde edilen verilere göre, bol suda haşlama ve kızartma dışında uygulanan diğer pişirme yöntemlerinin, besindeki fenolik bileşik ve antioksidan aktivitelerini büyük bir ölçüde koruduğu saptanmıştır. Çalışma sonucu, pişirme sırasındaki kaybı önlemek amacıyla, sebzelerin kapalı kaplarda az suda pişirilmesi, pişirme suyunun atılmaması, pişirme süresinin kısa tutulması önerilmiştir. Ayrıca çalışma sonuçları, (i) araştırmaya dahil edilmeyen sebzeler üzerinde de benzer çalışmanın yürütülmesi (ii) hassas sonuçlar alınabilmesi için ilerki çalışmalarda HPLC yöntemlerinin kullanılması gerekliliğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: sebzeler, pişirme yöntemleri, toplam fenolik madde, toplam antioksidan aktivitesi

Destekleyen Kurumlar: HÜAF 05.01.402.001

ABSTRACT

Kalkan I., Effect of various cooking methods on phenolic compounds and antioxidant activity of vegetables. Hacettepe University, Institute of Health Sciences Nutrition Sciences Program Doctorate thesis, Ankara 2007.

This study was conducted to determine the impact of various cooking methods on total phenolic content and antioxidative activity of vegetables. The vegetables included in the study were zucchini (squash), eggplant and potato. The six cooking methods utilized in this study included cooking in large and small volumes of water, steaming in a steam cooker, cooking in pressurized vessel, microwaving and frying in oil.

Initially, phenolic content and antioxidant activity of uncooked vegetables were determined. Afterwards, the different cooking methods were applied to the vegetables and total phenolic content and antioxidant activity of the cooked samples were determined. Since the calculations were based on dry weight basis, dry matter of all the samples were established. All investigations were performed in triplicates using each vegetable thrice at three different time periods. Based on dry weight basis total phenolic content (TFM) of fresh zucchini, eggplant and potato was found to be 173.09 ± 10.15 , 912.64 ± 29.67 , ve 349.76 ± 30.89 mg/100 g (gallic acid equivalent, GAE). Their total antioxidant activities (TAA) were found to be 5.01 ± 0.61 , 51.20 ± 4.51 ve 3.12 ± 0.32 $\mu\text{mol}/100$ g (trolox equivalent, TE). Maximum TFM loss occurred during frying in oil (% 49.10 ± 1.96 – 62.22 ± 1.34), followed by cooking in large volume of water (% 34.51 ± 0.75 – 39.22 ± 1.77). Similarly, maximum TAA loss took place during frying in oil (% 48.78 ± 1.61 – 61.73 ± 2.39) followed by cooking in large volume of water (% 35.46 ± 1.47 – 39.75 ± 2.10). Best results were acquired with steaming. In the steam cooker, loss in total phenolics ranged between % 9.50 ± 0.81 - 15.92 ± 2.22 whereas loss in total antioxidant activity were recorded between % 10.80 ± 0.97 – 11.98 ± 1.60 . For all vegetables, cooking methods in general caused a loss in total phenolics content and antioxidant activities ($p < 0.0001$). Nevertheless, some of the cooking methods were found statistically similar to each other in terms of loss. Based on the findings it was concluded that apart from cooking in large volume of water and frying in oil, all other cooking methods preserved the phenolics of the vegetables to a large extent. As a conclusion, in order to minimize loss of phenolics while cooking, use of less volumes of water and cooking in closed vessels for a short time span was recommended. Other than that, (i) carrying out similar studies on vegetables that were not included in this investigation (ii) using HPLC techniques for more sensitive quantification in future studies was also suggested.

Key words: vegetables, cooking methods, total phenolic content, total antioxidant activity

Supported by: HÜAF 05.01.402.001

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa No
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xv
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri.....	
3	
2.1.1. Reaktif Oksijen Türlerin Kaynakları.....	4
2.1.2. Reaktif Oksijen Türlerin Reaksiyonu.....	9
2.1.3. Reaktif Oksijen Türlerin Lipidler Üzerindeki Etkileri.....	10
2.1.4. Reaktif Oksijen Türlerin DNA Üzerindeki Etkileri.....	11
2.1.5. Reaktif Oksijen Türlerin Proteinler Üzerindeki Etkileri.....	11
2.1.6. Reaktif Oksijen Türlerin Bağışıklık Sistem Üzerindeki Etkileri.....	12
2.2. Reaktif Oksijen Türlerine Karşı Koruma Mekanizmaları.....	12
2.2.1. Engelleme ve Saptırma.....	13
2.2.2. Zincir Kırıcı Antioksidanlar.....	14
2.3. Fenolik Bileşikler.....	15
2.3.1. Fenolik Bileşiklerin Kimyası ve Sınıflandırma.....	16
2.3.2. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Özellikleri.....	20
2.3.2.1. Fenolik Bileşiklerin İn Vitro ve İn Vivo Antioksidan Özellikleri.....	20
2.3.2.2. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitesi ile	

Kimyasal Yapıları Arasındaki İlişkisi.....	21
2.3.3. Fenolik Bileşiklerin Hastalıklar Üzerine Olumlu Etkisi.....	22
2.3.3.1. Kardiyovasküler Hastalıklar.....	23
2.3.3.2. Kanser.....	23
2.3.3.3. Yaş ile İlişkili Fonksiyonel Bozukluğu Olan Hastalıklar.....	26
2.3.3.4. Diyabet Hastalığı.....	26
2.3.3.5. Osteoporoz.....	27
2.3.4. Fenolik Bileşiklerin Riskleri.....	28
2.3.5. Fenolik Bileşiklerin Besin Kaynakları.....	29
2.3.6. Diyetle Fenolik Bileşiklerin Alımı.....	30
2.3.7. Fenolik Bileşiklerin Emilimi ve Biyoyararlılığı.....	32
2.3.8. Besinin Fenolik İçeriği Etkileyen Etmenler.....	34
GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
3.1. Araştırma Zamanı, Yeri ve Örneklem.....	37
3.1.1. Laboratuvar Araştırmanın Planlanması.....	37
3.1.2. Analiz İçin Sebzelerin Hazırlanması.....	37
3.2. Yapılan Ölçümler.....	38
3.2.1. Kuru Madde Analizi.....	38
3.2.2. Toplam Fenolik Madde Analizi.....	38
3.2.3. Antioksidan Aktivitenin Saptanması.....	38
3.3. Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skorun Hesaplanması.....	39
3.4. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	39
BULGULAR.....	40
4.1. Çiğ ve Pişirilmiş Sebzelerin Kuru Madde Değerleri.....	40
4.2. Çiğ ve Pişirilmiş Sebzelerin Toplam Fenolik Madde değerleri.....	41
4.3. Çiğ ve Pişirilmiş Sebzelerin Toplam Antioksidan Aktivitenin Değerleri.....	52
4.4. Çiğ ve Pişirilmiş Sebzelerde Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki.....	62
TARTIŞMA.....	69
5.1. Çiğ ve Çeşitli Yöntemlere göre Pişirilen Sebzelerin Toplam Fenolik Madde Değerlerindeki Farklılığın Nedenleri.....	69

5.2. Çiğ ve Çeşitli Yöntemlere göre Pişirililen Sebzelerin Toplam Antioksidan Aktivite Değerlerindeki Farklılığın Nedenleri.....	75
5.3. Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındali İlişki.....	80
5.4. Çiğ ve Çeşitli Yöntemlere göre Pişirililen Sebzelerin Antioksidan Skor Değerlerindeki Farklılığın Nedenleri.....	81
SONUÇLAR.....	84
ÖNERİLER.....	88
KAYNAKLAR.....	90
EKLER.....	103
Ek1. 6.1. Pişirme Yöntemleri.....	103
6.1.1. Bol suda haşlama.....	103
6.1.2. Az suda haşlama.....	103
6.1.3. Buharlı pişirici ile pişirme.....	103
6.1.4. Düdüklü tencerede pişirme.....	103
6.1.5. Mikrodalgada pişirme.....	103
6.1.6. Yağda kızartma.....	104
Ek 2. 6.2. Analiz Yöntemleri.....	105
6.2.1. Kuru madde analizi.....	105
6.2.1. Toplam fenolik madde analizi.....	105
6.2.3. Toplam antioksidan aktivitesinin saptanması.....	106
6.3. Toplam Antioksidan Aktivitenin ve Antioksidan Skorun Hesaplanması.....	108
Ek 3. 6.4. Araştırmada kullanılan Kimyasal maddeler ve ekipmanlar.....	109
6.4.1. Kimyasal maddeler.....	109
6.4.2. Temel Ekipmanlar.....	109
6.4.3. Hazırlanan çözeltiler.....	110

SİMGELER VE KISALTMALAR

RNS	:	Reaktif Nitrojen Türü
ROS	:	Reaktif Oksijen Türü
OH	:	Hidroksil Grup
PUFA	:	Çoklu Doymamış Yağ
LDL	:	Düşük Dansiteli Lipoprotein
HDL	:	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
DNA	:	Deoxy-Ribonukleik Asit
AA	:	Antioksidan Aktivite
TAA	:	Toplam Antioksidan Aktivite
TFM	:	Toplam Fenolik Madde
AS	:	Antioksidan Skor
GAE	:	Gallik Asit Eşdeğeri
TE	:	Trolox Eşdeğeri
TEAC	:	Trolox Eşdeğeri Aktivite
KMA	:	Kuru Madde Ağırlığı
$\bar{X}$	:	Aritmetik Ortalama
S	:	Standard Sapma
μmol	:	Mikromole
μL	:	Mikrolitre
mL	:	Mililitre
mg	:	Miligram
α	:	Alfa
β	:	Beta

γ	:	Gamma
δ	:	Delta
FDA	:	Food and Drug Administration
AOAC	:	Assosiation of Official Analytic Chemists
HPLC	:	High Performance Liquid Chromatography

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No.

Şekil 2.1.	Serbest Radikallerin Oluşumu ve Etkileri.....	5
Şekil 2.2.	Hücre içinde Reaktif Oksijen Türlerin Oluşumları.....	6
Şekil 2.3.	Fenolik Bileşiklerin Biyosentezi.....	16
Şekil 2.4.	Fenolik Bileşiklerin Hastalıklar Üzerine Olumlu Etkisi.....	28
Şekil 2.5.	Bağırsakta ve karaciğerde Fenolik Bileşiklerin Mikrobiyal Hidrolizi.....	33
Şekil 4.1.	Sebze Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre % Kuru Madde Değerleri.....	41
Şekil 4.2.	Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları.....	42
Şekil 4.3.	Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Kayıp Oranları.....	44
Şekil 4.4.	Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları.....	45
Şekil 4.5.	Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Kayıp Oranları.....	47
Şekil 4.6.	Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları.....	48
Şekil 4.7.	Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Kayıp Oranları.....	49
Şekil 4.8.	Pişirme Yöntemlerine Göre Sebzelerin Ortalama Toplam Fenolik Madde Kayıp Oranları.....	51
Şekil 4.9.	Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları.....	53

Şekil 4.10.	Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları.....	54
Şekil 4.11.	Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları.....	55
Şekil 4.12.	Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları.....	57
Şekil 4.13.	Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları.....	58
Şekil 4.14.	Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları.....	60
Şekil 4.15.	Pişirme Yöntemlerine Göre Sebzelerin Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları.....	61
Şekil 4.16.	Çiğ Kabak Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki ilişki.....	62
Şekil 4.17.	Çiğ Patlıcan Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki ilişki.....	63
Şekil 4.18.	Çiğ Patates Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki ilişki.....	63
Şekil 4.19.	Kabak Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki ilişki.....	63
Şekil 4.20.	Patlıcan Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki ilişki.....	64
Şekil 4.21.	Patates Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki ilişki.....	64
Şekil 4.22.	Kabak Örneklerinin Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Arasındaki ilişki.....	65
Şekil 4.23.	Patlıcan Örneklerinin Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Arasındaki ilişki.....	66
Şekil 4.24.	Patates Örneklerinin Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Arasındaki ilişki.....	67

Şekil 4.25.	Piştirme Yöntemlerine Gore Sebzelerin Antioksidan Skor Değerleri.....	68
Şekil 6.1.	Trolox çalışma çözeltisi ile elde edilen doz-yanıt Grafiği.....	107

TABLOLAR DİZİNİ

		Sayfa No.
Tablo 2.1.	Reaktif Türlerin Sınıflandırılması.....	9
Tablo 2.2.	Antioksidan Mekanizmaları.....	15
Tablo 2.3.	Fenolik Bileşikler ve Kimyasal Yapılar.....	18
Tablo 2.4.	Flavonoidler ve Kimyasal Yapılar.....	19
Tablo 2.5.	Fenolik Bileşikler ile Kardiyovasküler Hastalıklar ve Kanseri ilişkisi.....	25
Tablo 2.6.	Fenolik Bileşikler ve Besin Kaynakları.....	31
Tablo 4.1.	Çiğ ve Pişirilmiş Sebzelerin ortalama Kuru Madde Değerleri ($\bar{X} \pm S$).....	40
Tablo 4.2.	Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$) ile Minimum ve Maksimum Değerler....	42
Tablo 4.3.	Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın Öneme İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları.....	43
Tablo 4.4.	Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$) ile Minimum ve Maksimum Değerler....	45
Tablo 4.5.	Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın Öneme İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları.....	46
Tablo 4.6.	Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$) ile Minimum ve Maksimum Değerler....	48
Tablo 4.7.	Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın Öneme İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları.....	49

Tablo 4.8.	Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$) ile Minimum ve Maksimum Değerler.....	52
Tablo 4.9.	Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın Öneme İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları.....	54
Tablo 4.10.	Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$) ile Minimum ve Maksimum Değerler.....	55
Tablo 4.11.	Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın Öneme İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları.....	56
Tablo 4.12.	Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$) ile Minimum ve Maksimum Değerler.....	58
Tablo 4.13.	Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın Öneme İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları.....	59
Tablo 4.14.	Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Değerleri ($\bar{X} \pm S$).....	65
Tablo 4.15.	Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Değerleri ($\bar{X} \pm S$).....	66
Tablo 4.16.	Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Değerleri ($\bar{X} \pm S$).....	67
Tablo 6.1.	Sebzelerde Uygulanan Pişirme Yöntemleri.....	104

GİRİŞ

Yaşamı sürdürmek için vücut hücrelerinde gerçekleşen metabolik süreçler sırasında, hücrelerde çeşitli zararlı maddeler oluşur. Hücrelere zarar veren ögelerin başında serbest oksijen radikalleri gelir (1-3). Bu serbest radikaller vücut hücrelerinde, dokularında ve vücutta hücre çoğalmasını kontrol eden DNA yapısında hasara neden olurlar (2,4). Bunların dışında ultraviyole ışınları, yanıklar ve sigara gibi çevresel faktörler de serbest radikal oluşumunu hızlandırırlar (1,3). Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyon sonucunda oluşan hücre hasarı durumunda, koroner kalp hastalıkları, inme, romotid, artrit, ve kanser gibi hastalıklar gelişir (5-8).

Hücre bir yandan reaktif oksijen türleri gibi kendisine zarar veren maddeler üretirken, bir yandan kendisini bunlardan koruyacak savunma mekanizması da geliştirir. Örneğin; bir korunma yolu hücre dışından sağlanan, beslenmeyle alınan antioksidan özellikte ögelerdir. Besinlerle sağlanan bu antioksidan ögeler değişik mekanizmalarla hücreleri saldırgan oksijen radikallerine karşı korurlar (9-11). Antioksidan özelliklere sahip koruyucu besin ögelerinin başında E vitamini, C vitamini, beta karoten gelir. Bu vitaminler dışında, fenolik bileşiklerin de antioksidan olduğu ve hücreyi koruduğu anlaşılmıştır (10,12,13). Sebzeler ve meyveler antioksidan etkinlik gösteren bu bileşenlerden zengindir. Yapılan çalışmalar sebze ve meyve tüketimi ile kardiyovasküler hastalıklar, bazı kanser türleri, diyabet, Alzheimer hastalığı, katarakt ve yaşla ilintili fonksiyonel kayıp riskinin azalması arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu etkinin sebze ve meyvelerin içerdiği diyet posası, folat, potasyum ve vitamin C, vitamin E, beta-karoten gibi antioksidan vitaminler dışında güçlü antioksidan etkinlik gösteren fenolik bileşikler gibi biyoaktif fitokimyasal bileşenlere bağlı olduğu belirtilmektedir (14-16).

Fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerinin içerdikleri OH gruplarına bağlı olduğu bildirilmektedir. Fenolik bileşiklerin indirgeyici, hidrojen iyonu veren antioksidan ve singlet O₂ emme özellikleri olduğu saptanmıştır. Ayrıca, flavonoid gibi bazı fenollerin serbest radikal emme kapasitesi, vasodilatör, anti-kanserojen, anti-inflamatuvar, antibakteriyel, anti-alerjik, anti-viral (HIV, Herpes simplex, influenza virüs, Rhinovirüs'a karşı), estrojenik, fosfolipaz A₂, siklo-oksijenaz, lipo-oksijenaz inhibitörü gibi değişik etkinliklere sahip olduğu kanıtlanmıştır (7,13,17).

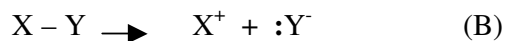
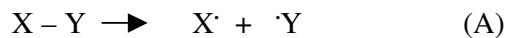
Toprak, güneş gibi çevresel koşullar, hasat zamanındaki sebze/mevyelerin olgunluğu, üretim yöntemleri (geleneksel/organik) depolama koşulları gibi dış etmenlerine bağlı olarak besinin fenolik bileşik içeriği değişmektedir (19-23). Ayrıca pişirilmeden veya tüketilmeden önce besin saklama koşulları (depolama derecesi ve süresi) hazırlama ve pişirme yöntemleri (suda, buharda, yağda, mikrodalgada), pişirme süresi gibi etmenler de, besinin fenolik bileşik içeriği ve antioksidan özelliğini etkilemektedir (24-31) .

GENEL BİLGİLER

2.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan ve genellikle çok reaktif olan kimyasal maddelerdir. Bir atom veya molekül bir orbital üzerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyorsa radikal olarak tanımlanır. Normalde kimyasal olarak bağlanmış iki veya daha fazla elektron içeren moleküllerin elektron düzeni, stabilitelerini belirler. Eğer elektronun eşi yoksa molekül son derece reaktif davranır ve stabil konuma geçmek için bir elektronla çift oluşturma eğilimi gösterir (1,9,10).

Serbest radikaller, metabolizma ürünleri veya fagositoz ile hücrelerde devamlı olarak üretilirler. Normal bir molekülün kimyasal bir bağının homolitik (reaksiyon A) veya heterolitik (reaksiyon B) kopması ile veya normal bir molekülden tek bir elektronun kaybıyla ve normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesiyle (reaksiyon C) farklı şekilde oluşabilirler (32,33). Biyolojik sistemlerde elektron transferi, yüksek ısı, UV ışını veya iyonize ışın gibi yüksek enerjiye ihtiyaç duyan homolitik bölünmeden daha yaygın bir süreçtir. Molekülün fragmanlarından yalnızca birinde kovalent bağın elektronlarının kaldığı heterolitik bölünmede yüklü iyonlar oluşurken, homolitik bölünmede radikal olarak tanımlanan, her biri eşlenmemiş bir elektron içeren iki fragman meydana gelir. Biyolojik sistemlerde kendi kendine oluşan reaksiyonlar, reaktanların düşük stabilite düzeylerinden kaynaklanmaktadır. (+) yüklü, (-) yüklü veya yüksüz olabilen serbest radikallerin oluşumu aşağıda özetlenmiştir (32).



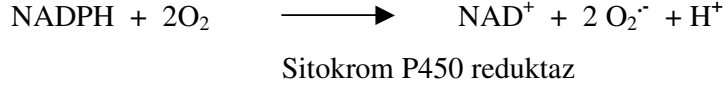
Serbest radikal kendi moleküler çevresinin dışına çok hızlı hareket edebilen radikaldır. Reaktif oksijen türleri (ROT) ise kimyasal olarak reaktif, bir veya daha fazla oksijen atomu içeren moleküller olarak tanımlanmaktadır (3). Reaktif oksijen türleri serbest radikalleri ve biyolojik molekülleri okside edebilen radikal olmayan reaktif bileşikler kapsar. Bu nedenle reaktif oksijen türleri aynı zamanda oksidanlar veya prooksidanlar olarak da ifade edilmektedir. Genelde reaktif oksijen türleri ifadesi, oksiradikaller, oksijen serbest radikalleri, toksik oksijen radikalleri ve bu gibi ilgili terimlerden daha doğrudur. Örneğin oksijen serbest radikalleri hidrojen peroksit veya oksijenin bağlı formlarını içermez. Ancak bu moleküller kimyasal olarak reaktiftir (6,11).

Bir organizmanın var oluşunda ve gelişimini sürdürmesinde oksijeni tüketme gerekliliği, fizyolojik koşullar altındaki reaktif oksijen türlerinin oluşumunu da beraberinde getirmektedir. Reaktif oksijen türleri DNA, karbonhidratlar ve proteinler gibi makromoleküllerin oksidatif hasarından sorumludur ve bu oksidatif hasar, bir çok hastalığın başlangıcını ve ilerlemesini kapsayan mekanizmalar olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.1).

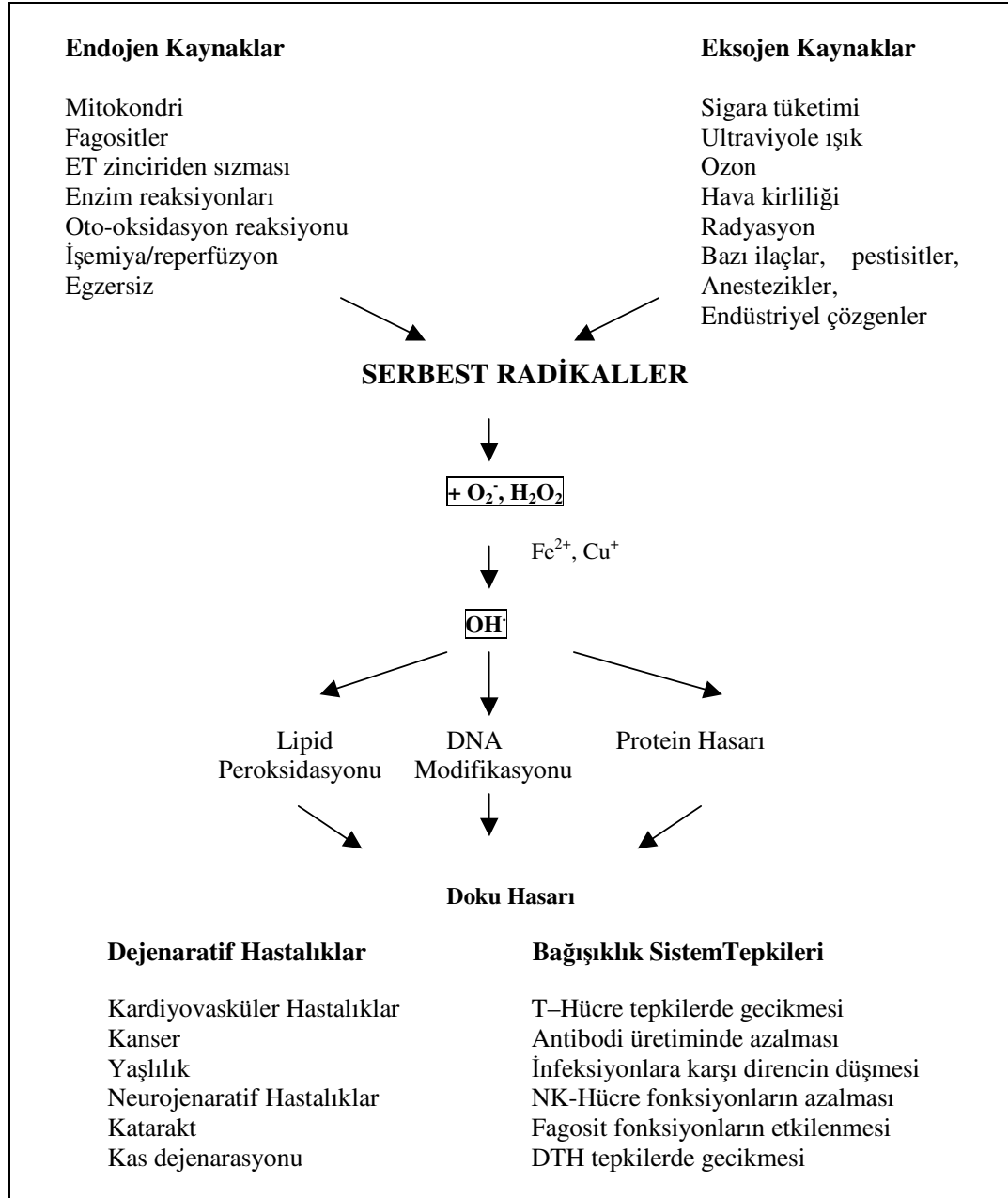
2.1.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynakları

Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri canlılarda normal zorunlu metabolik reaksiyonlardan eksojen (hücre dışı) veya endojen (hücre içi) kaynaklardan üretilir. Normal aerobik solunumda hücrenin mitokondrisinde enerji üretimi için O_2 tüketilirken H_2O üretilmektedir. Bir seri basamakta oluşan bu reaksiyonlarda superoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil ($OH^{\cdot}$) radikal gibi ara ürünler de meydana gelmektedir (Şekil 2.2). Süperoksit radikali ile başlayan reaksiyonlar zincirinde oluşan diğer reaktif ara ürünler içinde süperoksit radikal anyonu daha merkezi bir rol oynamaktadır. Süperoksit radikali ksantin oksidaz, NADPH oksidazdan oksijenin enzimatik olarak indirgenmesi veya solunum zincirinin açılımı ile meydana gelmektedir. Kronik enfeksiyonlarda, bağışıklık sistemin çok aktif olması, fagosit hücrelerin bakteri ve virüslere gösterdiği savunma sistemlerinin fonksiyonları sırasında bu radikalin üretimi artmaktadır (2,6,11).

ksantin oksidaz

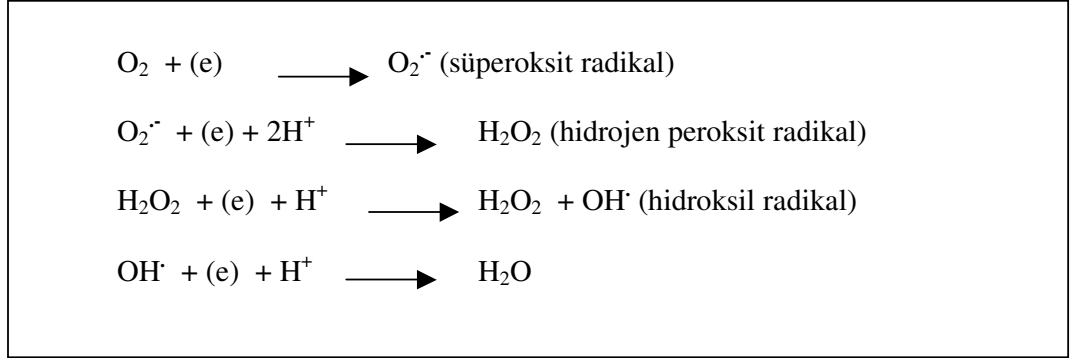


Şekil 2.1. Serbest Radikallerin Oluşumu ve Etkileri (1,34)



Vücudumuzda metabolik yolla oluşabileceği gibi çevresel faktörlere (eksojen) örneğin ultraviyole ışınlar, hava kirliliği, sigara dumanına maruz kalınma, alkol ve bazı ilaçların alımıyla da bu radikaller oluşabilmektedir. (Şekil 2.1).

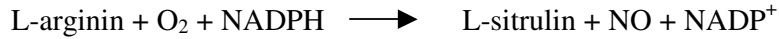
Şekil 2.2. Hücre içinde Reaktif Oksijen Türlerin Oluşumları (32)



Biyomoleküllerle güçlü reaktivisine bağlı olarak hidroksil radikali ($\text{OH}^{\cdot}$), biyolojik sistemlere en fazla zarar veren reaktif oksijen türüdür. Kısa yarı ömrüne rağmen, üretildiği bölgede çok az miktarlarda bile ciddi hasarlara yol açabilir ve hidrojen peroksitten sıklıkla farklı proteinler veya diğer moleküllere bağlı metal iyonları tarafından katalizlenen bir tepkimede oluşmaktadır. Bu fenton tepkimesi olarak bilinmektedir (1,3).

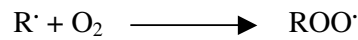
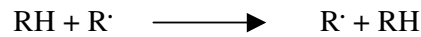
Son yıllarda özellikle dikkati çeken nitrik oksit radikalidir ($\text{NO}^{\cdot}$). Reaktif nitrojen türü (RNS) olarak adlandırılan kaynak olan Nitrik oksit, eşlenmemiş bir elektronuna rağmen çoğu biyomolekülle hemen tepkimeye girmemesinden dolayı $\text{O}_2^{\cdot-}$ ye birçok açıdan benzemektedir (35,36). Diğer taraftan, başka serbest radikallerle (örneğin peroksil ve alkil radikallerle) kolayca tepkimeye girmekte, daha az reaktif moleküller üretmekte ve bu nedenle aslında bir serbest radikal süpürücüsü olarak işlev görmektedir. Örneğin NO hücre zarında lipid peroksidasyonunu engelleyebilmektedir. Bununla birlikte, NO 'ya paralel olarak $\text{O}_2^{\cdot-}$ yoğun miktarlarda üretilirse, birbirleriyle son derece sitotoksik olan $\text{OONO}^{\cdot}$ 'yu (peroksinitrit) oluşturmak üzere tepkimeye girmektedirler. Peroksinitrit, bir- veya iki- elektronlu tepkimelerde çeşitli biyomoleküllerle doğrudan reaksiyona girebilir, son derece

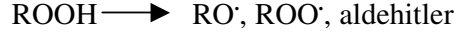
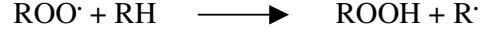
reaktif olan nitroso peroksokarboksilat (ONOO CO_2) oluşturmak üzere hemen CO_2 ile tepkimeye girebilir ya da protonlanmış biçimi peroksonitrik asit (ONOOH) olarak $\cdot\text{OH}$ ve $\cdot\text{NO}_2$ oluşturmak veya nitrata (NO_3) dönüşmek üzere homolize olabilir. Bu farklı peroksit tepkimelerinin her birinin oranı, ortamda bulunan bileşiklerin türüne, ısıya ve pH'a bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Peroksinitrit, doğrudan veya tepkime ürünleri aracılığıyla LDL'nin oksidasyonuna neden olmakta, seruloplazmini yıkarak bakır iyonlarını serbestleştirebilmekte ve bir çok inflamatuvar hastalıkta gözlemlendiği üzere sıklıkla farklı proteinlerdeki tirozin bölgelerine saldırabilmektedir (11,32). NO'nun son oksidasyon ürünü olan nitröz asit (NO_2^-) ise, dolaylı olarak DNA hasarına neden olabilmektedir (35). NO, L-argininden NO sentaz (NOS) aracılığıyla enzimatik olarak sentezlenmektedir.



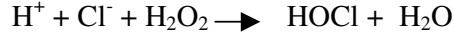
Fizyolojik konsantrasyonlarda NO, guanilat siklaz ve protein kinazları uyaran bir hücre içi sinyal iletilici olarak işlemekte ve böylece diğer etkilerinin yanı sıra kan damarlarının düz kaslarını gevşetmektedir. NO'nun hücre zarlarını geçme yeteneği vardır ve bu nedenle de sinyalleri diğer hücrelere iletebilmektedir (35).

Peroksil radikalleri ($\text{ROO}\cdot$), çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidatif yıkımı olarak bilinen lipid peroksidasyonu sonucunda oluşur. Hidroksil radikalleri de bu reaksiyonları başlatma yeteneğine sahiptir. PUFA'nın (RH) oksidasyonu ile bir yağ asidi radikali olan ($\text{R}\cdot$) oluşur. Lipid peroksidasyonun ileri aşamalarında, alkoksil radikalleri ($\text{RO}\cdot$) ve organik hidroperoksitler (ROOH) oluşur. Aldehitler her zaman, lipid hidroperoksitlerin yıkımı ile oluşur ve çoğu biyolojik olarak aktiftir. Lipid hidroperoksitlerinin yıkımı, sıklıkla geçiş metal iyon katalizasyonu ile gerçekleşir ve hidrojen peroksitin, lipid peroksil ve lipid alkoksil radikallerine dönüşüm reaksiyonları da bu şekilde olur (6,38).





H_2O_2 bir serbest radikal değildir. Ancak biyolojik membranları geçebilme yeteneği nedeniyle son derece önemlidir. Nötrofil fagozomlarında bulunan bir enzim olan myeloperoksidazın etkinliğiyle HOCl (hipoklorik asit) dahil daha reaktif ROT moleküllerinin üretiminde ve en önemlisi, geçiş metallerinin oksidasyonu aracılığıyla $^\bullet\text{OH}$ üretiminde bir ara ürün olarak temel bir rol oynamaktadır. H_2O_2 'nin diğer bir önemli işlevi ise bir hücre içi sinyal iletim molekülü olarak oynadığı roldür (10).



Tekli oksijen ($^1\text{O}_2$), bir başka radikali olmayan reaktif oksijen türü olup, çoğunlukla oksijen serbest radikalleriyle ilişkilidir. Ayrıca tekli oksijen molekülü, hem serbest radikal reaksiyonlarıyla üretir hem de serbest radikal reaksiyonlarına yol açabilir.

Triklorometil ($\text{CCl}_3^\bullet$), karbon merkezli bir radikaldir. Karbon tetraklorürün (CCl_4) karaciğerde metabolize edilmesi sonucunda meydana gelir. Karbon merkezli radikaller, genellikle oksijen ile çok hızlı reaksiyona girerek diğer radikalleri üretirler (11).



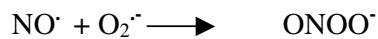
Eksojen veya endojen kaynaklardan üretilen bazı önemli reaktif türleri Tablo 2.1.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Reaktif Türlerin Sınıflandırması (36)

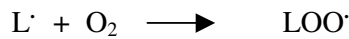
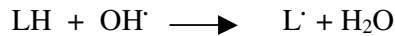
	Radikal Olanlar	Radikal Olmayanlar
Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) Hidroksil ($OH^{\cdot}$) Hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$) Lipid peroksil ($LO_2^{\cdot}$) Lipid alkoksil ($LO^{\cdot}$)	Tekli Oksijen (O_2) Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Lipit Peroksitleri ($ROOH$) Ozon (O_3) Hipobromöz asit ($HOBr$) Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)
Reaktif Klor Türleri (RKT)	Atomik klor ($Cl^{\cdot}$)	Hipokloröz asit ($HOCl$) Nitril klorid (NO_2Cl) Kloraminler
Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)	Nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) Nitrojen dioksit ($NO_2^{\cdot}$)	Nitröz asit ($HNO_2^{\cdot}$) Nitronyum katyonu (NO_2^+) Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) Alkil peroksinitrit ($ROONO$) Dinitrojen tetroksit (N_2O_4) Dinitrojen trioksit (N_2O_3) Nitrosil katyonu (NO^+) Nitril Klorid (NO_2Cl) Nitroksil anyonu ($NO^{\cdot-}$)

2.1.2. Reaktif Oksijen Türlerin Reaksiyonları

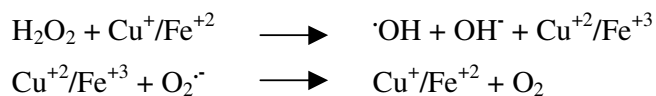
İki serbest radikal karşılaştığında, eşlenmemiş elektronları ile kovalent bağ yaparak birleşir ve radikal olmayan reaktif olan türlerin meydana gelmesine neden olur. Örneğin nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ve süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)'in çok hızlı reaksiyonu sonucu radikal olmayan peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) oluşabilir (32,35).



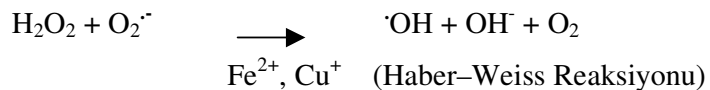
Serbest bir radikal, radikal olmayan bir madde ile reaksiyona girerek yeni bir radikal meydana getirebilir. Biyolojik moleküllerin büyük bir kısmı radikal değildir. Örneğin yağ asitinden veya sterolden bir hidrojenin ayrılmasıyla üretilen radikaller, oksijen ile reaksiyona girerek peroksil radikalini oluşturur. Bu durum lipid peroksidasyonun ilk adımıdır. Zincir reaksiyonlar şeklinde devam ederek büyük oranda radikal, oksidan ve diğer reaktif türlerin oluşumuna neden olur (6,32).



Aerobik hücrelerde ROT metionin, sistein, triptofan, histidin gibi amino asitlerini ve lipid içeren C=C bağlarını hedef alarak superoksid radikali ve hidrojen peroksidi (H_2O_2) sentez etmektedir. Bu iki ROT maddeleri birlikte çok reaktif olan ve dokulara zarar veren hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) oluşturmaktadır (Haber –Weiss Reaksiyonu). Normal hücrelerde bu reaksiyon yavaş ilerlemesine karşın, kararsız metallerin varlığında (Fe^{2+} , Cu^+) hızlı gelişmektedir. 1894’de Fenton tarafından gösterildiğinden dolayı, Fenton reaksiyon olarak da bilinmektedir (38).



Toplam Reaksiyonu



2.1.3. Reaktif Oksijen Türlerin Lipidler Üzerindeki Etkisi

Reaktif oksijen türlerin (ROT) lipid üzerindeki etkisi, en fazla hücre membranlarda görünmektedir. Membranlarda bulunan PUFA’lar, oksidatif yıkımına hassasdır ve lipid peroksidasyonu olarak tanımlanan bu oksidatif yıkım sonucu, reaktif alditlerin

oluşumuna neden olmaktadır. Bir zincirleme reaksiyon gibi hızlıca ilerleyip hücre zarlarına ve diğer bölümlerine zarar vermekte ve doku hasarına neden olmaktadır (7,8). Ayrıca, ROT'leri, plazma LDL oksidasyonu ve LDL-ox ürünlerin üretimini tetiklemektedir. Subendotelial aralıklarda bulunan fagositler tarafından bunların alınımı, aterosklerotik plak oluşumuna neden olmaktadır (8).

Kardiyovasküler hastalıklarda LDL oksidasyonunun, inflamasyon aktivasyonu ve endotelial hasarı içeren aterosklerotik sürecin tüm adımlarına katkıda bulunduğu belirtilmektedir. ROT ve RNT (reaktif nitrojen türleri)nin, üstelik myeloperoksidaz ve lipoksigenaz gibi enzimlerin aterosklerozis ve diğer kardiyovasküler hastalık durumlarına katkısı olduğu belirtilmektedir. Dolayısıyla hastalık durumunun önlenmesi veya azaltılması açısından lipid peroksidasyonunun engellenmesi tıbbi olarak önem kazanmaktadır (5,7).

2.1.4. Reaktif Oksijen Türlerin DNA Üzerindeki Etkisi

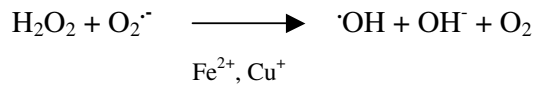
Süperoksid, hidroksil, tekli oksijen gibi bazı reaktif oksijen türleri (veya serbest radikaller), DNA ve bağların bölünmesi dolayısıyla yanlış baz eşleşmesine ve bazların oksidasyonuna neden olmaktadır. DNA'da yarattığı bu kimyasal değişimler ve mutasyonuna bağlı olarak ROT'un mutajenik ve kanserojenik olduğu belirlenmiştir ve oksidatif sisteme maruz kalan bireylerdeki yüksek kanser prevalansını kısmen açıklayabilir (39). Ayrıca, ROT'un DNA hasarına bağlı olarak hücre yaşlanmasına katkıda bulunduğu belirtilmektedir.

DNA hasarları kısmen ROT'a bağlı olmasına rağmen, mitokondri geçirgenliğinin artması, sitokrom C'nin serbest bırakılması, hücre içinde Ca^{+2} düzeyinin artması ile ilgili olabileceği öne sürülmüştür (4).

2.1.5. Reaktif Oksijen Türlerin Proteinler Üzerindeki Etkisi

Göz lens kristallerinin oksidatif hasarıyla katarakt oluştuğu uzun süredir bilinmesine rağmen, serbest radikallerin proteinler üzerindeki etki mekanizmaları son yıllarda yoğun ilgi odağı olmuştur. ROT'ların in vitro olarak bir çok amino asit ile reaksiyona girerek enzimlerin aktivitesini azalttığı ve proteinlerin denatürasyona neden olduğu gösterilmiştir (9).

En duyarlı aminoasitler arasında metiyonin, sistein, triptofan, histidin yer almaktadır ve C=C kovalant bağı içeren protein zincirleri, ROT'un hedefi olarak kabul edilmektedir. Geçiş metallerin hidrojen peroksitle olan reaksiyonu ile metal-bağlanma bölgesinde veya yakınında reaksiyona girecek hidroksil radikali oluşur. Bu konsept “bölgeye özel” hasar olarak bilinmektedir ve DNA'nın çevresinde oluşan okside edici radikaller hızlı bir şekilde DNA'yı etkilemektedir (38). Çok yüksek seviyelerde onarım olmasına rağmen, yeterli miktarda hasar birikip hayat sürecinde DNA mutasyonlara ve kansere yol açabilmektedir (4,5).



2.1.6. Reaktif Oksijen Türlerin Bağışıklık Sistem Üzerindeki Etkisi

Oksidatif yıkımına hassas olan PUFA'lar, hücre membranlarda bol miktarda bulunmaktadır ve oksidatif hasar sonucu membran yapılarını değiştirmektedir. ROS'a maruz kaldığı takdirde, bağışıklık sistemdeki hücrelerde, hücreler arasındaki iletişimi sağlayan bazı reseptörlerin kayıp olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla, serbest radikallerin hem hücre içerisindeki iletişimi, hem de diğer hücrelerle bağlantıları olumsuz şekilde etkilediği bildirilmiştir. T-Hücre tepkilerde gecikme, antidi üretiminde azalma, infeksiyonlara karşı direncin düşmesi, NK-Hücre fonksiyonların azalması, fagosit fonksiyonların etkilenmesi, DTH tepkilerde gecikme gibi etkiler gözlenmiştir (Şekil 2.1). Ayrıca, antioksidanlar tarafından korunmadıkları sürece, fagosit hücrelerin ROT üretmesi, kendilerine de zarar vermesi anlamına gelmektedir (34).

2.2. Reaktif Oksijen Türlerine Karşı Korunma Mekanizmaları

Reaktif Oksijen Türlerine karşı korunma mekanizması olarak, vücudumuzda bu görevi üstlenen çeşitli enzimler ve antioksidan maddeler bulunmaktadır. Oksidasyonu inhibe eden her hangi bir madde antioksidan olarak tanımlanmaktadır. Antioksidan madde, serbest radikal olan hedef molekülden bir elektron alarak veya vererek onu nötröle etmektedir. Dolayısıyla serbest radikal zincirleme reaksiyonlarını durdurmaktadır. Kendisi her durumda stabil olduğundan dolayı,

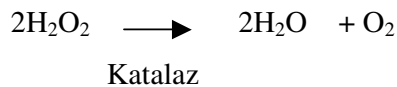
serbest radikala dönüşmemektedir ve böylelikle etrafındaki serbest radikalların süpürülmesi ve yok edilmesinden sorumludur (40). Lipid peroksidasyonu durdurarak besindeki toksik madde üretimini engellemektedir. Ayrıca, oksidasyon ile ilintili kalite bozukluklarına karşı besini koruduğundan dolayı, ABD’de FDA tarafından besin koruyucu madde olarak da tanımlanmaktadır. Piyasada bulunan bazı sentetik antioksidanlar; butilated hidroksianisol (BHA), butilated hidroksi toluene (BHT), *tert*-butilhidroquinon (TBHQ), propyl gallat (PG) ve tokoferoller olarak sınıflandırılmaktadır (9,10).

Vücudumuzda bulunan doğal antioksidanların çalışma mekanizmaları, ROT üretimini engellemek veya inaktif hale getirerek nötröliz etmek temeline dayanmaktadır (10).

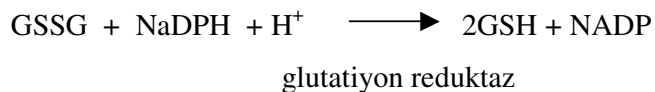
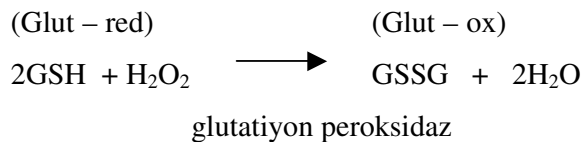
2.2.1. Engelleme ve Saptırma

Metal bağlayıcı proteinler (transferrin, ferritin, seruloplasmin v.b.), geçiş metallerinin inaktif şekillerini (Fe^{3+} , Cu^{2+}) bağlayarak aktif hale dönüşmesini, dolayısıyla Fenton reaksiyonu engellemektedir (1,3).

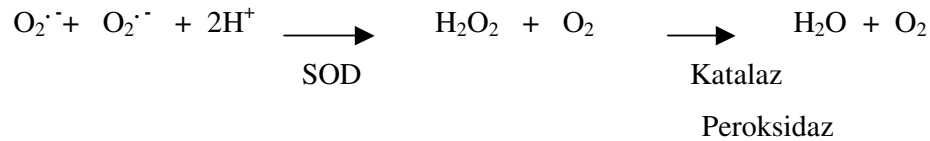
Katalaz enzimleri çoğunlukla peroksizom’da bulunmaktadır. Hidrojen peroksidi suya dönüştürerek nötrölize etmektedir ve Fenton reaksiyonu engelleyerek hidroksil radikal üretimini durdurmaktadır (3).



Mitokondri ve kloroplastda bu reaksiyon peroksidaz ile gerçekleşmektedir. Oksitlenmiş glutatyon, glutatyon enzimin varlığında tekrar eski haline dönüşmektedir. Glutatyon (GSH) ROS’lara maruz kalan proteinleri korumaktadır (1,3).



Eukaryot hücrelerde Mn, Cu, Fe superoksid dismutaz enzimleri (SOD), hücrelerde oluşan superoksid radikallerini ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksida çevirerek nötröle etmektedir. Daha sonra katalaz veya peroksidaz enzimin yardımıyla hidrojen peroksid suya dönüşmektedir (1,3).



2.2.2. Zincir Kırıcı Antioksidanlar

Zincir kırıcı antioksidanlar küçük moleküllerdir ve serbest radikal olan hedef molekülden bir elektron alarak veya vererek onu stabilize etmektedir; dolayısıyla serbest radikal zincirleme reaksiyonlarını durdurmaktadır. Örneğin aerobik hücrelerde lipid peroksidasyon, bir zincirleme reaksiyon olarak sürmektedir ve zincir kırıcı antioksidanlarla durdurulmaktadır (1,2).

Bu antioksidanlar lipid ve su bazlı olarak sınıflandırılmaktadır ve antioksidanların çoğu diyetle alınabilmektedir (10).

$\alpha, \beta, \gamma, \delta$ tokoferoller ve tokotrienoller yağ bazında çözülürler ve yüksek antioksidan aktivitesine sahiptirler. Ayrıca membran stabilitesini korumakta da görev almaktadır. Bunlardan α -tokoferol, en yaygın olarak insan hücrelerinde bulunur ve en fazla antioksidan aktivitesine sahiptir (41).

Karotenoidlerden (β -karoten, likopen, lutein, zeaksantin) β -karotenenin en fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Tekli oksijen, peroksi radikallerini etkisiz hale getirerek lipid peroksidasyonu engellemektedir. Karotenoidler, bir başka antioksidan olan retinollerin prekürsör molekülü olarak bilinmektedir (42).

Polifenollerden en fazla antioksidan aktiviteye sahip olan flavonoidler, sebze, meyve, çay ve şarapta bulunmaktadır. Yapılarına göre flavonol (kersetin, kamferol), flavanol (kersetin, kamferol), flavanol (kateşin), flavon (apigenin), isoflavon (genistein) vb olarak sınıflandırılmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar, flavonoid tüketiminin, dokuları oksidatif hasarlara karşı koruyarak kardiyovasküler ve kanser hastalıkları riskini azalttığını göstermiştir (7,8,40,43-45).

Su bazlı antioksidanlar arasında, C vitamini en etkili olarak bilinmektedir. C vitamininin; superoksid, hidrojen peroksid, hidroksil, hipoklorik asit, tekli oksijen, peroksi radikal gibi ROT maddelerin süpürülmesinde ve yok edilmesinde etkin bir rol oynadığı bildirilmiştir. Reaksiyon sonucu kendisi semidehidroaskorbil ve dehidroaskorbata oksitlenmektedir. Ancak tioredoksin redüktaz ve glutatyon sayesinde hücrelerde tekrar askorbat olarak geri kazanılmaktadır (1,14).

Su bazlı diğer antioksidanlar arasına ürik asit, glutatyon, bilirubin de dahil edilebilmektedir (40).

Vücudumuzda bulunan doğal antioksidanların çalışma mekanizmaları Tablo 2.2’de özetlenmiştir.

Tablo 2.2. Antioksidan Mekanizmalar (1)

Mekanizmalar	Faaliyetler	Örnekler
Engelleme	Kararsız metal iyonlarını inaktif hale getirmesi	Transferrin, Ferritin, Seruloplasmin, Albumin
Saptırma	ROS’u zararsız maddeye çevirmesi / kanalizetmesi	Superoksid Dismutaz, Katalaz, Glutatyon Peroksidaz
Zincir-Kırıcı Antioksidanlar	Serbest radikal zincirleme reaksiyonlarını sonlandırması	
Lipid Bazlı		Tokoferoller, Karotenoidler, Polifenoller, Ubiquinol-10
Su Bazlı		C Vitamini, Ürik asit, Bilirubin

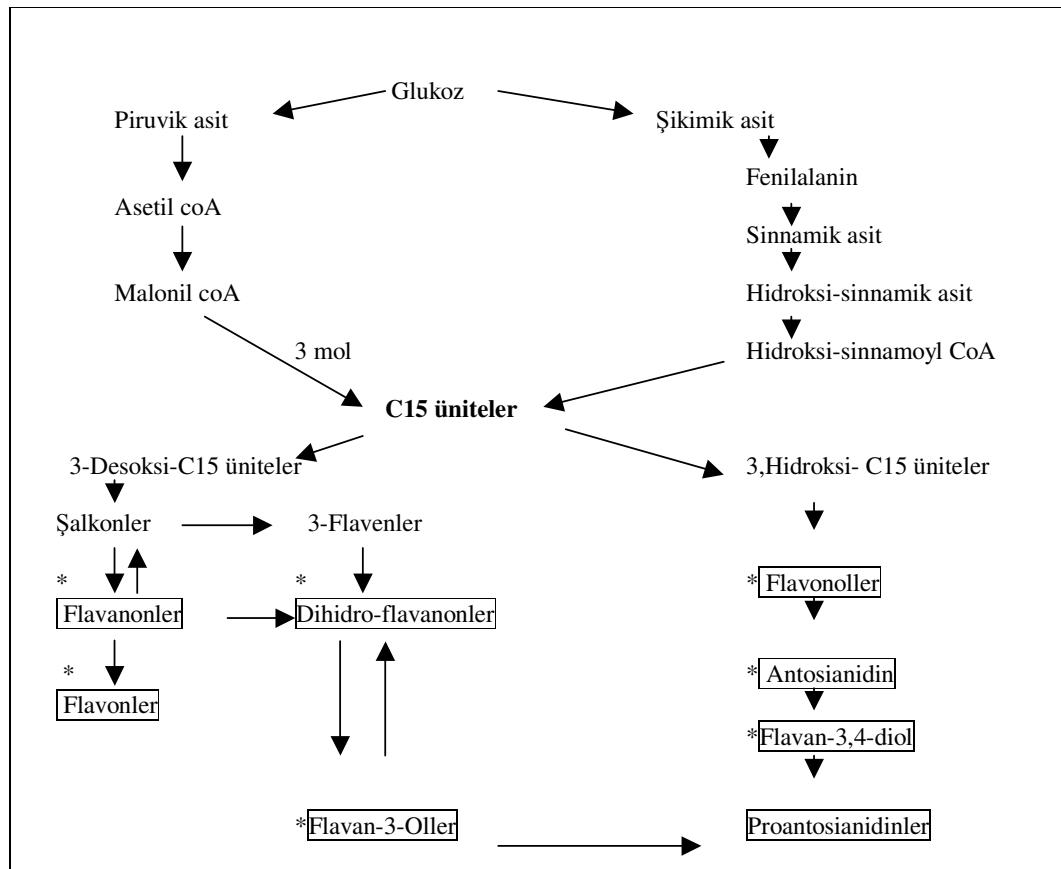
2.3. Fenolik Bileşikler (Polifenoller)

Polifenoller, onlarca yıldır araştırmacıların ilgi odağı olmuştur; çünkü bitki morfolojisine (renklendirme gibi) katkılarının yanı sıra büyüme, gelişme ve üremede de katkı sağlamıştır. Ultraviyole ışınlar karşı bitkileri savunurlar ve fitoaleksine olarak hareket ederek ve bitkilerin tatsızlığı/acılığını artırarak bitkilere patojenler, mikroplar, predatörlere karşı direnç kazandırmaktadır (13).

2.3.1. Fenolik Bileşiklerin Kimyası ve Sınıflandırma

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik halkaya sahip olan ikincil metabolitlerdir ve şikimat ile asetat olmak üzere iki ayrı sentetik süreçlerden kaynaklanmaktadır (19). Fenolik bileşiklerin A halkası, 3 mol Malonil CoA'dan oluşmaktadır ve B ve C halkaları ise, şikimat ve fenilpropanoid süreçten kaynaklanmaktadır (46) (Şekil 2.3).

Şekil 2.3. Fenolik Bileşiklerin Biyosentezi (46)



*Fenolik Bileşikler

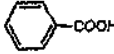
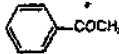
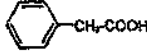
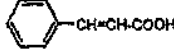
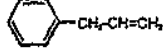
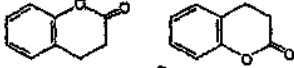
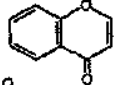
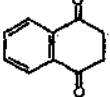
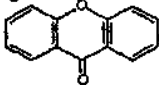
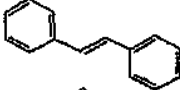
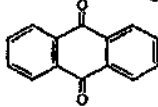
Günümüzde bitkilerde, 8000'den fazla fenolik bileşiğin yaygın olarak bulunduğu bilinmektedir (47). Polifenollerin yapıları çok basitten çok karmaşığa değişebilmektedir. Örneğin fenolik asit basit bir yapıya sahipken, tanin kompleks yapıya sahip olan bir polimerdir. Polifenollerin sahip oldukları bu çeşitlilik aromatik halkaların yapısal farklılıklarına, -OH gruplarının sayısına, çeşitli karbonhidratlar ve organik asitlerle yapmış oldukları bağlardan kaynaklanmaktadır (13).

Fenolik bileşikler konjugat molekül halinde bulunmaktadır. Fenollerin aromatik halkasında, hidroksil grup ile genelde bir veya daha fazla şeker molekülü bağlanmaktadır. En yaygın olarak bağlanan molekül glukoz olmakla birlikte, galaktoz, ramnoz, ksiloz, arabinoz, glukoronik asit ve galakturonik asit de bulunmaktadır. Karboksilik, organik asitler, aminler, lipidler ve başka fenollerin bağlandığına da rastlamak mümkündür. Kimyasal yapılarına göre polifenoller 10 ayrı grupta sınıflandırılmaktadır (Tablo 2.3). En büyük grup olan flavonoidler kendi içerisinde 13 ara grup olarak sınıflanmaktadır ve 5000'den fazla ögeye sahiptir (46,47) (Tablo 2.4).

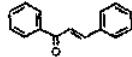
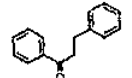
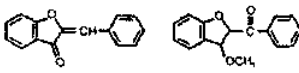
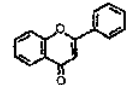
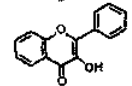
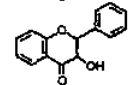
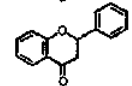
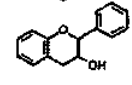
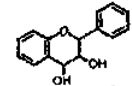
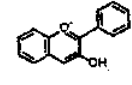
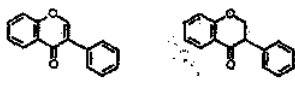
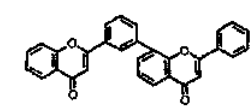
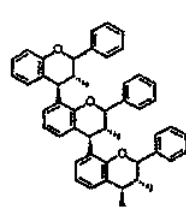
Fenolik bileşiklerin, yakın zamana kadar protein, karbonhidrat ve enzimler gibi makromolekülleri bağlayarak sindirimi olumsuz şekilde etkilediği bilinmektedir. Ancak, son zamanda fenolik bileşiklerin antioksidan kimliği, serbest radikal süpürücü özelliği ve buna ilişkin sağlık yararları gündeme gelmiştir ve sindirimi olumsuz etkilediği gerçeğini gölgede bırakmıştır (48). Fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerinin, içerdikleri OH gruplarından kaynaklandığı bildirilmektedir. Fenolik bileşiklerin indirgeyici, hidrojen iyonu veren antioksidan ve tekli O₂ emme özellikleri olduğu saptanmıştır (49). Ayrıca, flavonoid gibi bazı fenollerin; serbest radikal emme kapasitesi, vasodilatör, anti-kanserojen, anti-inflamatuvar, antibakteriyel, anti alerjik, anti viral (HIV, herpes simplex, influenza virüs, rhinovirüs'a karşı), estrogenik, fosfolipaz A₂, siklo-oksijenaz, lipo-oksijenaz inhibitörü gibi değişik etkinliklere sahip olduğu kanıtlanmıştır (7,13).

Fenolik bileşikler kimya sanayiinde boya, kağıt ve kozmetik üretiminde katkı maddesi olarak, besin sanayiinde renklendirici ve koruyucu olarak kullanılmaktadır (13).

Tablo 2.3. Fenolik Bileşikler ve Kimyasal Yapılar (13)

Sınıf	C-iskeleti	Kimyasal yapısı
Simple phenols	C ₆	
Benzoquinones	C ₆	
Phenolic acids	C ₆ -C ₁	
Acetophenones	C ₆ -C ₂	
Phenylacetic acids	C ₆ -C ₂	
Hydroxycinnamic acids	C ₆ -C ₃	
Phenylpropenes	C ₆ -C ₃	
Coumarins, isocoumarins	C ₆ -C ₃	
Chromones	C ₆ -C ₃	
Naftoquinones	C ₆ -C ₄	
Xanthones	C ₆ -C ₁ -C ₆	
Stilbenes	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Anthraquinones	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Flavonoids	C ₆ -C ₃ -C ₆	
Lignans, neolignans	(C ₆ -C ₃) ₂	
Lignins	(C ₆ -C ₃) _n	

Tablo 2.4. Flavonoidler ve Kimyasal Yapıları (13)

Flavonoid	Kimyasal yapısı
Chalcones	
Dihydrochalcones	
Aurones	
Flavones	
Flavonols	
Dihydroflavonol	
Flavanones	
Flavanol	
Flavandiol or leucoanthocyanidin	
Anthocyanidin	
Isoflavonoids	
Biflavonoids	
Proanthocyanidins or condensed tannins	

2.3.2. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Özellikleri

Organizmaların hücrelerini oksidatif hasarlara karşı koruyucu olduğu düşünülen fenolik bileşiklerin, oksidatif strese bağlı dejeneratif hastalık riskini azalttığına işaret edilmektedir (50). Hayvansal model çalışmalarında, diyetle bulunan fenolik öğelerin kanser, diyabet, osteoporoz, kardiyovasküler ve yaş ile ilintili fonksiyonel bozukluğu olan hastalıkların oluşumunu engelleyen, aynı zamanda bağışıklık sistemini düzeltici, antioksidan ve hormonal aktiviteye sahip maddeler olarak tanımlanmıştır (52-59). Bunun yanı sıra, polifenollerin kan pıhtılaşma ve vasküler sistemde önemli bir görev üstlendiği de açıklanmıştır. Hertog ve diğerleri (61), flavonoidlerin kardiyovasküler hastalıklar ile ilintili ölümcül durumlara karşı koruyucu rol aldığını rapor etmişlerdir.

Serbest radikaller kısa ömüre sahipler ve üredikleri yere zarar vermektedir (3). Serbest radikallerden gelen çeşitli zararlara karşı sebze ve meyvelerin koruyucu etkisinin, fenolik bileşiklerden dolayı olduğu ve polifenollerin serbest radikal süpürücü rolü ve antioksidan kimlikleriyle bağdaştırılmıştır (9,10,62-64).

2.3.2.1. Fenolik Bileşiklerin İn Vitro ve İn Vivo Antioksidan Aktiviteleri

Fenolik bileşikler, in vitro ve in vivo koşullarda geniş bir aralıkta antioksidan aktivite göstermektedir (65,66). Serbest radikaller diğer hücre bileşenleri ile reaksiyona girmeden, bazı antioksidanlar serbest radikaller ile doğrudan reaksiyona girerek onları etkisizleştirmektedir (67).

In vitro koşullarda fenolik bileşikler, ROT ve RNS'nin olumsuz etkisinin azaltılması, sentetik serbest radikallerin (ABTS⁺[2,2'-azobis(3-etilbenzothiazoline-6-sulphonat)], DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)) tutulması, in vivo ortamda ve besinlerdeki lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan ROT (OH[•], O₂^{•-}, ¹O₂) ve RNT (nitrit ve peroksinitrit), RO₂ gibi lipid radikallerin uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Kersetin ve diğer flavonoidlerin, ROT'u süpürücü etkileri dolayısıyla damar koruyucu etkilerinin olduğu saptanmıştır (68-70).

Fenolik bileşikler, metal iyonlarıyla (Fe⁺³, Cu⁺²) şelat oluşturmaktadır (38). Bu şelatlar, stabil olabilir veya redoks etkileşimi gerçekleştirebilir; yani fenoller, Fe⁺³ veya Cu⁺²'yi sırasıyla Fe⁺² veya Cu(I)'a indirger. Bu durumlarda üretilen hidroksil radikali (-OH[•]), DNA'ya hasar verebilmektedir. Dolayısıyla böyle bir durumun hem

yararlı (tümör hücrelerde sitotoksik ve apoptotik etkisi) hem de zararlı (normal hücrelerde mutajenik etkisi) yanları vardır (13). Genel olarak metal iyonlarıyla (Fe^{+3} , Cu^{+2}) şelat oluşturma etkileri sayesinde serbest radikal üretimini ve oksidasyon streslerini azaltarak antioksidan etki göstermektedir (13,38).

Bir çok hazır et ürünlerinde koruyucu ve renklendirici madde olarak bulunan NO_2^- ve midede oluşan HNO_2 'yi uzaklaştırıcı etkiye sahip olan fenolik bileşiklerin, mide kanserine karşı, ayrıca nitrit ve peroksinitritlerin neden olduğu DNA hasarına karşı koruyucu rolü olduğu düşünülmektedir (35).

In vitro çalışmalarda fenolik asitlerin (sinamik asit grupları), Cu^{+2} iyonlarının katalizlediği LDL oksidasyonuna karşı güçlü antioksidan etki gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca, bu bileşiklerin ferrilmioglobinden kaynaklanan LDL oksidasyonunu da önleyebildiği belirtilmiştir (71). Flavonoidlerin, lipid peroksidasyonunu inhibe etme yetenekleri, onların peroksil radikali süpürücü aktivitelerinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Besinlerde veya biyolojik sistemlerde flavonoidler, aromatik halkaları ile hidroksil (OH) gruplarını yakalayarak fenoksil radikali ($-\text{O}^\bullet$) oluşturmaktadır ve peroksil radikallerini etkisizleştirmektedir (7,8).



Diyetsel fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi ile ilgili pek çok in vitro çalışma olmasına karşın, in vivo etkileri ile ilgili sınırlı veri mevcuttur (8,16). Ancak, sebze, meyve ve çay türlerinin pek çok kronik ve dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu olduğunu gösteren epidemiyolojik veriler, polifenollerin bu etkilerinin in vivo antioksidan aktiviteleriyle ilgili olduğuna işaret etmektedir (63,64,72,73)

2.3.2.2. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitesi ile Kimyasal Yapıları Arasındaki İlişkisi

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi ile kimyasal yapıları arasında önemli bir ilişki vardır. Polifenollerin serbest radikalleri uzaklaştırıcı etkileri, B halkasındaki orto 4-C pozisyonunda $-\text{OH}$ gruplarının varlığı, C-halkasındaki 4- oxo ile birlikte C2-C3 arasında çift bağın olması, A ve C halkalarındaki 3-OH ve 5-OH veya 4'-OH ve 3'-OH gruplarının varlığından kaynaklandığı gözlenmiştir (15). Soğan ve elmada

bulunan ve yüksek antioksidan aktivitesine sahip olan kersetinin (TEAC değeri 4.72 ± 0.10) ve üzüm ve kırmızı şarapta bulunan myrisetin (TEAC değeri 3.12 ± 0.28) yukarda sözü edilen benzer yapısal özellikleri taşıdığı bilinmektedir (17,18).

Yeşil çay polifenollerinin B halkasında kateşol grubunun ve 3-hidroksi pozisyonunda gallat grubunun varlığının, hidroksil radikaline karşı uzaklaştırıcı ve DNA hasarına karşı koruyucu etkide önemli rol oynadığı saptanmıştır (TEAC değeri 3.78 ± 0.03). Kırmızı erik ve üzüm kabuğunda bulunan antosiyaninlerin yüksek antioksidan aktivitelerinin (TEAC değeri 4.40 ± 0.01), B halkasındaki o-hidroksi grubunun varlığından kaynaklandığı belirtilmiştir (18).

A halkasında -OH grupların bulunmasına rağmen B halkasında sadece bir tane -OH grup olması, flavanonların flavonollara kıyasla antioksidan aktivitelerinin daha az olmasına neden olmuştur. Rice Evans ve diğerleri (18), flavanon olan narinjenin ve hesperetinin TEAC değerlerini 1.53 ± 0.05 ve 1.37 ± 0.08 olarak saptamışlardır.

Kersetin, luteolin, mirisetin ve kamferol gibi aglikonların, kersetin-3-glikosit, kersitrin ve rutin gibi konjuge flavonoidlerden daha fazla antioksidan aktivite gösterdiğine işaret edilmektedir. siyanidin-3-glikosid ve kersetinin 3' pozisyonunda metilasyonunun ise, antioksidan etkileri azalttığı belirtilmektedir kafeik, klorojenik, ferulik, sinapik ve *p*-kumarik asit gibi fenolik asitlerin, *p*-hidroksibenzoik asit, vanilik asit gibi fenolik asit hidroksil türevlerinden daha aktif antioksidanlar olduğu bildirilmektedir. (18,49).

2.3.3. Fenolik Bileşiklerin Hastalıklar Üzerine Olumlu Etkisi

Bir çok çalışma, çay, taze sebze ve meyve tüketiminin bazı kanser türlerini ve kardiyovasküler hastalık (KVH), katarakt, beyin ve bağışıklık disfonksiyonu gibi yaşa bağlı dejeneratif hastalık riskini azalttığına işaret etmektedir (9,10,74,76-78) (Tablo 2.4).

Epidemiyolojik hastalıkların bazısı, vücutta üretilen serbest radikallerin DNA ve dokulara verdiği hasarlardan kaynaklanmaktadır (1-3,6). Meyve ve sebzelerde bulunan bazı vitaminler, mineraller, diyet posalar, polifenoller ve flavonoidler gibi birçok fitokimyasallar, bu hastalıklara karşı koruyucu rol oynayan öğelerdir (5,7,9).

2.3.3.1. Kardiyovasküler Hastalıklar

In vitro ve in vivo çalışmalar, polifenollerin LDL ve lipid peroksidasyonu engelleyen özellikleri olduğunu saptamıştır (5). Hayvansal çalışmalarda, içme suyuna şarap ve nar suyu eklenmesinin, hücrelerde kolesterolün toplanmasını engelleyerek ateromatos plakları ve lezyonlarını azalttığı gözlenmiştir. Şarapta bulunan antosiyaninin endotelial disfonksiyonu düzelterek aterogenezi yavaşlattığı bildirilmiştir. Ayrıca izoflavonlar ve kateşinler, bir vasodiyalatör olan nitrik oksitin oksitlenmesini engelleyerek endotelial desfonksiyonu düzelttiği de düşünülmektedir (74).

İnsan vakalarında yeşil çay, kırmızı şarap gibi polifenol tüketimi ile geçiş metallerinin varlığında serbest radikaller tarafından tetiklenen LDL oksidasyonu azalmaktadır (65,68). Hiperlipemik ve normolipemik farelere 2-6 hafta süresince uygulanan flavanon zengin diyeti ile toplam plazma kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid seviyesinin düşürüldüğü gözlenmiştir. Ayrıca kırmızı şarap ve üzüm suyu gibi bazı fenolik bileşiklerin antitrombotik özellik taşıdığı, plateletlerin toplanmasını engellediği bildirilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar, az miktarda olmak şartıyla düzenli şekilde çay ve kırmızı şarap tüketiminin miyokardiyel infarksiyona karşı koruyucu olduğunu öne sürmektedir (76,80).

2.3.3.2. Kanser

Hayvansal çalışmalarda, diyetle polifenollerin eklenmesi ile ağız, mide, duodenum, kolon, karaciğer, akciğer gibi farklı organlarda oluşan tümör hücrelerinde azalma kaydedilmiştir. Kolon, prostat, meme ve pankreas kanserine neden olan heterosiklik aromatik aminler (HAA), et pişirme sırasında yanmış kısımda bulunmaktadır ve sitokrom P450 enzim (IA2) sistem yardımıyla aktifleşerek prokanserojen maddeler üretmektedir (66). Sebzeler, yeşil (epigallokateşin, epigallokateşin-3-gallat) ve siyah çayda (teaflavin, tearubigin) bulunan polifenoller, sitokrom P450 enzimin gen ekspresyonunu olumsuz şekilde etkileyerek prokanserojenlerin oluşumunu engellemektedir ve faz II enzimleri tetikleyerek kanserojen maddelerin vücuttan atılmasını sağlamaktadır. Bu mekanizma aynı zamanda, toksik ksenobiyotiklerine karşı da vücuda bağışıklık kazandırmaktadır (39,77).

Polifenoller ayrıca, protein kinaz C enzimini ve AP-1'e dayalı transkripsiyon aktivitesini engelleyerek tümör hücrelerin büyümesini ve çoğalmasını yavaşlatmaktadır. Onkogen ekspresyonu inhibe ederek ve polyamin sentezinde anahtar rolü üstlenen ornitin dekarboksilaz enzimin aktivitesini azaltarak kanser hücrelerinin çoğalmasını engellemektedir. In vitro ve in vivo çalışmalarda, polifenoller tümör hücrelerinin apoptosisini sağlayarak tümörün küçülmesine neden olmuştur (81).

Polifenoller; DNA'yı oksidatif hasarlardan koruyarak ve redoks sinyalleri tetikleyerek kansere neden olan NF-kB gibi transkripsiyon faktörleri baskı altında tutmakta ve kansere karşı korumaktadır (79).

Polifenollerin alınan miktarları önem taşımaktadır. Bazı fenolik bileşikler (genistein, kafeik asit), az miktarda alındıkları sürece kansere karşı koruyucudurlar. Ancak alınan miktar artınca tam ters etkiye sahip olmaktadırlar. İsveç'te yapılan bir kohort çalışmada kahve tüketimin kolorektal kanser üzerindeki olumlu etkisi araştırılmıştır. Diğer çalışmaların aksine bu kohort çalışmada, kahve tüketiminin kolorektal kanser üzerinde olumlu etkisine rastlanmamıştır (82). Scalbert ve diğerleri (7), epidemiyolojik çalışmalarda kanser tedavisinde kullanılan fenoliklerin, farmakolojik dozajları ve hastalıklara karşı koruma amacıyla normal diyetle alınan miktarlarının farklı olduğunu ve tavsiye edilirken aradaki bu ayrımın gözardı edilmemesini öne sürmüştür.

Tablo 2.5'de fenolik bileşikler ile kardiyovasküler hastalığı ve kanser ilişkisi özetlenmiştir.

Tablo 2.5. Fenolik Bileşikler ile Kardiyovasküler Hastalıklar ve Kansere İlişkisi

Gruplar	Fenolik Öğeler	Besinler	Sonuçlar
Flavonol	Kersetin, Kamferol, myrisetin	Soğan, elma, çay, brokoli, kırmızı şarap, çikolata, zeytin, marul, erik	TK↓, LDL-K↓, HDL-K↑, Aox, antimitojen, tümör oluşümü↓, platelet agregasyonu↓, ekosanoid sentezi↓ (76-80,170,174,175)
Flavanol	Epikateşin, Epigallocateşin, Epikateşin-3-gallat Epigallocateşin-3-gallat	Siyah/yeşil çay, kahve,kakao, çikolata	LDL-Kox↓, Aox, apoptozis, platelet agregasyonu↓, tümör oluşümü↓, , kanserojen detoksifikasyon, anjiogenez (46,52,58)
İsoflavonlar	Genistein, Daidzein	Soya ürünleri, baklagiller	TK↓, LDL-K↓, LDL-Kox↓, TG↓, HDL-K↑, Aox, trombozisi↓, estrogen/antiestrogen, antimitojen, anjiogenez↓, apoptozis↑ (prokanserijen?) (59,60)
Resveratrol		Üzüm, kırmızı şarap, yer fıstığı	LDL-Kox↓,platelet toplanma↓, trombozisi↓, ekosanoid sentezi↓, Aox, kanserojen detoksifikasyon, antimitojen, tümör oluşümü↓, estrogen/antiestrogen (5,68,80)
Fenolik asit	Klorojenik, Kafeik , Kumarik asit	Patates, zeytin yağı	Aox, LDL-Kox↓ (5,7,19)

Aox = antioksidan aktivitesi, HDL-K, LDL-K = yüksek ve düşük dansiteli lipoprotein kolesterol,

TG = trigliserid, TK = toplam kolesterol

2.3.3.3. Yaş ile İlişkili Fonksiyonel Bozukluğu olan Hastalıklar

Son zamanlarda alzheimer ve parkinson gibi yaş ile ilişkili fonksiyonel bozukluğu olan hastalıklar çok sık olarak rastlanmaktadır. 65 yaş üzeri kişiler arasında % 15 alzheimer ve % 1 parkinson vakaların görülmesi mümkündür (83). Bu tür hastalıklar, beyin dokularının oksidatif strese maruz kalmasından dolayı meydana gelmektedir ve polifenol gibi antioksidanların varlığı beyin hücrelerini bu durumdan korumaktadır (50). Beyin dokularında az miktarda polifenoller bulunduğu ve kan-beyin bariyerinin düşük geçirgenliğinden dolayı sadece aglikon olarak bulunduğu rapor edilmektedir (83). Farelerde, içme suyuna sürekli olarak ferulik asitin eklenmesinin, alzheimer hastalığına neden olan plakların en önemli ögesi olan β -amyloid peptidi baskı altında tutarak, hayvanları bu hastalığa karşı koruduğu belirtilmiştir (51).

Diğer çalışmalarda, antosiyanin içeren meyve ekstraktı ile beslendiğinde farelerde nöronal sinyallerin iletilmesinde ve kognitif fonksiyonlarda bir iyileşme kaydedilmiştir. İntravenöz kateşin/epikateşin uygulaması sonucu farelerin, serebral iskemi dolayısıyla hafıza kaybında bir düzelme gözlenmiştir (52).

Bazı nörotoksik ilaçlar tarafından tetiklenen oksidatif stres karşısında, polifenollerin başarılı bir şekilde beyin hücrelerini koruduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca, in vitro çalışmalarda, kateşin ve epigallokateşinlerin protein kinaz C enzim aktivitesini engelleyerek ve NF-kB gibi transkripsiyon faktörleri ve apoptosisi kontrol altında tutarak nöronal hücrelerin çoğalmasını sağlamaktadır. Ancak polifenollerin alınan dozu çok önemlidir; örneğin 0.1-10 μ mol kateşin ve epigallokateşin, nöronal hücrelerini oksidatif hasara karşı korurken 50 μ mol gibi bir doz, pro-oksidant ve toksik olarak davranmaktadır (51,52,79).

2.3.3.4. Diyabet Hastalığı

İnsuline dayalı diyabetik farelerde intravenöz olarak kafeik ve ferulik asit verildiğinde, farelerin açlık kan glukoz seviyesinin düştüğü ve glukoz tolerans test sırasında plazma glukozun arttığı bildirilmiştir. Ancak normal farelerde bu etkilerin daha az belirgin olduğu gözlenmiştir. Benzer bulgular antosiyanin ve kateşin için de bildirilmiştir (53,54).

Fenolik bileşikler, hiperglisemiye farklı şekillerde kontrol altında tutmaktadır. Polifenollerin, periferik dokular tarafından glukoz alınımları sağladığı düşünülmektedir.

Farelerle farklı çalışmalarda, kafeik asitin adiposit ve miyoblast hücrelerde ve ferulik asitin kaslarda glukoz Emilimini artırdığı gözlenmiştir. Yeşil ve siyah çay ekstraktının tüketilmesi de benzer sonucu göstermiştir (53,55). Bunun dışında fenolik bileşikler glukoneogenezi bastırarak ve pankreatik β -hücreler tarafından fazla insulini salgılayarak kan glukoz seviyesini kontrol etmektedir (56).

Ancak, fenolik bileşikler ve hiperglisemi konusunda çelişkili bulgulara rastlanmaktadır. Bazı flavanonların, Glut 1 aktivitesini bastırarak glukoz Emilimini engellediği saptanmıştır. Tip II diyabet hastalarda yapılan bir çalışmada, 2 ay süre ile günlük 50 mg antosianin ve flavanon içeren polifenoller suplemantasyonun, kan glukoz üzerinde her hangi bir etkisi gözlenememiştir (57).

Bazı epidemiyolojik çalışmalar, kahve (klorojenik asitte zengin olan) tüketiminin, Tip II diyabet riskinin azalması ile bağdaştırılmıştır (53,56,58). Sağlıklı bireylerde yapılan bir çalışmada, 25 mg glukoz içeren 400 mg kafeinsiz kahve tüketildikten sonra klorojenik asitin, kan GIP (glukoza dayalı insulintropik polipeptid) seviyesini düşürdüğü ve GLP-1 (glukagon benzeri peptid -1) seviyesini artırdığı gözlenmiştir. Böylelikle klorojenik asitin, bağırsaktan glukoz Emilimini azaltarak hiperglisemiyi kontrol ettiği kanaatine varılmıştır (58).

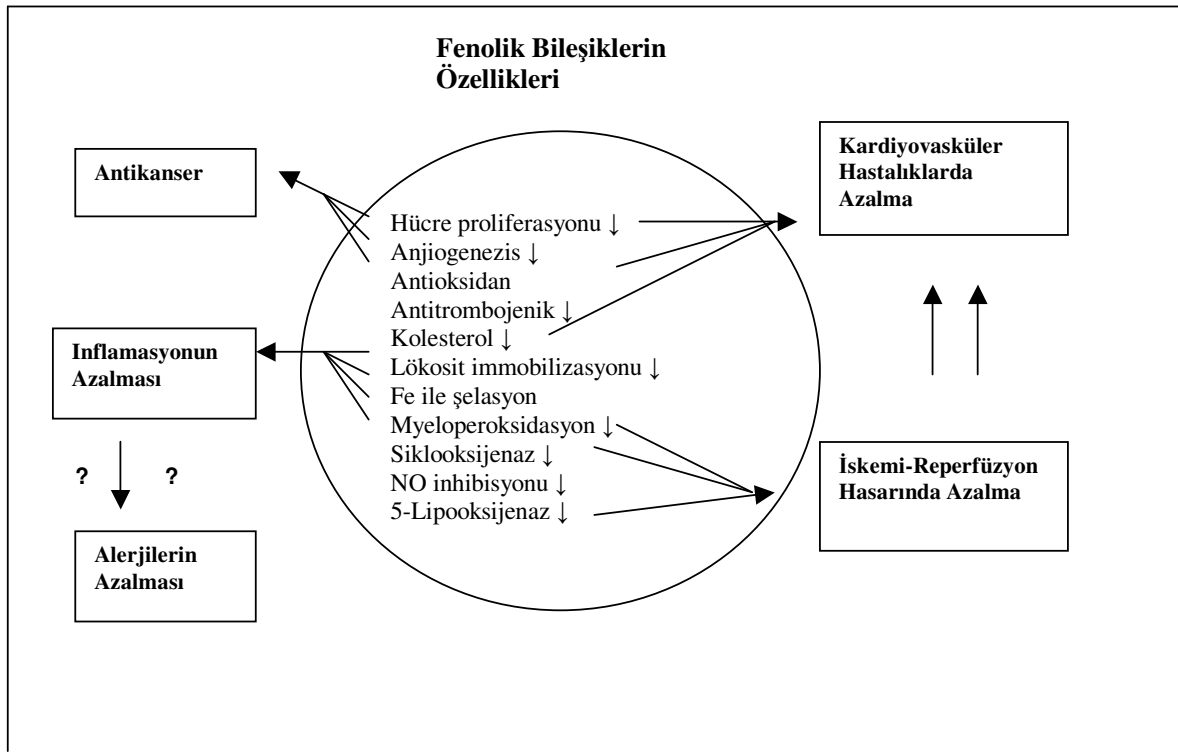
2.3.3.5. Osteoporoz

Post menopoz dönemlerinde kadınlarda sıklıkla rastlanan osteoporozun en önemli sebeplerinden birisi, östrojen eksikliğidir. Tedavi olarak hormon takviyesi tavsiye edilmektedir. İzoflavonların östrojene benzer aktiviteye sahip olduğu bilinmekte ve osteoporoz hastalarında alternatif tedavi olarak uygulanmaktadır. Overler alındıktan sonra farelere 5-6 hafta boyunca 10-50 mg/kg genistein, diadzein diyet takviyesi yapılmış ve sonuç olarak kemik mineral yoğunluğu ile trabeküler hacminin arttığı gözlenmiştir. Günlük olarak deri altına yapılan genistein iğnelerin, farelerde osteoblast sayılarını artırdığı belirtilmiştir (59).

Japonya'da post menopozal kadınlar üzerinde yapılan bir çalışmada, soya proteinin tüketilmesinin kemik mineral yoğunluğunu ve osteoblastik aktivitesini olumlu şekilde etkilediği gözlenirken (7), benzer başka çalışmalarda böyle bir ilişkiye rastlanamamıştı. Olumlu bir sonuç alabilmek için araştırmacılar tarafından günlük 80 mg izoflavon içeren soya proteinin tüketilmesi tavsiye edilmiştir (60).

Çayda bulunan kateşinin kemik mineral yoğunluğu üzerinde olumlu bir etkisi bulunmasına karşın kafeik asitin kemik mineral yoğunluğu üzerinde olumsuz etkisinin olduğu belirtilmiştir. Dolayısıyla çay ve kahve tüketiminin osteoporoz üzerindeki etkisi hakkında şu anda yeterli bilgi bulunmamaktadır (76).

Şekil 2.4. Fenolik Bileşiklerin Hastalıklar Üzerine Olumlu Etkisi (75)



2.3.4. Fenolik Bileşiklerin Riskleri

Fenolik bileşiklerin hastalıklara karşı olumlu etkilerinin yanısıra, fazla miktarda tüketimlerinin ise çeşitli zararları olduğu ve sağlık üzerinde bazı riskler taşıdığı belirtilmiştir. Hayvansal çalışmalarda tanin içeren besinin diyetle yüksek oranda bulunması, akut toksisiteye neden olurken insanlarda böyle bir duruma rastlanamamıştır (7).

Fenolik bileşiklerin riskleri arasında, flavonoidlerin tiroid peroksidaz aktivitesini düşürerek tiroid hormon fonksiyonlarını etkilediği ve guatr oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir (7).

Ayrıca polifenoller, Fe (III) iyonu ile şelat oluşturduğundan, bağırsaktaki non-heme Fe emilimini etkilemekte ve bireylerde anemi oluşturmaktadır. Bu nedenle çay, kahve, şarap gibi yüksek polifenol içeren sıvıların, besin ile tüketilmemesi tavsiye edilmektedir (7).

Polifenollerin pro-oksidant etkisi olduğu bilinmektedir. Fe (III) varlığında, polifenolde bulunan kateşol grubu oksidasyona uğramakta ve kuinona dönüşmektedir. Aynı zamanda redoks döngüsüne girerek serbest radikalleri üretmektedir. Anti-kanserojen olarak bilinen kersetinin, bazı in-vitro çalışmalarda bir pro-oksidant ve mutajenik aktiviteye sahip olduğu da gösterilmiştir. Farelerde kersetinin kolon ve pankreatik kanseri tetiklediği rapor edilmiştir (84).

Bunun yanı sıra soya proteinin fazla tüketilmesinin kadınlarda plazma östradiol seviyesini yükselttiği bildirilmiştir. İzoflavonların yüksek östrojenik aktiviteye sahip olmalarından dolayı pre-menopozal kadınlarda meme kanser riski taşıdığı belirtilmiştir (85).

Fazla polifenollerin tüketimi, homosistinemi artışına neden olmakta ve kardiyovasküler risk taşımaktadır (153).

2.3.5. Fenolik Bileşiklerin Besin Kaynakları

Sebze, meyve, çay ve kırmızı şarap, polifenoller için önemli kaynaklar olarak kabul edilmektedir. Kersetin gibi bazı polifenoller yaygın olarak bir çoğu besinlerde (meyve, sebze, baklagiller, tahıllar, meyve suyu, şarap, çay vb) bulunurken, diğer polifenoller belirli kaynaklardan (turunçgillerden flavanonlar, soya ürünlerden izoflavonlar) elde edilmektedir (62-65,73,86,167,170).

Çoğu besinlerde çeşitli polifenollerin karışımı bulunmaktadır (19,47). Örneğin, elmada (epikateşin) flavanol monomerler ve oligomerler (prosiyanidin B2), klorojenik asit, hidroksi-sinnamik asit, floretin ve kersetin glikositler, antosiyanin gibi bir çok polifenoller bulunmaktadır (19). Aynı şekilde soğanda flavanon glikosidler, fenolik asitler ve flavonoller mevcuttur. Çilekte antosiyanin ve

ellagitannin bulunurken, kuru üzümde antosianin ve flavonoller tespit edilmiştir (87-89).

Farklı besinlerde bulunan fenolik bileşiklerin miktarları 1 mg/kg ve 3000 mg/kg arasında değişmektedir (90).

2.3.6. Diyetle Fenolik Bileşiklerin Alımı

Fenolik bileşikler bitkilerde yaygın olarak bulunduğundan yeterli miktarda sebze meyve tüketen bireylerin polifenol tüketimi 1 g/gün olarak tahmin edilmektedir (19). ABD’de yapılan bir çalışmada fenolik bileşik tüketiminin % 16’sının flavonollerden, % 17’sinin antosiyaninden, % 20’sinin kateşin ve % 45’inin ‘biflavonlerden’ kaynaklandığı belirtilmiştir. Sebze ve meyvede bulunan en yaygın flavonoid grubun ise tahminen alınımi, 100 mg/gün olarak bildirilmiştir (90).

Ancak alınan fenolik bileşiklerin besin kaynakları, ülkeler ve besin alışkanlıkları bazında farklılık göstermektedir (19,154). Örneğin Japonya’da soya ürünleri çok yaygın olarak tüketildiğinden dolayı, günde 6-70 mg isoflavonu alınmasına neden olurken (169), İspanya’da elma, armut, üzüm ve kırmızı şaraptan kaynaklanan ve tüketilen kateşin ve antosiyanin miktarları 18 – 31 mg/gün arasında değişmektedir (19) . Fazla kahve içen toplumlarda hidroksi-sinamik asitin günlük tüketimi 500-800 mg’a kadar çıkmaktadır. Hollanda’da fazla çay tüketildiğinden, diyetlerinde flavan-3-ol önemli miktarda tespit edilmiştir (19).

Diyetle alınan diğer antioksidan (C vitamini 80 mg/gün, E vitamini 8.5 mg/gün, β -karotene 1.9 mg/gün) miktarlarına kıyasla, flavonoid alınıminin oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir (90)

Tablo 2.6.’da fenolik bileşiklerin ana besin kaynakları özetlenmiştir.

Tablo 2.6. Fenolik Bileşikler ve Besin Kaynakları (47)

Fenolik Bileşikler Sınıfları	Fitokimyasallar	Besin Kaynakları
Fenolik Asitler		
Hidrosinamik	Kafeik Klorojenik Ferulik Kumarik Sinapik	Kiwi, kiraz, elma, armut, patates, patlıcan, hindba, enginar, elma suyu/şarap buğday, pirinç, yulaf unu kahve
Hidrobenzoik	Ellagik Gallik	Boğurtlen, ahududu üzüm, çilek
Flavonoidler (Antosantinler)		
Flavonol	Kersetin Kamferol Myrisetin	Soğan, kale, pırasa, elma, fasulye, brokoli siyah, yeşil çay
Flavanon	Narinjenin Hesperetin	Turunçgiller portakal, üzüm suyu
Flavon	Apigenin Luteolin	Maydonoz, kereviz zeytin, kırmızı biber
Flavanol	Kateşin Epikateşin	Armut, elma, çay kırmızı, beyaz şaraplar
Izoflavon	Genistein Diadzein	Soya unu, soya fasulyesi soya sütü, tofu, tempeh
Flavonoidler (Antosiyaninler)		
	Siyanidin Malvidin Petunidin Peonidin Delfinidin	Patlıcan, kırmızı lahana, boğurtlen
Tanin (Yoğunlaştırılmış)	Kateşin Epikateşin polimerler	Kuru baklagiller, kırmızı ve beyaz şarap elma suyu

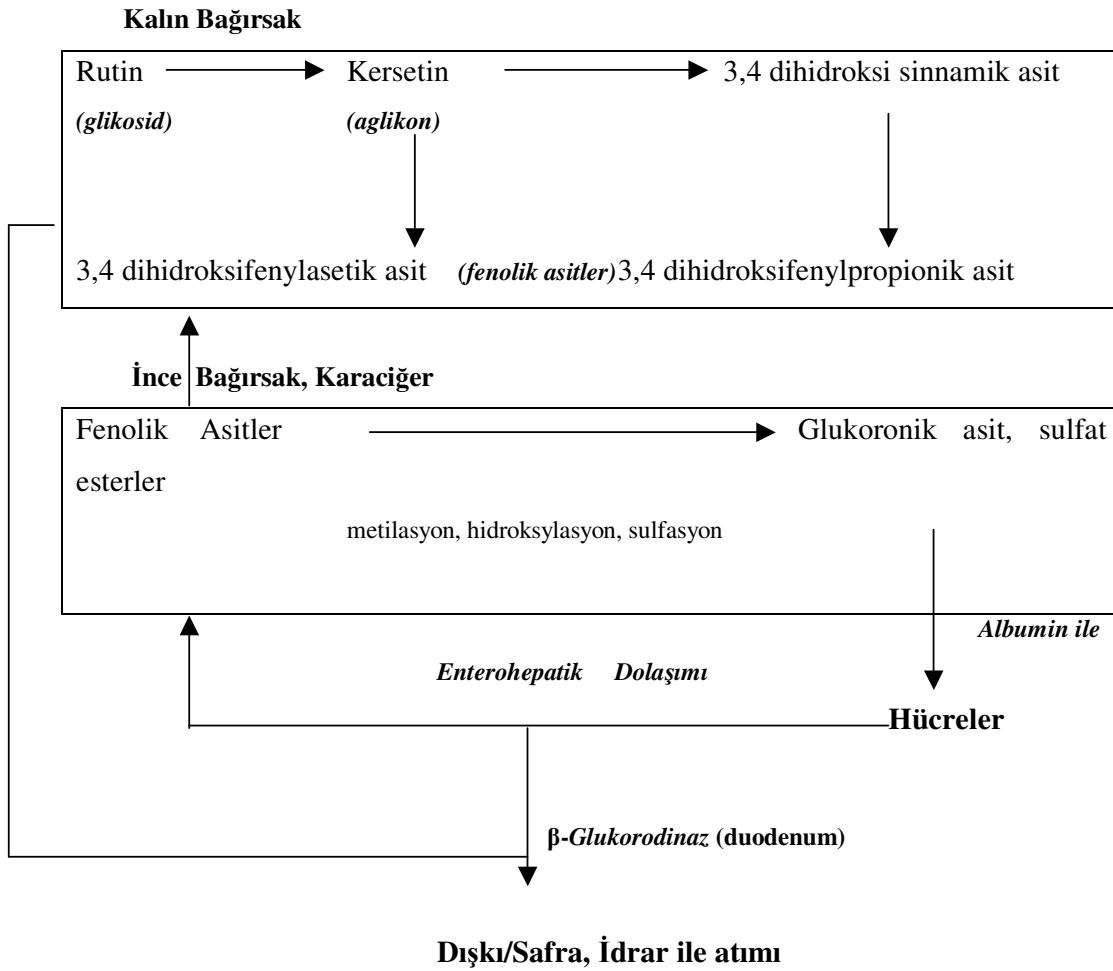
2.3.7. Fenolik Bileşiklerin Emilimi ve Biyoyararlığı

Fenolik bileşiklerin biyoyararlığı onun emilimi, dokulara dağıtımı, bağırsak ve karaciğerdeki metabolizmaya ve vücuttan atımına bağlıdır. Yetişkin bireylerin kalın bağırsaklarında 400'den fazla çeşit ve 10^{13} sayıda mikro-organizma bulunmaktadır. Bu organizmaların % 99'u anaerobik olmak üzere sindirim sistemimizi olumlu şekilde etkilemektedir. İnce bağırsakta emilemeyen besin öğeleri, kalın bağırsakta bu mikro-organizmaların sayesinde fermantasyona uğrayarak parçalanmakta ve asetat, propiyanat, butirat gibi kısa zincir yağ asitleri ve H_2 , CO_2 , CH_4 gibi gazları üretmektedir (91). Bunun dışında, bağışıklık sistem modülasyonu, safra asitlerin değişimi, bazı vitaminler ve lignan gibi yararlı öğelerin oluşumundan da sorumludur. Ancak, bu mikroorganizmaların toksik, mutajenik ve kanserojen yanları olduğu da belirtilmiştir (92,93).

Besinlerde fenolik bileşikler glikosidler, esterler veya glikosid polimer olarak bulunmaktadır. Hidrofilik olan glikosidler ince bağırsakta emilemezler, kalın bağırsakta bulunan mikroorganizmaların yardımıyla farklı öğelere parçalanır, kısmen emilir ve enterohepatik dolaşıma girerler (90). Kalın bağırsakta, fenolik bileşikleri parçalamaktan sorumlu iki bakteri *Eurobakterium ramulus* ve *Enterococcus casseliflavus* tespit edilmiştir. Çalışmalarda, polifenollerden en yaygın olan flavonoidlerin mikrobiyel hidrolizi incelenmiştir (Şekil 2.5).

Polifenollerin tüketimden sonra plazma konsantrasyonları, idrar ve safra ile atımı, polifenollerin doğasına ve besin kaynaklarına göre büyük ölçüde değişkenlik göstermektedir (94,157). Toplam polifenol metabolitlerinin, 50 mg aglikon eşdeğeri olarak alındığında, plazma konsantrasyonlarının 0-4 $\mu\text{mol/L}$ arasında değiştiği belirtilmektedir. Kalın bağırsakta flora mikroorganizmalar, glikosidi aglikona ve daha sonra fenolik aromatik asitlere çevirmektedir. Fenolik asitler (örneğin elma suyunda bulunan ferulik asit) tek olarak kolayca emilir. Ancak tahıllarla alındığı zaman, emilmelerinin zorlaştığı gösterilmiştir. Flavonoid glukosidleri, ince bağırsakta sodyuma bağlı glukoz taşıyıcı (SGLT1) aracılığıyla direkt olarak emilmektedir. Elma, soğan veya polifenol içeriği yüksek olan bir öğünle, 80-100 mg kuersetin eşdeğeri alındığında, plazmadaki fenolikler 0.3-0.75 $\mu\text{mol/L}$ düzeylerinde bulunabilmektedir (93,94).

Şekil 2.5. Bağırsakta ve Karaciğerde Fenolik Bileşiklerin Mikrobiyal Hidrolizi (90,91)



Şekil 2.5’de örnek olarak Rutin (Flavonoid glikosid) molekülün parçalanması gösterilmiştir.

Soğanın (kersetin glukosid) elmaya (kersetin glikosid + glukosid + rutinosid) göre daha hızlı emildiği belirtilmiştir. Diğer taraftan mayalanmış soya ürünlerinde bulunan isoflavon glikonun soya fasulyede bulunan isoflavon glukoside göre daha verimli olarak emildiği bildirilmiştir (92,93). Gallik asit ve isoflavonlar, kateşinlere, flavanonlara ve kersetin glikositlerine kıyasla en iyi emilebilen polifenollerdir . Yaklaşık 50 mg isoflavon içeren az miktarda soya ürünlerinden tüketen bir kişinin plazmasında, 6-8 saat içinde 1.4-4 µmol/L isoflavon bulunmaktadır (19).

Yeşil çaydan alınan 90-150 mg kateşin ve epikateşinin sindirimlerinden sonra yüksek düzeyde emilebildikleri ve plazma düzeylerinin 0.1-0.7 $\mu\text{mol/L}$ olduğu saptanmıştır. Benzer düzeyde yüksek emilebilirlik, kakao (70-165 mg alındığında 0.25-0.7 $\mu\text{mol/L}$) veya kırmızı şarap (35 mg alındığında 0.09 $\mu\text{mol/L}$) alındığında da gözlenmiştir. Portakal suyundan sağlanan 130-220 mg hesperidin metabolitlerinin plazmada maksimum konsantrasyonları, 5-7 saat sonra 1.3-2.2 $\mu\text{mol/L}$ olarak tespit edilmiştir. Greyfurt suyundaki naringenin daha iyi emilebildiği ve 200 mg naringenin tüketimi ile plazmadaki pik konsantrasyonunun 6 $\mu\text{mol/L}$ 'ye ulaştığı bildirilmiştir (19).

Diğer flavonoidlerden farklı olarak bir tek antosiyaninlerin aglikon biçimi instabil olduğu bilinmekte olup, vücutta glikosid olarak dolaşmaktadır. Besinlerde proantosiyanidin yaygın olarak bulunmasına rağmen, bir polimer ve yüksek molekül ağırlığına sahip olmasından dolayı, çok az miktarda emildiği bildirilmektedir. Antosiyaninlerin plazma konsantrasyonları oldukça düşüktür: 110-200 mg antosiyanin tüketimini takiben, 30 dakika - 2 saat içinde maksimum plazma konsantrasyonları nmol/litre düzeyindedir (90).

Absorpsiyon sırasında ince bağırsak ve karaciğerde metilasyon, hidrosilasyon, sulfasyon gibi reaksiyonlara uğrayarak fenolik asitler konjugatlar oluşturmaktadır ve albumin ile hedef dokulara taşınmaktadır. Enterohepatik dolaşım sırasında duodenum'da β -Glukorodinaz reaksiyon sonucu karaciğer ve bağırsakta tekrar emilmektedir veya idrar, safra yoluyla vücuttan atılmaktadır (90,91).

2.3.8. Besinin Fenolik İçeriği Etkileyen Etmenler

Bitkilerdeki fenolik bileşik içerikleri çevresel etmenlere bağlıdır. Aynı besinde bile kendi arasında farklılık göstermektedir (13). Örneğin, elmada (epikateşin) flavanol monomerler ve oligomerler (prosiyanidin B2), klorojenik asit, hidroksisinnamik asit, floretin ve kersetin glikositler, antosiyanin gibi bir çok polifenoller bulunmaktadır. Elmaların çeşitlerine göre polifenol profili aynı kalsa bile toplam polifenol içeriği 0.1 - 10 g / kg taze ağırlık arası değişmektedir (13,19).

Sebze ve meyvelerde polifenol içeriği etkileyen en önemli çevresel etmen ise hasat edilen sebze veya meyvenin türü/çeşitidir. Beşyüzden fazla çeşit kırmızı şarabın p-kumarik asit içeriği tayin edilirken genetik faktörlerin en önemli unsur olduğu saptanmıştır (33).

Bunun dışında diğer çevresel koşullar, hasat zamanında sebze ve meyvenin olgunluğu, hasat sonrası süreçler, saklama ve depolama koşulları, sebze ve meyvelerin fenolik madde içeriğini etkilemektedir. (94-97). Sebze ve meyvelerin olgunlaşma sırasında fenolik asitlerin azaldığı ve antosiyanin içeriğinin arttığı, güneş ışığının sebze ve meyvelerin flavonoid içeriği üzerinde olumlu bir etkisi olduğu, üretim sırasında stres, hasar, patojen ve mikrobik enfeksiyona maruz kalmanın bazı fenolik bileşiklerin savunma mekanizma olarak arttığı bildirilmiştir (19,20,155,171).

Depolama koşullarının (depolama derecesi, süresi), kolay okside olan fenolik asit, kersetin, prosiyanidin, antosiyanin gibi bileşikler diğerlerine göre daha fazla etkilediği ileri sürülmüştür (103,171). Buğday ununun altı ay saklanması, fenolik içeriğinin % 70 düşmesine neden olmuştur. 25°C'de 9 ay depolanması, elmalarda % 60 kersetin ve prosiyanidinin tamamen kayıp olmasına neden olmuştur (19). Bu bulguların aksine, üç ayrı çalışmada 0-10°C arasında 10 gün gibi kısa süreli depolama sırasında marul, havuç ve pırasada fenolik maddenin (% 20-25) ve antioksidan aktivitenin (% 20-45) yükseldiği gözlenmiştir. Böyle bir davranış, fenolik bileşiklerin strese karşı tepki olarak algılanmakla birlikte depolama süresi uzadıkça savunma tepkisinin kayıp olduğu gözlenmiştir (95,96,98). Bir başka çalışmada, 20°C'da kısa süreli depolama sırasında domatesin C vitamini içeriğinin düşmesine rağmen, toplam antioksidan aktivitesinde azalış olmamış, pişirme ve depolama sırasında antioksidatif özelliği olan bazı MRP (maillard tepkime ürünleri) ürünlerini oluşturabildiği ileri sürülmüştür (31).

Besin hazırlama, pişirme işlemleri sonucu besinlerin fenolik içeriğinde ve antioksidan özelliklerinde farklı değişimlere rastlanmıştır (99-113,158-61). Karotenoid gibi bazı antioksidanlar ısıya karşı dayanıklılık gösterirken (28,42) fenolik maddeler, tokoferol, C vitamini gibi doğal antioksidanlar ısı, ışık ve oksidasyona karşı hassaslık sergilemektedir (25-29,114-116,164-166).

Piştirilmeden önce besin hazırlama işlemi, sebzelerin toplam fenolik bileşik içeriğini ve antioksidan aktivitelerini etkilemektedir. Fenolik asitler ve antosiyanin gibi bazı fenolik bileşiklerin, sebzelerin dış ve kabuk kısmında bulunmasından dolayı, sebzelerin kabuk soyma ve doğrama şekli onların fenolik madde içeriğini etkilemektedir (101). Ewald ve arkadaşları (27), kabuk soyma ve doğrama sırasında soğanda % 39 kersetin kaybını tespit etmişlerdir. Patlıcan ve patatesin kabuk kısmında fenolik maddenin daha yoğun şekilde bulunduğu öne sürülmüştür. Tamamen kabuk soymanın, ikisinde de fenolik maddelerin oldukça azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (117,119).

Besinin fenolik bileşik içeriğini etkileyen bir başka önemli etmen ise pişirme süresidir. Pişirme süresi uzadıkça hem fenolik maddelerin, hem de antioksidan aktivitenin azaldığı tespit edilmiştir. Price ve arkadaşları (103), kızartma sırasında, ilk beş dakikada soğanda % 9 kersetinin arttığını, daha sonraki dakikalarda % 30 kayıp olduğunu gözlemiştir. Üç-altmış dakika haşlama sırasında soğanda % 20.6 - 75 arası değişen bir kersetin kaybı gözlenmiştir (27). Bu araştırmada ve yapılan diğer çalışmalarda söz edilen kayıp, pişirme sonucu kimyasal yıkıma uğramasından ve pişirme yönetimine (pişirme derecesi, pişirme süresi, sebze-haşlama suyu oranı, sebzelerin parça boyutları, pişirme kap seçimi, pişirme kabının açık veya kapalı olması vb.) bağlı olarak ve sebze çeşitlerine göre farklılık göstermiştir (105-109,111-113). Bu kayıp; pH, su aktivitesi (a_w), sebzelerde bulunan diğer maddeler gibi etmenlere de bağlı olduğu öne sürülmüştür (110).

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Zamanı, Yeri ve Örneklem

Bu araştırma, Ağustos 2005 ve Aralık 2006 tarihleri arasında yürütülmüştür. Çeşitli pişirme yöntemlerinin sebzelerin fenolik bileşik ve antioksidan aktivite değerleri üzerindeki etkisini saptamak amacıyla planlanan laboratuvar araştırması, üç aşamada yürütülecek şekilde düzenlenmiştir. Tüm analizler, Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Laboratuvarları'nda yürütülmüştür. Araştırma kapsamına kabak, patlıcan ve patates alınmıştır. Paralelliği sağlamak amacıyla araştırmanın her aşamasında aynı sebze örnekleri kullanılmıştır.

3.1.1. Laboratuvar araştırmasının planlanması

Laboratuvar araştırması, semt pazarından alınan taze sebzeler temel alınarak çalışma üç aşamada yürütülmüştür;

1. Çiğ olarak kabak, patlıcan ve patatesteki % kuru madde miktarları, toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteleri saptanmıştır.
2. Sebze örneklerine bol suda, az suda, buharda, mikrodalgada, düdüklü tencerede ve yağda kızartma dahil olmak üzere altı ayrı pişirme yöntemi uygulanmıştır (Ek 1).
3. Pişmiş sebze örneklerinin % kuru madde miktarları, toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteleri analiz edilip, pişirme sırasındaki değişimi incelenmiştir.

Araştırma kapsamına alınan tüm sebze örnekleri, değişkenliği ve birbiri arasındaki farkı yakalayabilmek için üç farklı zamanda alınmıştır.

3.1.2. Analiz için sebzelerin hazırlanması

Yapılan bir araştırmada, farklı yerlerden (manav, süpermarket, pazar) alınan sebzeler içinde besin ögesi değeri kaybının (en iyi göstergelerinden biri olan C vitamini değerinin) en fazla pazardan alınanlarda olduğu saptanmıştır (164). Bu nedenle, çalışmada analizi yapılacak olan sebzeler 1'er kg olarak semt pazarından temin edilmiştir. Araştırmada patlıcan, patates ve yeşil kabak kullanılmıştır. Sebzeler yıkanıp ayıklanmış, uç kısımlar kesilmiş, kabukları soyulduktan sonra 5-8 g

(sertliğine göre) ağırlığında parçalar halinde doğranmış ve 100'er g olarak tartıldıktan sonra aşağıdaki pişirme yöntemleri uygulanmıştır. Her bir süreç, üç ayrı zaman diliminde üçer kez tekrarlanmıştır. Pişirilmiş örnekler bir daha tartılarak, pişirme esnasındaki kayıp dikkate alınmıştır. Tüm örnekler 30 saniye süresince blenderde (karıştırıcıda) homojen hale getirilmiştir. Analizler, homojen karışımdan uygun miktarlarda (0.5-1.5 g) tartılarak gerçekleştirilmiştir. Bu işlem her bir sebze için üç kere tekrarlanmıştır.

3.2. Yapılan Ölçümler

3.2.1. Kuru Madde Analizi

Araştırmada kullanılan sebzelerin çiğ ve pişirme sonrası kuru madde analizleri, belirli ağırlıktaki örneğin, kontrollü şartlarda kurutulması ilkesine dayanan ve AOAC 1984'de belirtilen yöntem (145) göre yapılmıştır (Ek 2).

3.2.2. Toplam Fenolik Madde (TFM) Analizi

Çalışılan çiğ ve pişmiş sebze örneklerin fenolik madde konsantrasyonları Folin-Ciocalteu çözeltisinde bulunan fosfotungustik ve fosfomolibdik asitlerin kompleks polimerik iyonları ile oksidasyonu sonucu oluşan mavi renkli molibden-tungsten kompleksinin konsantrasyonunun 765 nm dalga boyunda ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır (147). Bunun için UV-VIS spektrofotometre (ATI UNICAM 8700 model) kullanılmıştır (Ek 2).

3.2.3. Antioksidan Aktivitenin (AA) Saptanması

Çalışılan besinlerin antioksidan aktivite analizi ABTS⁺ [2,2'-azinobis (3-etil benzo-6-tiazolin-6-sulfonik asit)] radikal katyonu ile oluşturulan oksidasyon üzerine sulu fazdaki antioksidan bileşiklerin inhibisyon etkilerinin sentetik antioksidan Troloks ile karşılaştırılarak ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (149). Ölçümler ATI UNICAM Model 8700 UV-Vis spektrofotometre ile 734 nm dalga boyunda yapılmıştır (Ek 2).

3.3. Toplam Antioksidan Aktivitenin (TAA) ve Antioksidan Skorun (AS)

Hesaplanması

Çalışılan her besin için, 1-4 mM arasında değişen 3 farklı konsantrasyonda fenolik madde içeren ekstraktları için ölçülen antioksidan aktivite (AA) değerlerinin her biri, 2.5 mM Trolox'un antioksidan aktivitesine oranlanarak, besinin toplam fenolik madde konsantrasyonuna karşılık gelen antioksidan aktivitesi hesaplanmıştır. Ortalama değer; toplam antioksidan aktivite (TAA) olarak verilmiştir. Örneklerin antioksidan skor'ları (AS) Ek 2'de belirtilen eşitlik ile hesaplanmıştır (143).

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Ölçülen değişkenler için tanımlayıcı istatistik olarak aritmetik ortalama ve standart sapma ile değişim katsayısı kullanılmıştır. Sebze örneklerine uygulanan pişirme yöntemlerine göre ortalama toplam fenolik madde kayıp oranları arasında farklılık olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiş ve önemli bulunan farkların kaynağını tespit etmek için Tukey HSD testi uygulanmıştır (152). Uygulamalarda SPSS 10.0 istatistik paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR

4.1. Çiğ ve Pişirilmiş Sebzelerin Kuru Madde Değerleri

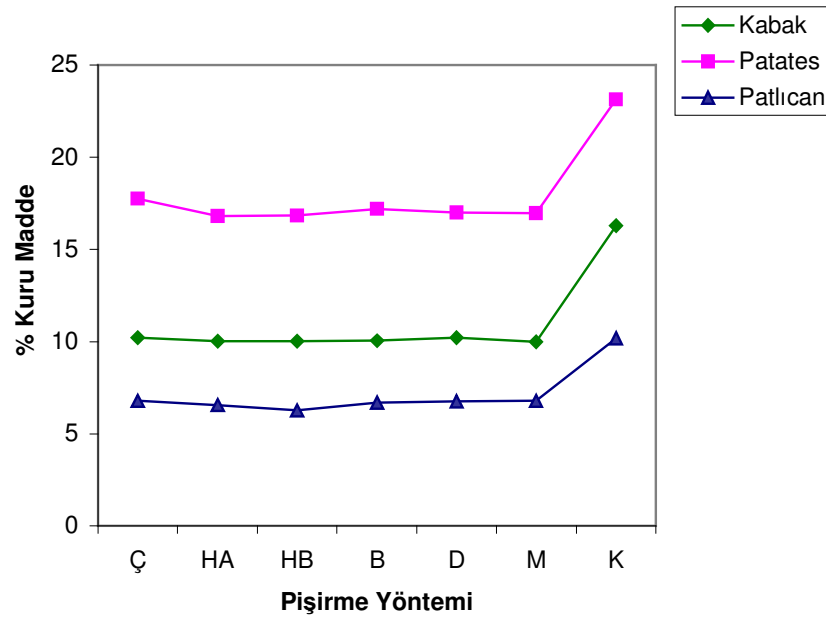
Araştırma kapsamına kabak, patlıcan ve patates olmak üzere üç çeşit sebze alınmıştır ve bol suda, az suda haşlama, buharda, düdüklü tencerede, mikrodalgada ve yağda kızartma dahil olmak üzere, altı pişirme yöntemi uygulanmıştır. Bu sebzelerin, başlangıçta çiğ olarak ve pişirme süreçlerinde uygulanan işlemler sonucu saptanan kuru madde değerleri, Tablo 4.1’de ve Şekil 4.1’de gösterilmiştir.

Kabak, patlıcan ve patatesin başlangıç kuru madde ortalama değerleri % 10.23 ± 0.01 , % 6.78 ± 0.03 ve % 17.74 ± 0.02 , ve olarak saptanmıştır. Yalnız kızartma sırasında, her bir sebzenin kuru madde değerinin önemli bir biçimde arttığı saptanmıştır. Diğer yöntemler, kuru madde değerlerini fazla etkilememiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Çiğ ve Pişirilmiş Sebzelerin Ortalama % Kuru Madde Değerleri ($\bar{X} \pm S$)

	Kuru Madde Değerleri		
	Kabak (%)	Patlıcan (%)	Patates (%)
Çiğ	10.23 ± 0.01	6.78 ± 0.03	17.74 ± 0.02
Haşlama bol su	10.01 ± 0.02	6.55 ± 0.03	16.82 ± 0.02
Haşlama az su	10.02 ± 0.01	6.26 ± 0.02	16.85 ± 0.01
Buharlı	10.05 ± 0.01	6.70 ± 0.02	17.20 ± 0.02
Düdüklü	10.20 ± 0.01	6.76 ± 0.01	17.02 ± 0.02
Mikrodalga	10.00 ± 0.01	6.78 ± 0.02	16.96 ± 0.02
Kızartma	16.28 ± 0.02	10.18 ± 0.01	23.15 ± 0.01

Şekil 4.1. Sebze Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre % Kuru Madde Değerleri



Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Dödüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

4.2. Çiğ ve Pişirilmiş Sebzelerin Toplam Fenolik Madde Değerleri

Araştırma kapsamına alınan kabak, patlıcan ve patates sebzelerine piştirme süreçlerinde uygulanan işlemler sonucu içerdikleri toplam polifenol değerleri (TFM), kayıp oranları, kayıp oranları ortalamalarının standart sapması ve kayıp oranları ile ilintili minumum ve maksimum değerler Tablo 4.2 ile Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 de gösterilmiştir.

Bu araştırmada kabağın başlangıç toplam fenolik madde değeri ortalama 173.09 ± 10.15 mg GAE/100 g KMA (kuru madde ağırlık) olarak saptanmıştır. Kabağın özellikle kızartılması toplam fenolik madde içeriğinin 65.47 ± 5.31 mg GAE/100 g KMA' a düşmesine neden olmuş ve toplam fenolik madde kaybı % 62.2' ye ulaşmıştır. Diğer piştirme işlemlerinde saptanan kayıplar ise bol suda haşlama (105.03 ± 9.25 mg)' da % 39.22, az suda haşlama (136.37 ± 9.73 mg) ' da % 21.11, mikrodalga (136.92 ± 7.26 mg)' da % 20.98, dödüklü tencere (138.84 ± 10.97 mg)' de % 19.85, buharlı pişirici (145.50 ± 8.25 mg) ' de % 15.92 olarak bulunmuştur (Tablo 4.2).

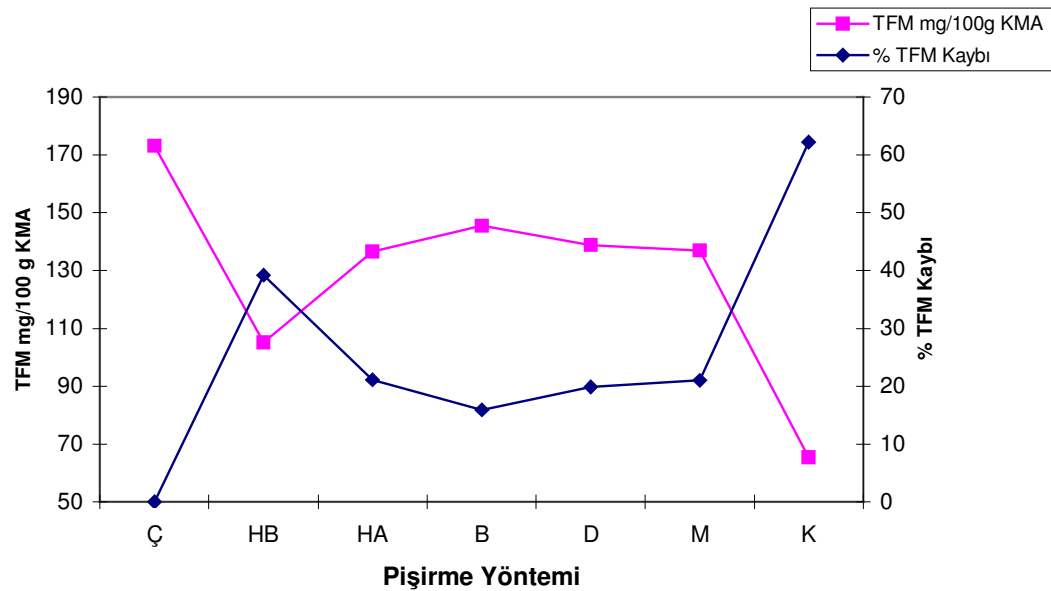
Tablo 4.2. Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama

Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$)
ile Minimum ve Maksimum Değerler

	TFM (mg GAE/100g KMA)	Kayıp Oranı %	Minumum Değer	Maksimum Değer
Çiğ	173.09±10.15	-	-	-
Haşlama _{bol su}	105.03±9.25	39.22±1.77	36.24	40.91
Haşlama _{az su}	136.30±9.73	21.11±2.72	17.88	25.59
Buharlı	145.50±8.25	15.92±2.22	12.56	19.14
Düdüklü	138.84±10.97	19.85±2.55	16.28	23.96
Mikrodalga	136.90±7.26	20.98±1.78	17.22	23.35
Kızartma	65.47±5.31	62.22±1.34	60.10	63.65

Şekil 4.2. Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama

Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları



Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

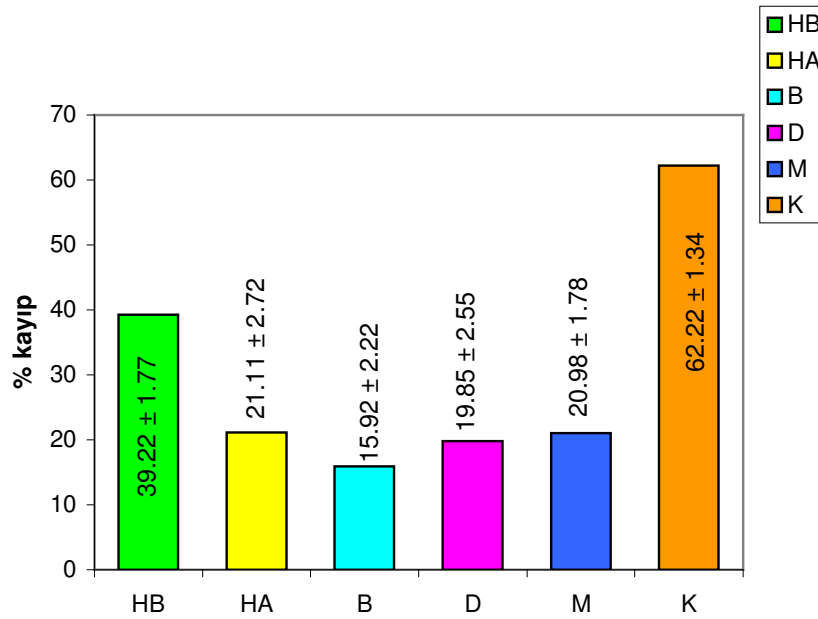
Kabak örneklerine uygulanan pişirme yöntemlerine göre ortalama toplam fenolik madde kayıp oranları arasında farklılık olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiş ve buna göre her bir uygulama arası fark önemli ($F=635.53$; $p<0.0001$) bulunmuştur (Tablo 4.3). Önemli bulunan farkların kaynağını tespit etmek için Tukey HSD testi uygulanmıştır. Bu sonuçlara göre düdüklü tencere ($\% 19.85\pm2.55$), mikrodalga ($\% 15.92\pm2.22$) ve az suda haşlama ($\% 21.11\pm2.72$) sırasındaki kayıplar arasında fark bulunamamıştır. Diğer yöntemler arasındaki farklar ise önemli ($p<0.0001$) olarak saptanmıştır (Tablo 4.3, Şekil 4.3).

Tablo 4.3. Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın Önemine İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Gruplar Arası	14264.493	5	2852.899	635.518	0.000
Gruplar İçi	215.476	48	4.489		
Toplam	14479.969	53			

$F=635.518$; $p<0.0001$

Şekil 4.3. Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Kayıp Oranları



F = 635.518; p < 0.0001

Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

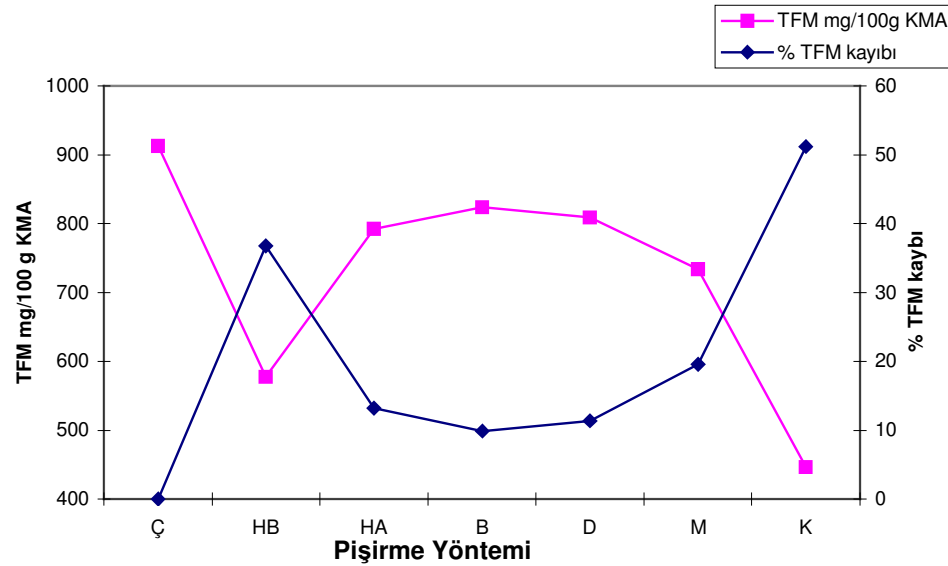
Tablo 4.4 de patlıcanın, uygulanan işlemlere göre ortalama toplam fenolik madde içerikleri ve kayıp oranları ortalamaları ve bu değerlere ilişkin minimum ve maksimum değerler gösterilmiştir. Verilerin incelenmesinden patlıcana uygulanan pişirme işlemleri sonucu toplam fenolik madde içeriğinin azaldığı ve doğal olarak kayıpların arttığı görülmektedir. Örneğin patlıcanın başlangıçtaki ortalama toplam fenolik madde içeriği 912.64 ± 29.67 mg GAE/100 g KMA iken, bu değer bol suda ve az suda haşlamada sırasıyla 597.04 ± 13.49 mg ve 792.26 ± 20.41 mg'e düşmüştür. Bu değerler için belirlenen kayıp oranları sırasıyla % 36.75 ± 1.13 ve % 13.18 ± 0.92 dir. Patlıcan için de en fazla kayıp kızartma sırasında (% 51.20 ± 1.20) saptanmıştır. Kızartma için belirlenen ortalama toplam fenolik madde değeri 445.94 ± 15.34 mg dir. Bu değeri sırasıyla mikrodalga (734.05 ± 25.70 mg) düdüklü tencere (809.13 ± 28.89 mg) ve buharlı pişirici (823.84 ± 28.63 mg) takip etmektedir. Bu

değerler çerçevesinde saptanan ortalama kayıp oranları sırasıyla % 19.57±1.08 11.36±1.01 ve 9.85±0.56 dır (Tablo 4.4, Şekil 4.4, 4.5).

Tablo 4.4. Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$) ile Minumum ve Maksimum Değerler

	TFM (mgGAE/100gKMA)	Kayıp Oranı %	Minumum Değer	Maksimum Değer
Çiğ	912.64±29.67	-	-	-
Haşlama bol su	597.04±13.49	36.75±1.13	35.46	38.95
Haşlama az su	792.26±20.41	13.18±0.92	12.13	14.84
Buharlı	823.84±28.63	9.85±0.56	9.01	11.07
Düdüklü	809.13±28.89	11.36±1.01	10.08	13.30
Mikrodalga	734.05±25.70	19.57±1.08	17.10	20.79
Kızartma	445.94±15.34	51.20±1.20	49.03	52.86

Şekil 4.4. Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları



Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

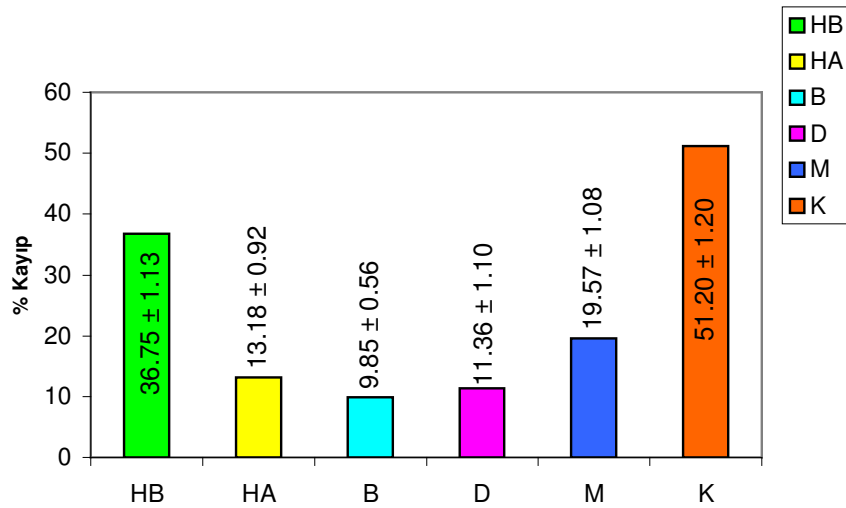
Uygulamalar sonucu ortalama toplam fenolik madde kayıp oranları arasında farklılık olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmış ve buna göre her bir uygulama arası fark önemli ($F=2493.45$; $p < 0.0001$) bulunmuştur (Tablo 4.5) Bu farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için yapılan Tukey HSD testi sonuçlarına göre ise tüm pişirme yöntemleri arasındaki farklar önemli ($p < 0.0001$) olarak saptanmıştır (Tablo 4.5, Şekil 4.5).

Tablo 4.5. Patlıcan Örneklerine Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın Önemine İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları

Toplam Fenolik Madde	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Gruplar Arası	12585.310	5	2517.062	2493.453	0.000
Gruplar İçi	48.454	48	1.009		
Toplam	12633.765	53			

$F=2493.453$; $p<0.0001$

Şekil 4.5. Patlıcan Örneklerine Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Kayıp Oranları



F = 2493.453; p < 0.0001

Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

Patates örneklerinin başlangıç toplam fenolik madde içeriği ortalama 349.76 ± 30.89 mg GAE/100 g KMA olarak bulunmuştur. Bol suda ve az suda haşlama işlemi ile bu değer sırasıyla 228.99 ± 18.97 mg ve 298.08 ± 28.24 mg' e düşmüştür. Bu durum, toplam fenolik madde içeriğinde başlangıca göre sırasıyla ortalama % 34.51 ± 0.75 ve % 14.80 ± 1.02 kayıp oluştuğunu göstermektedir. Patatese uygulanan çeşitli pişirme süreçleri sonunda en fazla kayıp oranına kızartma sırasında (% 49.10 ± 1.96) rastlanırken, bunu % 34.51 ± 0.75 kayıp ile bol suda haşlama izlemiştir. En iyi sonuçlar ise buharlı pişirici (% 9.50 ± 0.81) ve düdüklü tencere (% 10.49 ± 1.37) ile alınmıştır. Bu değerleri % 18.13 ± 0.74 lük kayıpla mikrodalgada pişirme izlemektedir (Tablo 4.6 ve Şekil 4.6).

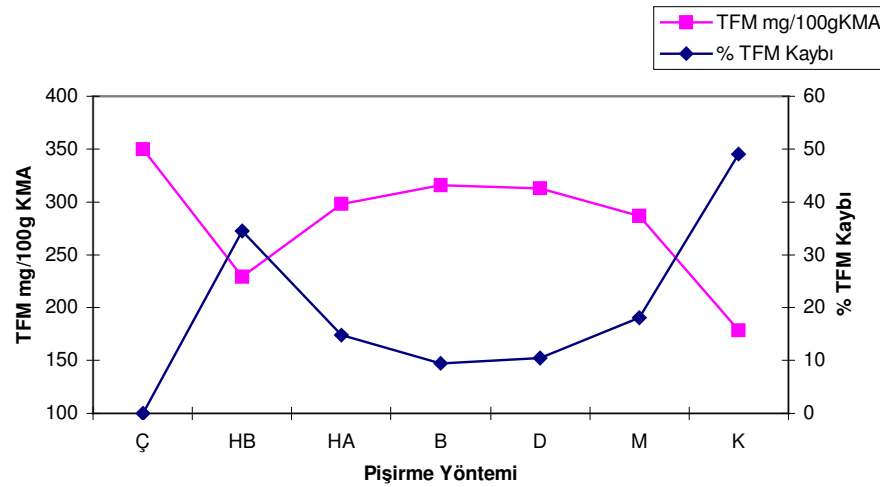
Tablo 4.6. Patetes Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama

Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$) ile
Minumum ve Maksimum Değerler

	TFM (mg GAE/100g KMA)	Kayıp Oranı %	Minumum Değer	Maksimum Değer
Çiğ	349.76±30.89	-	-	-
Haşlama bol su	228.99±18.97	34.51±0.75	33.65	35.60
Haşlama az su	298.08±28.24	14.80±1.02	13.04	16.63
Buharlı	316.03±25.90	9.50±0.81	8.42	10.69
Düdüklü	312.82±23.80	10.49±1.37	8.51	11.80
Mikrodalga	286.50±27.61	18.13±0.74	17.19	19.31
Kızartma	178.63±15.15	49.10±1.96	46.67	51.81

Şekil 4.6. Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama

Toplam Fenolik Madde Değerleri ve Kayıp Oranları



Ç: Çiğ HB: Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

Patateste, çeşitli pişirme yöntemleri sonucu saptanan ortalama toplam fenolik madde kayıp oranları arasında farklılık olup olmadığını saptamak için ANOVA analizi yapılmış ve buna göre her bir uygulama arası fark önemli ($F=1570.67$; $p < 0.0001$) bulunmuştur (Tablo 4.7) Hangi uygulamanın farklı olduğu ise Tukey-HSD testi kullanılarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre sadece buharda pişirme (9.50 ± 0.81)

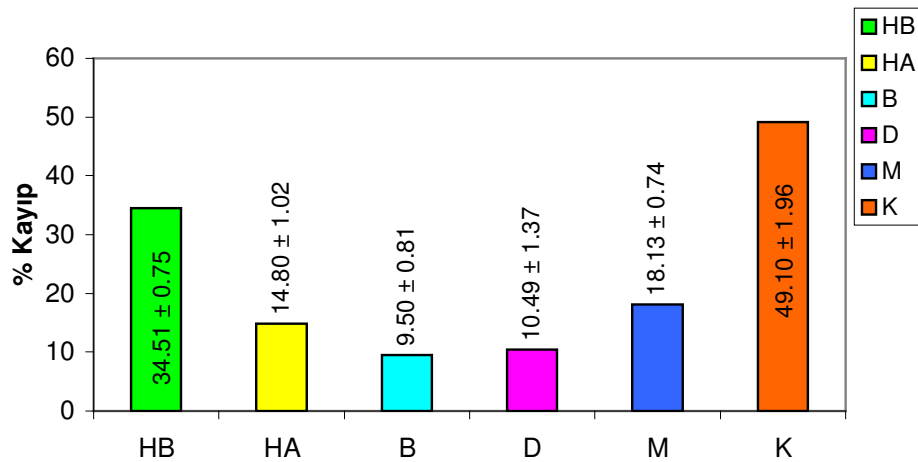
ile düdüklüde pişirme ($\% 10.49 \pm 1.37$) sırasında oluşan toplam fenolik madde kayıp oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur, diğer tüm pişirme yöntemleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.0001$) (Tablo 4.7, Şekil 4.7).

Tablo 4.7. Patates Örneklerine Uygulanan Çeşitli Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın Önemine İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları

Toplam Fenolik Madde	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Gruplar Arası	11183.024	5	2236.605	1570.672	0.000
Gruplar İçi	68.351	48	1.424		
Toplam	11251.375	53			

F=1570.672; $p < 0.0001$

Şekil 4.7. Patates Örneklerine Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Fenolik Madde Kayıp Oranları

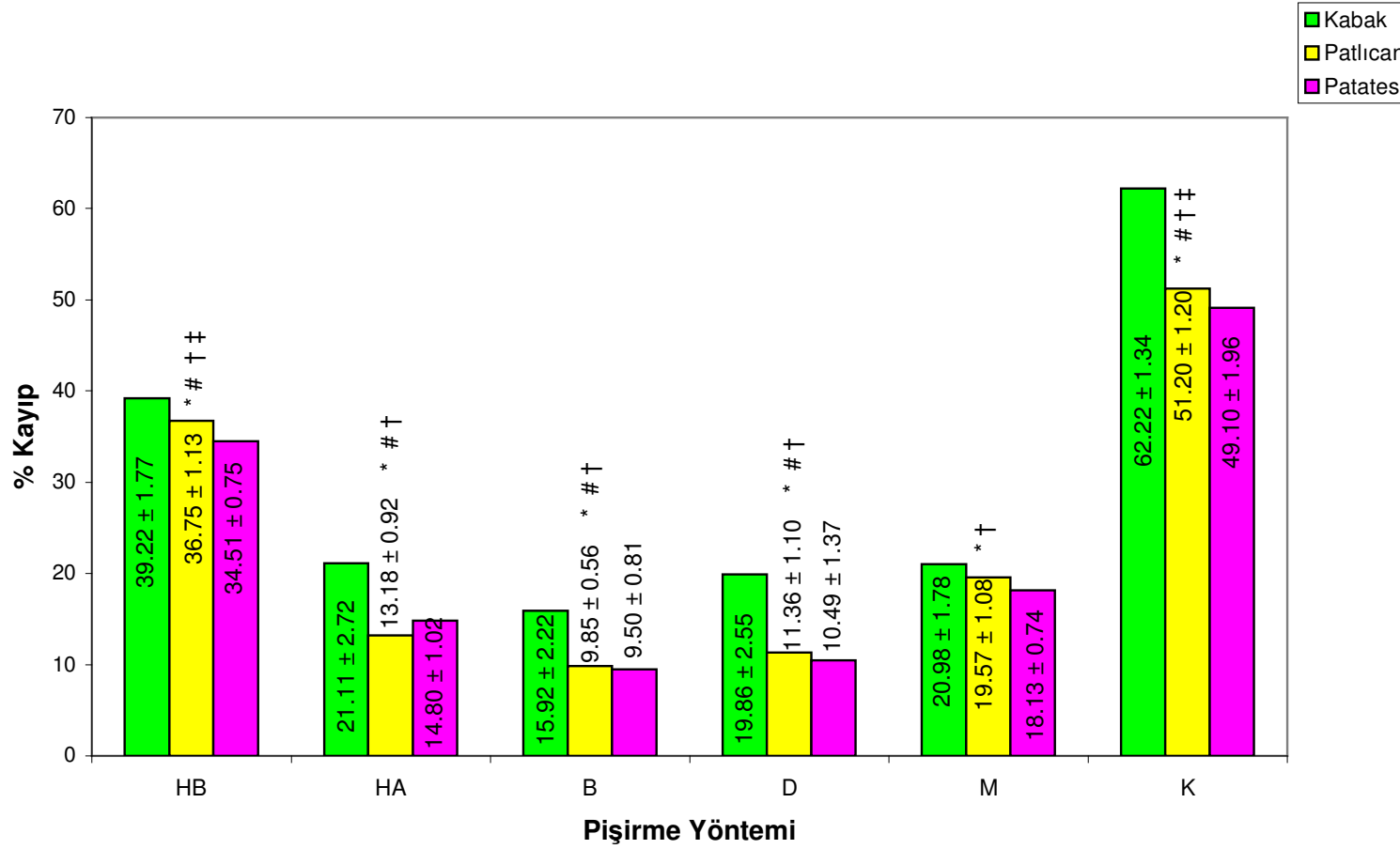


F = 1570.672; $p < 0.0001$

Ç: Çiğ HB: Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

Tüm sebzelere uygulanan çeşitli pişirme yöntemlerine göre saptanan ortalama toplam fenolik madde kayıp oranları arasında farklılık olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiş ve önemli bulunan farkların kaynağını tespit etmek için Tukey HSD testi uygulanmıştır (Tablo 4.3, 4.5, 4.7). Bu sonuçlara göre bol suda haşlama sonucu her bir sebze için saptanan kayıp oranları arasındaki fark önemli ($F=30.261$; $p<0.0001$) bulunmuştur. Az suda haşlama sonucu ise kabak ile patlıcan ve kabak ile patates arasındaki kayıp oranları arasındaki fark önemli ($F=50.963$; $p<0.0001$) olarak saptanmıştır. Buharda ($F=59.873$) ve düdüklü tencere de ($F=76.814$) pişirme yöntemi sonucunda da kabak ile patlıcan ve kabak ile patates arasındaki kayıp oranları arasındaki fark önemli ($p<0.0001$) bulunmuştur. Mikrodalgada pişirme sonucu patates ile kabak arasındaki fark önemli ($F=11.241$; $p<0.0001$) olarak saptanmıştır. Kızartma sonucu her bir sebze için saptanan kayıp oranları arasındaki fark önemli ($F=189.101$; $p<0.0001$) bulunmuştur (Şekil4.8).

Şekil 4.8. Pişirme Yöntemlerine Göre Sebzelerin Ortalama Toplam Fenolik Madde Kayıp Oranları



Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

* p<0.0001, # p<0.0001 (kabak-patlıcan), † p<0.0001 (kabak-patates), ‡ p<0.0001 (patates-patlıcan)

4.3. Çiğ ve Pişirilmiş Sebzelerin Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri

Çalışılan besinlerin pişirme öncesi ve sonrasındaki toplam antioksidan aktiviteleri (TAA), Miller ve arkadaşları (149-151) tarafından geliştirilen yöntemle göre değerlendirilmiştir.

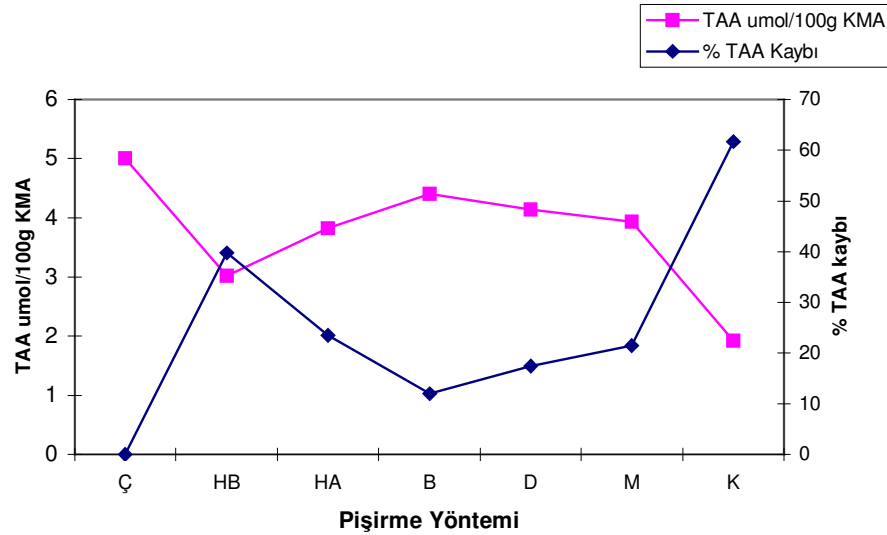
Tablo 4.8 ile Şekil 4.9 de kabağın başlangıçtaki toplam antioksidan değeri ile çeşitli pişirme süreçleri sonucu içermiş olduğu ortalama toplam antioksidan değerleri ve kayıp oranları gösterilmiştir. Kabak, başlangıçta ortalama 5.01 ± 0.61 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$ içeriğine sahipken, kızartma, bol suda ve az suda haşlama, mikrodalga, düdüklü tencere ve buharlı pişiricide pişirme sonucu, bu değerler sırasıyla 1.93 ± 0.37 , 3.03 ± 0.47 , 3.82 ± 0.46 , 3.93 ± 0.49 , 4.14 ± 0.57 ve 4.41 ± 0.60 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$ olarak saptanmıştır. Bu süreçler çerçevesinde, ortalama toplam antioksidan düzeylerinde sırasıyla % 61.73 ± 2.39 , % 39.75 ± 2.10 , % 23.49 ± 1.11 , % 21.42 ± 1.34 , % 17.39 ± 1.96 ve % 11.98 ± 1.60 oranında azalma olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.8, Şekil 4.9.).

Tablo 4.8. Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama

Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$) ile Minimum ve Maksimum Değerler

	Antioksidan Aktivite ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$ KMA)	Kayıp Oranı %	Minimum Değer	Maksimum Değer
Çiğ	5.01 ± 0.61	-	-	-
Haşlama bol su	3.03 ± 0.47	39.75 ± 2.10	36.78	43.26
Haşlama az su	3.82 ± 0.46	23.49 ± 1.11	22.07	25.56
Buharlı	4.41 ± 0.60	11.98 ± 1.60	10.38	14.61
Düdüklü	4.14 ± 0.57	17.39 ± 1.96	15.24	20.16
Mikrodalga	3.93 ± 0.49	21.42 ± 1.34	20.10	23.47
Kızartma	1.93 ± 0.37	61.73 ± 2.39	58.48	64.93

Şekil 4.9. Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları



Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Dödüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

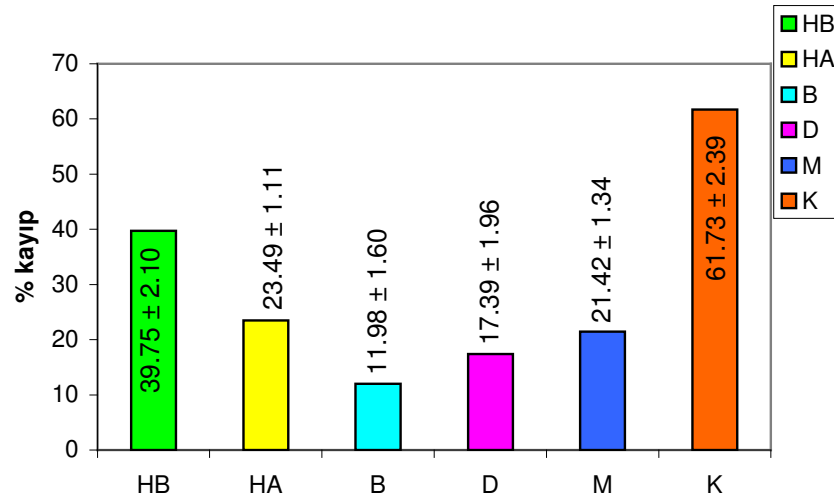
Çeşitli piştirme yöntemlerine ait toplam antioksidan aktivite kayıp oranları arasında farklılık olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiş ($F=936.74$; $p< 0.0001$) ve buna göre her bir uygulama arası fark önemli bulunmuştur (Tablo 4.10). Önemli bulunan farkların kaynağını tespit etmek için Tukey HSD testi uygulanmıştır. Mikrodalgada piştirme ($\% 21.42\pm1.34$) ile az suda haşlama ($\% 23.49\pm1.11$) arasındaki toplam antioksidan aktivite kayıpları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz, diğer yöntemler arasındaki farklar ise önemli ($p< 0.0001$) bulunmuştur (Tablo 4.9, Şekil 4.10).

Tablo 4.9. Kabak Örneklerine Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama %
Toplam Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın
Önemine İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Gruplar Arası	15287.294	5	3057.459	936.742	0.000
Gruplar İçi	156.669	48	3.264		
Toplam	15443.963	53			

F=936.742; p<0.0001

Şekil 4.10. Kabak Örneklerine Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama
Toplam Antioksidan Kayıp Oranları



F = 936.742; p< 0.0001

Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Dödüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

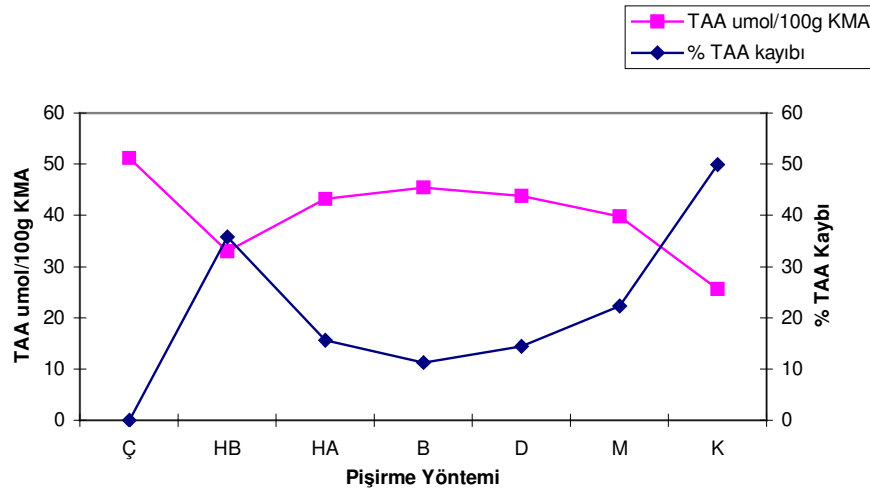
Bu araştırmada patlıcanın başlangıç toplam antioksidan aktivite değeri ortalama 51.20 ± 4.51 $\mu\text{mol TE}/100$ g olarak bulunmuştur. Patlıcanın özellikle kızartılması ve bol suda haşlanması toplam antioksidan aktivite içeriğinin sırasıyla 25.63 ± 2.01 ve 33.03 ± 2.89 $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$ 'a düşmesine neden olmuş ve toplam antioksidan aktivite kaybı sırasıyla % 49.86 ± 2.23 ve % 35.76 ± 0.84 ' e ulaşmıştır. Diğer işlemlerde de bu

azalma görülmüştür. Yapılan tüm pişirme yöntemleri arasında toplam antioksidan aktivite kaybı en az buharlı pişiricide (% 11.27±1.46) pişirme sonucu saptanmıştır (Tablo 4.10, Şekil 4.11).

Tablo 4.10. Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$) ile Minimum ve Maksimum Değerler

	Antioksidan Aktivite ($\mu\text{mol TE}/100\text{ g KMA}$)	Kayıp Oranı %	Minumum Değer	Maksimum Değer
Çiğ	51.20±4.51	-	-	-
Haşlama bol su	33.03±2.89	35.76±0.84	34.49	37.02
Haşlama az su	43.20±3.49	15.58±1.26	13.16	17.49
Buharlı	45.45±4.32	11.27±1.46	9.06	12.81
Düdüklü	43.85±4.07	14.39±0.79	13.27	15.68
Mikrodalga	39.80±4.07	22.34±1.34	20.51	24.39
Kızartma	25.63±2.01	49.86±2.23	47.19	53.03

Şekil 4.11. Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları



Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

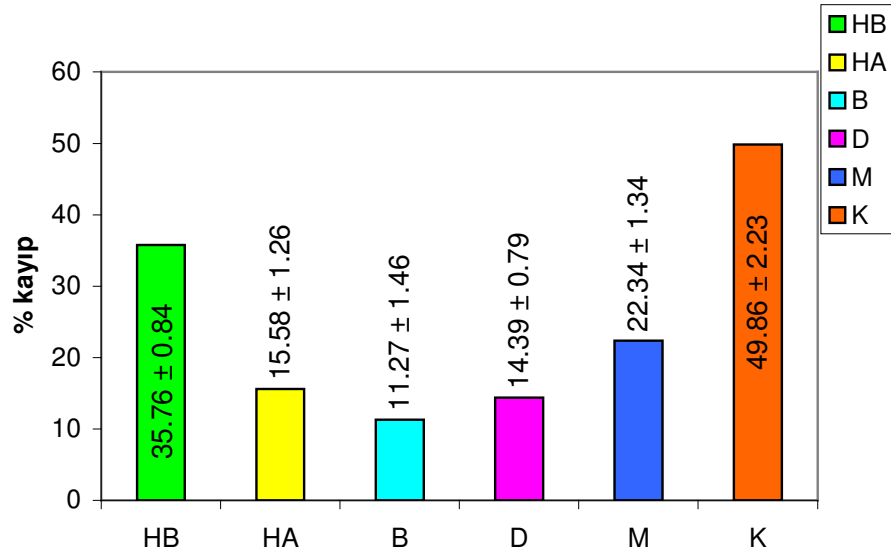
Patlıcana uygulanan çeşitli pişirme yöntemlerine göre ortalama toplam antioksidan aktivite kayıp oranları arasında farklılık olup olmadığını saptamak için ANOVA analizi yapılmış ve buna göre her bir uygulama arası fark önemli ($F=1033.41$; $p<0,0001$) bulunmuştur (Tablo 4.11). Hangi uygulamanın farklı olduğu ise Tukey-HSD testi kullanılarak saptanmıştır. Az suda haşlama ($\%15.58\pm1.26$) ile düdüklü tencerede pişirme ($\%14.39\pm0.79$) sırasındaki ortalama toplam antioksidan aktivite kayıpları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz, diğer yöntemler arasındaki farklar ise önemli ($p<0.0001$) bulunmuştur (Tablo 4.11, Şekil 4.12).

Tablo 4.11. Patlıcan Örneklerine Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın Önemine İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Gruplar Arası	10177.039	5	2035.408	1033.409	0.000
Gruplar İçi	94.541	48	1.970		
Toplam	10271.580	53			

$F=1033.409$; $p<0.0001$

Şekil 4.12. Patlıcan Örneklerine Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları



F = 1033.409; p < 0.0001

Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Dödüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

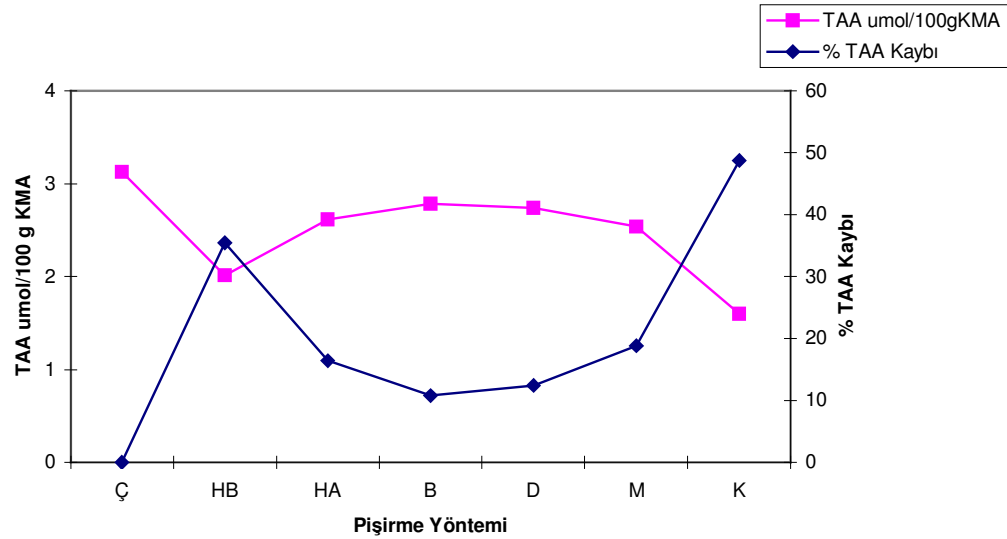
Patates için başlangıçtaki toplam antioksidan değeri ortalama 3.12 ± 0.32 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ olarak bulunmuştur. bu değer bol suda ve az suda haşlamada sırasıyla 2.02 ± 0.24 ve 2.62 ± 0.30 $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$ 'a düşmüştür. Bu değerler için belirlenen kayıp oranları sırasıyla % 35.46 ± 1.47 ve % 16.39 ± 1.65 dir. Patates için de en fazla kayıp kızartma sırasında (% 48.78 ± 1.61) saptanmıştır. Kızartma için belirlenen ortalama toplam antioksidan aktivite değeri 1.60 ± 0.19 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ dir. Bu değeri sırasıyla mikrodalga (2.54 ± 0.28 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$), dödüklü tencere (2.74 ± 0.29 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$) ve buharlı pişirici (2.78 ± 0.29 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$) takip etmektedir. Bu değerler çerçevesinde saptanan ortalama kayıp oranları sırasıyla % 18.82 ± 1.62 , % 12.40 ± 1.21 ve % 10.80 ± 0.97 dir (Tablo 4.12, Şekil 4.13). Sonuç olarak en fazla kayıp kızartma sırasında (% 48.78 ± 1.61) görülürken, bunu % 35.46 ± 1.47 lik bir değerle bol suda haşlama izlemektedir. Kayıp açısından, en iyi sonuçlar buharlı

pişirici (% 10.80 ± 0.97) ve düdüklü tencere (% 12.40 ± 1.21) ile alınmıştır (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları ($\bar{X} \pm S$) ile Minumum ve Maksimum Değerler

	Antioksidan Aktivite ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g KMA}$)	Kayıp Oranı %	Minumum Değer	Maksimum Değer
Çiğ	3.12 ± 0.32	-	-	-
Haşlama bol su	2.02 ± 0.24	35.46 ± 1.47	33.90	37.51
Haşlama az su	2.62 ± 0.30	16.39 ± 1.65	14.18	18.61
Buharlı	2.78 ± 0.29	10.80 ± 0.97	9.75	12.95
Düdüklü	2.74 ± 0.29	12.40 ± 1.21	10.68	13.94
Mikrodalga	2.54 ± 0.28	18.82 ± 1.62	16.73	20.73
Kızartma	1.60 ± 0.19	48.78 ± 1.61	46.56	51.39

Şekil 4.13. Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Değerleri ve Kayıp Oranları



Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

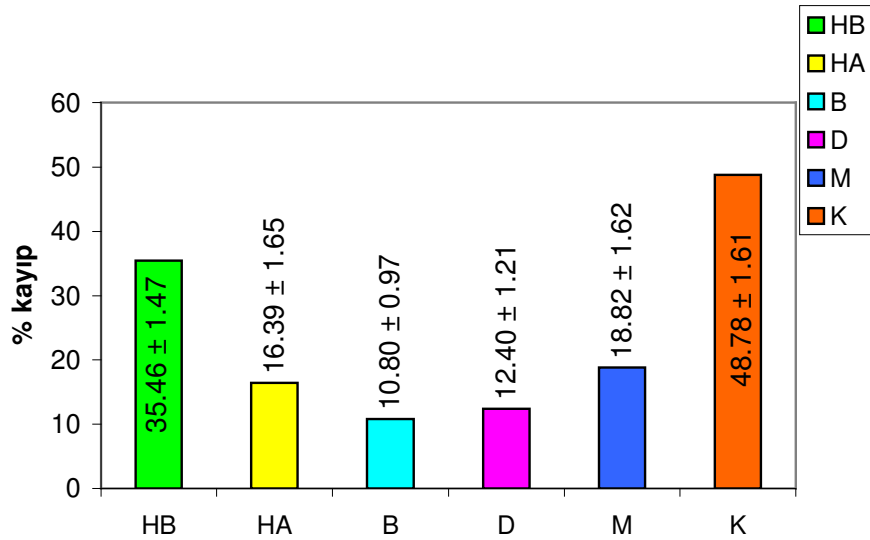
Patatese uygulanan çeşitli pişirme yöntemlerine göre ortalama toplam antioksidan aktivite kayıp oranları arasında farklılık olup olmadığını saptamak için ANOVA analizi yapılmış ve buna göre her bir uygulama arası fark önemli ($F=982.98$; $p<0.0001$) bulunmuştur (Tablo 4.13) Hangi uygulamanın farklı olduğu ise Tukey-HSD testi kullanılarak saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar buharda ($\%10.80\pm0.97$) ve düdüklüde pişirme ($\%12.40\pm1.21$) arasındaki farklılığın önemsiz, diğer yöntemler arasındaki farklılığın ise önemli ($p<0.0001$) olduğunu göstermiştir (Tablo 4.13, Şekil 4,14).

Tablo 4.13. Patates Örneklerine Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları Arasındaki Farklılığın Önemine İlişkin Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Sonuçları

Varyans	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	p
Gruplar Arası	10245.268	5	2049.054	982.983	0.000
Gruplar İçi	100.057	48	2.085		
Toplam	10345.326	53			

$F=982.983$; $p<0.0001$

Şekil 4.14. Patates Örneklerine Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları

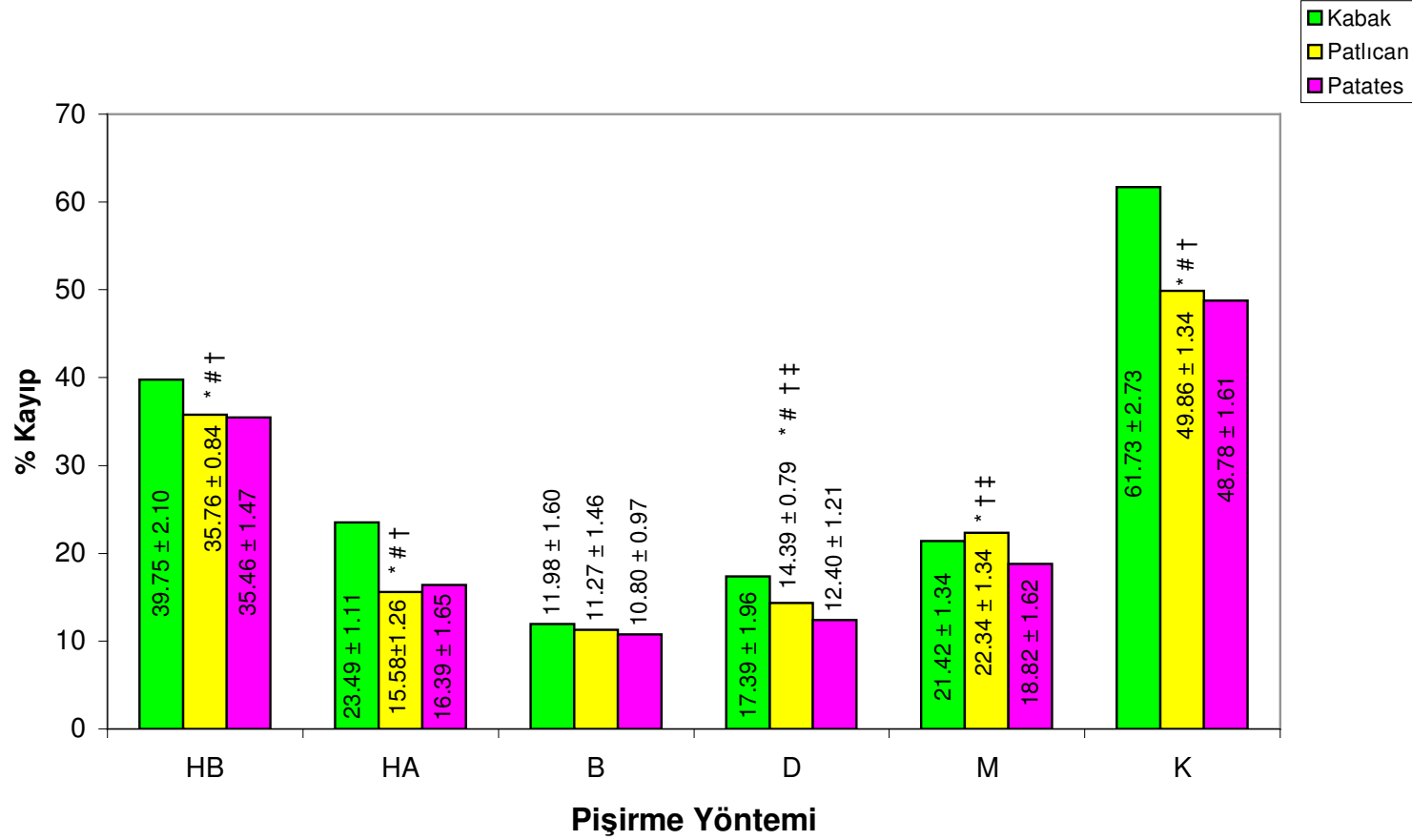


F = 982.983; p< 0.0001

Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

Tüm sebzelere uygulanan çeşitli pişirme yöntemlerine göre saptanan ortalama toplam antioksidan aktivite kayıp oranları arasında farklılık olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiş ve önemli bulunan farkların kaynağını tespit etmek için Tukey HSD testi uygulanmıştır (Tablo 4.9, 4.11, 4.13). Bu sonuçlara göre, bol suda (F=21.220; p< 0.0001) ve az suda (F=92.023; p< 0.0001) haşlama sonucu kabak ile patlıcan ve kabak ile patates arasındaki kayıp oranları arasındaki fark önemli bulunmuştur. Buna karşın buharda pişirme sonucu her bir sebze için saptanan kayıp oranları arasındaki fark önemsiz (F=1.718; p>0.1), düdüklü tencerde pişirme sonucu her bir sebze için saptanan kayıp oranları arasındaki fark önemlidir (F=28.677; p< 0.0001). Mikrodalgada pişirme sonucu ise patates ile patlıcan ve patates ile kabak arasındaki kayıp oranları arasındaki fark önemli (F=14.527; p< 0.0001) olarak saptanmıştır. Kızartma sonucu ise kabak ile patlıcan ve kabak ile patates arasındaki kayıp oranları arasındaki fark önemlidir (F=104.818; p< 0.0001) (Şekil 4.15).

Şekil 4.15. Pişirme Yöntemlerine Göre Sebzelerin Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite Kayıp Oranları



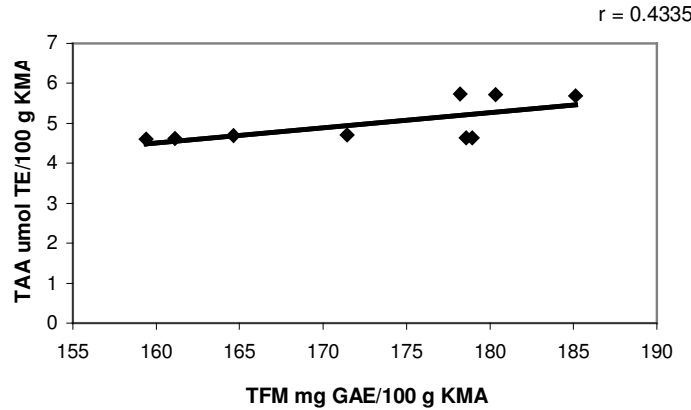
Ç: Çiğ HB: Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

* p<0.0001, # p<0.0001 (kabak-patlıcan), † p<0.0001 (kabak-patates), ‡ p<0.0001 (patates-patlıcan)

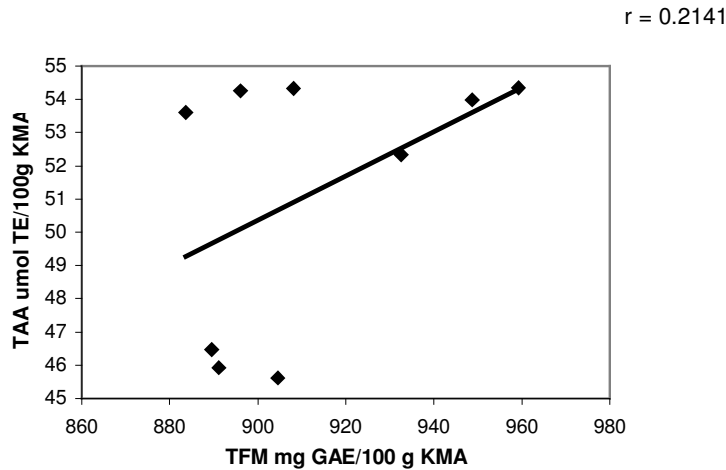
4.4. Çiğ ve Pişirilmiş Sebzelerde Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki

Bu araştırmada kullanılan çiğ sebzeler çerçevesinde saptanan toplam fenolik madde değerleri ile toplam antioksidan aktivite değerleri arasındaki ilişkileri tanımlayan korelasyon katsayıları (r) Şekil 4.16, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18 de görülmektedir. Bu araştırmanın sonuçları, patates dışında çalışılan diğer çiğ besinlerde saptanan toplam fenolik madde konsantrasyonuna karşı belirlenen toplam antioksidan aktivite değerleri arasında zayıf bir korelasyon olduğunu göstermektedir (Şekil 4.16, 4.17, 4.18). En yüksek korelasyonu patatesten rastlanmıştır ($r=0.7181$). Bunu sırasıyla kabak ($r=0.4335$) ve patlıcan ($r=0.2141$) izlemiştir.

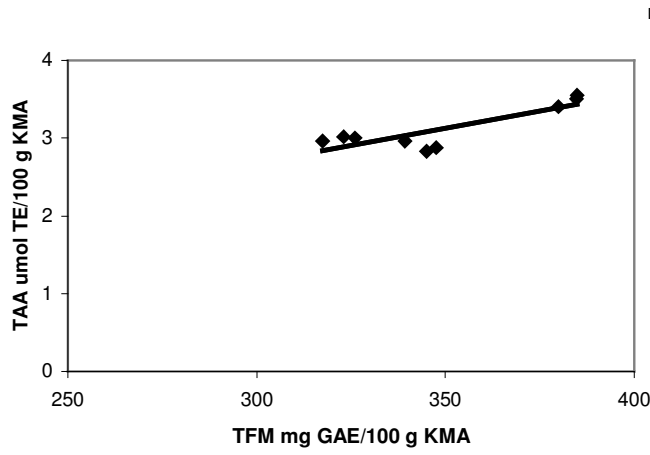
Şekil 4.16. Çiğ Kabak Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki



Şekil 4.17. Çiğ Patlıcan Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki

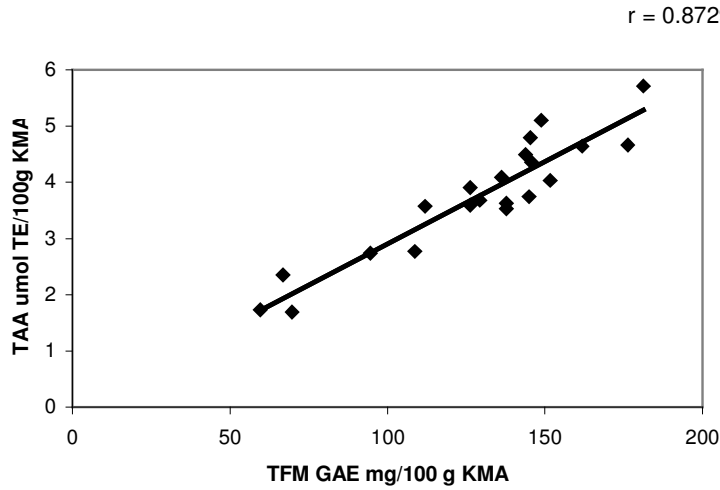


Şekil 4.18. Çiğ Patates Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki

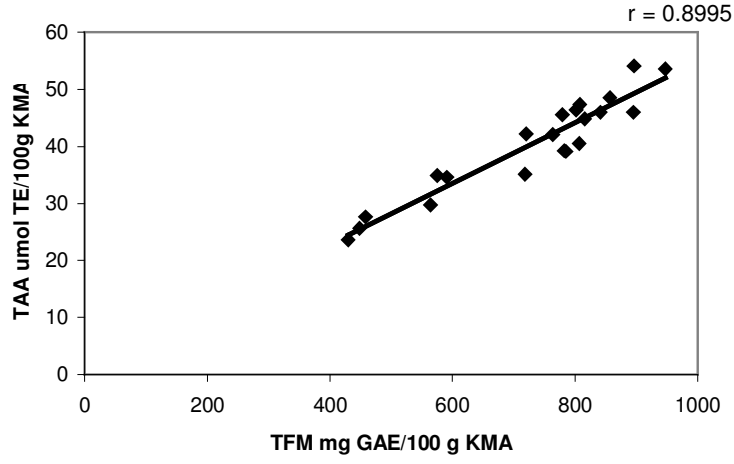


Bu bulguların aksine sebzelerin tüm örnekleri (çiğ ve pişmiş) birlikte incelediğinde, toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivite arasında güçlü bir bağlantı bulunmuştur. Kabak, patlıcan ve patates için saptanan toplam fenolik madde değerleri ile toplam antioksidan aktivite değerleri arasındaki ilişkileri tanımlayan korelasyon katsayıları (r) sırasıyla Şekil 4.19, Şekil 4.20 ve Şekil 4.21’de görülmektedir.

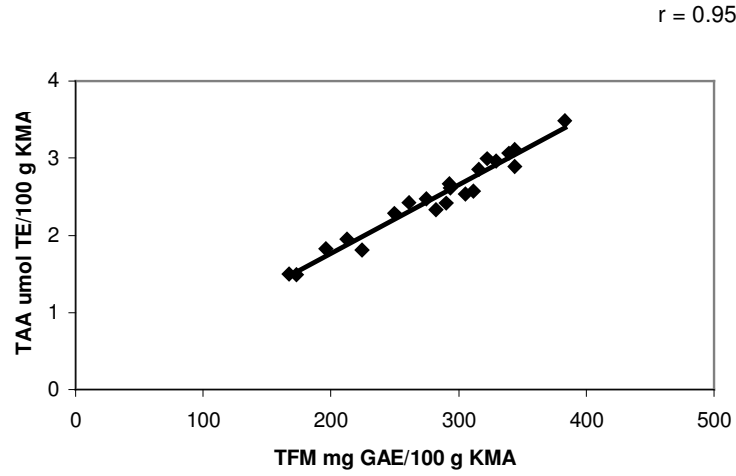
Şekil 4.19. Kabak Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki



Şekil 4.20. Patlıcan Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki



Şekil 4.21. Patates Örneklerinin Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki



En yüksek korelasyonu patatesten rastlanmıştır ($r=0.957$). Bunu sırasıyla patlıcan ($r=0.8995$) ve kabak ($r=0.8729$) izlemiştir.

4.4.1. Antioksidan Skor (AS)

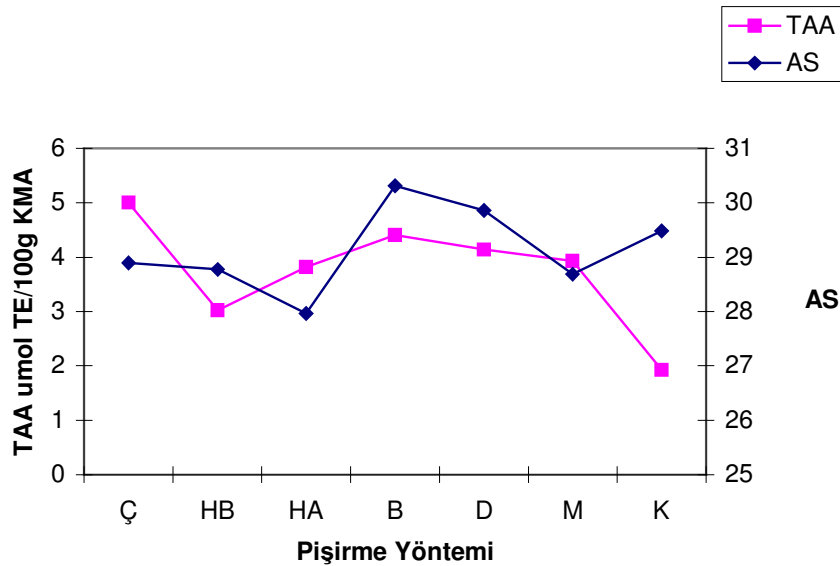
Çalışılan tüm sebzelerin antioksidan aktivite ve antioksidan skor değerleri Tablo 4.14, Tablo 4.15, Tablo 4.16 ile Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24 de özetlenmiştir.

Sebzelerin tüm örnekleri (çiğ ve pişirilmiş) incelediğinde, sebzelerin antioksidan aktivite ve antioksidan skor değerlerinin paralellik gösterdiği görülmektedir (patlıcan>kabak> patates) (Tablo 4.14, 4.15, 4.16).

Tablo 4.14. Kabak Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Değerleri ($\bar{X} \pm S$)

	TAA $\mu\text{g TE}/100 \text{ g KMA}$	AS (TAA/TFM x1000)
Çiğ	5.01 $\pm$ 0.61	28.89 $\pm$ 2.54
Haşlama _{bol su}	3.03 $\pm$ 0.47	28.77 $\pm$ 3.17
Haşlama _{az su}	3.82 $\pm$ 0.46	27.96 $\pm$ 2.12
Buharlı	4.40 $\pm$ 0.60	30.31 $\pm$ 3.87
Düdüklü	4.14 $\pm$ 0.57	29.86 $\pm$ 3.68
Mikrodalga	3.93 $\pm$ 0.49	28.69 $\pm$ 2.47
Kızartma	1.93 $\pm$ 0.37	29.48 $\pm$ 5.51

Şekil 4.22. Kabak Örneklerinin Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Arasındaki İlişki



Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

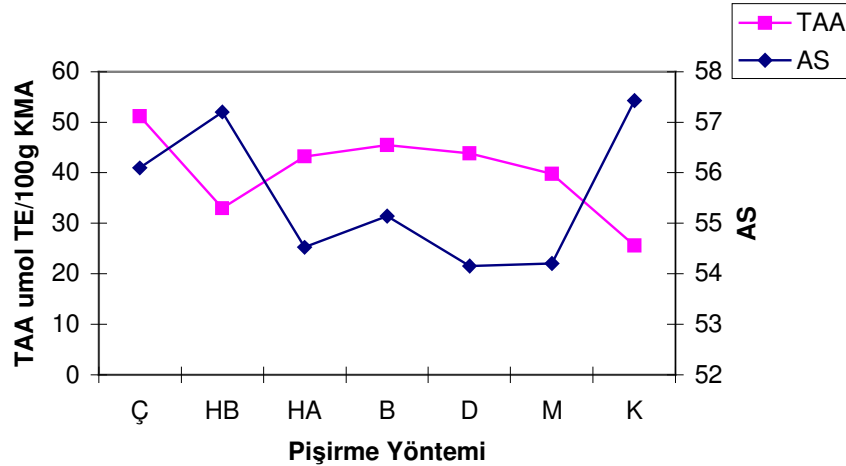
Çiğ ve pişirilmiş kabak örneklerin antioksidan skor ve toplam antioksidan aktivite değerleri (Tablo 4.14, Şekil 4.22) incelendiğinde, ikisi arasında her hangi bir ilişkiye rastlanamamaktadır. Kabakta saptanan toplam antioksidan aktivite değerleri ile antioksidan skor arasındaki ilişkileri tanımlayan korelasyon katsayıları (r) araştırıldığında, ikisi arasında her hangi bir korelasyon bulunamamıştır ($r=0.02$).

Tablo 4.15. Patlıcan Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama

Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Değerleri ($\bar{X} \pm S$)

	TAA $\mu\text{g TE}/100 \text{ g KMA}$	AS (TAA/TFM x1000)
Çiğ	51.20 $\pm$ 4.51	56.09 $\pm$ 4.49
Haşlama _{bol su}	33.03 $\pm$ 2.89	57.20 $\pm$ 4.11
Haşlama _{az su}	43.20 $\pm$ 3.49	54.52 $\pm$ 4.22
Buharlı	45.45 $\pm$ 4.32	55.14 $\pm$ 4.39
Düdüklü	43.85 $\pm$ 4.07	54.15 $\pm$ 4.04
Mikrodalga	39.80 $\pm$ 4.07	54.20 $\pm$ 4.94
Kızartma	25.63 $\pm$ 2.01	57.43 $\pm$ 2.57

Şekil 4.23. Patlıcan Örneklerinin Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Arasındaki İlişki



Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

Çiğ ve pişirilmiş patlıcan örneklerin antioksidan skor ve toplam antioksidan aktivite değerleri (Tablo 4.15, Şekil 4.23) incelendiğinde, ikisi arasında her hangi bir ilişkiye rastlanamamaktadır. Patlıcanda saptanan toplam antioksidan aktivite değerleri ile antioksidan

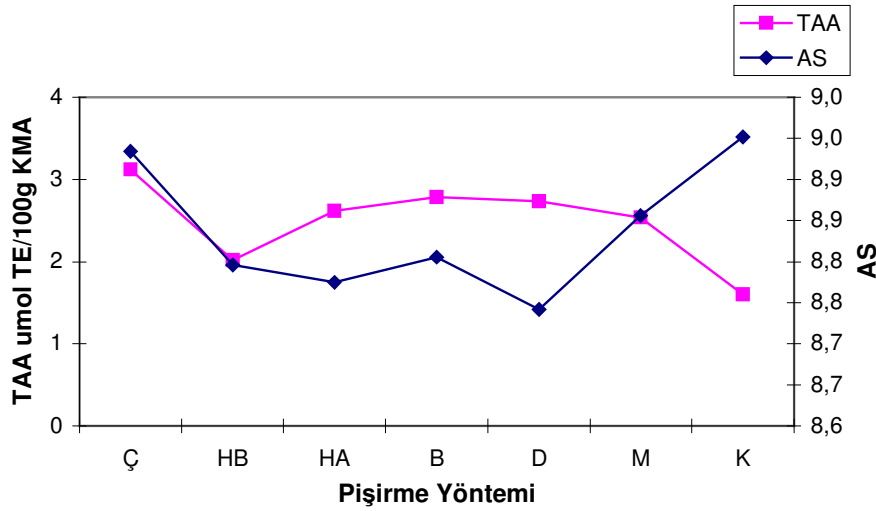
skor arasındaki ilişkileri tanımlayan korelasyon katsayıları (r) araştırıldığında, ikisi arasında çok zayıf bir korelasyon bulunmuştur ($r=0.368$).

Tablo 4.16. Patates Örneklerinin Uygulanan Pişirme Yöntemlerine Göre Ortalama

Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Değerleri ($\bar{X} \pm S$)

	TAA $\mu\text{g TE}/100 \text{ g KMA}$	AS (TAA/TFM x1000)
Çiğ	3.12 ± 0.32	8.93 ± 0.47
Haşlama _{bol su}	2.02 ± 0.24	8.80 ± 0.63
Haşlama _{az su}	2.62 ± 0.30	8.77 ± 0.38
Buharlı	2.78 ± 0.29	8.81 ± 0.47
Düdüklü	2.74 ± 0.29	8.74 ± 0.39
Mikrodalga	2.54 ± 0.28	8.86 ± 0.54
Kızartma	1.60 ± 0.19	8.95 ± 0.35

Şekil 4.24. Patates Örneklerinin Toplam Antioksidan Aktivite ve Antioksidan Skor Arasındaki İlişki



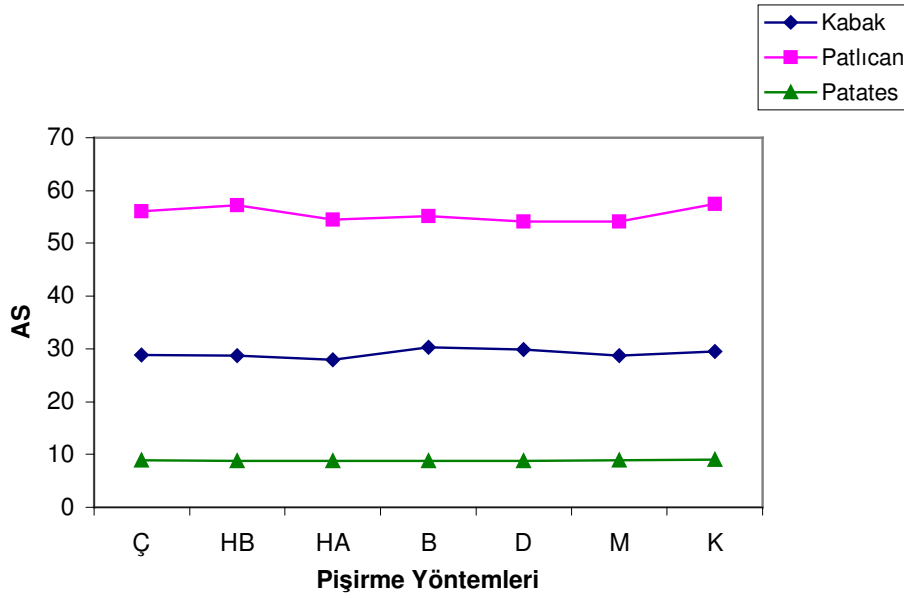
Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

Çiğ ve pişirilmiş patates örneklerin antioksidan skor ve toplam antioksidan aktivite değerleri (Tablo 4.16, Şekil 4.24) incelendiğinde, ikisi arasında her hangi bir ilişkiye rastlanamamaktadır. Patateste saptanan toplam antioksidan aktivite değerleri ile antioksidan

skor arasındaki ilişkileri tanımlayan korelasyon katsayıları (r) araştırıldığında, ikisi arasında her hangi bir ilişki bulunamamıştır ($r=0.06$).

Antioksidan skor değerleri sebze bazında incelediğinde, yapılan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey Testine göre sebzeler arasındaki fark önemli ($F = 4362.145$; $p < 0.0001$) bulunmuştur (Şekil 4.25). Ancak antioksidan skor değerleri üzerine pişirme yöntemlerinin etkisi bulunamamıştır ($p > 0.1$)

Şekil 4.25. Pişirme Yöntemlerine Göre Sebzelerin Antioksidan Skor Değerleri



$F = 4362.145$; $p < 0.0001$

Ç: Çiğ HB:Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici
D: Düdüklü tencere M: Mikrodalga K: Kızartma

TARTIŞMA

Bu araştırmada elde edilen bulgular, sebzelerin içermiş olduğu toplam fenolik madde değerleri ve antioksidan aktivitelerinin, sebze çeşidine göre uygulanan pişirme işlemlerinden etkilendiğini göstermiştir. Bunun yanı sıra çiğ sebzelerin toplam fenolik madde değerleri ve antioksidan aktivitelerinin farklı olduğu ve kendi aralarında değişkenlik gösterdiği saptanmıştır.

5.1. Çiğ ve Çeşitli Yöntemlere Göre Pişirilen Sebzelerin Toplam Fenolik Madde Değerlerindeki Farklılığın Nedenleri

Bu araştırmanın sonuçları; sebzelerin içerdikleri başlangıç fenolik madde değerlerinin kendi aralarında farklılık gösterdiğine işaret etmektedir. Çalışmanın sonuçlarına göre pişirmeden önce en yüksek fenolik madde içeriğine sahip sebzenin, ortalama 912.64 ± 29.67 mgGAE/100g KMA ile patlıcan olduğu gözlenmiş, daha sonra bunu sırasıyla 349.76 ± 30.89 mgGAE/100g KMA ile patates ve 173.09 ± 10.15 mgGAE/100g KMA ile kabak izlemiştir (Tablo 4.2 - 4.4).

Genel olarak fenolik bileşiklerin konsantrasyonu çeşitli etmenlerden etkilenmektedir. Başta çevre koşulları pedoklimatik (toprak, güneş, yağmur) veya agronomik (geleneksel / hidroponik, organik, sera, gibi üretim yöntemleri) olmak üzere hasat edilen sebzenin türü, genetik faktörler, hasat zamanı, hasat sonrası süreçler, saklama koşulları ve süreleri, uygulanan ön hazırlık işlemleri ve pişirme uygulamaları, sebzelerin fenolik madde değerlerini etkilemektedir (62,94,103,109-113,163,164,173).

Sebze ve meyvelerde, olgunlaşma sırasında fenolik asitlerin azaldığı ve antosiyanin içeriğinin arttığı, güneş ışığının sebze ve meyvelerin flavonoid içeriği üzerinde olumlu bir etkisi olduğu bildirilmektedir (19,20). Aynı zamanda fenolik bileşikler bitkilerde böceklerin neden olduğu veya hasat sırasında oluşan berelenme gibi mekanik streslere veya bakteri, virüs, mantarların neden olduğu enfeksiyonlara bağlı biyolojik streslere karşı savunma mekanizmalarında rol alan bileşiklerdir. Mekanik bir stresten hemen sonra Valensia portakalının fenolik madde konsantrasyonunda azalma kaydedilirken, daha sonraki 48 saatte iki katı bir artış saptanmıştır (31). Bu çalışmada kullanılan sebzelerin toplam fenolik madde konsantrasyonlarında kaydedilen farklılıklarda bu gibi nedenler rol oynayabilir.

Araştırma sonuçları patlıcanın ortalama toplam fenolik madde içeriğinin 912.64 ± 29.67 mg/100g olduğunu göstermektedir. Whitaker ve diğerleri (118), 5 ayrı tür patlıcanın (*S.melongena*) toplam fenolik madde içeriğinin 671-4165 μ mol/100g arasında değiştiğini ve

patlıcanın türüne göre bu değerin 10-15 kata kadar çıkabildiğini vurgulamışlardır. Hanson ve diğerleri (119) ise 33 patlıcan (*S.melogna*) türünün toplam fenolik madde, C-vitamini, ve antioksidan aktivitelerini inceledikleri bir çalışmada, patlıcanın toplam fenolik madde içeriklerinin türlerine göre 740 mg/100 g ile 1330 mg/100 g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Patlıcanın içerdiği fenolik bileşikler klorojenik asit , hidroksisinnamik asitler, antosiyanidinlerdir (120). Özellikle çok yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilen delphinidin-3-(*p-coumaroylrutinoside*)-5-glucoside (nasunin)' in antosiyanin pigmentinin başlıca bileşeni olduğu bildirilmektedir (121).Genetik faktörler başta olmak üzere sebze türü ve olgunluğu, patlıcanın içerdiği toplam fenolik madde içeriği farklılığının nedeni olarak gösterilmektedir (89,119).

Patatesin ortalama toplam fenolik madde içeriği ise 349.76 ± 30.89 mg GAE/100 g olarak saptanmıştır. Ağırlıklı olarak kafeik asit, klorojenik asit ve isoklorojenik asit gibi polifenollerini içeren patatesin toplam fenolik madde içeriğinin; 100-781 mg/100 g arasında türlerine bağımlı olarak değiştiği bildirilmektedir (47,63,107,122,123).

Bu araştırmada, kabağın içerdiği toplam fenolik madde içeriği 173.09 ± 10.15 mg GAE/100 g olarak saptanmıştır. Türkmen ve diğerleri (26), biber, yeşil fasulye, yeşil kabak, bezelye, pırasa, brokoli ve ıspanağın toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktivite değerlerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, tüm sebzelerin toplam fenolik madde içeriklerinin 183.2 -1344.7 mg GAE/100 g KMA olarak değiştiğini, kabak için bu değerin 833.0 ± 37.79 mg GAE/100 g KMA olarak saptandığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, kabak için bulunan bu değerin diğer arştırmalarda saptanan değerlerden bu denli yüksek olmasını, kullanılan yöntem farklılığına bağlamışlardır. Andlauer ve diğerleri (109) patates, yeşil kabak, havuç ve yeşil fasulyenin az ve bol suda haşlanması sonucu fenolik madde değerlerinde oluşan değişimleri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, yeşil kabağın bileşiminde eser miktarda kersetin ve kamferol bulunduğunu, flavonoid glikozidlerden rutin'in değerinin ise 133 mg/100 g civarında olduğunu saptamışlardır. Kabak türlerine göre rutin içeriklerinin, dolayısıyla fenolik madde içeriklerinin farklılık sergilediğini öne sürmüşlerdir. Hertogg ve diğerleri (61) tarafından yürütülen ve Hollanda da sıklıkla tüketilen 28 çeşit sebze ve 9 çeşit meyvenin fenolik öge içerikleri üzerinde yapılan çalışmalarda da *Cucurbitaceae* familyasındaki kabak ve benzeri sebzelerin, genelde fenolik madde içeriklerinin çok düşük olduğu vurgulanmış ve bu sebzelerin fenolik bileşiklerden eser miktarda da olsa hidroksisinnamik asit türevi p-kumarik asit ve hidroksibenzoik asit türevi salisilik, gentisik ve vanilik asit içerdiği belirtilmiştir.

Bu araştırmanın sonuçları, tüm sebzelerde saptanan ortalama toplam fenolik madde kayıp oranlarının, kullanılan pişirme yöntemi ve sebze türüne bağımlı olarak değiştiğini göstermektedir (Tablo 4.2, 4.4, 4.6). Kabak örneklerine uygulanan pişirme yöntemlerine göre ortalama toplam fenolik madde kayıp oranları arasında farklılık düdüklü tencere (% 19.85 ± 2.55), mikrodalga (% 20.98 ± 1.78) ve az suda haşlama (% 21.11 ± 2.72) hariç, diğer yöntemler arasında önemli ($p < 0.0001$) olarak saptanmıştır. Patlıcanda ise tüm pişirme yöntemleri arasındaki farklar önemlidir ($p < 0.0001$). Patateste ise sadece buharda pişirme (% 9.50 ± 0.81) ile düdüklü tencerde pişirme (% 10.49 ± 1.37) sırasında oluşan toplam fenolik madde kayıp oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuş, diğer tüm pişirme yöntemleri arasındaki farklar ise istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.0001$). Örnekler arası farklılığın önemli çıkması pişirme işlemlerinde fazla sayıda örnekle çalışmanın benzer çalışmalar için yararlı olacağı gerçeğini yansıtmaktadır.

Bu çalışmada, pişirme yöntemleri içerisinde en az toplam fenolik madde kaybına yol açanın buharda pişirme, en fazla toplam fenolik madde kaybına yol açanın ise kızartma yöntemi olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.2, 4.4, 4.6).

Araştırma sonuçları kabağın bol suda ve az suda haşlanması sonucu saptanan ortalama toplam fenolik madde kaybının sırasıyla % 39.22 ± 1.77 ve % 21.11 ± 2.72 olduğunu göstermektedir (Tablo 4.2). Bu değerler patlıcan için sırasıyla % 36.75 ± 1.13 ve % 13.18 ± 0.92 , patates için ise sırasıyla % 34.51 ± 0.75 ve % 14.80 ± 1.02 olarak saptanmıştır (Tablo 4.2, 4.4, 4.6). Saptanan değerlere göre sebzelerin bol suda haşlanması sırasında ortalama toplam fenolik madde kayıplarının % 39.22 ± 1.77 ile % 34.51 ± 0.75 arasında değiştiği ve sıralamanın kabak>patlıcan>patates şeklinde olduğu görülmektedir. Araştırma sonuçları ayrıca bol suda haşlama sonucu her bir sebze için saptanan kayıp oranları arasındaki farkın önemli ($F=30.261$; $p < 0.0001$) olduğunu göstermektedir (Şekil 4.8). Az suda haşlama sonucu saptanan ortalama toplam fenolik madde kayıplarının ise % 21.11 ± 2.72 ile % 13.18 ± 0.92 arasında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 4.2, 4.4, 4.6). Bu çerçevede sıralamanın kabak>patates>patlıcan olduğu dikkat çekmektedir. Az suda haşlama sonucu ise kabak ile patlıcan ve kabak ve patates arasındaki kayıp oranları arasındaki fark önemli ($F=50.963$; $p < 0.0001$) olarak saptanmıştır (Şekil 4.8). Genelde haşlama sırasında sebzelerin yapısında oluşan değişimlerin ve besin değeri kayıplarının; haşlama yöntemi, süresi, sebze-haşlama suyu oranı, sebzelerin parça boyutları ve haşlama ortamının karıştırılmasından etkilendiği belirtilmektedir (27,108,109,114). Bu çalışmada da sebzelerin toplam fenolik madde içeriklerinin haşlama yöntemi ve sebze türlerine göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4.2, 4.4, 4.6). Tudela ve diğerleri (108) patatese farklı pişirme yöntemleri (bol suda haşlama, kızartma, düdüklü

tencerede ve mikrodalgada pişirme) uygulayarak toplam flavanoid ve klorojenik asit kaybını incelemişler, patatesin bol suda pişirilmesi sırasında oluşan toplam flavanoid kaybının % 43.67 oranında olduğunu belirtmişlerdir. Ewald ve diğerleri (27) soğan, bezelye ve yeşil fasulyeye uygulanan farklı pişirme yöntemlerinin (az suda haşlama, kızartma, mikrodalgada ve buharda pişirme) flavonoid içerikleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada, saptanan flavonoid kayıplarının sebze türleri ile hazırlama ve pişirme yöntemlerine göre farklılık gösterdiğine işaret etmişlerdir. Andlauer ve arkadaşları (109), çeşitli pişirme yöntemlerinin sebzelerin fenolik madde içerikleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, bol suda pişirme sonucu kabakta % 30 oranında rutin, patatesten ise % 42 oranında klorojenik asit kaybı bulurken, az suda pişirme sonucu bu kayıpları sırasıyla % 21.1 ve % 9.4 olarak saptamışlardır. Araştırmacılar, suda pişirme sırasında fenolik bileşiklerin önemli bir kısmının pişirme suyuna geçtiğini, üstelik kullanılan su miktarının kaybı etkilediğini ve bu kaybın sebze türlerine göre değişkenlik gösterdiğini vurgulamışlardır.

Araştırma sonuçları, buharda pişirilmiş sebzelerde ortalama toplam fenolik madde kaybının kabak için % 15.92 ± 2.22 , patlıcan için % 9.85 ± 0.56 patates için ise % 9.50 ± 0.81 olduğunu göstermektedir (Tablo 4.2, Tablo 4.4, Tablo 4.6). Bu değerler çerçevesinde buharlı pişirme sonucu ortalama toplam fenolik madde kaybı kabak>patlıcan>patates şeklinde sıralanmaktadır. Buharda pişirme yöntemi sonucunda, kabak ile patlıcan ve kabak ile patates arasındaki kayıp oranları arasındaki farkın önemli ($F=59.873$, $p<0.0001$) olduğu saptanmıştır (Şekil 4.8). Bu bulgular, buharda pişirme yönteminin diğer pişirme yöntemlerine kıyasla besin ögesi bileşenlerini daha iyi koruduğu gerçeğini yansıtmaktadır. Buna benzer sonuçlar başka araştırmacılar tarafından da ifade edilmiştir. Ewald ve diğerleri (27), buharda pişirilmiş fasulye, soğan ve bezelyenin kersetin kaybının haşlama, mikrodalgada pişirme ve kızartmaya kıyasla daha az olduğunu belirtmişlerdir. Tudela ve diğerleri (108) ise patatese uygulanan çeşitli pişirme yöntemlerinin fenolik madde içeriği üzerine etkisini irdelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, fenolik madde içeriğini korumak açısından sebzeleri buharda pişirmenin, suda haşlama, mikrodalga ve kızartmaya kıyasla en iyi yöntem olduğuna işaret etmiştir. Bu bulgular, buharlı pişiricinin özellikleri ile bağlantılı olabilir. Nitekim bu çalışmada da sebzelerin buharlı pişiricide pişirilmesi sırasında ortalama toplam fenolik madde kayıplarının % 15.92 ± 2.22 ile % 9.50 ± 0.81 arasında değiştiği ve diğer pişirme yöntemlerine kıyasla bu değerlerin düşük olduğu belirlenmiştir ki, bunun nedeni bu çalışmada pişirme aracı olarak kullanılan dokunmatik kumanda düğmesi ile ekstra hızlı pişirme sağlayan ve daha fazla vitamin ve mineralleri kaybını koruyarak besin ögesi değeri kaybını azaltma özelliğine sahip, piyasaya son zamanlarda çıkan katlı buharlı pişiriciden olabilir.

Bu araştırmada, kabak sebzesinin düdüklü tencerede pişirilmesi sonucu saptanan toplam fenolik madde kayıp oranı % 19.85 ± 2.55 dir. Patlıcan ve patates için saptanan bu değerler sırasıyla % 11.36 ± 1.10 ve % 10.49 ± 1.37 dir. Bu bulgular çerçevesinde düdüklü tencerede pişirme sonucu ortalama toplam fenolik madde kaybı kabak>patlıcan>patates şeklinde sıralanmaktadır. Ddkl tencerede pişirme yöntemi sonucunda, kabak ile patlıcan ve kabak ile patates arasındaki kayıp oranları arasındaki farkın önemli ($F=76.814$, $p<0.0001$) olduğu saptanmıştır (şekil 4.8). Tudela ve diğerleri (108), patateslerde düdüklü tencerede pişirme sonucu toplam flavonoid ve klorojenik asit kaybını % 40-50 civarında bulmuştur. Araştırmacılar düdüklü tencerede pişirme sırasında bol su kullanmış (100 g sebze, 500 mL su) ve patatesleri 2 dakika süre ile pişirmiştir. Araştırmacılara göre; pişirme sırasındaki kayıp pişirme süresi, derecesi ve kullanılan pişirme suyu miktarına bağlıdır. Bu araştırmada ise saptanan değerler % 10.49 ± 1.37 ile % 19.85 ± 2.55 arasında değişmektedir. Bunun nedeni de sebzelerin türü, kullanılan düdüklü tencerenin modeli, pişirme yöntemi ve süresi ile ilintili olabilir.

Bu araştırmanın sonuçları mikrodalgada pişirilmış sebzelerde ortalama toplam fenolik madde kaybının kabak için % 20.98 ± 1.78 , patlıcan için % 19.57 ± 1.08 patates için ise % 18.13 ± 0.74 olduğunu göstermektedir (Tablo 4.2, 4.4, 4.6). Bu değerler çerçevesinde mikrodalgada pişirme sonucu ortalama toplam fenolik madde kaybı kabak>patlıcan>patates şeklinde sıralanmaktadır. Araştırma sonuçları ayrıca, mikrodalgada pişirme sonucu kabak ile patates arasındaki farkın önemli ($F=11.241$; $p<0.0001$) olduğunu göstermektedir (şekil 4.8). Bu değerler yapılan bazı çalışma sonuçları ile benzerlik, bazıları ile de farklılık göstermiştir. Zhang ve diğerleri (111), mikrodalgada bol su ve açık kapta 5 dakika süre ile pişirilmış brokolilerde toplam fenolik madde kaybını % 57 bulurken, Ewald ve diğerleri (27) fasulyeyi 10 dakika, soğanı 3 dakika ve bezelyeyi 5 dakika süre ile pişirdikten sonra flavonoid kaybını % 40-42 arasında bulmuştur. Kutı ve diğerleri (104), ıspanağın iki ayrı türünü mikrodalgada az su kullanarak, kapalı kapta 2 dk süre ile pişirmiş ve ortalama toplam fenolik madde kayıplarını % 22.9 ile % 39.7 olarak saptamıştır. Diğer taraftan, Türkmen ve diğerleri (26), 7 farklı sebzeye mikrodalga ile pişirme yöntemi (1 dakika, 1000 W) uygulamış, sonuçta kabak, bezelye ve ıspanada toplam fenolik madde kaybı gözlerken ,biber, yeşil fasulye, brokoli ve ıspanakta fenolik madde artışına rastlamıştır. Gerard ve diğerleri (106) ise yüksek fenolik madde ve antioksidan aktivitesine sahip olan iki çeşit elma (Gerard ve McIntosh hasat türü) püresini 4-16 dakika boyunca mikrodalgada farklı derecede pişirmiş (40° - 70° C, 1500 W) ve pişirme derecesi ve süresi artıkça, toplam fenolik madde içeriğinin 1.07 mg/mL den 1.66 mg/mL kadar çıktığını saptamışlardır. Genelde araştırmacılar, mikrodalga ile pişirmede,

kullanılan su miktarı, pişirme süresi, pişirme kabının açık veya kapalı olmasının sonuçları doğrudan etkileyebileceğini vurgulamışlardır (26,27,111,113).

Araştırma sonuçları, kabağın kızartılması sonucu saptanan ortalama toplam fenolik madde kaybının sırasıyla % 62.22 ± 1.34 olduğunu göstermektedir (Tablo 4.2). Bu değerler patlıcan ve patates için sırasıyla % 51.20 ± 1.20 ve % 49.10 ± 1.96 olarak saptanmıştır (Tablo 4.4, 4.6). Bu değerler çerçevesinde kızartma sonucu ortalama toplam fenolik madde kaybı kabak>patlıcan>patates şeklinde sıralanmaktadır. Kızartma yöntemi sonucunda, kabak, patlıcan ve patates arasındaki kayıp oranları önemli ($F=189.101$, $p<0.0001$) bulunmuştur (Şekil 4.8). Tudela ve diğerleri (108), ayçiçek yağında 190°C de 4 dakika süreyle kızartılmış patatesten % 66 oranında kafeik asit, % 71 oranında klorojenik asit kaybı olduğunu belirlemişler ve bunun kızartma süresi ve ısı ile, patateslere uygulanan kesme işlemlerine bağlı olabileceğini vurgulamışlardır. Friedman (124), fırında ve yağda pişirilmiş patateslerde, pişirme süresi ve derecesine bağlı olarak klorojenik asitin tamamen kayıp olduğunu bildirmiştir. Franke ve diğerleri (86) ise, suda ve yağda pişirme sırasında patlıcanda bulunan hidrokisisinnamik asitin üçte birinin ve antosiyanidinin büyük bir kısmının kayba uğradığını ifade etmiştir. Yine Ewald ve diğerleri (27), kızartılmış soğanda kersetin kaybını % 39.02 oranında saptarken, Crozier ve diğerleri (125) bu kaybı % 21-39 arasında bulmuştur. Araştırmacılar, fenolik asitler ve antosiyanin gibi bazı fenolik bileşiklerin sebzelerin dış ve kabuk kısmında bulunmasından dolayı, sebzelerin kabuk soyma ve doğrama şekli onların fenolik madde içeriğini etkileyebileceğini vurgulamışlardır (27,101). Bu bulguların aksine, Lombard ve diğerleri (105), 5 dakika gibi kısa süre ayçiçek yağda kızartma sonucu, soğanda % 7-25 kersetin artışı gözlemiştir. Yine Price ve diğerleri (103), 2 tür soğanı 5-15 dakika süre ile ayçiçek yağında kızartmıştır. Kızartmanın ilk dakikalarda kersetinde % 5 gibi bir artış, daha sonra % 20 kadar bir düşüş saptamıştır. Araştırmacılar kersetin konjugetlerin hücre içinde toplanmasından dolayı böyle bir artış olabileceğini ve ısıya karşı kersetin konjugetlerin dayanıklı olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu bulgular sebzelerin kızartılması sonucu saptanan toplam fenolik madde kayıplarının; kızartma süresi, sebzelerin doğrama şekli ve sebze türüne bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada, kızartmak için ayçiçek yağı kullanılmıştır. Ayçiçek yağında fenolik bileşiklerin ve diğer antioksidan öğelerin olduğu bilinmektedir (47,162,172,176-179). Bu araştırmada kullanılan yöntem ile kullanılan ayçiçek yağında fenolik madde miktar tayini yapılamamıştır. Ancak sebzelerin ayçiçek yağında kızartılması sonucu saptanan ortalama toplam fenolik madde kaybı ile ilintili çalışmalarda (103,108,124-125) da kullanılan ayçiçek yağının fenolik madde içeriğine değinilmemiştir. Bu nedenle, bu araştırmada saptanan

bulgunun bu çerçevede herhangi bir kıyaslaması yapılamıyacaktır. Ancak bundan sonraki çalışmalarda, kızartılmış besinlerde ayçiçek yağından kaynaklanan fenolik madde içeriğine bakılması önerilebilir.

5.2. Çiğ ve Çeşitli Yöntemlere Göre Pişirilen Sebzelerin Toplam Antioksidan Aktivite Değerlerindeki Farklılığın Nedenleri

Sebzelerin içerdiği antioksidanlar arasında askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler , flavonoller ve fenolik asitler gibi fenolik bileşikler sayılabilmektedir. Ancak meyvelerle karşılaştırıldığında sebzelerin genellikle daha düşük oranda antioksidan bileşik içerdikleri bilinmektedir (47,63,126-127).

Bu araştırmada, sebzelerin içerdikleri başlangıç antioksidan aktivite değerleri, kendi aralarında farklılık göstermiştir. Pişirmeden önce, bu çalışmada en yüksek antioksidan aktivite değerine sahip sebzenin ortalama $51.20 \pm 4.51 \mu\text{g TE}/100\text{g KMA}$ ile patlıcan olduğu, bunu sırasıyla kabak ($5.01 \pm 0.61 \mu\text{g TE}/100\text{g KMA}$) ve patatesin ($3.12 \pm 0.32 \mu\text{g TE}/100\text{g KMA}$) izlediği bulunmuştur (Tablo 4.8, 4.10, 4.12).

Patlıcandaki yüksek antioksidan aktivite, antosiyanidin bileşeninden kaynaklanmaktadır. Sebze, meyve ve kırmızı şaraba renk veren antosiyanidin maddesi, siyah üzüm suyu, kırmızı şarap, siyah erik, patlıcan, kırmızı lahana, kırmızı turp ve kırmızı soğanda yaygın olarak bulunmaktadır (68,89,128). Bartolome ve diğerleri (129) 3 çeşit kırmızı üzüm (*Vitis vinifera*) ve bunlardan elde edilen kırmızı şarapın antioksidan aktiviteleri ve toplam polifenol içeriği ile üzerinde yaptıkları bir çalışmada, antosiyanidin ($p < 0.05$), proantosiyanidin ($p < 0.01$) ve toplam polifenollerin ($p < 0.01$) içeriği ile antioksidan aktivite arasında güçlü bir ilişki bulmuşlardır. Cao ve diğerlerinin (112), 22 sebze üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda da, en yüksek antioksidan aktivite değerine patlıcanın sahip olduğu belirlenmiştir. Patlıcanı, sarı kabak ve patates takip izlemiştir.

Patates ve tatlı patatesin askorbik asit, α -tokoferol ve polifenolik bileşikler gibi antioksidan bileşenler içerdiği bilinmektedir. Mor patates ve kabuğu, beyaz ve sarı patates türlerine oranla daha yüksek antioksidatif aktivite göstermektedir. Bu farklılık, kırmızı etli patates türlerinde saptanan pelargonidin-3-rutinozid-5-glikozit gibi antosiyaninlerin varlığından kaynaklanmaktadır (112,130).

Her türlü besinin kalitesini belirleyen en önemli faktör hammadenin niteliğidir. Hiçbir yöntem hammaddenin kalitesini düzeltmez. Genelde meyve ve sebzelerde antioksidan aktiviteyi etkileyen faktörler arasında hasat sırasındaki olgunluk, olgunlaşma mevsimi, genetik farklılıklar, hasat öncesi çevresel koşullar, hasat sonrası depolama koşulları ve uygulanan

işlemler sayılabilmektedir (20,29,31,97,168). Ayrıca antioksidan aktivite değerlerinin her yörenin türleri arasında farklılık gösterdiği gibi, yıllar arasında da önemli farklılıklar gösterdiği ileri sürülmektedir (22,42,130,132,173).

Bu araştırmanın sonuçları, tüm sebzelerde saptanan ortalama toplam antioksidan aktivite kayıp oranlarının, ortalama toplam fenolik madde kayıp oranları gibi kullanılan pişirme yöntemi ve sebze türüne bağımlı olarak değiştiğini göstermektedir (Tablo 4.8, 4.10, 4.12). Kabak sebzisine uygulanan pişirme yöntemlerine göre mikrodalgada pişirme (% 21.42 ± 1.34) ile az suda haşlama (% 23.49 ± 1.11) arasındaki toplam antioksidan aktivite kayıpları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz, diğer yöntemler arasındaki farklar ise önemli ($p < 0.0001$) bulunmuştur (Tablo 4.9). Patlıcanda, az suda haşlama (% 15.58 ± 1.26) ile düdüklü tencerede pişirme (% 14.39 ± 0.79) sırasındaki toplam antioksidan aktivite kayıpları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz, diğer yöntemler arasındaki farklar önemli ($p < 0.0001$) olarak saptanmıştır (Tablo 4.11). Patatesten ise buharda (% 10.80 ± 0.97) ve düdüklü tencerede pişirme (% 12.40 ± 1.21) arasındaki farklılığın önemsiz, diğer yöntemler arasındaki farklılığın ise önemli ($p < 0.0001$) olduğunu göstermiştir (Tablo 4.13).

Bu araştırmanın sonuçları sebzelerin toplam antioksidan aktivite kaybının haşlama yöntemi ve sebze türlerine göre farklılık gösterdiğine işaret etmektedir (Tablo 4.8, 4.10, 4.12). Bu çalışmada, pişirme yöntemleri içerisinde en az toplam antioksidan aktivite kaybına yol açanın buharda pişirme, en fazla toplam antioksidan aktivite kaybına yol açanın ise kızartma yöntemi olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.8, 4.10, 4.12).

Araştırma sonuçları, kabağın bol suda ve az suda haşlanması sonucu saptanan ortalama toplam antioksidan aktivite kaybının sırasıyla % 39.75 ± 2.10 ve % 23.49 ± 1.11 olduğunu göstermektedir (Tablo 4.8). Bu değerler patlıcan için sırasıyla % 35.76 ± 0.84 ve % 15.58 ± 1.26 , patates için ise sırasıyla % 35.46 ± 1.47 ve % 16.39 ± 1.65 olarak saptanmıştır (Tablo 4.10, 4.12). Saptanan değerlere göre sebzelerin bol suda haşlanması sırasında ortalama toplam fenolik madde kayıplarının % 39.75 ± 2.10 ile % 35.46 ± 1.47 arasında değiştiği ve sıralamanın kabak>patlıcan>patates şeklinde olduğu görülmektedir (Tablo 4.8, 4.10, 4.12). Araştırma sonuçları ayrıca, bol suda ($F=21.220$; $p < 0.0001$) ve az suda ($F=92.023$; $p < 0.0001$) haşlama sonucu kabak ile patlıcan ve kabak ile patates arasındaki kayıp oranları arasındaki farkın önemli olduğunu göstermiştir (Şekil 4.15).

Haşlama işlemi hücre zarının yarı geçirgenliğini bozar. Hücre içi havanın dışarı çıkmasına ve bu boşluklara suyun dolması ile bir sıvı faz oluşmasına neden olur. Sebzelere uygulanan haşlama işleminde antioksidan bileşenlerden C vitamini kayıplarının genellikle % 20-25 veya daha yüksek oranda olduğu ve özellikle bol su içinde haşlamanın bu besin

ögesinin suya geçmesi ile kaybın büyük oranda olduğu bilinmektedir (114). Haşlama ile toplam antioksidan aktivite kaybı ile ilintili araştırma raporlarında da (108,109,134,135) buna benzer bulgular olduğu işaretlenmiştir. İsmail ve arkadaşlar (134) pırasa, ıspanak ve lahana da haşlama sonucu önemli düzeyde ($p<0.05$) antioksidan kaybı saptamıştır. Gazzani ve diğerleri (135) haşlama sırasında besinlerde antioksidan aktivite kaybı olduğunu ve bu kaybın pişirme süresine bağlı olabileceğini ileri sürmüştür.

Bu araştırmada, buharda pişirilmiş sebzelerde ortalama toplam antioksidan aktivite kaybının kabak için $\% 11.98 \pm 1.60$, patlıcan için $\% 11.27 \pm 1.46$, patates için ise $\% 10.80 \pm 0.97$ olduğunu göstermektedir (Tablo 4.8, Tablo 4.10, Tablo 4.12). Bu değerler çerçevesinde buharlı pişirme sonucu ortalama toplam antioksidan aktivite kaybı kabak>patlıcan>patates şeklinde sıralanmaktadır. Araştırma sonuçları buharda pişirme sonucu her bir sebze için saptanan kayıp oranları arasındaki farkın önemsiz ($F=1.718$; $p>0.1$) olduğunu göstermektedir. Genelde sebzelerin buharda pişirilmesi, fenolik madde ve antioksidan kaybını önlemek açısından en iyi yöntemlerden bir tanesi olarak belirtilmektedir (27,108,136,137). Bu araştırmada da buharda pişirilmiş sebzelerin antioksidan aktivite kayıp değerleri uygulanan diğer yöntemler arasında daha düşük saptanmıştır. Bu bulgunun, bu araştırmada kullanılan ekstra hızlı pişirme sağlayan ve bu nedenle besin değerini daha fazla koruyan , piyasaya son zamanlarda çıkan katlı buharlı pişiriciden kaynaklandığı düşünülebilir.

Bu araştırmada, sebzelerden kabağın düdüklü tencerede pişirilmesi sonucu saptanan toplam antioksidan aktivite kayıp oranı $\% 17.39 \pm 1.96$ dir. Patlıcan ve patates için saptanan bu değerler sırasıyla $\% 14.39 \pm 0.79$ ve $\% 12.40 \pm 1.21$ dir. Bu bulgular çerçevesinde düdüklü tencerede pişirme sonucu ortalama toplam antioksidan aktivite kaybı kabak>patlıcan>patates şeklinde sıralanmaktadır. Düdüklü tencerede buhar dışarı kaçamadığından tencerenin içindeki basınç gittikçe artmakta, böylece pişirilmesi istenen besinlerin ısısı suyun kaynama derecesinden çok daha yükseğe çıkmaktadır. Bu yüksek sıcaklık da yiyeceğe süratle nüfuz ederek, besin değerini kaybetmeden daha çabuk pişmesini sağlamaktadır (108,136,137). Bu araştırmada sebzelerin düdüklü tencerede pişirilmesi sonucu saptanan toplam antioksidan aktivite kayıp oranı $\% 12.40 \pm 1.21$ ile $\% 17.39 \pm 1.96$ arasında değişmektedir. Diğer araştırmacıların yaptıkları araştırmalarda bu konuya değinilmediğinden, bu araştırmada saptanan bulgunun herhangi bir kıyaslaması yapılamıyacaktır. Bununla beraber, bu değerlerin yine bu araştırmada düdüklü tencere ile pişirme sonucu $\% 19.85 \pm 2.55$ ile $\% 10.49 \pm 1.37$ arasında saptanan toplam fenolik madde kaybı ile ilintisi olabilir.

Bu araştırmanın sonuçları mikrodalgada pişirilmiş sebzelerde ortalama antioksidan aktivite kayıp oranı kabak için $\% 21.42 \pm 1.34$, patlıcan için $\% 22.34 \pm 1.34$ patates için ise $\%$

18.82±1.62 olduğunu göstermektedir (Tablo 4.8, 4.10, 4.12). Bu değerler çerçevesinde mikrodalgada pişirme sonucu ortalama toplam fenolik madde kaybı patlıcan>kabak>patates şeklinde sıralanmaktadır. Bu araştırmada saptanan bulgular Zhang ve diğerleri' (111) nin bulgularının altındadır. Araştırmacılar, mikrodalgada bol su ve açık kapta 5 dk süre ile pişirilmiş brokolilerde antioksidan aktivite kaybını % 64 civarında olduğunu belirtmektedirler. Kuti ve diğerleri (104) ıspanağın iki ayrı türünü mikrodalgada az su kullanarak, kapalı kapta 2 dk süre ile pişirmiş ve ortalama antioksidan aktivite kaybını % 5.33 ve % 22.87 olarak saptamıştır. Türkmen ve diğerleri (26), 7 farklı sebze de mikrodalga ile pişirme yöntemi uygulayarak toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite kayıplarını belirlemiştir. Antioksidan aktivite kaybı açısından farklı sebzeler farklı sonuç vermiştir. Bazılarında antioksidan aktivitenin kısmen arttığı, diğerlerinde düştüğü gözlenmiştir ve toplam fenolik madde ile birebir bağlantıya rastlanamamıştır. Araştırmacılar, mikrodalga ile pişirmede, kullanılan su miktarı, pişirme zamanı ve pişirme kabının açık veya kapalı olmasının sonuçları doğrudan etkileyebileceğini vurgulamıştır .

Araştırma sonuçları, kabağın kızartılması sonucu saptanan ortalama toplam antioksidan aktivite kaybının % 61.73±2.39 olduğunu göstermektedir (Tablo 4.8). Bu değerler patlıcan ve patates için sırasıyla % 49.86±2.23 ve % 48.78±1.61 olarak saptanmıştır (Tablo 4.10, 4.12). Bu değerler çerçevesinde kızartma sonucu ortalama toplam fenolik madde kaybı kabak>patlıcan>patates şeklinde sıralanmaktadır. Franke ve diğerleri (86), suda ve yağda pişirme sırasında patlıcanda bulunan hidroksisinnamik asitin üçte birinin ve antosiyanidin ile antioksidan aktivitenin büyük bir kısmının kaybolduğunu ifade etmiştir. İsmail ve diğerleri (134), lahana, karalahana ve ıspanakta ısı işlem sonucu antioksidan aktivitenin ve fenolik içeriğin önemli ($p<0.05$) derecede düştüğünü bildirmiştir. Flavonoidlerin ısıya karşı hassas olduğu ve suda pişirme sırasında kersetinin pişirme suyuna geçerek kayıp olduğu bildirilmiştir (100). Bu bulguların aksine, bir başka çalışmada, kırmızı pancar ve yeşil fasulyeye ısı işlemi (115°C, 30 dk) uygulayıp sebzelerin fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Yeşil fasulyede, ilk 10-15 dakikada fenolik içeriğindeki düşüş % 12-30 arası saptanırken, ısı işlem uzadıkça, fenolik içeriğinde artış kaydedilmiştir. Ancak, antioksidan aktivitelerde % 20 oranında kayıp saptanmıştır. Kırmızı pancarın fenolik madde ve antioksidan aktivitelerinde değişiklik gözlenmemiştir (100). Uzun süre ısı işlem sonucu, besinlerde maillard reaksiyon ürünleri üretilmektedir ve bunlardan bazıları pro-oksidan etkisi gösterirken diğerleri antioksidan aktiviteler sergilemektedir. Ayrıca, pişirme sırasında su ve lipid fazın karışımı, besin matriks'ten pro-oksidan ve antioksidan maddelerin çıkmasına ve kendi aralarında değişik tepkimelere neden olmaktadır (99).

Sonuç olarak pişirilmeden önce besin hazırlama işlemi, sebzelerin toplam fenolik bileşik içeriği ve antioksidan aktivitelerini etkilemektedir. Fenolik asitler ve antosiyanin gibi bazı fenolik bileşiklerin sebzelerin dış ve kabuk kısmında bulunmasından dolayı, sebzelerin kabuk soyma ve doğrama şekli onların fenolik madde içeriğini etkilemektedir (20,101). Ewald ve diğerleri (27), kabuk soyma ve doğrama sırasında soğanda % 39 kersetin kaybını tespit etmiştir. Patlıcan ve patatesin kabuk kısmında fenolik maddenin daha yoğun şekilde bulunduğu öne sürülmüş ve kabuğun tamamen soyulmasının, ikisinde de fenolik maddelerin oldukça azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (19,117,118).

Besinin fenolik bileşik içeriği ve antioksidan özelliğini etkileyen bir başka önemli etmen ise pişirme süresidir. Pişirme süresi uzadıkça hem fenolik maddelerin, hem de antioksidan aktivitenin azaldığı saptanmıştır. Price ve arkadaşları (103), kızartma sırasında, ilk beş dakikada soğanda % 9 kersetinin arttığını, daha sonraki dakikalarda % 30 kayıp olduğunu belirlemiştir. Farklı çalışmalarda, 3-60 dakika haşlama sırasında, soğanda % 20.6 – 75 arası değişen bir kersetin kaybı gözlenmiştir. Pişirme zamanına bağlı olarak domates, bezelye, fasulye, patlıcan gibi sebzelerde de fenolik bileşik kaybının % 22.4 - 86 arasında değiştiği görülmüştür. Bu değişikliğin, pişirme yöntemleri, pH, su aktivitesi (a_w), sebzelerde bulunan diğer maddeler, hasılat türü gibi etmenlere bağlı olduğu öne sürülmüştür (103,110,138).

Pişirme sonucu, fenolik bileşiklerin kimyasal yıkıma uğramasından dolayı, genel olarak besinin fenolik bileşik içeriğinin ve antioksidan aktivitesinin olumsuz şekilde etkilemektedir (25). Bu çalışmada olduğu gibi yapılan diğer çalışmalarda da, saptanan kayıp oranları uygulanan farklı pişirme yöntemleri sonucu, hem yöntemine göre (pişirme derecesi, pişirme süresi, sebze-haşlama suyu oranı, sebzenin parça boyutları, pişirme kabı seçimi, pişirme kabının açık veya kapalı olması vb.) hem de sebze çeşitlerine göre farklılık göstermiştir (102,105,109,111).

Bunun dışında, laboratuvar ve mutfakta kullanılan araç gereçler de farklılık yaratabilmektedir. Bu çalışmada, analiz öncesi çiğ ve pişirilmiş sebzeler, mutfakta kullanılan blenderde 30 saniye en yüksek devirde çalıştırarak homojen hale getirilmiştir. Benzer çalışmalarda bu işlem için mutfak blenderi tercih edilirken (24,26,104,109) bazı çalışmalarda ultra homojenizer kullanılmıştır (103,108). Örneklerin homojen hale getirilmesi, besin matriksinden fenolik bileşiklerin açığa çıkmasını sağlamaktadır – diğer taraftan, fenolik bileşiklerin stres, ve mekaniksel hasara maruz kalması, savunma mekanizma olarak daha fazla artmasına neden olmaktadır (19,30,31).

Japonya’da yapılan bir çalışmada, 8 tane polifenol üzerinde farklı baharatlar ekleyerek ısı işlemi uygulanmıştır. Baharat eklendiğinde kafeik asit, kateşin ve epikateşinde ısı işlem

sonucu antioksidatif aktivitelerin (DPPH radikal süpürücü özelliği) ve anti-mutajen aktivitenin (benzo- α -pyrene karşı) arttığı gözlenmiştir. Ancak, baharatların yokluğunda aynı sonuca ulaşamamıştır (139). Domates suyunda ve çay ekstraktinde uzun süreli ısı işlem sonucu antioksidan aktivitelerin arttığı bildirilmiştir (23,28,156). Bu makalelerde ve diğer makalelerde de, yüksek derecede uzun süre pişirme sonucu peroksidaz inaktivasyonu, antioksidan aktiviteye sahip bazı maddelerde reaksiyon bileşiklerinin (MRP) oluşumu ve bazı doğal bileşiklerin antioksidan aktivitelerini artırışından dolayı, böyle bir sonuca varılabileceği öne sürülmüştür (23,28,30,31).

İşlem sırasında çığ besinlerin proteinleri açığa çıkartmak ve mikroorganizmaları yok etmek amacıyla besin öğelerine alkaliler eklenmektedir. Alkalinin özellikle fenolik asitlerini yıktığı bildirilmiştir. Kafeik, klorojenik ve gallik asitlerin yüksek pH'a karşı en hassas, kateşin, epigallokateşin, ferulik asit, rutin ve sinnamik asitlerin yüksek pH'a karşı daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir (108). Bir başka çalışmada, bazik bir ortamda, ısı işlemi uygulandığında genel olarak polifenollerin antioksidatif aktivitelerinin (DPPH radikal ve süperoksid süpürücü özelliği) azaldığı bildirilmiştir (116).

5.3. Toplam Fenolik Madde ve Toplam Antioksidan Aktivite Arasındaki İlişki

Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerden, fenolik asitler ve flavonoidlerin güçlü antioksidan olduğu bildirilmiştir ve bazı çalışmalarda ikisi arasında bir pozitif ilişkiye rastlanmıştır (63,140,128,142). Pişirilmiş besinlerin toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivite arasındaki ilişkiyi somut verilere dayandıran bir bilgiye rastlanamamıştır.

Bu çalışmada, sebzelerin tüm örneklerin (çığ ve pişmiş) toplam fenolik madde ile toplam antioksidan aktivite arasındaki ilişkiye bakıldığında, toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivite arasında güçlü bir bağlantı görülmektedir. Kabak için korelasyon katsayısı $r=0.8729$ (Şekil 4.19), patlıcan için $r=0.8995$ (Şekil 4.20) ve patates için $r=0.957$ (Şekil 4.21) olarak bulunmuştur. Diğer bir ifade ile kabaktaki antioksidan aktivitesinin yaklaşık % 87'si fenolik bileşiklerden kaynaklanmakta, patlıcanda bu değer % 89, patateste yaklaşık % 95'e kadar çıkmaktadır. Antioksidan aktivitelerin geri kalan kısmı ise sebzelerde bulunan diğer antioksidan maddelerden kaynaklanmaktadır. Sebzelerin sadece çığ örneklerin toplam fenolik madde ile toplam antioksidan aktivite arasındaki ilişkiye incelediğinde patates dışında çalışılan diğer çığ besinlerde saptanan toplam fenolik madde konsantrasyonuna karşı belirlenen toplam antioksidan aktivite değerleri arasında zayıf bir korelasyon olduğunu

göstermektedir (Şekil 4.16, 4.17, 4.18). En yüksek korelasyonu patatesten rastlanmıştır ($r=0.7181$). Kabak ($r=0.4335$) ve patlıcan ($r=0.2141$) patatesi sırasıyla takip etmiştir.

Bu araştırmada saptanan toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivite arasındaki bağlantı, bazı araştırmacıların bulguları ile paralel, diğer bazılarının ile ayrıcalık göstermektedir. Kakköken ve diğerleri (140), böğürtlen ve çilekte bulunan antosiyaninler ve toplam polifenoller ile ortalama Trolox Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) değeri arasında, pozitif korelasyon göstermiştir. TEAC ile toplam polifenoller arasındaki korelasyon katsayısı $r=0.98$ iken, toplam antosiyaninler için bu değer $r=0.60$ olarak belirlenmiştir. Bu değerler, antioksidan kapasitesinin toplam polifenoller ile güçlü, antosiyaninler ile orta derecede bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bir başka çalışmada Sellappan ve diğerleri (128) siyah erik ve üzüm meyvelerinde antosiyanin ve toplam polifenol içeriği ile TEAC arasında bir güçlü korelasyon ($r=1$) olduğunu bildirmiştir. Yine Javanmardi ve diğerleri (142) fesleğende toplam fenolik madde ve toplam antioksidan arasındaki ilişki iyi olduğu ($r=0.71$) belirlemiştir.

Diğer taraftan Velioğlu ve diğerleri (63) tahıl ürünlerinde ve keten tohumlarında toplam fenolik değerler ve toplam antioksidan aktiviteler arasında iyi bir korelasyon bulmasına karşın, kırmızı soğan, mor patates, siyah erik gibi yüksek antosiyanin içeren bazı besinlerde böyle bir ilişki bulamamıştır. Aynı şekilde İsmail ve diğerleri (134), lahanası, pırasa ve ıspanakta, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite arasında bir ilişki rastlayamamıştır. Koca ve diğerleri (42), Türkiye’de 3 farklı yöreden temin edilen havuç çeşitlerinde karotenoid madde ve antioksidan aktivite belirlemiştir. Antioksidan aktivite ile karotenoid arasındaki ilişkiye bakıldığında, bir çeşit hariç, diğer çeşitlerde antioksidan aktivite ile β -karoten ve α -karoten miktarları arasında önemli bir ilişki bulamamıştır. Besinlerin farklı fenolik maddeler içerdiği ve bu maddelerin değişik antioksidatif özelliği taşıdığı bilinmektedir (122,134,128,141). Araştırmacılar (63,134) toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivite arasındaki bu zayıf ilişkinin, besin içindeki farklı fenolik bileşiklerin farklı antioksidan kapasitelerinin olmasından ve sebzelerde fenolik maddeler dışında başka antioksidan maddelerin (α -tokoferol, β -karoten, vitamin C, selenyum vb.) bulunmasından kaynaklandığını ileri sürmektedir.

5.4. Çiğ ve Çeşitli Yöntemlere Göre Pişirilen Sebzelerin Antioksidan Skor Değerlerindeki Farklılığın Nedenleri

Besinlerin toplam fenolik madde konsantrasyonları ile toplam antioksidan aktiviteleri arasındaki ilişki, son yıllarda üzerinde önemle durulan çalışma konuları arasında ilk sıralarda

yer almaktadır (18,63,-65,72,143). Ayrıca bu konuda yapılan çalışmalar besinlerin toplam antioksidan aktivitelerini değerlendirmek veya kıyaslamak üzere antioksidan skor (AS) olarak tanımlanan ve Walters ve diğerleri (143) tarafından önerilen TAA/TFM oranının hesaplanmasını önermektedir. Farklı çalışmalarda, kullanılan pişirme yöntemine göre sebzelerdeki antioksidan aktivite değerlerinde farklılık gösterilmiştir (99,115,102). Örneğin Cao ve diğerleri (72), 22 sebze arasında ORAC yöntemine göre en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan sarımsağın FRAP yöntemine göre antioksidan aktivitesini çok daha az olarak gözlemiştir ve bu sarımsak gibi sülfür içeren bileşiklerin FRAP yöntemiyle saptanamadığı gerçeği ile açıklanmıştır.

Yine meyvelerde, Alanso ve diğerlerinin (14) TEAC yöntemi kullanarak 28 meyvede bulunan antioksidan aktivite değerleri ile Wang ve diğerleri (144) tarafından ORAC ile bulunan bu değerler, 3 meyve (çilek, kiwi, armut) haricinde diğerleri için farklılık göstermiştir.

Toplam antioksidan aktivite ile toplam fenolik madde arasındaki ilişkiyi değerlendirmek üzere Walters ve diğerleri (143) tarafından antioksidan skorları (TAA/TFM $\times$ 1000) önerilmiştir. Yapılan araştırmalarda, pişmemiş bazı besinlerin antioksidan skorları mevcuttur (32,72,144). Ancak, pişirmenin antioksidan skor üzerine etkisi veya pişirme yöntemleri arasında kıyaslama konusunda bilgilere rastlanamamıştır.

Tablo 4.14, 4.15, 4.16'da bu çalışmada kullanılan örneklerin ortalama toplam antioksidan aktivite ve antioksidan skorları verilmiştir. Sebzelerin tüm örnekleri (çiğ ve pişirilmiş) incelediğinde, sebzelerin antioksidan aktivite ve antioksidan skor değerlerinin paralellik gösterdiği görülmektedir (patlıcan>kabak> patates) (Tablo 4.14, 4.15, 4.16). Cao ve diğerleri (72) tarafından saptanan antioksidan skorlar, bu sebzeler için benzer sıralama göstermektedir. Uygulanan pişirme yöntemine göre sebzelerin toplam antioksidan aktivite ve antioksidan skor arasındaki ilişkiye bakıldığında, ikisi arasında her hangi bir ilişkiye rastlanamamıştır (Şekil 4.22, 4.23, 4.24). Kabak için antioksidan aktivite ve antioksidan skor arasındaki korelasyon katsayı (r) değerleri 0.02 iken, patlıcan için 0.368 ve patates için 0.06 olarak saptanmıştır. Antioksidan skor değerleri açısından, sebzeler birbirinden farklı bulunmuştur (ANOVA = 4362.145; $p < 0.0001$); ancak pişirmenin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunamamıştır ($p > 0.1$).

Antioksidan skor, toplam antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde arasındaki ilişki yansıtan bir oran olarak gösterilmektedir ve bu çalışmada sebzelerde pişirme sırasında her ikisinin aynı şekilde etkilenmesi, bu oranı önemli bir şekilde değiştirememiştir; dolayısıyla antioksidan skorları üzerinde pişirmenin bir etkisi olmamıştır.

Diğer araştırmacıların yaptıkları araştırmalarda bu konuya değinilmediğinden, bu araştırmada saptanan bulguların herhangi bir kıyaslaması yapılamıyacaktır. Ancak pişirme sırasında, besinlerin antioksidan aktiviteleri ve toplam fenolik madde değerlerinin farklı şekilde ve oranlarda etkilendiği bilinmektedir (26-28,30,31,104,105). Antioksidan skor toplam antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde arasında bir orandır ve dolayısıyla, pişirme sırasında toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite arasındaki bu farklılık, antioksidan skor değerlerine yansımaktadır.

SONUÇLAR

Bu çalışmada kabak, patlıcan ve patatesten toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri üzerinde farklı pişirme yöntemlerinin etkileri incelenmiştir. Araştırma kapsamındaki üç çeşit sebze, farklı zaman diliminde semt pazarından satın alınarak toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktiviteleri analiz edilmiştir. Daha sonra sebzelere, bol su, az su, buharlı pişirici, düdüklü tencere, mikrodalga ve yağda kızartma dahil olmak üzere altı pişirme yöntemi uygulanmış ve toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite yönünden değerlendirilmiştir. Analizlere göre aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur.

1. Kabak, patlıcan ve patatesin başlangıç kuru madde ortalama değerleri % 10.23 ± 0.01 , % 6.78 ± 0.03 ve % 17.74 ± 0.02 , ve olarak saptanmıştır. Yalnız kızartma sırasında her bir sebzenin kuru madde değerinin önemli bir biçimde arttığı, diğer yöntemlerin, kuru madde değerlerini fazla etkilemediği dikkat çekmektedir.

2. En yüksek başlangıç fenolik madde içeriğine sahip sebzenin ortalama 912.64 ± 29.67 mg GAE/100g KMA ile patlıcan olduğu, daha sonra bunu sırasıyla 349.76 ± 30.89 mg GAE/100g KMA ile patates ve 173.09 ± 10.15 mg GAE/100g KMA ile kabağın izlediği belirlenmiştir. Aynı şekilde, en yüksek antioksidan aktiviteye sahip sebzenin ortalama 51.20 ± 4.51 μ mol TE/100g KMA ile patlıcan olduğu ve bunu sırasıyla 5.01 ± 0.61 μ mol TE /100g KMA ile kabak ve 3.12 ± 0.32 μ mol TE /100g KMA ile patatesin izlediği belirlenmiştir.

3. Kızartma sonucu kabağın toplam fenolik madde içeriğinin 65.47 ± 5.31 mg/100 g KMA' a düşmesine neden olmuş ve toplam fenolik madde kaybı % 62.2' ye ulaşmıştır. Diğer pişirme işlemlerinde saptanan kayıplar ise bol suda haşlama (105.03 ± 9.25 mg)' da % 39.22, az suda haşlama (136.37 ± 9.73 mg) ' da % 21.11, mikrodalga (136.92 ± 7.26 mg)' da % 20.98, düdüklü tencere (138.84 ± 10.97 mg)' de % 19.85, buharlı pişirici (145.50 ± 8.25 mg) ' de % 15.92 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre düdüklü tencere, mikrodalga ve az suda haşlama sırasındaki kayıplar arasında fark bulunamamıştır. Diğer yöntemler arasındaki farklar ise önemli ($p < 0.0001$) olarak saptanmıştır.

4. Patlıcanın başlangıçtaki ortalama toplam fenolik madde içeriği bol suda ve az suda haşlamada sırasıyla 597.04 ± 13.49 ve 792.26 ± 20.41 mg GAE/100g KMA' e düşmüştür. Bu

değerler için belirlenen kayıp oranları sırasıyla % 36.75 ± 1.13 ve % 13.18 ± 0.92 dir. Patlıcan için de en fazla kayıp kızartma sırasında (% 51.20 ± 1.20) saptanmıştır. Kızartma için belirlenen ortalama toplam fenolik madde değeri 445.94 ± 15.34 mg GAE/100g KMA dir. Bu değeri sırasıyla mikrodalga (734.05 ± 25.70) düdüklü tencere (809.13 ± 28.89) buharlı pişirici (823.84 ± 28.63) takip etmektedir. Bu değerler çerçevesinde saptanan ortalama kayıp oranları sırasıyla % 19.57 ± 1.08 , 11.36 ± 1.10 ve 9.85 ± 0.56 dir. Yapılan Tukey HSD testi sonuçlarına göre ise tüm pişirme yöntemleri arasındaki farklar önemli ($p < 0.0001$) olarak saptanmıştır.

5. Bol suda ve az suda haşlama işlemi ile patates örneklerinin başlangıç toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 228.99 ± 18.97 ve 298.08 ± 28.24 mg GAE/100g KMA ' e düşmüştür. Bu durum, toplam fenolik madde içeriğinde başlangıca göre sırasıyla ortalama % 34.51 ± 0.75 ve % 14.80 ± 1.02 kayıp oluştuğunu göstermektedir. Patatese uygulanan çeşitli pişirme süreçleri sonunda en fazla kayıp oranına kızartma sırasında (% 49.10 ± 1.96) rastlanırken, bunu % 34.51 ± 0.75 kayıp ile bol suda haşlama izlemiştir. En iyi sonuçlar ise buharlı pişirici (% 9.50 ± 0.81) ve düdüklü tencere (% 10.49 ± 1.37) ile alınmıştır. Bu değerleri % 18.13 ± 0.74 lük kayıpla düdüklü tencerde pişirme izlemektedir. Bu sonuçlara göre sadece buharda pişirme ile düdüklüde pişirme sırasında oluşan toplam fenolik madde kayıp oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur, diğer tüm pişirme yöntemleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.0001$).

6. Kabak, başlangıçta ortalama 5.01 ± 0.61 $\mu\text{mol TE}/100$ g içeriğine sahipken, kızartma, bol suda ve az suda haşlama, mikrodalga, düdüklü tencere ve buharlı pişiricide pişirme sonucu, bu değerler sırasıyla 1.93 ± 0.37 , 3.03 ± 0.47 , 3.82 ± 0.46 , 3.93 ± 0.49 , 4.14 ± 0.57 ve 4.41 ± 0.60 $\mu\text{mol TE}/100$ g olarak saptanmıştır. Bu süreçler çerçevesinde, ortalama toplam antioksidan düzeylerinde sırasıyla % 61.73 ± 2.39 , % 39.75 ± 2.10 , % 23.49 ± 1.11 , % 21.42 ± 1.34 , % 17.39 ± 1.96 ve % 11.98 ± 1.60 oranında azalma olduğu belirlenmiştir. Yapılan Tukey HSD testi sonuçlarına göre mikrodalgada pişirme ile az suda haşlama arasındaki toplam antioksidan aktivite kayıpları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz, diğer yöntemler arasındaki farklar ise önemli ($p < 0.0001$) bulunmuştur.

7. Bu araştırmada patlıcanın başlangıç toplam antioksidan aktivite değeri ortalama 51.20 ± 4.51 $\mu\text{mol TE}/100$ g olarak bulunmuştur. Patlıcanın özellikle kızartılması ve bol suda haşlanması toplam antioksidan aktivite içeriğinin sırasıyla 25.63 ± 2.01 ve 33.03 ± 2.89 μmol

TE/100g'a düşmesine neden olmuş ve toplam antioksidan aktivite kaybı sırasıyla % 49.86±2.23 ve % 35.76±0.84' e ulaşmıştır. Diğer işlemlerde de bu azalma görülmüştür. Yapılan tüm pişirme yöntemleri arasında toplam antioksidan aktivite kaybı en az buharlı pişiricide (% 11.27±1.46) pişirme sonucu saptanmıştır. Sonuçlara göre, az suda haşlama ile düdüklü tencerede pişirme sırasındaki ortalama toplam antioksidan aktivite kayıpları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz, diğer yöntemler arasındaki farklar ise önemli ($p < 0.0001$) bulunmuştur.

8. Patates için, başlangıçtaki toplam antioksidan değeri bol suda ve az suda haşlamada sırasıyla 2.02 ± 0.24 ve 2.62 ± 0.30 $\mu\text{mol TE}/100\text{g KMA}$ 'a düşmüştür. Bu değerler için belirlenen kayıp oranları sırasıyla % 35.46±1.47 ve % 16.39±1.65 dir. En fazla kayıp kızartma sırasında (%48.78±1.61) saptanmıştır. Kızartma için belirlenen ortalama toplam antioksidan aktivite değeri $1.60 \pm 0.19 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g KMA}$ dir. Bu değeri sırasıyla mikrodalga ($2.54 \pm 0.28 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$) düdüklü tencere ($2.74 \pm 0.29 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$) ve buharlı pişirici ($2.78 \pm 0.29 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$) takip etmektedir. Bu değerler çerçevesinde saptanan ortalama kayıp oranları sırasıyla % 18.82±1.62, % 12.40±1.21 ve % 10.80±0.97 dir. Sonuç olarak en fazla kayıp kızartma sırasında görülürken, bunu bol suda haşlama izlemektedir. Kayıp açısından, en iyi sonuçlar buharlı pişirici ve düdüklü tencere ile alınmıştır. Yapılan Tukey HSD testinden elde edilen sonuçlar buharda ve düdüklü tencerede pişirme arasındaki farklılığın önemsiz, diğer yöntemler arasındaki farklılığın ise önemli ($p < 0.0001$) olduğunu göstermiştir.

9. Tüm sebzelere uygulanan çeşitli pişirme yöntemlerine göre saptanan ortalama toplam fenolik madde kayıp oranları arasında farklılık olup olmadığı bakıldığında, Kızartma ve bol suda haşlama sonucu her bir sebze için saptanan kayıp oranları arasındaki fark önemli ($p < 0.0001$) bulunmuştur. Az suda haşlama sonucu ise kabak ile patlıcan ve kabak ve patates arasındaki kayıp oranları arasındaki fark önemli ($p < 0.0001$) olarak saptanmıştır. Buharda ve düdüklü tencerede pişirme sonucu kabak ile patlıcan ve kabak ile patates arasındaki kayıp oranları arasındaki fark önemli ($p < 0.0001$) bulunmuştur. Mikrodalgada pişirme sonucu patates ile kabak arasındaki fark önemli ($p < 0.0001$) olarak saptanmıştır.

10. Tüm sebzelere uygulanan çeşitli pişirme yöntemlerine göre saptanan ortalama toplam antioksidan aktivite kayıp oranları arasında farklılık olup olmadığı incelendiğinde, bol suda ve az suda haşlama sonucu kabak ile patlıcan ve kabak ve patates arasındaki kayıp oranları

arasındaki fark önemli ($p < 0.0001$) bulunmuştur. Buna karşın buharda pişirme sonucu her bir sebze için saptanan kayıp oranları arasındaki fark önemsiz, düdüklü tencerede pişirme sonucu her bir sebze için saptanan kayıp oranları arasındaki fark önemlidir ($p < 0.0001$). Mikrodalgada pişirme sonucu ise patates ile patlıcan ve patates ile kabak arasındaki kayıp oranları arasındaki fark önemli ($p < 0.0001$) olarak saptanmıştır. Kızartma sonucu ise kabak ile patlıcan ve kabak ile patates arasındaki kayıp oranları arasındaki fark önemlidir ($p < 0.0001$).

11. Bu çalışmada, sebzelerin tüm örneklerin (çiğ ve pişmiş) toplam fenolik madde ile toplam antioksidan aktivite arasındaki ilişkiye bakıldığında, toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivite arasında güçlü bir bağlantı görülmektedir. Kabak için korelasyon katsayısı $r = 0.8729$, patlıcan için $r = 0.8995$ ve patates için $r = 0.957$ olarak bulunmuştur. Ancak çiğ örneklerde patates dışında ($r = 0.7181$), diğer örneklerde toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivite arasındaki ilişkisi önemli bulunamamıştır.

12. Çiğ ve pişirilmiş olarak incelediğinde sebzelerin antioksidan aktivite değerleri ve antioksidan skorları paralellik göstermektedir (patlıcan > kabak. > patates). Ancak pişirmiş örneklerde antioksidan skor ve toplam antioksidan aktivite arasında her hangi bir korelasyon bulunamamıştır ($r = 0.02$). Ayrıca, yapılan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey Testine göre, AS değerleri üzerinde pişirme yöntemlerinin etkisi rastlanamamıştır ($p > 0.1$)

13. Sonuç olarak, kayıp açısından kızartma ve bol suda haşlamanın her sebze için önemli bir fark yarattığı saptanmıştır. Diğer yöntemler, farklı sebzelere göre zaman zaman benzerlik veya farklılık göstermiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre, bol suda haşlama ve kızartma dışında uygulanan diğer pişirme yöntemleri, besindeki fenolik bileşik ve antioksidan aktivitelerini büyük bir ölçüde korumaktadır.

ÖNERİLER

1. Sebzelerde "gizli kayıp" olarak bilinen besin ögesi kayıpları, hasat sonrası ile tüketim aşaması arasındaki süreçte meydana gelmekte ve bazı durumlarda besin ögesi değerinin hepsinin yitirilmesiyle sonuçlanmaktadır. Bu nedenle her aşamada sağlıklı hazırlama, pişirme ve saklama ilkelerine dikkat edilmelidir.
2. Besin değerlerinin yanı sıra, fenolik ögeler gibi spesifik fizyolojik aktif bileşenleri ile iyi hal ve sağlığı geliştirici, bazı hastalık riskini azaltıcı potansiyel etkisi olan ve yaşam kalitesini yükselttiği belirtilen besinlere her geçen gün ilgi artmaktadır. Araştırma verileri, fenolik bileşiklerden zengin ve antioksidan aktivite gösteren bu besinlerin diyetle yeterince yer alması sonucu bazı kronik hastalık risklerinin azaltılabileceğini, dolayısı ile maliyeti her geçen gün artan sağlık harcamalarının düşürülebileceğini göstermektedir. Ancak, besinlerin iyi hal ve sağlığı geliştirici ve bazı hastalık risklerini önleyici potansiyel etkilerini belirlemek amacıyla, in vivo, in vitro ve epidemiyolojik araştırmaların yapılmasına devam edilmeli, kontrollü çalışmalarla güvenilirlik artırılmalı, bu araştırmaları desteklemek için teşvik sağlanmalıdır.
3. Bu çerçevede, ülke çapında besin tüketim sıklığı ve fenolik madde alımına ait veriler elde edilerek, diyetle gerekli modifikasyonlar veya öneriler yapılmalıdır.
4. Son zamanlarda bir çok sebzenin fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi belirlenmesine rağmen, farklı pişirme yöntemlerinin bu sebzelerin toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteleri üzerindeki etkileri ile ilgili kapsamlı bir çalışma bulunamamaktadır. Bu araştırmada, çalışılan örnekler arasında uygulanan çeşitli pişirme yöntemleri sonucu toplam fenolik madde ve antioksidan değerlerinin farklılık gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle, benzer çalışmalarda sebze çeşitliliğinin artırılarak besin hazırlama (soyma, kesme, rendeleme v.b.), çeşitli pişirme (fırında v.b.), işleme (kurutma, fermentasyon v.b.) ve saklama yöntemlerinin fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri üzerine etkisi araştırılmalıdır.
5. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, pişirme sırasındaki fenolik madde ve antioksidan aktivite kaybını önlemek amacıyla, sebzeler kapalı kaplarda az suda pişirilmeli, pişirme suyu atılmamalı ve pişirme süresi kısa tutulmalıdır.

6. Fenolik bileşiklerin emilimini, metabolizmasını ve biyoyararlılığını etkileyen etmenler üzerinde daha kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır.
7. Fenolik bileşiklerin, protein gibi besinin diğer makromolekülleri ile yaptığı etkileşimler sonucunda, bu moleküllerin sindirilirliğine olumsuz etkileri gibi faktörler gözönüne alınarak, fenolik bileşiklerin günlük alınması gereken referans miktarları saptanmalıdır.
8. Bu çalışmada, üzerinde çalışılan sebzelere çeşitli pişirme yöntemlerinin uygulanması sonucu toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri arasında saptanan önemli farklılıklar, benzer araştırmalarda daha fazla sayıda örnekle çalışılmasının yararlı olacağını yansıtmaktadır.
9. Ayrıca çalışma sonuçları, (i) araştırmaya dahil edilmeyen sebzeler üzerinde de benzer çalışmanın yürütülmesi (ii) hassas sonuçlar alınabilmesi için ilerki çalışmalarda HPLC yöntemlerinin kullanılması gerekliliğini ortaya koymuştur.

KAYNAKLAR

1. Young, I.S., Woodside, J.V. (2001). Antioxidants in health and disease. *J Clin. Pathol.*, 54, 176-186.
2. Cheeseman, K.H., Slater, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3):481-493.
3. Benzie, I.F.F. (2000). Evolution of antioxidant defence mechanisms. *Eur. J. Nutr.*, 39, 53-61.
4. Nie, G., Wei, T., Shen, S. and Zhao, B. (2001). Polyphenol protection of DNA against damage. *Methods in Enzymology*, 335, 232-244.
5. Kris-Etherton, P.M., Hecker, K.D. (2002). Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am. J. Med.*, 113(9B), 71s-88s.
6. Kehrer, J.P., Smith, J.V. (1994). Free radicals in biology: Sources, reactivities and roles in the etiology of human diseases. *Natural Antioxidants in Health and Disease*. ed:Frei, B., Academic Press Inc., USA, 25-55.
7. Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C. (2005). Dietary polyphenols and prevention of diseases. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 45, 287-306.
8. Morton, L.W., Cacetta, R.A., Puddey, I.B., Croft, K.D. (2000). Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 27, 152-159.
9. Prior, R.L. (2003). Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am. J. Clin. Nutr.*, 78(supp), 570s-578s.
10. Kaur, C., Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 36, 703-725.
11. Diplock, A.T., Charleux, J.L. (1998). Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Br. J. Nutr.*, 80(1), 77-112.
12. Cooke, J.P. (1998). Nutraceuticals for cardiovascular health. *Am. J. Cardiol.*, 82(10A), 43S-46S.
13. Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317-333.
14. Garcia-Alonso, M., De Pascual-Teresa, S. (2004). Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry*, 84, 13-18.

15. Franke, A., Cooney, R., Henning, M., Custer, L. (2005). Bioavailability and antioxidant effects of orange juice components in humans. *J. Agric. Food. Chem.*, 53, 5170-5178.
16. Halliwell, B. (1999). Food derived antioxidants. Evaluating their importance in food and in vivo. *Food Sci. Agr.*, 1, 67-109.
17. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Res.*, 22, 375-383.
18. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.* 20(7), 933-956.
19. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.*, 79, 727-747.
20. Ju, Z.,J., Yuan, Y. (1996). Relationships among simple phenol, flavonoid and anthocyanin in apple fruit peel at harvest and scald susceptibility. *Postharvest Biol. Tech.*, 8, 83-93.
21. Hakkinen, S.H., Karenlampi, S.O., Mykkanen, H.A., Torronen, A.R. (2000). Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. *J. Agric. Food. Chem.*, 48, 2960-2965.
22. Connor, A.M., Luby, J.J. (2002). Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold temperature storage. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 893-898.
23. Manzocco, L., Anese, M., Nicoli, M.C. (1998). Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. *Lebensm-Wiss.u.-Technol.*, 31, 694-698.
24. Nilsson, J., Stgmark, R., Akesson, B. (2004). Total antioxidant capacity in different pea (*pisum sativum*) varieties after blanching and freezing. *Food Chemistry*, 86, 501-504.
25. Roy, M.K., Takenaka, M., Isobe, S., Tsushida, T. (2006). Antioxidant potential, anti-proliferative activities, and phenolic content in water-soluble fractions of some commonly consumed vegetables: Effect of thermal treatment. *Food Chemistry*. (article in press).
26. Türkmen, N., Sari, F., Velioğlu, S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, 93, 713-718.
27. Ewald, C., Fjellkner-Modig, S., Johansson, K., Sjöholm, I., Akesson, B. (1999). Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans, and peas. *Food Chemistry*, 64, 231-235.
28. Anese, M., Manzocco, L., Nicoli, M.C., Lerici, C.R. (1999). Antioxidant properties of tomato juice as affected by heating. *J. Sci. Food. Agric.*, 79, 750-754.

29. Hunter, K.J., Fletcher, J.M. (2002). The antioxidant activity and composition of fresh, frozen, jarred and canned vegetables. *Innov. Food Sci. and Emerg. Technol.*, 3, 399-406.
30. Lindley, M.G. (1998). The impact of food processing on antioxidants in vegetable oils, fruits and vegetables. *Trends in Food Sci. Tech.*, 9, 336-340.
31. Nicoli, M.C., Anese, M. (1997). Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. *Cancer Letters*, 114, 71-74.
32. El, S.N., Karakaya, S., Taş, A.A. (1999). Bazı gıdalardaki fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin in vitro koşullarda saptanması. Tübitak Projesi (TOGTAG 1698), İzmir.
33. Nordberg, J., Arner, E.S.J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system, *Free Radical Biology & Medicine*. 31(11): 1287-1312.
34. Hughes, D.A. (2000). Dietary antioxidants and human immune function. *Brit. Nutr. Foundation Nutr. Bulletin*, 25, 35-41.
35. Zhao, K., Whiteman, M., Spencer, J.P.E., Halliwell, B. (2001). DNA damage by nitrite and peroxynitrite: protection by dietary phenols. *Methods in Enzymology*, 335, 296- 307.
36. Halliwell, B. (2000). Antioxidant activity and other biological effects of flavonoids. *Wake up to flavonoids*, Ed; Rice-Evans, International Congress and Symposium Series 226, The Royal Society of Medicine Press Limited, 13-23.
37. Saris, W.H.M., Asp, N.G.L. (1998). Functional food science and substrate metabolism. *Br. J. Nutr.*, 80(1), S47-S75.
38. Hider, R.C., Liu, Z.D., Khodr, H.H. (2001). Metal chelation of polyphenols, *Methods in Enzymology*. 335, 190-203.
39. Yang, C.S., Landau, J.M., Huang, M.T. (2001). Newmark, H.L., Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Ann. Rev. Nutr.*, 21, 381-406.
40. Chu, Y.H., Chang, C.L., Hsu, H.F. (2000). Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 561-566.
41. Halliwell, B., Rafter, J., Jenner, A. (2005). Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not, *Am. J. Clin. Nutr.*, 81(1), 268-276.
42. Koca, N. (2006). Havuçlarda karotenoidler ve antioksidan aktivite. Doktora Tezi, Gıda Müh. Anabilim Dalı, Fen Bilimler Enst., Ankara Üniversitesi.

43. Beecher, G.R. (2003). Proceedings of the third international scientific symposium on tea and human health: role of flavonoids in the diet – Overview of dietary flavonoids: Nomenclature, occurrence and intake. *J. Nutr.*, 133, 3248s-3254s.
44. Hollman, P.C.H., Hertog, M.G.L., Katan, M.B. (1996). Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 57(1), 43-46.
45. Burda, S., Oleszek, W. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric. and Food Chem.*, 49, 2774-2779.
46. Wollgast, J., Anklaam, E. (2000). Review on polyphenols in theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res. Intl.*, 33, 423-447.
47. King, A., Young, G. (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J.A.D.A.*, 99, 213-218.
48. Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism of actions. *Mut. Res.*, 579, 200-213.
49. Bors, W., Michel, C., Stettmaier, K. (2001). Structure-activity relationships governing antioxidant capacities of plant polyphenols. *Methods in Enzymology*, 335, 166-180.
50. Halliwell, B. (2001). Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: Therapeutic implications for antioxidant treatments. *Drugs Aging*, 18, 685-716.
51. Yan, J.J., Cho, J.Y. (2001). Protection against beta-amyloid peptide toxicity in vivo with long term administration of ferulic acid. *Br. J. Pharmacol.*, 133, 89-96.
52. Matsuoka, Y., Hasegawa, H. (1995). Ameliorative effects of tea catechins on active oxygen related nerve cell injuries. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 274, 602-608.
53. Hsu, F.L., Chen, Y.C., Cheng, J.T. (2000). Caffeic acid as active principle from the fruit of *Xanthium Strumarium* to lower plasma glucose in diabetic rats. *Planta Medica.*, 66, 228-230.
54. Matsumoto, N., Ishigaki, F. (1993). Reduction of blood glucose levels by tea catechins. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 57, 525-527.
55. Liu, I.M., Hsu, F.L., Chen, C.F., Cheng, J.T. (2000). Antihyperglycemic action of isoferulic acid in streptozotocin-induced diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.*, 129, 631-636.
56. Cheng, J.T., Liu, I.M. (2000). Stimulatory effect of caffeic acid on alpha A-adrenoceptors to increase glucose uptake into cultured C2C12 cells. *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 362, 122-127.

57. Bonina, F.P., Leotta, C. (2002). Evaluation of oxidative stress in diabetic patients after supplementation with a standardized red orange extract. *Diabetes Nutr. Metab.*, 15, 14-19.
58. Naismith, D.J., Akinyanju, P.A., Szanto, S. (1990). The effect , in volunteers of coffee and decaffeinated coffee on blood glucose, insulin, plasma lipids and some factors involved in blood clotting. *Nutr. Metab.*, 12, 144-151.
59. Anderson, J.J.B., Garner, S.C. (1997). The effects of phytoestrogens on bone. *Nutr. Res.*, 17, 1617-1632.
60. Tsuchida, K., Mizushima, S., Toba, M., Soda, K. (1999). Dietary soyabean intake and bone mineral density among 995 middle aged women in Yokohama. *J. Epidemiol.*, 9, 14-19.
61. Hertog, M.G.L., Hollman, P.C., Katan, M.B. (1992). Contents of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 2379-2383.
62. Zhou, K., Yu, L. (2006). Total phenolic contents and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in Colorado. *LWT.*, 1155-1162.
63. Velioğlu, Y.S., Mazza, G., Oomah, B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food. Chem.*, 46, 4113-4117.
64. Podsedek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassicca vegetables: a review. *Lebensm-Wiss.u.-Technol.*, 40, 1-11.
65. Vinson, J.A. (1998). Tea Phenols: Antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. *Nutr. Res.* 18(6), 1067-1075.
66. Weisburger, J.H. (1999). Mechanisms of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes and tea. *Food Chem. Toxicol.*, 37, 943-948.
67. Dragsted, L.O. (2003). Antioxidant actions of polyphenols in humans. *Intl. J. Vitam. Nutr. Res.*, 73(2), 112-119.
68. Dreosti, I.E. (2000). Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition.* 16(7/8), 692-694.
69. Ross, J.A., Kasum, C.M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects and safety. *Ann. Rev. Nutr.*, 22, 19-34.
70. Rice Evans, C.A., Miller, N.J. (1996). Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem. Soc. Trans.*, 24, 790-795.
71. Cirico, T.L., Omaye, S.T. (2006). Additive or synergistic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. *Food Chem. Toxicol.*, 44, 510-516.

72. Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L. (1996). Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 3426-3431.
73. Peri, C., Pompei, C. (1971). Estimation of different phenolic groups in vegetable extracts. *Phytochemistry*, 10, 2187-2189.
74. Kaplan, M., Hayek, T. (2001). Pomogranate juice supplementation to atherosclerotic mice reduces macrophage lipid peroxidation, cellular cholesterol accumulation and development of atherosclerosis. *J. Nutr.* 131, 2082-2089.
75. Nijveldt, R.J., Nood, E.V. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.*, 74, 418-425.
76. Geleijnse, J.M., Launer, L.J. (2002). Inverse association of tea and flavonoid intakes with incident of myocardial infarction: the rotterdam study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 75, 880-886.
77. Mukhtar, H., Ahmad, N. (2000). Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71(supp), 1698s-1720s.
78. Gupta, S., Ahmad, N., Mohan, R.R., Hussain, M.M., Mukhtar, H. (1999). Prostate cancer chemo prevention by green tea: In vitro and in vivo inhibition of testosterone-mediated induction of ornithine decarboxylase. *Cancer Res.*, 59, 2115-2120.
79. Flohe, L., Brigelius-Flohe, R., Saliou, C., Traber, M.G., Packer, L. (1997). Redox regulation of NF-kappa B activation. *Free Radic. Biol. Med.*, 22, 1115-1126.
80. Minussi, R., Rossi, M. (2003). Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chemistry*, 82, 409-416.
81. Lin, J.K., Chen, Y.C., Huang, Y.T., Lin-Shiau, S.Y. (1997). Suppression of protein kinase C and nuclear oncogene expression as possible molecular mechanisms of cancer chemo prevention by apigenin and curcumin. *J. Cell. Biochem. Supp.*, 28, 38-48.
82. Larsson, S.C., Bergkvist, L., Giovannucci, E., Wolk, A. (2006). Coffee consumption and incidence of colorectal cancer in two prospective cohort studies of Swedish women and men. *Am. J. Epidemiol.*, 163, 638-644.
83. Beckman, K.B., Ames, B.N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews*, 78(2), 547-581.
84. Barotto, V., Lopez, C.B. (1998). Quercetin enhances pretumorous lesions in the NMU model of rat pancreatic carcinogenesis. *Cancer Lett.*, 129, 1-6.
85. Tamir, S., Eizenberg, M. (2000). Estrogenic and antiproliferative properties of glabridin from licorice in human breast cancer cells. *Cancer Res.*, 60, 5704-5709.

86. Franke, A.A., Custer, L.J., Arakki, C, Murphy, S.P. (2004). Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawai. *J. Food Comp. Analys.*, 17, 1-35.
87. Tamura, H., Yamagami, A. (1994). Antioxidative activity of mono-acylated anthocyanins isolated from Muscat Bailey a grape. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1612-1615.
88. Clifford, M.N., Scalbert, A. (2000). Ellagitannins – nature, occurrence and daily burden. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1118-25
89. Clifford, M.N. (2000). Anthocyanins- nature, occurrence and daily burden. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1063-1072
90. Rasmussen, S.E., Breinholt, V.M. (2003). Non-nutritive bioactive food constituents of plants: Bioavailability of flavonoids. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 73(2), 101-111.
91. Blaut, M., Schoefer, L., Braune, A. (2003). Transformation of flavonoids by intestinal microorganisms. *Intl. J. Vitam. Nutr. Res.*, 73(2), 79-87.
92. Hollman, P.C.H., Devries, J.H.M. (1995). Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am. J. Clin. Nutr.*, 62:1276-1282.
93. Hollman, P.C.H., Trijp, M.P.V. (1997). Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Letters*, 418, 152-156.
94. Kim, D.O., Jeong, S.W., Lee, C.Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81, 321-326.
95. Amanatidou, A., Slump, R.A. (2000). High oxygen and high carbon dioxide modified atmospheres for shelf-life extension of minimally processed carrots. *J. Food Sci.*, 65(1), 61-66.
96. Vina, S.Z., Chaves, A.R. (2006). Antioxidant responses in minimally processed celery during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 94, 68-74.
97. Javanmardi, J. Kubota, C. (2006). Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 41, 151-155.
98. Ke, D., Salveit, M.E. (1988). Plant hormone interaction and phenolic metabolism in the regulation of russet spotting in iceberg lettuce. *Plant Physiol.*, 88, 1136-1140.
99. Nicoli, M.C., Anese, M., Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruits and vegetables. *Trends in Food Sci. Tech.*, 10, 94-100.
100. Jiratanan, T., Liu, R.H. (2004). Antioxidant activity of processed table beets (*beta vulgaris* var, *conditiva*) and green beans (*phaseolus vulgaris* L.). *J.Agric. Food. Chem.*, 52, 2659-2670.

101. Hirota, S., Shimoda, T., Takahama, U. (1998). Tissue and spatial distribution of flavonol and peroxidase in onion bulbs and stability of flavonol glucosides during boiling of the scales. *J.Agric. Food. Chem.*, 46, 3497-3502.
102. Ioku, K., Ayoma, Y. (2001). Various cooking methods and the flavonoid content in onion. *J. Nutr Sci Vitaminol.*, 47, 78-83.
103. Price, K.R., Bacon, J.R., Rhodes, M.J.C. (1997). Effects of storage and domestic processing on the content and composition of flavonol glucosides in onion (*Allium cepa*). *J. Agric. Food. Chem.*, 45, 938-942.
104. Kuti, J.O., Konuru, H.B. (2004). Antioxidant capacity and phenolic content in leaf extracts of tree spinach (*Cnidoscolus* spp.). *J. Agric. Food. Chem.*, 52, 117-121.
105. Lombard, K., Peffley, E. (2005). Quercetin in onion after heat treatment simulating home preparation. *J. Food Comp. Analys.*, 18, 571-581.
106. Gerard, K.A., Roberts, J.S. (2004). Microwave heating of apple mash to improve juice yeild and quality. *Lebensm-Wiss. u. -Technol.*, 37, 551-557.
107. Work, T.M., Camire, M.E. (1996). Phenolic acid detection thresholds in processed potatoes. *Food Qual.Pref.*, 7(3/4), 271-274.
108. Tudela, J.A., Cantos, E. (2002). Induction of antioxidant flavonol biosynthesis in fresh cut potatoes. Effect of domestic cooking. *J. Agric. Food. Chem.*, 50, 5925-5931.
109. Andlauer, W., Stumpf, C. (2003). Influence of cooking process on phenolic marker compounds of vegetables. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 73(2), 152-159.
110. Friedman, M., Jurgens, H.S. (2000). Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *J. Agric. Food. Chem.*, 48, 2101-2110.
111. Zhang, D., Hamazu, Y. (2004). Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*, 88, 503-509.
112. Jeong, S.M., Kim, S.Y. (2004). Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *J. Agric. Food. Chem.*, 52, 3389-3393.
113. Lin, C.H., Chang, C.Y. (2005). Textural change and antioxidant properties of broccoli under different cooking treatments. *Food Chemistry*, 90, 9-15.
114. Nursal, B. (1995). Ticari dondurulan bazı sebzelerin C vitamini içerikleri ve değişik pişirme araçlarının C vitamini değerine etkisi. *Bilim Uzmanlığı Tezi, Beslenme ve Diyetetik Programı, Hacettepe Üniversitesi*, 47-48.
115. Scalzo, R.L., Iannocari, T. (2004). Effect of thermal treatments on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice. *Food Chemistry*, 85, 41-47.

116. Yen, G.C., Hung, C.Y. (2000). Effects of alkaline and heat treatment on antioxidative activity and total phenolics of extracts from Hsian-tsao (*mesona procumbens hemsl.*). *Food Res. Intl.*, 33, 487-492.
117. Verde Mendez, C.D.M., Delgado, M.A.R. (2004). Content of free phenolic compounds in cultivars of potatoes harvested in Tenerife (Canary Islands). *J. Agric. Food Chem.* 52, 1323-1327.
118. Whitaker, B.D., Stommel, J.R. (2003). Distribution of hydrocinnamic acid conjugates in fruit of commercial eggplant (*Solanum melongena* L.) cultivars. *J. Agric. Food. Chem.*, 51, 3448-3454.
119. Hanson, P.M., Yang, R.Y., Tsou, S. (2006). Diversity in eggplant (*Solanum melogena*) for superoxide scavenging activity, total phenolics, and ascorbic acid. *J. Food Comp. Analys.*, 19, 594-600.
120. Manach, C., Williamson, G., Morand, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 biavailability studies, *Am. J. Clin. Nutr.*, 18(1), 230-242.
121. Noda, Y., Kneyuki, T., Igarashi, K., Mori, A., Packer, L. (2000). Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant peels. *Toxicology*, 148, 119-123.
122. Matilla, P., Hellstrom, J. (2007). Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *J. Food Comp. Analys.*, 20, 152-160.
123. Al-Saikhhan, MS., Howard, LR., Miller, J.C. (1995). Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato (*Solanum tuberosum* L.). *J. Food Sci.*, 60, 341-7.
124. Friedman, M. (1997). Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review. *J. Agric. Food. Chem.*, 45, 1523-1540.
125. Crozier, A., Lean, M.E.J., McDonald, M.S., Black, C. (1997). Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *J. Agric. Chem.*, 45, 590-595.
126. Clifford, M.N. (2000). Miscellaneous phenols in foods and beverages – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1126-1137.
127. Hollman, P.C.H., Arts, C.W. (2000). Flavonols, flavones and flavanols – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1081-1093.
128. Sellappan, S., Akoh, C.C., Krewer, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. *J. Agric. Food. Chem.*, 50, 2432-2438.
129. Bartolome, B., Nunez, M. (2004). In vitro antioxidant activity of red grape skins. *Eur. Food Res. Technol.*, 218, 173-177.

130. Can, A., Özçelik, B., Güneş, G. (2007). Meyve sebzelerin antioksidan kapasiteleri. *Kimya Metalurji Gıda Müh. Böl. İTÜ.*, 1458-1461.
131. Wang, H., Cao, G., Prior, R.L. (1997). Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 304-309.
132. Teow, C.C., Truang, V.D., McFeeters, R.F. (2007). Antioxidant activities, phenolic and B-carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chemistry*, 103, 829-838.
133. Wang, S.Y., Stretch, A.W. (2001). Antioxidant capacity in cranberry is influenced by cultivar and storage temperature. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 969-974.
134. Ismail, A., Marjan, Z.M. Foong. (2004). Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chemistry*, 87, 581-586.
135. Gazzani, G., Papetti A., Massolini G. (1998). Anti- and prooxidant activity of water-soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal treatment. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 4118-4122.
136. Yadav, S.K., Sehgal, S. (1995). Effect of home processing on ascorbic acid and B-carotene content of spinach and amaranth leaves. *Plant Foods for Human Nutr.*, 47, 125-131.
137. Khachik, F., Goli, M.B., Beecher, G.R. (1992). Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 390-398.
138. Arabshahi, S., Vishalakshi, D., Urooj, A. (2007). Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chemistry*, 100, 1100-1105.
139. Bao, H., Ren, H. (2004). Effects of heating and the addition of seasonings on the anti-mutagenic and anti-oxidative activities of polyphenols. *Food Chemistry*, 86, 517-524.
140. Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 3954-3962.
141. Chu, Y.F., Sun, J., Wu, X., Liu, R.H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 6910-6916.
142. Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J.M. (1997). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian oregano accessions. *Food Chemistry*, 2003, 83, 547-550.
143. Walters, M., Haesman, T., Hughes, P. (1997). Comparison of Total Antioxidant Activity of Beers with Other Beverages. *BRFI Quarterly*, April, 18-20.

144. Wang, H., Cao, G., Prior, R.L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 701-705.
145. A.O.A.C., Official Methods of Analysis 14th Edition. (1984). Association of Official Analytical Chemist Inc., Virginia
146. Vinson, J.A., Hao, Y., Su, X., Zubk, L. (1998). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3630-3634.
147. Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
148. Vinson, J.A., Hontz, B.A. (1995). Phenol Antioxidant Index: Comparative antioxidant effectiveness of red and white wines. *J.Agric.Food.Chem.*, 43(2):401-403.
149. Miller, J.N., Rice-Evans, C., Davies, M.J. (1993). A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. *Clinical Science*, 84, 407-412.
150. Miller, N.J., Diplock, A.T., and Rice-Evans, C.A. (1995). Evaluation of the Total Antioxidant Activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage. *J. Agric. Food Chem.*, 43:1794 -1801.
151. Van Den Berg, R., Haenen, G. (1999). Applicability of an improved trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurement of mixtures. *Food Chemistry*, 66, 511-517.
152. Montgomery, D.C. (1991). Design and analysis of experiments. 3rd edition. John Wiley and Sons Inc. Canada, 161-167.
153. Olthof, M.R., Hollman, P.C., Zock, P.I., Katan, M.B. (2001). Consumption of high doses of chlorogenic acid, present in coffee, or of black tea increases plasma total homocystiene concentration in humans. *J. Clin. Nutr.*, 73, 532-538.
154. Scalbert, A., Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.*, 130, 2073s-2085s.
155. Halliwell, B. (2001). Antioxidant and pro-oxidant abilities of foods and beverages. *Methods in Enzymology*, 335, 181-190.
156. Sahlin, E., Savage, G.P., Lister, C.E. (2004). Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing. *J. Food Comp. Analys.*, 17, 635-647.
157. Brevik, A., Rasmussen, S.E., Drevon, C.A., Anderson, L.F. (2004). Urinary excretion of flavonoids reflects even small changes in the dietary intake of fruits and vegetables. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 13(5), 843-849.

158. Akissoe, N., Hounhouigan J. (2003). How blanching and drying affect the colour and functional characteristics of yam. *Food Chemistry*, 82, 257-264.
159. Attia, R.S., Shehata, A.M.E., Aman, M.E., Hamza, M.A. (1994). Effect of cooking and decortication on the physical properties, the chemical composition and the nutritive value of chickpea. *Food Chemistry*, 50, 125-131.
160. Alonso, R., Aguirre, A., Marzo, F. (2000). Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chemistry*, 68, 159-165.
161. Alonso, R., Orue, E., Marzo, F. (1998). Effects of extrusion and conventional processing methods on protein and antinutritional factor contents in pea seeds. *Food Chemistry*, 63(4), 505-512.
162. Lee, A., Thurnham, I., Chopra, M. (2000). Consumption of tomato products with olive oil but not sunflower oil increases the antioxidant activity of plasma. *Free Rad. Biol. Med.*, 29 (10), 1051-1055.
163. Chen, Y.T., Lin, K.W. (2007). Effects of heating temperature on the phenolic compound, antioxidative ability and the stability of dioscorsin of various yam cultivars. *Food Chemistry*, 101, 955-963.
164. Nursal, B. (2001). Sebzelerin ticari ve ev koşullarında dondurulması ve depolanmasının C vitamini içeriklerine etkisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 60-69.
165. Selman, J.D. (1994). Vitamin retention during blanching of vegetables. *Food Chemistry*, 49, 137-147.
166. Spanos, G.A., Wrolstad, R.E., Heatherbell, D.A. (1990). Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1572-1579.
167. Heimler, D., Vignolini, P. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry*, 99, 464-469.
168. Chang, C.H., Lin, H.Y., Chang, C.Y., Liu, Y.C. (2006). Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze dried and hot air dried tomatoes. *J. Food Engineering*, 77, 478-485.
169. Kimira, M., Arai, Y. (1998). Japanese intake of flavonoids and isoflavonoids from foods. *J. Epidemiol.*, 8:168-175.
170. Moreno, D.A., Carvajal, M., Berenguer, C.L., Viguera, C.G. (2006). Chemical and biological characterisation of neurtaceutical compounds of broccoli. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 41, 1508-1522.
171. Kırca, A., Özkan, M., Cemeroğlu, B. (2006). Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. *Food Chemistry*, 97, 598-605.

172. Hamilton, R. J., Kalu, C., Prisk, E. (1997). Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chem.*, 60(2):193-199.
173. Huang, Y.C., Chang Y.H., Shao, Y.Y. (2006). Effects of genotype and treatment on the antioxidant activity of sweet potato in Taiwan. *Food Chemistry*, 98, 529-538.
174. Singh, J., Upadhaya, A.K., Bahadur, A. (2006). Antioxidant phytochemicals in cabbage. *Scientia Horticulturae*, 108, 233-237
175. Heimler, D., Vignolini, P., Dini M.G. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local brassiceae edible varieties. *Food Chemistry*, 99, 464-469.
176. Silva, F.A., Borges, F., Ferreira, M.A. (2001). Effects of phenolic propyl esters on the oxidative stability of refined sunflower oil. *J. Agric. Food. Chem.*, 49(8), 3936-3941.
177. Saxena, R., Venkaiah, K., Anitha, P. (2007). Antioxidant activity of commonly consumed plant foods, *Int. J. Food Sci.Nutr.* 58(4), 250-260.
178. Gonzalez-Santiago, M, Martin-Bautista, E., Carrero, J.J. (2006). One-month administration of hydroxytyrasol, a phenolic antioxidant present in olive oil, to hyperlipemic rabbits improves blood lipid profile, antioxidant status and reduces atherosclerosis development. *Atherosclerosis*, 188(1), 35-42.
179. Andrikopoulos, N.K., Dedoussis, G.V., Falirea, A. (2002). Deterioration of natural antioxidant species of vegetable edible oils during the domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 53(4), 351-363.

Ek: 1

6.1. Pişirme Yöntemleri

6.1.1. Bol suda haşlama (H_B)

Çelik tencere (20-22 cm çapı olan) kullanılmıştır. Tencereye 250 mL kaynamış su (patlıcan için 375 mL) tencereye konulduktan sonra yıkanmış, ayıklanmış ve kesilmiş 100 g sebze eklenmiştir. Kaynamaya başlayınca, ocağın yanar durumda tutulabildiği en düşük düzeyde, tencere kapakları hiç açılmadan 20 dakika pişirilmiştir. Pişirme için doğalgaz ile çalışan dört ocaklı mutfak tipi bir fırın ve fırının en küçük boy ocağı kullanılmıştır.

6.1.2. Az suda haşlama (H_A)

Çelik tencere (12-14 cm çapı olan) kullanılmıştır. Tencereye 50 mL kaynamış su (patlıcan için 75 mL) konulduktan sonra yıkanmış, ayıklanmış ve kesilmiş 100 g sebze eklenmiştir. Kaynamaya başlayınca, ocağın yanar durumda tutulabildiği en düşük düzeyde, tencere kapakları hiç açılmadan 20 dakika pişirilmiştir. Pişirme için doğalgaz ile çalışan dört ocaklı mutfak tipi bir fırın ve fırının en küçük boy ocağı kullanılmıştır.

6.1.3. Buharlı Pişirici ile pişirme (B)

Buharlı pişiricinin su haznesinde belirlenmiş miktarda su konulmuştur ve açma düğmesi basılmıştır. Buhar oluştuktan sonra yıkanmış, ayıklanmış ve kesilmiş 100 g sebze pişiricinin orta katında eklenmiştir ve kapağı kapatıp 10 dakika pişirilmiştir.

6.1.4. Dödüklü Tencerede pişirme (D)

Pişirme aracı olarak 7 Lt'lik dödüklü tencere (Tefal) kullanılmıştır. Tencereye 50 mL kaynamış su (patlıcan için 75 mL) konulduktan sonra yıkanmış, ayıklanmış ve kesilmiş 100 g sebze eklenmiştir. Kapağı kapattıldıktan sonra buhar oluşturmak için yüksek ateşte 2.5 – 3 dakika bekletilmiştir. Daha sonra, ocağın yanar durumda tutulabildiği en düşük düzeyde 5 dakika pişirilmiştir. Pişirme için doğalgaz ile çalışan dört ocaklı mutfak tipi bir fırın ve fırının en küçük boy ocağı kullanılmıştır.

6.1.5. Mikrodalga Fırında Pişirme (M)

Arçelik markalı fırın (MD 594) kullanılmıştır. Kapaklı mikrodalga fırın tepsisi içinde 50 mL kaynamış su (patlıcan için 75 mL) konulduktan sonra yıkanmış, ayıklanmış ve kesilmiş 100 g sebze eklenmiştir ve kapalı olarak 740 W güç seviyesinde 5 dakika pişirilmiştir.

6.1.6. Yağda Kızartma (K)

Thermospot'lu yapışmaz kaplama (30-32 cm çapı olan, Tefal) tavalar kullanılmıştır. 100 g ayçiçek yağı 190°C kadar ısıtıldıktan sonra yıkanmış, ayıklanmış ve kesilmiş 100 g sebze 7 ve 10 dakika süre ile orta düzey ateşte kızartılmıştır. Pişirme için doğalgaz ile çalışan dört ocaklı mutfak tipi bir fırın ve fırının orta boy ocağı kullanılmıştır.

Tablo 6.1'de uygulanan yöntemleri kısaca verilmiştir.

Tablo 6.1. Sezelerde Uygulanan Pişirme Yöntemleri

Piştirme Yöntemi	Örnek (g)	Su (mL)	Yağ (g)	Zaman (dk)	Derece (°C)
H _B	100	250/375	-	20	-
H _A	100	50/75	-	20	-
B	100	-	-	20	-
D	100	50	-	5	-
M	100	50	-	5	740W
K	100	-	100	7-10	190

Ç: Çiğ HB: Haşlama (bol su) HA: Haşlama (az su) B: Buharlı pişirici D: Düdüklü tencere
M: Mikrodalga K: Kızartma

Ek: 2

6.2. Analiz Yöntemleri

6.2.1. Kuru Madde Analizi

Araştırmada kullanılan sebzelerin çiğ ve pişirme sonrası kuru madde analizleri belirli ağırlıktaki örneğin kontrollü şartlarda kurutulması ilkesine dayanan ve AOAC 1984'de belirtilen yöntemle göre yapılmıştır (A.O.A.C., 1984). Yöntem gereğince kurutulup darası alınmış kurutma kaplarına 2-3 g örnek tartılmış, kabın tabanına iyice yayılmış ve etüvde $100^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur (145).

6.2.2. Toplam Fenolik Madde (TFM) Analizi

Çalışılan çiğ ve pişmiş sebze örneklerin fenolik madde konsantrasyonları Vinson ve diğerlerinin Folin-Ciocalteu spektrofotometrik yöntemine göre yapılmıştır (146,147). Yöntem; fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu çözeltisinde bulunan fosfotungstik ve fosfomolibdik asitlerin kompleks polimerik iyonları ile oksidasyonu sonucu oluşan mavi renkli molibden-tungsten kompleksinin konsantrasyonunun 765 nm dalga boyunda ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır (147). Homojenize edilen örnekten 0.5-1.5 g tartıldıktan sonra 1 mL HCl çözeltisi (%50'lik metanolde hazırlanmış 1.2 M HCl) eklenmiştir. Bu çözücü sistemi (HCl+metanol) hücre membranını parçalayarak bağlı formdaki fenolik bileşiklerin serbest forma geçmesini sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Daha sonra örnekler 90°C 'deki çalkalamalı su banyosunda 2 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda oda sıcaklığına soğutulan örneklerin hacmi deiyonize su ile 10 mL'ye tamamlanmış ve kaba filtre kağıdından geçirilmiştir. Berrak kısım, hem toplam fenolik madde tayininde hem de toplam antioksidan aktivite saptanmasında kullanılmıştır. 100 μL örnek üzerine 900 μL deiyonize su eklenmiş, üzerine 5 mL 0.2 N Folin- Ciocalteu reaktifi ve ardından 4 mL doymuş sodyum karbonat (Na_2CO_3) (75 g/L) eklenmiş ve vorteks ile karıştırılmıştır. $50 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış su banyosunda 5 dakika bekletildikten sonra hemen soğutulmuş ve UV-VIS spektrofotometrede (ATI UNICAM 8700 model) 765 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Gallik asidin çözeltileri aynı akım şemasına göre hazırlanmış ve standart eğri elde edilmiştir. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak verilmiştir. Toplam fenolik madde analizi her bir çiğ ve pişmiş sebze örneği için 3 kere tekrarlanmıştır.

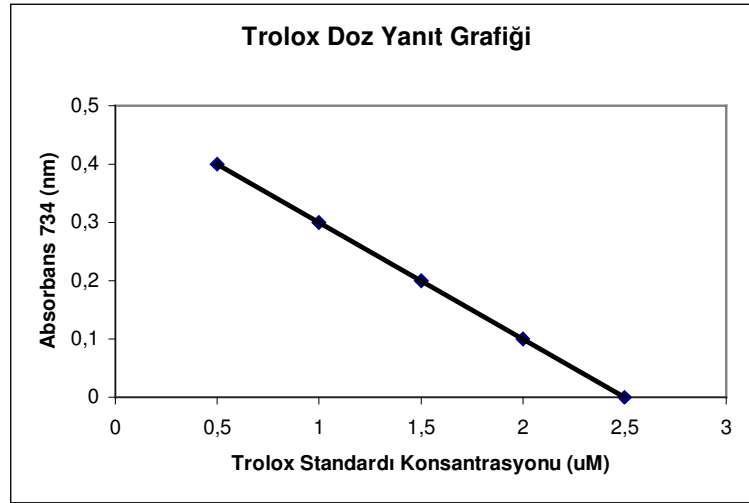
6.2.3. Antioksidan Aktivitenin (AA) Saptanması

Çalışılan besinlerin antioksidan aktivitesi (AA) Miller ve arkadaşlar tarafından geliştirilen yöntemle göre yapılmıştır. Yöntem, $ABTS^+$ [2,2'-azinobis (3-etil benzotiyazolin-6-sulfonik asit)] radikal katyonu ile oluşturulan oksidasyon üzerine sulu fazdaki antioksidan bileşiklerin inhibisyon etkilerinin sentetik antioksidan Troloks ile karşılaştırılarak ölçülmesi prensibine dayanır. H_2O_2 ve metmiyoglobin (MMb) arasındaki reaksiyonla oluşan ferrilmiyoglobin radikali ortamda bulunan ABTS ile reaksiyona girerek mavi-yeşil renkli $ABTS^+$ radikalini oluşturur. Ortama eklenen antioksidan bileşikler ile $ABTS^+$ radikal katyonunun oluşumu engellenmektedir. Antioksidan bileşiklerin $ABTS^+$ radikal katyonunun oluşumu üzerine inhibisyon etkisi, bu bileşiklerin antioksidan kapasitesi ile direkt olarak ilişkilidir (149,151).

$ABTS^+$ radikal katyonunun maksimum absorbans yaptığı dalga boyları 417, 645, 734 ve 815 nm'dir. Ancak spesifik olmayan indirgen maddelerin etkileşimini önlemek amacı ile spektrofotometrik ölçüm ATI UNICAM Model 8700 UV-Vis spektrofotometre ile 734 nm dalga boyunda yapılmıştır.

Örnekler antioksidan aktivite analizine alınmadan önce analizde kullanılacak metmiyoglobin çözeltisinin saflaştırılması, Troloks çalışma çözeltileri ile doz-yanıt grafiğinin elde edilmesi gerekmektedir (150). Troloks çalışma çözeltileri (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mM) ile çalışılan antioksidan aktivite yöntemi sonucunda elde edilen sonuçlara göre doz-yanıt grafiği Şekil 6.1' de gösterilmiştir. Yöntemde 2.5 mM Troloks'un antioksidan aktivitesi %100 olarak kabul edilmiştir.

Şekil 6.1. Trolox çalışma çözeltisi ile elde edilen doz-yanıt grafiği



Metmiyoglobinin saflaştırılması amacı ile 50x2 cm boyutlarında ağzı traşlı ve kapaklı, musluklu, musluk kısmının üzerinde filtre bulunan cam bir kolon yaptırılmış daha sonra kromik asitle temizlenmiş ve yıkanmıştır. Yaklaşık olarak 50 g Sephadex G15-120 kolondaki yüksekliği 30 cm olacak şekilde hesaplanan hacminin 1.5 katı kadar hacimde fosfat tamponu ile (pH 7.4) karıştırılmış ve kolon türbülansı önleyecek şekilde uygun teknik kullanılarak bu karışım doldurulmuştur. 400 µM konsantrasyonunda 10 mL miyoglobin çözeltisi ile 10 mL 740 µM ferrisiyanid çözeltisi karıştırılmış, oda sıcaklığında 1 saat bekletildikten sonra kolona verilmiştir. Daha sonra kolondan fosfat tamponu geçirilerek musluk yardımı ile ilk kahverengi fraksiyon toplanmış ve 490, 560, 580 ve 700 nm dalga boylarında absorbans değerleri okunmuştur. 700 nm’de okunan absorbans değeri, diğer dalga boylarında okunan değerlerden çıkartılmıştır. Kahverengi fraksiyonda bulunan miyoglobin formlarının birbirlerine göre oranları ve metmiyoglobin konsantrasyonu aşağıda verilen formüller yardımı ile hesaplanmıştır (150):

$$[\text{Metmiyoglobin fraksiyonu}] = 146 A_{490} - 108 A_{560} + 2.1 A_{580}$$

$$[\text{Ferrimiyoglobin fraksiyonu}] = -62 A_{490} + 242 A_{560} - 123 A_{580}$$

$$[\text{Oksimiyoglobin fraksiyonu}] = 2.8 A_{490} - 127 A_{560} + 153 A_{580}$$

Homojenize edilen örnekten 0.5-1.5 g tartıldıktan sonra 1 mL HCl çözeltisi (% 50’lik metanolde hazırlanmış 1.2 M HCl) eklenmiştir. Bu çözücü sistemi (HCl+metanol) hücre membranını parçalayarak bağlı formdaki fenolik bileşiklerin serbest forma geçmesini

sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Daha sonra örnekler 90°C'deki çalkalamalı su banyosunda 2 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda oda sıcaklığına soğutulan örneklerin hacmi deiyonize su ile 10 mL'ye tamamlanmış ve kaba filtre kağıdından geçirilmiştir. Berrak kısım, antioksidan aktivite tayininde kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde tayını için hazırlanan örneği antioksidan aktivite tayını için da kullanılmıştır. Cam tüplere alınan 21 µL örnek üzerine 2126.5 µL tampon, 90 µL MMb (70 mM) ve 75 µL ABTS (5.0 mM) eklenmiştir. Karışımın sıcaklığı, su banyosunda 30°C'ye getirildikten sonra 375 µL H₂O₂ (1 mM) eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Absorbans reaksiyonun lag fazın bitim noktasında okunur. Ancak lag fazın bitim noktasına kadar geçen süre ortam sıcaklığına, H₂O₂ konsantrasyonuna, saflığına ve diğer çözeltilerin konsantrasyonlarına göre değişmektedir. Bu nedenle, o günün koşullarının tanımlanması açısından okuma süresi 2.5 mM Troloks standardı ile saptanmıştır (Yaklaşık 6 dakika). Kör için 2147.5 µL fosfat tamponu, 75 µL ABTS ve 90 µL metmiyogloblin çözeltileri karıştırılmıştır. Toplam antioksidan aktivite analizi her bir sebze/yöntem örneği için 3 kere tekrarlanmıştır. Absorbans ölçümü ATI UNICAM Model 8700 UV-Vis spektrofotometre ile 734 nm dalga boyunda yapılmıştır ve sonuçlar Trolox Equivalent Antioxidant Capacity [(Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) (TEAC)] olarak verilmiştir (144,148).

6.3. Toplam Antioksidan Aktivitenin (TAA) ve Antioksidan Skorun (AS) Hesaplanması

Çalışılan her besin için 1-4 mM arasında değişen 3 farklı konsantrasyonda fenolik madde içeren ekstraktları için ölçülen antioksidan aktivite (AA) değerlerinin her biri 2.5 mM Trolox'un antioksidan aktivitesine oranlanarak, besinin toplam fenolik madde konsantrasyonuna karşılık gelen antioksidan aktivite hesaplanmıştır. Ortalama değer; toplam antioksidan aktivite (TAA) olarak verilmiştir. Örneklerin antioksidan skor'ları (AS) aşağıda belirtilen eşitlik ile hesaplanmıştır (143).

$$\text{Antioksidan Skor (AS)} = \frac{\text{Toplam antioksidan aktivite (TAA)}}{\text{Toplam fenolik madde (TFM)}} \times 10^3$$

EK: 3

6.4. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Ekipmanlar

6.4.1. Kimyasal Maddeler

Gallik asit (G7384) Merck

Folin-Ciocalteu's Phenol Reagent (SF-9252) Sigma

Myoglobin (SM-1882) Merck

Sephadex G15 (SG15-120) Sigma Chemical Company

Trolox (Katalog No:A23, 881-3) Merck

2,2'azinobis (3-ethyl benzothiazoline-6 sulphuric acid) diammonium salt (ABTS) (Katalog no: 27-72-1) Aldrich

H₂O₂ (RH18304-1L) Sigma

Na₂HPO₄.12H₂O (M-106573-5000) Merck

NaH₂PO₄ (M-106586-2500) Merck

K₃[Fe(CN)₆] (SIP8131-500G) Sigma

K₂Cr₂O₇ (RH12255-1KG-R)' Riedelden sağlanmıştır.

6.4.2. Temel Ekipmanlar:

Doğalgaz ile çalışan dört ocaklı mutfak tipi fırın (Arçelik)

Mikrodalga fırın (Arçelik MD594 Intellowave 720 W)

Buharlı Pişirici (Tefal *Steam Cuisine*)

Çalkalamalı su banyosu (Memmert WB 22 model)

Ultrasonik su banyosu (Bandelin sonorex RK 100 H)

Vortex (Genie 2 Scientific Industries)

Magnetik Karıştırıcı (Branson 2510)

Düdüklü tencere (Tefal 6L)

Çift tabanlı kapalı çelik tencereler (Tefal 1 ve 4 L)

Yapışmayan teflon tava (Tefal 32 cm thermospotlu)

Blender (Waring Marka 8011 Model)

Spektrofotometre (ATI UNICAM Model 8700 UV-Vis)'dir.

6.4.3. Hazırlanan Çözeltiler:

0.2 N Folin-Ciocalteu's Phenol Reagent: 10 mL Folin-Ciocalteu's Phenol Reagent fenol çözeltisi (2.0 N) tridistile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Gallik asit stok çözeltisi: 0.1 g gallik asit deiyonize suyla 100 mL'ye tamamlanmıştır.

5 mM fosfat tamponu çözeltisi (pH 7.4): $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (1.7907 g/L) ve NaH_2PO_4 (0.655 g/L) çözeltileri (yaklaşık 8:1 oranında) ve bu çözeltiliye 9.0 g/L NaCl eklenerek . pH 7.4 olacak şekilde karıştırarak hazırlanmıştır.

2.5 mM Trolox çözeltisi: 0.0626 g Trolox, fosfat tamponu ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Standart çözeltileri 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mM konsantrasyonlarında 2.5 mM Trolox çözeltisinden fosfat tamponu ile günlük hazırlanmıştır.

500 mM H_2O_2 çözeltisi: %36'lık H_2O_2 'den 417 μL alınır, 10 mL'ye fosfat tamponu ile tamamlanmıştır.

1 mM H_2O_2 çözeltisi: 0.1 mL 500 mM'lık stok H_2O_2 'den alınarak fosfat tamponu ile 50 mL'ye tamamlanmıştır.

400 μM Metmyoglobin çözeltisi: 0.0752 g myoglobin, fosfat tamponuyla 10 mL'ye tamamlanır. Bu çözelti ile 10 mL ferrisiyanid çözeltisi karıştırılarak oda sıcaklığında 20 dakika bekletildikten sonra kolona uygulanmıştır.

5 mM ABTS çözeltisi: 0.0274 g ABTS tridistile su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır.