

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

**ÜÇ FARKLI KABAK TÜRÜNÜN ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selin TÜMER

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

HAZİRAN 2023

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÜÇ FARKLI KABAK TÜRÜNÜN ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selin TÜMER

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gülnur ARABACI

HAZİRAN 2023

Selin TÜMER tarafından hazırlanan “Üç Farklı Kabak Türünün Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 14.06.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Jüri Başkanı : **Prof. Dr. Gülnur ARABACI**
Sakarya Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Doç. Dr. Ahmet Turgut BİLGİÇLİ**
Sakarya Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Doç. Dr. Esra ALTINTIĞ**
Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “ÜÇ FARKLI KABAK TÜRÜNÜN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(...../...../20.....).

Selin Tümer





Eşime ve oğluma



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans süresi boyunca yardımını, güler yüzünü, motive edici duruşunu her zaman yanımda hissettiğim, danışman hocam Prof. Dr. Gülnur ARABACI'ya teşekkür ederim.

Bu süre zarfında bilgisini, arkadaşlığını, yardımseverliğini her zaman hissettiğim arkadaşlarım Çağla ABAK ve Duygu YAMAN'a teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, desteğini, fedakarlığını benden ihmal etmeyen eşim Ahmet TÜMER'e ve aileme teşekkür ederim.

Selin Tümer



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SİMGELER	xv
TABLO LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxi
SUMMARY	xxv
1. GİRİŞ	1
1.1. Literatür Özeti	2
1.2. Çalışmanın Amacı	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Antioksidanlar İle Serbest Radikaller Hakkında Genel Bilgi	5
2.2. Antioksidanlar Hakkında Genel Bilgi	6
2.2.1. Antioksidan enzimler	7
2.2.2. Antioksidan savunma sistemi.....	8
2.2.2.1. Polifenol oksidaz (PPO).....	8
2.2.2.2. Peroksidaz (POD).....	9
2.2.2.3. Katalaz (CAT).....	9
2.2.2.4. Askorbat peroksidaz (APX)	10
2.3. Gıdalar ve Antioksidanlar	11
2.3.1. Doğal antioksidanlar	11
2.3.2. Sentetik antioksidanlar	12
2.4. Bazı Antioksidan Maddeler	12
2.5. Fenolik Bileşikler	13
2.5.1. Fenolik bileşiklerle ilgili bilgiler.....	13
2.5.2. Fenolik asitler ve aldehitler	14
2.5.3. Sinamik asitler.....	14
2.5.4. Flavonoidler	15
2.6. Çalışılan Kabaklar ve Özellikleri	18
2.6.1. Kabağın kökeni	19
2.6.2. Kabak çeşitleri ile ilgili genel bilgiler.....	19
2.6.3. Kabakların insan sağlığı açısından önemi.....	20
2.6.4. Sakız kabağı (<i>Cucurbita pepo</i>)	20
2.6.5. Balkabağı (<i>Cucurbita moschata</i>)	22
2.6.6. Spagetti kabak (<i>Cucurbita pepo</i> subsp. <i>pepo</i>)	23
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	25
3.1. Kullanılan Materyaller ve Kimyasallar	25
3.1.1. Materyal	25
3.1.2. Kimyasal maddeler	25

3.1.3. Kullanılan aletler	25
3.2. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması	26
3.2.1. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayininde kullanılan çözeltiler	26
3.2.2. Demir(II) iyonları şelatlama aktivitesinde kullanılan çözeltiler	26
3.2.3. İndirgeme kapasitesi tayini için kullanılan çözeltiler	26
3.3. Kabakların Ekstraksiyon İşlemleri	26
3.4. Uygulanan Metodlar ve Grafiklerin Çizimi	27
3.4.1. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayini	27
3.4.2. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi	27
3.4.3. İndirgeme kapasitesi tayini	28
3.4.4. Bradford yöntemi ile protein tayini	28
3.4.5. Enzim aktivitesi için homojenat hazırlanması	29
3.4.6. Kullanılan substratlar	29
3.4.7. Aktivite ölçümü	30
3.4.7.1. Polifenol oksidaz (PPO) aktivite Ölçümü	30
3.4.7.2. Polifenol oksidaz (PPO) aktivitesinin belirlenmesi	30
3.4.7.3. Peroksidaz (POD) aktivite ölçümü	30
3.4.7.4. Peroksidaz (POD) aktivitesinin belirlenmesi	30
3.4.7.5. Katalaz (CAT) aktivite ölçümü	30
3.4.7.6. Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi	31
3.4.7.7. Askorbat peroksidaz ölçümü	31
3.4.7.8. Askorbat peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi	31
4. SONUÇLAR	33
4.1. DPPH Serbest Radikal Giderim Tayini Sonuçları	33
4.2. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesi Sonuçları	34
4.3. İndirgeme Kapasitesi Tayin Sonuçları	36
4.4. Bradford Yöntemi ile Protein Miktar Tayini	38
4.5. Enzim Aktivitesi Tayin Sonuçları	39
4.5.1. Peroksidaz enzim aktivite sonuçları	39
4.5.2. Polifenol oksidaz enzim aktivitesi sonuçları	40
4.5.3. Katalaz enzim aktivitesi sonuçları	40
4.5.4. Askorbat peroksidaz enzim aktivitesi sonuçları	41
5. TARTIŞMA	43
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	55

KISALTMALAR

AsA	: Askorbik asit
BHA	: Bütillendirilmiş hidroksi anisol
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksi toluen
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
GA	: Gallik asit
MDA	: Malondialdehid
PG	: Propil gallat
QE	: Kuersetin
ROP	: Reaktif Oksijen Partikülleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
TBHQ	: Tersiyer Bütil Hidrokinon
UV	: Ultraviyole



SİMGELER

μL	: Mikrolitre [Birim]
t	: Zaman [Birim]
mg	: Miligram [Birim]
μg	: Mikrogram [Birim]
gr	: Gram [Birim]





TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Karbon sayılarına göre fenolik bileşiklerin gruplandırılması	14
Tablo 2.2. Çalışmada kullanılan kabak çeşitleri.....	19
Tablo 4.1. Kabakların POD aktivite değerleri.....	39
Tablo 4.2. Kabakların PPO aktivite değerleri	40
Tablo 4.3. Kabakların katalaz (100 µL) aktivite değerleri	41
Tablo 4.4. Kabakların katalaz (500 µL) aktivite değerleri	41
Tablo 4.5. Kabakların askorbat peroksidaz aktivite değerleri.....	42



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Fenol	13
Şekil 2.2. a) Vanilin (aldehit grup vardır). b) Gallik asit (karboksil grup vardır)	14
Şekil 2.3. Klorojenik asit	15
Şekil 2.4. Kafeik asit.....	15
Şekil 2.5. Flavonoidlerin yapısı	16
Şekil 2.6. Antoksanin üyelerinin kimyasal yapıları.....	17
Şekil 2.7. Kaempferol, kuersetin, myricetin	18
Şekil 2.8. <i>Cucurbita pepo</i>	21
Şekil 2.9. <i>Cucurbita moschata</i>	23
Şekil 2.10. <i>Cucurbita pepo subsp. pepo</i>	24
Şekil 3.1. Bradford protein tayini standart grafiği	29
Şekil 4.1. Kabak ekstreleri DPPH serbest radikali giderim aktivitesi % inhibisyon değerleri (etil asetat çözgeni)	33
Şekil 4.2. Kabak ekstreleri DPPH serbest radikali giderim aktivitesi % inhibisyon değerleri (metanol çözgeni).....	34
Şekil 4.3. Sakız kabağı, bal kabağı ve spagetti kabağın etil asetat ekstraktında şelat aktivitesi	34
Şekil 4.4. Sakız kabağı, bal kabağı ve spagetti kabağın metanol ekstraktında şelatlama aktivitesi	35
Şekil 4.5. Metal şelatlama aktivitesi % inhibisyon değerleri (etil asetat).....	36
Şekil 4.6. Metal şelatlama aktivitesi % inhibisyon değerleri (metanol)	36
Şekil 4.7. Sakız kabağı, bal kabağı ve spagetti kabağın etil asetat ekstraktlarında indirgeme kapasitesi.....	37
Şekil 4.8. Sakız kabağı, bal kabağı ve spagetti kabağın metanol ekstraktlarında indirgeme kapasitesi.....	37
Şekil 4.9. Standard BSA'nın (Bovine Serin Albumin) farklı konsantrasyonlardaki da Bradford standart grafiği.	39



ÜÇ FARKLI KABAK TÜRÜNÜN ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Canlı sistemlerdeki metabolik reaksiyonlar sırasında yaşam için tehlikeli olan zararlı serbest radikaller meydana gelebilir bunlara karşı organizmalarda doğal bir savunma mekanizması bulunmaktadır. Bu savunma mekanizmasında önemli rol oynayan bileşiklere "antioksidan" adı verilir. Antioksidanlar, serbest radikal türlerini stabil tutan, metabolizmada hücrelere zarar vermeksizin verebilecekleri zararı minimum düzeye indiren moleküllerdir.

Antioksidanların canlı yaşamı üzerindeki temel etkisi, serbest radikalleri süpürme ve zincir kırma mekanizmaları aracılığıyla gerçekleşir. Son yörüngesinde bir adet veya eşleşmemiş elektron bulunduran molekül yapıları genellikle kararsızdır ve oldukça reaktiftir. Bunlar serbest radikaller olarak adlandırılırlar. Serbest radikaller oksijen ve azot içerikli olabilirler. Bu gruptaki oksijen radikalleri hücre zarlarından kolayca geçtikleri için hücrelerdeki lipitlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısında değişikliklere neden olup etkili bir şekilde hücrelerde zararlı etki etme yeteneğine sahiptirler. Bu radikaller "reaktif oksijen türleri (ROS)"olarak adlandırılırlar. Antioksidanlar, bu zararlı ROS'ları özelliklede zincir oluşturmakta olan radikalleri çok az reaktif formlara dönüştürerek hidrojen atomu vericisi olarak işlev görür. Ortaya çıkan antioksidan radikal, aromatik halkadaki oksijen atomunun eşleşmemiş bir elektronla değiştirilmesiyle stabilize edilir. Bu sebepten ötürü antioksidan moleküller genellikle yapılarında fenolik fonksiyonları yerine getirirler. Antioksidanların insan sağlığındaki rolü son zamanlarda daha da iyi idrak edilmiştir. Araştırmalar, antioksidanların; katarakt, kanser, kardiyovasküler hastalık veya oksidatif stresin neden olduğu diğer birçok hastalığı önlemede daha etkin bir rol oynadığını göstermiştir. Antimutajenik, antitümör ve yaşlanma karşıtı etkiler, canlı organizmalarda bulunan antioksidan özelliklere sahip maddelerden kaynaklanır. Antioksidanların yokluğunda reaktif olan oksijen veya nitrojen grupları kanser, diyabet, artrit, Parkinson hastalığı, AIDS, beyin veya kalp rahatsızlığı vb. çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır.

Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayanlar olarak üzere canlı hücrelerin savunma sisteminde yer almaktadır. Canlı sistemlerde enzimatik antioksidanlar olarak Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Askorbat Peroksidaz (APX), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Glutasyon redüktaz (GR) gibi enzimler bulunurken, enzimatik olmayan antioksidanlar arasında ise melatonin, glutasyon, bilirubin, ürik asit, albümin, selenyum, koenzim Q10, α -lipoik asit ve transferrin bulunmaktadır.

Antioksidanlar ayrıca bir çok endüstriyel alanda kullanılmaktadır. Özellikle gıda sektöründe yaygın olarak kullanılan antioksidanlar yapay olarak üretilmiş antioksidanlardır. Bu amaçla kullanılan yapay antioksidan grubu içinde bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), üçüncül bütilhidrokinon (TBHQ) ve etoksigin yaygın olanlarıdır. Bu antioksidanlar çok kararlı, etkili ve ucuzdur. Bu grupta bulunan antioksidanların diğer antioksidan sınıfına göre daha ucuz

olması, dayanıklılığının ve etkinliğinin fazla olması sebebiyle kullanımı daha da yaygınlaşmıştır. Gıdalarda doğal olarak bulunduklarından, gıda sektöründe gıdaların yapısını ve besin değerlerini korumak için daha sonra eklenirler. Bu, acılaşmaya ve gıda bozulmalarına karşı çalışan kimyasaldır. Antioksidanlar vücut hücreleri tarafından üretilir ve yiyeceklerden de elde edilebilir. Gıdaların içinde bulunup insan bedenini radikallerin faydasız etkisinden korumaya çalışan belli başlı doğal antioksidanlar öncelikle vitamin grupları (A, C, E vitaminleri), flavonoid, karotenoid ve polifenoller olarak adlandırılırlar.

Antioksidanların enzim aktiviteleri incelenirken Polifenol oksidaz (PPO), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX) ve katalaz (CAT) enzimleri seçilmiştir. Polifenol oksidaz (PPO), kesilmiş meyve ve sebzelerin yüzeyindeki oksidasyon ürünlerinden kahverengimsi renk oluşturan belirli bir enzim grubunun adıdır. Bunlar esas olarak bakteri, mantar, bitki ve hayvanlarda bulunmaktadır. PPO enzimi oksidoredüktaz sınıfı bir enzim olup (EC 1.14.18.1) oksijen varlığında monofenolik bileşiklerin o-difenollere hidroksilasyonu (kresolaz aktivitesi) ve o-difenollerin o-kinonlara oksidasyonunu (katekolaz aktivitesi) katalizler. PPO enzimi meyve ve sebzelerde karamaya sebep olurken, aynı zamanda vücutta koyu renkli pigmentlerin birlikte oluşturulması, melanin pigmentlerinin biyosentezi, polifenol gruplarının başlatılması ve korunmasında da görev alır. Peroksidaz (POD) enzimi (EC:1.11.1.7), oksitleyici olarak hidrojen peroksiti (H_2O_2) kullanarak ikinci bir substrat varlığında indirgeyip su oluştururken diğer substratı da yükseltgemeyi katalizleyen bir oksidoredüktaz sınıfı antioksidan enzimidir. Peroksidazlar iki etkin gruba ayrılabilir. Bunlar; hayvan peroksidazları ve bitki, mantar, bakteri peroksidazları olarak gruplandırılabilirler. Askorbat peroksidaz (APX) H_2O_2 'yi suya indirger ve bu sırada asidi (AsA) elektron verici olarak kullanır. APX'ler (askorbat peroksidazlar) bitkilerin antioksidan savunma mekanizmalarında önemli rola sahiptir. Katalaz (CAT) enzimi (E.C.1.11.1.6), hidrojen peroksitin (H_2O_2) suya ve oksijene dönüşümünü katalize eden, aerobik hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan bir oksidoredüktaz sınıfı enzimdir. Hücrenin içinde bulunan metabolizmayla ilgili süreçlerle üretilen hidrojen peroksit, katalaz enzim tarafından hidrolize edilmezse, hücrelerde vücutta kalıcı hasara neden olan oldukça zararlı ve zehirli bir radikal üretilir.

Bu çalışmada, Sakarya'da yetiştirilen üç farklı kabak türünün (bal kabağı, spagetti kabak, sakız kabak) kabuk ve iç kısımlarının antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Antioksidan aktiviteleri, üç farklı antioksidan analiz yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla kullanılan yöntemler; Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesi, DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi ve İndirgenme Kapasitesidir. Aynı zamanda üç farklı kabak türünün kabuk ve iç kısımlarının antioksidan enzim (Polifenoloksidaz, Peroksidaz, Katalaz ve Askorbat peroksidaz) aktiviteleri incelenmiştir. Analiz sonuçlarında; analizi yapılan kabakların kabuğu ve iç kısımlarından çıkan sonuçlar en yüksek DPPH aktivitesi, etil asetat bal kabağının kabuk kısmında %94,93 ($\pm 0,12$) değeri ile belirlenmiş olup, metanolde ise en yüksek DPPH giderim aktivitesi spagetti kabağının kabuk kısmında % 94,40 ($\pm 0,18$) olarak belirlenmiştir. En yüksek İndirgeme kapasitesi tayininde etil asetat ekstratlarında çalışılan kabak çeşitlerinde görülmüştür. Demir (II) İyonlarını Şelatlama yönteminde etil asetat ekstratlarında en fazla bal kabağının kabuk kısmında belirlenmiş olup, metanol ekstratlarında ise en fazla bal kabağının iç kısmında belirlenmiştir.

Kabakların antioksidan enzim aktivitelerini belirlerken dört adet enzim için aktiviteler belirlenmiştir. Bu enzimler polifenol oksidaz, peroksidaz, katalaz ve askorbat peroksidazdır. Kabaklarda polifenol oksidaz enzim değerleri analiz edildiğinde en

yüksek enzim aktivitesi spagetti kabağın kabuk kısmında bulunurken, en düşük enzim aktivitesi bal kabağının kabuk kısmında bulunmuştur. Peroksidaz enzim aktivitesi incelendiğinde ise en yüksek enzim aktivitesi balkabağının kabuk kısmında bulunurken, en düşük enzim aktivitesi sakız kabağının iç kısmında belirlenmiştir. Katalaz enzim aktivitesi incelendiğinde 100 μ L için; en yüksek değer bal kabağının kabuk kısmında bulunurken, en düşük değer sakız kabağının kabuk kısmında bulunmuştur. Katalaz enzim aktivitesi ayrıca 500 μ L'lik hacimde denendiğinde ise maksimum aktivite değeri spagetti kabağın kabuk kısmında görülürken, en düşük enzim aktivite değeri sakız kabağının iç kısmında görülmüştür. Askorbat peroksidaz için en fazla enzim aktivite değeri bal kabağının kabuk kısmında bulunurken, en düşük enzim aktivite değeri spagetti kabağın iç kısmında bulunmuştur. Böylece elde edilen tüm veriler ışığında, Sakarya'da yetişen üç farklı kabağın farklı kısımlarındaki enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan aktiviteleri değerlendirildiğinde en yüksek antioksidan aktivitenin balkabağının kabuk kısmında olduğu belirlenmiştir.





DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF THREE DIFFERENT CUCURBITA SPECIES

SUMMARY

There is a natural defense mechanism in the body against free radicals formed as a result of certain metabolic reactions. The molecules that play crucial role in the defense mechanism are called "antioxidants". Antioxidants are molecules that keep free radical species stable and minimize the damage they can cause in metabolism without damaging the cells.

The main effect of antioxidants on living life is through the mechanisms of scavenging free radicals and breaking chains. Molecular structures with one or an unpaired electron in their final orbital are usually unstable and highly reactive. These are called free radicals. Free radicals can contain oxygen and nitrogen. Since oxygen radicals in this group easily pass through cell membranes, they have the ability to cause changes in the structure of lipids, proteins and nucleic acids in cells and have an effective harmful effect on cells. These radicals are called "reactive oxygen species (ROS)". Antioxidants act as hydrogen atom donors by converting these harmful ROS, especially chain-forming radicals, into slightly reactive forms. The resulting antioxidant radical is stabilized by replacing the oxygen atom in the aromatic ring with an unpaired electron. For this reason, antioxidant molecules generally perform phenolic functions in their structures. The role of antioxidants in human health has recently been better understood. Research shows that antioxidants; It has been shown to play a more effective role in preventing cataracts, cancer, cardiovascular disease or many other diseases caused by oxidative stress. Antimutagenic, antitumor and anti-aging effects are due to substances with antioxidant properties found in living organisms. Oxygen or nitrogen groups that are reactive in the absence of antioxidants can cause cancer, diabetes, arthritis, Parkinson's disease, AIDS, brain or heart disease, etc. cause various diseases.

Antioxidants play important roles in the defense system of living cells as enzymatic and non-enzymatic. While there are enzymes such as Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT), Ascorbate Peroxidase (APX), Glutathione peroxidase (GPx) and Glutathione reductase (GR) as enzymatic antioxidants in living systems, non-enzymatic antioxidants include melatonin, glutathione, bilirubin, uric acid, albumin, selenium, coenzyme Q10, α -lipoic acid and transferrin.

Antioxidants are also used in many industrial areas. Antioxidants, which are widely used in the food industry, are artificially produced antioxidants. Among the artificial antioxidant group used for this purpose, butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA), tertiary butylhydroquinone (TBHQ) and ethoxyquin are the common ones. These antioxidants are very stable, effective and inexpensive. The use of antioxidants in this group has become more widespread due to the fact that they are cheaper than the other antioxidant class, their durability and effectiveness are higher. This is the chemical that works against rancidity and food spoilage. Antioxidants are produced by body cells and can also be obtained from food. The main natural

antioxidants found in foods and trying to protect the human body from the useless effects of radicals are primarily called vitamin groups (vitamins A, C, E), flavonoids, carotenoids and polyphenols.

While examining the enzyme activities of antioxidants, the enzymes Polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT) were selected. Polyphenol oxidase (PPO) is the name of a particular group of enzymes that creates a brownish color from oxidation products on the surface of cut fruits and vegetables. They are mainly found in bacteria, fungi, plants and animals. PPO enzyme is an oxidoreductase class enzyme (EC 1.14.18.1) and catalyzes the hydroxylation of monophenolic compounds to o-diphenols (cresolase activity) and oxidation of o-diphenols to o-quinones (catecholase activity) in the presence of oxygen. While the PPO enzyme causes darkening in fruits and vegetables, it also takes part in the co-creation of dark pigments in the body, the biosynthesis of melanin pigments, and the initiation and protection of polyphenol groups. Peroxidase (POD) enzyme (EC:1.11.1.7) is an oxidoreductase class antioxidant enzyme that uses hydrogen peroxide (H_2O_2) as an oxidizer, reducing it in the presence of a second substrate and forming water while catalyzing the oxidation of the other substrate. Peroxidases can be divided into two active groups. These; they can be grouped as animal peroxidases and plant, fungal and bacterial peroxidases. Ascorbate peroxidase (APX) reduces H_2O_2 to water and uses acid (AsA) as an electron donor. APX (ascorbate peroxidases) have an important role in the antioxidant defense mechanisms of plants. Catalase (CAT) enzyme (E.C.1.11.1.6) is an oxidoreductase class enzyme found in aerobic animals, plants and microorganisms that catalyzes the conversion of hydrogen peroxide (H_2O_2) to water and oxygen. If the hydrogen peroxide produced by the metabolic processes inside the cell is not hydrolyzed by the enzyme catalase, a very harmful and toxic radical is produced in the cells that causes permanent damage to the body.

In this study, the antioxidant activities of the skin and inner parts of three different zucchini species (pumpkin, spaghetti squash, gum zucchini) grown in Sakarya were investigated. Antioxidant activities were determined using three different antioxidant analysis methods. The methods used for this purpose; Iron (II) Ions Chelating Activity, DPPH Free Radical Removal Activity and Reducing Capacity. At the same time, the antioxidant enzyme (Polyphenoloxidase, Peroxidase, Catalase and Ascorbate peroxidase) activities of the skin and inner parts of three different pumpkin species were investigated. In the analysis results; The results obtained from the peel and inner parts of the squash analyzed were the highest DPPH activity, % 94.93 (± 0.12) in the skin of the pumpkin in ethyl acetate, and the highest DPPH removal activity in methanol was % 94.40 in the skin of the spaghetti squash. (± 0.18). The highest reducing capacity was observed in pumpkin cultivars studied in ethyl acetate extracts. In the Chelating of Iron (II) Ions method, it was determined the most in the shell of the pumpkin in ethyl acetate extracts, and the most in the inner part of the pumpkin in methanol extracts.

While determining the antioxidant enzyme activities of pumpkin, activities were determined for four enzymes. These enzymes are polyphenol oxidase, peroxidase, catalase and ascorbate peroxidase. When polyphenol oxidase enzyme values were analyzed in pumpkins, the highest enzyme activity was found in the skin of the spaghetti squash, while the lowest enzyme activity was found in the skin of the pumpkin. When the peroxidase enzyme activity was examined, the highest enzyme activity was found in the peel of the pumpkin, while the lowest enzyme activity was determined in the inner part of the gum squash. When catalase enzyme activity is

examined, for 100 μL ; While the highest value was found in the shell part of the pumpkin, the lowest value was found in the shell part of the pumpkin. When catalase enzyme activity was also tested in a volume of 500 μL , the maximum activity value was observed in the skin of the spaghetti squash, while the lowest enzyme activity value was observed in the inner part of the gum squash. The highest enzyme activity value for ascorbate peroxidase was found in the skin of the pumpkin, while the lowest enzyme activity value was found in the inner part of the spaghetti squash. In the light of all the data obtained, when the enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities in different parts of three different pumpkins grown in Sakarya were evaluated, it was determined that the highest antioxidant activity was in the skin part of the pumpkin.





1. GİRİŞ

Antioksidanlar, kendiliğinden oksitlenen maddelerin oksidasyonunun başlamasını erteleyen ya da bu hızı azaltan maddelerdir. Yüzlerce doğal ve sentetik bileşiğin antioksidan özelliği olduğu bilinmektedir [1]. Canlı organizmaları serbest radikallerden koruyan bir antioksidan koruma sistemine sahiptir [2]. Antioksidanlar, başlangıç ve/veya gelişim aşamasında oksidasyonu erteleyen ya da önleyen maddelerdir. Canlı olan organizmalarda bu bileşiklerin varlığı için önemli bir gerekliliktir. Antimutajenik, antitümör ve yaşlanma karşıtı etkiler, canlı organizmalarda bulunan antioksidan özelliklere sahip maddelerden kaynaklanır. Antioksidanların yokluğunda reaktif olan oksijen veya nitrojen grupları kanser, diyabet, artrit, Parkinson hastalığı, AIDS, beyin veya kalp rahatsızlığı vb. çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır [3].

Antioksidanların insan sağlığı üzerindeki temel etkisi, serbest radikalleri süpürme ve zincir kırma mekanizmaları aracılığıyla gerçekleşir. Antioksidanlar, zincir gibi yapı oluşturabilen radikal grupları daha da az reaktif formlara dönüştürerek hidrojen atomu donörleri olarak işlev görür. Ortaya çıkan antioksidan radikal, aromatik halkadaki oksijen atomunun eşleşmemiş bir elektronla değiştirilmesiyle stabilize edilir. Bu antioksidan moleküller yapılarında fenolik olarak fonksiyonları yerine getirirler. Antioksidanlar doğrudan metabolizmada aktif olabilir veya gıda ile alınabilir. Bitkiler, doğal antioksidanların ana kaynağıdır. Meyve ve sebzelerde, baharatlarda, bitki çaylarında ve yağlı tohumlarda bulunan antioksidan bileşikler kapsamlı bir şekilde araştırılmış ve antioksidan aktivitelerinin flavonoid yapı dahil fenolik bileşiklerden kaynaklandığı gösterilmiştir [4].

Bu çalışma ile Sakarya bölgesinde yetiştirilen sakız (*Cucurbita pepo*), spagetti (*Cucurbita pepo subsp. pepo.*) ve bal kabağı (*Cucurbita Moschata*) kabak çeşitlerinin farklı kısımlarının antioksidan kapasitelerini belirlemek adına araştırma yaparak, bunların antioksidan profilleri hakkında bilgi sahibi olunması planlanmıştır.

1.1. Literatür Özeti

Emine ve arkadaşı (2005) bal kabağı unu eklenmiş bisküvilerin antioksidan aktivitesi ve beslenme kalitesi üzerine etkilerini araştırmıştır. Kabak ununun fonksiyonel bir katkı maddesi ve diyet lifine alternatif olarak unlu mamullerin olduğu gıdalar en fazla olmak üzere birçok gıda malzemelerinde kullanılabileceği, besinsel özelliklerini, antioksidan aktiviteyi ve fenolik madde düzeylerini arttırdığı bulunmuştur [5].

Nuri ve arkadaşı (2016) beş farklı çerez çeşidi arasında kavrulmuş kabak çekirdeğinin en az fenolik madde içeriğine sahip olduğunu bulmuşlardır. Kabak çekirdeğinde bulunan etkin antioksidan bileşikler; lutein, β -karoten zeaksantin, ve kriptoksantin gibi karotenoidler olduğunu tespit etmişlerdir [6].

Aysun ve arkadaşı (2008) on farklı çerez (kavrulmuş antep fıstığı, kavrulmuş fındık, kavrulmuş ay çekirdeği, kavrulmuş yer fıstığı, kavrulmuş badem, kavrulmuş kabak çekirdeği, kavrulmuş sarı leblebi, kavrulmuş beyaz leblebi, patlamış mısır, patlamış mısır (salsada) ve kavrulmuş buğday) çeşidinin çoğu toplam antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde içerikleri bakımından kaynaklarına göre önemli farklılık göstermiştir. Araştırılan on çerez çeşidi arasından antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde içeriği bakımından en zengin çerez çeşidi kavrulmuş ayçiçeği çekirdeği bulunmuş olup, bunu sırasıyla kavrulmuş Antep fıstığı ve kavrulmuş mısır çerezi takip etmiştir. Diğer çerez çeşitlerinin toplam antioksidan kapasiteleri ve fenolik madde içerikleri daha düşük ve birbirlerine yakın olduğu bulunmuştur [7].

Elif ve arkadaşı (2011) çiriş, yeşil soğan ve pırasanın antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. Soğansız bitkilerin fenolik profilleri HPLC yöntemi ile analiz edilmiş, çözgen farklılıklarının sonuçları ne şekilde etkilediği belirlenmiştir. Kullanılan yöntemlerin en genel sonucu 65°C de kurutulan bitkilerin sulu ekstraktlarının analiz değerleri > metanol ekstraktı: su > ekstrakt metanol > ekstrakt etil asetat olarak bulunmuş ve bitki özlerinden daha yüksek değerlere sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Antioksidan aktivite çalışmalarında; çirişin en az yeşil soğan ve pırasa kadar hatta bazı metotlarda analiz sonuçlarının bu iki bitkiden daha yüksek olduğu görülmüştür [8].

Rana ve arkadaşı (2013) tıbbi amaçlı kullanılan dört farklı bitkinin antioksidan aktivitesi, fenolik molekül içeriği ile fenol bileşik profilini belirlemişlerdir. Ekstraksiyon yönteminde kullanılan çözücülerdeki farklılığın sonuçları etkileyip etkilemediği konusunda çalışma yapmışlardır. Bu kapsamdaki antioksidan aktivite

alışmalarına genel olarak bakıldığında bitkilerin aktiviteilerinin kunitsa otu > ciğertaze otu > sedef otu > pelin otu şeklinde olduğu gösterilmiştir [9].

1.2. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmanın amacı üç farklı kabak çeşidinin (Sakız kabağı, bal kabağı ve spagetti kabak) kabuk ve iç kısımlarının farklı çözenler ve çeşitli metotlar doğrultusunda antioksidan aktiviteilerinin belirlenmesidir. Daha önce Sakarya bölgesinde yetişen üç farklı kabağın kabuk ve iç kısımları da dahil edilerek antioksidan aktiviteyle ilgili çalışma yapılmamış olmasından dolayı, seçilen kabak çeşitleri bu tezin konusunun belirlemede önemli bir faktör olmuştur.



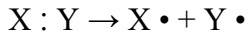


2. GENEL BİLGİLER

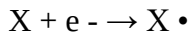
2.1. Antioksidanlar İle Serbest Radikaller Hakkında Genel Bilgi

Son yörüngesinde bir adet veya eşleşmemiş elektron bulunan molekül yapıları genellikle kararsızdır ve oldukça reaktiftir. Bu nedenle çevredeki atom ve moleküllere saldırırlar [10]. Serbest radikaller biyolojik veya hücrel kökenli olabilir. Peroksizomlardaki enzimler, mitokondriyal elektron taşıma sistemi, oksidatif stres durumu (travma, iskemi, reperfüzyon hasarı ve zehirlenme), hücrel orijin, radyasyon, antikanser ilaçlar, lipid metabolizmasının toksik ürünleri, ultraviyole (UV) ışınları, virüsler, hava oluşturan fosiller, çeşitli yanma dumanları, kirleticiler, sigara dumanı, çevresel kirleticiler, enfeksiyonlar ve stres biyolojik kökenli radikal ürünlerdir [11,12]. Radikaller egzersiz durumlarında da ortaya çıkabilir. Hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil artan oksijen alımı ile artabilir. Yüksek laktik asit, peroksidi hidroksile dönüştürebilir böylelikle oksidatif bir duruma neden olabilmektedirler [13]. Diğer moleküllerle rahat bir şekilde transfer yapan moleküllere "oksidatif moleküller" denir. veya "reaktif oksijen molekülleri (ROP)" olarak adlandırılır [14]. Serbest radikaller kendilerini 3 şekilde gösterebilirler [15]:

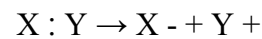
Kovalent olarak bağlanan sıradan molekülün, her bir parçada paylaşılan elektronlardan birini bırakarak homolitik bölünmesinden kaynaklanabilir.



Moleküle elektronun tek bir şekilde gelmesiyle oluşur.



Molekülden bir adet elektronun gitmesi yoluyla veya bir molekülün heterolitik bölünmesi yoluyla meydana gelebilir. Kovalent bağ yapısı oluşturabilen iki adet elektron atomların bir tanesinde kalmaktadır.



Radikallerinin oluşabilmesine endojen veya ekzojen kaynaklar sebep olur.

Önemli serbest radikal grupları oksijen radikalleridir. Bu radikaller, eşleşmemiş elektronları olmadığı için radikal olarak adlandırılmazlar. Ancak hücre zarlarından kolayca geçtikleri için hücreler üzerinde etkili bir şekilde etki etme yeteneğine sahiptirler. Bu nedenle, "reaktif oksijen türleri (ROS)" terimi, reaktif ve radikal olmayan türleri ifade etmek için kullanılır [16,17]. Vücutta birçok ROS üretilir. En yaygın olanları lipit yapılarında bulunanlardır. Lipit radikali oksijen ile reaksiyona girdiğinde, süreç bir peroksil lipid radikalının oluşumu ile sona erer. Bir lipid peroksil radikalının diğer lipidlerle zincir reaksiyonunun başlatılması, lipid hidroperoksitlerin oluşumuna yol açar. Ortamda bulunan bakır ve demir iyonları lipid peroksidasyonunu hızlandırırlar. Lipit radikallerini oldukça toksik ürünlere dönüştürmek de mümkün olmalıdır. Bunların en bilinen ürünü aldehit grubundan malondialdehit (MDA) oluşumudur [18].

Nükleik asitler, lipidler, proteinler ve karbonhidratlarla tepkimeye girebilen serbest radikaller yapısal değişikliklere neden olabilir. Bu etkileri nedeniyle oksidasyona, kromozom kırılmalarına, mutasyonlara ve ölüme neden olabilirler [19]. Yaşlanmayı hızlandırırlar, kardiyovasküler hastalık, katarakt, kanser ve bağışıklık sistemi bozuklukları gibi hasarlara neden olurlar [20].

2.2. Antioksidanlar Hakkında Genel Bilgi

Serbest radikallere karşı vücutta çeşitli mekanizmalardan kaynaklanan sistemleri bulunmaktadır. Bu sistemi oluşturan bileşik grubuna “antioksidan” adı verilir [21]. Oksitlenebilir substratlardan daha düşük konsantrasyonlardaki antioksidanlar, prooksidan tarafından başlatılan substrat oksidasyonunu güçlü bir şekilde inhibe eder veya geciktirir. Pro-oksidanlar (reaktif oksijen, serbest radikal ve nitrojen türleri), bazı patolojik olaylara ve/veya rahatsızlıklara sebebiyet veren, lipid, protein ve nükleik asitler hasara neden olabilecek zehirli etkenlerdir. Bu tehlikeli bileşiklerin varlığı, antioksidanları sağlıklı yaşam için önemli kılar [22]. Antioksidanlar karmaşıktır ve iki şekilde çalışır. Direkt veya indirekt olarak adlandırılırlar. Doğrudan (glutatyon, fenolik bileşikler, tokoferoller, askorbik asit ve karotenoidler vs.), serbest radikali nötr bir oluşuma getirip veya başlattıkları kimyasal reaksiyonları önleyerek fizyolojik, biyokimyasal veya hücresel süreçlerde yer alırlar. [23]. Direkt antioksidanların da pro-oksidan etkiye sahip olduğu deneysel olarak bulunmuştur. Ara antioksidanlar, serbest radikal reaksiyonları veya redoks reaksiyonlarını yok edemezler. Hücrelerin

antioksidan gücünü göstermelerinde etkindirler. Aslında insan vücudunda bulunan bir grup enzim elektrofilik grupların detoksifikasyonuna sebep olmaktadır [24]. Antioksidanlar, metabolik hücrelere zararlı bir etki vermeden serbest radikalleri stabilize eden ve hasarlarını en aza indiren moleküllerdir [25]. Etkin antioksidan,

- Özel olarak serbest radikalın etkinliğini yok edebilmeli
- Yükseltgenme indirgeme tepkimelerinde şelatlama yapabilmelidir
- Dokuda, vücutta bulunan sıvılarda olması gereken miktarlarda bulunmalıdır.
- Rahat bir şekilde emilebilmelidir.
- Sıvı alanlarda hem de membranlarda kolayca fonksiyon görebilmelidir [26].

Antioksidanlar vücut hücreleri tarafından üretilir ve yiyeceklerden de elde edilebilir. Gıdaların içinde bulunup insan bedenini radikallerin faydasız etkisinden korumaya çalışan belli başlı doğal antioksidanlar öncelikle vitamin grupları (A, C, E vitaminleri), flavonoid, karotenoid ve polifenoller olarak adlandırılırlar. Birçok çalışma, narenciye tüketilmesiyle bazı kanser türleri ve kalp hastalığı arasındaki ilişkinin ters olduğunu belirlemiştir [27]. En önemli antioksidanlar polifenol ile türevleridir. Bileşikler oksidatif ortamda bazı farklılıklar gösterebilir. Örneğin; Singlet oksijen alarak oksijen konsantrasyonunu azaltabilirler. Hidroksil radikalleri gibi birincil radikalleri yakalayarak ve metal iyonu katalizörlerini bağlayarak zincir reaksiyonların başlamasını önlerler [28].

Gıdalarda doğal olarak bulunduklarından, gıda sektöründe gıdaların yapısını ve besin değerlerini korumak için daha sonra eklenirler. Bu, acılaşmaya ve gıda bozulmalarına karşı çalışan kimyasaldır. Öncelikle yağlarda havadaki oksijenden dolayı meydana gelebilecek oto-oksidasyonu yavaşlatmak için kullanılırlar. Bu nedenle yağların raf ömrünü, rengini, kailtesini etkileyen faktörlerdir. Çevrede çok küçük miktarlarda bulunsalar bile aktif maddelerdir. Gıdalarda herhangi bir sentetik yada doğal antioksidan ilave edilmeden önce sağlık açısından zararlı olmadığı sonucuna varılmalıdır [29].

2.2.1. Antioksidan enzimler

Antioksidan kelimesinin tanımlanmasında oldukça geniş ve çok farklı şekillerde açıklamalar kullanılabilmektedir. Ancak genel olarak bu terim, etkin oksijen gruplarını öldürücü bir serbest radikale dönüşmeden uzaklaştıran bir molekül olarak tanımlanabilir. Bir antioksidan, yağların otooksidasyonunu yavaşlatan bir madde

olarak tanımlanır. Tanımlanan ilk etkiler, hücre zarı lipidlerinin oksidasyondan korunmasıydı. Sonuç olarak, antioksidan maddeler, lipid peroksidasyon inhibitörleri olarak adlandırıldı. Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda oksidanlarla karşılaştıklarında bu ajanlarla rekabet ederek bir substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen maddeler olarak tanımlanır. Canlı organizmalarda, kimyasal süreçler (aşamalar), özellikle oksidasyon, serbest radikallerin oluşumuna yol açar. Yüksek oranda reaktif serbest radikaller, canlı hücrelere ve organizmalara zarar vererek çeşitli moleküllerle kolayca reaksiyona girebilir. Antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girer (bağlanır) ve onların hücre hasarını önler. Bu özellikler, hücresel anormallikler ve olası tümör oluşumu ve hücre yıkımı riskini azaltarak yaşlanma üzerinde minimum etki ile daha sağlıklı bir yaşam sürme şansını artırır [30]. Antioksidanların sınıflandırılması;

- 1) Özelliklerine göre;
 - a. Enzim
 - b. Enzim olmayan protein, ufak moleküller
- 2) Kaynak kısımlarına göre;
 - a. Organizmaya ait olanlar (endojen antioksidanlar)
 - b. Dışardan alınanlar (eksojen antioksidanlar)
- 3) Çözünürlük sınıflandırılmasına göre;
 - a. Suda çözünenler
 - b. Yağlarda çözünenler
- 4) Konumlandırma şekillerine göre;
 - a. Hücre içi olanlar
 - b. Ekstraselüler sıvılarda bulunanlar [31].

2.2.2. Antioksidan savunma sistemi

2.2.2.1. Polifenol oksidaz (PPO)

Kesilmiş meyve ve sebzelerin yüzeyindeki fenolik bileşiklerin oksidasyon ürünlerinden kahverengi bir renk oluşturan bir grup enzimin genel adıdır. PPO, 1856'da Schoenbein tarafından mantarlarda bulunduğu keşfedilen, bakır içeren oksidoredüktazlar grubunda bulunur; Bazı bitkilerin dokularında, kabuklu hayvanlarda ve bazı mikroorganizmalarda bulunur [32]. PPO'nun rolü aynı zamanda vücutta koyu renkli pigmentlerin birlikte oluşturulması, melanin pigmentlerinin

biyosentezi, polifenol gruplarının başlatılması ve korunmasıdır. Bitkiler kesildiğinde veya çürüdüğünde, PPO bir savunma mekanizması içerir, normalde fenolik bileşikler oksijen varlığında polimerik yapılara oksitlenir. Farklı canlı yapılarından izole edilen PPO enziminin aktivitesi ve salgılanma hızı, canlının türüne, bulunduğu yere, büyümesine ve yaşına bağlı olarak değişebilmektedir [33]. Meyve ve sebzelerin PPO katalizli enzimatik esmerleşmesi; Depolama ve endüstriyel işleme sırasında donmuş meyvelerin kesilmesi, zarar görmesi, çözülmesi sırasında atmosferik oksijenin etkisi altında oluşur. Enzim inaktive edilerek bu tür istenmeyen kararırma reaksiyonları engellenmeye çalışılır. Bazı gıda teknolojilerinde PPO enziminin sebep olabileceği enzimatik olan kararırma istenmektedir. Örneğin; bu enzimatik kararırma çay, kara üzüm veya erik üretiminde çok önemlidir [34].

2.2.2.2. Peroksidaz (POD)

Bitki yapısında görülen bu enzim (EC1.11.1.7) yapısında demir bulunduran enzim grubu olup prostetik olarak ferriprotoporfirin III içermektedir. Bu enzim membran (mPOD) veya çözünür formda bulunur. Kırmızı turptan elde edilen ikm-POD izoenzim moleküler ağırlığı 44, 45 kDa, çilekten elde edilen ikm-POD izoenziminin moleküler ağırlığı ise 58.1 ve 65.5 kDa idi. Bitkinin peroksit emici olarak kabul edilebilecek belirli bir peroksit ihtiyacı vardır. Peroksit etkinliğinde bitki kısımlarından izole edilebilecek peroksidazlar, guaiacol, pyrogallol, klorojenik asit, kateşinler ve kateşinler vb. çeşitli fenolik bileşikler oksitleyebilir [35]. Esas olarak bakteri, mantar, bitki, hayvanlarda bulunur. Diğer benzerliklere dayanarak, peroksidazlar iki kısma ayrılabilir; birincisi bitki, bakteri peroksidazları ve mantar ikincisi ise hayvan peroksidazlarıdır [36].

2.2.2.3. Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi (H_2O_2 : H_2O_2 oxidoreductase E.C.1.11.1.6), hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan hidrojen peroksiti (H_2O_2) suya, moleküler oksijene dönüşümüne sebep olan enzimdir. Molekül büyüklüğü bakımından ortasında 4 hemomolekül barındıran hemoproteindir. Eritrosit ve karaciğer katalaz aktivitesinin yüksek olduğu organlardır. [37]. Oksidasyon ve indirgeme reaksiyonlarında yer alan enzimlere, oksidoredüktaz CAT (oksidaz, dehidrojenaz, hidroperoksidaz, oksijenaz) grubundan özel bir adı olan oksidoredüktazlar ve hidroperoksidazlar denir. Hidroperoksidazlar, hücreleri hidrojen peroksit veya diğer organik peroksitlerle etkisiz hale getirerek zararlı peroksitlerden korur. Peroksitin difüzyonu, radikal grupların

oluşumuna neden olur hücrelerinin durumunu kötü etkileyerek birçok hastalığa ve kansere neden olur. Katalaz enzimi, hidrojen peroksitin tek yönde H_2O ve O_2 'ye çevrimini katalize eder ve hidrojen peroksitin canlı hücrelerde neden olduğu hasarı nötralize ederek canlı organizmaları korumaktadır. Hücrenin içinde bulunan metabolizmayla ilgili süreçlerle üretilen hidrojen peroksit, katalaz enzim tarafından hidrolize edilmezse, hücrelerde vücutta kalıcı hasara neden olan oldukça zararlı ve zehirli bir radikal üretilir.

CAT



Bu enzim türü elektron alıcısı ve vericisi substrat olarak hidrojen peroksit kullanır [38].

2.2.2.4. Askorbat peroksidaz (APX)

Askorbat peroksidaz (APX) (EC 1.11.1.11), özellikle bitkilerin kloroplast [39], sitozol [40] ve peroksizomlarında [41] oluşabilen H_2O_2 'i giderici olarak görev yapan bir antioksidan enzimdir. [42, 43, 44]. Askorbat peroksidaz (APX), bitkilerin yapısında bulunan çok fazla ve iyi çalışılmış antioksidan enzimlerdendir. Bu enzim H_2O_2 'yi askorbik asidi elektron vericisi olarak kullanıp suya indirger ve bitkilerin antioksidan sisteminde bulunur. APX bitkilerde thylakoid ve mikrozomal membran bağlı şekilde bulunabildiği gibi çözünür şekildedeki stroma ve sitozolde de beş farklı şekilde bulunabilir. Ancak APX'in kloroplasttaki şekli çok kararsızdır ve askorbik asit eksikliğinde 30 saniye gibi son derece kısa sürede aktivitesi azdır. Sitozoldeki şekli ise daha sayımlı olup yarı ömrü 40-60 dakika kadardır [45].

Askorbat peroksidaz enzimi bitkiler, algler gibi birçok organizmada serbet radikallere karşı savunma sistemi olarak önemli role sahip enzimatik özellikteki antioksidanlardandır. Daha önce yapılan çalışmalarda farklı bitkilerde tilki kuyruğu, hardal, buğday, siyah mercimek ve fasulye gibi birçok bitkide stres koşulları altında APX enzim aktivitesinde ve gen oluşumunda artışlar gözlenmiş, bunun da canlının savunma sistemi ile ilişkili olduğu öngörülmüştür [46]. Hayvanlar yapılan çalışmalarda ise sadece sığır gözünde APX aktivitesi belirlenmiştir ve bu aktivitenin bitkilerdekinden daha farklı olduğu tespit edilmiştir [47]. Sığır gözünde yani hayvansal dokularda askorbik asit fazla miktarda olduğundan APX ile birlikte bir diğer antioksidan enzim olan Glutatyon peroksidaz (GPX) enzimide H_2O_2 'in uzaklaştırmasına elektron donörü olarak kullandıklarından daha düşük aktivite

gösterdiği bulunmuştur [48]. APX'in aktivitesi bazen özellikle abiyotik stres olduğunda azalabilme ve hatta durdurulabilmektedir. Örneğin, salisilik asit ve 2,6-dichloroisonicotinic acid (INA) ile enzimin aktivitesi inhibe edilebilir [49] ayrıca bitki hücrelerinde nitrik oksit (NO) de enzimi inaktive edebilmektedir [50].

2.3. Gıdalar ve Antioksidanlar

Gıdalardaki antioksidan düzeyi ve antioksidanların biyoyararlılığı, gıdanın cinsine, hasat zamanı ve türüne, sıcaklık, ışık, iklim, saklama yeri ve saklama ortamının nemi, gıdanın hazırlanma ve hatta toplumun bireysel tüketim alışkanlıklarına bağlı olarak değişebilmektedir. [51,52]. Antioksidanların insan sağlığındaki etkisi son yıllarda daha da artış gösterip fazlasıyla anlaşılmıştır. Yapılan araştırmalar neticesinde, antioksidan aktiviteye sahip maddelerin katarakt, kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklar ve oksidatif stresin etkilediği rahatsızlıkların engellenmesinde oldukça önemli rolü bulunmaktadır [53].

Gıdaların yapısında, sağlığa yararlı etkileri olduğu bilinen ve son yıllarda dikkatleri üzerine çeken karotenoidler, vitaminler ve flavonoidler gibi doğal antioksidan özelliklere sahip birçok bileşen bulunmaktadır [54]. Günümüzde kullanılan çoğu antioksidanın üretimi yapaydır. Tükettiğimiz gıdalarda en fazla kullanılan yapay antioksidanlar arasında bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), üçüncül bütihidrokinon (TBHQ) ve etoksigin bulunur. Bu antioksidanlar çok kararlı, etkili ve ucuzdur. Ancak, toksisiteleri ve yan etkileri hakkında endişeler vardır [55, 56].

2.3.1. Doğal antioksidanlar

Doğal antioksidanlar bitkilerin çeşitli kısımlarında bulunurlar. Çok sayıda araştırma sonucunda meyvelerde, sebzelerde, baharatlarda, tohumlarda, yapraklarda, köklerde ve kabukta doğal bir antioksidan kaynağı potansiyeli bulunmuştur. Antioksidanlar keten, ayçiçeği, soya fasulyesi, pamuk tohumu ve kanola tohumu gibi tohum yağlarında bulunur. Doğal antioksidanların en temel bileşiği fenolik bileşiklerdir. Ayrıca tokoferol, flavonoidler ve fenolik asitler gibi önemli doğal antioksidan gruplar çoğu bitkinin yapısında ortaktır [57].

2.3.2. Sentetik antioksidanlar

1940'lardan bu yana yüzlerce insan yapımı antioksidan sentezlenmiş olmasına rağmen, günümüzde çok azı hala kullanılmaktadır. Gıdalarda en yaygın kullanılan sentetik antioksidanlar şunlardır: BHA (bütillenmiş hidroksianisol), BHT (bütillenmiş hidroksitoluen), PG (propil galat) ve TBHQ (tersiyer bütıl hidrokinon). Bu türün gıdalarda kullanımı yaklaşık 60 yıl öncesine dayanmaktadır. Bu grupta bulunan antioksidanların diğer antioksidan sınıfına göre ucuz olması, dayanıklılık, etkinliğinin fazla olması sebebiyle kullanımı daha yaygınlaşmıştır [58].

2.4. Bazı Antioksidan Maddeler

Alfa tokoferol (E Vitamini): Vitamin E gama, delta, alfa ve gama tokoferolleri içermektedir. Önemli bir antioksidan olan alfa tokoferol ve buğday, mısır, sorgum ve pirinç gibi tahıllarda büyük miktarlarda bulunur. Ayrıca farklı yağlarda; Ayçiçek yağı, mısır yağı, pamuk çekirdeği yağı, ceviz, badem, yer fıstığı gibi sert kabuklu yemişler, yeşil sebzeler içinde bulunmaktadır. Isıya dayanıklı bir vitamindir, bu nedenle pişirme gibi koşullar altında bozulmaz. E vitamini dışında, çeşitli maddelerin içerdiği tokoferoller çoğunlukla parçalanır. E vitamini de tahılların kızartılması ve öğütülmesiyle bozulduğu için Vitamin E içinde bulunduran gıdalar yağ içinde kızartılmamalıdır. Buğday çeşitleri tam tahıl şeklinde tüketmek daha sağlıklı olacaktır.

Askorbik Asit (C Vitamini): Yapraklı yeşillikler (brokoli, ıspanak vb.), domates, turunçgiller ve patates gibi meyve ve sebzeler açısından zengindir. Hızlı bir şekilde bozulabildiklerinden, içerdiği besinleri hazırlarken veya pişirirken dikkatli olunmalı, tüketilebildiği zaman az pişmiş, çiğ ve çabuk tüketilmelidir [59].

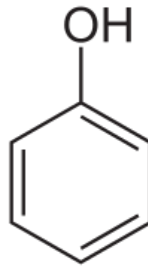
Beta-caroten (A Vitamini): β -karoten; Tetraterpenoid yapıya sahip karoten grubunun lipofilik ve sarı-turuncu doğal boyalarına aittir [60,61]. β -karoten genellikle bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunur. β -karoteni sentezleyemeyen hayvanların bu bitkilere ihtiyacı vardır. Beslenme çalışmaları, β -karotenin antioksidan özellikleri ve A vitamini öncüsü sayesinde birçok kanser türü ve diğer hastalık türleri ile mücadelede faydalı olduğunu bildirmektedir [62]. A vitamini öncüsü olmadan vücut tarafından sentezlenemediğinden, insanlar veya tüm memeliler için dışarıdan emilen bir vitamin olarak bilinir. Bu vitaminin eksikliği; Vücudun gelişimini, hücre yenilenmesini ve vücudun enfeksiyonlara karşı bağışıklığını olumsuz etkilediği söylenmektedir [63].

2.5. Fenolik Bileşikler

2.5.1. Fenolik bileşiklerle ilgili bilgiler

Bitkilerdeki karbonun yaklaşık %'2'si fotosentez sırasında oluşur ve fenolik bileşiklere dönüştürülür. Fenolik bileşik grupları bitkiden üretilmektedir, aktiviteleri redoks özelliklerine ve iyi hidrojen donörleri olma özelliklerine dayanmaktadır [64]. Bu bileşikler, bitki fizyolojisinde önemli bir rol oynar, örn. Patojenlere karşı direnç sağlarlar ve onları hastalıklardan korurlar ve ayrıca bazıları acı ve kekremsi tada ait olup kendilerine özgü koku ve renklerini oluşturmada rol oynarlar [65]. Antioksidan veya antimikrobiyal etkileri ve gıdalara kazandırdıkları duyuşal özellikler nedeniyle birçok hastalığa karşı etkili oldukları kanıtlanmıştır. Polifenol grubun antioksidan veya antimikrobiyal olması onları gıda tüketiminde ve bu endüstride kullanım açısından iyi bir yere getirmiştir [66].

Doğal antioksidanların en önemli grubu olan fenolik maddeler bitkiler tarafından ikincil metabolitler olarak üretilir. Bu nedenle, tüm meyve ve sebzelerde farklı nitelik ve nicelikte birçok farklı fenolik bileşik bulunmasına rağmen, bileşikler meyve, sebze, çiçek kısımları, bitki saplarında bulunabilir. Bir ya da birden fazla fenolik grubun aromatik bir halkaya doğrudan bağlanmasıyla oluşur (Şekil 2.1.) [67].



Şekil 2.1. Fenol

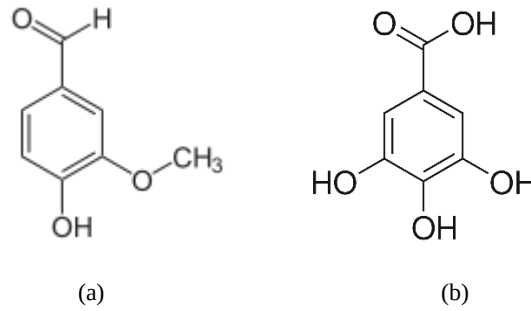
Polifenoller ise birden çok hidroksil grubunun tek veya daha da fazla benzenyapısına tutunmasıyla oluşmaktadır. Fenol terimi çok çeşitli bileşikleri kapsar ve gruplandırması da çok çeşitlidir (Tablo 2.1). Molekülde bulunan Harborne ve Simmonds (1964) karbon sayısına göre sınıflandırma işlemi yapmıştır:

Tablo 2.1. Karbon sayılarına göre fenolik bileşiklerin gruplandırılması

Yapısı	Grubu
C6	Basit fenolikler
C6-C1	Fenolik asitler ve ilgili bileşikler
C6-C2	Asetofenonlar ve fenilasetik asitler
C6-C3	Sinamik asitler, sinamil aldehytler sinamil alkoller
C6-C3	Kumarinler, ixokumarinler, chromene
C15	Chalkone, aurone, dihidrochalkone
C15	Flavan
C15	Flavanone
C15	Flavanonol
C15	Antosiyanidinler
C15	Antosiyanidinler
C30	Biflavon
C6-C1-C6, C6-C2-C6	Benzofenonlar, xanthone, stilbene
C6, C10, C14	Qinone c18 betasiyaninler

2.5.2. Fenolik asitler ve aldehytler

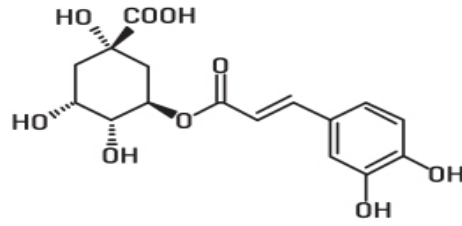
Bir fenole bağı karboksil grubu içeren hidroksi benzoik asitler ve bunların substituentleridir (Şekil 2.2) [68].



Şekil 2.2. a) Vanilin (aldehyt grup vardır). b) Gallik asit (karboksil grup vardır)

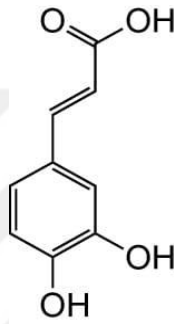
2.5.3. Sinamik asitler

6 adet sinamik asit bulunur : Sinamik asit, kafeik asit, p- kumarik asit, ferulik asit, 5-hidroksiferulik asit, sinapik asit sinamik asitlerin en az üç tanesi bitkilerde bulunabilmektedir.



Şekil 2.3. Klorojenik asit

Bu asitler bitkilerin yapısında çoğunlukla quinic, shikimic ve tartarik asitin esteri gibi bulunmaktadır. Klorojenik asit Şekil 2.3'te kafeik asit Şekil 2.4'te gösterilmiştir [68].



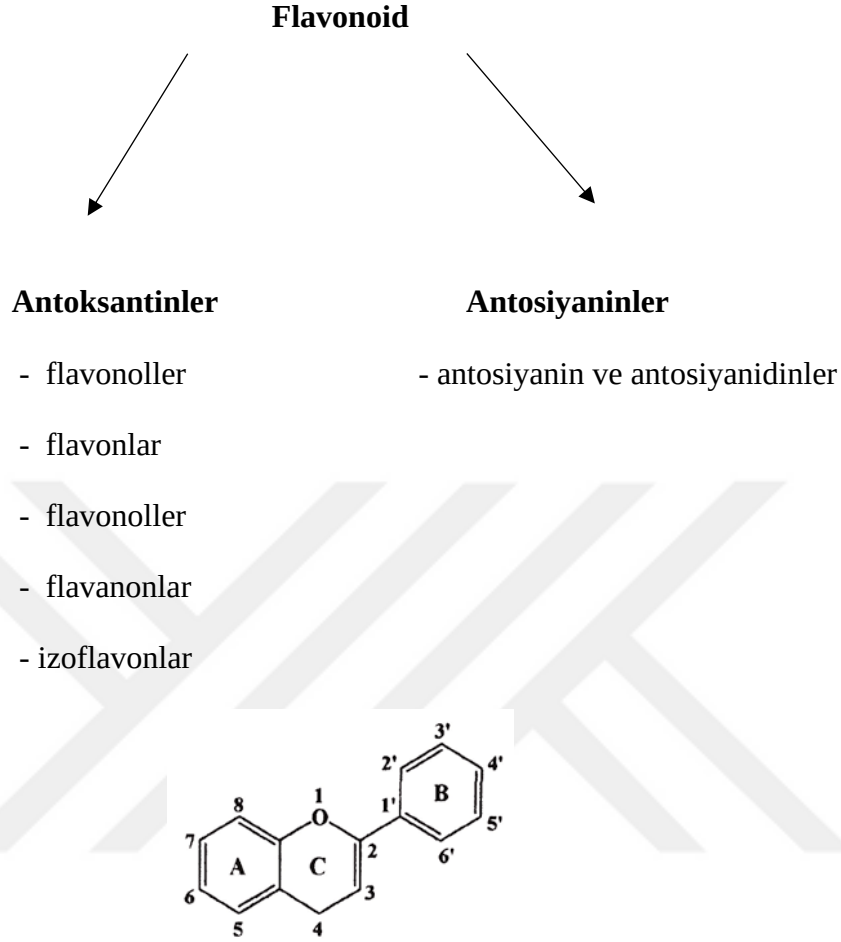
Şekil 2.4. Kafeik asit

2.5.4. Flavonoidler

Bitkilerin birçok kısmında tohum, yaprak, çiçek ve meyvelerinde bulunabilen doğal olarak oluşan yapılardır. Antiinflamatuvar, antibakteriyel, antialerjik ve antiviral özelliklere sahip olan bitkisel ilaçların neredeyse hepsi çeşitli flavonoid türevleri içerir. Çeşitli çalışmalara göre, flavonoidler, hidroksil radikalleri, süperoksit anyonları ve lipid peroksil radikal grupları süpürerek onları mükemmel antioksidanlar haline getirdiği bulunmuştur [69]. Flavonoidler ilk olarak 1936'nın başlarında insanların refahını iyileştirdikleri ve kalp sağlığını korudukları için dikkat çekti. Bir tür flavonoid olan turunçgillerin metabolizması ilk kez bu dönemde çalışıldı. Daha sonraki incelemeler, bitkisel gıdalarda bulunan diğer flavonoidleri de içeriyordu. Bitki polifenollerini olan flavonoidler, diyetle (R) bol miktarda bulunur [70].

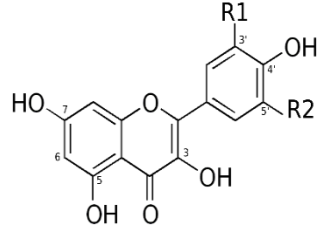
Bunlar bir zincirle iki adet fenil halkasının düzenlenmesinden oluşan difenilpropan yapılı (C6-C3-C6) fenolik bileşiklerdir [71]. Flavonoidler yapılarına göre 3 sınıfa ayrılabilir. Yapıdaki C3 grubu sınıflandırmayı sağlar. Bu sınıflandırma şu şekildedir: Chalcones, Auron ve Flavonoids [72]. Şu anda 4.000'den fazla izole edilmiş bitki flavonoidleri bilinmektedir. Şekil 2.5'te flavonoidlerin yapısı gösterilmiştir [73].

Halka sınıflandırılmasına göre flavonoller, flavonlar, flavanonlar, antosiyaninler, kateşinler ve izoflavonoidler olarak ayrılırlar.

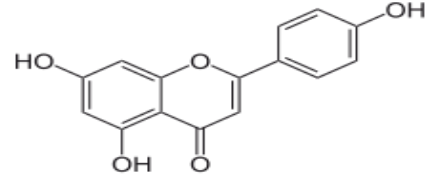


Şekil 2.5. Flavonoidlerin yapısı

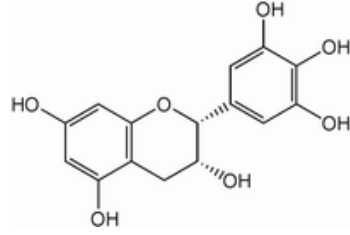
Flavonoidler, kimyasal yapılarından heterosiklik bir piron halka (C) ile bağlanmış iki benzen halkasından (A ve B) oluşmuş on beş karbonlu bir omurgaya dayanır. Flavonoidler, C halkasının oksidasyon ve doymamışlık derecesine göre sınıflandırılırken, sınıf içindeki bireysel bileşikler, A ve B halkasının yerine kullanma modelinde farklılık gösterir [74].



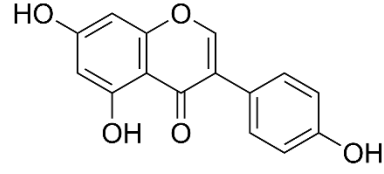
Flavonol



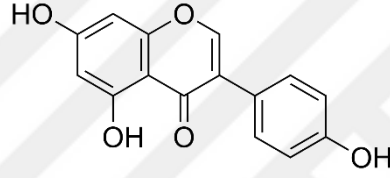
Flavon



Flavanol



İzoflavon

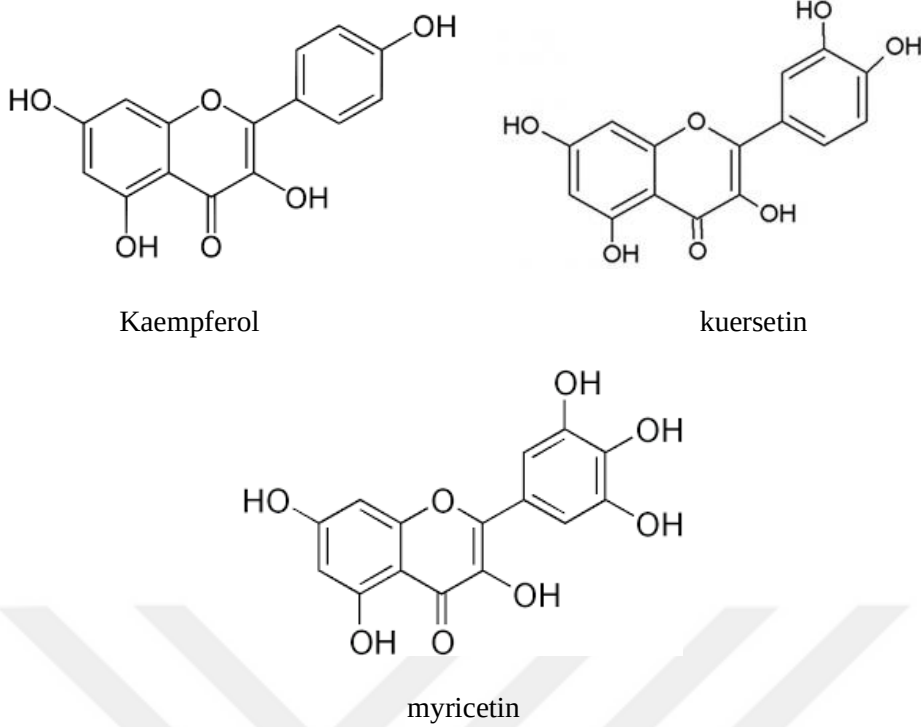


Flavanon

Şekil 2.6. Antoksanin üyelerinin kimyasal yapıları

6 karbon halkası A, B ve C'den oluşan heterosikller, heterosiklin oksidasyon derecesinde farklılık göstermektedir. Aromatik halka A, B ile ve heterosiklik C ile gösterilir. Şekil 2.6'da antoksanin üyelerinin kimyasal yapıları gösterilmiştir [74]. Oksijen atomundan C halkasında bulunan karbon atomu, B halkasında bulunan karbon atomu üst simge (') ile numaralandırılır. Yenilebilir bitkilerde flavonoidler en yaygın olarak 3-O-glikozitler ve polimerler şeklinde bulunur. Lipit peroksidasyonunu önleme ve reaktif olan oksijen türünü içinde barındıran biyolojik tepkimeleri sınırlama gibi özelliklere sahiptir.

Flavonoidlerin glikosidik birimleri esas olarak glikozdur, ancak glukoramnoz, rhamnoz, arabinoz ve galaktoz da bulunabilir [75]. Flavonların heterosiklik halkaları bir keto grubudur. En yaygın doğal flavon örnekleri kaempferol, kuersetin ve mirisetindir. (Şekil 2.7) [76].



Şekil 2.7. Kaempferol, kuersetin, myricetin

Kuersetin, bitkilerde yaygın olarak bulunan ana flavonoid bileşik ve fenolik bir yapıdır. Brokoli, domates salatalık, çay, kırmızı şarap, fındık, zeytinyağı ve elma kabuklarıyla dolu. Myricetin kızılıçık, üzüm ve kırmızı şarapta bulunur. Pırasa, brokoli, marul, greyfurt ve siyah çayda kaempferol bulunmaktadır [77]. Flavone 'nin dihidroksi türevi bir flavanondur. En yaygın örnekleri naringenin, naringin, hesperidin ve hesperetindir. Flavonların izomerleri olan izoflavonların örnekleri genistein, daidzein ile onların glikozidleri genişin ile daidzin'dir. Flavonoller, flavonollerin C-halkasındaki çift bağlı bir oksijen atomunun yerine bir -CH₂ grubu yerleştirildiğinde oluşur. Flavanoller, flavonların indirgenmiş türevleridir. Bu grubun en önemlisi kateşin ile epikateşindir [78].

2.6. Çalışılan Kabaklar ve Özellikleri

Sebze olarak tüketilen birçok bitki, özellikle yaprakları ve çeşitli kısımları insanlar tarafından tedavi amaçlı da kullanılmaktadır. Dünyada görüldüğü gibi Türkiye'de de şifalı bitkiler araştırılmakta ve bu bitkiler birçok hastalığa şifa olacak şekilde geliştirilmektedir. Bu çalışmada üç farklı kabak çeşidinin iç kısımları ve kabuk kısımları antioksidan aktiviteleri belirlenmek amacıyla kullanılmıştır. Kabaklar Tablo

2.2’de gösterilmiştir. Kullanılmış olan kabak türleri: Sakız Kabağı (*Cucurbita pepo*), bal kabağı (*Cucurbita moschata*) ile spagetti kabak (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo*)’tır.

Tablo 2.2. Çalışmada kullanılan kabak çeşitleri

Türkçe adı	Latince adı	Familyası
Sakız Kabağı	<i>Cucurbita pepo</i>	Cucurbitaceae
Bal kabağı	<i>Cucurbita moschata</i>	Cucurbitaceae
Spagetti kabak	<i>Cucurbita pepo</i> subsp. <i>pepo</i> .	Cucurbitaceae

2.6.1. Kabağın kökeni

Balkabağının anavatanının Amerika bölgesi olduğu bilinmektedir. Ek olarak, Anadolu kabakları üzerine yapılan araştırmalar, Anadolu’da zengin bir kabak çeşidi bulunabileceğinden, *Cucurbita pepo*’nun Anadolu’da bulunduğu düşünülmektedir. Bundan dolayı balkabağının Anadolu şartlarına kolaylıkla uyum sağlayacağı ve yetiştiriciliğinde uygun tarım tekniklerinin kullanılması ile çok ciddi problemler çıkmayacağı ve yeterli verim alınabileceği söylenebilir.

Türkiye, kabak çeşitliliğinden bazılarının merkezi olan, *Cucurbitaceae* familyasının içinde olan kabak çeşitlerinin birçoğunun tarımının rahatlıkla olmasına imkan sağlamaktadır.

Cucurbitaceae familyasına ait sebzelerin yetiştirilmesi ve üretiminin çok eski çağlara kadar dayandığı sanılmakta olup M.Ö. ve kalıntıları Kahuna’nın Teb’deki (Mısır) mezarında bulundu. Kabak çeşitlerinin, özellikle *C. pepo* ve *C. moschata*’nın ilk olarak Amerika kıtasında bulunduğu ondan sonra her yere yayılmış olduğu bilinmektedir [80].

2.6.2. Kabak çeşitleri ile ilgili genel bilgiler

Kabakgiller yapılan sınıflandırma içerisinde *Dicotyledoneae* sınıfı, *Cucurbitales* takımı, *Cucurbitaceae* familyası içerisinde bulunmaktadır. Bunlar “Cucurbit” (Kabakgiller) olarak belirtilen tropik, sıcak seven çeşitleridir [81].

Bu familyanın (*Cucurbitaceae*) içerisinde, 118 cins ve 825 tür bulunmaktadır [82]. Türkiye’de çok fazla yetiştirilen *Cucurbitaceae* familyasına ait türler; *Cucumis sativus*, *Cucumis melo*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis flexuosus*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima* ve *Cucurbita pepo*. Ek olarak çok fazla yetiştiriciliği yapılmayan

Lagenaria siceraria, *Luffa cylindrica* ve *Momordica charantia* da yetiştirilmektedir [83].

Kabaklar, sıcak iklimi seven ancak diğer iklim koşullarında da yetişebilen tek yıllık bitkilerdir. Olgun ve olgunlaşmamış meyvelerinin insan beslenmesinde kullanılmasının yanı sıra besin değeri yüksek tohumları ülkemizde ilk sırada olmak üzere Akdeniz ve Orta Doğu gibi ülkelerde çerez gibi kullanılmakta olup gıda, ilaç veya gıda sanayisi güzellik sektöründe de değerlendirilebilmektedir [84]. Kabak bitkisi tek yıllık sebzeler grubuna aittir. Çiçeğin yapısı tekdüze, iri ve geniş yapraklı, tırmanıcıdır. Ayrıca çeşitli meyve grupları barındırır. Ülkemizde kabaklar yaz kabağı ve kış kabağı olmak üzere iki gruba ayrılır. Yaz kabağı, Sakız Adası, Girit, Su ve Asma kabağı içerir. Kış kabağı bal, kestane ve diğer büyük kabaklardan yapılıdır [85].

2.6.3. Kabakların insan sağlığı açısından önemi

Kabaklar, fenolik glikozitler, polisakkaritler, protein ve 13-Hidroksi-9Z, 11-Eotadekatrienoik asit vb. çeşitli bileşikler içeren iyi bir fitokimyasal kaynağıdır. Meyve özüleri önemli miktarda karotenoidler, klorofil, toplam fenoller ve B6, C, E, K, tiamin, rivoflavin gibi makro ve mikro mineraller (K, P, Se ve Fe) içermektedir. Ayrıca içeriğindeki karotenoid miktarlar bakımından büyük farklar bulunur.

Kabak türleri ve çeşitleri arasında temel fark bulunsa da tohumları, yağ ve yağ asitleri, proteinler ve polifenoller açısından zengin bir kaynaktır. Kabaklar ayrıca alkaloidler ve flavonoidler gibi çeşitli antibiyotik bileşenlerin yanı sıra esas olarak bitkileri patojenlere karşı savunmak için kullanılan α - ve β -moschin ve moshatin içerir. Kabak türleri sağlık için antibakteriyel, antidiyabetik, antihipertansif, antikanser, immünomodülatör, antihipokolesterolemik, antiparaziter, antiinflamatuvar ve analjezik gibi çeşitli terapötik özelliklere sahiptir. Ayrıca tohumları bitkinin en çok çalışılan kısmıdır ve geleneksel halk hekimliğinde birçok rahatsızlığın tedavi yönteminde çok fazla bulunurlar [86].

2.6.4. Sakız kabağı (*Cucurbita pepo*)

Cucurbitaceae familyasının tohumları protein, yağ, doymamış yağlar açısından etkili oldukça değerli gıda ve gelir kaynağını temsil eder [87].



Şekil 2.8. *Cucurbita pepo*

Cucurbita pepo L., gövde uzunluğu 50-100 cm, sert ve diken yapılıdır (Şekil 2.8). Gövde bitkinin boğumlu kısmından 6-24 cm uzunluğunda dallanır. Kabak bir asma veya tırmanıcıdır ve tek evcikliidir [88]. Kabağın genç döneminde ilk olarak kazık kök meydana gelir ve belirli bir zaman sonucunda yan kısımlarından kökleri oldukça hızlı büyür saçaklı kök görünümü alır. Köklerin yanal yayılımı 1-1,5 m kadar olabilir. Yaprakları münavebeli, basit loblu, oldukça iri ve kalp şeklinde, beşgen ve ovaldir. Kısmi veya kesik olabilir. Yaprakların rengi açıktan koyuya doğru ren değiştirir. Gri-yeşil, gümüş-yeşil bir renge sahiptir. Çiçekler sarı-turuncu ve aktinomorftur. Erkek çiçekler uzun ve 3 erkek organlı saplıdır. Dişi çiçekler 3 pistillidir, stil tek veya 3 adettir. Dişi çiçek grupları erkek çiçek gruplarından oldukça iri taçlara sahiptir [89].

Kabak soğuktan zarar görür ve 0°C'de bitkilerde buz şoku olur. Kabak -1 ve -2 °C'de donduğu için balkabağının gelişme derecesi 10 °C'nin üzerindedir. Sıcaklık düşüşü ve sıcaklık artışı, çok kuru, çok sıcak ve nemin etkisi gibi büyümeyi yavaşlatır. Tohumlar 5-10 yıl çimlenebilir. uygun çimlenme değeri 20-25°C'dir. 4-8 gün içinde gerçekleşir. Bazı kabaklar için çimlenme sırasında ışığın varlığı çimlenmeyi azaltır. Işık miktarını azaltmak dişi bitkilerin çiçeklenme oranını azaltır ve verimi azaltır. Kabağın büyüme mevsimi 100 ila 180 gün arasında değişmektedir. Kabak her türlü toprakta yetiştirilebilirken kumlu topraklar bu amaç için uygun değildir. Besin açısından zengin, daha yüksek humus içeriğine sahip orta-ağır toprağı tercih eder [90]. *Cucurbita pepo*'nun anavatanı Orta Amerika'nın kuzey bölgesi ve Meksika'nın dağlık bölgeleridir [91]. Türkiye'ye, Yunanistan'dan geldiğı ve Trakya bölgesinden yetiştiriciler tarafından sahiplenildiğı ve burada üremesinin yayıldığı ve ülkenin diğer bölgelerine yayıldığı bilinmektedir [92]. Kabak yetiştiriciliğı dünya çapında ve Türkiye'de yüksek ekonomik değere sahiptir [93]. Türkiye'de balkabağı yetiştiriciliğı tüm bölgelerde yetiştirilebilir. 72 ilde üretimi yapılmakta olan sakız kabağının üretim ağı genellikle

Mersin, Antalya, Muğla, Bursa ve Ankara'nın Polatlı ilçesinde artış göstermektedir [94].

2.6.5. Balkabağı (*Cucurbita moschata*)

Balkabağı (*Cucurbitaceae*) ailesine ait olup ve *Cucurbita* türüne dahil kabak çeşididir. Başlıca balkabağı türleri; *Cucurbita maxima* (*C. maxima*), *Cucurbita moschata* (*C. moschata*), *Cucurbita pepo* (*C. pepo*), *Cucurbita ficifolia* (*C. ficifolia*) ve *Cucurbita mixta* (*C. mixta*) dır.

Balkabağı çeşitlerinden; *Cucurbita moschata* Duchesne, *Cucurbita maxima* Duchesne ve *Cucurbita pepo* tüm dünya genelinde oldukça fazla üretim gücüne sahip, ciddi bir alanda kültürü olan, ekonomik açıdan önemli bir konumdadır [95,96].

Balkabağı (*Cucurbita moschata*) uzun, silindirik, yassı, yuvarlak ve armut biçimlidir. Kabağın dış kısmı yani kabuğu turuncu, turuncu-sarı ve sarıdır ve eti açığımsı renk grubundan daha koyulaşmış renge doğru değişkenlik göstermektedir. Ağırlıkları ortalama 5 ila 60 kg arasındadır. Kabaklar 6.5-7 kat işgal eder. Meyveyi maksimum verimli, en iyi biçimde 5 civarında bir pH'ta üretir. Ilıman hava koşullarında, 18 - 27 °C sıcaklıklarda yaklaşık 3,5 ayda olgunlaşırlar. [97,98, 99].

Balkabağının kimyasal bileşimi çeşide göre değişir. Bazı araştırmacılar kabak posasında nem, protein % 0.2-2.7, kül %0.47-2 bulmuşlardır.1 ve karbonhidrat içeriği %3 ile %13 arasındadır. Balkabağı mineral bakımından oldukça zengindir bir yapıya sahiptir. 100 gr taze madde kalsiyum olarak 475 mg, fosfor olarak 175 mg ve 0,8 mg demir, kuru madde 9,21 mg alüminyum, 0,29 mg kobalt, 2.84 mg krom, 15,4 mg bakır, 5,70 mg potasyum, 5,60 mg magnezyum, 6,90 mg sodyum, 113 mg çinko bulunur. Kabak bileşenlerinin sağlık üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde balkabağının hepatoprotektif, antidiyabetik, antioksidan, antihipertansif, antikanser, antimikrobiyal, antiparaziter ve antiinflamatuvar etkileri olabileceği sonucuna varılmıştır. Esansiyel yağ asitleri linoleik asit, amino asitler, Mg, Zn, Cu elementleri, molibden ve selenyum gibi eser elementler açısından zengin olan kabak çekirdeği yemeklik yağ üretmek için kullanılır [88]. Kabak sağlık açısından faydaları nedeniyle tüketim sektöründe yüksek bir kullanım gücüne sahiptir, lif ve karotenoidler açısından zengindir. Karotenoidler açısından zengin bir meyve olan kabak tüketmenin A vitamini eksikliğine bağlı görme sorunları gibi hastalıkları da önlediği bulunmuştur [100].



Şekil 2.9. *Cucurbita moschata*

Kabak Üretimi yapan ülkeler; Birinci grupta Çin (8.051.495 ton) yer almaktadır. Çin'i Hindistan (5.142.812 ton), Ukrayna (1.346.160 ton), Rusya (1.195.611 ton), İspanya (734.640 ton), Meksika (679.145 ton), Bangladeş (634.951 ton) ve Amerika Birleşik Devletleri (610.120 ton). Türkiye'deki toplam bal kabağı üretim hacmi; 590414 tondur ve dünya çapında 9. sıradadır [101]. Ülkemizde kabak üretimi 92.319 tondur. Bu üretimde *Sakarya* ili 11.558 ton kabak üretimi yaparak ilk sırayı almıştır. *Sakarya*'yı Ankara (11.305 ton), *Düzce* (8.009 ton) ve *Samsun* (5.529 ton) illeri izlemektedir [102].

2.6.6. Spagetti kabak (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo*)

Spagetti kabağı, fildişi, sarı ve turuncu renge ilave olarak bazı farklı şekil, boyut, renklerde gelirler. Merkezi birçok büyük tohum içerir. Çiğ eti serttir ve diğer çiğ kabaklara benzer. Pişirildiğinde hamur şeritler veya şeritler halinde ayrılır, spagettiye alternatif olarak kullanılabilir. Spagetti kabak, folik asit, potasyum, A vitamini ve beta-karoten vb. besinlerle doludur. Kalorisi düşüktür, 1 fincan (155 gram) porsiyon başına ortalama 42 kaloridir. Spagetti kabağının yetiştirilmesi nispeten kolaydır ve bahçelerde veya kaplarda iyi sonuç verir. Erkek çiçekler, asmadan yukarı doğru uzanan uzun, ince saplara sahiptir. Dişi çiçekler daha kısadır ve yaprakların altında küçük yuvarlak bir büyümeye sahiptir. Çiçek başarıyla tozlanırsa, bu yuvarlak büyüme balkabağına dönüşür. Spagetti kabak bitkileri, kabak bitkileriyle çiftleşebilir [103].



Şekil 2.10. *Cucurbita pepo* subsp. *pepo*

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kullanılan Materyaller ve Kimyasallar

3.1.1. Materyal

Deneylerde kullanılan kabak çeşitleri Sakarya bölgesindeki köylülerden temin edilmiş ve tü antioksidan analizler de kullanılmıştır.

3.1.2. Kimyasal maddeler

Analiz esnasında kullanılmış bütün reaktifler analitik kalitededirler. Bütün analizlerde kullanılan sular çift damıtılmış sudur. Gallik asit (GA), kersetin (QE), Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Almanya), etanol, metanol, etil asetat, aseton, asetik asit Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Diğer tüm kimyasallar Merck'ten (Darmstadt, Almanya) satın alınmıştır.

3.1.3. Kullanılan aletler

Kullanılan aletler	Marka ve modeli
UV:	Shimatzu UV-2401 PC UV-VIS recording
Evaporatör:	RÜCHI Rotavapor ve B-114 RÜCHI Waterbath B-480
Vortex:	Heidolp Reaxtop
Buzdolabı:	Arçelik
Hassas terazi:	AND GR-200
Santrifüj:	Nüve-NF200
pH metre:	Lab 850 SCHOTT
Vorteks karıştırıcı:	Votex 2 GENIE ve SHAKER QL861
Blender:	Hotmix 2155 Beko
Mikropipetler:	Brand Transferpette® S 200 ve 1000 µL
Etüv:	Nüve-FN 120

3.2. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması

3.2.1. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayininde kullanılan çözeltiler

DPPH çözeltisi hazırlama işlemi (0.1 mM): 4 mg DPPH tartılıp 100 mL etanol içerisinde çözülme işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Demir(II) iyonları şelatlama aktivitesinde kullanılan çözeltiler

Çözelti hazırlama işlemi (2 mM FeCl₂): 0.0245 gr FeCl₂ tartılıp saf suda çözülüp balon joje içerisinde 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Çözelti hazırlama işlemi (5 mM Ferrozin): 0.0616 gr ferrozin tartıldıktan sonra saf suda çözülerek balon jojeye alındı ve 25 mL'ye tamamlanmıştır.

3.2.3. İndirgeme kapasitesi tayini için kullanılan çözeltiler

Çözelti hazırlama işlemi (% 1'lik K₄Fe(CN)₆ · 3H₂O): 1 gr K₄Fe(CN)₆ tartılıp saf suda çözülerek balon joje içerisinde 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Çözelti hazırlama işlemi (%10'luk TCA): 10 gr TCA hassas terazide tartılıp saf su ilave edilerek çözüldü balon jojeye alınıp 100 mL'ye tamamlama işlemi yapıldı.

Çözelti hazırlama işlemi (%0,1'lik FeCl₃): 0.1 gr FeCl₃ hassas terazide tartılıp saf su içerisinde çözülerek balon joje içerisinde 100 mL'ye tamamlanmıştır.

0.2 M fosfat tampon için (pH=6.6): 27.22 gr KH₂PO₄ ile 28.40 gr Na₂HPO₄ çözeltiler pH=6.6 ya denk gelecek şekilde karıştırılıp hazırlanmıştır.

3.3. Kabakların Ekstraksiyon İşlemleri

Bu bölümde sakız kabağı (*Cucurbita pepo*), balkabağı (*Cucurbita moschata*) ve spagetti kabağın (*Cucurbita pepo*) kabukları ve iç kısımlarında yapılan ekstraksiyon işlemleri ve ekstraktların antioksidan aktivitelerinin test edilmesi hakkında bilgi verilmektedir.

Kabakların kabukları soyularak, kabakların iç ve dış kısımları (kabuğu) ayrı bir şekilde ortalama 45°C sıcaklıktaki etüvde kurutma işlemi yapıldıktan sonra öğütücü ile iri toz haline getirildi. Kabakların iç ve kabuk kısımları 1:20 çözücü oranında ilave edilerek türbülanslı su banyosunda 250 rpm'de 8 saat ekstrakt edilmiştir. Çözücü madde olarak etanol, metanol, aseton ve etil asetat kullanılmıştır. Süre sonunda çözelti Whatman filtre kağıdından süzülüş, süzüntüdeki çözücüler 50°C'de buharlaştırıldı ve kalan katı

tartılarak her kabak için stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stoklar 5000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenerek, peletlerden ayrılıp dondurucu dolapta muhafaza edilmiştir.

Stok çözeltiler için evaporatörde çözücüler uçurulduktan sonra kabak çeşitleri için ayrı ayrı kalan katı kısımlar ekstrakte edilip dört adet ayrı çözelti içinde çözülerek hazırlanmıştır. Stok çözeltiler için istenilen miktarlarda seyreltici işlem etil asetat ile metanol çözeltileri içerisinde yapılmıştır.

3.4. Uygulanan Metodlar ve Grafiklerin Çizimi

3.4.1. DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayini

Kabak ekstraktlarının ve referans maddelerinin radikal süpürme aktivitesi DPPH radikalleri ile belirlendi [104]. Yöntem değiştirilerek uygulandı. Trolox ve BHT standart olarak kullanılmıştır. 1 mL numune içeren numunelere, 50 µg ve 1000 µg aralığında değişebilen konsantrasyonlarda 4 mL DPPH solüsyonu eklendi. Kontrol değeri için 1 ml etanol kullanılmıştır. Kör değer için olarak etanol kullanılmıştır. Oda sıcaklığı içinde 30 dakikalık inkübasyondan sonra absorbanslar 517 nm'de ölçüldü. Örneklerin absorbans değerleri kontrollere karşı değerlendirildi. Artan konsantrasyonla absorbansın azalması beklenebilir. Çünkü azalan absorbans kalan DPPH'dir. Çözelti miktarını, yani serbest radikal süpürücü aktiviteyi döndürür. Numunelerin serbest giderim aktivitesi, aşağıda belirtilen denklem yöntemi ile bulunmuştur. (3.1).

$$\% \text{ DPPH giderme aktivitesi} = \frac{A(\text{kontrol}) - A(\text{örnek})}{A(\text{kontrol})} \times 100 \quad (3.1)$$

Denklem 3.1' de görüldüğü üzere $A_{(\text{kontrol})}$ kontrolün absorbansını ve $A_{(\text{örnek})}$ ise ekstrakt absorbansını değerleridir.

3.4.2. Demir (II) iyonlarını şelatlama aktivitesi

Kabak ekstraktlarından Fe^{+2} iyonlarının birden fazla konsantrasyonları için (100-1000 µg/ml) şelatlama aktivitesi Dinis ve ark. [105] yöntemine göre test edildi. Yöntem, güçlü bir demir şelatörü olan ferrozin reaktifi ile ortamdaki metal bağlayıcı bileşiklerin Fe^{2+} iyonlarını bağlamak için rekabet etmesine dayanır. Şelatlama yüksek ise kırmızı renkli Fe^{2+} /ferrosin kompleksinin oluşumu engellenir. 1 mL numuneye 3,7 mL su ile 100 µL 2 mM FeCl_2 çözeltisi eklenmiştir.

Ortam koşulları altında 30 dakikalık inkübasyonun ardından 200 µL 5 mM ferrozin solüsyonu ilave edildi ve vortekslendi. 10 dk geçtikten sonra karışımların absorbens değerleri 562 nm'de ölçüldü. Kontrol, numune yerine 1 mL deiyonize su kullanılarak test edildi. Kör numune olarak su kullanıldı. Standart madde 10 ve 1000 µg/ml konsantrasyonlu EDTA solüsyonları kullanılmıştır. Ferrozin-Fe²⁺ kompleksinin yüzde inhibisyonu aşağıdaki belirtilen denkleme göre hesaplanmıştır. (3.2).

$$\% \text{ Şelatlama Aktivitesi} = 1 - \frac{562 \text{ nm}'de \text{ örnek absorbens}}{562 \text{ nm}'de \text{ kontrol absorbens}} \times 100 \quad (3.2)$$

Denklem 3.2'de belirtildiği üzere % Şelatlama aktivitesi için, 562 nm'de örneğin absorbensı, 562 nm' de kontrol absorbensı ifade edilmektedir.

3.4.3. İndirgeme kapasitesi tayini

Kabak özlerinin indirgeme gücü Oyaizu yöntemi [106] kullanılarak belirlendi. Ortamdaki bir indirgeyici ajan Fe³⁺ iyonunu Fe²⁺ iyonuna düşürür ve FeCl₃ eklenerek oluşan Prusya mavisi kompleksinin sönmesi ölçülür. Yüksek bir absorbens değeri, yüksek bir indirgeme kapasitesini gösterir.

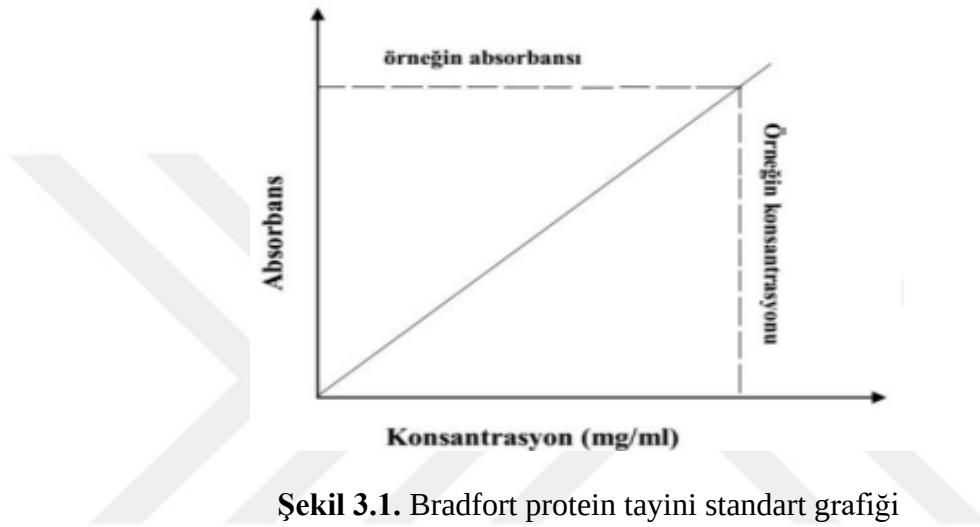
Birden fazla konsantrasyonlarda hazırlanan kabak ekstraktı (100-1000 µg/mL) ve sabit maddeler (100-1000 µg/mL) 2,5 mL fosfat tamponu (0,2 M, pH=6,6) 1 mL'ye ve 2,5 mL % 1'lik K₄Fe(CN)₆.3H₂O eklenmiştir. Maddeler 50°C'de 20 dakikalık bir süre inkübsyona tabi tutulduktan sonra %10'luk 2,5 mL TCA eklenmiştir. 2500 rpm'de 10 dk santrifüjleme yapılmıştır. Süpernatantlardan 2.5 mL alınmış olup eşit miktarda saf su ve 0.5 mL % 0.1 FeCl₃ çözeltisiyle karıştırılmıştır. 700 nm'de absorbens değerleri okunmuştur. Su blank olarak kullanılmıştır.

3.4.4. Bradford yöntemi ile protein tayini

Hassas çalışılan bir reaksiyondur (5-100 µg/mL); Boyaların organikleri, proteinlerin yapısındaki asidik ve bazik amino asitlerin yan zincirlerini bir araya getirerek bir maddenin renk değiştirmesine dayanır. Proteinlerdeki amino asitlerin kombinasyonu (özellikle arginin ve aromatik amino asitler gibi temel amino asitler) mavi rengin oluşmasında rol oynar. Bu testin temeli renk değişimidir, reaksiyona girmemiş boyanın maksimum absorbensı 465 nm'de meydana gelirken, maksimum absorbens boya proteini ile etkileşime girdiğinde 595 nm'de gözlenir. Şekil 3.1'de Bradford protein tayini standart grafiği gösterilmektedir [107].

Toplamda 12 tane Kabuk ve iç kısımlarından oluşan numunelerden 1mL lik tüpte 595 nm’de okunacak şekilde alınmıştır. Kör numune için tüpün içine Bradford çözeltisinden 1 mL ilave edilir.

Numunelerin 6 tanesine 900 µl, 6 tanesine 940 µl Bradford çözeltisi ilave edilir. 1mL’ye tamamlamak için 6 numuneye 100 µl, diğer 6 numuneye ise 60 µl kabak numunelerinden ilave edilmiştir. 10 dk ağzı kapatılıp beklemeye alınıp daha sonra 595 nm’ de okuma işlemi yapılmıştır.



Şekil 3.1. Bradford protein tayini standart grafiği

3.4.5. Enzim aktivitesi için homojenat hazırlanması

Homojenat için; Her biri ayrı olacak şekilde 8 gr Sakız kabağı, Bal Kabağı ve Spagetti Kabak’ın kabuk ve iç kısmı, 0,1 M fosfat tamponu 40 mL için (pH 7,0) blendırda parçalandı. 0.07 gr askorbik asit, 0,02 gr PVP, 1 mL Triton x-100 ilave edip karıştırılır. Ekstrakt üç katlı ince bezden süzüldü. Santrifüjde 4500 rpm’de 10 dk boyunca santrifüjleme işlemi yapıp, süzüntüsü katı bölümden ayrılmıştır. 1mL’lik tüplere koyulup buzdolabında saklanmıştır.

3.4.6. Kullanılan substratlar

Tablo 3.1. Aktivite ölçümünde kullanılan substratlar

Enzim	Substrat
PPO	4-metil Katekol
Peroksidaz	4-metil Katekol, H ₂ O ₂
Katalaz	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)
Askorbat peroksidaz	Askorbik asit

3.4.7. Aktivite ölçümü

Aşamalarda kullanılan tüm kabak çeşitleri tazedir.

3.4.7.1. Polifenol oksidaz (PPO) aktivite Ölçümü

50 mM 4-metil katekol hazırlamak için

4-metil katekol 1,24 gr tartılıp saf su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır.

3.4.7.2. Polifenol oksidaz (PPO) aktivitesinin belirlenmesi

Substrat (4-metilkatekol) konsantrasyonuna göre aynı enzim konsantrasyonlarında PPO enzimi ile aktivite ölçümleri yapıldı. Enzim aktivitesi ölçümleri, 420 nm'de 60 saniye boyunca absorbanstaki artışı gözlemleyerek spektrofotometri ile yapılmıştır. 10 mM 4-metilkatekol substrat kullanılmıştır. 3 mL'lik küvet içerisine 10 mM 4-metil katekol ve 100 µL enzim ekstraktı 3 mL'ye tamamlanarak üstüne Ph 7 olacak şekilde fosfat tamponu eklendi küvet karıştırıldı ve üstüne fosfat (pH 7,0) ihtiva eden kör numuneye karşı 420 nm'deki absorbans ölçümü yapılmıştır. Ölçümde dakika başına absorbans artması hesaplandı. 25°C'de 1 dakikada absorbansı 0,01 arttırmasını sağlayan enzim 1 enzim ünitesi kabul edilmiştir.

3.4.7.3. Peroksidaz (POD) aktivite ölçümü

1,24 gr 4-metil katekol su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır.

3.4.7.4. Peroksidaz (POD) aktivitesinin belirlenmesi

60 sn 420 nm dalga boyunda bulunan absorbansın spektrofometrik olarak artış sağlaması incelenerek yapılmaktadır. Substratı 5 mM'lık 4-metil katekol ve 25 mM'lık H₂O₂ dir. 3 mL'lik küvet içerisine 25 mM (300 µL) H₂O₂, 5mM 4-metil katekol ile 100µL enzim ekstraktı, 3 mL'ye tamamlayarak fosfat tamponu (pH 7,0) eklenip, küvet içinde numune karıştırılmıştır ve fosfat tamponu (pH 7,0) denk gelen köre karşı 420 nm'deki absorbans ölçüm okuması yapılmıştır. Ölçümler için dakika başına absorbansın artma işlemi hesaplanmıştır. 25°C'de 1 dakikada absorbansı 0,01 yükselten enzim 1 enzim ünitesidir.

3.4.7.5. Katalaz (CAT) aktivite ölçümü

204 µL % 30'luk hidrojen peroksit (H₂O₂) çözeltisi saf su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır.

3.4.7.6. Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi

Absorbans ölçümleri 240 nm'de spektrofotometrik yöntemle gerçekleştirildi. Aktivite ölçümünde bulunan katalazın, hidrojen peroksit ile etkileşiminden sonra absorbans azalımının 240 nm'de incelenmesi esasına dayanmaktadır.

Aktivitenin ölçümünde 20 mM'lık hidrojen peroksinin hesaplaması yapıldıktan sonra ve 3 mL'lik kuartz küvet kullanılmıştır. 3mL'lik kuartz küvetin içerisine 20mM (1200 µL) H₂O₂, 500µL enzimin ekstraktı ve 3 ml'ye tamamlaması için 1300 µL fosfat tamponu (pH 7,0) eklenmiştir.

Küvette numune karıştırıldıktan fosfat tamponu (pH 7,0) substrat (H₂O₂) içine aldıktan sonra kör numuneye karşılık 240nm'de absorbans okunması yapılmıştır. H₂O₂'nin H₂O ve O₂'ye dönüşmesi oluşurken azalma enzimin aktivitesini göstermiştir. 2 dk boyunca 240 nm'de oluşan absorbansın azalması köre karşılık not edildi. Ölçüm işlemlerinde doğrusal bir şekilde absorbansın azaldığı andan itibaren, her dakika başına azalma miktarı hesaplanmıştır. 25°C'de 1 dakikada absorbe işlemini 0,01 azaltan enzim 1 enzim ünitesidir.

3.4.7.7. Askorbat peroksidaz ölçümü

0,21 gr askorbik asit saf suda çözülerek hacmi saf su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır.

3.4.7.8. Askorbat peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi

Spektrofotometrik yöntemle enzimlerin aktivite değerleri 60 sn süresince 285 nm dalga boyunda absorbansın artması gözlenerek yapılmıştır. Askorbik asit substrat olarak 2 mM kullanıldı.

3 mL'lik küvet içerisine 2 mM askorbik asit ilave edilerek 100 µL enzim ekstraktı ve 3 ml'ye tamamlamak için fosfat tamponu (pH 7,0) ilave edildikten sonra küvetin içerisindeki numune karıştırılıp, fosfat tamponu (pH 7,0) ihtiva eden kör numuneye karşılık 285 nm'de absorbans ölçümü yapılarak, doğrusal olarak absorbansın artması gereken aralıktan, dk başına absorbans yükselmesi hesaplanarak not edildi. 25°C'de 1 dakikada absorbansı 0,01 yükselten enzim 1 enzim ünitesidir.

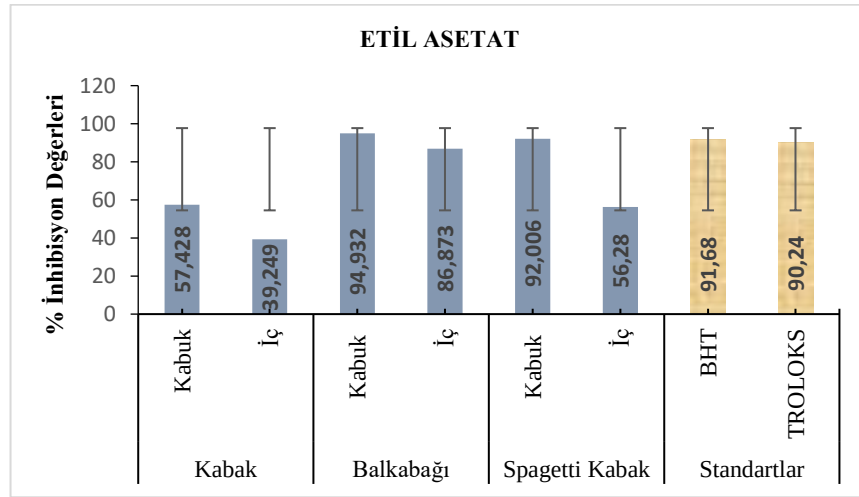


4. SONUÇLAR

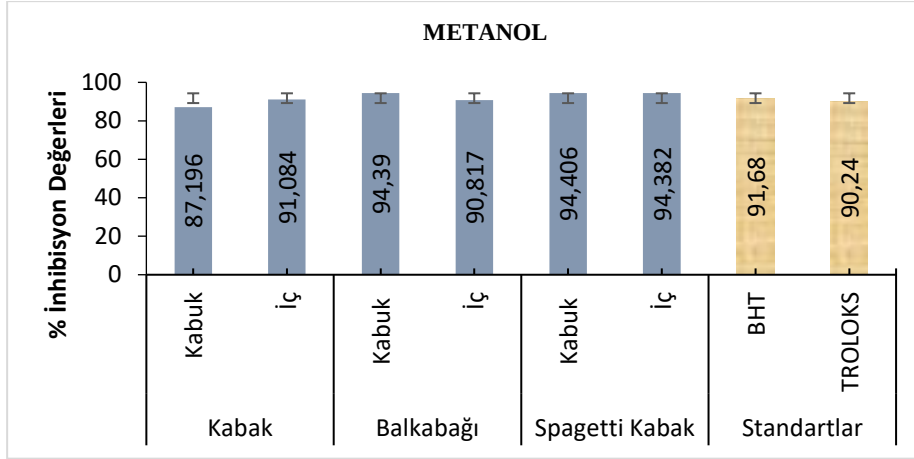
4.1. DPPH Serbest Radikal Giderim Tayini Sonuçları

Kabak çözeltilerinin 1000 µg/mL’de DPPH aktivitesi analiz edilmektedir. BHT ve Troloks standart olarak kullanılmakta ve BHT ile Troloksa göre aktivitelerin karşılaştırması yapılmıştır. Bulunan değerler metanol ve etil asetat olmak üzere iki ayrı grafik olarak incelendi. Etil asetat grafiğinde en yüksek DPPH giderim aktivitesini bal kabağının kabuk kısmı % 94,932 göstermiş olup en düşük aktivite sakız kabağının iç kısmında %39,249 olarak bulunmuştur. Metanol grafiği incelendiğinde ise en yüksek DPPH giderim aktivitesi spagetti kabağın kabuk kısmında % 94,40 olarak bulunurken, en düşük sakız kabağının kabuk kısmında %87,196 gözlemlenmiştir.

Analizlerin sonucunda en yüksek DPPH sonuçları etil asetat grafiğinde Bal Kabağı > Spagetti Kabak > Sakız Kabağıdır. Metanol grafiğinde ise Spagetti Kabak > Bal Kabağı > Sakız Kabağıdır. Bütün kabak çeşitlerinde çözücüler farklı olsa dahi kabuk kısımlarının inhibisyon değerlerinin etil asetat grafiğindeki Sakız Kabağı haricinde yüksek olduğu görülmüştür. Sonuçlar Şekil 4.1 ve 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Kabak ekstreleri DPPH serbest radikali giderim aktivitesi % inhibisyon değerleri (etil asetat çözgeni)

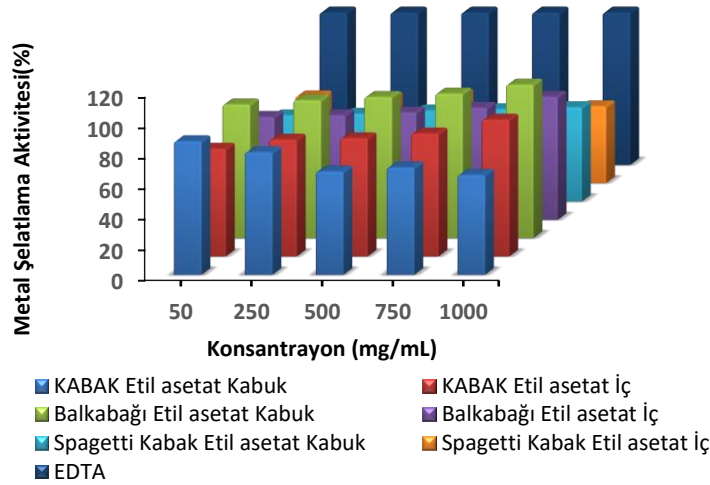


Şekil 4.2. Kabak ekstraları DPPH serbest radikali giderim aktivitesi % inhibisyon değerleri (metanol çözgeni)

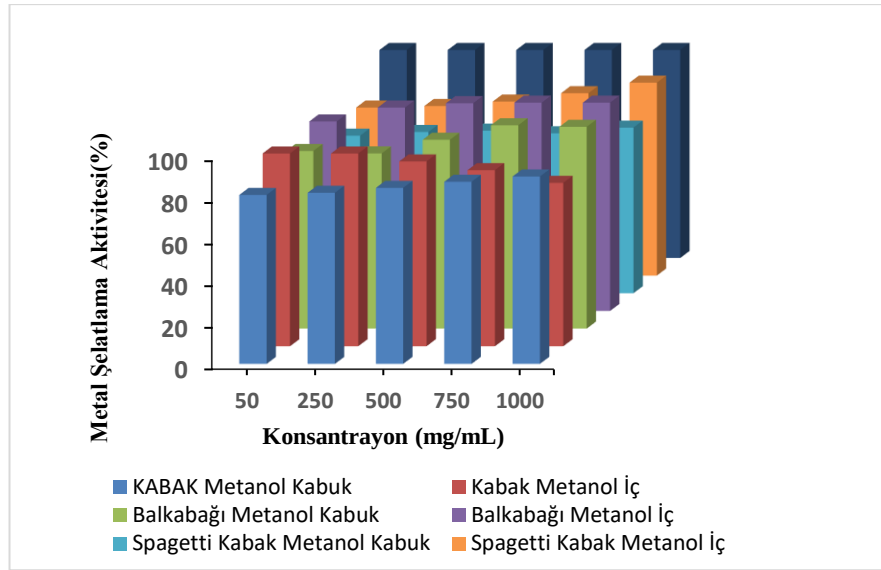
4.2. Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesi Sonuçları

Metal iyonu şelatlama aktivitesi; Solüsyondaki Fe^{2+} iyonlarının bağlanması için kabak ekstraktlarının ferrozin ile rekabetine dayalı olarak değerlendirilmiştir.

Karşılaştırma maddesi olarak EDTA seçilmiştir. Şekil 4.3 ve şekil 4.4'te metal şelatlama aktivitelerini gösteren grafikler oluşturulmuştur.



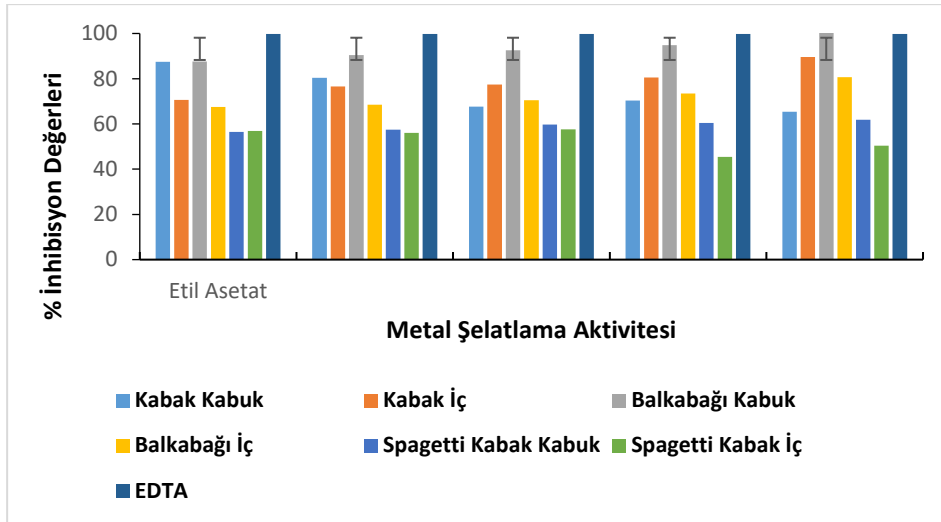
Şekil 4.3. Sakız kabağı, bal kabağı ve spagetti kabağın etil asetat ekstraktında şelat aktivitesi



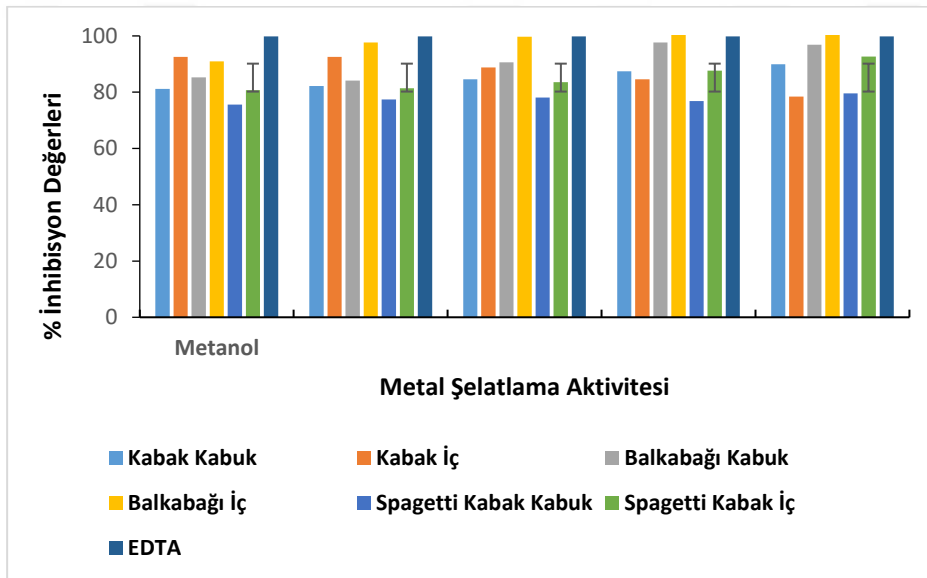
Şekil 4.4. Sakız kabağı, bal kabağı ve spagetti kabağın metanol ekstraktında şelatlama aktivitesi

Çalışmada görüldüğü üzere Şekil 4.3 'te ki Fe^{2+} iyonlarını şelatlama aktivitesi balkabağının kabuk kısmında diğerlerine göre daha fazladır. Spagetti kabağın iç kısmında ise şelatlama aktivitesi en düşük değeri göstermektedir. Etil asetat ekstrat grafiğinde Bal kabağı kabuk > Sakız kabağı iç > Bal kabağı iç > Spagetti kabak kabuk > Sakız kabağı kabuk > Spagetti kabak iç şeklinde olduğu görüldü.

Şekil 4.4' te ki Fe^{2+} iyonlarını şelatlama aktivitesi incelendiğinde ise balkabağının iç kısmındaki Fe^{2+} iyonlarını şelatlama aktivitesi daha yüksektir. Sakız kabağının iç kısmındaki şelatlama aktivitesi ise en düşük değeri göstermektedir. Metanol ekstrat grafiğinde Bal kabağı iç > Bal kabağı kabuk > Spagetti kabak iç > Sakız kabağı kabuk > Spagetti kabak kabuk > Sakız kabağı iç şeklinde olduğu görüldü.



Şekil 4.5. Metal şelatlama aktivitesi % inhibisyon değerleri (etil asetat)



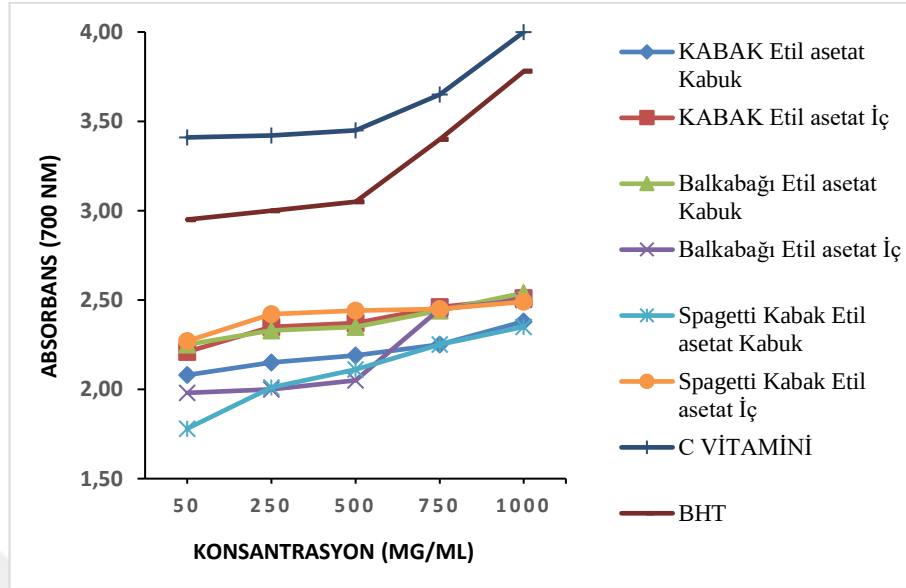
Şekil 4.6. Metal şelatlama aktivitesi % inhibisyon değerleri (metanol)

Bütün ekstraktlarda aktivite vardır, fakat diğer ekstraktların hiçbirisi EDTA kadar daha iyi sonuç vermemiştir. Sonuçlar Şekil 4.5 ve 4.6' da gösterilmektedir.

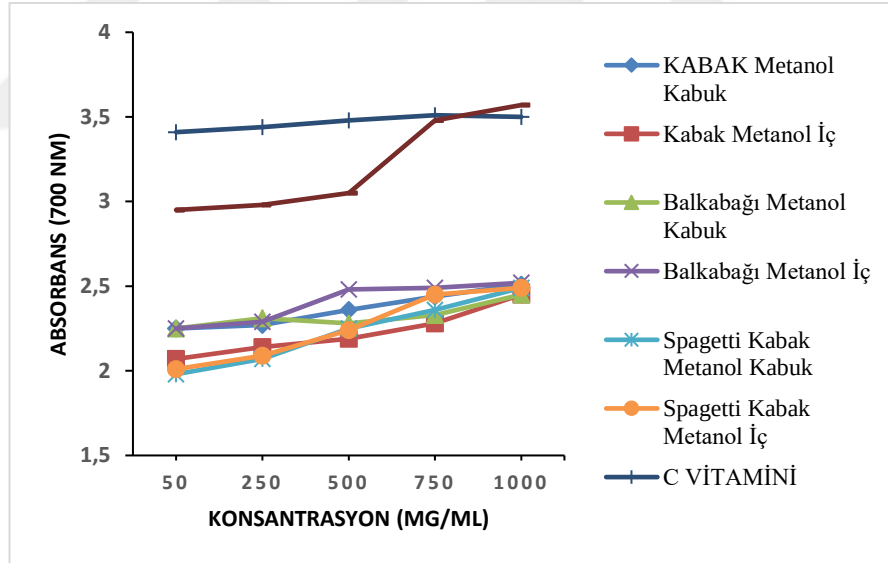
4.3. İndirgeme Kapasitesi Tayin Sonuçları

Fe^{3+} iyonlarının indirgenme miktarı, bileşikteki antioksidan aktivitesi için önemli bir mekanizma olan ve diğer antioksidan özelliklerle yakından ilişkili olan elektron verme kapasitesinin bir göstergesidir. Kabak ekstraktının ortamda bulunan Fe^{+3} 'ü azaltma kapasitesini belirlemek için ekstrakt ve standardın farklı konsantrasyonlarında test edilmiş ve oluşan komplekslerin absorbansları 700 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Şekil 4.7 – 4.8 ‘de konsantrasyon-absorpsiyon grafikleri, her kabak özü için oluşturulmuş BHT ve C vitamini standartlarıyla karşılaştırma işlemi yapılmaktadır.



Şekil 4.7. Sakız kabağı, bal kabağı ve spagetti kabağın etil asetat ekstraktlarında indirgeme kapasitesi



Şekil 4.8. Sakız kabağı, bal kabağı ve spagetti kabağın metanol ekstraktlarında indirgeme kapasitesi

Şekil 4.7 ve 4.8’de belirtildiği üzere çalışılan sakız kabağı, bal kabağı, spagetti kabağın ekstraktlarının Fe^{3+} ’ü indirgeme kapasitesi standartlarla denkleştirildiğinde yüksek aktiviteye sahip olmadıkları görülmüştür.

Analizi yapılan kabak türlerinin indirgeme kapasiteleri değerlendirildiğinde etil asetat ekstratlarındaki indirgeme kapasitesi metanol ekstratlarındaki indirgeme

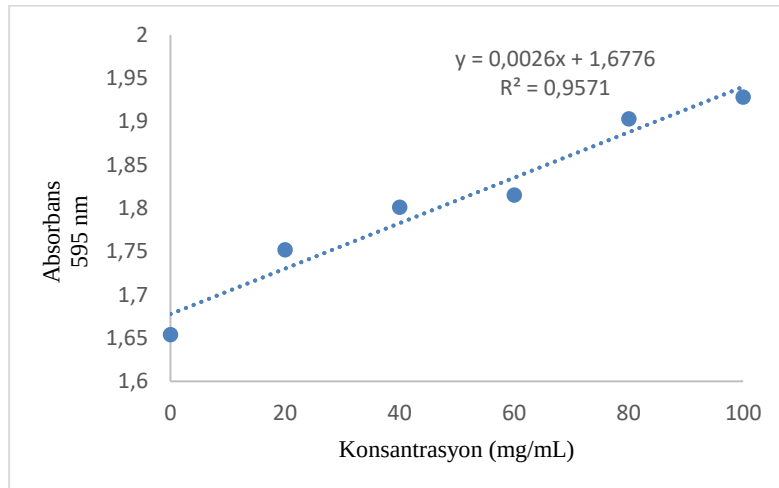
kapasitesinden daha yüksektir. Etil asetat ekstratlarında spagetti kabağın iç kısmı artış gösterip daha sonra doğrusal bir hal almıştır. Balkabağının iç kısmı doğrusal giderken daha sonra artış göstermiştir. Sakız kabağının iç kısmı devamlı artış göstermiştir. Sakız kabağının kabuk kısmı sürekli artış göstermiştir. Balkabağının kabuk kısmı artıp daha sonra azalıp tekrar artış göstermiştir. Spagetti kabağın kabuk kısmı artış gösterilmiştir.

Metanol ekstratlarında spagetti kabağın iç kısmı artış göstermiştir. Balkabağının iç kısmı doğrusal giderken daha sonra artış gösterip tekrar doğrusal hal almıştır. Sakız kabağının iç kısmı devamlı artış göstermiştir. Sakız kabağının kabuk kısmı sürekli artış göstermiştir. Balkabağının kabuk kısmı artıp sonra azalıp tekrar artma eğilimi göstermiştir. Spagetti kabağın kabuk kısmı artış gösterilmiştir.

İndirgeme kapasitesinde yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme kapasitesini gösterir. Absorbans sonuçlarının tüm kabak ekstratlarında hepsinin oldukça yakın değerlere sahip olabildiği ve kabak numunelerinde 1000 µg/mL konsantrasyonda bulunan değerlerin standartlarının 100 µg/mL (C vitamini; 3,40±0,01 BHT: 2.98±0,05) konsantrasyonlarında, absorbanslarıyla benzer sonuç vermiştir.

4.4. Bradford Yöntemi ile Protein Miktar Tayini

Sakız kabağı, bal kabağı ve spagetti kabak çeşitlerine protein miktarı tayini yapılmıştır. 60 mL ve 100 mL konsantrasyonlarda kabak çözeltileri oluşturulmuştur. Hesaplamalardanda BSA'nın (Bovine Serin Albumin) farklı konsantrasyonlardaki da Bradford standard grafiğinden yararlanılmıştır (Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. Standard BSA'nın (Bovine Serin Albumin) farklı konsantrasyonlardaki da Bradford standard grafiği.

100 µL'de en fazla sakız kabağın iç kısmında 1,928 mg/mL protein bulunmuştur. Sırasıyla sakız kabağının kabuk kısmında 1,903 mg/mL, spagetti kabağın iç kısmında 1,815 mg/mL, spagetti kabağın kabuk kısmında 1,801 mg/mL, balkabağının iç kısmında 1,752 mg/mL en az bal kabağının kabuk kısmında 1.654 mg/mL bulunmuştur.

60 µL'de ise en fazla yine sakız kabağının iç kısmında 1,651 mg/mL protein bulunmuş, sakız kabağının kabuk kısmında 1,648 mg/mL, spagetti kabağın iç kısmında 1,645 mg/mL, spagetti kabağın kabuk kısmında 1,639 mg/mL, bal kabağının iç kısmında 1,624 mg/mL en az ise bal kabağının kabuk kısmında 1,598 mg/mL bulunmuştur.

4.5. Enzim Aktivitesi Tayin Sonuçları

4.5.1. Peroksidaz enzim aktivite sonuçları

Bitki ile hayvan organizmalarının koruma düzeneğinde bulunan enzim çeşididir.. Hidrojen peroksitin canlı organizmalar ve bitkiler üzerinde neden olduğu oksidatif stresi önleyerek bitki büyümesine katılır. Bitkilerin, özellikle meyve ve sebzelerin savunma sisteminde yer aldığından, bitki zarar gördüğünde veya pul pul döküldüğünde rengi ve tadında farklılaşmaya sebep olabilmektedir. Bu nedenle koruyucu amaçlı besin değerini düşürür. Peroksidazlar, bir hidrojen vericisi yardımıyla peroksit molekülünü parçalar. Bunlara etki ederek hücrede bulunan diğer metil veya etil peroksitleri de parçalamaktadırlar. Bu enzim grubu bitkilerin yapısında bulunmakta ve en sağlam enzim olarak nitelendirilmektedir. Peroksidaz enzim sonuçları Tablo 4.1 de gösterilmektedir.

Tablo 4.1. Kabakların POD aktivite değerleri

AntioksidanEnzim	Kabak Türleri	$\Delta A/100\mu L$	EU/mL
PEROKSİDAZ	Spagetti kabak kabuk	0,019515	1,9515
	Spagetti kabak iç	0,012181	1,2181
	Bal kabağı kabuk	0,057751	5,7751
	Bal kabağı iç	0,019866	1,9866
	Sakız kabağı kabuk	0,023931	2,3931
	Sakız kabağı iç	0,016336	1,6336

Tablo 4.1. de en fazla enzim aktivitesi bal kabağının kabuk kısmında, Bal kabağından sonra ki en yüksek aktivite sakız kabağının kabuk kısmında 2,3931 EU/mL, bal kabağının iç kısmında 1,9866 EU/mL spagetti kabağın kabuk kısmında 1,9515 EU/mL sakız kabağının iç kısmında 1,6336 EU/mL analiz edilmiştir, en düşük enzim aktivitesi spagetti kabağın iç kısmında gözlemlenmiştir.

4.5.2. Polifenol oksidaz enzim aktivitesi sonuçları

Gıdada neden olduğu enzimatik kararmaya ek olarak, PPO besin maddelerinin çok hızlı tükenmesine neden olur. Bitki kaynaklı PPO enziminin enzimatik aktivitesinin araştırılması, gıda endüstrisinde gıda işleme sırasında oluşabilecek zararları en aza indirirken, endüstriye etkili bilgiler sağlayacaktır. Bitkinin tüm kısımlarında bulunan PPO, hücre yapısında fenolik ve oksijen ile etkileşime girerek enzimatik esmerleşme reaksiyonlarını başlatır. Bu enzimatik esmerleşme, bitki besinlerinin rengini ve besin değerini azaltır ve değiştirir. Polifenol oksidaz değerleri Tablo 4.2’de bulunmaktadır.

Tablo 4.2. Kabakların PPO aktivite değerleri

AntioksidanEnzim	Kabak Türleri	$\Delta A/100\mu L$	EU/MI
PPO	Spagetti kabak kabuk	0,004638	0,4638
	Spagetti kabak iç	0,002132	0,2132
	Bal kabağı kabuk	0,001102	0,1102
	Bal kabağı iç	0,003745	0,3745
	Sakız kabağı kabuk	0,003523	0,3523
	Sakız kabağı iç	0,002398	0,2398

Tabloda 4.2’de belirtildiği gibi en çok PPO aktivite artışının spagetti kabağın kabuk kısmında 0,4638 EU/mL olduğu belirlenmiş spagetti kabağı takriben balkabağının iç kısmında 0,3745 EU/mL sakız kabağının kabuk kısmında 0,3523 EU/mL sakız kabağının iç kısmında 0,2398 EU/mL spagetti kabağın iç kısmında 0,2132 EU/mL en düşük PPO aktivitesi bal kabağının kabuk kısmında 0,1102 EU/mL gözlemlenmiştir.

4.5.3. Katalaz enzim aktivitesi sonuçları

Canlıların yapılarının stres karşılığı savunmasında görevi olan bu aşamada oluşabilecek fayda sağlamayan H_2O_2 ’in H_2O ile O_2 ’ye dönmesini destekleyen oldukça önemli antioksidanlardan bir tanesidir. Bu çalışma Katalaz 100 μL ve Katalaz 500 μL olarak iki konsantrasyonda gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.3’ te veriler belirtilmiştir.

Tablo 4.3. Kabakların katalaz (100 µL) aktivite değerleri

AntioksidanEnzim	Kabak Türleri	$\Delta A/100\mu L$	EU/mL
KATALAZ 100 µL	Spagetti kabak kabuk	0,000233	0,0233
	Spagetti kabak iç	0,000236	0,0236
	Bal kabağı kabuk	0,000264	0,0264
	Bal kabağı iç	0,000208	0,0208
	Sakız kabağı kabuk	0,000103	0,0103
	Sakız kabağı iç	0,000228	0,0228

Tablo 4.3'te belirtildiği üzere katalaz 100 µL için enzim aktivite değeri en fazla bal kabağının kabuk kısmında 0,0264 EU/mL olarak bulunmuştur. Spagetti kabağın iç kısmında 0,0236 EU/mL bulunmuştur. Spagetti kabağın kabuk kısmında 0,0233 EU/mL bulunmuş, sakız kabağının iç kısmında 0,0228 EU/mL bulunmuştur. En düşük enzim aktivite değeri sakız kabağının kabuk kısmında 0,0103 EU/mL olarak görülmüştür.

Tablo 4.4. Kabakların katalaz (500 µL) aktivite değerleri

AntioksidanEnzim	Kabak Türleri	$\Delta A/100\mu L$	EU/mL
KATALAZ 500 µL	Spagetti kabak kabuk	0,002254	0,2254
	Spagetti kabak iç	0,000338	0,0338
	Bal kabağı kabuk	0,001318	0,1318
	Bal kabağı iç	0,001145	0,1145
	Sakız kabağı kabuk	0,000345	0,0345
	Sakız kabağı iç	0,000219	0,0219

Tablo 4.4.'te görüldüğü üzere katalaz 500 µL için enzim aktivite değeri birinci sırada olan spagetti kabağın kabuk kısmında 0,2254 EU/mL gözlemlenirken, bal kabağının kabuk kısmında 0,1318 EU/mL bal kabağının iç kısmında 0,1145 EU/mL bulunmuştur. Sakız kabağının kabuk kısmında 0,0345 EU/mL, spagetti kabağın iç kısmında 0,0338 EU/mL En düşük enzim aktivitesi değeri sakız kabağının iç kısmında 0,0219 EU/mL gözlemlenmiştir.

4.5.4. Askorbat peroksidaz enzim aktivitesi sonuçları

Bitkilerin yapısında bulunan kuvvetli antioksidan olan askorbik asit (AsA), 176.12 gmol⁻¹ 'lük bir molekül ağırlığındadır. Suda çözünebilen, beyazdan açık sarıya doğru kristaller halinde veya toz şeklinde görülebilmektedirler. Taze olan meyve gruplarında, öncelikle portakal, limon ve mandalina ağırlıklı, narenciye ailesinde bulunmakta ayrıca yeşil yapraklı sebzelerde oldukça fazla oranda görülebilmektedirler.

Askorbat peroksidaz ile ilgili elde edilen enzimatik aktivite sonuçları aşağıdaki Tablo 4.5’ te değerlendirilmiştir.

Tablo 4.5. Kabakların askorbat peroksidaz aktivite değerleri

Antioksidan Enzim	Kabak Türleri	$\Delta A/500\mu L$	EU/mL
ASKORBAT PEROKSİDAZ	Spagetti kabak kabuk	0,000335	0,0335
	Spagetti kabak iç	0,000136	0,0136
	Bal kabağı kabuk	0,000528	0,0528
	Bal kabağı iç	0,000475	0,0475
	Sakız kabağı kabuk	0,000175	0,0175
	Sakız kabağı iç	0,000279	0,0279

Tablo 4.5’ te en yüksek enzim aktivitesi bal kabağının kabuk kısmında 0,0528 EU/mL gözlemlenirken, balkabağının iç kısmı 0,0475 EU/mL spagetti kabağın kabuk kısmı 0,0335 EU/mL sakız kabağının iç kısmı 0,0279 EU/mL bulunmuş, sakız kabağının kabuk kısmında 0,0175 en düşük enzim aktivitesi spagetti kabağın iç kısmında 0,0136 EU/mL bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

Çalışmada kullanılan üç farklı kabak çeşidinin kabuk ve iç kısımları, (sakız kabağı, bal kabağı, spagetti kabak) çeşitli çözenlerdeki ekstraksiyonlarda toplam maddelerin yapıları göz önünde bulundurularak antioksidan aktiviteleri hakkında bilgi verilmiştir.

Kabakların en yüksek antioksidan aktiviteye ulaşabilmesinde kullanılan ekstraksiyon yöntemi ve analizlerde kullanılması gereken solvent farkının, sonuçları ne şekilde etkilediği belirlenmeye çalışılmıştır. DPPH giderim aktivitesi, Demir (II) iyonlarının şelatlama aktivitesi, indirgeme kapasitesi sonuçları belirlenirken çözücü olarak metanol ve etil asetat kullanıldı. Sonuçları belirleyebilmek için kabak çeşitlerinin kabuk ve iç kısımları 2 farklı çözen grafiğinde değerlendirilmiştir.

Kabak çeşitlerinin hem yapısal farklılıkları hem de kabuğunun ve içinin kısım kısım kullanılmasından ötürü kullanılan yöntemlerde bütün kabak çeşitleri için sadece bir adet çözen kullanmak mümkün değildir. Yapılan analizlerde belirtildiği üzere en uygun olanı birden fazla çözücü kullanılmasıdır. Bu sayede daha doğru ve istenilen miktarlarda sonuçlar elde edilmiş olacaktır.

Antioksidan aktivite hakkında tek bir yöntemle çalışılması doğru bir karar değildir. Daha etkili ve anlaşılır sonuçlar elde etmek için birden fazla analiz yöntemi kullanılması gerekmektedir.

Yapılan antioksidan aktivite çalışmaları sonucunda DPPH giderim aktivitesinde çözen olarak metanol kullanıldığında spagetti kabağın kabuk kısmında en fazla aktivite gösterilirken, çözücü etil asetat kullanıldığında bal kabağının kabuk kısmı en fazla aktiviteyi göstermiştir.

Demir (II) iyonlarının şelatlama aktivitesi incelendiğinde çözen olarak metanol kullanıldığında bal kabağının iç kısmı daha fazla aktivite gösterirken, çözen olarak etil asetat kullanıldığında bal kabağının kabuk kısmında daha fazla aktivite göstermektedir.

İndirgeme kapasitesi tayini sonuçlarında etil asetat ekstratlarındaki indirgeme kapasitesi metanol ekstratlarındaki indirgeme kapasitesinden daha yüksektir. Bradford

yöntemi ile protein miktarı tayininde 100 µL’de en fazla sakız kabağın iç kısmında 1,928 mg/mL protein bulunmuştur. 60 µL’de ise en fazla yine sakız kabağının iç kısmında 1,651 mg/mL protein bulunmuştur.

Enzim aktivite tayinleri incelendiğinde PPO aktivite artışının spagetti kabağın kabuk kısmında, peroksidaz enzimin en yüksek enzim aktivitesi bal kabağının kabuk kısmında, katalaz 100 µL için en çok görülen enzim değeri bal kabağının kabuk kısmında, katalaz 500 µL için en fazla enzim aktivite spagetti kabağın kabuk kısmında, askorbat peroksidaz için en yüksek aktivite değeri bal kabağının kabuk kısmında gözlemlenmiştir.

Emine ve arkadaşı tarafından (2005) bal kabağı unu eklenmiş bisküvilerin antioksidan aktivitesi ve beslenme kalitesi üzerine etkilerini araştırılmıştır ve DPPH antioksidan aktiviteleri içinde en yüksek değer 33.85 µmol troloks/g gösterilmiştir [5]. Bu tezdeki yapılan çalışmada DPPH Giderim Aktivitesi etil asetat çözgeninde en fazla bal kabağının kabuk kısmında % 94,32 bulunmuş, metanol çözgeninde en fazla spagetti kabağın kabuk kısmında % 94,39 bulunmuştur.

Elif ve arkadaşı (2011) soğansısı bitkilerin fenolik profilleri HPLC yöntemi ile analiz edilmiş, DPPH antioksidan aktiviteleri BHT ve troloksa göre aktivite karşılaştırmaları yapılmıştır. Sonuçlara göre en yüksek DPPH giderim aktivitesini, troloks % 87,69 değerinde bulunmuşken, ikinci sırada gelen BHT % 74,44 olarak bulunmuştur [8]. Bu tezde BHT %91,68, Troloks %90,24 bulunmuş ve sonuçların daha yüksek olduğu görülmüştür.

Rana ve arkadaşı (2013) tıbbi amaçlı kullanılan dört farklı bitkinin antioksidan aktivitesi belirlenmiş, sonuçlara göre en yüksek DPPH giderim aktivitesini, BHT % 91,64 ($\pm 0,01$) değerinde gösterilmiştir. Ciğertaze otunun metanol ekstraktı % 90,89 ($\pm 0,12$) ve etil asetat ekstraktı % 90,48 ($\pm 0,23$) bulunmuştur [9]. Bu çalışmada etil asetat çözgeninde en fazla bal kabağının kabuk kısmında % 94,32 bulunmuş, metanol çözgeninde en fazla spagetti kabağın kabuk kısmında % 94,39 bulunmuştur. Rana ve arkadaşları (2013) Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesinin Tayini Sonuçlarına göre tüm ekstraktların konsantrasyonu arttıkça şelatlama aktivitesinde arttığını belirlemiştir. Ayrıca sedef ve pelin otunun aseton ekstraktlarının demir iyonunlarını şelatlama kapasitelerinin çok düşük olduğunu belirlemiştir. Bu yapılan tezde ise Demir (II) İyonlarını Şelatlama Aktivitesi etil asetat çözgeninde bal kabağının kabuk

kısımında fazla iken, metanol ekstraktında ise bal kabağının iç kısmında yüksek bulunmuştur.

Rana ve arkadaşları tarafından (2013) bitki ekstraktların indirgeme kapasitesinin sonuçlarında Fe^{+3} 'ü indirgeme yetenekleri yönünden standartlarla karşılaştırıldığında çok yüksek aktiviteye sahip olmadıkları gösterilmiştir. Ancak tüm bitki ekstraktlarının 1000 $\mu g/mL$ konsantrasyondaki değerlerinin standartların 100 $\mu g/mL$ (C vitamini; $3,41 \pm 0,01$ BHT: $2,95 \pm 0,05$) konsantrasyonlarındaki değerlerine yakın sonuç verdiği görülmüştür. Bu tezde sakız kabağı, bal kabağı, spagetti kabağın ekstraktlarının Fe^{3+} 'ü indirgeme kapasitesi standartlarla denkleştirildiğinde yüksek aktiviteye sahip olmadıkları görülmüştür. 100 $\mu g/mL$ C vitamini; $3,40 \pm 0,01$ BHT: $2,98 \pm 0,05$ konsantrasyonlarında, absorbanslarıyla benzer sonuç vermiştir.

Kabak yapıları ve cinsleri arasında oldukça fazla farklılaşma olmasına rağmen, zengin bir yağ asidi ve protein kaynağıdır. Fenolik glikozitler, polisakkaritler, proteinler ve çeşitli bileşikler içeren iyi bir fitokimyasal kaynağıdır. Kabak türleri sağlık için antibakteriyel, antidiyabetik, antihipertansif, antikanser, immünomodülatör, antihipokolesterolemik, antiparaziter, antiinflamatuvar ve analjezik gibi çeşitli terapötik özelliklere sahiptir. Ayrıca tohumları bitkinin en çok çalışılan kısmıdır ve geleneksel halk hekimliğinde çokça hastalıkların tedavi etme sürecinde kullanılır. Önümüzdeki süreçlerde sentetik antioksidan yapılarının yerini alabilen doğal antioksidanlar için yoğun bir arayış var. Bu testlerin, yüksek antioksidan aktiviteye sahip bitki ekstraktlarını belirlemek, gıda ve sağlık sistemlerinde antioksidan aktivitelerini test etmek ve alternatif hastalık tedavi yöntemlerini uygulamak için araştırma sürekliliğini sağlamak için kullanılması önerilir.



KAYNAKLAR

- [1] Nawar, WW. 1985. Lipids Food Chemistry, OR Fennema. Marcel Dekker Inc. 139-244. New York .
- [2] Bilaloğlu, G.V. Harmandar, M. 1999. Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık Ltd. Şti, 336-343. İstanbul.
- [3] Öztürk, M. 2008. *Micromeria cilicica* ve *M. juliana* Türlerinde Antioksidan Bileşiklerin HPLC ile Analizi ve Yapılarının Aydınlatılması. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bil. Enstitüsü, Doktora Tezi 220 sayfa, İstanbul.
- [4] Diri, M. 2006. *Coridothymus capitatus* (L.) Reichb. Uçucu Yağının Analizi, Su ve Etanol Ekstraktlarının Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi. Muğla Üniversitesi, Fen Bil. Enstitüsü, 101, Muğla.
- [5] Aydın, E. Balkabağı (*Cucurbita moschata*) Unu Katkısının Bisküvinin Antioksidan Aktivite ve Besinsel Kalitesine Etkileri <https://acikerisim.uludag.edu.tr/bitstream/11452/1785/1/373844.pdf> adresinden 19 ocak 2022 tarihinde alınmıştır.
- [6] Güleşçi, N., aygöl, İ. (<https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/220066>) adresinden 19 ekim 2022 tarihinde alınmıştır.
- [7] Oğuz, A. Bazı çerez gıdaların Antioksidan Kapasiteleri https://acikbilim.yok.gov.tr/bitstream/handle/20.500.12812/618415/yokAcikBilim_321550.sequence=-1 adresinden 8 Temmuz 2021 tarihinde alınmıştır.
- [8] Eren, E. Bazı Soğanslı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. <https://acikerisim.sakarya.edu.tr/bitstream/handle/20.500.12619/80168/T05363.pdf?sequence=1> adresinden 2 Kasım 2021 tarihinde alınmıştır.
- [9] Arıdur, R. Bazı Şifalı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. <https://acikerisim.sakarya.edu.tr/bitstream/handle/20.500.12619/79978/T05711.pdf?sequence=1&isAllowed=y> adresinden 3 Eylül 2021 tarihinde alınmıştır.
- [10] Marzatico, F. 1993/01/01. Cafe C. Oxygen radicals and other toxic oxygen metabolites as key mediators of the central nervous system tissue injury. Functional neurology ; 8(1):51-66.
- [11] Atal, S. 2014. Erişkin Erkek Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Testis Hasarında Kurkuminin Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.

- [12] Sayılmaz, A. 2015. Metotreksat (MTX) Toksisitesinin Sıçan Testisinde Yarattığı Histolojik Değişimlere C Vitamininin Etkisinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya.
- [13] Selçuk, M. 2003. Sedanterler İle Kuzey Disiplini Yapan Antrene Bireylerde Programlı Aerobik Ve Anaerobik Egzersizlerin Bazı Antioksidan Profiller Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- [14] Halliwell, B. 1991. Drug antioxidant effects. *Drugs* ; 42(4): 569 - 605. 34.
- [15] Akkuş, İ. 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları Sağlık Dizisi, Konya.
- [16] Tekkes, Y. 2006. Streptozotisin ile diabe oluşturulmuş farelerde aspirin ve e vitamininin dokularda lipit peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması, (Yüksek Lisans Tezi), Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, 2006.
- [17] Mccord, JM. (1993) Human disease, free radicals and the oxidant /antioxidant balance, *Clinical Biochemistry*, 26: 351-357
- [18] Çavdar, C., SİFİL, A., ÇAMSARI, T., (1997). Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Tranplantasyon Dergisi*, 3(4): 92-95.
- [19] Sinclair, AJ., barnett, AH., lunec, J., (1990) Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hos Med*, 43: 334-344.
- [20] Fantone, JC., Ward, PA., 1982. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol*, 107: 395-418.
- [21] Gökpınar, S., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y. 2006. Algal Antioksidanlar. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23 (1): 85-89.
- [22] CAO G., Prior, R.L., 1999. In vivo antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27: 1173-1181.
- [23] Papetti, A., Daglia, M., Grisolı, P., Dacarro, C., Gregotti, C., Gazzani, G., 2006, Anti- and pro-oxidant activity of Cichorium genus vegetables and effect of thermal treatment in biological systems, *Food Chemistry*, 97, 157-165.
- [24] Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G., 1997, Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in Plant Science*, 2, 152-159.
- [25] Bounous, G., Molson, J. H., 2003. The antioxidant system. *Anticancer Research*, 23: 1411-1416
- [26] Derviş, E., 2011 Oral Antioksidanlar. *Dermatoz*, 2 (1): 263-267

- [27] Güçlü, K., Apak, R., Özyürek, M., 2009. Hidroksil ve Süperoksit Radikallerinin Süpürülmesine Dayalı Yeni Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemlerinin Geliştirilmesi. Tübitak Proje, 1-114.
- [28] Shahidi, F. 1996. Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. AOCS Press, Champaign- Illinois 1-11. AOCS Press, ChampaignIllinois, 209, USA.
- [29] Keskin, H., Erkmen G., 1987, Besin Kimyası, Güryay Matbaacılık, Beşinci basım, İstanbul.
- [30] Ayhan, B., Mısır (zea mays l.)’In bazı çeşitlerinde ağır metal (cd, pb) stresinin etkilerinin belirlenmesi, (Yüksek lisans tezi) Hacettepe üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 2006
- [31] Göger, F., *Salvia virgata* Jacq. ve *S. halophila* hedge’nin Antioksidan Etkilerinin ve Bileşimlerinin Belirlenmesi, (Yüksek lisans tezi) Anadolu üniversitesi, Sağlık bilimleri enstitüsü, Farmakognozi anabilim dalı, 2006
- [32] Önez, Z., " Üzümden (*vitis vinifera* l.) izole edilen polifenol oksidaz enziminin özelliklerinin belirlenmesi", (Yüksek Lisans Tezi) Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2006.
- [33] Crumiere, F., " Inhibition of enzymatic, browning in food products using bio-ingredient", Cbernistry McGill University, A Thesis Submitted to the Faculty of Graduate Studies and Research in partial fulliliment of the tequiremcois of the degree of Master of Science, 2000.
- [34] Zıyan, E., "Polifenol oksidaz enziminin Ankara armudu (*pyrus communis*)’ndan izole edilmesi, saflaştırılması ve kinetik özelliklerinin incelenmesi". Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 1998.
- [35] Onsa, G.H., Saarl, N.B., Selamet, J., Bakar, J., (2004) Purification and characterization of membrane-bound peroxidases from *Metroxylon sagu*, Food Chemistry, 85 :365–376.
- [36] Rompel, A., Albers, M., Naserı, J.I., Gerdemann, C., Purification, cloning and characterization of a novel peroxidase isozyme from sweetpotatoes (*Ipomoea batatas*), Biochimica et Biophysica Acta 1774:1422–1430, 2007.
- [37] Pektaş. İ., (2009) Bitki gelişim düzeylerinin antioksidan enzimler üzerindeki etkisinin araştırılması. Fen bilimleri enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi), Balıkesir Üniversitesi.
- [38] Kara, D., (Mayıs 2008) Sakarya’da yetişen iki farklı kabak çekirdeğinden (*cucurbita maxima* ve *moschata*) katalaz enziminin karakterizasyonu, Fen bilimleri enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi), Sakarya Üniversitesi.
- [39] Asada, K., 1984, Chloroplasts: formation of active oxygen and its scavenging. Pages 422-429
- [40] Asada, K., 2006, Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. Plant Physiol. 141, 391-396.

- [41] Sharp, K.H., Raven, E., Enzyme-substrat interactions in askorbate peroxidase, University of Leicester, Cambridge, UK, NPR, 2003.
- [42] KLAPHECK, S., ZIMMER, I., and COSSE, H., (1990). Scavenging of hydrogen peroxide in the endosperm of *Ricinus communis* by ascorbate peroxidase, *Plant Cell Physiol* 31,1005–1013.
- [43] Mehlhorn, H., Lelandais, M., Korth, H.G. ve Foyer, C.H., (1996) Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases, *FEBS Lett.*, 378, 203–206.
- [44] Noctor, G., Foyer, C.H., (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 49, 249-279.
- [45] Miyake C., Asada K., 1992. Thalakoid bound ascorbate peroxidase in Spinach chloroplasts and photoregeneration of its primary oxidation product monodehydroascorbate radicals in thalakoids. *Plant Cell Physiology*, 33: 541-553.
- [46] Soydam Aydin, S., et al., Characterization of stress induced by copper and zinc on cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings by means of molecular and population parameters. *Mutat Res*, 746(1): 49-55, (2012)
- [47] Asada, K., Ascorbate peroxidase a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants, *Physiologia Plantarum*, vol. 85, no. 2, 235-241, 1992.
- [48] Shigeoka, S., Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes, *Journal of Experimental Botany*, vol. 53, no. 372, 1305- 1319, 2002.
- [49] Durner, J., Klessig, D.F., Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2,6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses, *Proceedings of the National Academy of Sciences* vol. 92, no. 24, 11312-11316, 1995.
- [50] Clark, D., Durner J., Navarre D.A., Klessig, D. F., Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase, *Molecular Plant-Microbe Interactions*, vol. 13, no. 12, 1380-1384, 2000.
- [51] Cornelli, U. Antioxidant Use İn Nutraceuticals. *Clin Dermatol* 2009; 27: 175–94.
- [52] Moure, A., Cruz, J.M., Franco, J.D., Natural Antioxidants From Residual Sources. *Food Chem* ; 172: 145–71. 2000
- [53] RACE, E.J. (2001). California grape juice concentrate, fruit processing, Vol 7, 246-248-250.
- [54] Vitaglione, P. and Fogliano, V., 2004, Use of antioxidants to minimize the human health risk associated to mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in food, *Journal of Chromatography B*, 802(1), 189-199
- [55] Chen, C., Pearson, A. M., Gray J. I., (1992) Effects of Synthetic Antioxidants (BHA, BHT and PG) on The Mutagenicity of IQ-Like Compounds. *Food Chem.*, 43:177– 183.

- [56] Wanasundara, P. K. P. D., Shahidi, F., (2005) Antioxidants: Science, Technology and Applications. Shahidi F. Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects. Wiley-Interscience, 6.
- [57] Naczki, M., Shahidi, F., 2006. Phenolics in Cereals, Fruits and Vegetables: Occurrence, Extraction and Analysis. Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41, 1523-42.
- [58] Suja K.P., Abraham, J.T., Thamizh, S.N., Jayalekshmi, A., Arumugham, C., 2004. Antioxidant efficiency of sesame cake extract in vegetable oil protection. Food Chem. 84, 393-400.
- [59] Shahidi F., Natural Antioxidant: Chemistry, Health Effects and Applications, AOCS Press, Champaign, 1997
- [60] Erdal, P., Ökmen, G., (2013) Gıdalarda kullanılan mikrobiyal kaynaklı pigmentler, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 6(2) 56-68.
- [61] Liaaen-Jensen, S., Basic carotenoid chemistry, Oxidative Stress and Disease, 13 (2004) 1-30.
- [62] Bhosale, P., Gadre, R. (2001) β -carotene production in sugarcane molasses by a *Rhodotorula glutinis* mutant, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 26(6) 327-332
- [63] Ötleş, S., Atlı, Y., (1997). Karotenoidlerin insan sağlığı için önemi, *Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 3, 249. dergipark.org.tr/download/article-file/191536
- [64] Başer, K.H.C., 2002. Fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler. 14.Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı, Bildiriler, 29-31.
- [65] Pietta, PG., 2000. Flavonoids as antioxidant. J Nad Prod;63:1035-1042. 15. Burak M, Çimen Y. 1999. Flavonoidler ve Antioksidan Özellikleri. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 19:296-304.
- [66] Delfanian, M., Sahari, M.A., 2020. "Improving functionality, bioavailability, nutraceutical and sensory attributes of fortified foods using phenolics-loaded nanocarriers as natural ingredients", Food Research International, 109555.
- [67] Van der Sluis AA, Dekker M, Skrede G, Jongen WMF 2002. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. 1. Effect of existing production methods. J. Agric. Food Chem. 50: 7211-7219
- [68] Eren E., Bazı Soğans Bitkilerinin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya, 2011.
- [69] McClure, J.W., Alan, R. Liss (Eds.Cody, V., Middleton, E. And Harborne, J.B.), New-York, 1986, 77-85.
- [70] Cooray, H. C., Janvilisri, T., Veen, H. W., Hladky, S. B., Barand, M. A., 2004. Interaction of the breast cancer resistance protein with plant polyphenols, J Biochemical biophysical research communications, 317 (1), 269-275.

- [71] AK, T. Curcumin'in Antioksidan ve Antiradikal Özelliklerinin İncelenmesi (Yüksek Lisans Tezi), Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 2006.
- [72] Vermerris W., Nicholson R., (2006) Phenolic compound Biochemistry Springer, 2-14.
- [73] Bilaloğlu Guliyev V., Harmandar M., Flavonoidler: Molekül yapıları, kimyasal özellikleri, belirleme teknikleri, biyolojik aktiviteleri, Aktif Yayınevi, İstanbul, 2000.
- [74] Kumar, S., Pandey A.K., (2013) Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview, The ScientificWorld Journal Article ID 162750, 16 pages
- [75] Heim, K.E., Tagliaferro, R., Bobilya, D.J., Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, The Journal of Nutritional Biochemistry, 13, 572-584, 2002
- [76] Vermerris W., Nicholson R., Phenolic compound Biochemistry, Springer, 2-14, 2006.
- [77] Conner ve Beuchat 1984, Akgül 1997, Arora ve Kaur 1999, Griffiths ve ark. 2002
- [78] Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B., The relative activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, Free Radical Research. 1995. 22, 375-383.
- [79] Fidan, S., (2010). "Çerezlik Kabakta Tohum Temini", Eskişehir Ticaret Borsası Dergisi, Sayı:1, Sayfa:32-34.
- [80] Günay, A. (1993). "Özel Sebze Yetiştiriciliği", Cilt V, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 117.
- [81] Chadha, M., Tarsem, L., 1993. Improvement of cucurbits, Advances in horticulture: vegetable crops-Volume 5., 137-179.
- [82] Pessarakli, M. 2016. Handbook of Cucurbits: growth, cultural practices, and physiology, CRC Press.
- [83] Küçük, A., Abak, K., Sari, N., 2002, Cucurbit genetic resources collections in Turkey, Cucurbit Genetic Resources in Europe: Ad Hoc Meeting, 19 January 2002, Adana, Turkey, 46.
- [84] İnan, N., 2008. Çekirdek kabaklarında morfolojik ve moleküler karakterizasyon, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- [85] Günay, A. 1984. Özel Sebze Yetiştiriciliği. Ankara Cilt III. A. Ü. Ziraat Fakültesi.
- [86] Tzortzakis, N., Chrysagris, A., ve Petropoulos, S., 2018, Phytochemicals content and health effects of cultivated and underutilized species of the cucurbitaceae family, Phytochemicals in vegetables: A valuable source of bioactive compounds, 99.

- [87] Moon, P., Meru, G., (2018) Embryo Rescue of Aged Cucurbita Pepo Seeds Using Squash Rescue Medium, Journal of Horticultural Science and Research, 2(1): 62- 69.
- [88] Yadav, M., Jain, S., Tomar, R., Prasad, G. B. K. S., Yadav, H. (2010) Medicinal And Biological Potential Of Pumpkin: An Updated Review. Nutrition research reviews, 23(2), 184-190.
- [89] Ratnam, N., Najibullah, M., İbrahim, M. D. (2017) A review on Cucurbita pepo. Int. J. Pharm. Phytochem. Res, 9, 1190-1194.
- [90] Fidan, S., (2014) Türkiye’de Çerezlik Kabak Yetiştiriciliği, s58-68, Çerezlik Kabak Çalıştayı, 26-27-Kasım 2014, Kayseri.
- [91] Bisognin, D. A., (2002) Origin and Evolution of Cultivated Cucurbits, Ciencia Rural, 32(5): 715-723.
- [92] Düzeltir, B., (2004) Çekirdek Kabağı (Cucurbita pepo L.) Hatlarında Morfolojik Özelliklere Göre Tanımlama ve Seleksiyon Çalışmaları, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 1-2.
- [93] Paris, H. S., Nerson, H., (2003) Seed Dimensions in the Subspecies and Cultivar Groups of Cucurbita pepo, Genetic Resources and Crop Evolution, 50(6): 615- 625.
- [94] Türkiye İstatistik Kurumu (2020). (TÜİK, <http://tuik.gov.tr>, 2020).
- [95] Whitaker, T.W., Davis, G.N. 1962. Cucurbits. New York: Interscience Publ. Inc
- [96] Taylor, M.J., Brant, J. 2002. Trend in world cucurbit production, 1991 to 2001. In: Cucurbitaceae, Maynard, D.N. Eds.; Alexandria, VA: ASHS Press, 373-379.
- [97] Özel, Ö. F., 2010. Balkabağının farklı kurutma şartlarındaki kuruma karakteristiklerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 96.
- [98] Rakcejeva, T., Galoburda, R., Cude, L., Strautniece, E. 2011. Use of dried pumpkins in wheat bread production, Procedia Food Science, 1, 441-447.
- [99] Şalk, A., Arın, L., Deveci, M., Polat, S., 2008, Özel sebzecilik, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi.
- [100] Seo, J.S., Burrib, B.J., Quan, Z., Neidlinger T.R. 2005. Extraction and chromatography of carotenoids from pumpkin. Journal of Chromatography A, 1073: 371-375.
- [101] Fao, (2019). Production quantities of Pumpkins, squash and gourds by country. Gıda ve Tarım Örgütü, Rome.
- [102] TÜİK, (2019). Bitkisel Üretim İstatistikleri 2019. Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.
- [103] Wikipedia https://en.wikipedia.org/wiki/Spaghetti_squash#cite_note-1 adresinden Ağustos 2022 tarihinde alınmıştır.

- [104] Blois, M. S., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, 1958; 181: 1199–1200
- [105] Dinis, TCP., Madeira, VMC., Almeida, LM., “Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) assay inhibitors of membrane lipid peroxidation and assay peroxy radical scavengers.” Archives of Biochemistry and Biophysics, 1994; 315(1), 161- 169.
- [106] Oyaizu, M., “Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine.” Japan Journal of Nutrition, 1986; 44, 307-315.
- [107] Özgür Mahmure, Türev Spektrofotometrik Yöntem ile Askorbik Asit Tayini, Yıldız T. Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 1992.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Selin TÜMER

ÖĞRENİM DURUMU:

- Lisans** : 2016, Afyonkocatepe Üniversitesi, Mühendislik, Gıda
- Yükseklisans** : 2023, Sakarya Üniversitesi, Kimya, Biyokimya

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER:

- Tümer S., Arabacı G. (2022, 20-23, Aralık). Sakarya Bölgesi'nde Yetişen Balkabağının Farklı Kısımlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. 1. Uluslararası Mühendislik, Doğa ve Sosyal Bilimler Konferansı, Konya, Türkiye.