



**EGE ÜNİVERSİTESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**OBEZİTENİN ÖNLENMESİNDE GIDA  
UYGULAMALARI: GIDALARDA DOĞAL OLARAK  
BULUNAN YAĞ VE KARBONHİDRAT  
SİNDİRİM ENZİM İNHİBİTÖRLERİ**

**Pınar ERCAN**

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

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Sunuş Tarihi : 08.09.2016**

**Bornova-İZMİR**

**2016**

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(DOKTORA TEZİ)**

**OBEZİTENİN ÖNLENMESİNDE GIDA  
UYGULAMALARI: GIDALARDA DOĞAL OLARAK  
BULUNAN YAĞ VE KARBONHİDRAT  
SİNDİRİM ENZİM İNHİBİTÖRLERİ**

**Pınar ERCAN**

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

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Bilim Dalı Kodu: 614.01.00**

**Sunuş Tarihi: 08.09.2016**

**Bornova - İZMİR**

**2016**



**Pınar ERCAN** tarafından **Doktora tezi** olarak sunulan “**Obezitenin Önlenmesinde Gıda Uygulamaları: Gıdalarda Doğal Olarak Bulunan Yağ ve Karbonhidrat Sindirim Enzim İnhibitörleri**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 08/09/2016 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

<b>Jüri Başkanı</b>	<b>: Prof. Dr. Sedef Nehir EL</b>	.....
<b>Raportör Üye</b>	<b>: Prof. Dr. Sibel KARAKAYA</b>	.....
<b>Üye</b>	<b>: Prof. Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU</b>	.....
<b>Üye</b>	<b>: Doç. Dr. Cem KARAGÖZLÜ</b>	.....
<b>Üye</b>	<b>: Yrd. Doç. Dr. Özlem ÇAĞINDI</b>	.....



# EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Obezitenin Önlenmesinde Gıda Uygulamaları: Gıdalarda Doğal Olarak Bulunan Yağ ve Karbonhidrat Sindirim Enzim İnhibitörleri” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

08 /09/ 2016

Pınar ERCAN



**ÖZET****OBEZİTENİN ÖNLENMESİNDE GIDA UYGULAMALARI:  
GIDALARDA DOĞAL OLARAK BULUNAN YAĞ VE  
KARBONHİDRAT SİNDİRİM ENZİM İNHİBİTÖRLERİ**

ERCAN, Pınar

Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sedef Nehir EL

Eylül 2016, 91 sayfa

Bu çalışmada makro besin öğelerinin sindiriminden sorumlu ince bağırsak enzimlerinin aktivitesini inhibe edici özellik gösteren bazı gıdalar ve bileşenleri ele alınmıştır. İnsan sindirim sistemi enzimleri üzerine inhibisyon etkileri olduğu bilinen biyoaktif bileşiklerce (prosiyanidin, antosiyanin, saponin, karnosik asit) zengin bazı gıda kaynaklarının (elma, siyah üzüm, tarçın, demir diken, nohut, adaçayı, biberiye), lipit ve karbonhidrat sindirimi üzerine inhibitör etkileri lipaz,  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz enzim inhibisyon analizleri ile saptanmıştır. Bu gıdaların toplam prosiyanidin, toplam antosiyanin, toplam saponin, karnosik asit içerikleri *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası saptanarak, bu biyoaktif bileşiklerin ne kadarının emilim hücrelerine erişebildiği (biyoerişebilirlik) belirlenmiştir.

Antosiyanin ve prosiyanidince zengin gıda örnekleri içinde en yüksek antosiyanin içeriği üzüm örneğinde saptanırken ( $164.76 \pm 2.51$  mg/100 g), en yüksek prosiyanidin içeriği tarçında ( $6432.54 \pm 177.31$  mg/100 g) saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Antosiyanin biyoerişebilirliği elmada (%  $10.23 \pm 1$ ) üzüm (%  $8.23 \pm 0.64$ ) ve tarçına (%  $8.73 \pm 0.70$ ) göre daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Prosiyanidin biyoerişebilirliği tarçında (%  $18.75 \pm 1.49$ ) ve elmada (%  $17.57 \pm 0.71$ ) üzüm (%  $14.08 \pm 0.74$ ) göre daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Nohutun saponin içeriği ( $24.08 \pm 2.01$  mg/g) demir dikeninden (*Tribulus terrestris*) ( $13.16 \pm 0.89$  mg/g) daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Saponin



biyoerişebilirliği demir dikeninde (% 51.84±2.85) nohuta (% 39.98±2.97) göre daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Biberiyede bulunan karnosik asit miktarı (18.72±0.33 mg/g) adaçayından (3.76±0.13 mg/g) daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Karnosik asit biyoerişebilirliği biberiye ve adaçayı örnekleri için sırasıyla % 45.10±1.88 ve % 38.32±0.21 olarak saptanmıştır.

En düşük IC<sub>50</sub> değerleri ile  $\alpha$ -glukosidaz (76.80±1.68  $\mu$ g/mL) ve lipaz (4.31±0.62  $\mu$ g/mL) enzimleri üzerine en yüksek inhibisyon etkiyi gösteren gıdanın biberiye olduğu,  $\alpha$ -amilaz enzimi üzerine en yüksek inhibisyon etkiyi gösteren gıdanın en düşük IC<sub>50</sub> değeri (3.54±0.86  $\mu$ g/mL) ile tarçın olduğu bulunmuştur. Ayrıca araştırmalarımıza göre ilk defa bu çalışmada gıda örneklerinin standartlar cinsinden eşdeğer inhibisyon kapasiteleri saptanmış ve elde edilen değerler IC<sub>50</sub> değerleri ile uyumlu bulunmuştur.

Çalışmamız gıda örneklerinin (elma, üzüm, tarçın, demir diken, nohut, adaçayı, biberiye)  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz sindirim enzimlerini *in vitro* olarak inhibe etme potansiyeline sahip olduklarını ve düşük kalorili bir diyet ile birlikte, vücut ağırlığı yönetiminde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

**Anahtar sözcükler:** Prosiyanidin, antosiyanin, saponin, karnosik asit, lipaz,  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz, *in vitro* biyoerişebilirlik

**ABSTRACT****FOOD APPLICATIONS IN THE OBESITY PREVENTION:  
LIPID AND CARBOHYDRATE DIGESTIVE ENZYME  
INHIBITORS FOUND NATURALLY IN FOODS**

ERCAN, Pınar

PhD in Food Engineering Department

Supervisor: Prof. Dr. Sedef Nehir EL

September 2016, 91 pages

In this study, some foods and food components that show inhibitory properties of intestinal enzymes responsible for macronutrient digestion were discussed. Inhibitory effects on lipid and carbohydrate digestive enzymes of food sources (apple, black grapes, cinnamon, puncture vine, chickpea, sage, rosemary), which are rich in bioactive compounds (procyanidins, anthocyanins, saponins, carnosic acid), which are known for their inhibitory effects on lipid and carbohydrate digestive enzymes, were determined with lipase,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase enzyme inhibition analyses. Total procyanidins, total anthocyanins, total saponins and carnosic acid contents of the chosen food samples were determined before and after *in vitro* digestion to calculate how much bioactive compounds reach to absorption cells (bioaccessibility).

While the highest total anthocyanin content was found in red grape ( $164.76 \pm 2.51$  mg/100 g), the highest procyanidin content was found in cinnamon ( $6432.54 \pm 177.31$  mg/100 g) among the selected food samples ( $p < 0.05$ ). The anthocyanin bioaccessibilities were found as  $10.23 \pm 1$  %,  $8.23 \pm 0.64$  %, and  $8.73 \pm 0.70$  % in apple, red grape, and cinnamon, respectively. The procyanidin bioaccessibilities of apple, red grape, and cinnamon were found as  $17.57 \pm 0.71$  %,  $14.08 \pm 0.74$  % and  $18.75 \pm 1.49$  %, respectively.

The saponin content of chickpea ( $24.08 \pm 2.01$  mg/g) was found to be higher than the saponin content of puncture vine (*Tribulus terrestris*) ( $13.16 \pm 0.89$  mg/g)

( $p < 0.05$ ). On the other hand, the bioaccessibility of saponin in *Tribulus terrestris* (%  $51.84 \pm 2.85$ ) was higher compared to the saponin bioaccessibility in chickpea (%  $39.98 \pm 2.97$ ) ( $p < 0.05$ ).

The carnosic acid content in rosemary ( $18.72 \pm 0.33$  mg/g) was higher than sage ( $3.76 \pm 0.13$  mg/g) ( $p < 0.05$ ). The bioaccessibilities of carnosic acid in rosemary and sage were found to be %  $45.10 \pm 1.88$  ve %  $38.32 \pm 0.2$ , respectively.

Rosemary provided highest  $\alpha$ -glucosidase and lipase inhibition and it had the lowest  $IC_{50}$  values ( $76.80 \pm 1.68$   $\mu$ g/mL for  $\alpha$ -glucosidase,  $4.31 \pm 0.62$   $\mu$ g/mL for lipase) compared to the other samples analyzed in this study. Moreover, the highest  $\alpha$ -amylase inhibition was observed for the cinnamon, which had the lowest  $IC_{50}$  values for  $\alpha$ -amylase ( $3.54 \pm 0.86$   $\mu$ g/mL). Furthermore, to the best of our knowledge, this is the first work that standard equivalent inhibition capacities for food samples were determined and these values were in agreement with the  $IC_{50}$  values.

In summary, the present study provides the evidence that these food samples (apple, black grapes, cinnamon, puncture vine, chickpea, sage, rosemary) are potent inhibitors against  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and lipase *in vitro* and they can play an important role with a low calorie diet to control body weight.

**Keywords:** Procyanidins, anthocyanins, saponins, carnosic acid, lipase,  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, *in vitro* bioaccessibility

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca değerli görüşleriyle bana yol gösteren, çalışmamın her aşamasında engin bilgisi ile katkıda bulunan, her zaman desteğini hissettiğim değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sedef Nehir EL'e,

Doktora öğrenimim boyunca her zaman desteklerini hissettiğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Sibel KARAKAYA'ya, Doç. Dr. Cem KARAGÖZLÜ'ye ve Arş. Gör. Dr. Şebnem ŞİMŞEK'e,

Ayrıca katkılarından dolayı tez savunma jüri üyelerimden Prof. Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Özlem ÇAĞINDI'ya

Projenin gerçekleştirilmesi için gerekli olan maddi desteği sağlayan Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü'ne (Proje no: 13MÜH016) teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteklerini ve sevgilerini her zaman hissettiğim değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.



**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
TEŞEKKÜR .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xix
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ .....	xxi
1. GİRİŞ .....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1. Obezite.....	4
2.2. Yağlar, Sindirimi ve Emilimi .....	11
2.3. Karbonhidratlar, Sindirimi ve Emilimi.....	13
2.4. Sindirim Enzimlerini İnhibe Etme Potansiyeline Sahip Gıda Bileşenleri .....	14
2.4.1. Saponinler .....	14
2.4.2. Polifenoller .....	17
2.4.3. Terpenler.....	23
2.5. Biyoyararlılık - Biyoerişebilirlik .....	24

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	26
3.1. Materyal .....	26
3.1.1. Kimyasal malzemeler.....	26
3.1.2. Kullanılan cihazlar .....	26
3.1.3. Gıda örnekleri .....	26
3.2. Analizler.....	27
3.2.1. Toplam antosiyanin tayini.....	27
3.2.2. Toplam prosiyanidin tayini .....	29
3.2.3. Toplam saponin tayini.....	29
3.2.4. Karnosik asit tayini .....	29
3.2.5. <i>İn vitro</i> sindirim analizi.....	30
3.2.6. Enzim inhibisyon analizleri .....	32
3.2.7. İstatistiksel analiz.....	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	37
4.1. Antosiyanin ve Prosiyanidince Zengin Örnekler .....	37
4.1.1. Antosiyanin içerikleri ve biyoerişebilirlik değerleri .....	37

**İÇİNDEKİLER (devam)**Sayfa

4.1.2. Prosiyanidin içerikleri ve biyoerişebilirlik değerleri .....	40
4.1.3. Örneklerin $\alpha$ -amilaz, $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri.....	44
4.2. Saponince Zengin Örnekler .....	51
4.2.1. Saponin içerikleri ve biyoerişebilirlik değerleri .....	51
4.2.3. Örneklerin $\alpha$ -amilaz, $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri.....	54
4.3. Karnosik Asitçe Zengin Örnekler.....	60
4.3.1. Karnosik asit içerikleri ve biyoerişebilirlik değerleri .....	60
4.3.3. Örneklerin $\alpha$ -amilaz, $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri.....	63
4.4. Tüm Örneklerin $\alpha$ -Amilaz, $\alpha$ -Glukosidaz ve Lipaz Enzimleri Üzerindeki İnhibisyon Etkilerinin Kıyaslanması .....	69
5. SONUÇ.....	74
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	77





**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Biyoyararlılığı etkileyen faktörler .....	25
4.1. Örneklerin antosiyanin biyoerişebilirliği .....	39
4.2. Prosiyanidin kalibrasyon grafiği .....	41
4.3. Örneklerin prosiyanidin biyoerişebilirliği .....	42
4.4. Antosiyanin ve prosiyanidince zengin örneklerin konsantrasyona karşı $\alpha$ -glukosidaz inhibisyon grafikleri .....	44
4.5. Antosiyanin ve prosiyanidince zengin örneklerin konsantrasyona karşı $\alpha$ -amilaz inhibisyon grafikleri .....	45
4.6. Elma ve tarçın örneklerin konsantrasyona karşı lipaz inhibisyon grafikleri ..	45
4.7. Üzüm örneğinin konsantrasyona karşı lipaz inhibisyon grafiği .....	46
4.8. Kateşin standardı enzim inhibisyon grafiği .....	49
4.9. Saponin kalibrasyon grafiği .....	51
4.10. Örneklerin saponin biyoerişebilirliği .....	53
4.11. Saponince zengin örneklerin konsantrasyona karşı $\alpha$ -glukosidaz inhibisyon grafikleri .....	54
4.12. Saponince zengin örneklerin konsantrasyona karşı $\alpha$ -amilaz inhibisyon grafikleri .....	55

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.13. Saponince zengin örneklerin konsantrasyona karşı lipaz inhibisyon grafikleri .....	55
4.14. Diosgenin standardının enzim inhibisyon grafikleri .....	58
4.16. Örnek kromatogramlar a) karnosik asit standardı b) adaçayı c) biberiye .....	61
4.17. Örneklerin karnosik asit biyoerişebilirliği .....	62
4.18. Karnosik asitçe zengin örneklerin konsantrasyona karşı $\alpha$ -glukosidaz inhibisyon grafikleri.....	64
4.19. Karnosik asitçe zengin örneklerin konsantrasyona karşı $\alpha$ -amilaz inhibisyon grafikleri .....	64
4.20. Karnosik asitçe zengin örneklerin konsantrasyona karşı lipaz inhibisyon grafikleri .....	65
4.21. Karnosik asit standardının enzim inhibisyon grafikleri .....	67
4.22. Örneklerin $\alpha$ -glukosidaz enzimi için $IC_{50}$ değerleri .....	69
4.23. Örneklerin $\alpha$ -amilaz enzimi için $IC_{50}$ değerleri .....	70
4.24. Örneklerin lipaz enzimi için $IC_{50}$ değerleri .....	71
4.25. Gıda örneklerinin $\alpha$ -amilaz, $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri için $IC_{50}$ değerlerine bağlı olarak Euclidean uzaklığına dayalı sınıflandırılması (1-Elma,2-Üzüm,3-Tarçın,4-Demirdikeni,5-Nohut,6-Adaçayı,7-Biberiye) ...	73

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Beden kütle indeksi aralıkları.....	5
4.2. Örneklerin prosiyanidin içeriği ve biyoerişebilirlik değerleri .....	41
4.3. Örneklerin $\alpha$ -glukosidaz, $\alpha$ -amilaz ve lipaz enzimleri için IC <sub>50</sub> değerleri.....	46
4.4. Örneklerin <i>in vitro</i> sindirim öncesi ve <i>in vitro</i> mide sindirimi sonrası enzim inhibisyon değerleri.....	48
4.5. Kateşin standardının enzim inhibisyon yüzdeleri.....	50
4.6. Örneklerin $\alpha$ -glukosidaz, $\alpha$ -amilaz, lipaz enzimleri için CEIC <sub>50</sub> değerleri ....	50
4.7. Örneklerin saponin içeriği ve biyoerişebilirlik değerleri.....	52
4.8. Örneklerin $\alpha$ -glukosidaz, $\alpha$ -amilaz ve lipaz enzimleri için IC <sub>50</sub> değerleri.....	56
4.9. Örneklerin <i>in vitro</i> sindirim öncesi ve <i>in vitro</i> mide sindirimi sonrası enzim inhibisyon değerleri.....	57
4.10. Saponin standardı diosgeninin enzim inhibisyon yüzdeleri .....	59
4.11. Örneklerin $\alpha$ -glukosidaz, $\alpha$ -amilaz, lipaz enzimleri için DEIC <sub>50</sub> değerleri ..	59
4.12. Örneklerin karnosik asit içeriği ve biyoerişebilirlik değerleri.....	61
4.13. Örneklerin $\alpha$ -glukosidaz, $\alpha$ -amilaz ve lipaz enzimleri için IC <sub>50</sub> değerleri.....	65
4.14. Örneklerin <i>in vitro</i> sindirim öncesi ve <i>in vitro</i> mide sindirimi sonrası enzim inhibisyon değerleri.....	66

**ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)**ÇizelgeSayfa

4.15. Karnosik asit standardının enzim inhibisyon yüzdeleri .....68

4.16. Örneklerin  $\alpha$ -glukosidaz, $\alpha$ -amilaz,lipaz enzimleri için CAEIC<sub>50</sub> değerleri..684.17. Örneklerin  $\alpha$ -glukosidaz,  $\alpha$ -amilaz ve lipaz enzimleri için IC<sub>50</sub> değerleri....71

**KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
IC <sub>50</sub>	%50 İnhibisyon İçin Gerekli İnhibitör Konsantrasyonu
EIC	Eşdeğer İnhibisyon Kapasitesi
CEIC <sub>50</sub>	Kateşin Eşdeğer İnhibisyon Kapasitesi
DEIC <sub>50</sub>	Diosgenin Eşdeğer İnhibisyon Kapasitesi
CAEIC <sub>50</sub>	Karnosik Asit Eşdeğer İnhibisyon Kapasitesi
PNPG	4-Nitrofenil $\alpha$ -D-glikopiranozid
4MUO	4-methylumbelliferyl oleate
C	( $\pm$ )-kateşin
EGC	(-)-epigallokateşin
EGCG	(-)-epigallokateşin gallat
GCG	( $\pm$ )-gallokateşin gallat
EC	(-)-epikateşin
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
BKİ	Beden Kütle İndeksi
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
TOAD	Türkiye Obezite Araştırma Derneği



## 1. GİRİŞ

Obezite son yıllarda yetişkinlerde ve çocuklarda çok sık görülen küresel bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Obeziteye etki eden etmenler; demografik (yaş, cinsiyet), sosyokültürel (eğitim düzeyi, medeni durum), biyolojik ve davranışsal (aşırı ve yanlış beslenme alışkanlıkları, sigara ve alkol tüketimi ve yetersiz fiziksel aktivite) faktörler başlıkları altında toplanabilir. Obezite enerji alımı ile harcaması arasındaki dengenin bozulması ile sonuçlanan ve sıklıkla enerji yoğunluğu fazla gıdaların aşırı tüketimine bağlı olarak meydana gelir (Çayır vd., 2011).

Kalp damar hastalıkları, diyabet, hipertansiyon, kas-iskelet sistemi rahatsızlıkları ve bazı kanser türleri gibi hastalıkların riskini arttıran ve yaşam kalitesinin düşmesine neden olan obezite bir halk sağlığı sorunu olmakla kalmayıp, ülke ekonomilerine sağlık harcamaları açısından büyük bir yük getirmektedir (WHO, 2005). Birleşmiş Milletler'in 10 yıllık (2016-2025) Beslenme Aksiyon Planı'nda dünyada 1.9 milyar kişinin fazla kilolu olduğu ve bunların içinde 600 milyon kişinin obezite ile mücadele ettiği belirtilmiştir (United Nations Decade of Action on Nutrition, 2016).

Ülkemizde obezite görülme sıklığı giderek artış göstermektedir. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü tarafından 7 coğrafik bölgede seçilen 7 ilde 14 sağlık ocağında yapılan "Sağlıklı Beslenelim, Kalbimizi Koruyalım" çalışmasına göre obezite sıklığı erkeklerde % 21.2, kadınlarda % 41.5 olarak bulunmuştur. Beden kütle indeksi değerinin 40-69 yaş arasında doğrusal olarak arttığı ve 70 yaşından sonra düştüğü belirtilmiştir (Erel vd., 2004).

Ülkemizde ulusal sağlık politikası ile ilgili yayınlarda obezite ile mücadele konusuna da yer verilmiştir. Sağlık Bakanlığınca hazırlanan "Sağlık 21 Herkes İçin Sağlık" programı ile obezitenin hipertansiyon, diyabet vb. hastalıklara neden olabileceği bildirilmiştir. Bu program ile 2020 yılına kadar primer koruma yaklaşımı ile 40 yaş ve üzeri nüfusta obezite prevalansının %10 azaltılmasının hedeflendiği belirtilmiştir. "Türkiye Kalp ve Damar Hastalıklarını Önleme ve Kontrol Programı"nda da pek çok kronik hastalık için risk faktörü olan obezitenin önlenmesi için ulusal bir programın hazırlanması hususu yer almıştır. Bu nedenle



obezitenin önlenmesi ile ilgili bilimsel ve politik kararlılığın oluşturulması ve sektörler arası faaliyetlerin arttırılması amacıyla "Türkiye Obezite (Şişmanlık) ile Mücadele ve Kontrol Programı" hazırlanmıştır. Buna bağlı olarak da 2010-2014 yıllarını kapsayan "Obezite (Şişmanlık) ile Mücadele ve Kontrol Programı Eylem Planı" oluşturulmuştur. Bu programın amacı, obezite ile etkin şekilde mücadele etmektir. Bu etkin mücadele toplumun obezite ile mücadele konusunda bilgisini arttırarak yeterli ve dengeli beslenme ve düzenli fiziksel aktiviteye karşı eğilimlerini arttırarak ülkemizde obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların (kalp-damar hastalıkları, diyabet, baz kanser türleri, hipertansiyon, kas-iskelet sistemi hastalıkları vb.) görülme sıklığını azaltmak amaçlanmıştır. Ayrıca, ülkemizdeki pek çok kurum (kamu kurum ve kuruluşları, üniversiteler, özel sektör, sivil toplum kuruluşları vb.) obezitenin önlenmesini amaçlayan çeşitli programlar, projeler ve eğitim çalışmaları organize etmektedir (Anonim, 2010).

Obezitenin önlenmesi ve tedavisinde kullanılan yöntemler tıbbi beslenme (diyet) tedavisi, egzersiz tedavisi, davranış değişikliği tedavisi, ilaç tedavisi ve cerrahi tedavi olmak üzere 5 grup altında toplanmaktadır. Gıdalar ile alınan enerjinin önemli bir kısmının sağlandığı yağ ve karbonhidratların insan vücudunda metabolizması sırasında görev alan enzimlerin inhibe edilmesiyle yağ ve karbonhidrat emiliminin azaltılması yoluyla obezitenin engellemesi yeni bir yaklaşım olarak çalışılmaktadır. Günümüzde obezite tedavisinde doğal ürünlerin potansiyel sindirim enzimlerini inhibe edici etkisi hala daha tam olarak keşfedilmemiştir. İçerdikleri biyoaktif bileşikler ile doğal gıdalar güvenli ve etkili bir tedavi için mükemmel bir alternatif strateji olabilir (Birari and Bhutani, 2007). Obezite ve obeziteye bağlı olarak oluşan diyabet gibi hastalıkların oluşum riskini azaltıcı fonksiyonel gıda geliştirebilmek için gıdalarda doğal olarak bulunan lipaz,  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukosidaz enzim inhibitörlerinin etkinliği ve güvenliği ile ilgili daha fazla çalışma yapmaya gereksinim vardır (Wang et al., 2010).

Bu çalışma kapsamında insan sindirim sistemi enzimleri üzerine inhibisyon etkileri olduğu bilinen biyoaktif bileşiklerce (prosiyanidin, antosiyanin, saponin, karnosik asit) zengin bazı gıda kaynaklarının (elma, siyah üzüm, tarçın, demir diken, nohut, adaçayı, biberiye), yağ ve karbonhidrat sindirim enzimleri olan  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz üzerine inhibitör etkilerinin belirlenmesi, bu

gıdaların toplam prosiyanidin, toplam antosiyanin, toplam saponin ve karnosik asit içeriklerinin *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası saptanması, bu biyoaktif bileşiklerin ne kadarının emilim hücrelerine erişebildiğinin (biyoerişebilirlik) belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçlar doğrultusunda yapılan çalışmalar şu şekilde olmuştur:

1. İnsan sindirim sistemi enzimleri üzerine inhibisyon etkileri olduğu bilinen prosiyanidin ve antosiyanince zengin bazı gıdaların (elma, siyah üzüm, tarçın) toplam prosiyanidin, toplam antosiyanin içeriklerinin saptanması ve bu gıdalara insan sindirim sisteminin modellendiği *in vitro* sindirimin uygulanması ile *in vitro* sindirim sonrası toplam prosiyanidin, toplam antosiyanin içeriklerinin saptanarak bu bileşikler için biyoerişebilirlik oranının belirlenmesi.

2. İnsan sindirim sistemi enzimleri üzerine inhibisyon etkileri olduğu bilinen saponince zengin bazı gıdaların (demir dikenli, nohut) toplam saponin içeriklerinin saptanması ve bu gıdalara insan sindirim sisteminin modellendiği *in vitro* sindirimin uygulanması ile *in vitro* sindirim sonrası toplam saponin içeriklerinin saptanarak bu bileşik için biyoerişebilirlik oranının belirlenmesi.

3. İnsan sindirim sistemi enzimleri üzerine inhibisyon etkileri olduğu bilinen karnosik asitçe zengin bazı gıdaların (adaçayı, biberiye) karnosik asit içeriklerinin saptanması ve bu gıdalara insan sindirim sisteminin modellendiği *in vitro* sindirimin uygulanması ile *in vitro* sindirim sonrası karnosik asit içeriklerinin saptanarak bu bileşik için biyoerişebilirlik oranının belirlenmesi.

4. Bu gıdaların yağ ve karbonhidrat sindirim enzimlerine ( $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz, lipaz) karşı inhibitör etkilerinin  $IC_{50}$  değerleri ile belirlenmesi, 1 mg/mL konsantrasyondaki gıda örneklerinin *in vitro* sindirim öncesi ve *in vitro* mide sindirimi sonrası enzim inhibisyon yüzdelerinin saptanması, ayrıca kateşin, diosgenin ve karnosik asit standartlarının enzim inhibisyon yüzdelerinin belirlenmesi ve gıda örneklerinin bu standartlar cinsinden inhibisyon kapasitelerinin ifade edilmesi.

5. Tüm verilerin istatistiksel analiz ile değerlendirilmesi.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1. Obezite

Beslenme; sađlđın korunması, iyileştirilmesi, geliştirilmesi ve yaşam kalitesinin artırılması amacıyla vücudun gereksinimi olan besin öğelerinin yeterli ve uygun zamanda bilinçli olarak tüketilmesidir. Bireyin sağlıklı yaşaması, ekonomik sosyal yönden gelişmesi ve refah düzeyinin artmasında yeterli ve dengeli beslenme en temel koşullardan biridir. Bilim teknoloji alanındaki ilerlemeler ve ekonomik gelişmeler ile yetersiz beslenmenin neden olduğu sağlık sağlık problemlerinde azalma meydana gelirken aşırı beslenme ve fazla enerji alımına ilişkin sorunlar ortaya çıkmaya başlamıştır (Çayır vd., 2011).

Son yıllarda tüm dünyada obezitenin (şışmanlık- vücut ađırlđının fazla olması) görülme sıklđđ giderek artmakta küresel ölçekte önemli bir halk sağlığı sorunu olarak ortaya çıkmaktadır (Birari and Bhutani, 2007; Yıldırım vd., 2008, Yun, 2010). Epidemiyolojik çalışmalar; obeziteden sorumlu faktörlerin demografik, sosyo kültürel, biyolojik, yaşam biçimi faktörlerinden oluştuğunu göstermiştir. Demografik faktörlere örnek yaş ve cinsiyet verilebilirken eğitim düzeyi ve medeni durum sosyo kültürel faktörler altında tanımlanabilir. Beslenme ve fiziksel aktivite alışkanlıkları, sigara ve alkol tüketimi yaşam biçimi faktörleridir. Obezite, Dünya Sağlık Örgütü tarafından "Sağlığı bozacak ölçüde vücutta anormal veya aşırı yağ birikmesi" olarak tanımlanmaktadır. Yetişkin erkeklerde vücut ađırlđının ortalama %15-20'sini, kadınlarda ise %25-30'unu yağ dokusu oluşturmaktadır. Erkeklerde bu oranın %25, kadınlarda ise %30'un üzerine çıkması obezite olarak tanımlanır (Anonim, 2010).

İnsanların sağlıklı ağırlıklarının ne olduğunu belirlemek için; ağırlık ve boy arasındaki ilişkinin basit bir ölçümü olan Beden Kütle İndeksi (BKİ) kullanılmaktadır. Kilogram cinsinden vücut ađırlđının boyun metre cinsinden karesine bölünmesi ile hesaplanır ( $\text{kg/m}^2$ ). Beden kütle indeksi 30'un üzerinde olan bir kişi obez, 25'in üzerinde olan ise vücut ađırlđı fazla olarak tanımlanmaktadır (Çizelge 2.1). Beden kütle indeksi 18.5 ve 24.9 arası sağlıklı, ancak 25 ve 29 arası ilişkili hastalıklar açısından risk altında, 30 ve daha yukarısı

orta düzeyde bir risk olduğunu göstermektedir (Yıldırım vd., 2008, Erel vd., 2004).

**Çizelge 2.1.** Beden kütle indeksi aralıkları (Yıldırım vd., 2008).

Beden Kütle İndeksi (kg/m <sup>2</sup> )	
< 18,5	Zayıf
18.5 - 24.9	Sağlıklı ağırlık
25 - 30	Aşırı kilolu
> 30	Obez

Dünya Sağlık Örgütü, dünyada 600 milyonun üzerinde obez ve 1.9 milyar civarında kilolu kişi bulunduğunu belirtmektedir (United Nations Decade of Action on Nutrition, 2016, WHO, 2016). Dünya Sağlık Örgütü tarafından Asya, Afrika ve Avrupa'nın 6 ayrı bölgesinde yapılan ve 12 yıl süren MONICA çalışmasında obezite prevalansında 10 yılda %10-30 arasında bir artış saptandığı bildirilmiştir (WHO, 2005).

Obezite prevalansı ülkelere ve bölgelere göre değişkenlik göstermektedir. Erişkin popülasyonda obezite prevalansı %15-60 arasında olup, Amerika Birleşik Devletleri'nde erişkinlerin %65'i, Hollanda'da %34'ü obezdir (Alvarez et al., 2007; Çayır vd., 2011).

ABD'de Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (CDC) tarafından obezite ile ilgili NHANES (ABD-Ulusal Beslenme ve Sağlık Araştırması) çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaya göre, 2003-2004 yıllarında obezite prevalansının erkeklerde % 31.1, kadınlarda % 33.2, 2005-2006 yıllarında ise erkeklerde % 33.3, kadınlarda ise % 35.3 olarak tespit edildiği açıklanmıştır (Finn, 2007).

Avrupa Bölgesinde fazla kiloluluğun yetişkinlerin %30-80'ini etkilediği, çocukların ve adolesanların yaklaşık %20'sinin fazla kilolu olduğu ve bunların üçte birinin obez olduğu belirtilmektedir. Avrupa'da yetişkinler üzerinde yürütülen çalışmada fazla kilolu olma prevalansının erkeklerde %31.9-79.3, kadınlarda ise %27.8-77.8 arasında; obezite prevalansının ise erkeklerde %5.4-22.8, kadınlarda %7.1-35.6 arasında değiştiği belirtilmiştir. Fazla kilolu ve obez olma oranının en yüksek olan ülkeler Arnavutluk, Bosna-Hersek ve İngiltere (İskoçya) olduğu, en düşük olan ülkerin ise Türkmenistan ve Özbekistan olduğu belirtilmiştir. Obezite eğilimi özellikle çocuklar ve adolesanlarda alarm verici düzeydedir. Çocukluk çağı obezitesi prevalansının 1970'lerdeki değerlerden 10 kat fazla olduğu bildirilmektedir. Avrupa'da 2003 yılında yapılan ve 11 yaşındaki çocukları kapsayan "The Pro Children" araştırmasında fazla kiloluluk prevalansı, erkeklerde %17, kızlarda %14.3 olarak bulunmuştur (Branca et al., 2007).

41 ülkede 11, 13 ve 15 yaş grubunda yapılan "Health Behaviour in School-Aged Children Survey (HBSC)" çalışmasında 13 yaş grubunda kızların %24, erkeklerin %34'ünün fazla kilolu; 15 yaş grubunda ise kızların %31, erkeklerin %28'inin fazla kilolu olduğu; obezite oranının ise 13 ve 15 yaş kızlarda %5, erkeklerde %9 olarak saptandığı belirtilmiştir (WHO, 2008).

2016 Küresel Beslenme Raporu'na göre yetişkin fazla kilo ve obezite prevalansının en yüksek olduğu ülke sırasıyla %79.3 - % 47.6 ile Palau, en düşük olduğu ülke ise %14.5 - % 2.2 ile Timor-Leste olduğu belirtilmiştir. Türkiye'nin fazla kilo ve obezite prevalansı ise sırasıyla %66.3- % 29.5 olarak ifade edilmiştir. 2025 Küresel Beslenme Hedefleri arasında fazla kilolu çocuklarda artış olmaması, yetişkinlerde fazla kilo ve obezite artış hızının durdurulması yer almaktadır (Global Nutrition Report, 2016).

Türk Kardiyoloji Derneği tarafından yapılan ve 3681 kişiyi kapsayan Türk Erişkinlerde Kalp Hastalığı Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışmasına göre 30 yaş ve üzerindeki erkeklerde obezite prevalansı %25.2; kadınlarda %44.2 olarak tespit edilmiştir. Elli yaşından sonra kadınlardaki obezite prevalansının önemli ölçüde arttığı (%50.2) belirlenmiştir (Anonim, 2010; Çayır vd., 2011).

Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-II (TURDEP II) sonuçlarına göre obezite prevalansı, kadınlarda ortalama %38; erkeklerde %22'dir. 1998'de yapılan TURDEP I'e göre, 2010 yılında tamamlanan TURDEP-II çalışmasında Türkiye'de 12 yılda obezite sıklığı %44 artmıştır (Satman vd., 2010).

Türk Diyabet Epidemiyoloji (TURDEP) çalışmasında obezite sıklığının kadınlarda (%29.9) erkeklerden (%12.9) daha fazla olduğu belirtilmiştir. Kentsel alanlarda yaşayanlarda (%23.8) ise obezite kırsalda yaşayanlardan (%19.6) daha fazla olduğu bildirilmiştir. Aktif meslek gruplarında obezite daha az görülürken (%17.3), emekli ve ev hanımlarında obezite görülme sıklığı daha fazladır (%30.7). Eğitim düzeyi düşük gruplar (okuryazar olmayan %33.4, yüksek okul mezunu %10) ve dar gelirli gruplarda (asgari ücretin altı %22.6, yüksek gelirli %15.5) ise obezite görülme sıklığının daha yüksek olduğu bulunmuştur (Satman et al., 2002; Çelik, 2011).

Çayır vd. (2011)'nin yaptığı 450 kişi üzerinde yürütülen çalışmada obezite oranı %28 olarak bulunmuştur. Obezite ile ilişkili faktörlerin yaş, cinsiyet, medeni durum, öğrenim düzeyi, çalışma durumu, aylık gelir, sosyoekonomik düzey, aile öyküsü, evlilik süresi, çocuk sayısı, daha önce obezite için tedavi görme ve diyet yapma, çocukluk çağında şişman olma durumu, ana ve ara öğünlerin düzeni, yemek yeme hızı olabileceği belirtilmiştir. Obezitenin ortaya çıkmasındaki faktörler değiştirilebilir faktörlerle ve değiştirilemeyen faktörler olarak sınıflandırılmıştır. Değiştirilebilir faktörler ailede edinilen beslenme alışkanlıkları ve yaşam biçimi davranışlarıdır. Yaş ve cinsiyet ise değiştirilemeyen faktörler arasındadır. Ayrıca sosyoekonomik durumun da obezitenin ortaya çıkmasında etkili olduğu düşünülmektedir (Çayır vd., 2011).

Türkiye Obezite Araştırma Derneği (TOAD) tarafından, 2000-2005 yılları arasında Türkiye'nin 6 farklı bölgesinde (İstanbul, Konya, Denizli, Gaziantep, Kastamonu ve Kırklareli) 20 yaş üstü 13878 bireyde yapılan "Türkiye Obezite Profili" araştırmasında, bireylerin %39.6'sının fazla kilolu ve %29.5'inin obez olduğu bulunmuştur. Bu çalışmadaki 7306 birey bel çevresine (santral obezite) göre değerlendirildiğinde kadınlarda bel çevresi ortalaması 79.8 cm, erkeklerde

ise 98.5 cm olarak tespit edilmiştir (Bagriacik et al., 2009).

Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü tarafından 7 coğrafik bölgeden seçilen 7 ilde 14 sağlık ocağında yapılan "Sağlıklı Beslenelim, Kalbimizi Koruyalım (SBKK)" çalışmasında, erkeklerde obezite sıklığı %21.2 iken kadınlarda bu oran %41.5 olarak bulunmuştur. Bireylerin BKİ değerleri cinsiyete göre değerlendirildiğinde tüm illerde kadınların BKİ'lerinin erkeklerden önemli derecede yüksek olduğu görülmüştür (Erel vd., 2004).

Krassas et al. (2004) 6-10 yaş grubunda Türkiye Kayseri'de toplam 3703 çocuk ve Yunanistan Thessaloniki'de bulunan 2458 çocukla yürüttükleri çalışmalarında, çocukların Türkiye'de %10.6'sının Yunanistan'da ise % 22.2'sinin fazla kilolu olduğunu belirtmiştir. Obezite prevalansı ise Türk çocuklarında % 1.6 bulunurken Yunan çocuklarında % 4.1 bulunmuştur.

HBSC araştırmasında 2001-2002 yıllarında BKİ'ne göre yapılan değerlendirmede Türkiye'de 11 yaş grubunda kızların %7'si, erkeklerin %14'ü, 13 yaş grubunda kızların %7, erkeklerin %13'ünün ve 15 yaş grubunda ise kızların %5, erkeklerin %14'ünün fazla kilolu veya obez olduğu görülmüştür (WHO, 2008).

Muğla'da 6-15 yaş arasındaki toplam 4260 çocuk fazla kilo ve obezite prevalansı açısından değerlendirilmiş ve kızların %7.6'sının, erkeklerin %9.1'inin fazla kilolu veya obez olduğu saptanmıştır. Bu yaş grubunda obezitenin nedenleri uzun süre TV izleme, TV izlerken bir şeyler atıştırma, annenin çalışması ve okulda en az 1 öğün tatlı tüketimi olduğu belirlenmiştir (Süzek vd., 2005).

Vücut ağırlığının fazla olması ve obezitenin kan basıncı, kolesterol, trigliseritler ve insülin direnci üzerinde metabolik yan etkileri bulunmaktadır. Kalp ve solunum hastalıkları, kronik iskelet-kas sistemi hastalıkları, Tip 2 diyabet, hipertansiyon, bazı kanser türleri ve erken ölüm gibi birçok kronik hastalığın gelişiminde anahtar risk faktörüdür (Birari and Bhutani, 2007; Yıldırım vd., 2008, Yun, 2010). Tip 2 diyabetli hastaların yaklaşık olarak %85'i obez veya aşırı kiloludur. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2002 yılı raporuna göre, yaklaşık olarak

diyabetik hastaların %58'i, iskemik kalp hastalarının %21'i ve kanser hastalarının %8-42'sinin BKİ'si 21 kg/m<sup>2</sup>'nin üzerindedir (Yıldırım vd., 2008).

Obezite, ülke ekonomilerini de doğrudan veya dolaylı olarak etkilemektedir. Obezite ile ilgili sağlık harcamaları toplam sağlık harcamalarının %2-7'sini oluşturmaktadır (Yıldırım vd., 2008; Anonim, 2010). Amerika Birleşik Devletleri'nde obezitenin doğrudan maliyetinin (hastalığın tanı ve tedavisi ile ilgili olan harcamaların) sağlık harcamalarının %7'sini (yaklaşık 70 milyar dolar), Fransa ve Avustralya'da sağlık harcamalarının %2'sini ve Hollanda'da ise %4'ünü oluşturduğu belirtilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde dolaylı harcamaların (erken ölüm ve hastalık nedeniyle çalışamayan insanlara verilen ücretleri yansıtan verim kaybını da içeren harcamalar) 48 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir (Anonim, 2010).

Obezitenin giderek yaygınlaşarak halk sağlığı sorunu haline gelmesi, tüm dünyada obezite ile mücadele çalışmalarının başlamasına neden olmuştur (Anonim, 2010).

Beslenme alışkanlıklarının değiştirilmesi, hareketli yaşam biçiminin benimsenmesi ve yeterli dengeli beslenme alışkanlıklarının yerleştirilmesi konularında tüm dünyada Dünya Sağlık Örgütü başta olmak üzere pek çok uluslararası kuruluş geliştirdikleri çeşitli programlar ile obezite ile mücadelede öncülük etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından geliştirilen bu çalışmalardan biri "Küresel Beslenme, Fiziksel Aktivite ve Sağlık Stratejisi"nin geliştirilmesidir. Obezite ile mücadelede gerçekleştirilen eylemlerden biri de İkinci Avrupa Beslenme Eylem Planı'nda özellikle çocukluk ve adolesan dönemi obezitesi ile mücadeleye yer verilmesidir. Ayrıca, Avrupa Komisyonu tarafından "Beyaz Döküman" hazırlanmış ve bu döküman Avrupa'da beslenme, fazla kiloluluk ve obezite ile ilişkili hastalıklar konusunda stratejiyi içermiştir. "Beslenme, Fiziksel Aktivite ve Sağlık Platformu"nun oluşturulması da Avrupa Birliği'nin obezite ile mücadele için gerçekleştirdiği girişimlere örnek olarak verilebilir. Dünya Sağlık Örgütü Avrupa Bölge Ofisi tarafından obezite konusundaki ilk çalışma 1997 yılında yayımlanan obezitenin önlenmesi ve tedavisi konusundaki rapordur. Bu raporun ardından 1999'da 24 ülkenin imzaladığı "Milano Deklarasyonu"



yayımlanmıştır. 15-17 Kasım 2006 tarihinde İstanbul'da "Dünya Sağlık Örgütü Avrupa Obezite ile Mücadele Bakanlar Konferansı" düzenlenmiş, konferans sırasında T.C. Sağlık Bakanlığı ve Dünya Sağlık Örgütü Avrupa Bölge Direktörlüğü tarafından "Avrupa Obezite ile Mücadele Belgesi" imzalanmıştır (Anonim, 2010).

Pek çok yöntem olmakla birlikte obezitenin tedavisindeki ana ilke, alınan enerji ile tüketilen enerjinin dengelenmesidir. Kilo kaybını sağlayacak tedaviler yaşam tarzı değişiklikleri ve medikal tedavi olmak üzere iki ana başlık altında toplanır. Yaşam tarzı değişiklikleri tıbbi beslenme tedavisi, egzersiz tedavisi ve davranış değişikliği tedavisi şeklinde üçe ayrılır. Medikal tedavi ise ilaç tedavisi ve cerrahi tedavi olmak üzere ikiye ayrılır (Çelik, 2011; Anonim, 2010).

Günümüzde yüksek maliyetler ve potansiyel yan etkiler nedeniyle, obezitenin tedavisinde doğal ürünler daha etkili ve güvenilir önleyici ve tedavi edici yaklaşımların geliştirilmesi amacıyla mükemmel bir alternatif strateji olabilir (Yun, 2010).

Diyabet hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklara neden olan obezite, karbonhidrat ve lipit metabolizmasının bozukluğu olarak kabul edilir ve bu proseste yer alan enzimler seçilerek obeziteyi önleyici birtakım önlemler alınabilir. Obeziteyi tedavi etmek için en önemli stratejilerden biri sindirim ve emilim inhibitörlerini geliştirmektir. Son yıllarda, obeziteyi önlemek için sindirim enzimlerinin gıdalarda bulunan bazı bileşikler ile inhibe edilerek yağ ve karbonhidratın metabolize olmasının engellenmesi yeni bir yaklaşım olarak görülmektedir (Birari and Bhutani, 2007).

Fazla kalori alımı nedeniyle olan obezite, pankreatik lipaz aktivitesinin inhibisyonu yolu ile lipit emilimin engellenmesi veya geciktirilmesi ile önlenebilir. Ayrıca  $\alpha$ -glukosidaz aktivitesinin inhibisyonu ile karbonhidratların emiliminin engellenmesi diyabetin önlenmesinde ve tedavisinde önemli rol oynayabilir (Ikarashi et al., 2011).

Obezitenin önlenmesi için beslenme (diyet), fiziksel aktivitenin artırılması, davranış değişikliği tedavisi, ilaç tedavisi ve cerrahi tedavi olmak üzere çeşitli stratejiler izlenmektedir. Halihazırda gıda endüstrisi tarafında aşırı kilolu veya obez bireylerin tüketmeleri için üretilen özel diyet gıdalar duyusal özellikleri açısından kabul görmemekte ve bu gıdalar pazardaki çeşitliliği açısından oldukça sınırlı kalmaktadır. Obezitenin ilaç ile tedavisinde ise, kan basıncının yükselmesi, ağız kuruluğu, kabızlık, baş ağrısı ve uykusuzluk gibi yan etkiler bulunmaktadır. Tıbbi gözetim gerektiren ve oldukça maliyetli olan bu tedaviler, ayrıca obezitenin tedavisinden sonra bir yaşam biçimi haline getirilemeyeceği için uzun dönemli stratejiler değildirler. Bu nedenle son yıllarda çeşitli gıda kaynaklarında bulunan birçok biyoaktif bileşenin, lipit ve karbonhidratların sindirimi sırasında görev yapan enzimlerin aktivitesini inhibe ederek, gıdanın daha az sindirilmesi ve daha az enerji vermesini sağlayan etkilerinin araştırılması obezitenin önlenmesinde yeni yaklaşımlar olarak ele alınmaktadır (Yun, 2010). Literatürde bazı gıdaların lipit ve karbonhidrat enzim inhibitör aktiviteleri ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Fakat hiçbir çalışmada bu etkiyi gösteren bileşenlerin *in vitro* biyoerişebilirlik analizi yapılmamış, sindirim sonrası bu bileşenlerin ne kadarının emilim hücrelerine geçebildiği ortaya konmamış, *in vitro* sindirim sonrası inhibitör etkilerinin değişip değişmediği ve örneklerin standartlar cinsinden eşdeğer inhibisyon kapasiteleri saptanmamıştır. Ayrıca aynı çalışmada  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz, lipaz enzimlerine karşı inhibitör etkileri aynı anda incelenip örnekler karşılaştırılmamıştır.

## 2.2. Yağlar, Sindirimi ve Emilimi

Yağlar, bütün yaşayan organizmaların temel bileşenidir ve enerji açısından zengin oldukları için (1 gram yağ 9 kalori enerji sağlar ve günlük enerjinin yaklaşık %30'u yağlardan karşılanır) insan beslenmesinde önemli yer tutmaktadır. Yağlar incebağırsakta emilir ve enerji kaynağı, termal düzenleyici, hücre membranı bileşeni, enerji deposu olarak fonksiyon gösterir. Gıdalarda bulunan yağlar zorunlu yağ asitleri kaynağı olarak ve yağda eriyen vitaminler için vücut fonksiyonlarında önemli rol oynarlar. İnsanların incebağırsağında, tüketilen yağın %95'i tamamen emilmektedir. Uzun süreli fazla yağlı diyet ile beslenme ve alınan yağların etkili emilimi sonucunda, özellikle düşük seviyede fiziksel aktivite

gösterildiğinde, yağların kolayca adipoz dokuda birikmesi kaçınılmazdır. Bu nedenle obezitenin tedavi edilmesinde yağ emiliminin modifikasyonu önemli bir yaklaşımdır (Tucci et al., 2010).

Diyetimizdeki yağın ana bileşeni olan trigliseritlerin (%95) sindirimi, lipaz enzimleri tarafından katalizlenir ve ürünleri ince bağırsağın duodenum bölgesinden emilir. Lipazlar pre-duodenal (dil ve gastrik lipaz) ve ekstra-duodenal (pankreatik, hepatik, lipoprotein, endotel) lipazlar olarak ikiye ayrılır. Dil lipazı dilin arkasında bulunan seröz bezinden salgılanır ve yağın sindirimini başlatır. Gastrik lipaz mide mukozasının hücrelerinden salgılanır. Bu enzimler pH 3-6 arasında aktiftir ve midedeki düşük pH'larda daha stabildir. Pankreastaki asiner hücreleri; kolipaz-bağlı lipaz, klasik pankreatik lipaz, pankreatik lipaz türevi-protein 1 ve 2, karboksil ester hidrolaz (safra tuzu ile uyarılan lipaz, kaboksil ester lipaz, kolesterol esteraz, kolesterol ester lipaz, insan sütü lipazı, monogliserit lipaz ve spesifik olmayan pankreatik lipaz) ve fosfolipaz A2 salgılar (Singh et al.,2009; Tucci et al., 2010; Golding and Wooster, 2010).

Yağlar midede lipaz enziminin aktivitesi ile gliserol ve yağ asitlerine parçalanırlar. Yağ sindiriminin önemli bir kısmı ince bağırsakta gerçekleşir. Yağ içeriği yüksek gıdalar mideye geldiği zaman bir hormon – gastrik inhibitor peptit, salınır ve midenin hareketleri yavaşlatılır. Yağlı gıdaları tükettiğimizde duyduğumuz tokluk hissinin nedeni bu hormon aktivitesidir (Brody, 1999; Singh et al., 2009). Nötralize kimus içindeki lipitlerin ince bağırsakta sindiriminin ilk basamağında emülsiyon oluşur. Lipit sindiriminin ikinci basamağında ise emülsiyon partiküllerine safra tuzları katılır ve 16-20 A° çapında miseller oluşur. Safra karaciğerde sentezlenir ve safra kesesine gelerek buradan salgılanır. Safra, yağların çözünürlüğünü arttıran, emülsiye eden ve küçük parçacıklar halinde ince bağırsakta daha iyi emilmesini sağlayan bir salgıdır. Misellerdeki lipitlere enzimlerin etkisi sonucu lipitler hidrolitik olarak parçalanırlar. Trigliseridlerin hidrolizini katalize eden enzim pankreatik lipazdır. Pankreatik lipaz pankreas tarafından salgılanır ve etkisini gösterebileceği en uygun koşul pH 7-9'dur. Duodenumda pankreatik lipaz enzimi ile daha ileri bir parçalanma sonunda trigliserit formundaki yağ asitleri monogliseritlere parçalanır (Brody, 1999).

Yağların emilimi yağ asitleri ve monogliseridler şeklinde olur. Mikrokillilerin yüzeyinde basit difüzyonla emilirler. Hücre trigliseridleri yeniden sentezler. Çünkü trigliseridler suda çözünemez, proteinlerle çevrilidirler ve şilomikronlara bağlanırlar. Şilomikronlar lenf dolaşım sistemi ve kan ile hücrelere ve karaciğere ulaşırlar (Friedman and Nylund 1980; Singh et al., 2009; Golding and Wooster, 2010).

### **2.3. Karbonhidratlar, Sindirimi ve Emilimi**

İnsanlarda toplam enerji alımının %40-60'ının karbonhidratların çeşitli formlarından sağlanması onları en önemli enerji (1 g karbonhidrat 4 kalori enerji sağlar) kaynağı yapmaktadır. Karbonhidratlar kimyasal yapılarına göre; sindirilmeden emilen, sindirilen, fermente edilen ve fermente edilemeyen olarak sınıflandırılabilir (Tucci et al., 2010).

Monosakkaritler - glukoz, galaktoz, fruktoz, ksiloz ve riboz gibi tek bir üniteden oluşan karbonhidratların- vücuda transfer edilmesi için enzimler ile hidrolizlenmesine yani sindirilmesine gerek yoktur. Fakat iki ya da daha fazla üniteden oluşan bir karbonhidratın emilmesi için enzimatik olarak hidrolizlenmesi gerekmektedir. İnsan diyetinde sindirilebilir başlıca karbonhidratlar sükroz ve laktoz gibi disakkaritler ve enerjinin ana kaynağı olan nişasta gibi polisakkaritlerden oluşur. Aksine fermente edilebilir karbonhidratlar, enzimler ile parçalanamadığı için sindirilemez, kolona (kalın bağırsak) ulaştığında kolonik bakterilerin fermantasyon prosesi sırasında metabolize olurlar. Benzer şekilde sükroz ve laktoz gibi sindirilebilir karbonhidratlar sindirilmeden kolona ulaştığında fermente edilir. Kalın bağırsaktaki karbonhidrat fermantasyonunun son ürünleri, kısa zincirli yağ asitleri (asetat, propiyonat, bütirat) ve gazlardır (karbondioksit, hidrojen, metan). Bazı karbonhidratlar (bitki hücresi duvarı gibi) ne sindirilir ya da emilir ne de fermente edilebilir. Bunlar çoğunlukla sindirim sisteminden değişmeden geçer ve dışkı ile atılır (Alpers, 2003; Tucci et al., 2010).

Karbonhidratlar en kolay sindirilen ve mideyi en çabuk terk eden besin öğeleridir. Onları proteinler sonra da yağlar izler. Karbonhidrat sindirimi 1-4 saat sürer (Brody, 1999). Karbonhidrat sindirimi ağızda başlar. Nişasta ve glikojen

tükürükteki  $\alpha$ -amilaz etkisiyle ağızda enzimatik olarak parçalanmaya başlar. Midede tükürük  $\alpha$ -amilazı inhibe olur. İnce bağırsağa ulaştığında pankreastan salgılanan pankreatik amilaz ile karbonhidratlar mono ve disakkaritlere kadar parçalanır. Karbonhidratların son parçalanma ürünleri disakkaritler, ince bağırsakta onlara spesifik sukraz, maltaz, laktaz enzimleri ile monoosakkaritlere fruktoz, glukoz ve galaktoza parçalanırlar. Monosakkaritler (çoğunlukla glukoz) ince bağırsaktan emilir (Brody, 1999).

İnce bağırsak lümeni içindeki glukoz ve galaktoz aktif transportla, fruktoz ve diğer monosakkaritler ise basit diffüzyonla ince bağırsak epitel hücresi içine alınırlar. Glukozun ince bağırsak lümeni içinden ince bağırsak epitel hücresi içine geçişi, basit diffüzyon ile ve Na-bağımlı taşınım sistemiyle olur (Alpers, 2003). İnce bağırsak epitel hücreleri boyunca villilerde bulunan kan kapilerine taşınan monomerler, kapı toplar damarı ile karaciğere ulaşırlar. Karaciğerde galaktoz ve fruktoz, glukozla dönüştükten sonra kan dolaşım sistemi ile tüm vücuda ulaşırlar (Friedman and Nylund, 1980; Alpers, 2003; Brody, 1999).

## **2.4. Sindirim Enzimlerini İnhibe Etme Potansiyeline Sahip Gıda Bileşenleri**

### **2.4.1. Saponinler**

Saponinler çoğu sebze, bitki ve fasulyenin kök ve rizomlarında bulunan fitokimyasallardır (Birari and Bhutani, 2007; Tucci et al., 2010; Garza et al., 2011).

Saponinler bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan uçucu olmayan yüzey aktif bileşiklerdir. Sabun anlamına gelen latince "Sabo" olarak isimlendirilen çöven bitkisinden (Cins: *Saponaria*, Aile: *Caryophyllaceae*) türetilmiştir (Vincken et al., 2007; Wei, 2011). Bitkilerde bulunan saponinler insan diyetinde de yer almaktadır. Saponin içeren gıdalar soya fasulyesi, nohut, bezelye, yer fıstığı, mercimek, ıspanak, yulaf, patlıcan, kuşkonmaz, sarmısak, şeker pancarı, patates, yeşil biber, domates, soğan ve çaydır (Oakenfull, 1981; Lásztity et al., 1998; Wei, 2011). Nohutun saponin içeriği (56 g/kg), maş fasulyesi (16 g/kg), mercimek (3.7-4.6 g/kg) ve bakla (3.5 g/kg) gibi diğer bakliyalardan daha yüksektir (Jukanti et

al., 2012).

Saponinler ön madde olarak oksidoskualen içeren 30 karbon atomundan türetilen triterpenoid ve steroid saponin olarak iki sınıfta kategorize edilirler (Garza et al., 2011).

Saponinler glikosidik bağlarla bir veya daha fazla oligosakkarit parçalarına bağlı bir steroid veya triterpenoid aglikon ihtiva eden yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir (Hosstettman and Marston, 1995; Lásztity et al., 1998; Wei, 2011). Şeker kısmı (glikon) pentozlar, üronik asit, glukoz, galaktoz, ramnoz, metilpentoz, ksiloz ve heksozlar olabilir; şeker olmayan kısımları (aglikonlar) sterol, fenol, gliserol ve metil alkol içerebilir (Wei, 2011). Saponin molekülünün aglikon ya da şeker olmayan kısmı genin ya da sapogenin olarak adlandırılır (Hosstettman and Marston, 1995). Saponinler, polar olmayan aglikonun polar yapıdaki bir ya da daha fazla monosakkarit ile birleşmesinden oluşurlar. Bu polar olan ve polar olmayan yapısal elementlerin birleşmesi sulu çözeltide molekülün sabun benzeri davranışını açıklamaktadır (Vincken et al., 2007). Saponinler düşük oranda emilirler (Messina, 1999).

Literatür kaynakları saponinlerin çeşitli biyolojik yararları olduğunu rapor etmektedir. Örneğin, anti-inflamatuar, anti-diyabetik, anti-HIV, anti-aterosklerotik ve gastro-koruyucu, hepatoprotektif ve hipolipidemik gibi çeşitli yararları belirtilmiştir. Ayrıca saponinlerin, karaciğer fonksiyonlarının sağlanmasında, kan kolesterol düşürücü, trombosit aglütinasyon gibi peptik ülser ve osteoporozun önlenmesinde etkili olduğu belirtilmiştir (Wei, 2011). Saponinler incebağırsakta kolesterol ile birleşerek kolesterol absorpsiyonunu engelleyen, çözünmeyen özellikte bir bileşik oluştururlar. Ayrıca safra asitleriyle bağlanarak dışkı ile atılmasını arttırlar, böylece kolestrolü bertaraf eden dolaylı bir etkiye de sahiptirler. Plazma kolesterolünün kontrolü ile saponinler insanlarda sağlıklı beslenme konusunda yararlar sağlar. İzole edilen ve gıdalarda bulunan saponinlerin hayvanların çoğunda plazma kolesterolünü düşürdüğü gözlenmiştir (Jukanti et al., 2012; Artık ve Sezgin, 2010). Saponince zengin gıdaların plazma kolesterolünü %16-24 oranında düşürdüğü rapor edilmiştir (Jukanti et al., 2012). Saponinlerin yararlı etkileri, ilaçlar, emülsiyon yapıcılar, yardımcı maddeler, tat

değiştiriciler, tatlandırıcılar ve hormon sentezi öncülerinde ticari olarak uygulanmaktadır (Hostettman and Marston, 1995; Wei, 2011).

Saponinler hemolitik aktivite gösterirler. Bu glikozitler kolesterol veya lesitinle birleşerek alyuvar çeperini hemoglobin için geçirgen hale getirerek kanı hemolize ederler. Saponinlerin toksik etki düzeyi 50-100 mg/kg vücut ağırlığının üzerindedir. Toksik etki düzeyi bağırsaktan emilim oranına bağlıdır. Gıdalarla vücuda alınan saponinler insanlarda toksik etki göstermezken, damar içine verilen saponinlerin toksik etki gösterme riski ağız yolu ile alınan saponinlerden 10-100 kat daha fazladır. Soğuk kanlı hayvanlar özellikle balıklar için aşırı derecede toksiktirler. Saponinler normalde kana karışmadan sindirim yolunda kalırlar fakat bu sırada mide ve bağırsak yaraları varsa bu bölgelerdeki yara düzeyini arttırlar. Kana karıştığı zaman organizmada birçok zararlar oluşmakta ve karaciğer hasarı, alyuvar hasarı, solunum yetersizliği ve kriz gibi önemli sağlık sorunları ortaya çıkmaktadır (Oakenfull, 1981; Artık ve Sezgin, 2010)

Saponinlerin besin öğelerinin kullanılabilirliğini ve enzim aktivitesini düşürdüğü bulunmuştur (Wei, 2011; Singh and Basu, 2012). Tek mideli hayvanlarda, söz konusu saponinler büyüme inhibitörü olarak etki eder ve acılık ile boğaz tahriş edici aktivitesi nedeniyle yem alımını azaltır. Gıda kaynaklı farklı bitkilerde bulunan saponinlerin, somon balığında kilo alımını azalttığı belirtilmiştir (Wei, 2011). Tripsin ve kimotripsin gibi çeşitli sindirim enzimlerini inhibe ederek protein sindirilebilirliğini etkilerler (Wei, 2011).

Bu bitki sekonder metabolitlerinin pankreatik lipazı inhibe ettiği ve böylece obezite ve ilgili hastalıkların tedavisi için potansiyel bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Garza et al., 2011). Oleanane, lupine ve dammarane tipi saponinler pankreatik lipazı inhibe edebilmektedir. Bu sebep ile obezite ve buna bağlı hastalıklarda tedavi potansiyeline sahip olsa da klinik açıdan saponinlerin daha fazla araştırılması gerekmektedir (Tucci et al., 2010).

Sibirya ginseng (*Accanthopanax sessiliflorus*) yapraklarının saponinlerce zengin kısımlarından elde edilen fraksiyonları *in vitro* pankreatik lipaz üzerine güçlü inhibisyon etki göstermiştir. Lipaz aktivitesinin inhibisyonunun doza bağlı

şekilde gerçekleştiği ve IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 0.36 ve 0.75 mg/mL olarak bulunmuştur (Birari and Bhutani, 2007).

Eski zamanlardan beri dünyanın her yerinde yaygın olarak üç çeşit çay (oolong, yeşil ve siyah) özellikle lipid metabolizması ve obeziteyi önlemede çeşitli sağlık faydaları için kullanılmaktadır. Çay saponinlerinin (E1 ve E2 çay saponinleri karışımı) doza bağlı olarak pankreatik lipazı inhibe etme özelliğine sahip olduğu rapor edilmiştir. İnhibisyonun yarışmalı olduğu ve lesitin-emülsiyeye triolein için lipaz aktivite Km ve Vmax değerleri sırasıyla 42 mg/mL ve 476.2 nkat/L olarak saptanmıştır. Çay saponinin Ki değeri 0.25 mg/mL olarak belirlenmiştir (Birari and Bhutani, 2007; Tucci et al., 2010).

Japon atkestanesi (*Aesculus turbinata*) ve Avrupa atkestanesi (*Aesculus hippocastanum*) çekirdeklerinden elde edilen triterpen oligoglukosidler karışımının (escin) antidiyabetik ve anti-obezite etkileri olan nutrasötik özellikleri vardır. (Birari and Bhutani, 2007). At kestanesi çekirdeklerinden izole edilen triterpen saponin karışımı olan escinlerin pankreatik lipaz inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir (IC<sub>50</sub> of 24 mg/mL) (Tucci et al., 2010).

#### 2.4.2. Polifenoller

Polifenoller birçok bitkide ve özellikle meyvelerin kabuklarında yoğun olarak bulunan ikincil metabolitlerdir. Günümüzde spesifik olarak polifenollerin sağlık üzerine olumlu etkileri iyi bilinmektedir. Antioksidan ve sindirim enzimi inhibitörleri olarak hem kalp damar hastalıkları hem de kanser riskini azaltabilir (Tucci et al., 2010; Garza et al., 2011). Polifenollerin lipid ve nişasta sindirimi ile ilgili lipaz, proteaz ve glukosidaz gibi enzimleri inhibe ederek, besin ögesi emilimini modüle edebildiği bildirilmektedir. Bu da kalori alımı, obezite ve kan glukoz kontrolü üzerine olumlu etkilere neden olabilmektedir. Fenolik bileşiklerden prosiyanidinler gıdanın duyuşal ve besleyici kalitesine katkıda bulunan bileşenlerdir. Tükürük proteinleri ile etkileşerek burukluk hissinden sorumludur (Gonçalves et al., 2011). Pankreatik lipaz, lipoprotein lipaz ve gliserofosfat dehidrogenaz dahil olmak üzere yağ metabolizması ile ilgili enzimleri inhibe ettikleri belirlenmiştir. Polifenol ekstraktları kan glukoz



düzeyleri, trigliserit ve LDL kolesterolünü azaltma, yağ oksidasyonu ve enerji tüketimini arttırma, vücut ağırlığı ve yağlanmayı azaltma yeteneğine sahiptirler. Flavonlar, flavonollar, tanen ve kalkon dahil birçok polifenoller pankreatik lipaz inhibitör aktivite gösterirler. Flavonoidler, en az bir aromatik hidroksil ve bir karbon köprü ile bağlanan iki ya da daha fazla aromatik halka içeren bitki sekonder metabolit türüdür. Bunlardan bazıları ya bitkiler tek başlarına ya da gıda işleme sonucu, büyük moleküllere polimerize edilirler. Bu polimerler taninler olarak adlandırılır ve üç alt sınıfı (kondanse tanin, türevlendirilmiş tanin ve hidrolize taninler) sağlık üzerine yararlı etkiler gösterirler. Kondanse tannin olarak da bilinen proantosiyandinler, Batı diyetinde flavonoidlerin en yaygın bir grubudur. Ligninlerden sonra doğal fenolik maddelerin ikinci en bol grubu olarak kabul edilirler. Karbon-karbon ve eter bağı ile bağlantılı flavanların monomer birimlerinden oluşurlar. Hububat, bakliyat, meyve, sebze ve içecek (özellikle kırmızı şarap ve çay) gibi gıdalarda bulunurlar. Enflamatuar süreçler, kardiyovasküler hastalıklar ve diğer patolojik durumlar üzerinde olumlu etkisini gösteren antioksidanlar olarak kabul edilen bir role sahiptirler (Garza et al., 2011). Örneğin, bu bileşikler tripsin, amilaz, lipaz gibi farklı sindirici enzimleri üzerine inhibitör etkiye sahiptirler ve beslenme ile alınan lipitlerin emilimini inhibe ederek plazma trigliseriti azaltırlar (Garza et al., 2011, Ikarashi et al., 2011).

Elma polifenolleri başlıca klorojenik asit, kateşin, epikateşin, rutin, prosiyanidin gibi polifenolleri içermektedir. Elmadaki prosiyanidinler çeşitli polimerize kateşinlerden oluşmaktadır. (Tucci et al., 2010). Elma polifenolleri ekstraktının pankreatik lipazı ( $IC_{50}$  değeri  $5.6 \mu\text{g/mL}$ ) inhibe ettiği bulunmuştur (Sugiyama et al., 2007; Tucci et al., 2010). Ayrıca elma polifenollerinden ekstrakte edilen prosiyanidin fraksiyonları pankreatik lipaz aktivitesini ( $IC_{50}$  değeri  $1.4 \mu\text{g/mL}$ ) inhibe etmiştir. Denek sıçanlara mısır yağı yüklemesi sonrasında,  $200 \text{ mg/kg}$  düzeyinde verilen elma polifenolleri plazma trigliserit seviyesinde önemli düzeyde azalışa neden olmuştur. Prosiyanidin fraksiyonu kontrol gruba kıyasla trigliserit emilimini inhibe etmiştir.  $600 \text{ mg}$  elma polifenolleri içeren kapsüller insanlara verildiğinde trigliserit yüklemesi sonrasında trigliseritin taşınmasını, plasebo alan kişilere kıyasla inhibe ettiği ve hiçbir yan etkinin gözlenmediği saptanmıştır (Tucci et al., 2010).

Kurutulmuş çay polifenolleri % 93.6 kateşin içermektedir. Bu oran % 5.1 ( $\pm$ )-kateşin (C) ve (-)-epigallokateşin (EGC), % 40.9 (-)-epigallokateşin gallat (EGCG), % 30.4 (-)-epikateşin gallat (ECG), % 10.9 ( $\pm$ )-gallokteşin gallat (GCG) ve % 6.3 (-)-epikateşini (EC) şeklindedir (He et al., 2007). He et al. (2007) çalışmalarında dört sindirim enzimi -  $\alpha$ -amilaz, pepsin, tripsin ve lipaz - kullanılarak çay polifenolü-enzim interaksiyonunun inhibisyon özellikleri incelenmiş, polifenol konsantrasyonu ve enzimlerin molekül ağırlığı arttıkça inhibisyonun doğrusal olarak arttığı gözlemlenmiştir. 0.05 mg/mL çay polifenolü varlığında,  $\alpha$ -amilaz, pepsin, tripsin ve lipaz inhibisyonu sırasıyla % 61, % 32, % 38 ve % 54 olarak bulunmuştur.

Çay polifenolleri-enzim bağlanma mekanizması kovalent olmayan interaksiyonlar ile gerçekleşmektedir. Çay polifenolleri yapısındaki hidroksil ve galloil grupları proteinlerin polar gruplarıyla (amid, guanidin, peptid, amino ve karboksil grupları) hidrojen bağı oluşturabilirler. Diğer bir deyişle, enzimlerdeki polar grupların miktarı ve bileşimleri, enzim ve çay polifenolleri arasındaki hidrojen bağlarının oluşumunu ve stabilitesini etkilemektedir. Ayrıca çay polifenollerindeki galloil grupları, hidrofobitesi nedeniyle enzimlerde bulunan prolin, fenialanin ve trozin gibi çoğu hidrofobik aminoasiti hidrofobik etkileşimler ile kuvvetlice bağlar. Bu bağlanmalar sonucu enzimin yapısı değişerek aktivitesi geri dönüşümsüz zarar görür (He et al., 2007).

Oolong çayından ayrılan polifenollerin  $IC_{50}$  değerleri EPC 3,5-di-O-gallat - 0.098  $\mu$ M, prodelfinidin B-2 3,3'-di-O-gallat - 0.107  $\mu$ M, assamicain A - 0.120  $\mu$ M, oolonghomobisflavan A - 0.108  $\mu$ M, theasinensin D - 0.098, oolongtheanin 3'-O-gallat - 0.068  $\mu$ M, theaflavin - 0.106  $\mu$ M olarak saptanmıştır. En yüksek pankreatik lipaz inhibitörü gösteren fenolik bileşen ise theaflavin 3,3'-O-gallat'tır ( $IC_{50}$  0.092  $\mu$ M) (Birari and Bhutani, 2007).

Üzüm çekirdeği ekstraktı biyoaktif fitokimyasallarca zengindir ve pankreatik lipaz ve lipoprotein lipazı üzerine inhibisyon etkisi ile diyet yağlarının emilimini ve adipoz dokuda birikimini azaltır. Üzüm çekirdeği ekstraktının bu etkisi, yapısında bulunan flavonoidler, prosiyanidinler ve bunların antioksidatif metabolitleri gibi çeşitli bileşenlerin sinerjistik etkilerinden kaynaklanmaktadır.

Birçok çalışmanın sonucu toksik etkisinin olmadığını göstermiştir, böylece üzüm çekirdeğinden elde edilen proantosiyanidince zengin ekstraktların gıdalarda kullanılabilirliğini desteklemiştir (Birari and Bhutani, 2007). Üzüm çekirdeği ekstraktının (1 mg/mL konsantrasyonda) lipaz aktivitesini % 80 oranında inhibe ettiği saptanmıştır. Potansiyel kilo kaybında ürünün etkisini değerlendirmek için hayvan çalışmalarına ihtiyaç vardır (Tucci et al., 2010).

Yerfıstığı ekstraktının (*Arachis hypogaea*)  $\alpha$ -amilaz ve pankreatik lipazı inhibe etme etkisine sahip olduğu belirlenmiştir (Birari and Bhutani, 2007; Tucci et al., 2010). Yerfıstığı kabukları luteolin, bazı yağ asitleri, kafeik, ferulik ve benzoik asit gibi birçok biyoaktif molekül içermektedir. Bunların yanında kumarin türevleri ve flavonoid glikosidler esas aktif bileşenlerdir. (Birari and Bhutani, 2007). Yerfıstığı kabuğu ekstraktının 10 mg/mL doz ile % 92 oranında lipaz aktivitesini inhibe ettiği saptanmıştır. Gıda tüketimini değiştirmeden yağlı diyetin % 1'i oranında alındığında, sığırlarda kilo alımını azalttığı belirlenmiştir (Tucci et al., 2010).

Böğürtlen polifenoller (antosiyanın ve ellagitanin gibi) postprandiyal hiperglisemiye azaltıcı etki göstermişlerdir. *In vitro* antosiyanınler doğrudan pankreas hücrelerinden insülin salınımını uyarabilmesine rağmen, postprandiyal hiperglisemi üzerindeki temel etkisi  $\alpha$ -glukosidaz ile  $\alpha$ -amilaz inhibisyonuna bağlı olarak görünmektedir. Buna ek olarak, bu ekstraktın aynı zamanda pankreatik lipaz üzerinde inhibitör etki gösterdiği *in vitro* olarak saptanmıştır. Ellagitanince zengin ekstraktların (ahududu, çilek gibi) lipazı inhibe etmede çok etkili oldukları belirlenmiştir (Tucci et al., 2010).

#### **2.4.2.1. Antosiyanınler**

Antosiyanınler flavonoidler olarak bilinen bitki bileşenlerinin alt grubudur ve meyve çiçek sebzelerin kırmızı, mavi, mor renklerinden sorumludurlar (Aza-González and Ochoa-Alejo, 2012; Arnok et al., 2012). Antosiyanınler doğada genelde bir veya daha fazla şekere ve/veya açıl şekere bağlı olarak bulunurlar. Antosiyanınler şekerle bağlandığında antosiyanınler oluşur. Böylece bir antosiyanın molekülü normalde iki kısımdan oluşur: antosiyanın ve glikosid

bağı. Bitkilerde en yaygın bulunan antosiyanin yapısı siyanidin-3-glukosittir (Arnnok et al., 2012).

Bu bileşikler tozlaştırıcıları çekme ve foto-oksidatif bitki hasarını önleme gibi birçok biyolojik fonksiyonlara sahiptirler. Antioksidan kapasite ile ilgili olarak UV hasara karşı sağlanan koruma birçok değişik bitkide incelenmiştir (Aza-González and Ochoa-Alejo, 2012; Aza-González et al., 2012). Antosiyaninlerin, antioksidan özellikleri ve anti-kanser, anti-diyabetik, anti-inflamatuar ve vazoprotektif etkileri, koroner kalp hastalıklarını önleme ve görme keskinliğini artırma gibi sağlık yararları ile önemi giderek artmaktadır. Sadece sağlık açısından yararları ile değil aynı zamanda gıda endüstrisinde renklendirici olarak da yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Arnnok et al., 2012; Shipp and Abdel-Aal, 2010).

Antosiyaninler insan beslenmesinde yaygın olarak dağılım gösterirler, Amerika'da tahmini günlük alım 12.5 mg olarak bulunmuştur (Shipp and Abdel-Aal, 2010). Antosiyaninler meyve ve sebzelerin işlenmesi ve depolanması sırasında stabil değildirlere. Meyve sebzelerin kahverengileşmesinin genel olarak antosiyaninlerin hızlı bir parçalanması sonucu olduğu düşünülmektedir (Arnnok et al., 2012).

Antosiyaninlerin düşük oranlarda emilim gösterdiği belirtilmektedir. Flavonoid glikozitler emilim öncesinde lümen veya bağırsak hücrelerinde parçalanmaktadır. Ancak antosiyaninler için durum farklıdır ve idrarda glikozit (veya glukuronit) formda tespit edilmişlerdir. Bu durumun nedeni olarak antosiyanin aglikonlarının bağırsaklardaki pH derecelerine dayanıksız olmaları ve emilim gerçekleşmeden önce bozulmaları gösterilmektedir (Güven vd., 2010).

#### **2.4.2.2. Prosiyanidinler**

Proantosiyanidinler karakteristik bir C6-C3-C6 difenil propan iskeletine sahip flavonoid sınıfına aittirler. Proantosiyanidinlerin biyosentezi son basamağı flavan-3-ol ve flavan-3,4-diollerin oligomerlere dönüşmesi olan fenilpropanoid yol izini takip eder. Dönüşüm ve oranların tam olarak asıl mekanizması

bilinmemektedir. Önceden literatürde proantosiyanidinler için genellikle lökoantosiyanidin veya kondense taninler isimleri kullanılmaktaydı. Daha sonra tekrar tanımlama yapılmış ve lökoantosiyanidinler monomerik flavan-3,4-diollerini belirtirken, proantosiyanidinler monomerik flavan-3-ollerin oligomerleri olarak tanımlanmıştır. Lökoantosiyanidinler antosiyanidin sentaz enzimi (lökoantosiyanidin dioksigenaz) ile antosiyanidinlere biyolojik dönüşümünü ifade eder. Löko beyaz/rengsiz, löko bileşiği oksidasyon ile bir renge dönüşebilen renksiz bileşen olarak tanımlanır. Proantosiyanidinler sıcak mineral asitte inkübe edildiklerinde antosiyanidinlere dönüşürler. Lökoantosiyandiner de bu özelliğe sahiptir (Appeldoorn, 2009).

Proantosiyanidinler monomerik flavan-3-olün A ve B halkalarında hidroksilleme kalıplarına bağlı olarak en az 15 alt gruba ayrılabilir. Gıda kaynaklarında bulunan alt gruplar prosiyanidin, prodelfinidin ve propelargonidindir. Diğer 12 alt grup gıda olmayan kaynaklarda tespit edilmiştir. Prosiyanidin gıdalarda bulunan en yaygın gruptur (Appeldoorn, 2009).

Proantosiyanidinler çikolata, elma, üzüm, yer fıstığı, şarap ve çeşitli baharatlar gibi birçok gıdada bulunur. Amerika'da 1994-1996 dönem aralığında bir insanda günlük proantosiyanidin alımı 57.7 mg olarak rapor edilmiştir. Amerikan diyetinde proantosiyanidin en önemli kaynakları elma (%32), çikolata (%17.9) ve üzüm (%17.8) olarak belirtilmiştir (Gu et al., 2004).

Mink et al. (2007) Iowa Kadın Sağlığı Çalışmasında, 34489 menepoz sonrası kadında proantosiyanidin alımını ölçmüşler, en az ve en çok alım sırasıyla 62 ve 524 mg/gün olarak tespit etmişlerdir. Ortalama alım 228 mg/gün olarak tahmin edilmiştir (Mink et al., 2007; Appeldoorn, 2009).

Proantosiyanidinlerin düşük oranlarda emilim gösterdiği belirtilmektedir (Güven vd., 2010). Proantosiyanidinlerin diyetimizde yer aldığı bilinmektedir, fakat tüketiminden sonraki yolu emilimi tam anlayamamıştır. Prosiyanidin dimerleri taklit edilmiş gastrik suda (pH 2, 3.5 saat) inkübe edildiğinde stabil olmadığı ve konsantrasyonlarının %30 azaldığı bulunmuştur (Spencer et al., 2000).

### 2.4.3. Terpenler

Terpenler çok çeşitli bitkiler tarafından üretilen büyük bir hidrokarbon sınıfıdır. Terpenlerin kimyasal modifikasyonu sonucu terpenoidler oluşur. Bunlar çoğu bitkinin esansiyel yağlarının ana bileşenleridir. Gıdalarda bulunan karnosik asit/karnosol, krosin/kroteinler lipaz enzimini inhibe etme özelliğine sahiptir (Tucci et al., 2010).

Krosin bir glikosilatlı karotenoiddir. Krosin ve metaboliti krotein pankreatik lipazı kuvvetli olarak inhibe eder. Lipaz-substrat ortamına eklendiğinde, krosin substrat ile yarışmalı olarak pankreatik lipaza hızla bağlanır ve tersinir inhibisyona neden olur (krosin  $IC_{50}=2.1$  mg/mL, krosin  $IC_{50}=2.7$  mg/mL) (Lee et al., 2005; Sheng et al., 2006; Tucci et al., 2010).

#### **2.4.3.1. Karnosik asit**

Karnosik asit adaçayı (*Salvia officinalis*) yapraklarından metanolik ekstrak ile izole edilen bir çeşit diterpendir (Birari and Bhutani, 2007; Tucci et al., 2010). Biberiye ekstraktında da fenolik diterpen olan karnosik asit ve karnasol gibi antioksidan aktivite gösteren bu bileşenler bulunur (Thorsen and Hildebrandt, 2003; Luis and Johnson, 2005; Rižnar et al., 2008). Karnosik asit biberiye ekstraktında en çok bulunan major fenolik diterpendir ve bu yüzden referans bileşen olarak seçilmektedir (Thorsen and Hildebrandt, 2003). Karnosik asitin stabilitesinin zayıf olduğu belirtilmektedir (Rižnar et al., 2008). Karnosik asit içerik miktarları bu tür ürünler için bir kalite parametresidir, çünkü bu ekstraktlar doğal antioksidan kaynağı olarak gıda endüstrisinde ticari ilgiye sahiptirler (Troncoso et al., 2005; Yan et al., 2009). Ayrıca anti-inflamatuar, antiplatelet, antibakteriyel, antikanser ve fotokoruyucu etkileri vardır (Yan et al., 2009).

Luis and Johnson (2005) çalışmalarında biberiyedeki (*Rosmarinus officinalis* L. - çeşidi Sissinghurst English) karnosik asit içeriğini  $12.18\pm 0.609$  mg/g olarak belirtmişlerdir. Moreno et al.(2006), biberiyedeki karnosik asit içeriğini yapraklarda  $29.3\pm 2.9$  g/100g, çiçeklerde  $13.6\pm 1.3$  g/100g olarak ifade etmişlerdir.

Karnosik asit pankreatik lipazı konsantrasyona bağı şekilde yarışmalı olarak inhibe eder ve IC<sub>50</sub> değeri 12 µg/mL (36 µM)'dir. Ayrıca zeytinyağı yüklemesi yapılan sıçanlarda serum trigliserit seviyesinin yükselmesini azalttığı görülmüştür. Adaçayının bioaktif-güdümlü fraksiyonasyonu ile karnosol (IC<sub>50</sub> 4.4 µg/mL), roylenolik asit (IC<sub>50</sub> 35 µg/mL), 7-meth-oksirosmanol (IC<sub>50</sub> 32 µg/mL) ve oleanolik asit (IC<sub>50</sub> 83 µg/mL) elde edilir (Birari and Bhutani, 2007). Bugüne kadar insanlar üzerine yapılan çalışmalar yeterli değildir (Tucci et al., 2010).

## 2.5. Biyoyararlılık - Biyoerişebilirlik

Sağlıklı bir gıda veya fonksiyonel gıda üretiminde, gıda bilimcileri için sadece gıdada veya gıda takviyesinde bulunan besin ögesinin miktarı değil besin ögesinin biyoyararlılığının ne kadar olduğu da oldukça önemlidir (Shipp and Abdel-Aal, 2010).

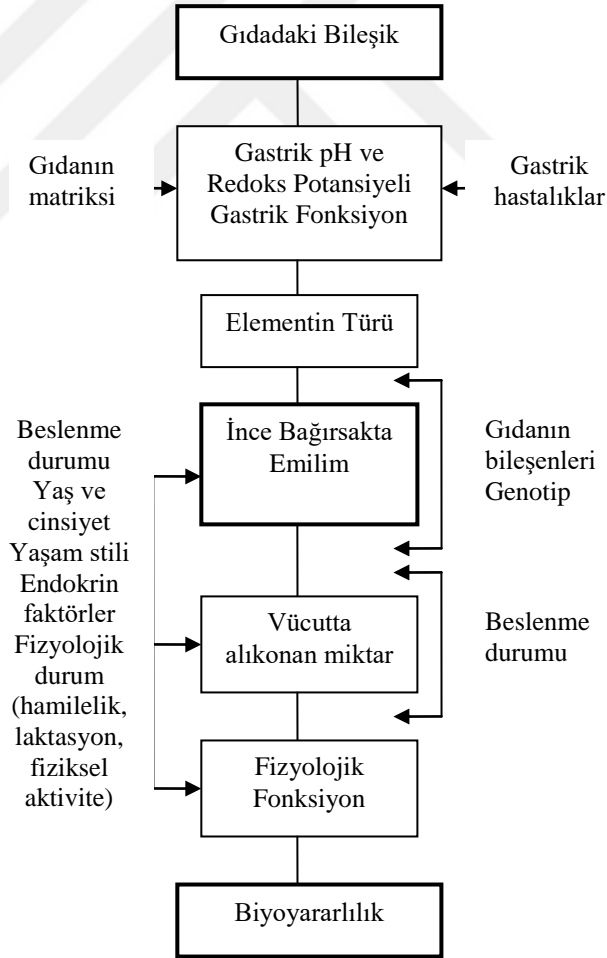
Besin öğelerinin ve biyoaktif bileşiklerin gıdalar ile vücuda alınan miktarlarıyla vücutta kullanılan miktarları farklılık gösterir. Bu durum söz konusu bileşenin biyoyararlılığı ile ilişkilendirilmiştir (Ammerman et al., 1995). Biyoyararlılık, gıdanın sindirilmesi ile alınan bileşiğin, metabolik ve fizyolojik fonksiyonlar için kullanılan kısmı olarak tanımlanmaktadır (Acosta, 2009). Başka bir deyişle biyoyararlılık herhangi bir aktif bileşenin vücutta emilen miktarı ve oranının organizmada kullanıma hazır halde olan düzeyidir. Daha sıklıkla kullanılan bir yaklaşımda “Biyoerişebilirlik (bioaccessibility)” alınan bileşiğin, gıda matrisinden açığa çıkan ve sindirim sonrası (daha ziyade *in vitro* yöntemlerin kullanıldığı) ince bağırsakta emilime hazır olan kısmı olarak tanımlanır (Prada and Aguilera, 2007; Žmitek et al., 2008; Ercan and El, 2011).

Emilim ince bağırsakta villuslarda gerçekleşir. Villusların üzerinde epitel hücreleri emilim hücreleri olarak görev yapar. Emilim süreci, besin ögesinin epitel hücreleri tarafından ince bağırsak lümeninden çekilmesi, besin ögesinin transferi ve diğer doku ve organlara taşınmasını içerir (House, 1999).

Son çalışmalar gıdalarla alınan besin öğelerinin tamamının biyolojik olarak kullanılmadığı ortaya konmuştur. Biyoyararlılık hem beslenme modelinden hem

de onunla ilişkili faktörlerden etkilenir. Biyoyararlılık, gıdanın fiziksel özelliği, kimyasal bileşimi ve bireysel sindirim kapasitesi gibi birçok nedene bağlı olarak değişir (Sandström, 2001). Şekil 2.1’de biyoyararlılığı etkileyen faktörler özetlenmiştir.

Gıdaların biyoyararlılığının ve biyoerişebilirliğinin denek hayvanları ile çalışması sırasında uyulması gereken etik kurallar nedeniyle zaman içerisinde biyoyararlılık çalışmalarının insan sindirim sisteminin fizyolojisinin enzimler, pH değerleri ve inkübasyon süreleri ile taklit edildiği *in vitro* sindirim model sistemlerinde çalışılması yaygınlaşmıştır. *In vivo* çalışmalar ile korelasyonları yüksek olan *in vitro* sindirim sistemlerinde sonuçlar, biyolojik sistemin sonucu olarak değerlendirilmektedir (Evans and Fornasini, 2003).



Şekil 2.1. Biyoyararlılığı etkileyen faktörler (Walczyk, 2001)



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kimyasal malzemeler

Diosgenin (D1634), 4-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranozid (PNPG) (N1377), 4-methylumbelliferyl oleate (4MUO) (75164), potasyum iyodür (746428), iyot (207772), hidroklorik asit (320331), nişasta (33615), fare intestinal aseton tozu (I1630), potasyum klorür (746436),  $\alpha$ -amilaz (A1031), pepsin (P7012), pankreatin (P1750), lipaz (L3126), n-Butanol (B7906), asetonitril (34998), Dulbecco fosfat tuz tamponu (D5773), sodyum sitrat (S1804), 4-(Dimetilamino)sinnamaldehit (D4506) Sigma firmasından satın alınmıştır. Karnosik asit (91209), fosforik asit (79606) Fluka Sigma Aldrich firmasından; metanol (1586018), sodyum hidroksit (106462) Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından alınmıştır. Tüm kimyasal maddeler analitik özellikte olacak şekilde ilgili firmalardan sağlanmıştır.

##### 3.1.2. Kullanılan cihazlar

Analizlerde kullanılan ekipmanlar; etüv (Memmert, UNB 400, Almanya), görünür bölge spektrofotometre (Novaspec Plus Visible Spectrophotometer, Amersham Biosciences, General Electric, Türkiye), santrifüj (Thermo Scientific, IEC C1312 Multispeed Centrifuge, Almanya), su banyosu (Memmert, WNB14, Almanya), homojenizatör (IKA, T25 Digital Ultra-Turrax, Almanya), ultrasonik homojenizatör (Bandelin Sonopuls), vorteks karıştırıcı (Yellow Line TTS3 Digital), mikropilaka okuyucu (Thermo Scientific, Varioskan Flash, Finlandiya), vakumlu evaporatör (Polyscience, 120V, ABD), çalkalamalı inkübatör (Stuart, S1500 OSA, Birleşik Krallık), HPLC (Agilent Technologies, 1200 Series, Almanya) ve pH metre (WTW, inoLab® pH 7110, Almanya)'dır.

##### 3.1.3. Gıda örnekleri

Araştırmada kullanılacak gıda örnekleri (elma, siyah üzüm, tarçın, demir diken, nohut, adaçayı, biberiye) İzmir ilindeki marketlerden temin edilmiştir.

Elma (*Malus communis*) cinsi olarak ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen, polifenol miktarı diğer elma cinslerinden fazla olduğu saptanan Amasya elması seçilmiştir (Karadeniz ve Ekşi, 2001). Antosiyanince zengin siyah üzüm çeşidi olarak çekirdeği en yüksek prosiyanidin içeriğine sahip Papaz karası üzümü seçilmiştir (Artık, 2006). Prosiyanidine zengin olan ve ülkemizde yaygın olarak bulunan Kasia türü tarçın (*Cinnamomum*) kullanılmıştır. Saponince zengin gıda için nohutun Türkiye’de üretilen ve en çok tercih edilen türü olan Kabuli tipi Koçbaşı nohut (*Cicer arietinum L.*), demir dikenini (*Tribulus terrestris*) kullanılmıştır. Ayrıca çalışmada karnosik asitçe zengin olan adaçayı olarak da Anadolu Adaçayı (*Salvia fruticosa Mill.*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis L.*) kullanılmıştır. Örnekler analize kadar uygun şekilde depolanmıştır.

Gıda örneklerinden elma, siyah üzüm, tarçın ve biberiye tüketildikleri gibi, bir işlem yapılmadan çalışmaya alınmıştır. Demir dikenini ve adaçayınının 10 g kurutulmuş bitki yaprakları 250 ml kaynamış suya atılmış ve 10 dakika demleme süresi sonunda süzölen kısmı kullanılmıştır. Nohut, 25°C sıcaklıkta, 10 saat, ağırlığının 3 katı saf suda tavlandıktan sonra, suyu ile birlikte basınçlı tencerede 15 dakika haşlanmıştır.

### 3.2. Analizler

Yapılan analizler ve bu amaçla kullanılan yöntemler aşağıda verilmiştir. Tüm analizler 3 tekrar ve 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2.1. Toplam antosiyanin tayini

Toplam monomerik antosiyaninlerin miktarını belirlemek için pH-diferansiyel metot olarak adlandırılan kolorimetrik yöntem kullanılmıştır (Çam et al., 2009; Diamanti, 2010). Yöntemin ilkesi, monomerik antosiyaninlerin pH1.0’de renkli oksonium formunun, pH 4.5’te ise renksiz hemiketal formunun egemen olmasına dayanmaktadır (Özkan vd., 2007).

Ekstraksiyon işlemi modifiye edilerek uygulanmıştır. Öncelikle ekstraksiyon amacıyla 0.5 g örnek tartılmış ve üzerine 10 mL %1 formik asit

içeren metanol eklenmiştir. Bu karışım ultrasonik homojenizatörde %50 amplitude'da 2 dk homojenize edilmiş ve 40 saniye sonikasyon işlemi uygulanmıştır. Daha sonra 4°C'de 10000 x g'de 10 dak santrifüjlenmiş ve sıvı kısım başka bir tüpe aktarılmıştır. Kalan çökeltiye tekrar 10 mL ekstraksiyon solventi ilave edilmiş, 5 dakika vorteks yapıldıktan sonra aynı şekilde santrifüj işlemi uygulanmış ve santrifüj sonrasında elde edilen sıvı kısım alınarak ilk elde edilen sıvı kısım ile birleştirilmiştir.

Toplam monomerik antosiyaninler pH diferansiyel yöntemiyle saptanmıştır. Örnekler (0.4 mL) iki test tüpüne alınmış ve bir tanesine 3.6 mL 0.025 M KCl tampon çözeltisi (pH 1.0) diğerine ise 3.6 mL 0.4 M sodyum asetat tampon çözeltisi (pH 4.5) eklenmiştir. Sırasıyla 510 nm'de ve 700 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Düzeltilmiş absorbans değeri (A) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Toplam monomerik antosiyanin absorbans değeri

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{510} - A_{700})_{pH4.5}$$

Toplam antosiyanin absorbans değeri

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1.0}$$

Toplam antosiyanin miktarı (AS) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$AS \text{ (mg/L)} = (A) (MA) (S) 1000 / (\epsilon) \iota$$

A: Düzeltilmiş absorbans değeri, MA: Siyanidin-3-glikozitin molekül ağırlığı (449.2), S: seyreltme katsayısı,  $\epsilon$ : Molar absorptivite (26900),  $\iota$ : Spektrofotometrede kuvvet katman kalınlığı

Örneklerin antosiyanin içeriği mg siyanidin-3-glikozit/100 g veya mg siyanidin-3-glikozit/100 mL olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.2. Toplam prosiyanidin tayini

Toplam prosiyanidin tayini Wallace (2010)'ın çalışmasında kullandığı yönteme göre yapılmıştır. 0.1 g örnek üzerine 7 mL 70:29.5:0.5 Aseton / su / asetik asit karışımı ilave edilmiştir ve 2 dakika vortekste karıştırılmıştır. Daha sonra 5 dakika ultrasonik homojenizatörde homojenize edilmiş ve tekrar 2 dakika vortekste karıştırılmıştır. 3250 xg'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve s pernetant alınmıştır. 20  L örnek/standart, 2380  L metanol ve 100  L hazırlanmış DMAC  z ltisi (4-dimethylaminocinnamaldehyde) (metanolde 1:1 (v/v) 6N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve % 2 DMAC (w/v)) ile küvetler hazırlanmış ve 15 dakika beklenmiştir. 640 nm'de absorpsanlar okunmuştur. Toplam prosiyanidin içeriği kateşin cinsinden hesaplanmıştır. Örneklerin prosiyanidin içeriği kalibrasyon grafiği kullanılarak hesaplanmıştır.

### 3.2.3. Toplam saponin tayini

Toplam saponin içeriğini belirlemek için standart olarak diosgenin kullanılan spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır (Wu et al., 2010). Örnekler %6 su içeriğine kadar 50 C'de kurutulmuş ve  ğ t lerek elekten (0.8 mm mesh) ge irilmifitir. 60-90 C'de petrolyum eter ile ultrasonik olarak 1 saat muamele edilmiştir. 5 mL metanol ile 10000 rpm'de homojenize edilmiş, 5200 x g'de 10 dak santrifüj uygulanarak 2 kez ekstrakte edilmiştir. 60 C sıcak su ile kurutulmuş ve 4 kez 5 mL n-bütanol doymuş su (40:4) ile 5200 x g'de 10 dak santrifüj uygulanarak ekstrakte edilmiştir. Daha sonra evapore edilmiş ve metanolde üzülerek spektrofotometrede 408 nm dalga boyunda toplam saponin içeriği belirlenmiştir. Örneklerin saponin içeriği kalibrasyon grafiği kullanılarak hesaplanmıştır.

### 3.2.4. Karnosik asit tayini

Karnosik asit miktarını belirlemek için Yan et al. (2009)  alışmasında kullandıkları yöntem uygulanmıştır. Örnekler 60 sn vortekste karıştırılmış ve 100  L 2.5 mol/L hidroklorik asit eklenmiş 120 s vorteks edilmiştir. Karışım 4 mL n-hekzan–isopropil alkol (9:1, v/v) ile 5 dakika karıştırılmış, 0 C'de 6000 rpm'de

10 dakika santrifüj edilmiştir. Oda sıcaklığında azot altında kuruyana kadar evapore edilmiştir. 200 µL metanol–fosforik asit (95:5, v/v) ile yeniden çözülmüştür. HPLC analizinden önce filtre (0.22 µm) edilmiştir. Karnosik asit stok çözeltisi metanol–fosforik asit (95:5, v/v) ile 530.0 µg/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır ve kullanılabildiği kadar 4°C’de saklanmıştır. Analiz Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC) Agilent Technologies 1200 series HPLC cihazında gerçekleştirilmiştir. Kromatografik koşullar şu şekildedir: Kolon: Agilent PLRP-S kolon (300 A, 8µm, 150x4.6 mm), Mobil Faz: asetonitril – % 0.1 fosforik asit çözeltisi (55:45, v/v), Akış hızı: 1.0 mL/min, Sıcaklık: 25°C., Dedektör: UV dedektör (Diode Array),  $\lambda = 210$  nm.

### 3.2.5. *In vitro* sindirim analizi

Biyoyararlanabilirliği tespit edebilmek için örneklere Minekus et al. (2014) metodu kullanılarak *in vitro* sindirim uygulaması yapılmıştır. Yöntem, simule sindirim sıvılarının ve sindirim enzimlerinin kullanımıyla uygulanan statik bir *in vitro* sindirim metodudur.

Taklit edilmiş mide / ince bağırsak sindirim modelleri, güvenli, hızlı ve *in vivo* yöntemler gibi etik kısıtlamalara sahip olmaması sebebiyle günümüzde yoğun olarak kullanılmaktadır. *In vitro* yöntemlerde sindirim ve emilim süreçleri (biyoyararlanım için) ya da yalnızca sindirim süreci (biyoyararlanabilirlik) taklit edilir ve ölçülen tepki son ekstredeki biyolojik olarak aktif bileşiğin veya besin öğesinin konsantrasyonudur (Prada and Aguilera, 2007).

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

sağlamak üzere 0.3 mol/L  $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$  hazırlanmıştır. Ayrıca 2000 U/mL aktivite olacak şekilde pepsin stok çözeltisi hazırlanmış ve 100 U/mL tripsin aktivitesine ulaşmak için SIF ile hazırlanan ile pankreatin çözeltisine son aktivite 2000 U/mL olacak şekilde pankreatik lipaz ilave edilmiştir.

Örneklerin (5 g katı gıda/ 5 mL sıvı gıda) üzerine 4 mL SSF, 25  $\mu\text{L}$  0.3 M  $\text{CaCl}_2$  ve 975  $\mu\text{L}$  ultrasaf su eklenerek 150 rpm, 37°C'de 2 dakika, çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılarak sindirim işleminin ağız aşaması tamamlanmıştır.

Sürenin sonunda vakit kaybetmeksizin 8 mL SGF ve 5  $\mu\text{L}$   $\text{CaCl}_2$  eklenerek 3M HCl ile pH 3'e ayarlanmış ve bu işlem için harcanan HCl miktarı kaydedilmiştir. Daha sonra 1 mL pepsin ilave edilmiş, son hacim 20 mL olacak şekilde, eklenen HCl de göz önünde bulundurularak bir hesaplama yapıldıktan sonra eksik olan kısım ultrasaf su ile tamamlanıp 150 rpm, 37°C'de 2 saat boyunca sürecek olan inkübasyon başlatılmıştır.

2 saatin sonunda 11 mL SIF ilave edilip 1 M NaOH kullanılarak pH 7'ye ayarlanmıştır. Sonra 5 mL pankreatin, 2.5 mL safra (160 mM) ve 40  $\mu\text{L}$   $\text{CaCl}_2$  eklenip Toplam hacim bu defa 40 mL olacak şekilde, harcanan NaOH miktarı da göz önünde bulundurularak eksik kısım ultrasaf su ile tamamlanmış ve 150 rpm, 37°C'de 2 saat daha inkübasyona bırakılmıştır.

Tüm sindirim süresinin sonunda, ortama 8  $\mu\text{L}$  of 500 mM Pefabloc enzim inhibitörü eklenerek reaksiyonlar durdurulmuş ve örnekler vakit kaybetmeksizin -18°C'de azot altında dondurulmuştur.

Sindirim işleminin sonunda elde edilen sıvı öncelikle 1000xg'de santrifüjlenerek sindirime uğramamış katı kısım uzaklaştırılmıştır. Daha sonra kalan sıvı kısım, 0.45  $\mu\text{m}$  selüloz asetat filtreden geçirilerek filtre altında kalan kısım biyoerişilebilir materyal olarak kabul edilmiştir (Courraud et al., 2013).

*İn vitro* sindirim sonrası örnekteki biyoaktif bileşiğin miktarının, sindirim öncesinde örnekte bulunan biyoaktif bileşiğin (kontrol) miktarına oranı o

biyoaktif bileşenin biyoerişebilirliği olarak değerlendirilmiştir. Biyoerişilebilir kısmın saptanması için, aşağıda verilen formül kullanılmıştır.

$$\% \text{ Biyoerişebilirlik} = ( S / K ) \times 100$$

$S = \text{In vitro}$  sindirilmiş örnekteki miktarı

$K = \text{Sindirim öncesinde örnekteki miktarı}$

### 3.2.6. Enzim inhibisyon analizleri

Enzim inhibisyon analizlerine alınacak örnek ekstraktlarının hazırlanması amacıyla 0.5-5 g aralığında örnek tartılmış ve 10 mL fosfat tamponu (50 mM, pH 6.9, 6.85 mM NaCl içeren) eklendikten sonra 1.5 dakika 3000/dak devirde vortekslenmiştir. Sonrasında, 1 dakika 107 W ultrasonik prob uygulaması yapılan örnekler, 8500xg'de 15 dak santrifüjlenmiştir. Üst faz mavi bant filtre kağıdından süzülerek alınmıştır. Katı faza aynı işlem tekrar uygulanmış ve üst fazlar birleştirilerek analize alınmıştır. Ekstraktlar fosfat tamponu ile seyreltilerek farklı konsantrasyonlarda örnekler elde edilmiştir.

Elde edilen farklı konsantrasyondaki ekstraktlara aşağıda belirtilen  $\alpha$ -glukozidaz,  $\alpha$ -amilaz, lipaz enzim inhibisyon analizleri uygulandıktan sonra enzim inhibisyon yüzdeleri aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Analiz 3 kez tekrar edilmiş, ortalama değerler ile inhibitör konsantrasyonuna karşı enzim inhibisyon yüzdesi grafikleri elde edilmiştir. Reaksiyonun başlangıç hızını %50 inhibe etmek için gerekli olan inhibitör konsantrasyonu olarak tanımlanan  $IC_{50}$  değerleri, reaksiyon ortamı konsantrasyonunun logaritmasına karşı % inhibisyon kullanılarak GraphPad Prism programı ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrolkörü}}) - (A_{\text{örnek}} - A_{\text{örnekkörü}})] / (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{kontrolkörü}}) \times 100$$

$A_{\text{kontrol}}$ ,  $A_{\text{kontrolkörü}}$ ,  $A_{\text{örnek}}$  ve  $A_{\text{örnekkörü}}$  sırasıyla aktif enzim ve tampon içeren reaksiyon karışımı, aktif olmayan enzim ve tampon içeren reaksiyon karışımı, aktif enzim ve örnek içeren reaksiyon karışımı ve aktif olmayan enzim ve örnek

içeren reaksiyon karışımının absorbansını tanımlamaktadır. Tüm karışımlar substrat içermektedir.

Tüketimden önce örneklerin enzim inhibisyonunun değerlendirilmesine ek olarak, enzim inhibisyon analizleri 1 mg/mL konsantrasyondaki örneklerin *in vitro* mide sindiriminden sonra da yapılmıştır. Çünkü örneklerin inhibisyon etkilerinin  $\alpha$ -glukozidaz,  $\alpha$ -amilaz, lipaz enzimleriyle karşılaşacağı bağırsak ortamından önce *in vitro* mide sindirimi sonuna kadar nasıl etkileneceğini saptamak amaçlanmıştır.

Kateşin standardının, saponin standardı diosgeninin ve karnosik asit standardının enzim inhibisyon yüzdeleri saptanmış ve gıda örnekleri ile karşılaştırılmıştır.

Elma, üzüm ve tarçın örneklerinin 1 mg/mL konsantrasyondaki prosiyanidin içerikleri sırasıyla kateşin eş değeri olarak 1.47, 0.86 ve 64.32  $\mu\text{g/mL}$  bulunmuştur. Bu yüzden, kateşin standardının 0.86, 1.47 and 64.32  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarda enzim inhibisyonları saptanmıştır.

Demirdikeni ve nohut örneklerinin 1 mg/mL konsantrasyondaki saponin içerikleri sırasıyla 13.16 ve 24.08  $\mu\text{g/mL}$  bulunmuştur. Bu yüzden, saponin standardı diosgeninin 13.16 ve 24.08  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarda enzim inhibisyonları saptanmıştır.

Adaçayı ve biberiye örneklerinin 1 mg/mL konsantrasyondaki karnosik asit içerikleri sırasıyla 3.76 ve 18.72  $\mu\text{g/mL}$  bulunmuştur. Bu yüzden, karnosik asit standardının 3.76 ve 18.72  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarda enzim inhibisyonları saptanmıştır.

Ayrıca ilk defa bizim tarafımızdan geliştirilen aşağıdaki formül ile gıda örneklerinin eşdeğer inhibisyon kapasiteleri (EIC) hesaplanmıştır.

$$\text{EIC} = \frac{\text{Örnek inhibisyon grafiğinin eğimi}}{\text{(Standart inhibisyon grafiğinin eğimi} \times \text{örnek hacmi )}}$$



Örnek inhibisyon grafiğinin eğimi = % inhibisyon / mg/mL

Standart inhibisyon grafiğinin eğimi = % inhibisyon /  $\mu$ M

Örnek hacmi = mL

% 50 Eşdeğer inhibisyon kapasiteleri örneklerin ve standardın konsantrasyona karşı inhibisyon grafiklerinin % 50 inhibisyondaki eğimlerinin oranlanmasıyla hesaplanmış, "mM standart / g örnek" olarak ifade edilmiştir. Antosiyanin ve prosiyanidince zengin örnekler olan elma, üzüm ve tarçın için kateşin eşdeğer inhibisyon kapasiteleri (CEIC<sub>50</sub>), saponince zengin örnekler olan nohut ve demirdikenini için diosgenin eşdeğer inhibisyon kapasitesileri (DEIC<sub>50</sub>), karnosik asitçe zengin örnekler olan adaçayı ve biberiye için karnosik asit eşdeğer inhibisyon kapasitesileri (CAEIC<sub>50</sub>) hesaplanmıştır. IC<sub>50</sub> değerinin küçük olması daha yüksek inhibisyon etki anlamına gelirken, eşdeğer inhibisyon kapasite değerlerinde ise büyük değerler daha yüksek inhibisyon etki anlamına gelmektedir.

### **3.2.6.1. $\alpha$ -Glukozidaz enzim inhibisyonu**

Örneklerin  $\alpha$ -glukozidaz inhibisyon aktivitesi Koh et al. (2010) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Yöntem substrat olarak kullanılan 4-nitrofenil  $\alpha$ -D-glikopiranozidin,  $\alpha$ -glukozidaz enzimi ile parçalanması sonucunda açığa çıkan indik特ör özellikteki p-nitrofenolün verdiği sarı rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Özellikle demir ve diğer metallerle p-nitrofenol arasında oluşacak interaksiyonu önlemek amacıyla analiz ortamına 0.1 M EDTA çözeltisi eklenerek yöntem modifiye edilmiştir. Reaksiyon substratı PNPG (4-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glikopiranozid) (30 mM) distile suda ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim (25 mg/mL) çözeltileri fosfat tamponunda hazırlanmıştır. Enzim çözeltisinin hazırlanması için  $\alpha$ -glukozidaz çözeltisi buz banyosunda 10 dakika karıştırılmış ve 4°C'de 10000 x g'de 30 dakika santrifüjlenerek, üst faz alınmıştır. Hazırlanan enzimin bir kısmı 100°C'de 10 dakika ısıl işlem uygulanarak inaktive edilmiştir. Aktif ve inaktif enzimlerle, fosfat tamponu ve örnek içerecek dört farklı kombinasyon oluşturulacak şekilde test tüpleri

hazırlanmıştır.

Farklı konsantrasyonlardaki inhibitör (340  $\mu\text{L}$ ) ve 20  $\mu\text{L}$   $\alpha$ -glukozidaz çözeltisi tüplere konmuş ve 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 40  $\mu\text{L}$  PNPG çözeltisi eklenmiştir. 15 dakika inkübasyondan sonra 10  $\mu\text{L}$  0.1 M EDTA çözeltisi ve daha sonra reaksiyonu durdurmak için 190  $\mu\text{L}$  1 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  eklenmiştir. Her tüpten 200  $\mu\text{L}$  alınarak mikropiplanın kuyucuklarına konmuş ve 400 nm'de absorbans (Thermo Scientific Varioskan Flash, Finland) okunmuştur. Kontrol olarak örnek (inhibitör) yerine fosfat tamponu eklenerek hazırlanmıştır. Deney hem aktif enzim ile hem de 100°C'de 10 dak ısısal işlem uygulanmış enzim ile gerçekleştirilmiştir.  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon yüzdesi hesaplanmış ve örnek konsantrasyonlarının logaritmalarına karşı % inhibisyon değerlerinin grafikleri GraphPad Prism programında çizdirilerek  $\text{IC}_{50}$  değerleri elde edilmiştir.

### **3.2.6.2. $\alpha$ -Amilaz enzim inhibisyonu**

$\alpha$ -Amilaz inhibisyon aktivitesini saptamak için Koh et al. (2010) ve Yang et al. (2012) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır.  $\alpha$ -Amilaz enzimi (104 U/mg toz enzim) fosfat tamponu ile hazırlanmış ve enzimin bir kısmı 100°C'de 10 dakika ısısal işlem uygulanarak inaktive edilmiştir. Analiz için dört farklı test tüpü hazırlanmıştır. Bu tüplerden ilki fosfat tamponu ve aktif enzim (Kontrol), ikincisi fosfat tamponu ve inaktif enzim (Kontrol-Kör), üçüncüsü örnek ve aktif enzim (Örnek) ve sonuncusu da örnek ve inaktif enzim (Örnek-Kör) içermiştir.

Farklı konsantrasyonlardaki 820  $\mu\text{L}$  örnek tüplere alınmış üzerlerine  $\alpha$ -amilaz enzimi ve inaktif enzim (100  $\mu\text{L}$ ) eklenerek su banyosunda 37°C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. 80  $\mu\text{L}$  fosfat tamponunda hazırlanmış patates nişastası çözeltisi (%1) eklenmiş ve karışımlar su banyosunda 37°C'de 12 dak inkübe edilmiştir. Reaksiyonu durdurmak için 500  $\mu\text{L}$  HCl (%10) ve daha sonra ortamdaki nişasta miktarını tespit etmek için 150  $\mu\text{L}$  iyot çözeltisi (0.0025 M  $\text{I}_2$ /0.0065 M KI) ve 500  $\mu\text{L}$  distile su eklenmiştir. Her tüpten 200  $\mu\text{L}$  alınarak mikropiplanın kuyucuklarına konmuş ve 620 nm'de absorbans (Thermo Scientific Varioskan Flash, Finland) ölçümü yapılmıştır. Kontrol örnek (inhibitör) yerine

fosfat tamponu eklenerek hazırlanmıştır. Deney hem aktif enzim ile hem de 100°C'de 10 dak ısısal işlem uygulanmış  $\alpha$ -amilaz (aktif olmayan enzim) ile gerçekleştirilmiştir.  $\alpha$ -Amilaz inhibisyon yüzdeleri hesaplanmıştır.  $IC_{50}$  değeri için, reaksiyon ortamı konsantrasyonunun (mg örnek/mL reaksiyon ortamı) logaritmasına karşı % inhibisyon olarak GraphPad Prism programı ile grafik çizilmiş,  $IC_{50}$  değerleri elde edilmiştir.

### **3.2.6.3. Pankreatik lipaz aktivitesinin inhibisyonu**

Pankreatik lipaz aktivitesi, substrat olarak 4-Metilumbelliferil oleat (4MUO) kullanılarak ölçülmüştür (Sugiyama et al., 2007). 25 mikrolitre örnek suda çözülmüş ve 25  $\mu$ L pankreatik lipaz çözeltisi (1 mg/mL) karıştırılmıştır. 50  $\mu$ L 4MUO çözeltisi (0.1 mM) Dulbecco'nun fosfat tuz tamponunda çözülmüş ve enzim reaksiyonu başlatılmıştır. 23°C'de 20 dakika inkübasyon sonrası, 100  $\mu$ L 0.1 M sodyum sitrat eklenerek reaksiyon durdurulmuştur. Floresans mikrolaka okuyucu kullanılarak lipaz ile açığa çıkan 4-metilumbelliferon ölçülmüştür (uyarma dalga boyu 320 nm, emisyon dalga boyu 450 nm). Lipaz enzim inhibisyon yüzdeleri hesaplanmıştır. Örneklerin %50 inhibisyon konsantrasyonları ( $IC_{50}$ ) hesaplanmıştır.

### **3.2.7. İstatistiksel analiz**

Tüm analizler 3 tekrar 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler Microsoft Excel çalışma sayfasında hesaplanmış ve Minitab 17.0 istatistik software kullanılarak değerlendirilmiştir. İki'den fazla sayıdaki örneklerin karşılaştırılmaları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi kullanarak, iki örneğin karşılaştırması ise t-test kullanılarak yapılmıştır.  $p < 0.05$  ise istatistiksel olarak önemli farklılık kabul edilmiştir.

Ayrıca Euclidean uzaklığına dayalı sınıflama yöntemi kullanılmıştır. Euclidean uzaklık formülü sınıflama yöntemlerinde en yaygın kullanılan formüldür (Demiralay ve Çamurcu, 2005). Hesaplanan Euclidean uzaklık değerleriyle gıda örneklerinin  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri için  $IC_{50}$  değerlerine göre yüzde benzerlikleri hesaplanmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Antosiyanin ve Prosiyanidince Zengin Örnekler

Elma (Amasya), üzüm (Papaz karası) ve tarçın (Kasia türü) örneklerinin antosiyanin ve prosiyanidin içerikleri ile biyoerişebilirlik değerleri saptanmıştır. Gıda örneklerinin (elma, üzüm, tarçın)  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerinde inhibe edici etkileri  $IC_{50}$  değerleri ile değerlendirilmiş, 1 mg/mL konsantrasyondaki gıda örneklerinin *in vitro* sindirim öncesi ve *in vitro* mide sindirimi sonrası enzim inhibisyon yüzdeleri saptanmıştır. Kateşin standardının  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzim inhibisyon yüzdeleri belirlenmiş ve gıda örneklerinin kateşin cinsinden inhibisyon kapasiteleri ( $CEIC_{50}$ ) saptanmıştır.

#### 4.1.1. Antosiyanin içerikleri ve biyoerişebilirlik değerleri

Antosiyaninler bitki fizyolojisindeki önemli işlevlerinin yanı sıra, sağlık üzerine yararlı etkilere sahip birçok bitkinin meyve, çiçek ve yaprak gibi kısımlarının mavi, mor ve kırmızı renginden sorumlu olan polifenolik bileşiklerin flavonoid grubuna ait suda çözünen bitkisel pigmentlerdir (Wu et al., 2006; McDougall et al., 2005a). Antosiyaninlerin antioksidan özelliklerinin yanı sıra kanser hücrelerinin büyümesinin *in vitro* olarak inhibisyonu, merkezi sinir sisteminin korunması amacıyla inflamatuvar yanıtların baskılanması, izole edilmiş pankreas hücrelerinde insülin üretiminin indüklenmesi,  $\alpha$ -glukosidaz aktivitesinin inhibisyonu yoluyla nişasta sindirimini kısıtlanması gibi sağlık üzerine yararları da belirtilmektedir (McDougall et al., 2005a).

Çalışmamızda elma, üzüm ve tarçın örneklerinin toplam antosiyanin içerikleri pH-diferansiyel metot olarak adlandırılan kolorimetrik yöntem kullanılarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.1'de elma (Amasya), üzüm (Papaz karası) ve tarçının (Kasia türü) toplam antosiyanin içerikleri, *in vitro* sindirimden sonra elde edilen antosiyanin içerikleri ve antosiyanin biyoerişebilirlik değerleri verilmiştir. Üzümün toplam antosiyanin içeriği ( $164.76 \pm 2.51$  mg/100 g), elma ( $24.19 \pm 0.89$  mg/100 g) ve tarçın ( $19.15 \pm 0.40$  mg/100 g) örneklerinden yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

**Çizelge 4.1.** Örneklerin toplam antosiyanin içeriği ve biyoerişebilirlik değerleri (ortalama değer  $\pm$  standart sapma)

Örnekler	Toplam antosiyanin içeriği (mg/100 g)	<i>In vitro</i> sindirim sonrası içeriği (mg/100 g)	Biyoerişebilirlik (%)
Elma	24.19 $\pm$ 0.89 <sup>B,a</sup>	2.48 $\pm$ 0.28 <sup>B,b</sup>	10.23 $\pm$ 1 <sup>A</sup>
Üzüm	164.76 $\pm$ 2.51 <sup>A,a</sup>	13.55 $\pm$ 0.98 <sup>A,b</sup>	8.23 $\pm$ 0.64 <sup>B</sup>
Tarçın	19.15 $\pm$ 0.40 <sup>C,a</sup>	1.67 $\pm$ 0.12 <sup>B,b</sup>	8.73 $\pm$ 0.70 <sup>B</sup>

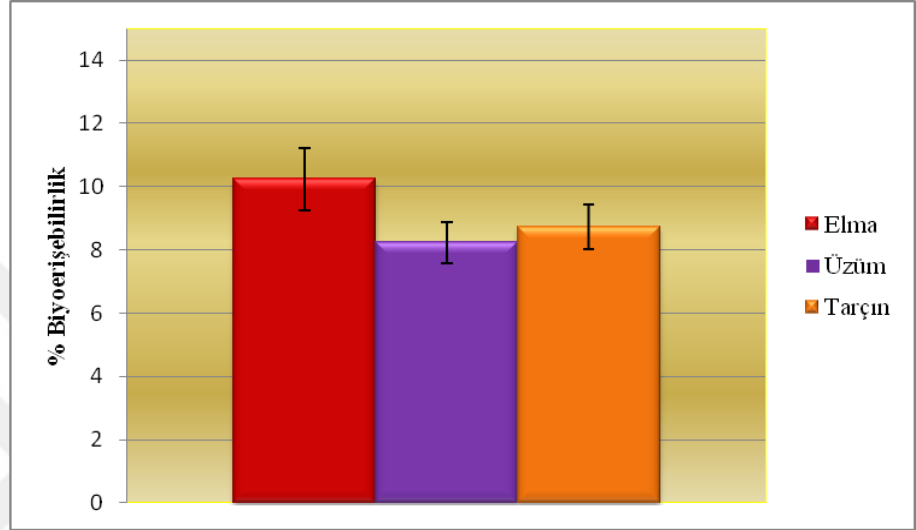
Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). (n = 6)

Wu et al. (2006) elmaların toplam antosiyanin içeriğinin Fuji, Gala, Red Delicious türleri için sırasıyla 1.3 $\pm$ 0.7, 2.3 $\pm$ 0.8 and 12.3 $\pm$ 1.9 mg/100 g olduğunu belirtmişlerdir.

Wu et al. (2006) çalışmalarında kırmızı üzüm ve concord üzümdeki toplam antosiyanin içeriğini sırasıyla 26.7 $\pm$ 10.9, 120.1 mg/100 g olarak bulduklarını ifade etmişlerdir. Galet (1993) çalışmasında 23 farklı şaraplık üzüm çeşidinde antosiyanin miktarının, çeşite ve yıllara göre değişmekle beraber, 42 - 4893 mg/kg arasında olduğunu ve Cabernet sauvignon'un 233.9 mg/100g, Tempranillo'nun 149.3 mg/100g ve Pinot noir'ın 54.3 mg/100g antosiyanin içerdiklerini bildirmiştir. Mazza (1995) bazı üzüm çeşitlerinde toplam antosiyanin içeriğinin türe göre yaklaşık 30 - 750 mg/100g arasında değiştiğini belirtmiştir.

Bu çalışmada elma ve üzüm örneklerindeki antosiyanin biyoerişebilirliği *in vitro* yöntem ile tespit edilmiştir. Taklit edilmiş mide / ince bağırsak sindirim modelleri günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır, çünkü güvenli ve hızlı yöntemlerdir, ayrıca *in vivo* yöntemlerin sahip olduğu etik kısıtlamaları yoktur. *In vitro* yöntemler sindirim ve emilim süreçleri (biyoyararlılık için) ya da yalnızca sindirim sürecini (biyoerişebilirlik) taklit eder ve ölçülen tepki son ekstrakttaki besin ögesinin ve diğer biyoaktif gıda bileşenlerinin konsantrasyonudur (Prada ve Aguilera, 2007).

Çalışmamızda örneklere *in vitro* sindirim işlemi uygulanmasının ardından tekrar edilen toplam antosiyanin analizi ile miktarın sindirim öncesine göre önemli düşüşler gösterdiği bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Antosiyanin biyoerişebilirlik değerleri elma, üzüm ve tarçın örnekleri için sırasıyla %  $10.23 \pm 1$ , %  $8.23 \pm 0.64$  ve %  $8.73 \pm 0.70$  bulunmuştur (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Örneklerin antosiyanin biyoerişebilirliği

Antosiyaninlerin emilimi midede başlar ve kolonda devam eder. Midede emilen antosiyaninlerin kan akışında hızla ortaya çıkması beklenmektedir. Antosiyaninler büyük ölçüde bağırsakta emilirler, özellikle ince bağırsak antosiyaninlerin maksimum stabilite sağlamak için gerekli olan pH (~ 1.0 - 3.0)'dan çok daha yüksek bir pH (7.0)'a sahiptir. Antosiyaninler tam olarak (glikozile ve / veya asile edilmiş) ya da serbest aglikonlar olarak emilebilir. Endojenik  $\alpha$ -glukozidazlar daha küçük ve daha hidrofobik olan aglikondan şeker molekülünü ayırma prosesine katılmaktadır. Bu antosiyaninlerin pasif difüzyona daha eğilimli olmalarını sağlar. Emilen antosiyaninlerin yaklaşık % 75-78'i bağırsak dokusundan yukarı alınır. Emilmeyen antosiyaninler bağırsak boyunca hareket eder. Bağırsak mikroflorası, glikosidik bağları parçalama ve büyük miktarda antosiyaninin daha küçük fenolik asitlere parçalanmasından sorumludur. Emilim ile ilgili olarak kalın bağırsak ince bağırsaktan daha az etkindir (He et al., 2009; Wallace, 2010). Emilen antosiyaninler bağırsakta enterosit, karaciğer ve

böbrekte glukuronidasyon, sülfasyon, metilasyona sıklıkla maruz kalırlar. Şeker kısımlarının türü, asilleme, gıda matrisi gibi birçok faktör antosiyaninlerin emilimini etkiler. *In vivo* çalışmalarda, antosiyaninlerin emiliminin çok düşük olduğu ve % 0.02 - 0.2 arasında değiştiği bildirilmiştir (Wallace, 2010). Lapidot et al. (1998) kırmızı şaraptan alınan antosiyaninlerin, insanda potansiyel biyoyararlılığının belirlenmesini amaçlamışlar, şarap içimini takiben 12 saat içinde idrarda, tüketilen antosiyaninlerin % 1.5 - 5.1'inin bulunduğunu belirtmişlerdir.

Antosiyaninlerin, üst gastrointestinal sistem koşullarını taklit eden *in vitro* koşullarda kararsız olduğu belirtilmiştir. pH farklılıklarına maruz kalma, oksijen ve ısıtma serum fraksiyonuna ulaşılabilir antosiyanini büyük oranda azaltmada neden teşkil eder (McDougall et al., 2005a).

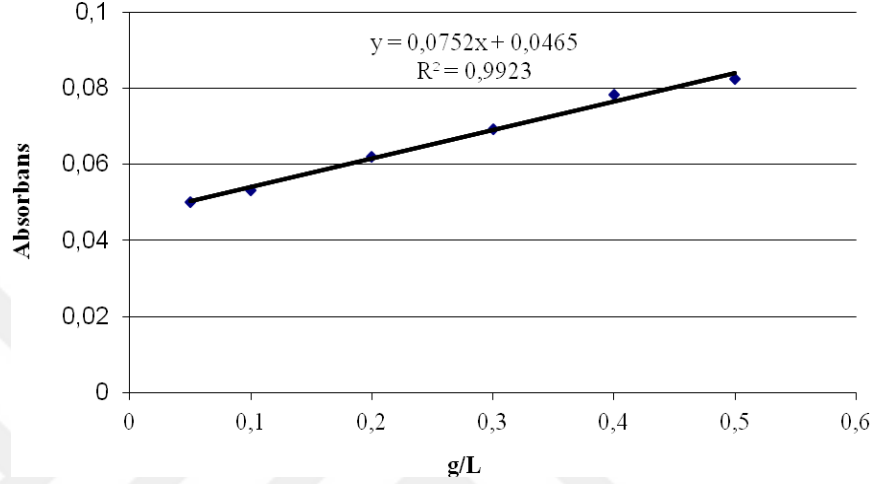
#### 4.1.2. Prosiyanidin içerikleri ve biyoerişebilirlik değerleri

Proantosiyandinin varlığı tahıl, meyve, sebze ve şarap da dahil olmak üzere birçok gıdada doku, renk ve tadı etkiler (Beecher, 2004; Prior and Gu, 2005; Santos-Buelga and Scalbert, 2000). Gıdalardaki proantosiyandininler güçlü antioksidan aktivitesi ve kalp-damar hastalıkları ve kanserler gibi kronik hastalıkların riskini azaltmada insan sağlığı üzerindeki olası koruyucu etkileri nedeniyle de beslenme ve ilaç sanayiinde ilgi çekmektedir (Prior and Gu, 2005; Santos-Buelga and Scalbert, 2000). Kondense taninler olarak adlandırılan proantosiyandininler, spesifik tek (B bağlantıları) ve çift (A bağlantıları) bağlar aracılığıyla birleştirilmiş olan monomerik flavanlardan oluşan oligomerler ve polimerleridir. Bu ikincil bitki metabolitleri önemli antioksidan aktiviteye sahiptir. Kırmızı üzüm, şarap, tohumlar, pişirilmiş çikolata, tarçın ve Ginkgo biloba gibi bazı gıdalar ve gıda takviyelerinde yaygın olarak bulunurlar (Beecher, 2004).

Proantosiyandininler monomerik flavan-3-ol ün A ve B-halkasında hidroksilasyona dayanarak en az 15 alt gruba ayrılabilir. Alt grupları olan prosiyanidin, prodelfinidin ve propelargonidin insan tüketimi açısından en çok öneme sahip gruplardır. Diğer 12 alt grup çoğunlukla gıda dışı kaynaklarda tespit edilmiştir. Özellikle (epi)kateşin ünitelerinden oluşan homojen bir grup olan

prosiyanidin, gıdalarda en bol bulunan alt gruptur (Appeldoorn, 2009).

Çalışmamızda elma, üzüm ve tarçın örneklerinin toplam prosiyanidin içerikleri spektrofotometrik yöntemle kalibrasyon grafiği kullanılarak kateşin cinsinden hesaplanmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Prosiyanidin kalibrasyon grafiği

Çalışmamızda belirlenen örneklerinin prosiyanidin içerikleri Çizelge 4.2'de verilmiştir. Tarçının prosiyanidin içeriği ( $6432.54 \pm 177.31$  mg/100g), elma ve üzümünden ( $147.21 \pm 3.88$ ,  $86.04 \pm 2.53$  mg/100g) yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Çizelge 4.2. Örneklerin prosiyanidin içeriği ve biyoerişebilirlik değerleri (ortalama değer  $\pm$  standart sapma)

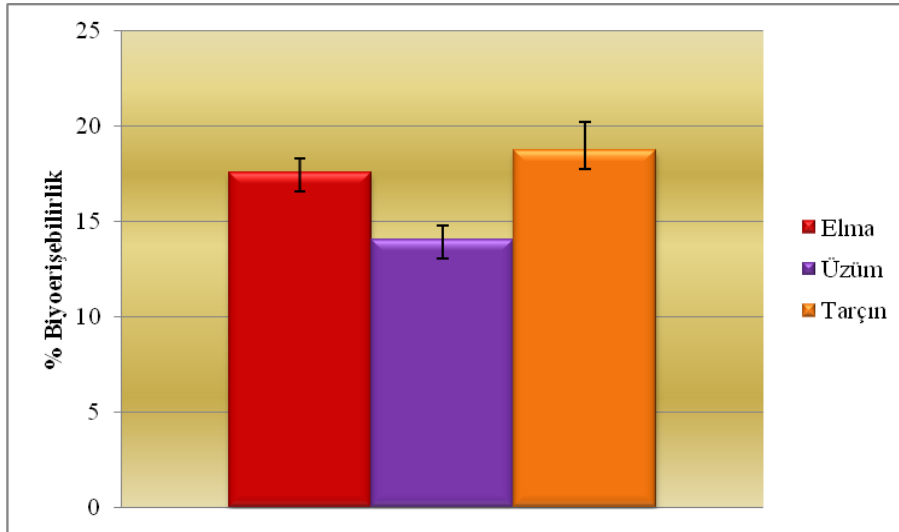
Örnekler	Prosiyanidin içeriği (mg/100 g)	<i>In vitro</i> sindirim sonrası içeriği (mg/100 g)	Biyoerişebilirlik (%)
Elma	$147.21 \pm 3.88^{B,a}$	$25.85 \pm 0.71^{B,b}$	$17.57 \pm 0.71^A$
Üzüm	$86.04 \pm 2.53^{B,a}$	$12.10 \pm 0.58^{B,b}$	$14.08 \pm 0.74^B$
Tarçın	$6432.54 \pm 177.31^{A,a}$	$1206.95 \pm 113.14^{A,b}$	$18.75 \pm 1.49^A$

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). (n = 6)



Gu et al. (2004) elmalarda bulunan prosiyanidin içeriğini red delicious, golden delicious, granny smith, gala and fuji türleri için sırasıyla  $125.8 \pm 6.8$ ,  $91.1 \pm 4.7$ ,  $141.0 \pm 26.1$ ,  $92.4 \pm 8.4$ ,  $69.6 \pm 15.8$  mg/100 g olarak ifade etmişlerdir. Nemzer et al. (2013) ise Granny Smith, Red Delicious, Gala, Golden Delicious, Fuji, Reinette türü elmaların sırasıyla 131.01, 127.79, 92.42, 83.01, 65.59, 42.88 mg/100 g prosiyanidin içerdiğini belirtmişlerdir. Bir başka çalışmada da elma çeşitlerine göre prosiyanidin içeriğinin değiştiği, porsiyon başına Red Delicious (207.7 mg) ve Granny Smith (183.3 mg) türü elmaların McIntosh (105 mg) ve Golden Delicious (92.5 mg) türü elmalardan daha yüksek oranda prosiyanidin içerdiği belirtilmiştir (Hammerstone et al., 2000). Gu et al. (2004)'ün çalışmasında yeşil üzümün  $81.5 \pm 15$  mg/100 g ve kırmızı üzümün  $61.0 \pm 12.3$  mg/100 g prosiyanidin içerdiği bulunmuştur. Tarçının toplam prosiyanidin içeriği, Gu et al. (2004)'ün çalışmalarında  $8108.2 \pm 424.2$  mg/100 g bulunurken, Nemzer et al. (2013)'ün çalışmasında 7908.14 mg/100g prosiyanidin içerdiği ifade edilmiştir.

Çalışmamızda, elma, üzüm ve tarçın örneklerinin prosiyanidin biyoerişebilirlikleri *in vitro* metot kullanılarak belirlenmiştir. *In vitro* sindirim sonrasında prosiyanidin miktarı tüm örnekler için önemli derecede düşmüştür ( $p < 0.05$ ). Prosiyanidin biyoerişebilirlikleri elma, üzüm ve tarçın örnekleri için sırasıyla  $\% 17.57 \pm 0.71$ ,  $\% 14.08 \pm 0.74$  ve  $\% 18.75 \pm 1.49$  olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2, Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Örneklerin prosiyanidin biyoerişebilirliği

Polifenollerin emilimi moleküler ağırlığına bağlıdır. Büyük molekül ağırlığına sahip olması nedeniyle, proantosiyanidin polimerlerinin kolaylıkla ince bağırsakta emilmesi olası değildir. Bağırsak bariyeri boyunca proantosiyanidinlerin emilimini gösteren kanıtlar hala azdır (Santos-Buelga and Scalbert 2000; Scalbert and Williamson, 2000). Flavonoid sınıfları içinde proantosiyanidinlerin biyoyararlılığı, yüksek polimerizasyon derecelerine bağlı olarak en az görünmektedir. Polimerize bileşiklerin monomerik bileşenlerine göre 10 ila 100 kat daha az biyoyararlanımı vardır (Tsang et al., 2005; Wallace, 2010).

Gu et al. (2011) çalışmalarında kakao prosiyanidinlerinin düşük biyoyararlılığa sahip olduğunu, kakaoda yüksek miktarda bulunmalarına rağmen, tüketimi takiben insan plazmasında prosiyanidin oligomerlerinin tespit edilemediğini belirtmişlerdir.

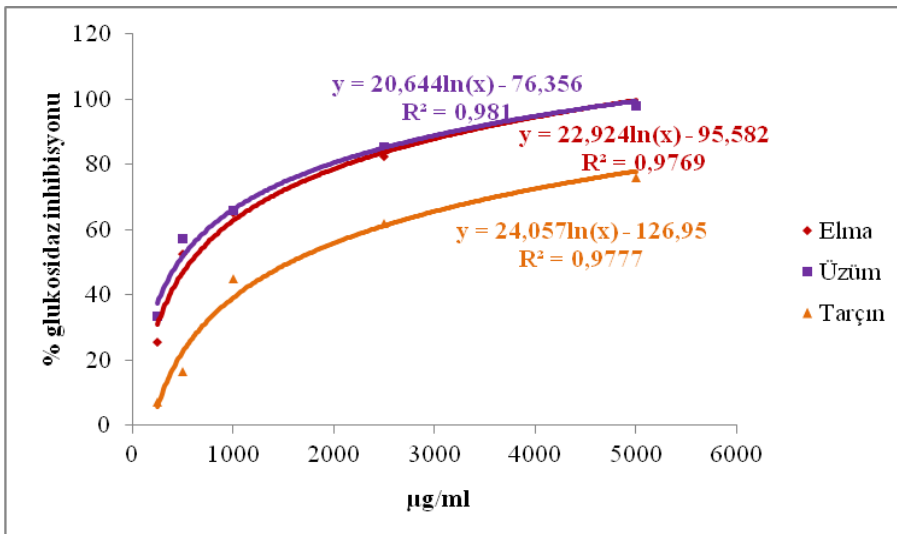
Proantosiyanidinler plazmada sadece esas olarak bulunan konjüge edilmiş formda değil, aynı zamanda sülfatlanmış, glukuronize ve metillenmiş metabolitler olarak da bulunur (Wallace, 2010). Bu, günde 1000 mg toplam polifenol içeren üzüm çekirdeği ekstraktları verilen 69 insan denekleriyle yapılan randomize çift kör plasebo kontrollü 6 haftalık bir çalışma ile bir kez daha teyit edilmiştir. 3-hidroksifenilpropionik asit ve 4-O-metilgallik asit atılımında tutarlı bir artış ve 3-hidroksifenilasetik asit atılımında daha az tutarlı bir artış görülmüştür. 3-hidroksifenilpropionik asitte görülen artış, bu bileşiğin, *in vivo* metabolizma proantosiyanidinin önemli bir fenolik asit parçalanma ürünü olduğu düşüncesi ile aynı doğrultudadır (Ward et al., 2004). Bu metabolitler sıçanların idrarında tespit edilmiştir (Tsang et al., 2005; Wallace, 2010).

Prosiyanidin parçalanma ürünlerinin biyolojik özelliklerinin, bu bileşiklerin tüketimine bağlı olarak gösterdiği sağlık yararlarının çok önemli olduğu hususu not edilmelidir (Wallace, 2010). Prosiyanidince zengin kakao içeceği tüketen 10 diyabetik bireyde yapılan 30 günlük çalışmada kan damar fonksiyonlarında %30 iyileşme görülmüştür (Balzer et al., 2008). Youdim et al. (2004) tarafından yapılan çalışmada kakao proantosiyanidinlerinin ve bunların parçalanma ürünlerinin, kan beyin bariyerinde olumlu etkileşimi olabileceğini göstermiştir.

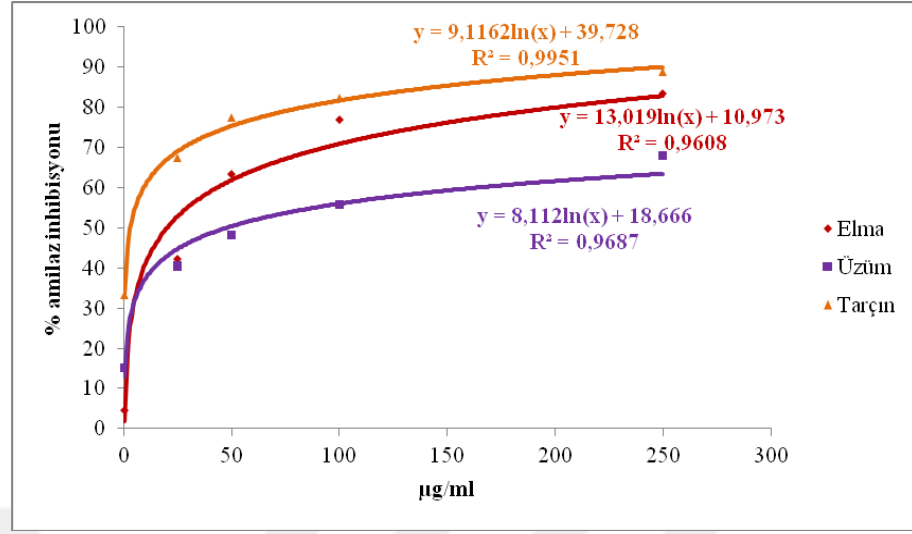
#### 4.1.3. Örneklerin $\alpha$ -amilaz, $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri

Gıda örneklerinin (elma, üzüm, tarçın)  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerinde inhibe edici etkileri  $IC_{50}$  değerleri ile değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.3'te verilmiştir. Enzim aktivitesi üzerine inhibitör etki ile ilgili bilgi  $IC_{50}$  değerleri veya her bir bileşik için enzimatik aktivitenin % 50 önlenmesi için gerekli olan konsantrasyon kullanılarak elde edilir (Griffith, 2012). Daha düşük  $IC_{50}$  değerleri daha yüksek enzim inhibisyon kapasitesine sahip olduğu anlamına gelmektedir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar elma, üzüm ve tarçın örneklerinin  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri için potansiyel inhibitör olduğunu göstermektedir.

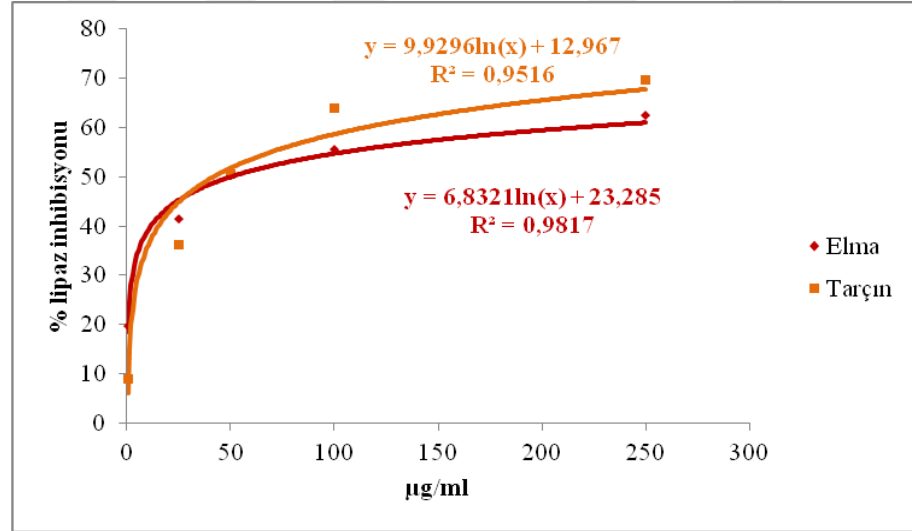
Örneklerin konsantrasyona karşı yüzde  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzim inhibisyon grafikleri çizilmiştir (Şekil 4.4 - 4.7). İnhibisyon grafiklerinde y eksenini ortalama inhibisyon aktivitesi yüzdesini gösterirken, x eksenini örneğin ortalama konsantrasyonunu tanımlar (Griffith, 2012). Örneklerin yüzde enzim inhibisyonu ile örneklerin konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. Örneğin; örnekteki konsantrasyon arttıkça sindirim enzim inhibisyonu da artış göstermiştir ( $r^2 = 0.9$ ).



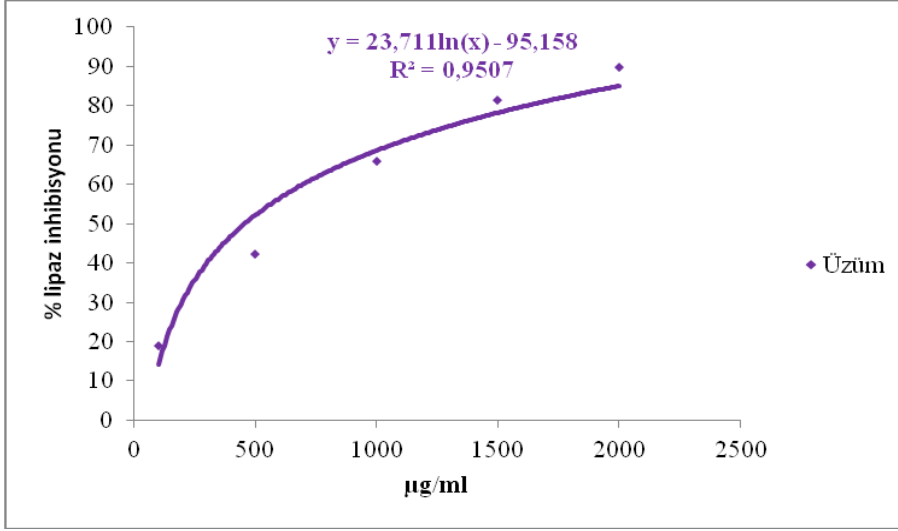
Şekil 4.4. Antosiyanin ve prosiyanidine zengin örneklerin konsantrasyona karşı  $\alpha$ -glukosidaz inhibisyon grafikleri



Şekil 4.5. Antosiyanin ve prosiyanidince zengin örneklerin konsantrasyona karşı α-amilaz inhibisyon grafikleri



Şekil 4.6. Elma ve tarçın örneklerin konsantrasyona karşı lipaz inhibisyon grafikleri



Şekil 4.7. Üzüm örneğinin konsantrasyona karşı lipaz inhibisyon grafiği

Elma, üzüm, tarçın örneklerinin  $\alpha$ -glukosidaz enzimi üzerine inhibisyon etkilerini ifade eden  $IC_{50}$  değerleri sırasıyla  $544.27 \pm 21.94$ ,  $445.63 \pm 15.67$  ve  $1592 \pm 17.58$   $\mu\text{g/mL}$  olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3).

Üzüm örneği  $\alpha$ -glukosidaz enzimi üzerine elma ve tarçın örneklerinden daha yüksek inhibisyon etki göstermiştir. Bunun sebebi üzüm örneğinin daha yüksek antosiyanin içeriğine sahip olması olabilir.

Çizelge 4.3. Örneklerin  $\alpha$ -glukosidaz,  $\alpha$ -amilaz ve lipaz enzimleri için  $IC_{50}$  değerleri

Örnekler	$IC_{50}$ Değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	$\alpha$ -Glukosidaz	$\alpha$ -Amilaz	Lipaz
Elma	$544.27 \pm 21.94^{B,a}$	$38.41 \pm 7.26^{B,b}$	$52.65 \pm 2.05^{B,b}$
Üzüm	$445.63 \pm 15.67^{C,b}$	$56.12 \pm 3.60^{A,c}$	$581.70 \pm 54.14^{A,a}$
Tarçın	$1592 \pm 17.58^{A,a}$	$3.54 \pm 0.86^{C,c}$	$49.63 \pm 2.72^{B,b}$

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). ( $n = 6$ )

Hogan et al. (2010) çalışmasında 2.5 mg/mL konsantrasyonda kırmızı şarap üzüm posasının (Cabernet Franc) sıçan  $\alpha$ -glukosidaz aktivitesini % 64 oranında inhibe ettiği ve IC<sub>50</sub> değerinin 1.63 mg/mL bulunduğu rapor edilmiştir. Hogan (2009) Norton üzüm kabuğu ekstraktının (*Vitis aestivalis*) sıçan  $\alpha$ -glukosidaz için 0.384 mg/mL IC<sub>50</sub> değerinin saptandığını belirtmiştir. Norton üzüm kabuğu ekstraktının (*Vitis aestivalis*) maya  $\alpha$ -glukosidaz inhibitör aktivitesi (IC<sub>50</sub> =10.5  $\mu$ g/mL) ticari oral hipoglisemik ajan olan akarboza oranla (IC<sub>50</sub> =341.8  $\mu$ g/mL) 32 kat daha güçlü bulunmuştur (Hogan, 2009). Başka bir çalışmada,  $\alpha$ -glukosidaz için IC<sub>50</sub> değeri üzüm çekirdeği ekstraktının  $1.15 \pm 0.16$   $\mu$ g/mL, akarbozun ise  $91.0 \pm 10.8$   $\mu$ g/mL olarak bulunmuştur (Griffith, 2012). Shihabudeen et al. (2011) *in vitro* çalışmalarında, tarçın ekstraktının 670  $\mu$ g/mL IC<sub>50</sub> değeri ile doza bağımlı  $\alpha$ -glukosidaz inhibitör aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Elma, üzüm ve tarçın örneklerinin  $\alpha$ -amilaz enzimi üzerine inhibisyon etkilerini ifade eden IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla  $38.41 \pm 7.26$ ,  $56.12 \pm 3.60$  and  $3.54 \pm 0.86$   $\mu$ g/mL olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3). Tarçın örneği  $\alpha$ -amilaz enzimi üzerine elma ve üzüm örneklerinden daha yüksek inhibisyon etki göstermiştir ( $p < 0.05$ ). Bunun nedeni tarçın örneğinin diğerlerine göre daha yüksek prosiyanidin içeriğine sahip olması olabilir.

Griffith (2012) çalışmasında,  $\alpha$ -amilaz için IC<sub>50</sub> değeri akarbozun  $6.90 \pm 0.81$   $\mu$ g/mL ve üzüm çekirdeği ekstraktının  $8.74 \pm 0.81$   $\mu$ g/mL olarak bulunduğu ifade edilmiştir.

Ponnusamy et al. (2011) çalışmasında hipoglisemik özellikleri ile bilinen 11 tane Hint tıbbi bitkisi pankreatik  $\alpha$ -amilaz üzerine potansiyel inhibitör etkisini değerlendirmek amacıyla solvent ekstraksiyonuna tabi tutulmuş ve  $\alpha$ -amilaz inhibisyon analizi uygulanmıştır. Tarçın yapraklarının (*Cinnamomum verum*) izopropanol ekstraktları 1.0  $\mu$ g/mL IC<sub>50</sub> değeri ile konsantrasyona bağlı bir inhibisyon göstermiştir. Bitkilerin  $\alpha$ -amilaz üzerine inhibe edici etkileri önemlidir, böylece nişastanın parçalanmasının kontrolü sağlanır, düşük glukoz seviyelerine yol açan nişasta hidroliz oranı azalır. Fitokimyasal analizler alkaloidler, proteinler, taninler, glikozitler, flavonoidler, saponinler ve steroidler gibi muhtemel önleyici bileşiklerin varlığını ortaya çıkarmıştır (Ponnusamy et al., 2011).

Elma, üzüm, tarçın örneklerinin lipaz enzimi üzerine inhibisyon etkilerini ifade eden IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 52.65±2.05, 581.70±54.14 ve 49.63±2.72 µg/mL olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3).

Moreno et al. (2003) çalışmalarında 1 mg/mL konsantrasyonda üzüm çekirdeği ekstraktının 5 dakika inkübasyon boyunca lipaz enzim aktivitesini % 80 oranında inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Pankreatik lipaz yağların sindirimi için sorumlu olan en önemli enzimdir, bu nedenle bu enzimin inhibisyonunun fazla kilo ve obezite üzerine olumlu etkiler gösterebileceği açıktır (Podsędek et al., 2014).

Tüketimden önce örneklerin enzim inhibisyonunun değerlendirilmesine ek olarak, enzim inhibisyonu analizleri 1 mg/mL konsantrasyondaki örneklerin *in vitro* mide sindiriminden sonra da yapılmıştır. Enzim inhibisyon yüzdeleri Çizelge 4.4'de verilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Örneklerin *in vitro* sindirim öncesi ve *in vitro* mide sindirimi sonrası enzim inhibisyon değerleri

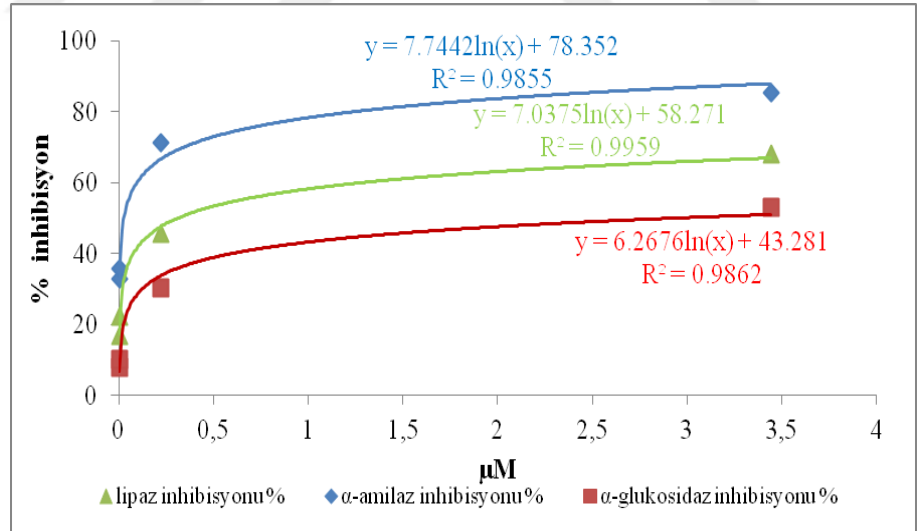
Örnekler (1 mg/mL konsantrasyon)	$\alpha$ -Glukosidaz inhibisyonu (%)	$\alpha$ -Amilaz inhibisyonu (%)	Lipaz inhibisyonu (%)	
Elma	<i>İn vitro öncesi</i>	63.67±1.30 <sup>B,c</sup>	90.86±0.44 <sup>B,a</sup>	68.18±1.26 <sup>C,b</sup>
	<i>İn vitro sonrası</i>	44.32±0.84 <sup>D,c</sup>	79.01±0.32 <sup>D,a</sup>	59.99±0.60 <sup>E,b</sup>
Üzüm	<i>İn vitro öncesi</i>	67.30±1.37 <sup>A,b</sup>	81.23±0.81 <sup>C,a</sup>	64.51±1.76 <sup>D,b</sup>
	<i>İn vitro sonrası</i>	48.21±0.49 <sup>C,c</sup>	68.71±0.43 <sup>E,a</sup>	57.27±1.01 <sup>F,b</sup>
Tarçın	<i>İn vitro öncesi</i>	44.13±1.00 <sup>D,c</sup>	94.02±0.43 <sup>A,a</sup>	85.56±0.77 <sup>A,b</sup>
	<i>İn vitro sonrası</i>	26.22±0.41 <sup>E,c</sup>	80.97±0.54 <sup>C,a</sup>	75.41±0.52 <sup>B,b</sup>

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir (p < 0.05). (n = 6)

*İn vitro* mide sindirimden sonraki enzim inhibisyon yüzdeleri, her enzim ve her örnek için *in vitro* sindirimden öncesine göre daha düşük bulunmuştur (p < 0.05). Bunun nedeni, sindirim süreci, sıcaklık ve pH değişim (asidik ya da bazik

bir ortam) gibi etkiler olabilir. 1 mg/mL konsantrasyondaki elma, üzüm ve tarçın örneklerinde *in vitro* mide sindirimden sonraki en düşük enzim inhibisyonu  $\alpha$ -glukosidaz enzimi için tarçın örneğinde (% 26.22±0.41) bulunurken, en yüksek enzim inhibisyonu ise  $\alpha$ -amilaz enzimi için yine tarçın örneğinde (% 80.97±0.54) bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Elma, üzüm ve tarçın örneklerinin 1 mg/mL konsantrasyondaki prosiyanidin içerikleri sırasıyla kateşin eş değeri olarak 1.47, 0.86 ve 64.32  $\mu\text{g/mL}$  bulunmuştur. Bu yüzden, kateşin standardının 0.86, 1.47 and 64.32  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarda enzim inhibisyonları saptanmıştır (Çizelge 4.5). Enzim inhibisyon eğrileri şekil 4.8’de görüldüğü gibi yüzde  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzim inhibisyon değerlerinin konsantrasyona karşı fonksiyonu olarak çizilmiştir. Enzim inhibisyon yüzdeleri kateşin konsantrasyonuna karşı logaritmik olarak artış göstermiştir ( $r^2 = 0.9$ ). Kateşin standardı en yüksek inhibisyon aktivitesini lipaz ve  $\alpha$ -glukosidaz enzimlerine kıyasla  $\alpha$ -amilaz enzimine karşı göstermiştir ( $p < 0.05$ ).



Şekil 4.8. Kateşin standardı enzim inhibisyon grafiği

0.86, 1.47 ve 64.32  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyondaki kateşin standardının  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyon yüzdeleri sırasıyla % 33.00±0.62, 35.83±0.53 ve 71.15±0.12,  $\alpha$ -glukosidaz enzim inhibisyon yüzdeleri sırasıyla % 8.00±0.18, 10.32±0.41 ve



30.33±0.46, lipaz enzim inhibisyon yüzdeleri ise sırasıyla % 16.90±0.50, 22.33±0.49 and 45.71±0.88 olarak bulunmuştur. Ancak, sırasıyla 0.86, 1.47 ve 64.32 µg/mL kateşin eşdeğeri prosiyanidin içeren 1mg/mL konsantrasyondaki elma, üzüm ve tarçın örnekleri kateşin standardına göre α-amilaz, α-glukosidaz ve lipaz enzimlerine karşı daha yüksek enzim inhibisyon aktiviteleri göstermişlerdir (Çizelge 4.5). Daha yüksek enzim inhibisyon aktiviteleri kateşin dışındaki biyoaktif bileşenler ve antinutrisyonel faktörler nedeniyle olabilir.

**Çizelge 4.5.** Kateşin standardının enzim inhibisyon yüzdeleri

	Kateşin standardının konsantrasyonu		
	0.86 µg/mL	1.47 µg/mL	64.32 µg/mL
α-Glukosidaz inhibisyonu (%)	8.00±0.18 <sup>c,C</sup>	10.32±0.41 <sup>b,C</sup>	30.33±0.46 <sup>a,C</sup>
α-Amilaz inhibisyonu (%)	33.00±0.62 <sup>c,A</sup>	35.83±0.53 <sup>b,A</sup>	71.15±0.12 <sup>a,A</sup>
Lipaz inhibisyonu (%)	16.90±0.50 <sup>c,B</sup>	22.33±0.49 <sup>b,B</sup>	45.71±0.88 <sup>a,B</sup>

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir (p < 0.05). (n = 6)

Kateşin eşdeğer inhibisyon kapasiteleri (CEIC<sub>50</sub>) her enzim ve her örnek için hesaplanmıştır (Çizelge 4.6). En yüksek CEIC<sub>50</sub> değeri α-glukosidaz enzimi için üzüm örneğinde bulunmuştur. En yüksek CEIC<sub>50</sub> değeri α-amilaz ve lipaz enzimi için tarçın örneğinde saptanmıştır.

**Çizelge 4.6.** Örneklerin α-glukosidaz, α-amilaz, lipaz enzimleri için CEIC<sub>50</sub> değerleri

Örnekler	CEIC <sub>50</sub> Değerleri (mM kateşin / g örnek)		
	α-Glukosidaz	α-Amilaz	Lipaz
Elma	57.02	2.63	241.37
Üzüm	64.63	0.69	91.73
Tarçın	21.91	11.96	420.26

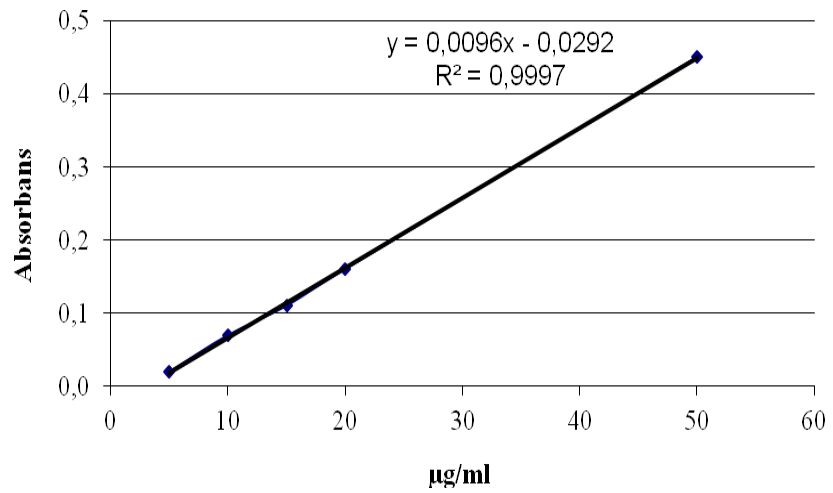
## 4.2. Saponince Zengin Örnekler

Demirdikeni (*Tribulus terrestris*) ve nohut örneklerinin saponin içerikleri ile biyoerişebilirlik değerleri saptanmıştır. Gıda örneklerinin (demirdikeni ve nohut)  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerinde inhibe edici etkileri  $IC_{50}$  değerleri ile değerlendirilmiş, 1 mg/mL konsantrasyondaki gıda örneklerinin *in vitro* sindirim öncesi ve *in vitro* mide sindirimi sonrası enzim inhibisyon yüzdeleri saptanmıştır. Saponin standardı diosgeninin  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzim inhibisyon yüzdeleri belirlenmiş ve gıda örneklerinin diosgenin cinsinden inhibisyon kapasiteleri ( $DEIC_{50}$ ) saptanmıştır.

### 4.2.1. Saponin içerikleri ve biyoerişebilirlik değerleri

Bir triterpen veya steroid aglikona şeker molekülünün bağlanmasıyla oluşan yüksek moleküler ağırlıklı glikozitler olan saponinlerin sindirim enzim aktivitesini azaltıcı özelliğinin yanı sıra kan kolesterol düşürücü, anti-inflamatuvar, anti-diyabetik, anti-HIV, anti-aterosklerotik ve gastro-koruyucu vb etkileri olduğu belirtilmektedir (Hosstetman and Marston, 1995; Wei, 2011).

Çalışmamızda örneklerin saponin içeriği spektrofotometrik yöntem ile kalibrasyon grafiği kullanılarak hesaplanmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Saponin kalibrasyon grafiği

Demirdikeni (*Tribulus terrestris*) ve nohut örneklerinin toplam saponin içerikleri Çizelge 4.7'de verilmiştir. Nohutun içerdiği toplam saponin içeriği ( $24.08 \pm 2.01$  mg/g, % 2.41) demirdikenden ( $13.16 \pm 0.89$  mg/g, % 1.32) daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

**Çizelge 4.7.** Örneklerin saponin içeriği ve biyoerişebilirlik değerleri (ortalama değer  $\pm$  standart sapma)

Örnekler	Saponin içeriği (mg/g)	<i>In vitro</i> sindirim sonrası içeriği (mg/g)	Biyoerişebilirlik (%)
Demirdikeni	$13.16 \pm 0.89^{B,a}$	$6.80 \pm 0.17^{B,b}$	$51.84 \pm 2.85^A$
Nohut	$24.08 \pm 2.01^{A,a}$	$9.60 \pm 0.68^{A,b}$	$39.98 \pm 2.97^B$

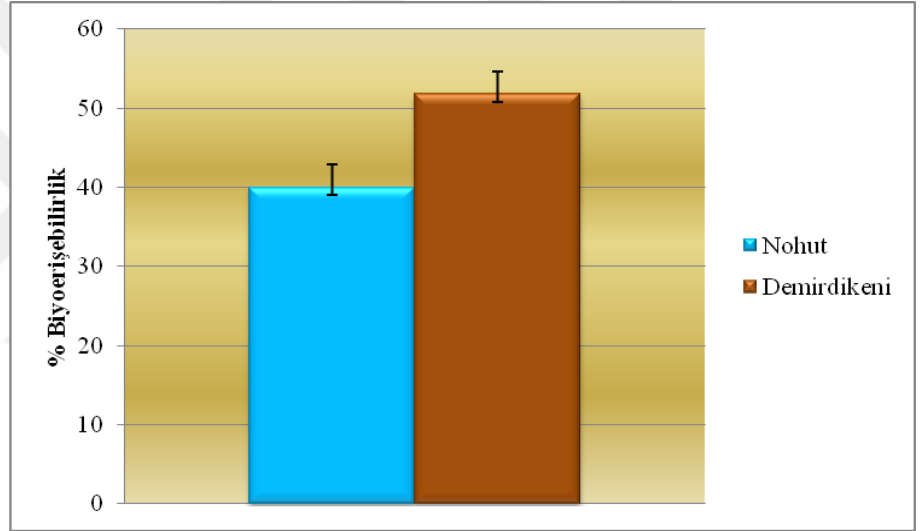
Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). (n = 6)

Literatürde saponinlerin birçok bakliyat, acı bakla, mercimek, nohut, fasulye, bezelye gibi gıdalarda bulunduğu rapor edilmiştir. Soya ve nohut insan beslenmesinde saponinlerin önemli kaynağını oluşturmaktadır. Nohutun toplam saponin içeriği Fenwick and Oakenfull (1983)'un çalışmasında % 5.6 bulunurken, Khokhar and Apenten (2009)'in çalışmasında % 3.6 bulunmuştur. Jukanti et al. (2012), nohutun içerdiği saponin miktarının (56 g/kg) mercimek (3.7-4.6 g/kg) ve bakla (3.5 g/kg) gibi gıdalardan daha yüksek olduğunu ifade etmiştir. Bizim çalışmamızda nohutun toplam saponin içeriği tüketildiği şekilde yani pişirme işlemi sonrasında tespit edilmiştir, bu yüzden çalışmamızda bulunan değerler literatür değerlerinden daha düşük bulunmuştur. Srivastava and Vasishta (2013) nohutun pişirme işlemi sırasında toplam saponin içeriğinde % 66.3 düşüş gözlemlendiğini bildirmiştir.

Sidjimova et al. (2011) Kuzey Bulgaristan'da 16 bölgeden toplanan *Tribulus terrestris* örneklerinin üç steroid saponins - protodioscin içeriklerinin 5.0 - 22.1 mg/g arasında değiştiğini ifade etmiştir. Lehman et al. (2013) *Tribulus terrestris* örneklerinin (Slovakya, Hint, Avustralya türü) toplam saponin içeriklerinin sırasıyla % 1.98, 0.54, 3.96 olarak bulunduğunu belirtmiştir. Bizim çalışmamızda

gözlenen değerlerin, demirdikeni (*Tribulus terrestris*) için literatürde rapor edilenlere benzer olduğu görülmektedir.

Ayrıca çalışmamızda demirdikeni ve nohut örneklerinin saponin biyoerişebilirliği *in vitro* yöntem kullanılarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda demirdikeni ve nohut örneklerinde sindirim sonrasında saponin miktarı önemli derecede düşmüştür ( $p < 0.05$ ). Demirdikeni bulunan saponin biyoerişebilirlik değeri (%  $51.84 \pm 2.85$ ) nohut örneği için elde edilen saponin biyoerişebilirlik değerinden (%  $39.98 \pm 2.97$ ) daha fazla bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.7, Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Örneklerin saponin biyoerişebilirliği

Saponin genellikle düşük biyolojik kullanılabilirliğe sahip olarak kabul edilir. İnsan beslenmesinde saponin emilimi çok değişkendir ve bir öğünde tüketilen saponin miktarı, safra asitleri ile interaksiyon, gıda işleme yöntemleri ve diyetle alınan saponine bireylerin metabolik adaptasyonu gibi birçok faktöre bağlıdır. Buna ek olarak, çinko ve demir ile saponinlerin interaksiyonu çözünmeyen fitat - mineral kompleksleri oluşturur ve saponinler ile minerallerin biyoyararlılığını azaltır (Shi et al., 2004).

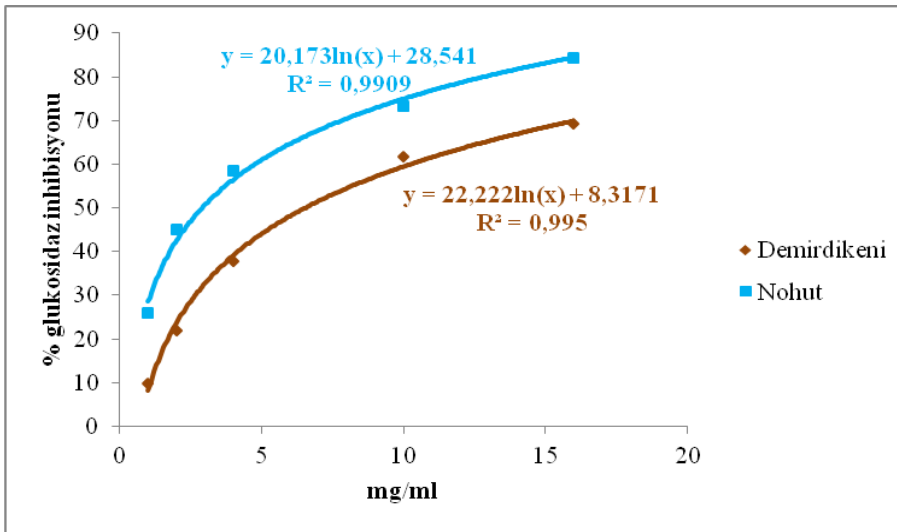
Demirdikeni yapraklarındaki çinko ve demir içeriği sırasıyla  $0.10 \pm 0.00$

mg/100 g ve  $2.80 \pm 0.7$  mg/100 g olarak saptanmıştır (Gafar et al., 2011). Nohutun çinko ve demir içeriği ise sırasıyla 3.19 mg/100 g and 5.19 mg/100 g olarak bulunmuştur (Akgün et al., 1987). Bu veriler demirdikeninin nohuttan daha yüksek saponin biyoerişilebilirliğine sahip olmasının nedeni olabilir.

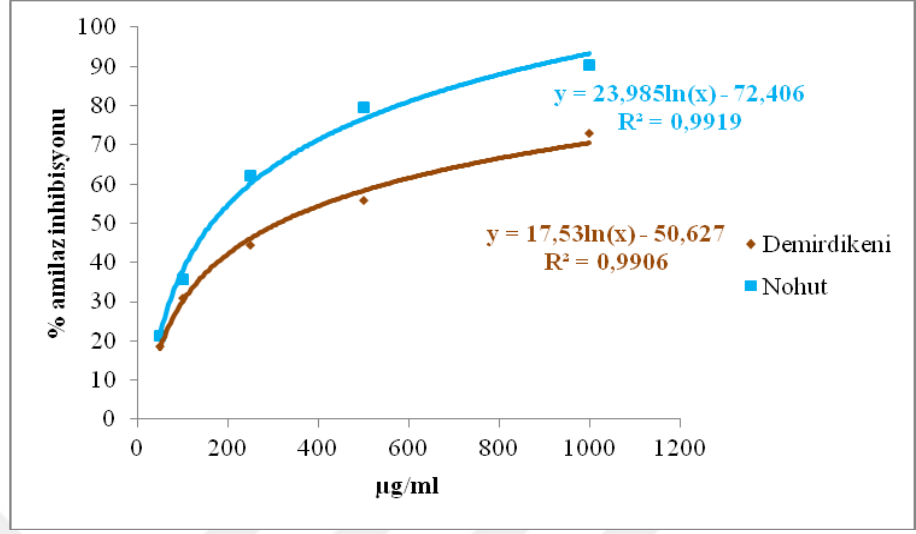
#### 4.2.3. Örneklerin $\alpha$ -amilaz, $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri

Demirdikeni (*Tribulus terrestris*) ve nohutun  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerine inhibitör aktiviteleri  $IC_{50}$  değerleri ile değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir. Enzim inhibisyon eğrileri, yüzde  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz inhibisyon değerlerine karşı örneklerin konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak çizilmiş ve Şekil 4.11 - 4.13'de gösterilmiştir.

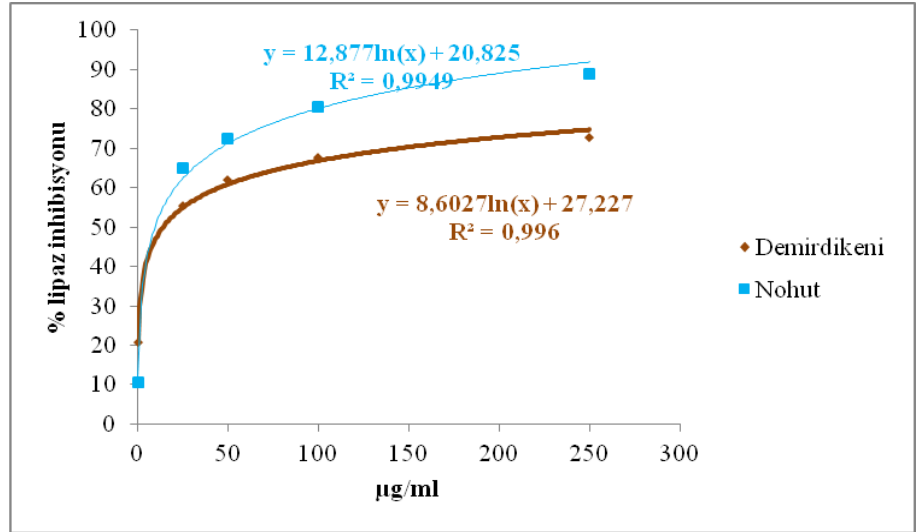
Örneklerin yüzde enzim inhibisyon değerlerinin konsantrasyonları ile pozitif korelasyonda olduğu saptanmıştır. Örneklerin konsantrasyonu arttıkça  $\alpha$ -glukosidaz enzim inhibisyonunun (%) arttığı ( $r^2 = 0.99$ ) görülmüştür. Yüzde  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu ve örnek konsantrasyonları arasında anlamlı ( $r^2 = 0.99$ ) bir korelasyon bulunmuştur. Benzer bir şekilde, lipaz enzim inhibisyonunun örneklerin konsantrasyonu arttıkça logaritmik olarak artış gösterdiği ( $r^2 = 0.99$ ) saptanmıştır.



Şekil 4.11. Saponince zengin örneklerin konsantrasyona karşı  $\alpha$ -glukosidaz inhibisyon grafikleri



Şekil 4.12. Saponince zengin örneklerin konsantrasyona karşı  $\alpha$ -amilaz inhibisyon grafikleri



Şekil 4.13. Saponince zengin örneklerin konsantrasyona karşı lipaz inhibisyon grafikleri

Demirdikeni (*Tribulus terrestris*) ve nohut  $\alpha$ -glukosidaz ( $IC_{50}$   $6967\pm342.52$  ve  $2885\pm85.44$   $\mu\text{g/mL}$ , sırasıyla) ve  $\alpha$ -amilaz enzimlerine ( $IC_{50}$   $342.83\pm26.22$  ve  $166.97\pm6.12$   $\mu\text{g/mL}$ , sırasıyla) karşı inhibitör aktivite göstermiştir. Demirdikeni ve nohut lipaz enzimine karşı ise sırasıyla  $15.25\pm2.03$  ve  $9.74\pm1.09$   $\mu\text{g/mL}$   $IC_{50}$  değerleri ile inhibitor aktivite göstermiştir (Çizelge 4.8). Nohut demirdikeniye göre  $\alpha$ -glukosidaz,  $\alpha$ -amilaz ve lipaz enzimleri için daha yüksek bir inhibisyon etki göstermiştir ( $p < 0.05$ ). Bunun nedeni nohutun demirdikeniye göre daha yüksek saponin içermesi olabilir.

**Çizelge 4.8.** Örneklerin  $\alpha$ -glukosidaz,  $\alpha$ -amilaz ve lipaz enzimleri için  $IC_{50}$  değerleri

Örnekler	$IC_{50}$ Değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	$\alpha$ -Glukosidaz	$\alpha$ -Amilaz	Lipaz
Demirdikeni ( <i>Tribulus terrestris</i> )	$6967\pm342.52^{A,a}$	$342.83\pm26.22^{A,b}$	$15.25\pm2.03^{A,c}$
Nohut	$2885\pm85.44^{B,a}$	$166.97\pm6.12^{B,b}$	$9.74\pm1.09^{B,c}$

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). (n = 6)

Literatürde, demirdikeninin  $\alpha$ -glukosidaz ve  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu üzerine etkisi ile ilgili iki çalışma vardır. Yoo et al. (2014) *Tribulus terrestris*'in glukosidaz inhibisyonu için  $IC_{50}$  değerini  $9.7$   $\text{mg/mL}$  olarak bulmuştur. Ponnusamy et al. (2011) *Tribulus terrestris*'in amilaz inhibisyonu için  $IC_{50}$  değerini  $511$   $\mu\text{g/mL}$  olarak bulduklarını ifade etmişlerdir.

Çalışmamızda, demirdikeni ve nohut çok yüksek  $\alpha$ -amilaz inhibitör aktivitesi, fakat  $\alpha$ -glukosidaza karşı orta derecede bir inhibitör etki göstermiştir. Demirdikeni  $\alpha$ -amilaz ve lipaz enzimlerine kıyasla  $\alpha$ -glukosidaz enzimine karşı daha zayıf inhibisyon etki göstermiştir ( $p < 0.05$ ).

Aynı zamanda, demirdikeni ve nohutun, özellikle lipaz enzimi inhibisyonu için düşük  $IC_{50}$  (sırasıyla  $15.25\pm2.03$  ve  $9.74\pm1.09$   $\mu\text{g/mL}$ ) değerleri ile yüksek bir afiniteye sahip oldukları bulunmuştur. Pankreatik lipaz yağ sindirimi için sorumlu

en önemli enzimdir, bu yüzden bu enzimin inhibisyonu fazla kilo ve obezite üzerine yararlı etkiler sağlayabileceği belirtilmektedir (Podsędek et al., 2014).

Tüketimden önce örneklerin enzim inhibisyonunun değerlendirilmesine ek olarak, 1 mg/mL konsantrasyondaki örneklerin *in vitro* mide sindiriminden sonra da enzim inhibisyon analizleri yapılmış ve örneklerin inhibisyon etkilerinin  $\alpha$ -glukozidaz,  $\alpha$ -amilaz, lipaz enzimleriyle karşılaşacağı bağırsak ortamından önce *in vitro* mide sindirimi sonuna kadar nasıl etkileneceğini saptamak amaçlanmıştır. *İn vitro* sindirim öncesi ve *in vitro* mide sindirimi sonrası elde edilen enzim inhibisyon yüzdeleri Çizelge 4.9'da verilmiştir.

**Çizelge 4.9.** Örneklerin *in vitro* sindirim öncesi ve *in vitro* mide sindirimi sonrası enzim inhibisyon değerleri

Örnekler (1 mg/mL konsantrasyonda)		$\alpha$ -Glukosidaz inhibisyonu (%)	$\alpha$ -Amilaz inhibisyonu (%)	Lipaz inhibisyonu (%)
Demirdikeni	<i>İn vitro</i> öncesi	11.58±1.77 <sup>B,c</sup>	72.96±1.63 <sup>B,b</sup>	79.31±1.03 <sup>C,a</sup>
	<i>İn vitro</i> sonrası	8.13±0.90 <sup>C,c</sup>	66.04±1.86 <sup>C,b</sup>	74.58±1.08 <sup>D,a</sup>
Nohut	<i>İn vitro</i> öncesi	18.11±1.75 <sup>A,c</sup>	87.82±2.20 <sup>A,b</sup>	92.63±1.27 <sup>A,a</sup>
	<i>İn vitro</i> sonrası	10.94±1.32 <sup>B,c</sup>	72.56±0.84 <sup>B,b</sup>	85.38±0.73 <sup>B,a</sup>

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). (n = 6)

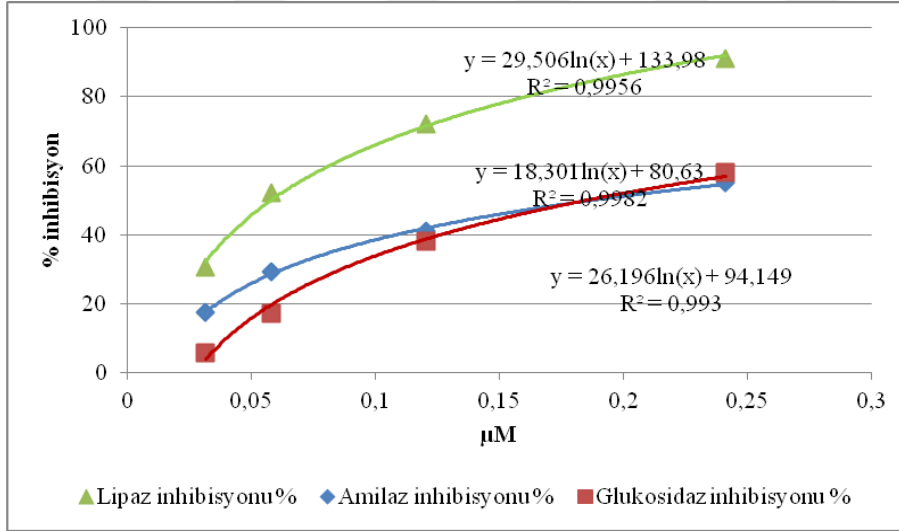
*İn vitro* mide sindiriminden sonraki enzim inhibisyon yüzdeleri, her enzim ve her örnek için *in vitro* sindirimden önce daha düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bunun nedeni, sindirim süreci, sıcaklık ve pH değişim (asidik ya da bazik bir ortam) gibi etkiler olabilir. *İn vitro* mide sindiriminden sonra en düşük enzim inhibisyonu 1 mg/mL konsantrasyondaki demirdikeni için saptanmıştır (% 8.13±0.90) ( $p < 0.05$ ). *İn vitro* mide sindirimden sonra en yüksek enzim inhibisyonu ise lipaz enzimi için nohut örneğinde (% 85.38±0.73) bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Saponin standardı olan diosgeninin de enzim inhibisyon etkileri incelenmiştir.



Demirdikeni ve nohut örneklerinin 1 mg/mL konsantrasyondaki saponin içerikleri sırasıyla 13.16 ve 24.08  $\mu\text{g/mL}$  bulunmuştur. Bu yüzden, saponin standardı diosgeninin 13.16 ve 24.08  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarda enzim inhibisyonları saptanmıştır (Çizelge 4.10).

Enzim inhibisyon eğrileri şekil 4.14’de görüldüğü gibi yüzde  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzim inhibisyon değerlerinin konsantrasyona karşı fonksiyonu olarak çizilmiştir. Enzim inhibisyon yüzdeleri diosgenin konsantrasyonuna karşı logaritmik olarak artış göstermiştir ( $r^2 = 0.99$ ). Saponin standardı en yüksek inhibisyon aktivitesini  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukosidaz enzimlerine kıyasla lipaz enzimine karşı göstermiştir ( $p < 0.05$ ).



Şekil 4.14. Diosgenin standardının enzim inhibisyon grafikleri

13.16 ve 24.08  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyondaki saponin standardının  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyon yüzdeleri sırasıyla %  $17.35 \pm 0.86$  ve %  $29.18 \pm 0.78$ ,  $\alpha$ -glukosidaz enzim inhibisyon yüzdeleri sırasıyla %  $5.69 \pm 0.36$  ve %  $17.97 \pm 0.83$ , lipaz enzim inhibisyon yüzdeleri ise sırasıyla %  $30.48 \pm 0.65$  ve %  $52.17 \pm 0.96$  olarak bulunmuştur. Ancak, sırasıyla 13.16 ve 24.08  $\mu\text{g/mL}$  saponin içeren 1mg/mL konsantrasyondaki demirdikeni ve nohut örnekleri saponin standardına göre  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimlerine karşı daha yüksek enzim inhibisyon aktiviteleri göstermişlerdir (Çizelge 4.9, 4.10). Daha yüksek enzim

inhibisyon aktiviteleri saponin dışındaki biyoaktif bileşenler ve antinutrisyonel faktörler nedeniyle olabilir.

**Çizelge 4.10.** Saponin standardı diosgeninin enzim inhibisyon yüzdeleri

	Diosgenin Konsantrasyonu	
	13.16 µg/mL	24.08 µg/mL
$\alpha$ -Glukosidaz inhibisyonu (%)	5.69±0.36 <sup>C,b</sup>	17.97±0.83 <sup>C,a</sup>
$\alpha$ -Amilaz inhibisyonu (%)	17.35±0.86 <sup>B,b</sup>	29.18±0.78 <sup>B,a</sup>
Lipaz inhibisyonu (%)	30.48±0.65 <sup>A,b</sup>	52.17±00.96 <sup>A,a</sup>

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). (n = 6)

Ayrıca her örnek ve her enzim için Diosgenin eşdeğer inhibisyon kapasitesileri (DEIC<sub>50</sub>) hesaplanmış ve elde edilen değerleri Çizelge 4.11'de verilmiştir.

**Çizelge 4.11.** Örneklerin  $\alpha$ -glukosidaz,  $\alpha$ -amilaz, lipaz enzimleri için DEIC<sub>50</sub> değerleri

Örnekler	DEIC <sub>50</sub> Değerleri (mM diosgenin / g örnek)		
	$\alpha$ -Glukosidaz	$\alpha$ -Amilaz	Lipaz
Demirdikeni	0.07	0.70	47.96
Nohut	0.14	1.82	105.17

En yüksek DEIC<sub>50</sub> değerleri nohut ve demirdikeni için de  $\alpha$ -glukosidaz ve  $\alpha$ -amilaz enzimlerine kıyasla lipaz enzimi için bulunmuştur. Nohut için elde edilen değerlerin demirdikeniinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca en düşük DEIC<sub>50</sub> değerleri nohut ve demirdikeni örneği için de  $\alpha$ -glukosidaz enzimi için bulunmuştur. Bu değerlerin IC<sub>50</sub> değerleri ile uyumlu olduğu görülmüştür.

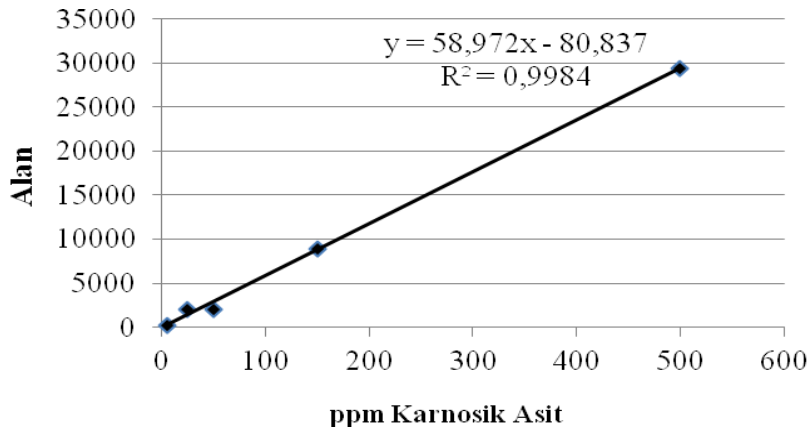
### 4.3. Karnosik Asitçe Zengin Örnekler

Adaçayı ve biberiye örneklerinin karnosik asit içerikleri ile biyoerişebilirlik değerleri saptanmıştır. Bu gıda örneklerinin  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerinde inhibe edici etkileri  $IC_{50}$  değerleri ile değerlendirilmiş, 1 mg/mL konsantrasyondaki örneklerin *in vitro* sindirim öncesi ve *in vitro* mide sindirimi sonrası enzim inhibisyon yüzdeleri saptanmıştır. Karnosik asit standardının  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzim inhibisyon yüzdeleri belirlenmiş ve örneklerin karnosik asit cinsinden inhibisyon kapasiteleri ( $CAEIC_{50}$ ) saptanmıştır.

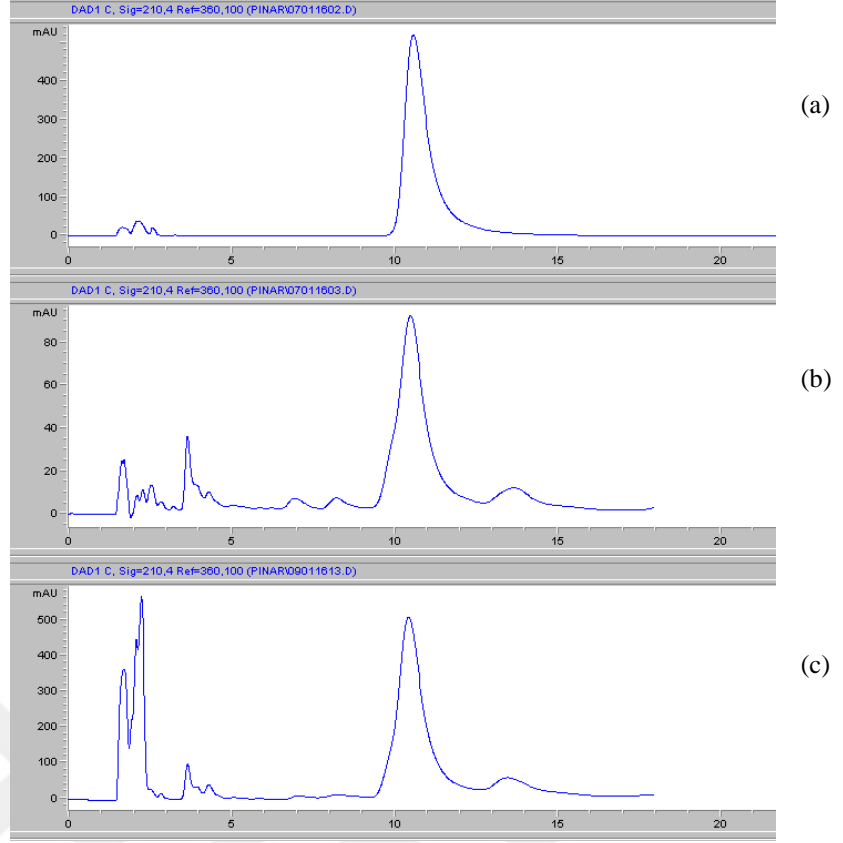
#### 4.3.1. Karnosik asit içerikleri ve biyoerişebilirlik değerleri

Karnosik asit, yüksek antioksidan aktivitesi ile biberiye ve adaçayında fenolik diterpenoid fraksiyonundaki önemli bir bileşendir ve ayrıca anti-inflamatuar, antibakteriyel, antikanser gibi etkilere sahiptir (Troncoso et al., 2005; Yan et al., 2009).

Çalışmamızda hazırlanan karnosik asit standartlarıyla (5, 25, 50, 150 ve 500 ppm) karnosik asit konsantrasyonuna (ppm) karşı pik alanı (mAU×s) ile oluşturulan kalibrasyon grafiği Şekil 4.15'de verilmiştir. Karnosik asitin alıkonma zamanı  $10.54 \pm 0.01$  dk bulunmuştur. Karnosik asit standardına ve adaçayı ile biberiye örneklerine ait kromatogramlar Şekil 4.16'da görülmektedir.



Şekil 4.15. Karnosik asit kalibrasyon grafiği



Şekil 4.16. Örnek kromatogramlar a) karnosik asit standardı b) adaçayı c) biberiye

Adaçayı ve biberiye örneklerinin karnosik asit içerikleri Çizelge 4.12'de verilmiştir. Biberiyenin içerdiği karnosik asit miktarı ( $18.72 \pm 0.33$  mg/g) adaçayıdan ( $3.76 \pm 0.13$  mg/g) daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

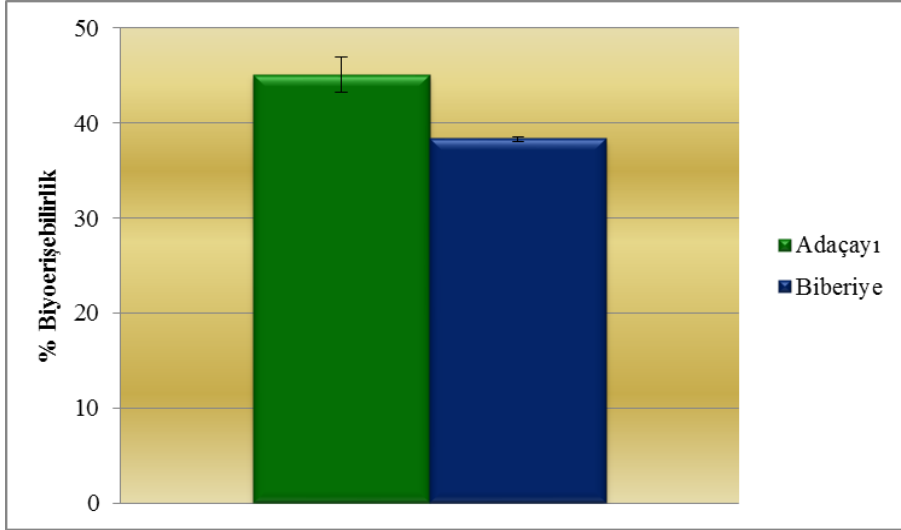
Çizelge 4.12. Örneklerin karnosik asit içeriği ve biyoerişebilirlik değerleri (ortalama değer  $\pm$  standart sapma)

Örnekler	Karnosik Asit içeriği (mg/g)	<i>İn vitro</i> sindirim sonrası içeriği (mg/g)	Biyoerişebilirlik (%)
Adaçayı	$3.76 \pm 0.13^{a,B}$	$1.69 \pm 0.05^{b,B}$	$45.10 \pm 1.88^A$
Biberiye	$18.72 \pm 0.33^{a,A}$	$7.17 \pm 0.13^{b,A}$	$38.32 \pm 0.21^B$

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). (n = 6)

Luis and Johnson (2005), biberiyedeki (*Rosmarinus officinalis* L. plants-cultivar Sissinghurst English) karnosik asit içeriğini  $12.18 \pm 0.609$  mg/g olarak bulmuşlardır. Moreno et al. (2006) biberiyenin karnosik asit içeriğini yapraklarında  $29.3 \pm 2.9$  g/100g, çiçeklerinde  $13.6 \pm 1.3$  g/100g olarak tespit etmişlerdir. Peng et al (2007) biberiyede bulunan karnosik asit miktarını  $60^\circ\text{C}$ 'de süper kritik sıvı ekstraksiyonu,  $80^\circ\text{C}$ 'de süper kritik sıvı ekstraksiyonu, etanol ve asetonik ekstraksiyon için sırasıyla 31.3, 30.4, 13.6 and 24.7 mg/g olarak bulduklarını ifade etmişlerdir. Berker vd. (2006)'nin çalışmasında karnosik asit içeriği 7 farklı marka adaçayı için  $2.99 \pm 0.01$  -  $7.16 \pm 0.16$  mg/g arasında bulunduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar literatürde belirtilen sonuçlar ile yakın bulunmuştur.

Çalışmamızda, adaçayı ve biberiye örneklerinin karnosik asit biyoerişebilirlikleri *in vitro* metot kullanılarak belirlenmiştir. Karnosik asit biyoerişebilirlikleri adaçayı ve biberiye örnekleri için sırasıyla %  $45.10 \pm 1.88$  ve %  $38.32 \pm 0.21$  olarak bulunmuştur (Çizelge 4.12, Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Örneklerin karnosik asit biyoerişebilirliği

Karnosik asit biyoyararlılığı hakkında çok az bilgi bilinmektedir. Emilimi takiben, karnosik asit parçalanabilir veya bilinmeyen türevlerine dönüşebilir. Karnasol, rosmanol, epirosmanol ve isorosmanol gibi birçok parçalanma ürünü ve

metabolitleri bitki materyallerinde tespit edilmiş olmakla beraber, bu konu halen açıkça bilinmemektedir. Bu nedenle, karnosik asit ve metabolitlerinin emilim, dağılım ve eliminasyon hakkında daha fazla araştırma yapılması gereklidir (Doolaee et al., 2011).

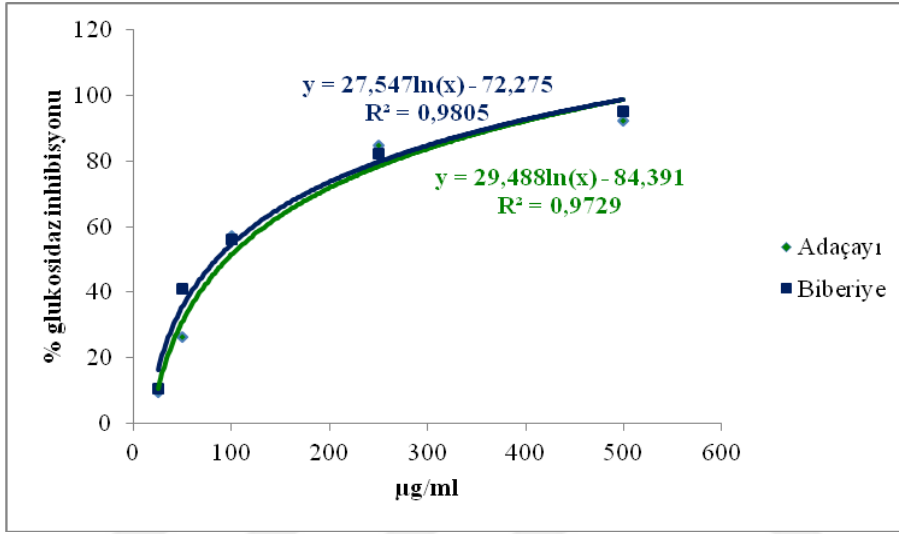
Yan et al. (2009) sıçanların karnosik asit (90 mg / kg) alımından sonra emilimi ( $T_{max} = 125.6 \pm 118.4$  dakika) yavaş olduğunu belirtmiştir. Bununla birlikte, maksimum plazma konsantrasyonu yüksektir ve uzun bir süre için muhafaza edilmiştir. Karnosik asit mutlak biyoyararlılığı  $\% 65.09 \pm 1.422$  olarak yüksek bulunmuştur, bu da gelecekteki uygulamalar için yararlı bir özellik olduğu belirtilmiştir.

Doolaee et al. (2011) çalışmalarında biberiyede bulunan başlıca antioksidan olan karnosik asidin emilimi, dağılımı ve eliminasyonunu *in vivo* olarak sıçanlarda incelemiştir. Bu nedenle, karnosik asit, sıçanlara tek bir doz intravenöz ( $20.5 \pm 4.2$  mg / kg) ve ağızdan ( $64.3 \pm 5.8$  mg / kg) olarak tatbik edilmiştir. Karnosik asit biyoyararlılığı 360 dakika sonra  $\% 40.1$  olarak bulunmuştur. Karnosik asit izleri sıçanlarda bağırsak içeriği, karaciğer ve karın ve bacak kas dokusunda bulunmuştur. Karnosik asitin dışkıda geri kazanımı, 24 saat oral uygulamadan sonra,  $\% 15.6 \pm 8.2$  olarak bulunmuştur. Karnosik asitin farelerde ağızdan uygulama sonrası kan dolaşımında emilmekte olduğu ve bu nedenle biyolojik olarak yararlı olduğu tespit edilmiştir (Doolaee et al., 2011).

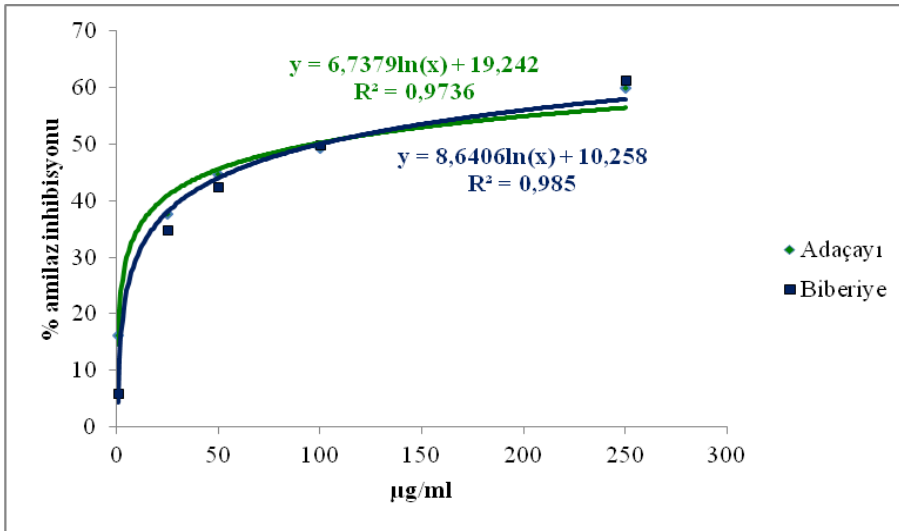
#### **4.3.3. Örneklerin $\alpha$ -amilaz, $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri**

Adaçayı ve biberiye örneklerinin  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerinde inhibe edici etkilerini  $IC_{50}$  değerleri ile değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 14'de verilmiştir. Enzim aktivitesi üzerine inhibitör etki ile ilgili bilgi  $IC_{50}$  değerleri veya her bir bileşik için enzimatik aktivitenin  $\% 50$  önlenmesi için gerekli olan konsantrasyonu kullanılarak elde edilir (Griffith, 2012). Daha düşük  $IC_{50}$  değerleri daha yüksek enzim inhibisyon kapasitesine sahip olduğu anlamına gelmektedir.

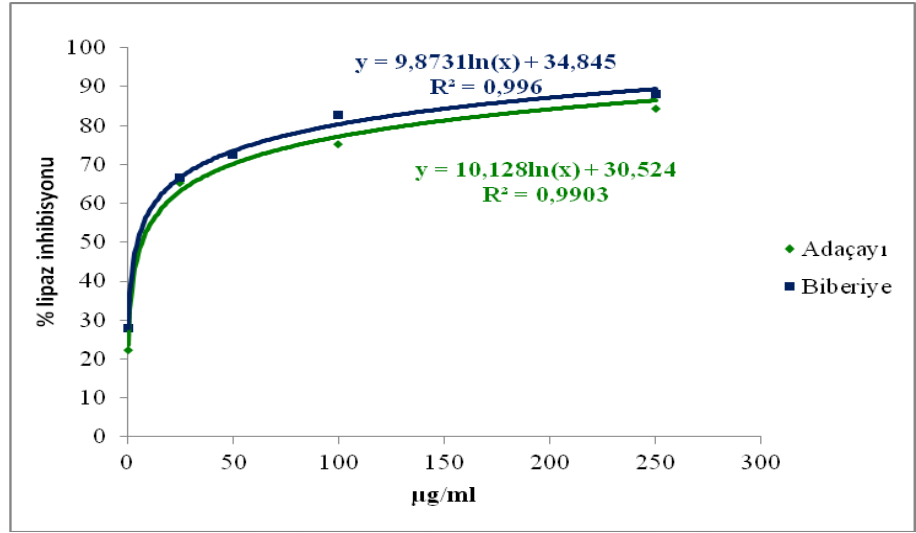
Enzim inhibisyon grafikleri örneklerin konsantrasyonlarına karşı yüzde  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzim inhibisyonları çizilmiştir (Şekil 4.18 - 4.20). Örneklerin yüzde enzim inhibisyonu ile örneklerin konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. Örneklerin sindirim enzim inhibisyon yüzdeleri (%) örneklerin konsantrasyonundaki artış ile logaritmik olarak artış göstermiştir ( $r^2 = 0.9$ ).



Şekil 4.18. Karnosik asitçe zengin örneklerin konsantrasyona karşı  $\alpha$ -glukosidaz inhibisyon grafikleri



Şekil 4.19. Karnosik asitçe zengin örneklerin konsantrasyona karşı  $\alpha$ -amilaz inhibisyon grafikleri



Şekil 4.20. Karnosik asitçe zengin örneklerin konsantrasyona karşı lipaz inhibisyon grafikleri

Adaçayı ve biberiye  $\alpha$ -glukosidaz ( $IC_{50}$   $88.49 \pm 2.35$  ve  $76.80 \pm 1.68$   $\mu\text{g/mL}$ , sırasıyla) ve  $\alpha$ -amilaz ( $IC_{50}$   $107.65 \pm 12.64$  ve  $95.65 \pm 2.73$   $\mu\text{g/mL}$ , sırasıyla) enzimlerine karşı inhibe edici aktivite göstermiştir. Ayrıca adaçayı ve biberiye sırasıyla  $6.20 \pm 0.63$ ,  $4.31 \pm 0.62$   $\mu\text{g/mL}$   $IC_{50}$  değerleri ile lipaz enzimine karşı inhibitör aktivite göstermiştir (Çizelge 4.13). Örneklerin  $\alpha$ -glukosidaz ve  $\alpha$ -amilaz enzimleri ile karşılaştırıldığında lipaza karşı daha büyük inhibisyon etki gösterdikleri bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bunun nedeni yüksek karnosik asit içeriğine sahip olmaları olabilir.

Çizelge 4.13. Örneklerin  $\alpha$ -glukosidaz,  $\alpha$ -amilaz ve lipaz enzimleri için  $IC_{50}$  değerleri

Örnekler	$IC_{50}$ Değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	$\alpha$ -Glukosidaz	$\alpha$ -Amilaz	Lipaz
Adaçayı	$88.49 \pm 2.35^{A,b}$	$107.65 \pm 12.64^{A,a}$	$6.20 \pm 0.63^{A,c}$
Biberiye	$76.80 \pm 1.68^{B,b}$	$95.65 \pm 2.73^{A,a}$	$4.31 \pm 0.62^{B,c}$

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). (n = 6)



Loizzo et al. (2008) *Salvia acetabulosa* metanol ekstraktının  $\alpha$ -amilaz ( $IC_{50}$  91.2  $\mu\text{g/mL}$ ) ve  $\alpha$ -glukosidaz ( $IC_{50}$  76.9  $\mu\text{g/mL}$ ) enzimlerine karşı inhibitör etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Adaçayı yapraklarının (*Salvia officinalis L.*) metanolik ekstraktı lipitlerin sindirimde yer alan pankreatik lipaza karşı önemli inhibitör etki göstermiştir. Adaçayı ekstraktının pankreatik lipaz için  $IC_{50}$  değeri 36  $\mu\text{g/mL}$  olarak bulunmuştur (Ninomiya et al., 2004)

Bir çalışmada biberiye ekstraktının pankreatik lipaz için 13.8  $\mu\text{g/mL}$  olarak bir  $IC_{50}$  değerine sahip olduğu bulunmuştur. Sonuçlar enzim inhibitör aktivitesinin doza bağlı olduğunu göstermiştir. 6.3 - 200  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarda enzim inhibisyon yüzdesinin % 36.8 - 95.1 arasında değişmekte olduğu belirtilmiştir (Bustanji et al., 2010).

Tüketimlerinden önce örneklerin enzim inhibisyonlarının değerlendirilmesine ilave olarak, 1 mg/mL konsantrasyondaki örneklerin *in vitro* mide sindiriminden sonra da enzim inhibisyonu analizleri yapılmıştır. Enzim inhibisyon yüzdeleri Çizelge 4.14'de verilmiştir.

**Çizelge 4.14.** Örneklerin *in vitro* sindirim öncesi ve *in vitro* mide sindirimi sonrası enzim inhibisyon değerleri

Örnekler (1 mg/mL konsantrasyonda)	$\alpha$ -Glukosidaz inhibisyonu (%)	$\alpha$ -Amilaz inhibisyonu (%)	Lipaz inhibisyonu (%)	
Adaçayı	<i>İn vitro öncesi</i>	90.31±1.38 <sup>B,a</sup>	70.56±0.83 <sup>B,c</sup>	88.15±0.51 <sup>B,b</sup>
	<i>İn vitro sonrası</i>	80.72±1.16 <sup>D,a</sup>	58.34±0.67 <sup>D,c</sup>	78.32±0.59 <sup>D,b</sup>
Biberiye	<i>İn vitro öncesi</i>	93.12±0.38 <sup>A,a</sup>	75.84±0.38 <sup>A,c</sup>	90.26±0.66 <sup>A,b</sup>
	<i>İn vitro sonrası</i>	84.71±0.86 <sup>C,a</sup>	68.82±0.86 <sup>C,c</sup>	79.94±0.66 <sup>C,b</sup>

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). (n = 6)

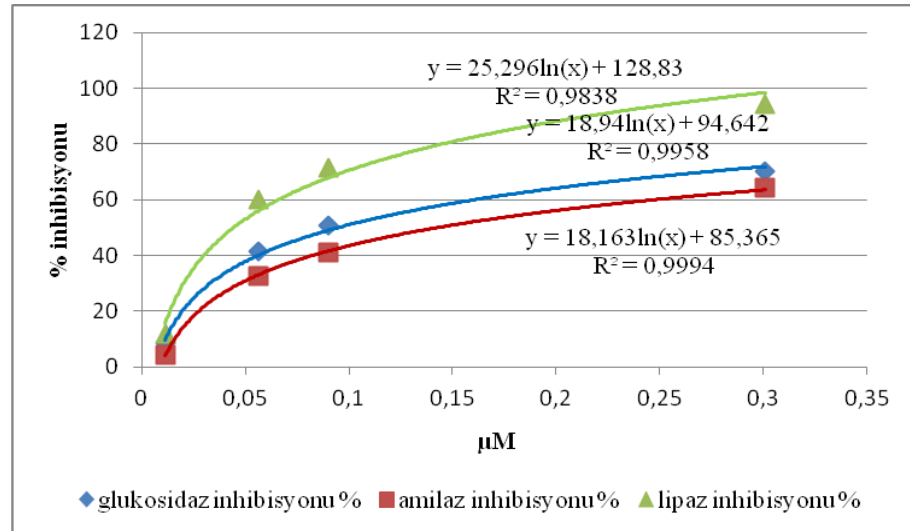
*İn vitro* mide sindiriminden sonraki enzim inhibisyon yüzdeleri, her enzim ve her örnek için *in vitro* sindirim öncesine göre daha düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bunun nedeni, sindirim süreci, sıcaklık ve pH değişim (asidik ya da bazik

bir ortam) gibi etkiler olabilir.

*İn vitro* mide sindiriminden sonra en düşük enzim inhibisyonu 1 mg/mL konsantrasyondaki adaçayında  $\alpha$ -amilaz enzimi için saptanmıştır (% 58.34±0.67) ( $p < 0.05$ ). *İn vitro* mide sindiriminden sonra en yüksek enzim inhibisyonu ise  $\alpha$ -glukosidaz enzimi için biberiye örneğinde (% 84.71±0.86) bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Adaçayı ve biberiye örneklerinin 1 mg/mL konsantrasyondaki karnosik asit içerikleri sırasıyla 3.76 ve 18.72  $\mu\text{g/mL}$  bulunmuştur. Bu yüzden, karnosik asit standardının 3.76 ve 18.72  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarda enzim inhibisyonları saptanmıştır (Çizelge 4.15).

Enzim inhibisyon eğrileri şekil 4.21’de görüldüğü gibi yüzde  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzim inhibisyon değerlerinin konsantrasyona karşı fonksiyonu olarak çizilmiştir. Enzim inhibisyon yüzdeleri karnosik asit standardının konsantrasyonuna karşı logaritmik olarak artış göstermiştir ( $r^2 = 0.9$ ). Karnosik asit standardı en yüksek inhibisyon aktivitesini  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukosidaz enzimlerine kıyasla lipaz enzimine karşı göstermiştir ( $p < 0.05$ ).



Şekil 4.21. Karnosik asit standardının enzim inhibisyon grafikleri

**Çizelge 4.15.** Karnosik asit standardının enzim inhibisyon yüzdeleri

	Karnosik asit konsantrasyonu	
	3.76 µg/mL	18.72 µg/mL
α-Glukosidaz inhibisyonu (%)	8.51±0.41 <sup>b,B</sup>	41.46±0.19 <sup>a,B</sup>
α-Amilaz inhibisyonu (%)	4.41±0.41 <sup>b,C</sup>	32.55±0.22 <sup>a,C</sup>
Lipaz inhibisyonu (%)	12.07±0.11 <sup>b,A</sup>	60.12±0.44 <sup>a,A</sup>

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). (n = 6)

3.76 ve 18.72 µg/mL konsantrasyondaki karnosik asit standardının α-amilaz enzim inhibisyon yüzdeleri sırasıyla % 4.41±0.41 ve 32.55±0.22, α-glukosidaz enzim inhibisyon yüzdeleri sırasıyla % 8.51±0.41 ve 41.46±0.19, lipaz enzim inhibisyon yüzdeleri ise sırasıyla % 12.07±0.11 ve 60.12±0.44 olarak bulunmuştur. Ancak, sırasıyla 3.76 ve 18.72 µg/mL karnosik asit içeren 1 mg/mL konsantrasyondaki adaçayı ve biberiye örnekleri karnosik asit standardına göre α-amilaz, α-glukosidaz ve lipaz enzimlerine karşı daha yüksek enzim inhibisyon aktiviteleri göstermişlerdir (Çizelge 4.15). Daha yüksek enzim inhibisyon aktiviteleri karnosik asit dışındaki biyoaktif bileşenler ve antinutrisyonel faktörler nedeniyle olabilir.

Karnosik asit eşdeğer inhibisyon kapasitesileri (CAEIC<sub>50</sub>) her enzim ve her örnek için hesaplanmıştır (Çizelge 4.16). En yüksek CAEIC<sub>50</sub> değeri α-glukosidaz, α-amilaz ve lipaz enzimi için biberiye örneğinde bulunmuştur. CAEIC<sub>50</sub> ve IC<sub>50</sub> değerlerinden, biberiyenin adaçayına göre sindirim enzimleri için daha yüksek inhibisyon kapasitesine sahip olduğu anlaşılmaktadır.

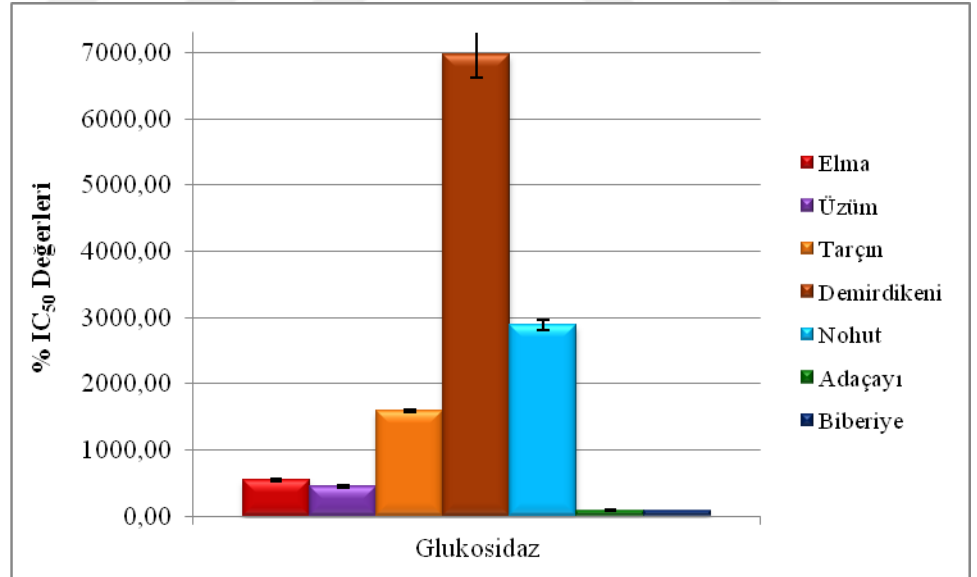
**Çizelge 4.16.** Örneklerin α-glukosidaz, α-amilaz, lipaz enzimleri için CAEIC<sub>50</sub> değerleri

Örnekler	CAEIC <sub>50</sub> Değerleri (mM karnosik asit / g örnek)		
	α-Glukosidaz	α-Amilaz	Lipaz
Adaçayı	4.55	0.67	103.75
Biberiye	4.78	0.83	149.09

#### 4.4. Tüm Örneklerin $\alpha$ -Amilaz, $\alpha$ -Glukosidaz ve Lipaz Enzimleri Üzerindeki İnhibisyon Etkilerinin Kıyaslanması

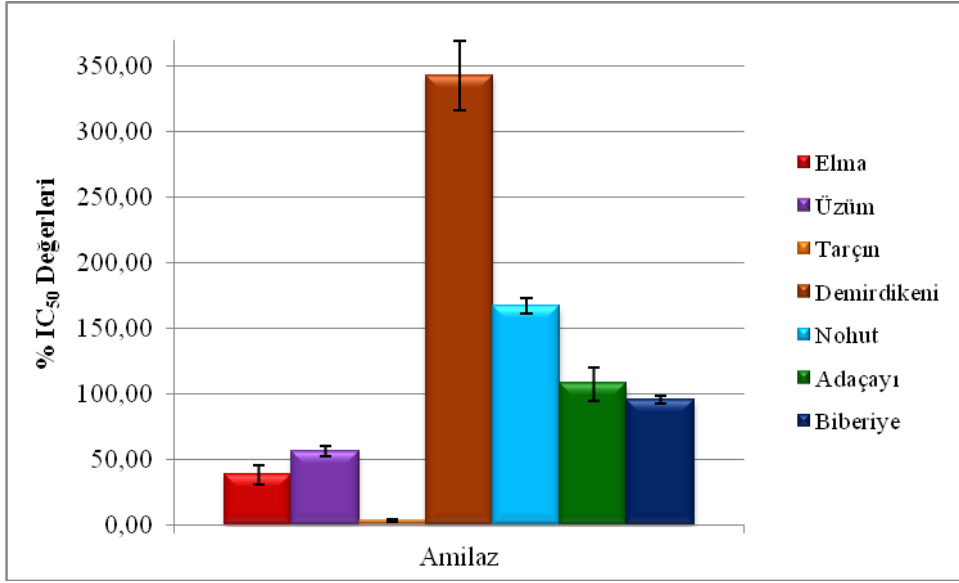
Elma, üzüm, tarçın, demirdikeni, nohut, adaçayı, biberiye örneklerinin  $\alpha$ -glukosidaz enzimi üzerine inhibisyon etkilerini ifade eden  $IC_{50}$  değerleri sırasıyla  $544.27 \pm 21.94$ ,  $445.63 \pm 15.67$ ,  $1592 \pm 17.58$ ,  $6967 \pm 342.52$ ,  $2885 \pm 85.44$ ,  $88.49 \pm 2.35$  ve  $76.80 \pm 1.68$   $\mu\text{g/mL}$  olarak bulunmuştur.

En yüksek  $IC_{50}$  değeri ( $6967 \pm 342.52$   $\mu\text{g/mL}$ ) ile  $\alpha$ -glukosidaz enzimi üzerine en az inhibisyon etki gösteren örneğin demirdikeni olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ) (Şekil 4.22).  $IC_{50}$  değeri, %50 inhibisyonun sağlandığı konsantrasyonu ifade ettiğinden, ne kadar düşük olursa, o kadar etkili olacağı değerlendirilmesi yapılacağı için, yüksek  $IC_{50}$  değeri, beklenen sonucun elde edilememesi olarak değerlendirilebilir.  $\alpha$ -Glukosidaz enzimi üzerine en yüksek inhibisyon etkiyi gösteren gıdanın ise en düşük  $IC_{50}$  değeri ( $76.80 \pm 1.68$   $\mu\text{g/mL}$ ) ile biberiye olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ).



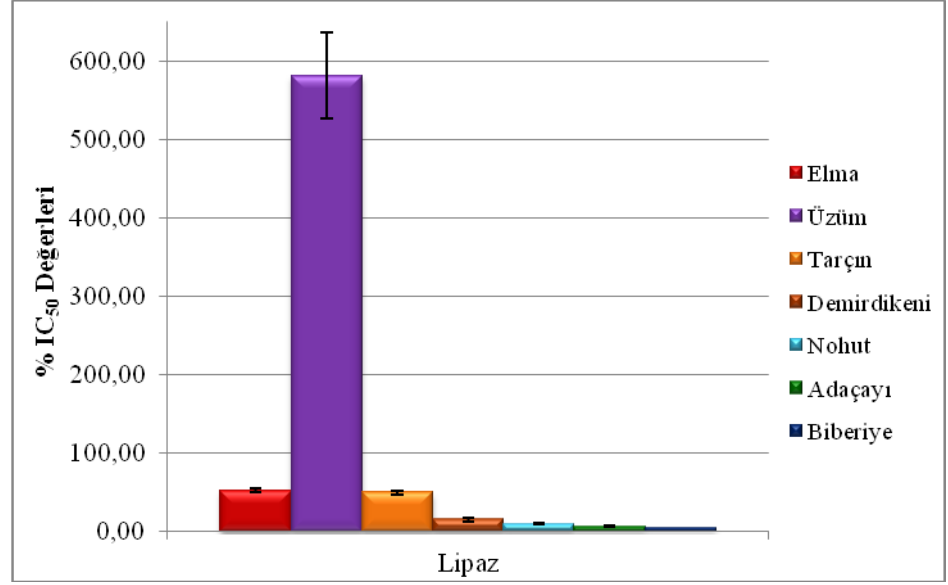
Şekil 4.22. Örneklerin  $\alpha$ -glukosidaz enzimi için  $IC_{50}$  değerleri

Elma, üzüm, tarçın, demirdikeni, nohut, adaçayı, biberiye örneklerinin  $\alpha$ -amilaz enzimi üzerine inhibisyon etkilerini ifade eden  $IC_{50}$  değerleri sırasıyla  $38.41 \pm 7.26$ ,  $56.12 \pm 3.60$ ,  $3.54 \pm 0.86$ ,  $342.83 \pm 26.22$ ,  $166.97 \pm 6.12$ ,  $107.65 \pm 12.64$  ve  $95.65 \pm 2.73$   $\mu\text{g/mL}$  olarak bulunmuştur. En yüksek  $IC_{50}$  değeri ( $342.83 \pm 26.22$   $\mu\text{g/mL}$ ) ile  $\alpha$ -amilaz enzimi üzerine en az inhibisyon etki gösteren örneğin demirdikeni olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ )  $\alpha$ -Amilaz enzimi üzerine en yüksek inhibisyon etkiyi gösteren gıdanın en düşük  $IC_{50}$  değeri ( $3.54 \pm 0.86$   $\mu\text{g/mL}$ ) ile tarçın olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ) (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Örneklerin  $\alpha$ -amilaz enzimi için  $IC_{50}$  değerleri

Elma, üzüm, tarçın, demirdikeni, nohut, adaçayı, biberiye örneklerinin lipaz enzimi üzerine inhibisyon etkilerini ifade eden  $IC_{50}$  değerleri sırasıyla  $52.65 \pm 2.05$ ,  $581.70 \pm 54.14$ ,  $49.63 \pm 2.72$ ,  $15.25 \pm 2.03$ ,  $9.74 \pm 1.09$ ,  $6.20 \pm 0.63$  ve  $4.31 \pm 0.62$   $\mu\text{g/mL}$  olarak tespit edilmiştir. Örneklerin düşük  $IC_{50}$  değerleri ile lipaz enzimi için yüksek afiniteye sahip oldukları görülmektedir. En yüksek  $IC_{50}$  değeri ( $581.70 \pm 54.14$   $\mu\text{g/mL}$ ) ile lipaz enzimi üzerine en az inhibisyon etki gösteren örneğin üzüm olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ) Lipaz enzimi üzerine en yüksek inhibisyon etkiyi gösteren gıdanın ise en düşük  $IC_{50}$  değeri ( $4.31 \pm 0.62$   $\mu\text{g/mL}$ ) ile biberiye olduğu bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Örneklerin lipaz enzimi için IC<sub>50</sub> değerleri

İncelenen tüm gıda örneklerinin (elma, üzüm, tarçın, demirdikeni, nohut, adaçayı, biberiye)  $\alpha$ -glukosidaz,  $\alpha$ -amilaz ve lipaz enzimleri üzerinde inhibe edici etkileri IC<sub>50</sub> değerleri ile değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.17'de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Örneklerin  $\alpha$ -glukosidaz,  $\alpha$ -amilaz ve lipaz enzimleri için IC<sub>50</sub> değerleri

Örnekler	IC <sub>50</sub> Değerleri ( $\mu$ g/mL)		
	$\alpha$ -Glukosidaz	$\alpha$ -Amilaz	Lipaz
Elma	544.27±21.94 <sup>D,a</sup>	38.41±7.26 <sup>D,b</sup>	52.65±2.05 <sup>B,b</sup>
Üzüm	445.63±15.67 <sup>DE,b</sup>	56.12±3.60 <sup>D,c</sup>	581.70±54.14 <sup>A,a</sup>
Tarçın	1592±17.58 <sup>C,a</sup>	3.54±0.86 <sup>E,c</sup>	49.63±2.72 <sup>B,b</sup>
Demirdikeni	6967±342.52 <sup>A,a</sup>	342.83±26.22 <sup>A,b</sup>	15.25±2.03 <sup>B,b</sup>
Nohut	2885±85.44 <sup>B,a</sup>	166.97±6.12 <sup>B,b</sup>	9.74±1.09 <sup>B,c</sup>
Adaçayı	88.49±2.35 <sup>E,b</sup>	107.65±12.64 <sup>C,a</sup>	6.20±0.63 <sup>B,c</sup>
Biberiye	76.80±1.68 <sup>E,b</sup>	95.65±2.73 <sup>C,a</sup>	4.31±0.62 <sup>B,c</sup>

Farklı büyük harfler aynı kolon içerisindeki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir. Farklı küçük harfler ise aynı satırdaki değerlerin istatistiksel olarak önemli farklılığı göstermektedir ( $p < 0.05$ ). (n = 6)

İncelenen gıda örnekleri içinde en dikkati çeken gıda örneğinin  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimi için en düşük  $IC_{50}$  değerlerine sahip olan biberiye örneğinin olduğu görülmektedir.

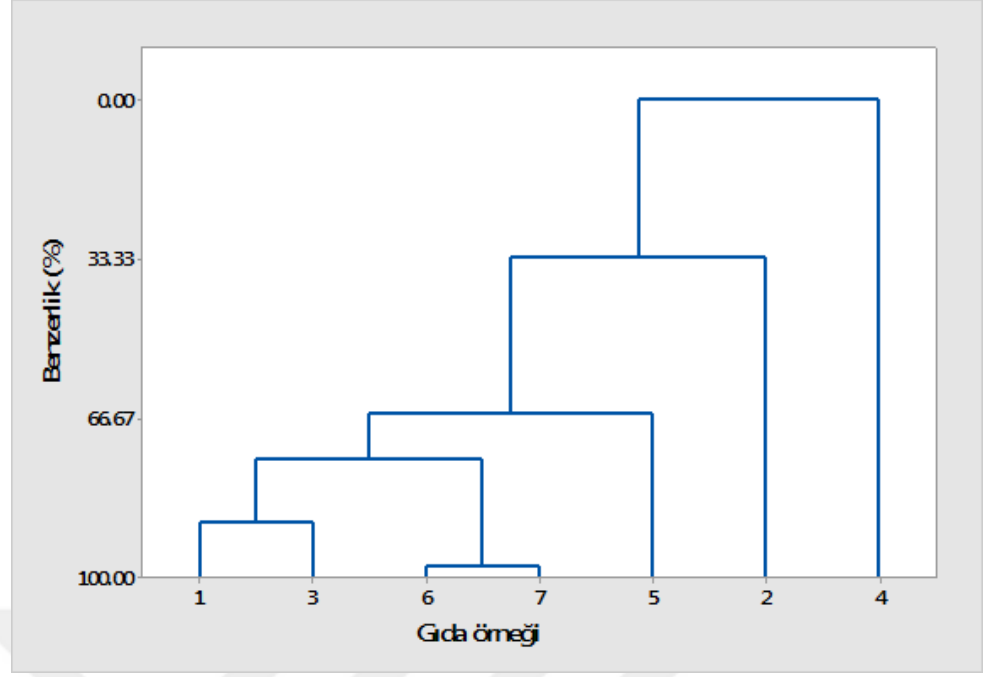
İnsanlarda, karbonhidratlar oligosakaritlerin ve disakkaritlerin monosakkaritlere parçalanmasından sorumlu pankreatik  $\alpha$ -amilaz ve bağırsak  $\alpha$ -glukosidaz enzimleri ile hidrolize edilirler. Bu enzimlerin inhibisyonunun insüline bağımlı olmayan diyabet tedavisinde kullanımı yararlıdır çünkü kandaki glukozun açığa çıkmasını yavaşlatır (Podsędek et al., 2014).

Pankreatik  $\alpha$ -amilaz inhibitörleri nişastanın parçalanması kontrolü yolu ile tokluk hiperglisemi seviyesini düşürmek için etkili bir strateji sunarlar (Ponnusamy et al., 2011).

$\alpha$ -Amilazın nişastayı disakkaritlere parçaladığını ve bunun glukoz salınımı için izomaltaza özellikle  $\alpha$ -glukosidaza göre hareket ettiğini belirtmek önemlidir. Güçlü bir  $\alpha$ -glukosidaz inhibitör aktivitesi varlığında, bağırsakta disakkaritlerin glukozu parçalanmasının kontrolü  $\alpha$ -amilaz inhibisyonundan daha önemli görünmektedir. Bununla birlikte, potansiyel  $\alpha$ -glukosidaz inhibisyon aktivitesi ile orta derecede  $\alpha$ -amilaz inhibisyonu, bağırsakta glukoz üretimi için karbohidrat substratının kullanılabilirliğini yavaşlatarak iyi bir strateji oluşturulabilir (Kajaria et al., 2013). Sentetik inhibitörler güçlü  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukosidaz inhibitör özellikleri ile, kolonda sindirilmemiş sakkaritlerin anormal bakteriyel fermentasyonuna yol açan pankreatik  $\alpha$ -amilazın çok fazla inhibisyonu ile sonuçlanır (Nagmoti and Juvekar, 2013).

Biberiye örneğinin de bu bilgileri destekleyici şekilde güçlü  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz inhibitörü olduğu, orta derecede  $\alpha$ -amilaz inhibitör etkisine sahip olduğu saptanmıştır.

Gıda örnekleri  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri için  $IC_{50}$  değerlerine bağlı olarak Euclidean uzaklığına dayalı sınıflandırılmıştır (Şekil 4.25).



**Şekil 4.25.** Gıda örneklerinin  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri için  $IC_{50}$  değerlerine bağlı olarak Euclidean uzaklığına dayalı sınıflandırılması (1-Elma, 2-Üzüm, 3-Tarçın, 4-Demirdikeni, 5-Nohut, 6-Adaçayı, 7-Biberiye)

Adaçayı ve biberiye örneklerinin  $IC_{50}$  değerleri açısından % 97.64 oranında benzer olduğu bulunmuştur. Elma ve tarçının da % 88.45 oranında benzer olduğu ve bu grubun adaçayı ve biberiye grubu ile % 75 oranında benzediği saptanmıştır. Bu gruplara nohut örneğinin % 65 oranında benzediği, lipaz enzimi için en yüksek  $IC_{50}$  değerine sahip olan üzümün ise % 32 oranında benzediği saptanmıştır.  $\alpha$ -Amilaz ve  $\alpha$ -glukosidaz enzimleri için en yüksek  $IC_{50}$  değerlerine sahip olan demirdikeninin ise diğer örneklerle benzerliğinin % 0.00 olduğu saptanmıştır.



## 5. SONUÇ

Dünyada hem gelişmiş ülkelerde hem de gelişmekte olan ülkelerde obezite her geçen gün artış göstermektedir. Fazla kilo ve obezite ile ilişkili hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde en önemli stratejilerden biri karbonhidrat ve lipidlerin hidroliz ve emiliminde rol oynayan sindirim enzimlerine karşı doğal inhibitörlerinin geliştirilmesidir. Çalışmamızda  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz sindirim enzimleri üzerinde inhibe edici etkileri olduğu bilinen bileşenlerden antosiyanin ve prosiyanidince zengin gıda örneklerinden elma, üzüm ve tarçın; saponince zengin gıda örneklerinden demir dikenini (*Tribulus terrestris*) ve nohut, karnosik asitçe zengin gıda örneklerinden adaçayı ve biberiye incelenmiştir.

Antosiyanince zengin örnekler içinde, üzümün  $164.76 \pm 2.51$  mg/100 g, elmanın  $24.19 \pm 0.89$  mg/100 g ve tarçının  $19.15 \pm 0.40$  mg/100 g antosiyanin içerdiği bulunmuştur. Örnekler arasında en yüksek antosiyanin miktarı üzümde saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Antosiyanin biyoerişebilirliği elmada (%  $10.23 \pm 1$ ) üzüm (%  $8.23 \pm 0.64$ ) ve tarçına (%  $8.73 \pm 0.70$ ) göre daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Prosiyanidince zengin örnekler içinde en fazla prosiyanidin içeriği tarçın ( $6432.54 \pm 177.31$  mg/100g) örneğinde görülmüştür. Bunu elma ( $147.21 \pm 3.88$  mg/100g) ve üzüm ( $86.04 \pm 2.53$  mg/100g) izlemiştir ( $p < 0.05$ ). Prosiyanidin biyoerişebilirliği tarçında (%  $18.75 \pm 1.49$ ) ve elmada (%  $17.57 \pm 0.71$ ) üzümüne (%  $14.08 \pm 0.74$ ) göre daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Nohutun saponin içeriği  $24.08 \pm 2.01$  mg/g bulunurken, demir dikeninin (*Tribulus terrestris*) saponin içeriği  $13.16 \pm 0.89$  mg/g bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Saponin biyoerişebilirliği demir dikeninde (%  $51.84 \pm 2.85$ ) nohuta (%  $39.98 \pm 2.97$ ) göre daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Biberiyede bulunan karnosik asit miktarı ( $18.72 \pm 0.33$  mg/g) adaçayından ( $3.76 \pm 0.13$  mg/g) daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Karnosik asit biyoerişebilirliği biberiye ve adaçayı örnekleri için sırasıyla %  $45.10 \pm 1.88$  ve %  $38.32 \pm 0.21$  olarak saptanmıştır.

Gıda örneklerinin (elma, üzüm, tarçın, demir diken, nohut, adaçayı, biberiye)  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz enzimleri üzerinde inhibe edici etkilerinin  $IC_{50}$  değerleri ile değerlendirilmiş,  $\alpha$ -glukosidaz enzimi üzerine en yüksek inhibisyon etkiyi gösteren gıdanın en düşük  $IC_{50}$  değeri ( $76.80 \pm 1.68 \mu\text{g/mL}$ ) ile biberiye olduğu,  $\alpha$ -amilaz enzimi üzerine en yüksek inhibisyon etkiyi gösteren gıdanın en düşük  $IC_{50}$  değeri ( $3.54 \pm 0.86 \mu\text{g/mL}$ ) ile tarçın olduğu, lipaz enzimi üzerine en yüksek inhibisyon etkiyi gösteren gıdanın en düşük  $IC_{50}$  değeri ( $4.31 \pm 0.62 \mu\text{g/mL}$ ) ile biberiye olduğu görülmektedir. Biberiye örneğinin güçlü  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz inhibitörü olduğu, orta derecede  $\alpha$ -amilaz inhibitör etkisine sahip olduğu saptanmıştır.

Ayrıca çalışmamızda geliştirilen formül ile gıda örneklerinin standartlar cinsinden eşdeğer inhibisyon kapasiteleri ifade edilmiştir. Antosiyanin ve prosiyanidine zengin örnekler olan elma, üzüm ve tarçın için kateşin eşdeğer inhibisyon kapasiteleri ( $CEIC_{50}$ ), saponine zengin örnekler olan nohut ve demirdiken için diosgenin eşdeğer inhibisyon kapasiteleri ( $DEIC_{50}$ ), karnosik asitçe zengin örnekler olan adaçayı ve biberiye için karnosik asit eşdeğer inhibisyon kapasiteleri ( $CAEIC_{50}$ ) hesaplanmıştır. Elde edilen değerlerin de  $IC_{50}$  değerleri ile uyumlu olduğu bulunmuştur.

Tüketimden önce örneklerin enzim inhibisyonunun değerlendirilmesine ek olarak, enzim inhibisyonu analizleri  $1 \text{ mg/mL}$  konsantrasyondaki örneklerin *in vitro* mide sindiriminden sonra da yapılmıştır. *In vitro* mide indirimden sonraki enzim inhibisyon yüzdeleri, her enzim ve her örnek için *in vitro* sindirim öncesine göre daha düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bunun nedeni, sindirim süreci, sıcaklık ve pH değişim (asidik ya da bazik bir ortam) gibi etkiler olabilir.  $1 \text{ mg/mL}$  konsantrasyonda örneklerde *in vitro* mide sindirimden sonraki en düşük enzim inhibisyonu  $\alpha$ -glukosidaz enzimi için demirdiken örneğinde (%  $8.13 \pm 0.90$ ) bulunurken, en yüksek enzim inhibisyonu ise lipaz enzimi için nohut örneğinde (%  $85.38 \pm 0.73$ ) bulunmuştur.

Çalışmamızda biyoaktif bileşiklerce zengin elma, siyah üzüm, tarçın, demir diken, nohut, adaçayı ve biberiyenin karbonhidrazlar ve lipaz üzerine inhibisyon etkileri araştırılarak obeziteyi önlemeye yeni bir bakış açısıyla yaklaşmıştır. Gıda

örneklerinin (elma, üzüm, tarçın, demir diken, nohut, adaçayı, biberiye)  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -glukosidaz ve lipaz sindirim enzimlerini *in vitro* olarak inhibe etme potansiyeline sahip olduklarını ve düşük kalorili bir diyet ile birlikte, vücut ağırlığı yönetiminde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu sonuçlardan yola çıkarak bu gıdaların ekstraktlarının ileride izolasyonu, aktif inhibe edici bileşiklerin tanımlanması, bu bileşiklerin sinerjistik ve antogonistik etkilerinin saptanması ve obezite ile mücadelede etkili olabilecek yeni gıdaların tasarlanması mümkün olabilecektir. Bu gıdalar, obezite ve diyabet için sentetik ilaçlara göre doğal, güvenli ve uygun maliyetli alternatifler sağlayabilir. Bu nedenle ilgili alandaki literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır.

Çalışmadan elde edilen sonuçların öncelikle konu ile ilgili literatür eksikliğini tamamlayacağı ve bu konuda planlanabilecek yeni çalışmalara kaynak oluşturacağı düşünülmektedir. Çalışmada kullanılan *in vitro* yöntemler ile elde edilen veriler yapılabilecek *in vivo* çalışmalara da bir ön bilgi niteliği taşımaktadır.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Acosta, E.**, 2009, Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 14:1, 3-15.
- Akgün, B., Yücecan, S. ve Kayakırılmaz, K.**, 1987, Çeşitli ıslatma ve haşlama işlemlerinin kuru baklagillerin çinko, demir ve kalsiyum değerlerine etkisi - 1: ıslatma işlemleri sırasında oluşan mineral kayıpları, *Gıda*, 12, 4, 229-233.
- Alpers, D.H.**, 2003, Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), Carbohydrates, *Digestion, Absorption and Metabolism*, 881-887p.
- Alvarez, A.G., Majem, L.S., Barba, L.R., Castell, C., Faz, M. and Uauy, R.**, 2007, Obesity and overweight trends in Catalonia, Spain (1992-2003): Gender and socio-economic determinants, *Public Health Nutr.*, 10:1368-78.
- Ammerman, C.B., Baker, D.H. and Lewis, A.J.**, 1995, Bioavailability of Nutrients for Animals: Amino Acids, Minerals, and Vitamins, Academic Press, San Diego, CA., 441p.
- Anonim**, 2010, Türkiye Obezite (Şişmanlık) ile Mücadele ve Kontrol Programı (2010-2014), Sağlık Bakanlığı, Ankara, Yayın No: 773, 112s.
- Appeldoorn, M.M.**, 2009, Dietary A- and B-type procyanidins Characterization and biofunctional potential of an abundant and diverse group of phenolics, Ph.D thesis Wageningen University, The Netherlands, ISBN: 978-90-8585-367-1
- Arnnok, P., Ruangviriyachai, C., Mahachai, R., Techawongstien, S. and Chanthai, S.**, 2012, Determination of total phenolics and anthocyanin contents in the pericarp of hot chilli pepper (*Capsicum annuum* L.), *International Food Research Journal*, 19(1): 235-243.
- Artık, N.**, 2006, Türkiye’de yetiştirilen başlıca üzüm çeşitlerinden elde edilen çekirdeklerin flavan-3 ol bileşimi, T.C. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu, Ankara, 11s.
- Artık, N. ve Sezgin A.E.C.**, 2010, Türk Tahin Helvalarında Saponin Miktarının HPLC İle Belirlenmesi, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 31. sayı, 45-50

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Aza-González, C. and Ochoa-Alejo, N.**, 2012, Characterization of Anthocyanins from Fruits of Two Mexican Chili Peppers (*Capsicum annuum* L.), *J. Mex. Chem. Soc.*, 56(2), 149-151
- Aza-González, C., Núñez-Palenius, H.G. and Ochoa-Alejo, N.**, 2012, Molecular Biology of Chili Pepper Anthocyanin Biosynthesis, *J. Mex. Chem. Soc.*, 56(1), 93-98
- Bagriacik, N., Onat, H., Ilhan, B., Tarakci, T., Oşar, Z., Özyazar, M., Hatemi, H. and Yıldız, G.**, 2009, Obesity Profile in Turkey, *International Journal of Diabetes and Metabolism*, 17:5-8.
- Balzer, J., Rassaf, T., Heiss, C., Kleinbongard, P., Lauer, T., Merx, M., Heussen, N., Gross, H.B., Keen, C.L., Schroeter, H. and Kelm, M.**, 2008. Sustained benefits in vascular function through flavanolcontaining cocoa in medicated diabetic patients, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 51: 2141-49.
- Beecher, G.R.**, 2004, Proanthocyanidins: Biological Activities Associated with Human Health, *Pharmaceutical Biology*, Vol. 42, Supplement, pp. 2–20
- Berker, F.B.E., Topçu, G., Günaydın, K., Öztekin, N., Kolak, U., Başkan, S. ve Kepekçi, E.** 2006, Terpenoid ve hidroksi-antrokinon yapısındaki bitki aktif maddelerinin ayırımı ve tayini için kapiler elektroforez ile analiz yöntemleri geliştirilmesi ve bu yöntemlerin Türkiye bitki florasındaki örneklerin analize uygulaması, TÜBİTAK TBAG Proje 2312 103T053, 2006: 1-35, <http://uvt.ulakbim.gov.tr>
- Birari, R. B. and Bhutani, K.K.**, 2007, Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential, *Drug Discovery Today*, Volume 12,19:20, 879-889.
- Branca, F., Nikogosian, H. and Lobstein, T.**, 2007, The challenge of obesity in the WHO European Region and the strategies for response, World Health Organization, Denmark.
- Brody, T.**, 1999, *Nutritional Biochemistry*, 2nd edn., San Diego: Academic Press, pp. 57–271.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Bustanji, Y., Issa, A., Mohammad, M., Hudaib, M., Tawah, K., Alkhatib, H., Almasri, I. and Al-Khalidi, B.,** 2010, Inhibition of hormone sensitive lipase and pancreatic lipase by Rosmarinus officinalis extract and selected phenolic constituents, *J. Med. Plant. Res.*, 4:2235-2242.
- Courraud, J., Berger, J., Cristol, J.P. and Avallone, S.,** 2013, Stability and bioaccessibility of different forms of carotenoids and vitamin A during *in vitro* digestion. *Food Chemistry*, 136(2), 871-877.
- Çam, M., Hışıl Y. and Durmaz G.,** 2009, Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods, *Food Chemistry*, 112, 721–6
- Çayır, A., Atak, N. ve Köse, S.K.,** 2011, Beslenme ve Diyet Kliniğine Başvuranlarda Obezite Durumu ve Etkili Faktörlerin Belirlenmesi, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 64:1, 13-19.
- Çelik, A.D.,** 2011, Obezite Tedavisinde Kullanılan Fitoterapötikler, TC. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı Fitoterapi Programı, Yüksek Lisans Tezi, Tez Danışmanı Prof. Dr. Gülnur Toker, Ankara, Şubat 2011
- Demiralay, M. ve Çamurcu, A.Y.,** 2005, Cure, Agnes ve K-means Algoritmalarındaki Kümeleme Yeteneklerinin Karşılaştırılması, *İstanbul Ticaret Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 4:8:2:1-18.
- Diamanti, J.,** 2010, Quality, Nutritional Quality and Nutraceutical value as a New Task for Strawberry Breeding, (PhD Thesis), Università Politecnica Delle Marche, Facolta di Agraria, Ancona, Italy, 104 p.
- Doolaeghe, E.H.A., Raes, K., Vos, F.D., Verhé, R. and Smet, S.D.,** 2011, Absorption, Distribution and Elimination of Carnosic Acid, A Natural Antioxidant from Rosmarinus officinalis in Rats, *Plant Foods Hum Nutr*, 66:196–202

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Ercan, P. ve El, S.N.**, 2011, Changes in content of coenzyme Q10 in beef muscle, beef liver and beef heart with cooking and in vitro digestion, *Journal of Food Composition and Analysis*, 24:8, 1136-1140.
- Erel, C., Uğurlu, M., Aydın, F., Kesici, C., Çakır, B., Özoğlu, F. ve Kaplan, Y.**, 2004, Sağlıklı Beslenelim Kalbimizi Koruyalım Projesi Araştırma Raporu, T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara, Ekim 2004
- Evans, A.M. and Fornasini, G.**, 2003, Pharmacokinetics of L-carnitine, *Clinical Pharmacokinetics*, 42:11, 941-67.
- Fenwick, D. E. and Oakenfull, D.**, 1983, Saponin content of food plants and some prepared foods. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 34, 186–191.
- Finn, R.**, 2007, No Change in Prevalence of Obesity in U.S., *Clinical Endocrinology News, Obesity & Metabolic Syndrome*, December, 20.
- Friedman, H.I. and Nylund B.**, 1980, Intestinal fat digestion, absorption and transport- a review, *American Journal of Clinical Nutrition*, 33, 1108-39.
- Gafar, M.K., Itodo, A.U., Atiku, F.A., Hassan, A.M. and Peni, I.J.**, 2011, Proximate and Mineral Composition of the Leaves of Hairy Indigo (*Indigofera astragalina*), *Pakistan Journal of Nutrition*, 10, 2, 168-175.
- Galet, P.**, 1993. Précis de viticulture, Emprimerie Déhan, Montpellier, pp.216-228.
- Garza, A.L., Milagro, F.I., Boque, N., Campión, J. and Martínez, J.A.**, 2011, Natural Inhibitors of Pancreatic Lipase as New Players in Obesity Treatment, *Planta Med*, 77:8, 773–785.
- Global Nutrition Report**, 2016, <http://ebrary.ifpri.org/utills/getfile/collection/p15738coll2/id/130354/filename/130565.pdf> (Erişim tarihi: 15 Temmuz 2016)

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Golding, M. and Wooster, T.J.**, 2010, The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion, *Curent Opinion in Colloid and Interface Science*, 15, 90-101.
- Gonçalves, R., Mateus, N. and Freitas V.**, 2011, Inhibition of  $\alpha$ -amylase activity by condensed tannins, *Food Chemistry*, 125:2, 665–672.
- Griffith, A.M.**, 2012, Inhibition of  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Glucosidase by Bioflavonoids, Oregon State University, University Honors College, Honors Baccalaureate of Science in Bioresource Research, 33 p.
- Gu, L.W., Kelm, M.A., Hammerstone, J.F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., Gebhardt, S. and Prior, R.L.**, 2004, Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption, *J. Nutr.*, 134, 613-617.
- Gu, Y., William, J., Hurst, W.J., Stuart, D.A. and Lambert, J.D.**, 2011, Inhibition of Key Digestive Enzymes by Cocoa Extracts 1 and Procyanidins, *J Agric Food Chem.*, May 25, 59(10): 5305–5311.
- Güven, E.Ç., Otkun, G.T. ve Boyacıoğlu, D.**, 2010, Flavonoidlerin Biyoyararlılığını Etkileyen Faktörler, *Gıda*, 35:5,387-394
- Hammerstone, J.F., Lazarus, S.A. and Schmitz, H.H.**, 2000, Procyanidin Content and Variation in Some Commonly Consumed Foods, *J.Nutr.*, 130:8, 2086-2092.
- He, Q., Lv, Y. and Yao, K.**, 2007, Effects of tea polyphenols on the activities of  $\alpha$ -amylase, pepsin, trypsin and lipase, *Food Chemistry*, 101:3, 1178–1182.
- He, J., Wallace, T.C., Keatley, K., Failla, M. and Giusti, M.M.**, 2009, Stability of Black Raspberry Anthocyanins in the Digestive Tract Lumen and Transport Efficiency into Gastric and Small Intestinal Tissues in the Rat, *J Agric.Food Chem.*,57(8):3141-48.



### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hogan, S.P.**, 2009, Grape Extracts for Type 2 Diabetes Treatment through Specific Inhibition of Alpha-Glucosidase and Antioxidant Protection, Doctor of Philosophy in Food Science and Technology, Virginia Polytechnic Institute and State University, April 2, Blacksburg, Virginia, 155 p.
- Hogan, S., Zhang, L., Li J., Sun, S., Canning, C. and Zhou, K.**, 2010, Antioxidant rich grape pomace extract suppresses postprandial hyperglycemia in diabetic mice by specifically inhibiting alpha-glucosidase, *Nutrition & Metabolism*, 7:71
- Hosstettman, K. and Marston, A.**, 1995, Saponins, Cambridge University Pres, 548.
- House, W.A.**, 1999, Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc, *Field Crops Research*, 60: 115-141.
- Ikarashi, N., Takeda, R., Ito, K., Ochiai, W. and Sugiyama, K.**, 2011, The Inhibition of Lipase and Glucosidase Activities by Acacia Polyphenol, eCAM, 272075
- Jukanti, A.K., Gaur, P.M., Gowda, C. L. L. and Chibbar, R. N.**, 2012, Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review, *British Journal of Nutrition*, 108, S11–S26.
- Kajaria, D., Ranjara, Tripathi, J., Tripathi, Y.B. and Tiwari, S.**, 2013, *In-vitro*  $\alpha$  amylase and glycosidase inhibitory effect of ethanolic extract of antiasthmatic drug — Shirishadi, *J Adv Pharm Technol Res.*, Oct-Dec, 4, 4, 206–209.
- Karadeniz, F. ve Ekşi, A.**, 2001, Elma Suyunda Fenolik Madde Dağılımı Üzerine Araştırma, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 7:3, 135-141.
- Khokhar, S. and Apenten, R.K.O.**, 2009, Antinutritional Factors in Food Legumes and Effects of Processing, *The Role of Food, Agriculture, Forestry, and Fisheries in Human Nutrition - Volume 4*, 390 p.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Koh, L.W., Wog, L.L., Loo, Y. Y., Kasapis, S. and Huang, D.,** 2010, Evaluation of Different Teas against Starch Digestability by Mamalian Glycosidases, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 148-54.
- Krassas, G.E., Tsametis, C., Baleki, V., Constantinidis, T., Ünlühizarcı, K., Kurtoğlu, S. and Keleştimur, F.,** 2004, Balkan Group for the study of obesity. Prevalence of overweight and obesity among children and adolescents in Thessaloniki-Greece and Kayseri-Turkey, *Pediatr Endoc Rev.*, 2004:1 Suppl.3:460-464.
- Lapidot, T., Harel, S., Granit, R. and Kanner, J.,** 1998, Bioavailability of Red Wine Anthocyanins As Detected in Human Urine, *J. Agric. Food Chem.*, 46 (10), pp 4297–4302
- Lásztity, R., Hidvégi, M. and Bata, A.,** 1998, Saponins in food, *Food Rev. Int.*, 14(4), 371-390
- Lee, I.A., Lee, J.H., Baik, N.I. and Kim, D.H.,** 2005, Antihyperlipitemic effect of crocin isolated from the fructus of gardenia jasminoides and Its metabolite crocetin, *Biol. Pharm. Bull.*, 28:11, 2106-2110.
- Lehmann, R.P., Halloran, K.G., Ozarko L.A. and Penman K.G.,** 2013, Photometric and HPLC-ELSD analytical methods for Tribulus terrestris, <http://www.mediherb.com.au/media/773555/TribulusPoster.pdf>
- Loizzo, M. R., Saab, A. M., Tundis, R., Menichini, F., Bonesi, M. and Piccolo, V.,** 2008, *In vitro* inhibitory activities of plants used in Lebanon traditional medicine against angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes related to diabetes, *J. Ethnopharmacol.*, 119: 109-116.
- Luis, J.C. and Johnson, C.B.,** 2005, Seasonal variations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary extracts. Analysis of their *in vitro* antiradical activity, *Spanish Journal of Agricultural Research*, 3:1:106-112
- Mazza, G.,** 1995, Anthocyanin in Grape and Grape Products, *CRC Critical Rewievs in Food Science and Nutrition*, 35(4): pp.341-371.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- McDougall, G.J., Dobson, P., Smith, P., Blake, A. and Stewart, D., 2005a,** Assessing Potential Bioavailability of Raspberry Anthocyanins Using an in Vitro Digestion System, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 5896-5904
- McDougall, G.J., Fyffe, S., Dobson, P. and Stewart, D., 2005b,** Anthocyanins from red wine – Their stability under simulated gastrointestinal digestion, *Phytochemistry*, 66 : 2540–2548
- Messina, M.J., 1999,** Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects, *Am J Clin Nutr.*;70(suppl):439S–50S. Printed in USA. © 1999 American Society for Clinical Nutrition
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W. and Brodkorb, A., 2014,** A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus, *Food Funct.*, 5, 1113–1124
- Mink, P.J., Scrafford, C.G., Barraji, L.M., Harnack, L., Hong, C.P., Nettleton, J.A. and Jacobs, D.R., 2007,** Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality: A prospective study in postmenopausal women, *Am. J. Clin. Nutr.*, 85, 895-909.
- Moreno, D.A., Ilic, N., Poulev, A., Brasaemle, D.L., Fried, S.K. and Raskin, I., 2003,** Inhibitory Effects of Grape Seed Extract on Lipases, *Nutrition*, 19, 876–879.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S. and Vojnov, A.A., 2006,** Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition, *Free Radical Research*, February, 40(2): 223–231.
- Nagmoti, D.M. and Juvekar, A.R., 2013,** *In vitro* inhibitory effects of Pithecellobium dulce (Roxb.) Benth seeds on intestinal  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic  $\alpha$ -amylase, *J Biochem Tech.*, 4, 3, 616-621.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Nemzer, B.V., Yashin, A.Y. and Yashin, Y.I.**, 2013, The Issues of Antioxidant Therapy, *Am. J. Biomed. Sci.*, 5(2), 80-108
- Ninomiya, K., Matsuda, H., Shimoda, H., Nishida, N., Kasajima, N., Yoshino T., Morikawa, T. and Yoshikawa, M.**, 2004, Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage, *Bioorg Med Chem Lett.*, 14:1943–1946.
- Oakenfull, D.**, 1981, Saponin in food-a review, *Food Chemistry*, 6:19-40
- Özkan, M., Kırca, A. ve Cemeroğlu, B.**, 2007, Gıdalara Uygulanan Bazı Özel Analiz Yöntemleri, *Gıda Analizleri*, ed: Cemeroğlu B., *GıdaTecnolojisi Derneği Yayınları No:34*, Ankara, p: 129.
- Peng, C.H., Su, J.D., Chyau, C.C., Sung, T.Y., Ho, S.S., Peng, C.C. and Peng, R.Y.**, 2007, Supercritical Fluid Extracts of Rosemary Leaves Exhibit Potent Anti-Inflammation and Anti-Tumor Effects, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71:9: 2223-2232
- Podsędek, A., Majewska, I., Redzynia, M., Sosnowska, D. and Koziolkiewicz, M.**, 2014, In Vitro Inhibitory Effect on Digestive Enzymes and Antioxidant Potential of Commonly Consumed Fruits, *J. Agric. Food Chem.*, 62, 4610–4617.
- Ponnusamy, S., Ravindran, R., Zinjarde, S., Bhargava, S. and Kumar, A.R.**, 2011, Evaluation of Traditional Indian Antidiabetic Medicinal Plants for Human Pancreatic Amylase Inhibitory Effect *In Vitro*, *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Volume 2011, Article ID 515647, 10 pages.
- Prada, J. and Aguilera, J.M.**, 2007, Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients, *Journal Food Science*, 72, 21–31.
- Prior, R.L. and Gu, L.**, 2005, Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet, *Phytochemistry*, 66 : 2264–2280
- Rižnar, K., Čelan, Š., Škerget, M. and Knez, Ž.**, 2008, Solubility of Carnosic acid and Carnosol from Rosemary Extract in Supercritical CO<sub>2</sub>, *Acta Chim. Slov.* 55: 516–5204

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Sandström, B.**, 2001, Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability, *British Journal of Nutrition*, 85(2): 181-185.
- Santos-Buelga, C. and Scalbert, A.**, 2000. Proanthocyanidins and tanninlike compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1094–1117
- Satman, I., Yılmaz, T., Sengül, A., Salman, S., Salman, F. and Uygur, S.**, 2002, Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*, 2002; 25(9):1551-6.
- Satman, I., Alagöl, F., Ömer, B., Kalaça, S., Tütüncü, Y. ve Çolak, N.**, 2010, Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması-II. TURDEP II: Ön sonuçlar. Kronik Hastalıklar Oturumu, 13. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, 18-22 Ekim 2010, İzmir.
- Scalbert, A. and Williamson, G.**, 2000, Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols, American Society for Nutritional Sciences, *The Journal of Nutrition*, 0022-3166/00
- Sheng, L., Qian, Z., Zheng, S. and Xi, L.**, 2006, Mechanism of hypolipemic effect of crocin in rats: Crocin inhibits pancreatic lipase, *European Journal of Pharmacology*, 543:1-3, 116–122.
- Shi, J., Arunasalam, K., Yeung, D., Kakuda, Y., Mittal, G. and Jiang, Y.**, 2004, Saponins from Edible Legumes: Chemistry, Processing, and Health Benefits, *J Med Food.*, 7, 1, 67–78.
- Shihabudeen, H.M.S., Priscilla, D.H. and Thirumurugan, K.**, 2011, Cinnamon extract inhibits a-glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats, *Nutrition & Metabolism*, 8:46
- Shipp, J. and Abdel-Aal, E.M.**, 2010, Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients, *The Open Food Science Journal*, 4, 7-22.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sidjimova, B., Evstatieva, L., Ivanova, A., Mechkarova, P., Lazarova, I. and Tchorbakov, B.**, 2011, Intraspecific Variability of Main Phytochemical Compounds in *Tribulus Terrestris L.* from North Bulgaria, *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.*, 25, 2.
- Singh, H., Ye, A. and Horne, D.**, 2009, Structuring food emulsions in the gastrointestinal tract to modify lipid digestion, *Progress in Lipid Research*, 48, 92-100.
- Singh, J. and Basu, P.S.**, 2012, Non-Nutritive Bioactive Compounds in Pulses and Their Impact on Human Health: An Overview, *Food and Nutrition Sciences*, 3, 1664-1672
- Spencer, J.P.E., Chaudry, F., Pannala, A.S., Srini, S.K., Debnam, E. and Rice-Evans, C.**, 2000, Decomposition of cocoa procyanidins in the gastric milieu, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 272, 236-241.
- Srivastava, R. and Vasishtha, H.**, 2013, Soaking and cooking effect on saponins of chickpeas (*Cicer arietinum*), *Current Advances in Agricultural Sciences*, 5, 1, 141-143.
- Sugiyama, H., Akazome, Y., Shoji, T., Yamaguchi, T., Yasue, M., Kanda, T. and Ohtake, Y.**, 2007, Oligomeric procyanidins in apple polyphenol are main active components for Inhibition of pancreatic lipase and triglyceride absorption, *J. Agric. Food Chem*, 55:11, 4604-4609.
- Süzek, H., Arı, Z. ve Uyanık, B.S.**, 2005, Muğla'da yaşayan 6-15 yaş okul çocuklarında kilo fazlalığı ve obezite prevalansı, *Türk Biyokimya Dergisi*, 30(4):290-295.
- Thorsen, M.A. and Hildebrandt, K.S.**, 2003, Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts Aspects of accurate quantification, *Journal of Chromatography A*, 995: 119–125

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Troncoso, N., Sierra, H., Carvajal, L., Delpiano, P., and Günther, G., 2005,** Fast high performance liquid chromatography and ultraviolet–visible quantification of principal phenolic antioxidants in fresh rosemary, *Journal of Chromatography A*, Volume 1100, Issue 1, 20–25
- Tsang, C., Auger, C., Mullen, W., Bornet, A. Rouanet, J., Crozier, A. and Teissedre, P., 2005,** The absorption, metabolism and excretion of flavan-3-ols and procyanidins following the ingestion of a grape seed extract by rats. *British Journal of Nutrition*, 94, 170–181
- Tucci, S.A., Boyland, E.J. and Halford, J.C.G., 2010,** The role of lipid and carbohydrate digestive enzyme inhibitors in the management of obesity: a review of current and emerging therapeutic agents, *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 2010:3, 125-143.
- United Nations Decade of Action on Nutrition, 2016,** [http://www.un.org/ga/search/view\\_doc.asp?symbol=A/70/L.42](http://www.un.org/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/70/L.42) (Erişim tarihi: 20 Temmuz 2016)
- Vincken, J.P., Lynn, H., Groot, A. and Gruppen, H., 2007,** Saponins, Classification and Occurrence in the Plant Kingdom, *Phytochemistry*, 68:3, 275-279.
- Walczyk, T., 2001,** The potential of inorganic mass spectrometry in mineral and trace element nutrition research, *Fresenius Journal Analytical Chemistry*, 370: 444-453.
- Wallace, T.C., 2010,** Analysis of Procyanidins and Anthocyanins in Food Products using Chromatographic and Spectroscopic Techniques, Dissertation, Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Doctor of Philosophy in the Graduate School of The Ohio State University, 144 p.
- Wang, H., Du, Y. and Song, H., 2010,**  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of guava leaves, *Food Chemistry*, 123, 1, 6–13.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Ward, N.C., Croft, K.D., Puddey, I.B., and Hodgson, J.M.,** 2004, Supplementation with grape seed polyphenols results in increased urinary excretion of 3-hydroxyphyllpropionic acid, an important metabolite of proanthocyanidins in humans, *J. Agric. Food Chem.*, 52: 5545-49.
- Wei, S.E.,** 2011, Isolation and Determination of Anti-Nutritional Compounds from Root and Shells of Peanut (*Arachis Hypogaea*), A project report submitted to the Department of Chemical Science Faculty of Science Universiti Tunku Abdul Rahman in partial fulfilment of the requirements for the degree of Bachelor of Science (Hons) Biochemistry May 2011
- WHO,** 2005, The World Health Organisation, Preventing chronic disease: a vital investment: WHO global report, Geneva, 56p.
- WHO,** 2008, Inequalities in young people's health. HBSC international report from the 2005/2006 survey, Currie C, Gabhainn SC, Godeau E, et al. (eds.) Health Outcomes, Overweight and Obesity, WHO Ofcet Publication, Denmark, 75-8.
- WHO,** 2016, Obesity and Overweight, Fact sheet, June, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> (Erişim tarihi: 10 Temmuz 2016)
- Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Susan, E., Gebhardt, S.E., and Prior, R.L.,** 2006, Concentrations of Anthocyanins in Common Foods in the United States and Estimation of Normal Consumption, *J. Agric. Food Chem.*, 54, 4069–4075.
- Wu, H., Zheng, S., Bi, Y. and Zhu, Y.,** 2010, Saponins: A Possible Relation With *Fusarium Oxysporum* F.Sp. *Lilii* Resistance In Lilies (*Lilium* L.). *Acta Hort. (ISHS)* , ISHS Acta Horticulturae 855: XXIII International EUCARPIA Symposium, Section Ornamentals, Colourful Breeding and Genetics - Part II, 855, 295-298.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Yan, H., Wang, L., Li, X., Yu, C., Zhang, K., Jiang, Y., Wu, L., Lu, W. and Tu, P.**, 2009, High-performance liquid chromatography method for determination of carnosic acid in rat plasma and its application to pharmacokinetic study, *Biomed. Chromatogr*; 23:7, 776–781.
- Yang, X.W., Huang, M.Z., Jin, Y.S., Sun, L.N., Song, Y. and Chen, H.S.**, 2012, Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties, *Fitoterapia*, 83, 1169-75.
- Yıldırım, M., Akyol, A. ve Ersoy, G.**, 2008, Şişmanlık (Obezite) Ve Fiziksel Aktivite, Enerji dengesinin aktivite yönüne bir bakış, Hacettepe Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 729, 19s.
- Yoo, D.S., Cha, M., Kim, M.R., Baek, M.R., Park, J.H., Hong, S.K., Kang, J.S. and Ryu, S.Y.**, 2014, Inhibitory Effect of Korean Medicinal Plants upon  $\alpha$ -Glucosidase, [www.chempolicy.or.kr/fileDownload.chem?](http://www.chempolicy.or.kr/fileDownload.chem?) (Erişim tarihi: 10 Ekim 2014)
- Youdim, K.A., Shukitt-Hale, B., and Joseph, J.A.**, 2004. Flavonoids and the brain: Interactions at the blood-brain barrier and their physiological effects on the central nervous system, *Free Rad. Biol. Med.*, 37: 1683-93.
- Yun, J.W.**, 2010, Possible anti-obesity therapeutics from nature – A review, *Phytochemistry*, 71:14-15, 1625–1641.
- Žmitek, J., Žmitek, K. and Pravst, I.**, 2008, Improving the bioavailability of coenzyme Q10 From theory to practice, *AgroFOOD industry hi-tech*, 19:4, 8-10.

## ÖZGEÇMİŞ

18.04.1984 tarihinde doğan Pınar ERCAN ilkokulu İzmir Karşıyaka Cemil Akyüz İlkokulu'nda, ortaokulu İzmir Karşıyaka Cumhuriyet İlköğretim Okulu'nda tamamladıktan sonra öğrenimine İzmir Atakent Anadolu Lisesi'nde devam etmiştir. 2002 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde okumaya hak kazanmıştır. Lisans eğitimi süresince Yaşar Eğitim ve Kültür Vakfı'ndan eğitim bursu almış, zorunlu stajını Avrupa Birliği Leonardo da Vinci programı kapsamında Almanya'da Frosta Dondurulmuş Gıda Fabrikası'nda yapmıştır. 2007 yılında Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 2210 - Yurt İçi Yüksek Lisans bursunu almaya hak kazanmıştır. Aynı yıl Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde başladığı yüksek lisans eğitimini 2009 yılında tamamlamıştır. 2010 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında doktora öğrenimine başlamıştır.