

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

**EKSTRAKSİYON SÜRESİNİN VE pH DEĞERİNİN KIRMIZI  
PANCARDA TOPLAM FENOLİK MADDE VE ANTİOKSİDAN  
AKTİVİTESİ ÜZERİNDE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Rama ALKAYARI**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Organik Bilim Dalı**

**HAZİRAN 2023**



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

**EKSTRAKSİYON SÜRESİNİN VE pH DEĞERİNİN KIRMIZI  
PANCARDA TOPLAM FENOLİK MADDE VE ANTİOKSİDAN  
AKTİVİTESİ ÜZERİNDE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Rama ALKAYARI**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Organik Bilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKİSLAMOĞLU**

**HAZİRAN 2023**



Rama ALKAYARI tarafından hazırlanan “EKSTRAKSİYON SÜRESİNİN VE pH DEĞERİNİN KIRMIZI PANCARDA TOPLAM FENOLİK MADDE VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ ÜZERİNDE ETKİSİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması 19.06.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı **Organik** Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

### Tez Jürisi

- Jüri Başkanı:** **Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKİSLAMOĞLU** (Danışman) .....  
Sakarya Üniversitesi
- Jüri Üyesi:** **Prof. Dr. Mustafa Zengin** .....  
Sakarya Üniversitesi
- Jüri Üyesi:** **Doç. Dr. Fatih SONMEZ** .....  
Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



## **ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ**

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

(24/06/2023).

Rama ALKAYARI





## **ÖNSÖZ**

Yüksek lisans öğrenimim sırasında ve tez konusunun belirlenmesi, çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesi sürecindeki her türlü destek ve yardımlarından dolayı danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKİSLAMOĞLU'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Fatih SÖNMEZ ve diğer çalışma arkadaşlarıma gösterdikleri ilgi, anlayış ve desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Beni yetiştiren, hayatım boyunca yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen canım babam Abdullah ALKAYARI, annem, kardeşlerim ve arkadaşlarım'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Rama ALKAYARI



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ .....	v
ÖNSÖZ.....	viii
İÇİNDEKİLER .....	ix
KISALTMALAR .....	xi
ŞİMGELER .....	xiii
TABLO LİSTESİ .....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
ÖZET.....	xix
SUMMARY .....	xxi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>5</b>
2.1. Kırmızı Pancarın Özellikleri .....	5
2.2. Betalainler .....	7
2.2.1. Betalainin stabilitesi.....	11
2.2.1.1. Konsantrasyon.....	12
2.2.1.2. pH değeri.....	12
2.2.1.3. Su aktivitesi.....	13
2.2.1.4. Oksijen .....	13
2.2.1.5. Işık.....	14
2.2.1.6. Sıcaklık.....	14
2.2.1.7. Metaller .....	16
2.3. Kırmızı Pancar Betalainlerinin Ekstraksiyonu.....	16
2.4. Enkapsülasyon Yöntemi İle Betalainlerin Stabilitesinin Sağlanması .....	18
2.5. Antioksidanlar .....	21
2.5.1. Betalainlerin antioksidan özellikleri .....	24
2.6. Antioksidanların Sınıflandırılması .....	26
2.6.1. Doğal antioksidanlar .....	26
2.6.1.1. C-vitamini .....	26
2.6.1.2. E vitamini .....	27
2.6.1.3. Karotenoidler.....	28
2.6.1.4. Flavonoidler .....	29
2.6.1.5. Fenolik asit.....	30
2.6.1.6. Poli fenolik bileşikler .....	31
2.6.2. Sentetik antioksidanlar.....	31
2.6.2.1. Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) .....	31
2.6.2.2. Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) .....	32
2.6.2.3. Propil gallatlar (PG) .....	33
2.6.3. Yapılarına göre antioksidanlar .....	33
2.6.3.1. Fenolik antioksidanlar .....	33

2.6.3.2. Aromatik antioksidanlar .....	34
2.6.3.3. Organik sülfürlü antioksidanlar .....	34
2.6.4. Etki mekanizmasına göre antioksidanlar .....	34
2.6.4.1. Primer antioksidanlar .....	34
2.6.4.2. Sekonder antioksidanlar .....	34
2.6.5. Kaynaklarına göre antioksidanlar .....	35
2.7. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri .....	35
2.7.1. Toplam fenol miktar tayini (Folin-Ciocalteu yöntemi) .....	36
2.7.2. Lipid peroksidasyon etki tayini .....	37
2.7.3. DPPH süpürücü antioksidan aktivite tayin yöntemi .....	37
2.7.4. ORAC (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi) tayini .....	37
2.7.5. Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) tayini .....	38
2.7.6. ABTS radikal süpürme etki tayini .....	38
2.8. Oksidatif Stres .....	39
2.9. Serbest Radikaller .....	43
2.10. Fenolik Bileşikler .....	48
2.10.1. Kırmızı pancarın fenolik bileşikleri .....	51
<b>3. YÖNTEM VE MATERYAL .....</b>	<b>53</b>
3.1. Materyal .....	53
3.2. Yöntemler .....	53
3.2.1. Ekstraksiyon işlemi .....	53
3.3. Antioksidant Aktivite Analiz Yöntemleri .....	54
3.3.1. Toplam fenolik madde miktarı analizi .....	55
3.3.2. DPPH serbest radikal giderim aktivitenin belirlenmesi yöntemi .....	56
3.3.3. ABTS radikal giderme aktivitesi .....	57
<b>4. BÜLGULAR .....</b>	<b>59</b>
4.1. Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi .....	59
4.1.1. Toplam fenolik madde miktar sonuçları .....	59
4.1.2. DPPH serbest radikal giderim aktivite sonuçları .....	60
4.1.2.1. pH ayarlanark 1.saatte yaptırın deneyler sonuçları .....	60
4.1.2.2. pH ayarlandıktan sonra 24.saatte yapılan deney sonuçları .....	65
4.1.3. ABTS radikal giderme aktivite sonuçları .....	70
4.1.3.1. pH ayarlanark 1.saatte yaptırın deneyler sonuçları .....	70
4.1.3.2. pH ayarlandıktan sonra 24.saatte yaptırın deneyler sonuçları .....	76
<b>5. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER .....</b>	<b>83</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>85</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>93</b>

## **KISALTMALAR**

<b>ABTS</b>	:2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asid)
<b>Abs</b>	: Absorbasyon
<b>dk</b>	: Dakika
<b>DNA</b>	: Deoksiribo nükleik asit
<b>DPPH</b>	:1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
<b>HAT</b>	: Hidrojen atomu transferi
<b>LDL</b>	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
<b>Ort</b>	: Ortalama
<b>RNS</b>	: Reaktif nitrojen türleri
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>TPC</b>	: Toplam fenolik madde miktarı
<b>UV</b>	: Ultraviyole



## **SİMGELER**

<b>°C</b>	:Santigrat derece
<b>g</b>	:Gram
<b>L</b>	:Litre
<b>ml</b>	:Mililitre
<b>nm</b>	:Nanometre
<b>ppm</b>	:Milyonda bir kısım
<b>µl</b>	:Mikrolitre





## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 2.1.</b> Kırmızı Pancarda (Beta vulgaris) Bulunan Betalainden Türetilen Bileşikler.....	10
<b>Tablo 4.1.</b> 1sN numunesinin toplam fenolik madde miktar sonuçları.....	59
<b>Tablo 4.2.</b> 24sN numunesinin toplam fenolik madde miktar sonuçları.....	59
<b>Tablo 4.3.</b> 1sN numunesinin pH 4'te 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	60
<b>Tablo 4.4.</b> 1sN numunesinin pH 5'te 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	61
<b>Tablo 4.5.</b> 1sN numunesinin pH 6'da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	61
<b>Tablo 4.6.</b> 1sN numunesinin pH 7'de 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	62
<b>Tablo 4.7.</b> 1sN numunesinin pH 8'de 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	63
<b>Tablo 4.8.</b> 1sN numunesinin pH 9'da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	63
<b>Tablo 4.9.</b> 1sN numunesinin pH 10'da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	64
<b>Tablo 4.10.</b> 1sN numunesinin DPPH IC <sub>50</sub> mg/mL hesaplama sonuçları.....	65
<b>Tablo 4.11.</b> 24sN numunesinin pH 4'te 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	65
<b>Tablo 4.12.</b> 24sN numunesinin pH 5'te 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	66
<b>Tablo 4.13.</b> 24sN numunesinin pH 6'da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	66
<b>Tablo 4.14.</b> 24sN numunesinin pH 7'de 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	67
<b>Tablo 4.15.</b> 24sN numunesinin pH 8'de 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	68
<b>Tablo 4.16.</b> 24sN numunesinin pH 9'da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	68
<b>Tablo 4.17.</b> 24sN numunesinin pH 10'da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.....	69
<b>Tablo 4.18.</b> 24sN numunesinin deneyi DPPH IC <sub>50</sub> mg/mL hesaplama sonuçları.....	70
<b>Tablo 4.19.</b> 1SN numunesinin pH 4'te 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	70
<b>Tablo 4.20.</b> 1sN numunesinin pH 5'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	71

<b>Tablo 4.21.</b> 1sN numunesinin pH 6'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	72
<b>Tablo 4.22.</b> 1sN numunesinin pH 7'de 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	72
<b>Tablo 4.23.</b> 1sN numunesinin pH 8'de 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	73
<b>Tablo 4.24.</b> 1sN numunesinin pH 9'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	74
<b>Tablo 4.25.</b> 1sN numunesinin pH 10'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	74
<b>Tablo 4.26.</b> 1sN numunesinin pH 6,80 (orj) 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	75
<b>Tablo 4.27.</b> 1sN numunesinin yaptıran deneyi ABTS IC <sub>50</sub> mg/mL hesaplama sonuçları.....	76
<b>Tablo 4.28.</b> 24sN numunesinin pH 4'te 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	76
<b>Tablo 4.29.</b> 24sN numunesinin pH 5'te 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	77
<b>Tablo 4.30.</b> 24sN numunesinin pH 6'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	77
<b>Tablo 4.31.</b> 24sN numunesinin pH 7'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	78
<b>Tablo 4.32.</b> 24sN numunesinin pH 8'de 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	79
<b>Tablo 4.33.</b> 24sN numunesinin pH 9'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	79
<b>Tablo 4.34.</b> 24sN numunesinin pH 10'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	80
<b>Tablo 4.35.</b> 24sN numunesinin pH 6,850 (orj) 'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.....	81
<b>Tablo 4.36.</b> 24sN numunesinin deneyi ABTS IC <sub>50</sub> mg/mL hesaplama sonuçları. ....	81

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 2.1. Kırmızı pancar .....	6
Şekil 2.2. Pancardaki potansiyal olarak biyoaktif bileşiklere genel bakış.....	7
Şekil 2.3. Betaksantinler (A) ve betasiyaninlerin (C) temel yapısı ve bunların ortak yapı taşı betalamik asit (B).....	8
Şekil 2.4. Betaksantin ve betasiyanin oluşumu.....	9
Şekil 2.5. Betanin bozunmasının bazı yolları. ....	11
Şekil 2.6. Askorbik asit kimyasal yapısı.....	27
Şekil 2.7. $\alpha$ tokoferol kimyasal yapısı.....	28
Şekil 2.8. $\beta$ Karoten kimyasal yapısı .....	29
Şekil 2.9. Gallik asit (A) ve vanilik asit (B) kimyasal yapısı .....	31
Şekil 2.10. BHA'nın kimyasal yapısı .....	32
Şekil 2.11. Butillenmiş hidroksit tolun (BHT) kimyasal yapısı .....	33
Şekil 2.12. Propil Gallatlar ( PG) kimyasal yapısı.....	33
Şekil 3.1. Kırmızı pancar stokları. ....	54
Şekil 3.2. Kırmızı pancar konsantralleri. ....	55
Şekil 3.3. UV spektrofotometre kullanılarak toplam fenolik madde miktar analizi. ....	56
Şekil 4.1. 1sN numunesinin pH 4'te alınan %İnh ortalaması grafiği. ....	60
Şekil 4.2. 1sN numunesinin pH 5'te %İnh ortalaması grafiği. ....	61
Şekil 4.3. 1sN numunesinin pH 6'da %İnh ortalaması grafiği. ....	62
Şekil 4.4. 1sN numunesinin pH 7'de %İnh ortalaması grafiği. ....	62
Şekil 4.5. 1sN numunesinin pH 8'de %İnh ortalaması grafiği. ....	63
Şekil 4.6. 1sN numunesinin pH 9'da %İnh ortalaması grafiği. ....	64
Şekil 4.7. 1sN numunesinin pH 10'da %İnh ortalaması grafiği. ....	64
Şekil 4.8. 24sN numunesinin pH 4'te %İnh ortalaması grafiği. ....	65
Şekil 4.9. 24sN numunesinin pH 5'te %İnh ortalaması grafiği. ....	66
Şekil 4.10. 24sN numunesinin pH 6'da %İnh ortalaması grafiği. ....	67
Şekil 4.11. 24sN numunesinin pH 7'de %İnh ortalaması grafiği. ....	67
Şekil 4.12. 24sN numunesinin pH 8'de %İnh ortalaması grafiği. ....	68
Şekil 4.13. 24sN numunesinin pH 9'da %İnh ortalaması grafiği. ....	69
Şekil 4.14. 24sN numunesinin pH 10'da %İnh ortalaması grafiği. ....	69
Şekil 4.15. 1sN numunesinin pH 4'te %İnh ortalaması grafiği. ....	71
Şekil 4.16. 1sN numunesinin pH 5'te %İnh ortalaması grafiği. ....	71
Şekil 4.17. 1sN numunesinin pH 6'da %İnh ortalaması grafiği. ....	72
Şekil 4.18. 1sN numunesinin pH 7'de %İnh ortalaması grafiği. ....	73
Şekil 4.19. 1sN numunesinin pH 8'de %İnh ortalaması grafiği. ....	73
Şekil 4.20. 1sN numunesinin pH 9'da %İnh ortalaması grafiği. ....	74
Şekil 4.21. 1sN numunesinin pH 10'da %İnh ortalaması grafiği. ....	75
Şekil 4.22. 1sN numunesinin pH 6,850 (orj) 'da %İnh ortalaması grafiği. ....	75
Şekil 4.23. 24sN numunesinin pH 4'te %İnh ortalaması grafiği. ....	76

<b>Şekil 4.24.</b> 24sN numunesinin pH 5'te %inh ortalaması grafiği. ....	77
<b>Şekil 4.25.</b> 24sN numunesinin pH 6'da %inh ortalaması grafiği.....	78
<b>Şekil 4.26.</b> 24sN numunesinin pH 7'de %inh ortalaması grafiği.....	78
<b>Şekil 4.27.</b> 24sN numunesinin pH 8'de %inh ortalaması grafiği.....	79
<b>Şekil 4.28.</b> 24sN numunesinin pH 9'da %inh ortalaması grafiği.....	80
<b>Şekil 4.29.</b> 24sN numunesinin pH 10'da %inh ortalaması grafiği.....	80
<b>Şekil 4.30.</b> 24sN numunesinin pH 6,850 (orj) 'da %inh ortalaması grafiği. ....	81

# **EKSTRAKSİYON SÜRESİNİN VE pH DEĞERİNİN KIRMIZI PANCARDA TOPLAM FENOLİK MADDE VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ ÜZERİNDE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

## **ÖZET**

Bu tez çalışmasında kırmızı pancardan farklı pH değerlerinde (pH 4-10) hem 1 saatlik hem de 24 saatlik ekstraktları elde edilmiştir. Elde edilen bu ekstraktlar toplam fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri açısından değerlendirildi.

Kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.) bitkisi, doğal bir gıda boyası olan betalainler açısından o kadar zengindir ki, bu konuda yapılan birçok çalışmada hammadde olarak kullanılmıştır. Doğal renkler genellikle çeşitli botanik kaynaklardan elde edilir ve gıdaların besleyici ve duyuşal özelliklerini arttırdıkları için tercih edilmektedir.

Betalainler, gıda renklendiricileri olarak yaygın olarak kullanılan ve antioksidan, anti-inflamatuar, hepatoprotektif, anti-kanser özellikleri dâhil olmak üzere çok çeşitli arzu edilen biyolojik aktivitelere sahip suda çözünür bitki pigmentleridir. Başta pancar olmak üzere çeşitli bitkilerden üretilebilirler. Artan talep ile birlikte betalain ekstraksiyonunda en yüksek verimi elde etmek ve ekstrakte edilen betalainin stabilitesini sağlamak gibi konular önem kazanmaya başlamıştır.

Antioksidan aktivite tayin yöntemleri çalışılan sistemdeki substrat, reaksiyon koşulları, konsantrasyonlar ve analizlenecek bileşiğin yapısı gibi çeşitli parametrelere bağlı olduğundan, bir bileşiğin antioksidan aktivitesini tayin etmek için standart bir metod yoktur. Bu yüzden antioksidan değerlendirmenin birkaç metod kullanılarak farklı oksidasyon şartları altında çalışılması önerilmektedir. Tez kapsamında da çeşitli metodlarla bitki ekstraktlarının serbest radikalleri giderme ve antioksidan aktiviteleri çalışılmıştır.

Çalışmamızdaki amacımız gıda olarak kullanılan kırmızı pancarın antioksidant kapasitesinin pH'ı ekstraksiyon süresine göre değişimi incelemektir. Kırmızı pancardan elde edilen pigment, gıda boyası olarak hem sıvı hem de toz halde kullanılmaktadır. Çalışma için kullanılacak yöntem iki aşamada gerçekleştirilecektir. Birinci aşamada kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.) blender ile parçalanacak ve renk verici pigmentler uygun Ph da su ile ekstrakte edilecektir. Elde edilen ekstrakt rotari evaporatörde 50 derecede yoğunlaştırıldıktan sonra kurutulmak üzere freeze dryer cihazında vakum altında kurutulacaktır. Elde edilecek toz pigmentin antioksidan özellikleri DPPH ve ABTS radikal yakalama yöntemiyle tespit edilecektir. Ekstrenin total fenolik bileşik miktarları da tayin edilecektir.

Çalışma sonucundan kırmızı pancardan elde edilen sulu ekstraktın iyi ve güçlü bir antioksidant özellik gösterdiğini söylenebilir ve pH4 genel olarak en iyi antioksidant aktivite sahip olan ekstrakt olduğunu belirlenmiştir.



# **INVESTIGATION OF THE EFFECT OF EXTRACTION TIME AND pH VALUE ON TOTAL PHENOLIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN RED BEET**

## **SUMMARY**

In this thesis study, both 1-hour and 24-hour extracts were obtained from red beet at different pH values (pH 4-10). These extracts were evaluated in terms of their total phenolic content and antioxidant activities.

Thanks to the balance between production and destruction events in the cells, our body maintains its vitality throughout life. In this cycle called metabolism, various substances taken from the outside through nutrition are converted into other products as a result of cellular destruction events, and free radicals are produced as a by-product during these events.

Free radicals and antioxidants, which are the most researched subjects of recent years, are gaining more and more importance day by day. Under normal conditions, metabolism is healthy and antioxidants and free radicals are in balance. However, when this balance changes in favor of free radicals, a predisposition to diseases caused by oxidative stress (such as heart, cancer, premature aging, etc.) is observed. Increasing sources of exogenous free radicals such as pollution, alcohol and cigarette use, forest fires and X-rays and UV rays can cause oxidation by damaging carbohydrates, fats, proteins and DNA in the human body.

In addition, some compounds in plants have a retarding effect on the oxidative stress process. These compounds, which have been studied for a long time, are called antioxidants. Antioxidants are compounds that reduce or eliminate the harmful effects of free radicals in the body. Natural antioxidants obtained from foods are one of the most important factors in strengthening the antioxidant defense system.

As we age, our defense mechanisms weaken and the free radicals in our body become unbalanced. This is due to decreased production of the endogenase enzyme, a natural antioxidant in the body. Therefore, it is important to consume all foods containing antioxidants to restore the balance. Natural antioxidants are substances found in plant and animal tissues.

Today, increasing consumer awareness and the need for healthy nutrition have increased the importance of all foods and natural ingredients used in food formulations. For this reason, people are starting to use natural dyes instead of synthetic additives in food dyes or dyes used to beautify existing colors. Dyes, which differ according to their chemical structure and source, are basically divided into two main groups as natural and synthetic.

Synthetic colorants are color materials that are not found in nature due to their chemical structure, but can be produced by chemical synthesis. Synthetic food

colorants are superior to natural food colorants in terms of coloring power, color tone width, brightness, color stability and application. Synthetic colorants are highly soluble in water. Many of them are stable to heat, light, acids, alkalis and preservatives and therefore have a very long shelf life, but have adverse effects on human health.

Natural coloring agents are pigments obtained from microbial, vegetable, animal and mineral sources. These colorants, whose color range is limited, generally have poor stability and poor coloring power, are affected by heat and pH. Although natural colorants have low stability against many physical and chemical effects (heat, light, pH) and there are many problems with their use in foods, it has been noted in recent studies that their use has increased due to their positive effects on human health.

The red beet (*Beta vulgaris* L.) plant is so rich in betalains, a natural food coloring, that it has been used as a raw material in many studies on this subject. Natural colors are generally preferred because they come from a variety of botanical sources and enhance the nutritional and sensory properties of foods.

Produced red beet (*Beta vulgaris* L.) is consumed raw in meals, salads and pickles. It is used as a natural colorant in foods such as ice cream, candy, yoghurt, pudding, sherbet, milk and bakery products. Beetroot is extremely rich in antioxidants, thanks to the compounds and pigments in its structure.

100 grams of red beetroot has an average of 43 kcal, approximately 9.56 g carbohydrates, 1.5 g protein, 0.1 g fat, 78.0 mg sodium, 350.0 mg potassium, 24.0 mg magnesium, 16.0 mg calcium It contains 40.0 mg of phosphorus, 0.5 mg of zinc, 0.9 mg of iron, 0.4 µg of selenium, 3 µg of vitamin K, 10 mg of vitamin C, 0.03 mg of vitamin B1 and 11.4 µg of carotenoids.

Beetroot contains a number of bioactive compounds that can exert health-promoting effects, including betalains, ascorbic acid, flavonoids, carotenoids, polyphenols, saponins and high levels of nitrate.

Betalains are water-soluble plant pigments that are widely used as food colorants and have a wide range of desirable biological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, hepatoprotective, anti-cancer properties. They can be produced from various plants, especially beet. In line with the increasing demand, issues such as betalain extraction with the highest efficiency and ensuring the stability of the extracted betalains are gaining importance.

Red beet is an economically important plant, with varieties such as beetroot, tubers and leaves, and sugar beet, which are usually native to a region starting from southern Sweden and the British Isles to the west of Europe and thence to the entire Mediterranean coast. In Turkey, it is mostly produced in the Aegean and Marmara regions.

Red beet is grown all over the world and is widely and frequently consumed. World beet production is estimated to be around 275 million metric tons in 2018. Betacyanins make up about 75-95% of beet pigments, the remaining 5-25% being betaxanthins. Betalain concentrations in red beet are 200–2100 mg/kg fresh weight.

Betalains are water-soluble and nitrogen-containing colored pigments known as betalaminic acid derivatives. They are generally divided into two groups: betacyanins



and betaxanthins. Since the two pigments in question have different chemical structures, they have different color properties. Betaxanthins are yellow, while betacyanins are red (Özyurt et al, 2019). Structurally, betaxanthins are condensation products of betalamic acid and various amino compounds, whereas betacyanins are characterized by a cyclo Dopa structure with additional substitutions via alternating glycosylation and acylation patterns at C-5 or C-6.

Betalains were first introduced in 1960 by Dr. It was isolated by Tom Mabry at the University of Zurich and its chemical structures were discovered. Betalains were once thought to be related to anthocyanins, the red pigments found in most plants. Both betalains and anthocyanins are water-soluble pigments found in the vacuoles of plant cells. However, betalains are structurally and chemically different from anthocyanins and the two were not found together in the same plant. For example, betalains contain nitrogen while anthocyanins do not.

The most studied betalain is betanin, also called beetroot red, as it can be extracted from beetroot roots. Betanin is a glycoside and hydrolyzes to the sugar glucose and betanidine. Betanin dehydrogenation that occurs during heating leads to the formation of neobetainin, which is responsible for the color change to yellow. Cleavage can also produce yellow betalamic acid and colorless cyclo-DOPA-5-O-glucoside. Betanin color is retained upon C15-isomerization or decarboxylation, but C17-decarboxylation results in a hypsochromic shift of absorption from 538 to 505 nm maximum, which is seen as an orange-red color appearance. 2-Decarboxy and 15-decarboxy-betanins are also formed.

There is no standard method for determining the antioxidant activity of a compound, as antioxidant activity determination methods depend on various parameters in the system under study, such as the substrate, reaction conditions, concentrations, and the nature of the compound to be analyzed. Therefore, it is recommended to study antioxidant evaluation under different oxidation conditions using several methods. Within the scope of the thesis, free radical removal and antioxidant activities of plant extracts were studied by various methods.

Our aim in our study is to examine the change of antioxidant capacity of red beet, which is used as food, according to pH, extraction time. Color pigments obtained from red beet are used as colorants in foods in both liquid and powder form. The method to be used for the study will be carried out in two stages. In the first stage, beetroot (*Beta vulgaris* L.) will be shredded with a blender and the coloring pigments will be extracted with water at appropriate pH. The obtained extract will be concentrated in a rotary evaporator at 50 degrees and then dried in a freeze dryer under vacuum. The antioxidant properties of the powder pigment to be obtained will be determined by DPPH and ABTS radical capture method. The total phenolic compound amounts of the extract will also be determined.

As a result of the study, it can be said that the aqueous extract obtained from red beet shows good and strong antioxidant properties and pH4 was determined to be the extract with the best antioxidant activity in general.



## 1. GİRİŞ

Hücrelerdeki üretim ve yıkım olayları arasındaki denge sayesinde vücudumuz yaşam boyu canlılığını korur. Metabolizma adı verilen bu döngüde, beslenme yoluyla dışarıdan alınan çeşitli maddeler, hücresel yıkım olayları sonucunda başka ürünlere dönüştürülür ve bu olaylar sırasında yan ürün olarak serbest radikaller üretilir (Kurulu, 2022).

Son yılların en çok araştırılan konusu olan serbest radikaller ve antioksidanlar her geçen gün daha fazla önem kazanmaktadır. Normal şartlar altında metabolizma sağlıklı ve antioksidanlar ile serbest radikaller dengededir. Ancak bu denge serbest radikaller lehine değiştiğinde oksidatif stresin neden olduğu hastalıklara (kalp, kanser, erken yaşlanma vb. gibi) yatkınlık gözlenir. Kirlilik, alkol ve sigara kullanımı, orman yangınları ve X-ışınları ve UV ışınları gibi artan eksojen serbest radikal kaynakları, insan vücudundaki karbonhidratlara, yağlara, proteinlere ve DNA'ya zarar vererek oksidasyona neden olabilir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Ayrıca bitkilerde bulunan bazı bileşiklerin oksidatif stres sürecini geciktirici etkisi vardır. Uzun süredir üzerinde çalışılan bu bileşiklere antioksidanlar denir. Antioksidanlar, vücuttaki serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltan veya yok eden bileşiklerdir. Gıdalardan elde edilen doğal antioksidanlar, antioksidan savunma sistemini güçlendirmede en önemli faktörlerden biridir (Çelik ve Ayran, 2020).

Yaşlandıkça savunma mekanizmalarımız zayıflar ve vücudumuzdaki serbest radikaller dengesizleşir. Bunun nedeni vücutta doğal bir antioksidan olan endojenaz enziminin üretiminin azalmasıdır. Bu nedenle, dengeyi yeniden sağlamak için antioksidan içeren tüm gıdaları tüketmek önemlidir (Çelik ve Ayran, 2020). Doğal antioksidanlar bitki ve hayvan dokularında bulunan maddelerdir.

Günümüzde artan tüketici bilinci ve sağlıklı beslenme ihtiyacı, gıda formülasyonlarında kullanılan tüm gıdaların ve doğal içeriklerin önemini artırmıştır. Bu nedenle insanlar gıda boyalarında veya var olan renkleri güzelleştirmek için kullanılan boyalarda sentetik katkı maddeleri yerine doğal boyaları kullanmaya

başlıyorlar. Kimyasal yapı ve kaynağına göre farklılık gösteren boyalar temel olarak doğal ve sentetik olmak üzere iki ana gruba ayrılır (Özcan ve Bilek, 2018).

Sentetik renklendiriciler, kimyasal yapıları gereği doğada bulunmayan ancak kimyasal sentez yoluyla üretilen renk maddeleridir. Renk verme gücü, renk tonu genişliği, parlaklık, renk stabilitesi ve uygulaması bakımında sentetik gıda renklendiricileri, doğal gıda renklendiricilerine göre daha üstündür. Sentetik renklendiriciler suda oldukça çözünür. Birçoğu ısıya, ışığa, asitlere, alkalilere ve koruyuculara karşı stabildir ve bu nedenle çok uzun bir raf ömrüne sahiptir, ancak insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri vardır (Kimyaevi, 2022).

Doğal renklendirici maddeler ise mikrobiyal, bitkisel, hayvansal ve mineral kaynaklardan elde edilen pigmentlerdir. Renk aralıkları sınırlı olan bu renklendiriciler genellikle zayıf stabilite ve zayıf renklendirme gücüne sahiptirler, ısı ve pH'dan etkilenir. Doğal renklendiriciler birçok fiziksel ve kimyasal etkiye (ısı, ışık, pH) karşı düşük stabiliteye sahip olmalarına ve gıdalarda kullanımları ile ilgili birçok problem olmasına rağmen, insan sağlığına olumlu etkilerinden dolayı kullanımlarının arttığı son zamanlarda yapılan çalışmalarda not edilmiştir (Kimyaevi, 2022).

Doğal antioksidanlar açısından oldukça zengin olan kırmızı pancar, mucize bir besin olarak kabul edilir. Yüksek betalain içeriği ve yüksek besin değeri nedeniyle doğal gıda boyası olarak da kullanılır. Betalainler, gıda renklendiricileri olarak yaygın olarak kullanılan ve antioksidan, anti-inflamatuar, hepatoprotektif, anti-kanser özellikleri dâhil olmak üzere çok çeşitli arzu edilen biyolojik aktivitelere sahip suda çözünür bitki pigmentleridir. Başta pancar olmak üzere çeşitli bitkilerden üretilirler (Belhadj Slimen ve ark, 2017).

Doğal renklendiriciler olan, betalain ve antosiyanin, birçok fiziksel ve kimyasal etkiler (ısı, ışık, pH) gibi ve düşük bir stabiliteye sahip sebebiyle kolayca bozulabilmektedir. Bu pigmentlerin stabilitesini ve dayanıklılığını sağlamak için kullanılan yöntemlerden biri de enkapsülasyon işlemidir. Bu işlemin temel amacı, bileşenler ve çevre arasındaki etkileşimleri en aza indirmek için hassas bileşenlerin etrafında bir bariyer veya matris oluşturmak için kaplama malzemeleri kullanmaktır. Enkapsülasyon işleminin sonunda bileşenler çevresel etkilerden korundukları için daha kararlı hale gelirler (Özcan ve Bilek, 2018).

Bu tez çalışmasında kırmızı pancardan farklı pH değerlerinde (pH 4-10) hem 1 saatlik hem de 24 saatlik ekstraktları elde edilmiştir. Elde edilen bu ekstraktlar toplam fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri açısından değerlendirilecek.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kırmızı Pancarın Özellikleri

Kırmızı pancar (*Beta vulgaris*), çiçekli bitki familyası *Amaranthaceae*'nin (ıspanakgiller) *Beta* cinsinin en bilinen türüdür. İki yıllık otsu ve rüzgârla tozlanan bitkidir. Bitkinin büyüklüğü 120 ila 200 cm olup serin nemli havada yetişir, ancak ılıman sıcak iklimlerde de yetiştirilebilir. Ağustos'tan Ocak'a kadar yetiştirilerek, serin havalarda en iyi renk, doku ve kaliteye ulaşır. 18-21 °C sıcaklık en iyi kalite olarak kabul edilir; en az enfekte olan bir bitki. Bitkinin hasata için hazırlanması 60 ila 75 gün sürer. Büyümek için gevşek derin toprağa ihtiyacı vardır. Pancar yetiştiriciliği için gerekli olan en uygun pH 6,0 ila 7,0'dır (Shamsi, 2020).

Kırmızı pancar genellikle güney İsveç ve Britanya Adaları'ndan başlayarak Avrupa'nın batı ve oradan da tüm Akdeniz kıyılarıncaya uzanan bir bölgeye has olan pancar, yumru kökleri ve yaprakları ve şeker pancarı gibi çeşitleriyle, ekonomik olarak önemli bir bitkidir. Türkiye'de ise en çok Ege ve Marmara bölgesinde üretilmektedir (Vikipedi, 2021).

Kırmızı pancar tüm dünyada yetiştirilmekte ve yaygın ve sıklıkla tüketilmektedir. Dünya pancar üretiminin 2018 yılında yaklaşık 275 milyon mton olduğu tahmin edilmektedir. Betasiyaninler, kırmızı pancar pigmentlerinin yaklaşık %75-95'ini oluşturur, geri kalan %5-25'i betaksantinlerdir. Kırmızı pancardaki betalain konsantrasyonları 200–2100 mg/kg taze ağırlıktır (Sadowska-Bartosz ve Bartosz, 2021).

Pancar yaprakları çoğunlukla rozet şeklindedir ve pancar yeşili olarak da adlandırılır. Her türlü pancarın yaprakları çiğ veya pişmiş olarak yenilebilir. A, C vitamini, protein, lif, kalsiyum, manganez, magnezyum, potasyum, bakır, K vitamini, demir, çinko, fosfor gibi elementler açısından zengindir. Yapraklar alzheimer hastalığına, gece körlüğüne, kansere, kalp hastalığına iyi gelir ve bağışıklık sistemine yardımcı olur. WBC üretimini uyarır, serbest radikali azaltır ve antioksidan maddeler içerir (Shamsi, 2020).

Kırmızı pancar lezzetlidir ve sağlık için son derece faydalıdır. Yüksek tansiyonu, kardiyovasküler hastalıkları düşürmeye yardımcı olur, hemoglobini yükseltir, böylece anemiye yardımcı olur, kan akışını artırır (nitrik asit nedeniyle), obeziteyi azaltır, böylece kilo kontrolüne yardımcı olur, kan şekerini düşürür ve böylece diyabete yardımcı olur, cilt, saç, göz, kemik, kas sağlığını iyileştirir; güçlü bir antioksidandır, böylece serbest radikalleri ve kanserleri azaltır, fetüste nöral tüp defektini önler; dayanıklılığı artırır, iltihabı, zayıflığı, kısırlığı, bunama semptomlarını azaltır, karaciğere iyi gelir, akciğer hastalığını, akciğer kanserini, kolon kanserini, cilt kanserini önler (Sharma ve Sardana, 2017).



**Şekil 2.1.** Kırmızı pancar (Dergisi, 2021).

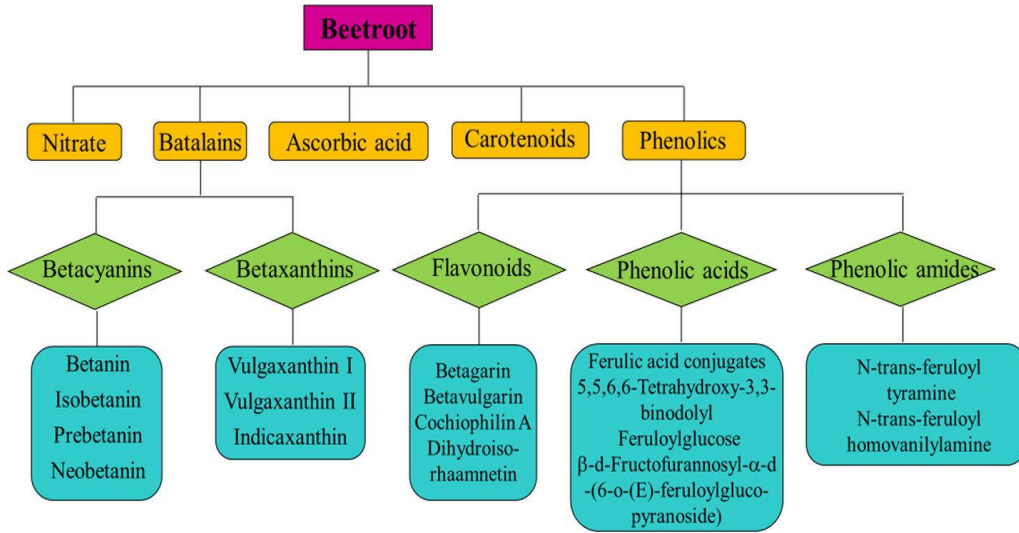
Üretilen kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.) çiğ olarak yemeklerde, salatalarda ve turşularda tüketilmektedir. Dondurma, şekerleme, yoğurt, puding, şerbet, süt ve unlu mamuller gibi gıdalarda doğal renklendirici olarak kullanılır. Pancar, yapısındaki bileşikler ve pigmentler sayesinde antioksidanlar açısından son derece zengindir (Özcan ve Bilek, 2018).

100 gram kırmızı pancar ortalama 43 kcal olup yaklaşık 9,56 g karbonhidrat, 1,5 g protein, 0,1 g yağ, 78,0 mg sodyum, 350,0 mg potasyum, 24,0 mg magnezyum, 16,0 mg kalsiyum 40,0 mg fosfor, 0,5 mg çinko, 0,9 mg demir, 0,4 µg selenyum, 3 µg K vitamini, 10 mg C vitamini, 0,03 mg B1 vitamini ve 11,4 µg karotenoid içermektedir (Chawla ve ark, 2016).

Kırmızı pancar, betalainler, askorbik asit, flavonoidler, karotenoidler, polifenoller, saponinler ve yüksek düzeyde nitrat dâhil olmak üzere sağlığı geliştirici etkiler



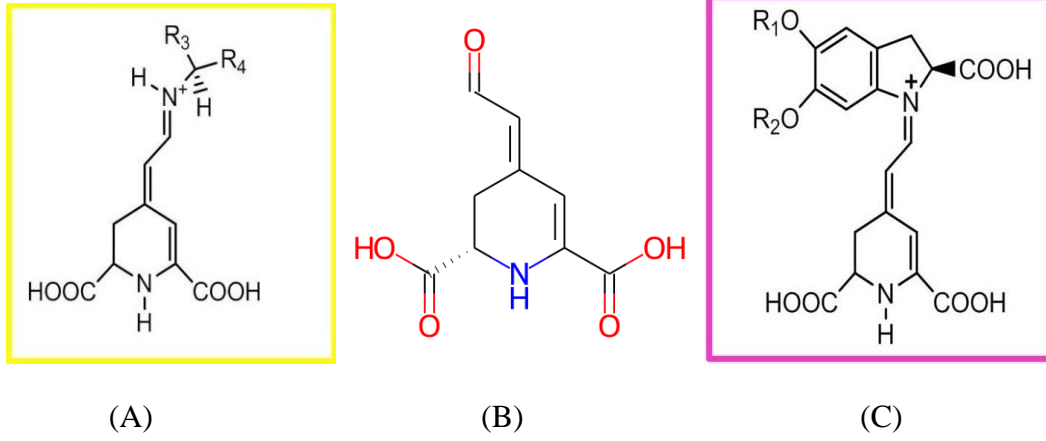
gösterebilen bir dizi biyoaktif bileşik içerir. Pancardaki potansiyel olarak biyoaktif bileşikler, Şekil 2.2 'de gösterilmektedir (Clifford ve ark 2015).



Şekil 2.2. Pancardaki potansiyel olarak biyoaktif bileşiklere genel bakış (Fu, et al., 2020).

## 2.2. Betalainler

Betalainler, suda çözünebilen ve nitrojen içerebilen, betalaminik asit türevleri olarak bilinen renkli pigmentlerdir. Genel olarak iki gruba ayrılırlar: betasiyaninler ve betaksantinler. Söz konusu iki pigment farklı kimyasal yapılara sahip olduğu için farklı renk özelliklerine sahiptir. Betaksantinler sarı renkte iken betasiyaninler kırmızı renktir (Özyurt ve ark, 2019). Yapısal olarak, betaksantinler, betalamik asit ve çeşitli amino bileşiklerinin yoğunlaştırma ürünleridir, oysa betasiyaninler, C-5 veya C-6 'da değişen glikosilasyon ve asilasyon modelleri yoluyla ek ikameler ile bir siklo Dopa yapısı ile karakterize edilir (Stintzing ve Carle, 2004).

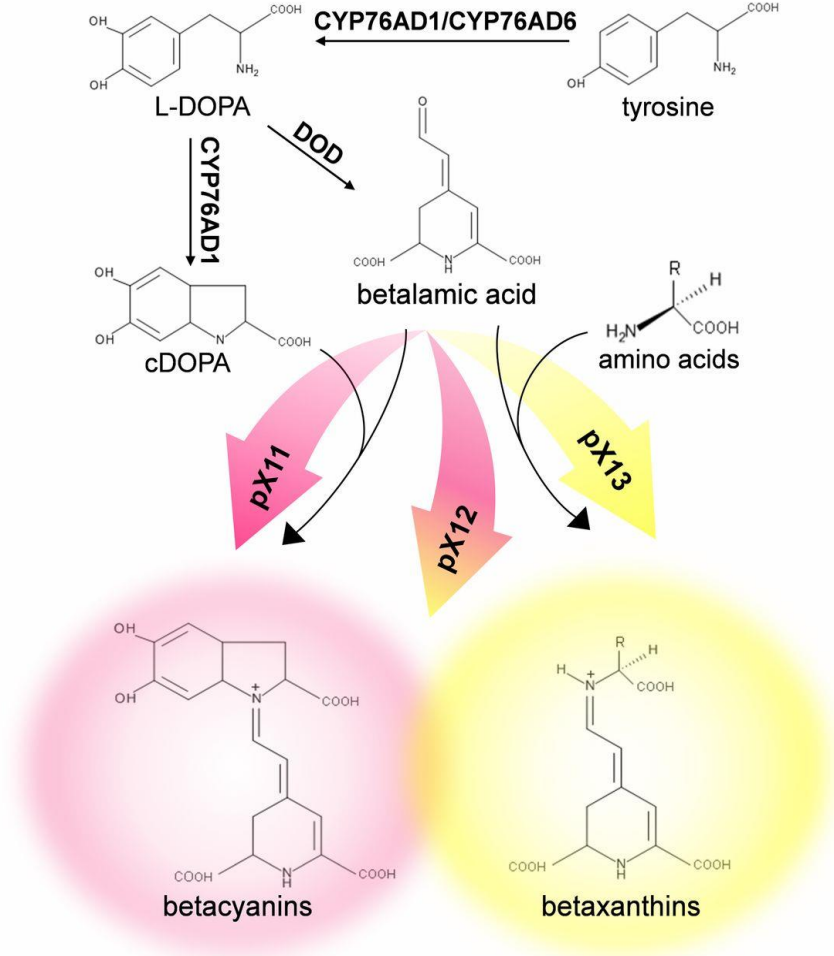


**Şekil 2.3.** Betaksantinler (A) ve betasiyaninlerin (C) temel yapısı ve bunların ortak yapı taşı betalamik asit (B) (Herbach ve ark, 2006).

Doğada, betalainler esas olarak köklerde, meyvelerde ve çiçeklerde bulunur. Betalainler, gıdaya besin değeri katan, rengi değiştiren veya gıdaya renk veren katkı maddeleridir. Kırmızı ve sarı pancar (*Beta vulgaris* L. sp. *vulgaris*), kadife çiçeği (*Amaranthus* sp.), kaktüs meyveleri (*Opuntia* ve *Hylocereus* cinsi) ve pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) zengin betalain kaynaklarıdır. Bu bitkilerden betalain kaynağı olarak en yaygın olanı pancardır (Özcan ve Bilek, 2018).

Pancarlarda betalain biyosentezi üzerine yapılan çalışmalar, Şekil 2.4'te L-DOPA'nın sitokrom P450 enzimleri CYP76AD1 veya CYP76AD6 tarafından tirozinden oluşturulduğunu göstermektedir. L-DOPA daha sonra sırasıyla CYP76AD1 ve DOPA 4,5-dioksijenaz (DOD) içeren enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla siklo-DOPA'ya (cDOPA) veya betalamik aside dönüştürülür.

Betalamik asit daha sonra sarı betaksantin oluşturmak için amino asitlerle veya kırmızı-mor bir renge sahip olan betasiyaninin aglikon öncüsü olan betanidin oluşturmak için cDOPA ile kendi kendine bağlanır. pX11 vektörünün ifadesi birincil olarak betasiyaninlerin üretimine yol açarken, pX13 ifadesi yalnızca betaksantinlerin oluşumuna yol açar ve pX12 ifadesi akışı her iki pigment sınıfının sentezine yönlendirir (Polturak ve ark, 2017).



**Şekil 2.4.** Betaksantin ve betasiyanin oluşumu (Polturak ve ark, 2017).

Betalamik asidin amino bileşikleri (betaksantin) veya siklodopa (betasanin) ile yoğunlaştırılması, pigment yapılarının stabilitesinde bir farklılığa yol açar. Birkaç çalışma, oda sıcaklığında ve ayrıca ısıtma sırasında betasantine kıyasla betasaninin üstün stabilitesini bildirmiştir, örneğin, ısıl işlem görmüş betanin yarı ömür değeri, vulgaksantin I'inkinden 11 kat daha yüksekti. Ek olarak, vulgaksantin I'in oksidasyona daha yatkın olduğu ve asidik pH değerlerinde betanin'den daha az kararlı olduğu bulundu. Öte yandan, aynı betaksantin pH 7'de betanin'den daha yüksek stabilite sergilediği kanıtlanmıştır. Farklı betasiyanin yapılarının stabilitesi karşılaştırıldığında, glikosilasyonun, aktif oksijen türleri tarafından bozunma üzerine betanidin ve izobetanidin yarı ömür değerini 17 kat artırdığı bildirildi. Bu, betanin ile karşılaştırıldığında betanidin daha düşük redoks potansiyeline atfedilir. İlginç bir şekilde, amarantin (betanidin 5-O-[2'-O-(βglukuronik asit)]-β-glukozit ve betanin oksijen varlığında özdeş stabilite sergilediği bulunduğundan, betasiyanin stabilitesi daha fazla glikosilasyon ile geliştirilemeyebilir. Ayrıca, anaerobik koşullar altında,

amarantinin betanin'den daha az kararlı olduğu gözlemlendi (Stintzing ve Carle, 2004).

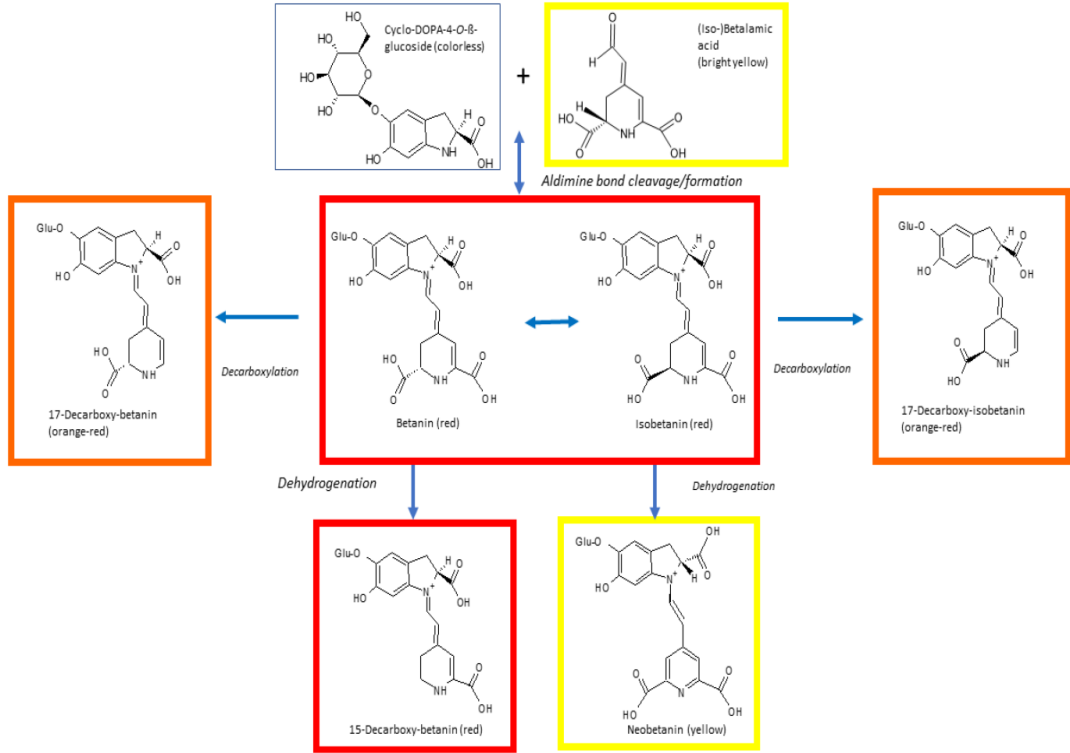
**Tablo 2.1.** Kırmızı Pancarda (*Beta vulgaris*) Bulunan Betalainden Türetilen Bileşikler (Herbach ve ark, 2006).

Betaksantin	Vulgaksantin I
	Vulgaksantin II
	Portulaksantin
	Miraksantin
	İndiksantin
Betasiyanin	Betanin
	Isobetanin
	Neobetanin
	Probetanin

Betalainler ilk olarak 1960 yılında Dr. Tom Mabry tarafından Zürih Üniversitesi'nde izole edilmiş ve kimyasal yapıları keşfedilmiştir. Bir zamanlar betalainlerin çoğu bitkide bulunan kırmızı pigmentler olan antosiyaninlerle ilişkili olduğu düşünülüyordu. Hem betalainler hem de antosiyaninler, bitki hücrelerinin vakuollerinde bulunan suda çözünür pigmentlerdir. Ancak betalainler yapısal ve kimyasal olarak antosiyaninlerden farklıdır ve ikisi aynı bitkide birlikte bulunmamıştır. Örneğin, betalainler nitrojen içerirken antosiyaninler içermez (Vikipedi, 2021).

En çok çalışılan betalain, kırmızı pancar köklerinden ekstrakte edilebildiği için pancar kırmızısı olarak da adlandırılan betanindir. Betanin bir glikozittir ve şeker glikozu ve betanidin'e hidrolize olur. Isıtma sırasında meydana gelen betanin dehidrojenasyonu, rengin sarıya dönüşmesinden sorumlu olan neobetanin oluşumuna yol açar. Bölünme ayrıca sarı betalamik asidi ve renksiz siklo-DOPA-5-O-glikoziti de üretebilir. Betanin rengi, C15-izomerizasyon veya dekarboksilasyon üzerine korunur, ancak C17-dekarboksilasyon, absorpsiyonun maksimum 538'den 505 nm'ye

hipsokromik kayması ile sonuçlanır, bu da turuncu-kırmızı bir renk görünümü olarak görülür. 2-Dekarboksi ve 15-dekarboksi-betaninler de oluşur (Sadowska-Bartosz ve Bartosz, 2021).



**Şekil 2.5.** Betanin bozunmasının bazı yolları (Sadowska-Bartosz ve Bartosz, 2021).

Betaninler veya betalainler, farklı meyve ve sebzelerden elde edilen doğal boyalardır. Yoğurt, dondurma ve diğer ürünler gibi gıda ürünlerinde büyük ölçüde gıda renklendiricileri olarak kullanılırlar. Codex Alimentarius Komisyonu'na (2004) göre, betalain kullanımı yalnızca iyi üretim uygulamalarıyla sınırlıdır. Pancardan elde edilen ve pancar kırmızısı olarak bilinen doğal gıda boyası Avrupa Birliği ve Amerika Birleşik Devletleri'nde ticari olarak kullanılmakta ve E-162 kodu ile isimlendirilmektedir (Özcan ve Bilek, 2018). Bildirilen antioksidan özellikleri, diyet takviyeleri endüstrisinde çeşitli betalain bazlı ürünlerin ticarileştirilmesine yol açmıştır ve antikanser, hipolipidemik, antiinflamatuvar, hepatoprotektif ve antidiyabetik aktiviteler dâhil olmak üzere potansiyel sağlığı geliştirici özellikleri hakkında kapsamlı çalışmalar yapılmasını sağlamıştır (Polturak ve ark, 2017).

### 2.2.1. Betalainin stabilitesi

Betalainlerin stabilitesi hem pigmente özgü faktörlerden hem de pH, su aktivitesi, ışık, oksijen, metal iyonları, sıcaklık ve enzim aktivitesi gibi dış faktörlerden

etkilenir. Stabilite üzerinde boya konsantrasyonu ve betalain yapısının yanı sıra pH ve su aktivitesi seviyesi de önemli etkilere sahiptir. Betalain içeren gıdalarda optimum pigmentasyon ve renk elde etmek için sıcaklık ve zaman koşulları gıda üretimi sırasında dikkat edilmesi gereken diğer faktörlerdir. Sıcaklık, ışık ve oksijen gibi dış faktörler de dikkate alınmalıdır (Özyurt ve ark, 2019).

#### **2.2.1.1. Konsantrasyon**

Betalainlerin konsantrasyonu, gıda işleme sırasında stabiliteyi belirlemede de önemli bir faktördür. Betalain özütlendiğinde ve çözelti formunda saklandığında kolayca bozunur; Boyanın artan konsantrasyonu ile stabilitesi artar. Örneğin, düşük betasiyanin konsantrasyonlarında pigment bozulması hızlanır. Aynı zamanda bitkilerde bulunan betalain grubuna ait betasiyanin ve betaksantin konsantrasyonları de bitkilerin biyoaktif özelliklerini etkilemektedir (Martins ve ark, 2017).

#### **2.2.1.2. pH değeri**

Betalainler, pH 3 ila 7 arasında değişen geniş bir pH stabilitesi sergilemelerine rağmen, bu aralığın dışındaki pH koşulları, kolaylıkla betalain bozulmasını indükler. Betanin stabilitesi için optimum pH'ın pH 4 ile 6 arasında olduğu rapor edilirken, yüksek sıcaklık koşulları pH optimumunu 6'ya kaydırdı. Ayrıca, oksijen varlığında betanin en kararlı pH 5,5 ile 5,8 arasında iken, anaerobik koşullar altındaydı. pH 4,0'dan 5,0'a kadar daha düşük pH değerleri olumluydu. İlginç bir şekilde, betaksantinler, 4 ila 7 arasında değişen hafif artan pH değerlerinde stabilite sergilerken, pH 5,5'teki en büyük betaksantin stabilitesi, betasiyaninlerin ilgili pH optimumuna karşılık geldi (Herbach ve ark, 2006). Alkali koşullar, aldimin bağının hidrolizine yol açarken, asitleştirmenin beta-amik asit ve amino bileşiğinin (betaksantin) veya siklodopa 5-O-glukozitin yeniden yoğunlaşmasını indüklediği bulunmuştur (Havlíková ve ark, 1983). Ek olarak, indiksantin alkali tedavisinin, betaksantin rejenerasyonunu imkânsız hale getiren protokateşik asit ürettiği rapor edilmiştir. Alkali koşullar altında ve asit muamelesinden sonra, betanidinin 5,6-dihidroksiindol-2 karboksilik asit ve 2,6-dikarboksilik asit metilpiridine hidrolizi gözlemlendi. Bununla birlikte, asidik ortamda betalain ayrışmasının mekanizmaları net olmaktan uzaktır. Düşük pH değerlerinde, betanin ve betanidinin C15 izotipleri sırasıyla izopitanine ve izopitanidine indüklendi. Ayrıca, betanin çözeltilerinin pH 2'de pH 3'e göre önemli ölçüde daha az stabil olduğu bulundu. Ek olarak, asit tedavisinin sarı 14,15-dehidrobetanin oluşumuna neden olduğu bildirildi. Nitekim

3,0'ın altındaki pH değerlerinde betanin maksimum absorbansındaki hafif hipsokromik ve hipokromik kayma ile birlikte 570-640 nm'de absorbanstaki hafif bir artış, şimdiye kadar açıklanan herhangi bir bozunma mekanizması ile açıklanamayabilir (Sadowska-Bartosz ve Bartosz, 2021).

### **2.2.1.3. Su aktivitesi**

Betalain stabilitesi ile su aktivitesi arasında ters bir ilişki vardır. Bu nedenle, azalan su aktivitesi sonucunda betalain stabilitesi artar. Ayrıca, su aktivitesi reaktanların hareketliliğini ve oksijen çözünürlüğünü etkilediğinden, betalainlerin stabilitesinin su aktivitesinin düşürülmesiyle arttırılabileceğine inanılmaktadır. (Azeredo, 2009). Ekstrakttaki su/nem içeriği bozunmayı önemli ölçüde etkileyebilir. Birçok gıda bileşeninde olduğu gibi, nem içeriği %5'ten az olan bir ürünün, betalain pigmentlerinin bozulmasını önlemede faydalı olduğu bilinmektedir; başka bir deyişle, 0.64'lük bir su aktivitesinin ( $a_w$ ) altında depolanan pigmentler, kırmızı pancar pigmentlerinin uzun süreli stabilitesi için uygundur. Pektin ve şeker asitleri gibi bitki bileşenlerinin düşük  $a_w$  değeri vardır ve bu, diğer benzer pigment olan antosiyaninlerin bozulmasına karşı korunmaya yardımcı olur. Bitki matris yapısı ayrıca betalainlerin ve diğer pigmentlerin stabilizasyonunda önemli bir rol oynar. Bu nedenle, her ikisi de betalain pigmentlerinin ana kaynakları olan kırmızı pancar ve kaktüs armut (pitaya), muhtemelen pigmente daha iyi stabilite sağlayan yüksek seviyelerde pektin içerir. Bu nedenle, saflaştırılmış pancar pigmentlerinden ziyade bütün özütler ticari ürünler olarak oldukça başarılı olmuştur (Manchali, Murthy, Nagaraju, & Neelwarne, 2012). Betalain stabilitesi, işleme sırasındaki su aktivitesinden de etkilenir. Bu nedenle, renklendirici bozulmasını önlemek için sprey kurutma veya konvektif kurutma önerilir (Sadowska-Bartosz ve Bartosz, 2021).

### **2.2.1.4. Oksijen**

Oksijen konsantrasyonundaki azalma ile betalainin stabilitesinde bir artışın meydana gelebileceği, yani aralarında ters bir oran olduğu gözlemlenmiştir. Betanin, artan oksijen konsantrasyonu ile stabilitede doğrusal bir düşüş gösterdi. Oksijene ek olarak, hidrojen peroksit, muhtemelen hızlı oksidasyon yoluyla pancar pigmentlerinin hızlı bozulmasından sorumlu olan bir başka önemli atmosferik faktördür. Betaninlerin bozulması, oksijen varlığında birinci dereceden kinetiği takip eder. Bununla birlikte, oksijenin yokluğunda, reaksiyon birinci derece kinetikten sapar, bu da reaksiyonun bu koşul altında tersine çevrilebileceğini düşündürür. Bu

gözlemler, oksijenin neden olduğu bozulmanın geri döndürülemez olabileceğini ve her bir pigmentin işlevselliği üzerinde daha büyük bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Pigmentler çözeltiler içindeyken, çözülmüş oksijenin uzaklaştırılmasının betalainlerin stabilitesini arttırdığı bilinmektedir. Bu, askorbik asit ve izoaskorbik asidin (güçlü antioksidanlar) betalainlerin stabilitesini artırma yeteneği ile doğrulanmıştır (Manchali ve ark, 2012). Azot içeren bir atmosferin stabiliteyi arttırdığı da gözlemlenmiştir. Bu nedenle, oksijen ve nitrojen içeren bir atmosferin bulunmaması, betalainlerin stabilitesini büyük ölçüde kolaylaştırıyor gibi görünmektedir (Özyurt ve ark, 2019).

### **2.2.1.5. Işık**

Doğal pigmentlerin stabilitesi, yani betalainler, yüksek duyarlılığından kaynaklanan ışığa maruziyetten büyük ölçüde etkilenir. Birkaç rapora göre, ışığın ortadan kaldırılması veya hatta örneklerin ışıktan uzak tutulması yoluyla stabiliteyi arttırmak mümkündür ve aynı zamanda doğal boyalarla zenginleştirilmiş çok sayıda gıdanın raf ömrünün iyileştirilmesine katkıda bulunur (Khan, 2016). Işığın zararlı etkileri özellikle 25°C'nin altındaki sıcaklıklarda gözlenirken, 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda aydınlatmanın hiçbir etkisi olmamıştır. Betalainlerin ışığa bağlı bozunmaya duyarlılığı, betalain kromoforun elektronlarını daha aktif bir duruma uyararak görünür ve ultraviyole aralığında ışığın emilmesiyle açıklanmıştır, bu da bileşiğin daha yüksek bir reaktivitesine veya daha düşük aktivasyon enerjisine neden olur. Işık ve oksijen, betalainlerin sinerjik bozunmasını gösterdi. Bireysel testlerde, ışık ve oksijen sırasıyla %15,6 ve %14,6 bozunmaya neden oldu ve ikisinin kombinasyonu %28,6 bozunmaya neden oldu. Işık ve oksijen sırasıyla %15,6 ve %14,6 oranında betanin bozulmasına neden olurken, bunların eşzamanlı varlığı %28,6 oranında betanin ayrışmasına neden oldu. Buna karşılık, ışığın zararlı etkilerinin anaerobik koşullar altında ihmal edilebilir olduğu ve sırasıyla aydınlık ve karanlıkta depolama üzerine aynı betanin tutulmasını sağladığı için, ışığın neden olduğu bozunmanın oksijene bağlı olduğu rapor edilmiştir. Askorbik asit kullanılarak %0,1-1,0 seviyelerinde ışık kaynaklı bozulma önlenmiştir, bu da çözülmüş oksijenin de bir rol oynayabileceğini gösteriyor (Herbach ve ark, 2006).

### **2.2.1.6. Sıcaklık**

Sıcaklık veya ısı işlem, betalainlerin stabilitesini doğrudan etkileyen en kritik faktör olarak kabul edilir. Doğal matrislerin ve türetilmiş gıda renklendiricilerinin sıcaklığa



karşı kararsızlığı, sonuç olarak absorpsiyon spektrumlarını ve renk özelliklerini etkileyen seri yapısal değişikliklere neden olur. Yüksek sıcaklıklar (80 °C) ve hatta oda sıcaklıkları (20°C) hidroliz olaylarının oluşmasına yol açarken, buzdolabı sıcaklığında (4°C) renk değişiminin azalmakta, stabilitenin ise artmakta olduğu gözlemlenmiştir (Fernández-López ve ark, 2013). Kullanılan sıcaklığın betalain içeriği üzerinde önemli bir rol oynadığına şüphe yoktur, hatta kullanılan sıcaklık ölçeği ile doğrudan ilişkili olarak zamanla önemli bir düşüş gözlemlenmiştir. Daha ilginç, Cejudo Bastante (2015) ve diğerleri tarafından tarif edildiği gibi, betalainler grubu arasında betasiyaninlerin, betaksantinlerden daha yüksek bir termosensitivite ortaya çıkarmasıdır. Mikrodalga işlemlerinin kullanımı, 60 °C'nin üzerindeki sıcaklıklar kullanıldığında betalainlerin bozulmasına da yol açar (Özyurt ve ark, 2019).

Pancar pigmentinin termal bozunması esas olarak sıcaklık düzeyine, ısıtma derecesine, oksijenin varlığına ve pigment konsantrasyonuna bağlıdır. Kırmızı pancar suyunun asit varlığında ısıtılması, monokarboksilatlı, dikarboksilatlı ve trikarboksilatlı betasiyaninlerin bir karışımını oluşturmak üzere betalainlerin bozunmasına neden oldu. Saflaştırılmış betasiyanin numunesinin dekarboksilasyonu, asetik asit ilave edilerek ve ardından 75-80°C'de bir saatten daha uzun süre ısıtılarak gerçekleşti. Elde edilen ürünler, tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ve diyot dizisi (LC-DAD) algılaması ile yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar, 17-dekarboksi-betasiyaninler, 2-dekarboksi-betasiyaninler, 2,17 bidekarboksibetanin ve izoformu ile neobetasiyanin olarak da bilinen 14,15-dehidrojene edilmiş betasiyanin gibi birçok türevin oluşumunu gösterdi (Manchali, Murthy, Nagaraju, & Neelwarne, 2012). Dekarboksilasyona ek olarak, ısıtmanın, betalainlerin hidrojeni giderilmiş türevlerini ürettiği de bilinmektedir. Başlıca hidrojeni giderilmiş ürünlerden bazıları 2,17-bidekarboksi-2,3-dehidro-neobetanin, 2-dekarboksi-2,3 dehidro-neobetanin, 2.15.17-tridekarboksi-2,3-dehidro-neobetanin ve 14'ü içerir. 15-dehidrojene betasiyaninler. Pancar pigmentinin ısıl işleminden sonra, monodekarboksilatlı, bidekarboksilatlı ve tridekarboksilatlı betasiyaninlerin karışımları, bunlara karşılık gelen neobetasiyaninlerle birlikte tanımlandı, burada kütle spektrometrisi (LC/MS-MS) ve diyot dizisi sonrasında epimerizasyonun yanı sıra iki dekarboksi betasiyaninin eşleşmesi gözlemlendi. (LC-DAD) analizleri (Wybraniec, 2005).

Başka bir çalışma, betaninin 85 °C'de ısıtılmasının, hidrolitik bölünmenin başlıca ürünlerinin oluşumuna yol açtığını ve dekarboksilasyon ve dehidrojenasyondan birkaç başka ürünün oluştuğunu bildirdi. *Celosia argentea* çeşitlerinden izole edilen betaksantinlerin, ışık ve hava olmadan pH 5,5 tamponunda saklandığında 40°C'de stabil olduğu bulundu. Betaksantin'in, 22°C'de saklanan çözelti formuna kıyasla, liyofilize toz olarak saklandığında 20 haftaya kadar stabil olduğu bulundu; bu, su aktivitesinin neden olduğu olumsuz etkilerin göstergesidir. Bu sonuçlar, kırmızı pancar pigmentlerinin, pH 5,5'te hazırlanan ve 22°C veya altında saklanan süt ürünleri, dondurma ve şekerlemeler gibi ürünlerde kullanılabileceğini göstermektedir. *Amaranthus sp*'nin toz ekstraktındaki betasiyaninlerin stabilitesi. Çözelti formuna kıyasla daha yüksekti, bu da ticari gıda renklendiricisi için bir kaynak olarak kurutulmuş tozun uygunluğunu ortaya koydu (Manchali ve ark, 2012).

#### **2.2.1.7. Metaller**

Demir, bakır, kalay ve alüminyum gibi bazı metal katyonlarının betanenin ayrışmasını hızlandırdığı bildirilmiştir. Metal-pigment kompleksleri meydana gelebilir, bunu kromozomal kaymalar ve hipokromisite takip eder. Czapski'nin (1990) sonuçları, pancar suyunun, muhtemelen meyve suyundaki mineral kompleksleştirici maddelerin varlığından dolayı, saf betanin çözeltileri ile karşılaştırıldığında metal iyonlarının olumsuz etkisine daha az duyarlı olduğunu göstermektedir (Pasch ve Elbe, 1979). Betalainin metal kaynaklı ayrışmasını metal şelatlayıcı ajanlar (EDTA, sitrik asit vb.) kullanılarak önlemek mümkündür. EDTA'nın pigment stabilizasyonu ve metal iyonları ile kompleks oluşumu yoluyla metal katalizli betanin bozulmasını önleme kabiliyeti rapor edilmiştir. İlginç bir şekilde, betalain bozulmasını tetikleyebilen metal iyon konsantrasyonunun ilgili matrise bağlı olduğu bulundu. Meyve suyunda, betanin bozulmasını indüklemek için betanin ile ilişkili olarak üç kat fazla metal iyonu gerekliyken, saflaştırılmış bir pigment solüsyonunda önemli ölçüde daha düşük bir metal iyonu konsantrasyonu yeterliydi (Czapski 1990). Bu, pektik maddelerin kompleks mono, di ve üç değerlikli katyonlar oluşturma yeteneği ile açıklanabilir (Czapski, 1990).

#### **2.3. Kırmızı Pancar Betalainlerinin Ekstraksiyonu**

Kırmızı pancardan betalain ekstraksiyonunda kullanılan solvent, ön işlem kadar önemlidir. Soğuk veya oda sıcaklığında damıtılmış su, kolayca bulunabildiği, ucuz

olduğu ve kalıntı oluşturmadığı için ekstraksiyonda çözücü olarak kullanılır. Bazı çalışmalarda etanol (hacimce %20-50) ve metanol (hacimce %50-80) kullanıldığı da kaydedildi. Ayrıca betasanin üretiminde asitleştirilmiş hidroklorik asit veya etanol (%0,4-1) kullanımının olumlu sonuçlar verdiği belirlendi. Bazı araştırmacılar, asitlendirilmiş damıtılmış su, etanol ve metanol kullanımının ekstraksiyon verimliliği üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Asitleştirilmiş distile su ve etanol kullanılarak yapılan çalışmada elde edilen betalain miktarının hemen hemen aynı olduğu tespit edilirken, asitleştirilmiş metanol kullanılarak yapılan çalışmada asitleştirilmenin betalain ekstraksiyonuna olumlu etkisi olduğu bulunmuştur (Suganyadevi ve ark, 2010).

Kırmızı pancardan betalain üretimi için en uygun ekstraksiyon koşullarının belirlenmesinde sulu çözeltilerin ve farklı katıların etkileri: çözücü oranı, sıcaklık ve pH değerı, %0,2 sitrik asit ve %0,1 asetik asit, %0,5 asetik asit içeriği ve %20 etanol en etkili ekstraksiyon olduğu bildirilmektedir.1:5 oranında (katı:çözücü) sulu çözeltilerdir. Ekstrakte edilen betalainlerin depolama süresince stabilitelerini belirlemek için oda sıcaklığında 10 günlük depolama çalışması yapılmış ve düşük asitli sulu çözeltilerin kullanımının betalain stabilitesine olumlu etkisi olduğu görölmüştür. Daha yüksek sıcaklıklarda, pH verimi önemli ölçüde etkilemez, ancak daha düşük sıcaklıklarda asidik bir ortam daha olumlu sonuçlar verir (Sturzoiu ve ark, 2011).

Betalain elde etmenin başka bir yöntemi mikrodalga destekli ekstraksiyondur. Bu prosedürün betalain ekstraksiyonu üzerindeki etkisini araştırmak için solvent olarak etanol:su solüsyonu (1:1) kullanıldı, katı:solvent oranı 0.1:25 olarak belirlendi ve çeşitli mikrodalga güç seviyeleri (400, 800 ve 1200) bulundu. . Operasyon için optimal katsayıların belirlenmesi. Görev döngüleri (%50 ve %100) ve işlem süreleri (0 ila 160 saniye) kullanıldı. Çalışmalar, en iyi sonuçların 90-120 saniyelik bir tedavi süresi, %100 ekstraksiyon döngüsü ve 400 watt'lık bir mikrodalga gücü ile elde edildiğini göstermiştir. Betanin ve betaksantin verimleri, ekstraksiyon sürelerinin 100-120 ve 140-150 dakikadan fazla olmasıyla azalmıştır. Mikrodalga destekli özütlemenin, %52'lik bir özütleme oranıyla betalainler sağladığı bulundu. Çalışmada askorbik asit (0,04 mol/L solvent) kullanımının ekstraksiyon verimi üzerinde değerlendirilmesi yapılmış ve betanin ısıl işlem sırasında korunabilmesine rağmen

betaksantin üzerinde zararlı etkisi olduğu kaydedilmiştir (Cardoso-Ugarte ve ark, 2014).

Kırmızı pancar betalainlerinin ekstraksiyonu için yeni yöntemler de denenmektedir. Bu yöntemler sulu iki fazlı sistemleri ve ultrasonu içerir. Sulu iki fazlı sistem kullanılarak yapılan bir çalışmada farklı molekül ağırlıklarına sahip polietilen glikoller ile deneyler yapılmış ve en uygun sistemin polietilen glikol (molekül ağırlığı: 6000)/amonyum sülfat olduğu görülmüştür. Sulu iki fazlı yöntemde, pancarın sulu ekstraktına sistemdeki toplam ağırlığın %100'üne kadar polietilen glikol ve amonyum sülfat ilave edilmiş ve faz ayrışması gerçekleşene kadar karıştırılmıştır. Ortaya çıkan üst faz, %70-75 oranında betalain içerir. (Chethana ve ark, 2006).

Kırmızı pancardan pigment elde etmek için kullanılan diğer bir yöntem de ultrason yöntemidir. Kırmızı pancar renklendirici maddesinin ekstraksiyon veriminin ultrason uygulanarak artırıldığı ilk kez bulundu. Çeşitli ekstraksiyon yöntemleri denenmiş ve 3 saat boyunca 1:1 etanol:su oranı ve 80 W ultrasonik güç kullanılarak 1 g pancardan yaklaşık 0,20 g betalain elde edilmiştir. (Sivakumar ve ark, 2009).

#### **2.4. Enkapsülasyon Yöntemi İle Betalainlerin Stabilitesinin Sağlanması**

Bitki pigmentlerinin çoğu, betalainler ve antosiyaninler sıcaklık, oksijen, ışık ve su aktivitesi gibi faktörler tarafından kolayca bozunur. Bu bozulmayı en aza indirmenin, pigment stabilitesini sağlamanın ve dayanıklılığı artırmanın bir yolu enkapsülasyon işlemidir.

Enkapsülasyon; katı, sıvı yada gaz halindeki besin bileşenlerinin, enzimlerin, hücrelerin, öteki maddelerin ve mikroorganizmaların protein yada karbonhidrat esaslı kaplama malzemeleri ile paketlenmesi olarak tanımlanabilir. Bu işlemin temel amacı, bileşenler ve çevre arasındaki etkileşimleri azaltmak için hassas bileşenlerin etrafında bir bariyer veya matris oluşturmak için kaplama malzemeleri kullanmaktır. Enkapsülasyon işlemi gıda katkı maddelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Gökmen ve ark, 2012).

Enkapsülasyon işlemi genellikle püskürterek kurutma, dondurarak kurutma ve iyon jelleştirme ile gerçekleştirilir. En yaygın yöntem püskürtme kurutmadır. Bu işlemin

kullanılmasının en önemli sebepleri, işletilmesinin kolay olması, ekonomik ve sürekli işletilebilmesi ve yüksek kalitede toz ürün vermesidir.

Püskürterek kurutma işleminde, hava giriş sıcaklığı, besleme hızı, kullanılan kaplama malzemesi ve konsantrasyonu, ortaya çıkan toz ürünün kalitesini ve kararlılığını etkileyen faktörlerdir. Kurutma parametreleri, pancar suyundan püskürterek kurutma işlemi ile yüksek betalain içeriğine sahip toz ürün elde etmek için optimize edilmiştir. Değişken olarak hava giriş sıcaklığı (160-180°C), maltodekstrin veya peynir altı suyu proteini konsantrasyonu (%5-15) ve besleme hızı (400-600 ml/saat) kullanıldı. Çalışma sonunda 160 °C hava giriş sıcaklığı, maltodekstrin veya peynir altı suyu protein konsantrasyonu ve 400 ml/saat optimum bulunmuştur. Azalan giriş sıcaklığı ve artan maltodekstrin veya peynir altı suyu protein konsantrasyonu, betalain retansiyonunu artırır. Besleme hızı, betalain retansiyonunu etkilemez (Gharsallaoui ve ark, 2007).

Enkapsülasyon ile elde edilen toz ürünler yüksek pigment içeriğine sahiptir ve bu pigmentlerin stabilitesini sağlamak için kullanılan kaplama malzemesi çok önemlidir. Seçilen kaplama malzemesinin ve kapsüllenmiş çekirdek malzemesinin fiziko-kimyasal özellikleri birbiri ile uyumlu olmalıdır (Gökmen ve ark, 2012).

Düşük kristalli maltodekstrin (6 ve 10 dekstroz eşdeğerleri (DE)) pancar betalainlerinin püskürterek kurutma ile kapsüllenmesinde kaplama malzemesi olarak kullanılmasının, ortaya çıkan toz üründe betalainlerin ve betasiyaninlerin stabilitesini iyileştirdiği bulundu. Koyu renkli cam kaplarda saklanan toz ürünlerin, özellikle oda sıcaklığında yapılan çalışmalarda 6 aya kadar betalain stabilitesini koruduğu gösterilmiştir. Aynı süre boyunca 20 °C'de depolanan toz ürünler, betasiyanin miktarında istatistiksel bir fark göstermezken, 60 °C'de depolanan toz ürünler, başlangıçtaki betasiyanin miktarının %60'ını korudu. Daha yüksek bir maltodekstrin oranı, betasiyaninin stabilitesini iyileştirmiştir ve kapsüllenmiş pancar suyunun, kapsüllenmemiş olandan çok daha yüksek betasiyanin stabilitesine sahip olduğu gözlenmiştir (Zuidam ve Shimoni, 2009).

Betalain hassas bir pigment olduğundan, kapsülleme için bir dondurarak kurutma yöntemi de denendi. Bu işlem daha pahalıdır ancak pigmente en az zararı verdiği için kurutma açısından önemlidir. Pancar betalainleri, dondurarak kurutma ile mikrokapsüllendi ve betalainlerin 40 °C'de 10 hafta boyunca depolama sırasındaki

stabilitesi, mikrokapsülasyon için farklı kaplama malzemeleri kullanılarak incelendi. Kitosan için kullanılan kaplama konsantrasyonu %2 iken diğer kaplamalar %15 konsantrasyonda kullanılmıştır (Ravichandran ve ark, 2012).

10 hafta depolama sonunda en yüksek betalain stabilitesi gösteren kaplama materyalleri sırasıyla; maltodekstrin, arap zımkı, arap zımkı karışımı ve modifiye nişasta, maltodekstrin ve kitosan karışımı, modifiye nişasta, maltodekstrin ve kitosan karışımı. Başka bir çalışmada, pancar ezmesi özü, farklı kapsülleme parametreleri kullanılarak dondurarak kurutma yoluyla soya proteini ile kapsüllenmiştir. En yüksek kapsülleme verimliliği, 50 g/L kaplama malzemesi oranı kullanan ve 15 dakika karıştıran deneylerde bulundu. Toz ürün 25°C'de 3 ay depolandığında ilk ayda betakyanin ve betaksantin pigmentlerinde sırasıyla %24,25 ve %24,17 oranında azalma olurken, ikinci ve üçüncü ayda pigmentlerde azalma olmuştur (Ravichandran ve, 2012).

Betalainlerin enkapsülasyonunda denenen değişik yöntemler sonucunda, yüksek stabilitede ürün elde edilebilmektedir. Enkapsülasyon için, dondurarak kurutma işleminin yüksek maliyeti ve uzun işlem süresi nedeniyle esas olarak püskürterek kurutma işlemi kullanılır. Bununla birlikte, dondurarak kurutma ile kapsüllenen betalainlerin, püskürterek kurutma ile elde edilenlere göre daha kararlı yapılara sahip olduğu gözlemlendi. Düşük kristallikte maltodekstrin, betalain kapsülleme için en iyi kaplama malzemesi olarak bulunmuştur ve maltodekstrin ile arap zımkı ve ksantan sakızı kombinasyonunun toz ürün stabilitesi üzerinde olumlu bir etkisi vardır (Özcan ve Bilek, 2018).

Kaplama malzemesi seçimi, kapsül boyutuna ve şekline olduğu kadar stabilite ve geçirgenlik özelliklerine de bağlıdır. Kaplamanın bileşimi, partikül bileşenlerinin performansını ve mikroenkapsülasyon fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için kullanılan yöntemin ana belirleyicisidir. Çeşitli şekillerde mikrokapsüller vardır: tek, çok duvarlı, düzensiz, çok çekirdekli ve matris. Mikroenkapsülasyon işlemindeki ilk adım, uygun kaplama malzemesinin (kapsül) seçilmesidir. Kaplama malzemeleri olarak polisakkaritler, zımkılar, proteinler, doğal ve modifiye şekerler, yağlar veya sentetik polimerler, jelâtin, pektin, nişasta, kappa-karagenan, agar ve peynir altı suyu gibi film oluşturucu maddeler kullanılabilir. Karbonhidratlar, özellikle maltodekstrin, düşük maliyetleri nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Gökmen ve ark, 2012).

Etkili kaplama malzemeleri, yüksek konsantrasyonlarda mükemmel reolojik özelliklere sahip olmalı ve enkapsülasyon sırasında kullanımı kolay olmalıdır.

- Akışkanlık – çözücü uzaklaştırma özelliği
- Emülsifiye edici ve dengeleyici özellikler
- Aktif bileşenlerle kararlı emülsiyonlar veya dispersiyonlar oluşturmalı ve işleme veya depolama sırasında aktif bileşenlerle reaksiyona girmemeli veya onlarla ayrışmamalıdır.
- İnert olmalı ve aktif maddeyi koruyan özelliklere sahip olmalıdır.
- Aktif malzemeyi kaydedebilmelidir
- Ekonomik olmalıdır.
- İstenen veya spesifik kapsülleme çözünme özelliklerine ve aktif madde salınımına izin verme özelliğine sahip olmalıdır. (Gökmen ve ark, 2012).

## 2.5. Antioksidanlar

Antioksidanlar, yağların oksidasyonunu yavaşlatan maddelerdir. Canlı organizmalardaki kimyasal süreçler, özellikle oksidasyon, serbest radikallerin oluşumuna yol açar. Serbest radikaller oldukça reaktiftir ve çeşitli moleküllerle kolayca reaksiyona girerek hücrelere ve organizmalara zarar verebilir. Antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girer (onlarla bağ kurarak) ve hücre hasarını önler. Bu özellikler, hücrelerin anormal hale gelme ve nihayetinde tümör oluşturma riskini azaltmakla kalmaz, aynı zamanda hücre yıkımını da azaltarak potansiyel olarak yaşlanmanın etkilerini en aza indirir ve daha sağlıklı bir yaşam sürdürür (Vikipedi, 2022).

Uluslararası Gıda Kodeks komisyonu (CAC)'nu antioksidan maddeleri "Gıdada yağın acılaşması ve renk değişimleri gibi oksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan bozulmaları önleyerek raf ömrünü uzatan maddeler" olarak tanımlanmaktadır.

Sağlıklı bir yaşam için antioksidan dengesi çok önemlidir. Vücudun koruyucu "antioksidan savunma sistemi", SOR oluşumunu ve hasarını önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak için dört şekilde çalışır:

- Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma, yok etme, "süpürücü etki". Antioksidan enzimler ve küçük moleküller bu yolla etki gösterirler.

- Serbest oksijen radikalleri ile etkileşerek ve onlara hidrojen aktararak aktivitelerini azaltmak veya "aktif olmayan form dönüştürme etkisi". Vitaminler ve flavonoidler böyle bir etkiye sahiptir.
- Zincir kırma etkisi, serbest oksijen radikallerine bağlanma, zincirlerini kırma ve işlevlerini engelleme etkisidir. Hemoglobinin, seruloplazmin ve mineraller "zincir kırıcı etki" sergilerler.
- Serbest radikallerin neden olduğu hasarı onaran bir "onarıcı etki" uygular (Şener ve Yeğen, 2009).

Son yıllarda doğal antioksidanlar, güvenli olmaları ve istenmeyen yan etkilerinin olmaması nedeniyle sentetik antioksidanlara tercih edilmektedir. Doğal antioksidanlar arasında enzimler [süperoksitdizmutaz (SOD), katalaz (CAT), glutation peroksidaz (GP), glutation redüktaz, sitokrom-C-oksidad, hidroksiperoksidaz], makromoleküller [seruloplazmin, transferrin, ferritin, myoglobin, haptoglobulin] ve mikromoleküller [ $\beta$ -karoten, A-vitamini, C-vitamini, E vitamini, tokoferoller, tiol içerenler, glutation (GSH), metionin] sayılabilir (Çelik ve Ayran, 2020).

İnsan vücudunda oksidanlara karşı entimatik antioksidanlar devamlı üretilmektedir. Ayrıca dışarıdan tükettiğimiz besinlerin antioksidan içerikleri de antioksidan savunma sisteminin güçlenmesine büyük katkı sağlar.

Antioksidanlar gıdaların yapısında doğal olarak bulunur. Antioksidanlar, Maillard reaksiyonu gibi gıdalardaki kimyasal reaksiyonlarla oluşturulabilir veya doğal kaynaklardan ekstrakte edilebilir ve gıdalara eklenebilir (Podsedek, 2005).

Fenolikler, gıdalarda bulunan başlıca antioksidan bileşiklerdir. Özellikle, meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan flavonoidler güçlü antioksidan aktivite göstermektedirler. Klinik denemeler ve epidemiyolojik çalışmalar, meyve ve sebze tüketimi ile kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diğer bazı kronik rahatsızlıkların oluşumu arasında ters bir ilişki olduğunu göstermektedir. Meyve ve sebzelerde bulunan antioksidan fenolik bileşikler, vitaminler (C vitamini ve E vitamini) ve karotenoidler oksidatif stres ile ilişkili bu hastalıkları önlemede etkili bileşikler olarak öne çıkmaktadır. Bu nedenle, özellikle diyetle alınan gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi üzerine büyük bir ilgi oluşmuştur (Karabulut ve Gülay, 2016).



Gıdaların raf ömrünü uzatmak için gıda imalatında ve piyasadaki bazı ürünlerde sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Gıdalarda en fazla kullanılan sentetik antioksidanlar; BHA (Butillenmiş hidroksi anisol), BHT (Butillenmiş hidroksi toluen), PG (Propil gallat) ve TBHQ (Tersiyer butil hidrokinon)'dur. Sentetik antioksidanların gıdalarda kullanımı yaklaşık 60 yıl öncesine dayanmaktadır. Sentetik antioksidanlar, doğal antioksidanlardan daha ucuz, daha kararlı ve daha güçlü oldukları için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak son zamanlarda sentetik antioksidanların potansiyel yan etkileri konusunda şüpheler artmıştır. Son on beş yılda, sentetik katkı maddelerinin güvenilirliklerinin test edilmesine yönelik yoğun çalışmalar başlatılmış ve birçoğunun toksik aktivite içerdiği tespit edilmiştir. Bütün bu gelişmeler doğal katkı maddeleri ile ilgili araştırmaların ivme kazanmasına neden olmuştur (Yeşilbağ, 2009).

Doğal ve diyetsel antioksidanların, belirli hastalıkların önlenmesinde veya tedavisinde yararlı olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, doğal antioksidanların sağlık üzerinde birçok olumlu etkisi olduğu aşikâr olsa da, aşırı alındığında zararlı etkileri de olabilir. Doğal antioksidanlar belirli konsantrasyonlardan daha fazla alınırsa, önemli, hatta bazen ölümcül fizyolojik etkiler yaratabilirler. Genel olarak, C vitamini, E vitamini ve karotenoidlerin insan plazması ve organlarında yüksek mikromolar ve düşük milimolar seviyeler arasında değiştiği, polifenol konsantrasyonlarının ise yüksek nanomolar ila düşük mikromolar aralıkta bulunduğu tahmin edilmektedir (Sen ve Chakraborty, 2011).

Endojen ve eksojen antioksidanlar arasındaki etkileşimli ve sıklıkla sinerjistik bir etki, oksidasyon ve antioksidasyon arasında bir dengenin korunmasına yardımcı olur. Birkaç gün boyunca günde 3000 mg'dan fazla C vitamini tüketimi, böbrek taşı gibi hastalıklara ve oksijen ihtiyacının artmasına neden olabilir. Ayrıca, herhangi bir asitle birlikte C vitamini alımı, aşırı ürik asit atılımına ve diş minesinin aşınmasına neden olabilir. Birkaç çalışma, E vitamini takviyelerinin belirli kişilerde kanama riskini artırabileceğini de bildirdi. Uzun süreli A vitamini doz aşımı (1600-3200 mg/kg) ayrıca yorgunluk, göğüs ağrısı, mide-bağırsak stresi, böbrek sorunları, damar iltihabı ve tiroid sorunları gibi semptomlara yol açabilir. Koenzim Q10 ayrıca çok büyük miktarlarda alındığında ciddi kanamalara neden olabilir ve yüksek konsantrasyonlarda pro-oksidan gibi davranabilir (Bouayed ve Bohn, 2010).

Bazı raporlar ayrıca  $\beta$ -karoten takviyesinin inme insidansında ve genel kardiyovasküler ölümlerde önemli bir artış sağlayabileceğini öne sürdü. Bazı araştırmalar,  $\beta$ -karoten takviyelerinin sigara içenlerde akciğer kanseri riskini artırabileceğini bildirmiştir.

Sentetik antioksidanlar çok yüksek dozlarda da toksik etkiler üretebilir. Örneğin BHT ve BHA'nın enzim aktivitesinde, lipid konsantrasyonunda ve kanserojen etkilerde değişiklikler ürettiği bulundu. Bu tür toksik etkilerden esas olarak bu kimyasalların bozunma ürünlerinin sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Sentetik antioksidanlar normal düzeyde yan etki göstermese de uzun süreli kullanımları kronik sağlık sorunlarına yol açabilir. Bu nedenle, bu konuda kamuoyunun bilinçlendirilmesi ve uygun araştırmalar, antioksidanların toksik etkisinin en aza indirilmesi ihtiyacıdır (Bouayed ve Bohn, 2010).

### **2.5.1. Betalainlerin antioksidan özellikleri**

Betalainlerin antioksidan özelliklerine artan ilgi sayesinde, bazı araştırmalar sağlık yararlarına odaklanmıştır. Betaksantinler, işlenmiş gıda ürünlerini esansiyel amino asitlerle güçlendirmek ve "temel bir diyet renklendiricisine" ortaya çıkarmak için besin takviyesi olarak kullanılmıştır (Leather ve ark, 1992).

Kapadia et al. (1996), pancarın farelerde deri ve akciğer kanserine karşı önemli bir inhibitör etkisi olduğunu göstermiştir. Yıllar sonra, Kapadia ve ark. (2003), farelerde farklı kimyasal karsinojenler tarafından indüklenen deri ve karaciğer tümörlerinin uzun süreli lokal baskılanması için betanin etkinliğini göstermiştir (Leather ve ark, 1992).

Kanner et al. (2001), çok küçük konsantrasyonlarda hem betanin hem de betanidin'in in vitro olarak lipid peroksidasyonunu ve heme dekompozisyonunu inhibe etme kabiliyetini bildirmiştir.

Tesoriere ve ark. (2005), insan kırmızı kan hücrelerinin, hücreleri koruyabilen ve oksidatif hemolizi önleyebilen diyet betalainlerini içerdiğine dair kanıt sağlar. Hidrofilik olmalarına rağmen, indikaksantin ve betanin in vitro ve in vivo olarak insan düşük yoğunluklu lipoproteinlerine bağlanarak oksidasyona karşı dirençlerini arttırdığı gösterilmiştir (Tesoriere ve ark, 2004).

Gentile et al. (2004), betalainlerin bir in vitro endotelial hücre modelini inflamatuvar yanıtla ilgili oksidasyondan koruma yeteneğini gözlemledi.

Allegra et al. (2005), insan n6trofilleri tarafından 6retilen en g6çl6 antioksidan olan hipoklor6z asidi (HClO) temizlemede betain ve indikaksantin etkinliğini bildirmiştir. Ek olarak, her iki betain, HClO 6retimini katalize eden miyeloperoksidazın redoks ara 6r6nlerinin indirgeyicileri olarak hareket edebildi (Azeredo, 2009).

Lee et al. (2005), betainlerin, kanser kemoprevensiyonu ile ilişkili g6çl6 bir detoksifikasyon enzimi olan kinon red6ktazı ind6kleme kabiliyetini bildirmiştir. Zou et al. (2005), antioksidan aktivitesinin kısmen betainlere bağlı olduğu 6ne s6r6len kakt6s armut 6z6t6 ile in vitro olarak servikal, yumurtalık ve mesane kanseri h6crelerinin ve farelerin yumurtalık kanseri modellerinin in vivo olarak b6y6mesini engellediğini bildirmiştir (L. ve ark, 2003).

Tesoriere ve diğerleri tarafından ger6ekleştirilen in vivo testler. (2004b), kakt6s armut meyvesinin lipidlere olan oksidatif hasarı azalttığını ve sağlıklı insanlarda antioksidan durumunu iyileştirdiğini 6ne s6rm6řt6r. C vitamini takviyesi ile yapılan karşılaştırmalı testler, askorbik asit dışındaki bazı bileşenlerin lipid oksidasyonunu azaltmaya yardımcı olduğunu g6sterdi (L. ve ark, 2003).

Stintzing ve ark. (2005), betainlerin kakt6s armutunun in vitro antioksidan aktivitesine katkısının askorbik asit tarafından sağlanandan 6ok daha fazla olduğunu belirtmiştir.

Netzel et al. (2005), tek bir oral kırmızı pancar suyu dozunun yutulmasının hem fenolikler hem de muhtemelen betainleri i6eren 'diğer' antioksidanlar olan antioksidan bileşiklerin idrarla atılımını 6nemli 6l6de artırdığını bildirmiştir (Azeredo, 2009).

Betainler, insan eritrositlerinde endojen glutatyon sentezini ind6kler ve eritrositleri hemolize karşı korur. Ayrıca betainler, LDL partik6llerini (d6ř6k yoğunluklu lipoprotein) oksidasyona karşı korur. Katyonik yapıları nedeniyle betainler, LDL partik6llerinin polar bileşenleri ile etkileşime girer. LDL oksidasyonu, antioksidanlar -tokoferol ve kateşin ile karşılaştırıldığında, h6lihazırda nispeten d6ř6k konsantrasyonlarda bulunan betainler tarafından etkisiz hale getirilir. Ayrıca, bir insan 6alışmasında, F2-izoprostanlar (plazmada), malondialdehit (plazmada) ve lipid hidroperoksit (LDL'de) gibi lipid oksidasyonunun biyobelirte6lerinin betainler tarafından azaldığı g6sterilmiştir.

Forbol 12-miristat13-asetat ile uyarılan insan nötrofil hücrelerinde, betanin takviyesi, indüklenen DNA hasarının azalmasına neden oldu. Ayrıca *Opuntia ficus-indica*'dan türetilen betalainler, insan lenfositlerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından indüklenen DNA hasarının azalmasına aracılık etti (Esatbeyoglu ve ark, 2015).

## **2.6. Antioksidanların Sınıflandırılması**

Antioksidanların birçok farklı sınıflandırması vardır. Doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen antioksidanlar olduğu gibi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak da ayrılabilir. Vücudumuzun antioksidan savunma sisteminin ana bileşenleri, enzimler, metal iyonlarını bağlayan proteinler ve suda ve yağda çözünen radikal tutuculardır (Velioglu, 2005).

### **2.6.1. Doğal antioksidanlar**

Doğal antioksidanlar, bitkilerin tüm kısımlarında bulunan fenolik ve polifenolik bileşiklerdir. Örnekler flavonoidler, fenolik asit türevleri, naftokinonlar, kumarinler, tokoferoller ve C vitamini.

#### **2.6.1.1. C-vitamini**

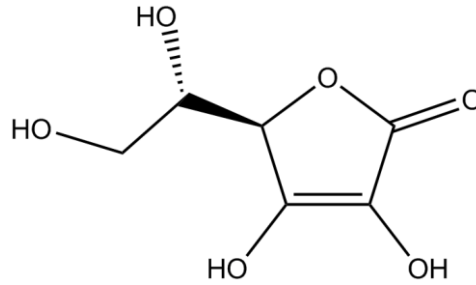
C vitamini (askorbik asit, askorbat) bitkilerde yaygın olarak bulunan, suda çözünen bir vitamindir. Bu, C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> kapalı formülüne sahip bir ketolaktondur. Yapısı karbonhidrat heksoza benzer. Heksanoik asitin  $\gamma$ -laktonudur. Çoğu hayvanın karaciğerinde ve böbreklerinde ve bitkilerin yapraklarında, özellikle kloroplastlarda glikozdan sentezlenir (Podsedek, 2005).

İnsanlar bu vitamini vücutta sentezleyemezler. Bu nedenle ihtiyaçlarını taze sebze ve meyvelerden karşılarlar. Özellikle çilek, papatya, portakal, kivi, greyfurt, kavun ve mango gibi meyvelerde, brokoli, brüksel lahanası, kırmızı veya yeşilbiber, domates, lahana, patates, karnabahar gibi sebzelerde, portakal suyu, domates suyu gibi meyve sularında bol miktarda bulunmaktadır (Podsedek, 2005).

C vitamini, aktif oksijeni (süperoksit, peroksil radikali, singlet oksijen, ozon), aktif nitrojeni (peroksinitrit, nitrojen dioksit) ve aktif kloru (hipoklorik asit) kolayca temizler, böylece substratları oksidatif hasardan korur. C vitamini vücuttaki hidroksilasyon reaksiyonlarında ve demir emiliminde rol oynar. Ayrıca sulu peroksi radikalleri ile reaksiyona girerek bir antioksidan görevi görür. Vitamin C lipitlerde çözünen radikallerin temizlenmesi yoluyla üretilen  $\alpha$ -tokoferoksil radikallerinden  $\alpha$ -

tokoferolü yeniden oluşturarak bir koantioksidan olarak hareket edebilir. Kollajen, karnitin ve nörotransmitter biyosentezi için gereklidir (Koca ve Karadeniz, 2005).

C vitamini eksikliğinde; kemik büyümesi geriler, kan damarları kolay zedelenir, skorbüt hastalığı oluşur, yaralar geç iyileşir, diş gelişimi bozulur, diş eti kanamaları olur. Kapiler damarların zedelenmesine bağlı peteşi ve ekimozlar görülür. Çocuklarda C vitamini eksikliği sonucu Barlow hastalığı ile kurbağa ayağı pozisyonu görülür, diş etleri şişer ve kanar (Kurilich ve ark, 1999).



**Şekil 2.6.** Askorbik asit kimyasal yapısı (Teknik, 2021).

### 2.6.1.2. E vitamini

E vitamini, yüksek antioksidan güce sahip, yağda çözünen bir vitamindir. Bu vitamin, sekiz stereoisomer içeren asimetrik bir bileşiktir. Bu asimetrik formlar  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tokoferoller ve  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tokotrienoller olarak sınıflandırılır (Koca ve Karadeniz, 2005).

İnsanlarda en biyoaktif form  $\alpha$ -tokoferoldür.  $\alpha$ -tokoferol, hücre zarlarını serbest radikal hasarından korur.  $\alpha$ -tokoferolün bir antioksidan olarak ana işlevi, lipid peroksidasyonuna karşı korumadır. Özellikle bitkisel yağlarda, yeşil yapraklı sebzelerde, baklagillerde, cevizde, fındıkta, sütte ve yumurtada bulunurlar. Tokoferollerin kimyasal yapıları benzer olsa da biyolojik etkileri oldukça farklıdır. Üç metil grubu bulunan  $\alpha$ -tokoferol en etkili vitamindir ve alfa-tokoferol sadece "E vitamini" denilince anlaşılmalıdır (Cornwell ve Ma, 2007).

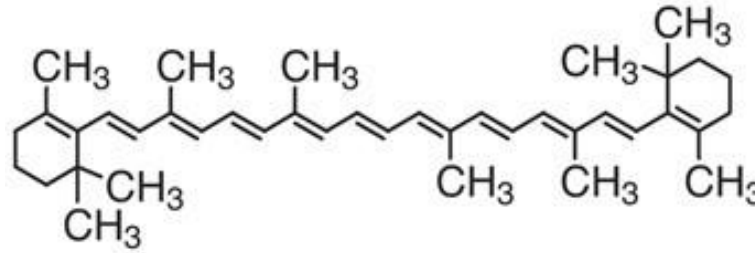
E vitamini; kolon, prostat ve göğüs kanseri, bazı kalp damar hastalıkları, iskemi, katarakt, artritis ve nörolojik karşı koruyucu özelliğe sahiptir. E vitamini serbest radikalleri stabilize eder ve peroksidasyon zincirini kırar. Bu,  $O_2$ 'yi öncelikle OH veya  $O_2$ 'ye indirgeyerek yapılır.

Antioksidan kapasitesi çok yüksektir çünkü E vitamini antioksidan işlevini serbest radikalleri süpürme, zincirleri kırma, inhibe etme, hasarlı yapıları onarma, vücudun



Karotenoidler antik çağlardan beri bilinmektedir ve domates, havuç, ıspanak, karnabahar, frenk soğanı, turp, üzüm, kivi, ananas, patlıcan, kereviz, hindiba, güneyik ve rezene köklerinde ve yapraklarında yoğunlaşmıştır. En yaygın olanı, provitamin A olarak da bilinen  $\beta$ -karotendir (Evcimen ve Aslan, 2015).

Bir antioksidan gibi davranarak oksidatif kaynaklı hasarı önemli düzeyde azalttıkları, DNA sarmal kırılmalarını önledikleri ve kanser önleyici etkinlikleri kabul edilmektedir. Bast ve Haenen yaptıkları çalışmada, 20 mg beta-karoten takviyesi almanın akciğer kanseri insidansını %18 artırdığını bulmuşlardır. Bu nedenle bu çalışmada antioksidan olarak kullanılan 20 mg beta-karotenin insanlar için güvenli doz aralığında olmadığı bildirilmiştir. Son yıllarda, karotenoidlerin yaşlanmaya bağlı kataraktları önlemedeki etkinliği yaygın olarak vurgulanmaktadır (Ötleş ve Atlı, 1997).



Şekil 2.8.  $\beta$ \_Karoten kimyasal yapısı (Wikipedia, 2022).

#### 2.6.1.4. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkilerde doğal olarak bulunan ve insan sağlığı üzerinde yararlı etkileri olan bileşiklerdir. İnsan metabolizmasında sentezlenmezler. Yüksek bitkilerde bulunan en karakteristik bileşik sınıflarından birini oluştururlar. Flavonoidlerin çoğu, kapalı tohumluların (çiçekli bitkiler) birçok familyasındaki çiçeklerin pigmentlerini oluşturur. Ancak sadece çiçeklerde değil bitkinin her yerinde bulunurlar. Bitki yapraklarında, tohumlarında, kabuğunda ve çiçek kısımlarında 4000'den fazla flavonoid tanımlanmıştır. Sebze, meyva, fındık, kakao ve çayda bol miktarda bulunurlar (Atınc ve Kalkan, 2018).

İn vitro çalışmalar, flavonoidlerin geniş spektrumda fizyolojik, farmakolojik etkinlik aralığına sahip olduğunu göstermiştir. Örnekleri arasında, antialerjik antiinflamatuvar,

antioksidan, antibakteriyel, antifungal ve antiviral, antikanserojen, etkinliklerinin bildirilmiş olması sayılabilir (Kahraman ve ark, 2018).

Flavonoidler, ksantin oksidaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri, şelat metal iyonlarını inhibe eder, diğer antioksidanlarla etkileşime girer ve süperoksit anyonları, lipid peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri yakalar ve böylece antioksidan aktivitesini gösterir (Karakaya ve El, 1997).

Flavonoid bileşikleri, glikoz, galaktoz ve ramnoz gibi heksozlar ve arabinoz ve ksiloz gibi pentozlar dâhil olmak üzere bitkilerde glikozitler olarak bulunur. Bunlar en yaygın şekerlerdir. Glikosilasyon, bu bileşikleri suda çözünür hale getirir. Flavonoidler glikozitler veya aglikonlar olarak bulunabilir (Kahraman ve ark, 2018).

Flavonoidler, mitokondriyal süksinooksidaz, NADH oksidaz gibi redoks reaksiyonlarını katalize eden enzimleri ve araşidonik asit metabolizmasında yer alan enzimleri etkileyerek reaktif oksijen türlerinin oluşumunu azaltmada aktif rol oynarlar.

Gıdalardaki flavonoidler, oksidatif strese karşı önemli dışsal savunma mekanizmalarıdır. Literatür ayrıca flavonoidlerin ateroskleroz, tromboz ve karsinogenez üzerinde önemli etkileri olduğu düşünülen LDL peroksidasyonunu önlediğini göstermektedir. Ayrıca koroner kalp hastalığına karşı önleyici ve antikanserojen özelliklere sahiptir (Karakaya ve El, 1997).

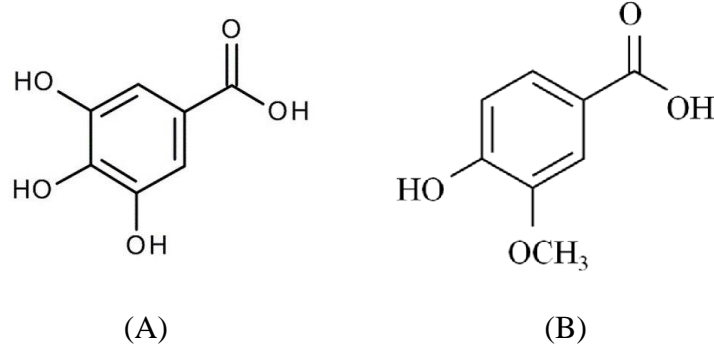
#### **2.6.1.5. Fenolik asit**

Genellikle suda çözünen ve bitkilerde çok yaygın miktarlarda bulunan fenolik bileşiklerdir. Fenolik asitler ayrıca fenilpropanoidler olarak da bilinir. Hidroksisinnamik asitler ve hidroksibenzoik asitler olmak üzere iki gruptan oluşurlar. Hidroksi sinamik asit çoğu fenolik asidi oluşturur (Evcimen ve Aslan, 2015).

Fenolik asitler genel olarak serbest halde bulunmaz ve karboksil grupları karbohidratlar, glikozidler, aminoasitler girerler ve proteinlerle reaksiyona alkollerle fenol esterler, amino bileşikleri ile de amidleri oluştururlar. Enzimsel aktivitelerin kontrolü, nitrozaminlerin oluşmasının engellenmesi ve kan lipid düzeyi dengesizliklerinin giderilmesinde aktif rolü vardır (Okcu ve ark, 2011).



Hidroksi benzoik asit türevleri, hidroksi ve metoksi gruplarının yerleşimi ve çeşitlerine göre çeşitli isimler almaktadır. Bunların örnekleri, p-hidroksi benzoik asit, gallik asit, vanilik asit, sirinjik asit, rezorsilik asit ve protokateşik asittir (Evcimen ve Aslan, 2015).



**Şekil 2.9.** Gallik asit (A) ve vanilik asit (B) kimyasal yapısı (kimya, 2022).

#### 2.6.1.6. Polifenolik bileşikler

Polifenoller, fitokimyasalların en büyük sınıflarından biridir ve bitkiler âleminde yaygındır. LDL oksidasyonunu inhibe ederek hücreleri fizyolojik oksidasyonun rutin bozulmasından korurlar. Polifenoller güçlü antioksidanlardır ve aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır. Fenolik bileşikler, en az bir fenolik halka ve en az bir hidroksil grubu bağlı kimyasal yapılardır ve bitki yapılarında ikincil metabolitler olarak ortaya çıkarlar.

Bu yapıya sahip fenolik bileşikler basit fenoller ve fenolik asitler, kinonlar, flavononlar, flavonoidler, flavonoller, tanenler ve kumarinler olarak sınıflandırılabilir. Bitki polifenolleri, hidrojen atomu vericileri, tekli oksijen temizleyicileri ve indirgeyici maddeler olarak işlev gören çok işlevlidir. Bazı polifenoller, antioksidan özelliklerini metal iyonlarını şelatlama yeteneklerine borçludur (Evcimen ve Aslan, 2015).

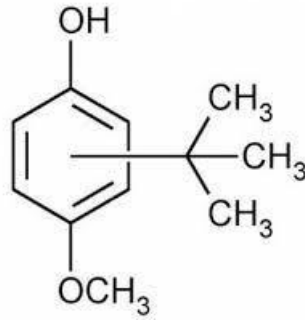
#### 2.6.2. Sentetik antioksidanlar

##### 2.6.2.1. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)

Sentetik bir antioksidan olan BHA, hayvansal ve bitkisel yağlarda çözünen beyaz mumsu bir katı olan (2-terciyer-butil-4-hidroksianisol ve 3-terciyer-bütül-4-hidroksianisol;  $C_{11}H_{16}O_2$ ) karışımıdır. Suda çözünemeyen bir antioksidan olarak tanımlanmaktadır (Chemical, 2022).

Bu antioksidan ilk olarak 1948'de Amerika Birleşik Devletleri'nde gıda kullanımı için onaylandı ve şimdi birçok ülkede gıda olarak tüketilen katı ve sıvı yağlarda kullanılıyor. BHA gıdalarda %0,02 oranında kullanılmaktadır. Hayvansal yağlar ve bu yağlarla yapılan bisküvi, pasta ve patates cipsinde etkili antioksidan olarak kullanılırlar.

BHA, tersiyer bütıl grubunun hidroksil grubuna orto veya meta konumunda olması nedeniyle yapısında "inhibe edici fenol" olarak adlandırılır. Bu sterik engelin, tersiyer bütıl grubunun fenolik yapısının antioksidan aktivitesine müdahale ettiği ve böylece BHA'yı bitkisel yağlarda daha az etkili hale getirdiği öne sürülmüştür (Chemical, 2022).

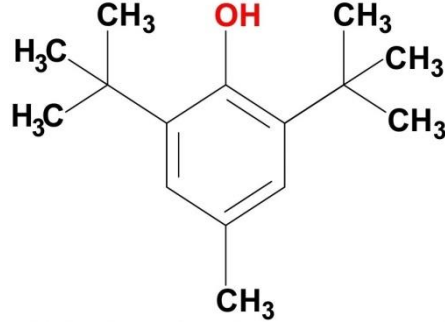


Şekil 2.10. BHA'nın kimyasal yapısı (kimya, 2022).

#### 2.6.2.2. Butillenmiş hidroksi toluen (BHT)

Bütillenmiş hidroksitoluen en çok kullanılan antioksidanlardandır.  $C_{15}H_{24}O$  kapalı formülüne sahiptir ve 2,6-di-tert-bütıl-4-metil fenol yapısına sahiptir. Bütillenmiş hidroksi toluen, hayvansal yağlarda ve etlerde daha aktiftir ve bitkisel yağlarda daha az aktiftir. BHA'ya benzer özelliklere sahiptir. Gıda katkı maddeleri proseslerinde kullanılan çok yüksek sıcaklıklara dayanamaz. %0,01 oranında kullanılır (Chemical, 2022).

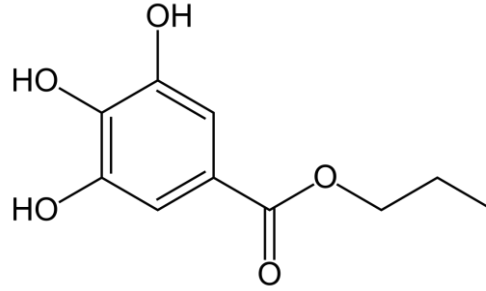
BHT ilk defa soya yağının otoksidasyonunda bozunma ürünleri tayin edilerek fark edilmiştir. BHT yağlar ve yağ asitlerinin oksidasyonunda okside olmuş lipidlerle verdiği reaksiyon sonucu peroksit radikallerinin etkisini yok eder.



Şekil 2.11. Butillenmiş hidroksit tolun (BHT) kimyasal yapısı (Kimyaevi, 2022).

### 2.6.2.3. Propil gallatlar (PG)

Propil gallat (propil 3,4,5-trihidroksibenzoat;  $C_{10}H_{12}O_5$ ) beyaz, kokusuz bir tozudur. Gıdaların, yağların ve ilaçların tazeliğini, besin değerini, aromasını ve rengini korumak ve dengelemek için yaygın olarak kullanılan bir antioksidandır. Etanolde çok çözünür, ancak suda az çözünür. Çalışmalar, propil gallatın gastrointestinal kanalda emildiğini göstermiştir (Zurita ve ark, 2007).



Şekil 2.12. Propil Gallatlar (PG) kimyasal yapısı (Wikipedia, 2022).

### 2.6.3. Yapılarına göre antioksidanlar

#### 2.6.3.1. Fenolik antioksidanlar

En önemli antioksidanlar fenol grupları ve bunların dihidroksi türevleri olanlardır. İyi bir örnek, tersine çevrilerek kinona oksitlenen hidrokinondur. Sadece ortopolifenoller ve parapolifenoller antioksidan özelliklere sahiptir. Fenolün kendisi bir antioksidan olmasa da ancak ikame edilmiş benzenler, çoklu benzen halkası içeren aromatikler veya heterosiklikler, eğer orto- ve para-hidroksi bileşiklerinin yapıları benzer ise, antioksidan olabilirler (Meral ve ark, 2012).

Bazı flavonoidler bitkilerde bulunan fenolik antioksidanlardır. Doğal fenolik antioksidanların bir başka grubu da E vitamini, tokoferollerdir. Sentetik antioksidanlar propil galat, oktil gallat, dodesil galat, nordhidroguaik asit (NDGA),

bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve tribütillhidrokinon (TBHQ) ve diğer fenollerini içerir (Kolaç ve ark, 2017).

### **2.6.3.2. Aromatik antioksidanlar**

Aromatik amino antioksidanlar, hidroksi gruplarının kısmen veya tamamen amino gruplarıyla yer değiştirmesi dışında genellikle fenolik antioksidanlara benzer. Bunlardan biri para-izobütill aminofenoldür (Kolaç ve ark, 2017).

### **2.6.3.3. Organik sülfürlü antioksidanlar**

Güçlü antioksidanların bir grubu organosülfür bileşikleridir.  $\beta,\beta'$ -ditiopropionik asit ve esterleri, özellikle dilauril ve distearil ditiopropionat, güçlü antioksidanlardır. Özellikle %0,01 yağlarda kullanılırlar (Meral ve ark, 2012).

## **2.6.4. Etki mekanizmasına göre antioksidanlar**

### **2.6.4.1. Primer antioksidanlar**

Zinciri kıran ve Lipid radikalleriyle reaksiyona girerek onları daha kararlı ürünlere dönüştüren antioksidanlardır. Bu gruptaki antioksidanlar, elektron vererek serbest radikal zincirlerini kıran fenolik bileşiklerdir. Daha kararlı ürünler oluşturmak ve hidroperoksit oluşumunu önlemek için serbest radikallerle etkileşime girerler. Doğal veya sentetik yapıda olabilirler ve şunları içerirler: Antioksidan mineraller, antioksidan vitaminler ve fitokimyasallar, flavonoidler, kateşinler, karotenoidler,  $\beta$ -karoten, likopen, diterpen, karabiber, kekik, sarımsak, kimyon ve bunların türevlerini içeren fitokimyasallar (Moharram ve Youssef, 2014).

### **2.6.4.2. Sekonder antioksidanlar**

Oksidasyon hızını yavaşlatan maddelerdir. Metal iyonlarını yakalama, oksijen moleküllerini tutma, hidroperoksitleri radikal olmayan bileşiklere ayrıştırmak, ultraviyole ışığı absorblamak ve oksijen atomlarını nötralize etmek gibi etki mekanizmalarına sahiptirler. Kendileri düşük antioksidan etkiye sahiptir. Eğer ortamda iki tür antioksidan varsa, tek başlarına olduklarından daha büyük bir etkiye sahip olacaklardır. Antioksidan etkisini bu şekilde artıran maddelere sinerjistik denir. Askorbik asit, sitrik asit, çeşitli amino asitler, fosfatlar ve tartarik asit gibi maddeler fenolik antioksidanların etkilerini artırır (Moharram ve Youssef, 2014).

### **2.6.5. Kaynaklarına göre antioksidanlar**

Antioksidanlar kaynaklarına göre endojen ve eksojen olarak sınıflandırılabilir. Endojen antioksidanlar vücutta üretilirken, eksojen antioksidanlar dışarıdan besinlerle alınır. Endojen antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki grupta incelenir (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009).

Enzimatik Antioksidanlar Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx), Glutasyon redüktaz (GR), glutasyon-S-transferaz (GST), hidroperoksidaz, peroksidaz ve mitokondriyal sitokrom oksidaz (solunum zinciri son enzimi) enzimatik savunma hattını oluşturan enzimsel antioksidanlardır.

Nonenzimatik antioksidanlar enzimsel olmayan antioksidanlar arasında glutasyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum,  $\alpha$ -lipoik asit, seruloplazmin, transferrin, askorbik asit (C vitamini),  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini),  $\beta$ -karoten, ferritin, haptoglobin, hemoglobin, laktoferrin ve retinoik asit sayılabilir.

Eksojen antioksidanlar: anestezikler, asetil sistein, gıda ekli antioksidanlar (BHA, BHT, etoksikin, propil gallat, sodyum benzoat), desferoksamin (Fe tutucu), DMSO, ebselen, flavonoidler, kalsiyum kanal blokerleri, ksantin oksidaz inhibitörleri (allopurinol, folik asit), oksipurinal, pterinaldehit), mannitol, probukol, rekombinant antioksidan enzim (r-SOD), serüloplazmin (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009).

### **2.7. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri**

Antioksidan kapasiteyi belirlemeye yönelik yöntemler, kullanılan kimyaya göre temel olarak iki kategoriye ayrılabilir:

a) Hidrojen Atomu Transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT)

b) Tek Elektron Transferi reaksiyonlarına dayananlar (ET)

Çoğu HAT tabanlı test, rekabetçi reaksiyonların kinetiğini takip eder ve miktarları kinetik eğrilerden türetir. HAT tabanlı yöntemler genellikle sentetik serbest radikal oluşturuculardan, oksidasyon problemlerinden ve antioksidanlardan oluşur.

ET tabanlı yöntemler, son reaksiyonun bir göstergesi olarak bir oksidan (reaksiyon izleme probu olarak da kullanılır) ile redoks reaksiyonlarını içerir. HAT ve ET tabanlı yöntemler, bir numunenin koruyucu antioksidan kapasitesinden ziyade serbest radikal (veya oksidan) süpürme kapasitesini ölçmeyi amaçlar (Moharram ve Youssef, 2014).

HAT analiz yöntemleri:

- a) Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC)
- b) Lipid peroksidasyon inhibisyon kapasitesi (LPIC)
- c) Toplam radikal tutucu antioksidan parametresi (TRAP)
- d) Engellenmiş oksijen alımı (IOC)
- e) Crocin ağartma nitrik oksit radikal inhibisyon aktivitesi
- f) p-NDA (p-butrisidunetil anilin) ile hidroksil radikal süpürme aktivitesi
- g) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, radikallerin temizlenmesi
- h) ABTS radikal süpürme
- i) Alkali (SASA) ile süper oksit radikal oluşumunun temizlenmesi

ET tabanlı analitik yöntemler, indirgenğinde renk değiştiren oksidanların indirgeme kapasitesinin ölçülmesine dayanır. Renk değişiminin derecesi, numunedeki antioksidanların konsantrasyonuna bağlıdır. ET tabanlı analiz yöntemleri:

- a) Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenol analizi
- b) Troloks'un (TEAC) eşdeğer antioksidan kapasitesinin ölçülmesi
- c) Ferrik iyonu azaltıcı antioksidan kapasitenin (FRAP) ölçümü
- d) oksidan olarak bakır(II) komplekslerinin kullanıldığı bir "toplam antioksidan kapasite" deneyi
- e) DPPH kullanılarak "toplam antioksidan kapasite" ölçüm yöntemi
- f) CUPRAC (Bakır(II) Antioksidan Kapasiteyi Azaltan) yöntemi olarak sıralanabilir (Frankel ve Finley, 2008).

Araştırmalarda en sık kullanılan yöntemler toplam fenol tayini (Folin-Ciocalteu assay), Ransimat yöntemi ile lipid peroksidasyon etkisinin tayini, DPPH ile serbest radikal yakalama etkisinin tayini, Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) tayini, ABTS radikal süpürücü etki testi, Oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) etki tayini.

### **2.7.1. Toplam fenol miktar tayini (Folin-Ciocalteu yöntemi)**

Toplam fenolik madde tayininin esası fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayırıcını indirgeyip kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Folin-Ciocalteu Reaktifi (Folin-Fenol Reaktifi veya Folin-Denis Reaktifi), fenolik antioksidanların ve polifenollerin kolorimetrik tayini

için kullanılan fosfomolibdik ve fosfotungstik reaktiflerin bir karışımıdır. Fenolik bileşikler, 700 nm'de oluşan mor-mor kompleksin maksimum absorpsiyon ölçümü olan alkali ortamda Folin-Ciocalteu reaktifi ile renkli bir kompleks oluşturur (Singleton ve ark, 1999).

### **2.7.2. Lipid peroksidasyon etki tayini**

Lipid peroksidasyon inhibisyon tahlil yöntemi, lipid (örn. yağ asidi) peroksidasyonunu indüklemek için Fenton benzeri bir sistem (Co(II) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kullanır. Model substrat olarak a linolenik asit seçilmiştir. Lipid peroksidasyonunu indüklemek için analiz edilen numuneye ve ayrıca Fenton benzeri karışımla karıştırıldı. İnkübasyonun bitiminden sonra, lipid peroksidasyon indeksi olarak tiyobarbitürik asitle reaktif maddelerin (TBARS) konsantrasyonu ölçüldü. Lipid peroksidasyonu, 1 ml karışım a-linolenik asit/analiz edilen numune başına nmol TBARS olarak ifade edildi (Pisoschi ve Negulescu, 2011).

### **2.7.3. DPPH süpürücü antioksidan aktivite tayin yöntemi**

Bu yöntem ilk olarak Blois (1958) tarafından 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikalinin antioksidan molekülleri tanımlamak için kullanılabileceğini önerdiği zaman tanıtıldı. Antioksidan aktivitenin yoğun ölçümlerinin yapıldığı yıllarda, Brand-Williams ve arkadaşları birçok araştırmacı tarafından referans olarak kullanılan bu yöntemi geliştirdiler. yöntemin temeli. Bu yöntem, kararlı bir organik nitrojen radikali olan antioksidan DPPH'nin (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) süpürücü etkisinin ölçülmesine dayanır. Bu radikal bir hidrojen donörü ile reaksiyona girdiğinde hidrazin olur. Kırmızı DPPH radikali 515 nm'de maksimum absorbans sergiler. DPPH solüsyonuna antioksidan eklenmesi absorbansı azaltır ve antioksidan varlığında radikalın rengi kırmızıdan sarıya değişir. Bu yöntem, antioksidanların radikal temizleme yeteneklerini değerlendirmek için kolay ve geçerli bir yöntem olarak bilinir. Antioksidan aktivitesi incelenecek olan bitki ekstraktlarının DPPH radikal süpürücü etkisine dayanmaktadır ve bu ekstraktların renklenmeleri 517 nm'de DPPH kullanılarak ölçülmüştür ve standart madde ile karşılaştırılmıştır (Romulo, 2020).

### **2.7.4. ORAC (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi) tayini**

ORAC, bu yöntemi uygulayan 1600 makalenin bulunduğu PubMed verilerine göre antioksidan aktiviteyi belirlemek için popüler yöntemlerden biridir. Antioksidan

aktivitenin ölçümü, antioksidanlı numuneler tarafından 2,2'-azo-bis-(2-metilpropionamidin) dihidroklorürün (AAPH) oksiradikal kaynaklı oksidasyonun süpürücü aktivitesine dayanır. Bu yöntemde hedef molekül olarak fikoeritrin veya floresein kullanılır. Zamanla, antioksidan bileşikler ortaya çıktığında bu bileşiklerin floresan sinyali kaybolacaktır. Antioksidan özellikler içeren çözelti test edildiğinde, floresan indirgemesi engellenir ve 485 nm uyarma dalga boyunda ve 520 nm emisyon dalga boyunda ölçülür.

Test, referans standardı olarak Trolox'u kullanır ve değerler genellikle Trolox Eşdeğeri (TE) olarak ifade edilir. Antioksidan kapasite sonuçları, antioksidan değerlerinin boşluk ile alanın çıkarılmasıyla ölçüldüğü reaksiyon eğrileri altındaki toplam floresan alanı ile bir korelasyona sahiptir. , hiçbir antioksidan içermez (Romulo, 2020).

ORAC yöntemi, biyolojik numune matrislerinin taranmasında deneylerin otomasyonu için sabit sıcaklıkta bir mikrotitre plakasında yürütülmeye uygundur. Hem inhibisyon süresini hem de serbest radikal etkisinin inhibisyon derecesini dikkate alır ve çeşitli numune matrisleri için uygundur. Ancak, ORAC reaksiyon sıcaklığı, reaktif konsantrasyonu ve oksijenin kontrolü gibi faktörler bu yöntemi uygularken bazı zorlukları ortaya çıkarır (Romulo, 2020).

#### **2.7.5. Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) tayini**

Bu yöntem, antioksidanların ferrik demiri (III) azaltma yeteneğini ölçer. Ferrik demir ve 2,3,5-trifenil-1,3,4-triaza-2-azoniasiklopenta-1,4-dien klorür (TPTZ) kompleksini düşük pH'ta demirli demire indirgemıştır. Bu düşüş, bir diyot dizisi spektrofotometresi kullanılarak 593 nm'de absorban değişikliği ölçülerek izlenir (Benzie ve Strain, 1996).

#### **2.7.6. ABTS radikal süpürme etki tayini**

Biyokimyada ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) spesifik enzimlerin reaksiyon kinetiğini gözlemlemek için kullanılan kimyasal bir bileşiktir. Bunun için yaygın bir kullanım, moleküllerin birbirine bağlanmasını saptamak için enzime bağlı immünosorbent tahlilinde (ELISA) bulunur.

ABTS ayrıca gıda endüstrisi ve tarım araştırmacıları tarafından gıdaların antioksidan kapasitelerini ölçmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tahlilde ABTS, sodyum persülfat ilavesiyle radikal katyonuna dönüştürülür. Bu radikal katyon mavi renktedir



ve 415, 645, 734 ve 815 nm'de ışığı absorblar. ABTS radikal katyonları, fenoller, tiyoller ve C vitamini dahil olmak üzere çoğu antioksidanla reaksiyona girer. Bu reaksiyonda mavi ABTS radikal katyonu renksiz nötr bir forma dönüştürülür. Reaksiyon bir spektrofotometre ile izlenebilir. Bu test genellikle Trolox Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (TEAC) testi olarak adlandırılır. Test edilen çeşitli antioksidanların reaktivitesi, suda çözünür bir E vitamini analogu olan Trolox ile karşılaştırılır.

Oluşan serbest radikallerin özel kimyasal özelliklerine dayanarak, gıda ürünlerinin antioksidan kapasitesini belirlemek için ABTS testi kullanılmıştır. Örneğin, meyvelerde yaygın olarak bulunan polifenol bileşikleri, insan vücudundaki serbest radikalleri söndürebilir, böylece serbest radikallerin oksidatif hasarını önleyebilir. Bitki özü veya gıda ürününün antioksidan gücü ABTS testi ile ölçülmüştür (Wikipedia, 2022).

## **2.8. Oksidatif Stres**

Oksidatif stres, reaktif oksijen/azot türlerinin (ROS/RNS) vücudun antioksidan savunmasını baskılayarak biyolojik makromoleküllerin (lipitler, proteinler ve DNA gibi) oksidatif modifikasyonuna, doku hasarına ve hızlandırılmış hücre ölümüne yol açtığı patolojik bir durumdur. Canlı hücreler, enerjik metabolizma sırasında solunum zinciri boyunca sürekli olarak serbest radikaller veya reaktif oksijen türleri (ROS) üretir. Oksijen, hücreler tarafından enerji üretmek için kullanılır ve mitokondri tarafından ATP (adenozin trifosfat) üretimi sonucunda serbest radikaller oluşur. ROS zararlı olabilir veya vücudumuzda önemli fizyolojik roller oynayabilir. Normal hücre metabolizması sırasında üretilmelerinin yanı sıra, UV ışığı, X ışınları, gama ışınları ve ROS oluşumuna yol açabilecek atmosferik kirleticiler ile ışınlama gibi çok sayıda dışsal faktör vardır (Apak ve ark, 2016).

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS), hücre oksidasyon işlemlerinin yan ürünleridir. Bu reaktif türler, insanlarda toksik ve faydalı bileşikler olarak ikili bir rol oynamaktadır. Bu karşıt etkiler arasındaki hassas denge, şüphesiz yaşamın önemli bir yönüdür. Düşük veya orta konsantrasyonlarda, reaktif türler, hücre redoks sinyali ve bağışıklık fonksiyonu üzerinde yararlı etkiler gösterir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda, hücrelerin işlevine ve yapılarına zarar verebilecek zararlı bir süreç olan oksidatif stres üretirler (Thanonkaew ve ark, 2015).

İnsan vücudu, antioksidanlar üreterek veya dışarıdan türetilen gıdalar veya takviyeler yoluyla oksidatif strese karşı koymak için çeşitli içsel mekanizmalara sahiptir. Ancak serbest radikallerin fazlalığı olduğunda bunların vücutta birikmesi oksidatif stres adı verilen bir fenomen oluşturur. Yaşlandıkça, bu oksidatif veya nitrozatif hasarlar, ROS/RNS belirli düzeylerde biriktikten sonra bir dizi geç başlangıçlı hastalığa neden olur. ROS/RNS aracılı geç başlangıçlı hastalıklar vücudun herhangi bir sisteminde ortaya çıkabilir ve kanser, artrit arterioskleroz ve nörodejeneratif hastalıklar gibi klinik durumlara yol açabilir. Oksidatif stres, çeşitli hastalık durumlarına yönelik özgülüğü doğrulama gerektiren spesifik biyobelirteçlerin ifadesi ile işaretlenir (Wiley ve Ltd, 1997).

Oksidatif stres, dört kritik adımda çeşitli hastalıklara neden olur. Bozulmuş lipid membran peroksidasyonu, protein oksidasyonu, DNA hasarı ve hücre denge kaybı. Bu, hücre yıkımına ve sinyal yollarında değişikliklere yol açar. Oksidatif stres, kanser, kardiyovasküler hastalık, nörolojik hastalık, diyabet ve yaşlanma benzer biçimde muhtelif hastalıklarla ilişkilidir. Pro-oksidanların tiyol/disülfid redoks durumunu değiştirmesi ve glikoz toleransına zarar vermesi ile örneklenebilen "mitokondriyal oksidatif stres" durumları gibi hastalıkların patogenezinde farklı mekanizmalar rol oynar; "inflamatuvar oksidatif koşullar" ve NADPH oksidaz veya ksantin oksidaz kaynaklı ROS oluşumunun artan aktivitesi veya her ikisi tarafından. Yaşlanma, esas olarak lipid peroksidasyonu, DNA hasarı, serbest radikal etkisiyle protein oksidasyonunun sonucundan kaynaklanmaktadır. Vücudumuzda bulunan her biyolojik molekül, serbest radikallerin zarar görme riski altındadır. Bu tür hasarlı hücre molekülleri, hücre fonksiyonlarını bozabilir veya hücre ölümüne yol açabilir ve sonuçta hastalıklı durumlara neden olabilir (Valko ve ark, 2007).

Lipidler üzerindeki etkisi. Hücre altı organellerin zarında bulunan lipidler, serbest radikal hasarına karşı oldukça hassastır. Lipid ile reaksiyona girdiğinde serbest radikal hem doğrudan hem de dolaylı etkilere yol açan lipid peroksidasyonunun son derece zararlı zincir reaksiyonuna maruz kalabilir. Lipid peroksidasyonu, üretim alanından uzaktaki bir bölgede etki gösterebilen, 'ikinci haberciler' olarak hareket eden çok sayıda toksik yan ürünün oluşumuna yol açar (Devasagayam ve ark, 2003).

Lipit peroksidasyonunun neden olduğu hasar, hücre işlevi için oldukça zararlıdır. Hücre zarı lipid peroksidasyonu, akışkanlıklarını ve geçirgenliklerini etkileyerek hücre zarlarına zarar verebilir. Lipid peroksidasyonu, bir metilen grubundan bir

hidrojen atomunu çıkarabilen bir türün saldırısıyla başlatılır ve bu da karbon atomu ( $\bullet\text{CH}$ ) üzerinde eşleşmemiş bir elektron oluşumuyla sonuçlanır. Bu şekilde oluşan karbon radikali, daha sonra bir lipid peroksil radikali ( $\text{LOO}\bullet$ ) oluşturmak üzere bir oksijen molekülü ile reaksiyona girebilen bir konjuge dien üretmek üzere moleküler yeniden düzenleme ile stabilize edilir. Bu radikaller, hidrojen atomlarını daha fazla soyutlamak için diğer lipid molekülleri ile reaksiyona girebilir, böylece lipid hidroperoksitler ( $\text{LOOH}$ ) oluşur ve aynı zamanda diğer lipid peroksidasyonunu daha da ilerletir (Devasagayam ve ark, 2003).

Proteinler üzerindeki etkisi. Proteinler ayrıca doğrudan serbest radikallere karşı hassastır. Serbest radikaller, enzim aktivitesine ve yapısal proteinin işlevine müdahale ederek birçok protein türüne zarar verebilir. Protein hidroperoksitleri gibi oldukça reaktif ve kararlı bir ürün, ROS/RNS'nin neden olduğu proteinlerin oksidasyonu ile üretilebilir ve bu, esas olarak geçiş metal iyonları ile etkileşim üzerine ek radikaller üretebilir. Oksitlenmiş proteinlerin çoğu doğal olarak işlevsel olarak inaktiftir ve hızla temizlenir, ancak bazıları zamanla kademeli olarak birikerek yaşlanma bağlı hasara ve çeşitli hastalıklara katkıda bulunur (Valko ve ark, 2007).

DNA üzerindeki etkisi. ROS/RNS, DNA ile etkileşime girer ve oksidatif hasara yol açar. DNA,  $\bullet\text{OH}$  gibi serbest radikallerin vereceği hasara karşı oldukça hassastır. Şeker kısmından hidrojen atomlarının eklenmesi veya kaybıyla DNA ile reaksiyona girebilir. Özellikle, pirimidinin C4-C5 çift bağı,  $\bullet\text{OH}$  saldırısına karşı çok hassastır, bu da timin glikol, urasil glikol, üre kalıntıları, 5-hidroksideoksiüridin gibi oksidatif pirimidin hasar ürünlerinin bir spektrumunun oluşmasına neden olur. hidroksideoksiüridin, hidantoin ve diğerleri.

Benzer şekilde, pürinler,  $\bullet\text{OH}$  ile birleşerek 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), 8-hidroksideoksiadenozin, formamidopirimidinler ve diğer daha az karakterize edilmiş pürin oksidatif ürünleri oluşturma eğilimindedir. Serbest radikal saldırısı ayrıca DNA'nın parçalanmasına ve programlanmış hücre ölümüne yol açabilen poli (ADP-riboz) sentetaz enziminin aktivasyonuna neden olur. Bu işlem, hücresel  $\text{NAD}^+$  seviyelerini tüketerek elektron taşıma zinciri fonksiyonunu bozar (Sarma ve ark, 2010).

Karbonhidratlar üzerindeki etkisi.  $\bullet\text{OH}$  gibi serbest radikaller, karbonhidratlarla rastgele reaksiyona girerek karbon-kanterli radikal ile sonuçlanır. Bu, hyaluronik asit

gibi hayati moleküllerde zincir kırılmalarına yol açar. Aslında, serbest radikal reaksiyonları, her insan hastalık durumunda rol oynar. Serbest radikal rolünün iyi tespit edildiği insan hastalıklarından bazıları, nörodejeneratif bozuklukları (Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, multipl skleroz, amiyotrofik lateralskleroz, hafıza kaybı ve depresyon), kardiyovasküler hastalıkları (ateroskleroz, iskemik kalp hastalığı, kardiyak hipertrofi, hipertansiyon, şok ve travma), akciğer bozuklukları (astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi inflamatuvar akciğer hastalıkları), prematüre bebeklerle ilişkili hastalıklar (bronkopulmoner, displazi, periventriküler lökomalazi, intraventriküler kanama, prematüre retinopatisi ve nekrotizan enterokolit), otoimmün hastalıklar (romatoid artrit), böbrek hastalıkları (glomerülonefrit, tubulointerstisyel nefrit, kronik böbrek yetmezliği, proteinüri, üremi), peptik ülser inflamatuvar bağırsak hastalığı ve kolit gibi gastrointestinal hastalıklar), diyabet, tümörler ve kanserler (Devasagayam ve ark, 2003).

Reaktif oksijen türleri (ROS), kardiyovasküler sistemdeki bir dizi işlemi düzenleyen sinyal molekülleri olarak işlev görür ve kardiyovasküler homeostazın korunmasına büyük ölçüde katkıda bulunur. Oksijen serbest radikallerinin hem in vivo hem de in vitro çalışmalarda ateroskleroz, iskemi, hipertansiyon, kardiyomiyopati, kardiyak hipertrofi ve konjestif kalp yetmezliği gibi bir dizi kardiyovasküler hastalığın (KVH) patogenezinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. İskemi ve reperfüzyon sırasında potansiyel serbest radikal kaynakları miyositlerde, vasküler endotelde ve lökositlerde tanımlanmıştır. Hücre içi  $Ca^{2+}$  konsantrasyonunun düzenlenmesinde yer alan süreçlerin yaranması hem serbest radikallerin neden olduğu hem de reperfüzyon anormalliklerinin altında yatan ortak bir mekanizma olabilir (Stanner ve Coe, 2018).

Redoks metalleri tarafından katalize edilen oksidatif stres ve serbest radikal oluşumunun, nörodejenerasyonun ana suçluları olan RNS ve ROS üretimine katkıda bulunan in vivo redoks reaksiyonlarının düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Mitokondriyal disfonksiyonlar, eksitotoksisite ve son olarak apoptoz, Parkinson hastalığı (PD), Alzheimer hastalığı (AD), Multipl Skleroz (MS) ve Amyotrophic lateral skleroz (ALS) gibi nörodejeneratif hastalıkların belirgin nedenleridir. Mitokondriyal disfonksiyon, solunum zinciri disfonksiyonu ve oksidatif stres, azaltılmış ATP üretimi, kalsiyum düzensizliği, mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözenek açılması, mitokondriyal dinamiklerde petürbasyon ve düzensiz mitokondriyal klirensi içerir (Emerit ve ark, 2004).

Alzheimer hastalarının beyinde sıklıkla bulunan toksik bir peptit olan  $\beta$ -amiloid üretimi, oksidatif strese bağlıdır ve nörodejeneratif süreçlerde önemli bir rol oynar. AD beyinleri ayrıca ROS aracılı enfeksiyon kanıtı gösterir; Alzheimer hastalarının beyin ve beyin omurilik sıvısında kontrollere kıyasla malondialdehit ve 4-hidroksinonenal düzeylerinde artış vardır (Gandhi ve Abramov, 2012).

Parkinson hastalığında protein alfa-sinüklein ( $\alpha$ Syn) ubikuitine bağlanır ve Lewy cisimcikleri adı verilen proteinli sitoplazmik kapanımlar oluşturur.  $\alpha$ Syn'in aşırı birikimi ve translasyon sonrası modifikasyonu, dopaminerjik nöronların ölümüyle sonuçlanır.

Bunun yanı sıra Parkinson hastalığının gelişmesinde önemli rol oynayan substantia nigra'da [beyin bölgesi] lipid peroksidasyonunda artış, oksidatif DNA ve protein hasarı gözlenir. Huntington hastalığında mutant Huntingtin proteini (mHtt) toplanır ve BDNF gibi önemli moleküllerin retrograd taşınmasına zarar verir. Taşımadaki bu hasar, patolojik değişikliklere ve hastalık semptomlarına neden olan moleküler motorların ve mikrotübüllerin hasar görmesi sonucu oluşur. Ek olarak değiştirilmiş mitokondriyal enerji metabolizması, serbest radikallerin üretimini artırır ve böylece Huntington hastalığında ciddi nöronal travmaya neden olur (Lovell ve ark, 1995).

Akciğerler, gözler ve cilt doğal olarak nispeten yüksek miktarda oksijene ve ayrıca onları oksidatif hasara karşı savunmasız hale getiren hava kirleticilerine maruz kalır. Kadmiyum gibi ağır metaller, hücre ölümünü destekleyen reaktif oksijen türlerinin oluşumunu artırır. Bununla birlikte, eksojen antioksidan savunmadaki eksiklik de önemli bir rol oynar ve oküler dokularda sorunlara neden olabilir (Apak ve ark, 2016).

## **2.9. Serbest Radikaller**

Bir ya da daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron içeren atom, iyon veya moleküllere serbest radikaller denir. Diğer kimyasal türlere bağımlı değil, bağımsız olarak var oldukları için "serbest" olarak adlandırılırlar. Eşleşmemiş elektronları nedeniyle, radikal benzeri maddeler genellikle çok kararsızdır ve oldukça reaktiftir. Bir indirgeyici madde gibi davranır (Sen ve ark, 2010).

ROS, süperoksit ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidroksil ( $\bullet OH$ ), peroksil ( $ROO\bullet$ ), lipid peroksil ( $LOO\bullet$ ) ve alkoksil ( $RO\bullet$ ) radikallerini içerir. Nitrojen serbest radikalleri, nitrik oksit ( $NO\bullet$ ) ve

nitrojen dioksiti ( $\text{NO}_2\bullet$ ) içerir. Oksijen ve nitrojen serbest radikalleri, sağlık için de tehlikeli olan diğer radikal olmayan reaktif türlere kolayca dönüştürülebilir. Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ozon ( $\text{O}_3$ ), singlet oksijen ( $^1\text{O}_2$ ), hipokloröz asit ( $\text{HOCl}$ ), nitroz asit ( $\text{HNO}_2$ ), peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ), nitroz oksit ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ), Oksitlenmiş lipitler ( $\text{LOOH}$ ) serbest radikal değildir ve genellikle oksidanlar olarak adlandırılırlar ve kolaylıkla in vivo olarak serbest radikal reaksiyonları başlatabilirler. Oksidanlar ayrıca proteinleri nirosile ederek biyolojik işlevi bozabilir. Dolayısıyla ROS ve RNS, radikal ve radikal olmayan türleri içerir (Sarma ve ark, 2010).

Bu reaktif türler, fizyolojik ve patolojik koşullar altında hayvanlarda ve insanlarda üretilir. Serbest radikaller hem vücudun kendi maddelerinden hem de yabancı maddelerden gelebilir. Vücutta serbest radikal üretimi sabittir ve fizyolojimizin normal bir parçasıdır. Serbest radikal oluşumları ile ilişkili biyolojik süreç aşağıdakileri içerir;

- Bağışıklık sistemi: Bağışıklık sistemi hücreleri, patojenlere yanıt olarak oksiradikaller ve ROS üretir.
- Metabolik süreç: Araşidonik asit, trombositler, makrofajlar ve düz kas hücrelerinin metabolizması sırasında serbest radikaller oluşabilir. Lipid peroksidasyonu önemli bir serbest radikal kaynağıdır ve mitokondriyal sitokrom oksidaz, ksantin oksidazlar, nötrofiller gibi çeşitli kaynaklardan oluşabilir. Mitokondri, her biri farklı serbest radikaller üretebilen bir dizi metabolik süreç boyunca toksik atık olarak sürekli ve bol miktarda oksiradikaller ve ROS üretir.
- Enflamasyon: Enflamasyon sitokinleri serbest bırakır ve serbest radikaller üretmek için nötrofilleri ve makrofajları başlatır.
- Stres: Zihinsel ve bedensel stres, toksik bir yan ürün olarak serbest radikallerin üretimini tetikleyebilir. Ek olarak, kortizol ve katekolamin gibi vücutta stres reaksiyonuna aracılık eden hormonların kendileri de yıkıcı serbest radikallere dönüşürler.
- Kirlilik: Hava kirleticiler (asbest, benzen, karbon monoksit, klor, formaldehit, ozon ve toluen), kimyasal çözücüler (temizlik ürünleri, yapıştırıcı, boyalar, tiner, parfümler ve böcek ilaçları) ve su gibi farklı kirletici türleri kirleticilerin (kloroform ve diğer trihalometanlar) tümü, serbest radikallerin güçlü jeneratörleridir. Pişirme, orman yangınları ve

volkanik faaliyetler sırasında organik maddelerin yanması da serbest radikaller üretebilir.

- Radyasyon: UV radyasyonları, tıbbi ve diş röntgeni, gama ışınları ve mikrodalga radyasyonu serbest radikal oluşumuna yol açabilir.
- Diyet faktörleri: Katkı maddeleri, alkol, kahve, hayvansal kökenli yiyecekler, mangalda pişirilmiş, ızgarada kızartılmış, ızgarada pişirilmiş veya yüksek ısıda pişirilmiş yiyecekler, esmerleşmiş veya yakılmış yiyecekler, herbisitler, hidrojene bitkisel yağlar, böcek ilaçları, şeker ve yüksek düzeyde lipid peroksit içeren işlenmiş gıdalar ve serbest radikaller üretebilir.
- Toksinler ve ilaçlar: Karbon tetraklorür, parakuat, benzo piren, anilin boyalar, toluen ve adriamisin, bleomisin, mitomisin C, nitrofurantoin, klorpromazin vb ilaçlar serbest radikal üretimini arttırır.
- Diğer Faktörler: Otomobil egzoz dumanları, tütün ürünlerinin içilmesi serbest radikal oluşumuna neden olur (Bagchi ve Puri, 1998).

Normalde, bağlar tek, eşleşmemiş bir elektrona sahip bir molekül bırakmak için bölünmez. Ancak zayıf bağlar bölündüğünde serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller çok kararsızdır ve diğer bileşiklerle hızla reaksiyona girerek kararlılık kazanmak için gerekli elektronu yakalamaya çalışırlar. "Saldırıya uğrayan" molekül elektronunu kaybettiğinde, bir zincir reaksiyonu başlatarak kendisi bir serbest radikal haline gelir. Bütün bunlar nanosaniyeler içinde gerçekleşir. İşlem bir kez başlatıldığında, kademeli olabilir ve sonunda canlı bir hücrenin bozulmasına neden olur. Bazı serbest radikaller normalde metabolizma sırasında ve virüsleri ve bakterileri nötralize eden bağışıklık sistemi hücreleri tarafından üretilir. Normalde vücut serbest radikalleri işleyebilir, ancak antioksidanlar mevcut değilse veya serbest radikal üretimi aşırı hale gelirse hasar meydana gelebilir (Coronglu ve ark, 1993).

ROS ve RNS'nin faydalı etkileri, düşük/orta konsantrasyonlarda meydana gelir ve çeşitli hücresel tepkilere karşı birkaç normal fizyolojik işlevi içerir. Çoğu hücre yapısal olarak süperoksit, hidrojen peroksit ve nitrik oksit üretebilirken, diğerleri uyarılabilir ROS/RNS salma sistemine sahiptir (Valko ve ark, 2007). Örneğin, fagositoz yoluyla enfeksiyöz ajanlara karşı savunma, kanser hücrelerinin makrofajlar ve sitotoksik lenfositler tarafından öldürülmesi, ksenobiyotiklerin Sitokrom P450 tarafından detoksifikasyonu, mitokondride ATP üretimi (enerji üretimi), hücre büyümesi ve düşük konsantrasyonlarda mitojenik tepkilerin indüklenmesi bunlardan

bazıdır. ROS ve RNS'nin temel faydalı faaliyetleri. Ayrıca çeşitli sitokinlerin aktivasyonu ve büyüme faktörü sinyalizasyonu, reseptör olmayan tirozin kinaz aktivasyonu, protein tirozin fosfataz aktivasyonu, hücre içi depolardan kalsiyum salınımı, nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu gibi düşük konsantrasyonda farklı hücrelerel sinyalleşmede önemli rol oynarlar. ROS, gen transkripsiyonu ve hücrelerde çözünür guanilat siklaz aktivitesinin düzenlenmesi gibi hayati eylemler uygular. Endotel hücreleri tarafından üretilen NO, vasküler düz kasın kan basıncının düzenlenmesi, lökosit adezyonu, trombosit agregasyonu, anjiyogenez ve tromboz için gereklidir. Ek olarak, nöronlar tarafından üretilen NO, önemli bir nörotransmitterdir ve nöral plastisite için anahtardır ve aktive makrofajlar tarafından üretilen NO, immün yanıtın önemli bir aracıdır. Ayrıca, son çalışmalar ayrıca süperoksit, hidrojen peroksit gibi ROS'un ikinci haberciler olarak hareket edebileceğini, ancak bu serbest radikallerin birikimi arttıkça zararlı olabileceğini düşündürmektedir (Lander, 2018).

Serbest radikal, aşağıdakileri içeren belirli tekniklerle teşhis edilebilir:

- Elektron Spin rezonansı.
- CIDNP adı verilen bir fenomeni kullanan nükleer manyetik rezonans
- Kimyasal etiketleme- Bu, X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) veya Absorpsiyon spektroskopisinin kullanımını içerir.
- Serbest radikal belirteçlerinin kullanımı - Fizyolojik maddelerin kararlı spesifik veya spesifik olmayan türevleri, örneğin Lipit peroksidasyon ürünlerini (izoprostan), amino asit oksidasyon ürünlerini (metatirozin, ortotirozin, hidroksiloyditirozin) ve peptit oksidasyonunu ölçebilme. Ürün (oksidlenmiş glutatyon).
- Dolaylı yöntem- Antioksidan içeriğindeki azalmanın ölçülmesi (glutatyon GSH'deki azalma) (Fang ve ark, 2002).

Serbest radikaller kanser, Alzheimer hastalığı, kardiyak reperfüzyon anormallikleri, böbrek hastalığı, fibrozis gibi birçok insan hastalığına neden olur.

Kanser: Radyasyon ve kanserojenler gibi, serbest radikal oksidasyon da DNA zincirlerini kırar. Kırıklar onarılır, ancak mutasyonlara yol açan bazı hatalar meydana gelir. Bu genetik mutasyonlar kansere neden olabilir. Kanser oranlarındaki yaşa bağlı



artışın, DNA'daki oksidatif hasardaki yaşa bağlı artışla bir ilgisi olabilir (Sarma ve ark, 2010).

**Alzheimer hastalığı:** Alzheimer hastalığında (AD) beyin, artan oksidatif stres altındadır ve bu, bu hastalıkta nöron dejenerasyonu ve ölümün patogenezinde rol oynayabilir. AD'de artan oksidatif stresi destekleyen doğrudan kanıtlar: (1) AD'de serbest radikal oluşumunu uyarabilen artmış beyin Fe, Al ve Hg; (2) AD'li beyinde lipid peroksidasyonunun artması ve çoklu doymamış yağ asitlerinin azalması ve AD ventriküler sıvısında lipid peroksidasyonunun bir aldehit ürünü olan 4-hidroksinonenal'in artması; (3) AD beyinde artan protein ve DNA oksidasyonu; (4) AD'de beyinde azalmış enerji metabolizması ve azalmış sitokrom c oksidaz; (5) ileri glikasyon son ürünleri (AGE), malondialdehit, karboniller, peroksinitrit, heme oksijenaz-1 ve SOD-1 nörofibriler yumaklarda ve AGE, heme oksijenaz-1, SOD-1 senil plaklarda ve (6) amiloid beta peptidinin serbest radikaller üretme yeteneğine sahip olduğu. Bu nedenle, serbest radikaller muhtemelen Alzheimer hastalığında (AH) nöron ölümünün patogenezinde yer almaktadır (Sarma ve ark, 2010).

**Kardiyak reperfüzyon anormallikleri:** Oksijen serbest radikalleri, lipidlerin ve proteinlerin oksidasyonuna neden olan oldukça reaktif bileşiklerdir ve miyokardiyal sersemletme, geri dönüşümsüz hasar ve reperfüzyon aritmileri dâhil olmak üzere reperfüzyon anormalliklerinin patogenezinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Serbest radikal birikimi, elektron paramanyetik rezonans spektroskopisi ve doku kemilüminesansı gibi teknikler kullanılarak doğrudan ve oksidasyon ürünleri başına lipid biyokimyasal tahlilleri kullanılarak dolaylı olarak iskemik ve reperfüze miyokarda ölçülmüştür. İskemi ve reperfüzyon sırasında potansiyel serbest radikal kaynakları miyositlerde, vasküler endotelde ve lökositlerde tanımlanmıştır. Hücre içi  $Ca^{2+}$  konsantrasyonunun düzenlenmesinde yer alan süreçlerin yaralanması hem serbest radikallerin neden olduğu hem de reperfüzyon anormalliklerinin altında yatan ortak bir mekanizma olabilir (Sarma ve ark, 2010).

**Böbrek hastalığı:** Mitokondriyal serbest radikal üretimi, miyohemoglobinüri sırasında lipid peroksidasyonunu indükler. Demir katalizli serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyonu, hem proteininin neden olduğu akut böbrek yetmezliğinin kabul edilen mekanizmalarıdır. Ancak proksimal tübüler hücrelerde lipid peroksidasyonunu tetikleyen bu serbest radikallerin kaynağı/kaynakları

bilinmemektedir. Sonuç olarak, terminal mitokondriyal solunum zinciri, baskın serbest radikal kaynağıdır (Sarma ve ark, 2010).

Fibrozis: Oksijen, parakuat, nitrofurantoinler ve bleomisin, pulmoner fibroz üretir. Demir ve bakır gibi radikal üreten ajanlar da karaciğer fibrozu (siroz) ve kalp gibi diğer organlardaki fibrotik değişiklikler ile ilişkilidir. İnteroküler demir veya bakır tarafından vitreus skarının indüklenmesi ve homosistinüri ile arterlerin fibrotik lezyonları arasındaki ilişki de iyi bilinmektedir. Erişkin Solunum Sıkıntısı Sendromu (ARDS), inflamatuvar hücreler tarafından aktif oksijen türlerinin üretilmesi nedeniyle oluşur (Sarma ve ark, 2010).

## **2.10. Fenolik Bileşikler**

Fenolik bileşikler bitkiler âleminde her yerde bulunur ve birçok biyolojik etkiye sahip oldukları bildirilmiştir. Son zamanlarda bitki fenolikleri, insan sağlığını geliştirmedeki varsayılan özellikleri ve bunları doğal gıda katkı maddeleri olarak kullanma olasılıkları nedeniyle ilgi görmüştür, çünkü fenolik bileşikler aroma verici, renklendirici ve antioksidan olarak hareket ederek gıdaların kalitesini, kabul edilebilirliğini ve stabilitesini etkiler (Karabulut ve Gülay, 2016).

Fenolik bileşikler, meyveler, sebzeler, tahıllar ve çeşitli bitki ürünlerinde doğal olarak bulunan ve bu gıdaların renk, tat, koku gibi çeşitli özelliklerinden sorumlu olan, bitki savunma mekanizmalarında rol oynayan ve çeşitli zararlılara karşı etki gösteren fitokimyasallardır. Virüsler ve parazitler gibi. Bu fitokimyasallar, şikimik asit yolundan ve fenilpropanoid metabolizmasından türetilen, bir veya daha fazla hidroksil (-OH) grubunun bağlı olduğu aromatik bir benzen halkası içeren geniş bir bileşik grubundan oluşur. Yapılarına göre sınıflandırılırlar ve hidroksil gruplarının sayısına ve konumuna ve diğer sübstitüentlerin varlığına göre her sınıf içinde alt kategorilere ayrılırlar. Fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılırlar. En yaygın ve çeşitli polifenol grubu, C6 C3-C6 flavon çerçevesi üzerine inşa edilen flavonoidlerdir. Flavonoidler fenolik bileşiklerin geniş bir grubunu temsil eder ve bu grup flavonoller, flavanoller, antosiyaninler, kumarinler, tanenler ve ligninler gibi önemli maddeleri içerir (Karabulut ve Yemiş, 2019). Ayrıca meyve ve sebzelerde benzoik asit veya sinnamik asit türevleri gibi diğer fenolik bileşikler de tespit edilmiştir. Hidroksisinnamik asitlerin en önemli örnekleri şunlardır: Kumarik, kafeik asit, ferulik asit, sinapik asit. Kafeik asit esterleri (klorojenik asit gibi) başlıca bitki

kaynaklı fenolik antioksidanlardır ve doğal kaynaklarda bulunan konsantrasyonlarda yüksek antioksidan aktivite sergiler. Fındık, yağlı tohumlar, sebzeler ve mantarlarda bulunur. En önemli hidroksibenzoik asitler şunlardır: Salisilik asit, p-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, gallik asit, vanilik asit, siringik asit. Bu asitler genellikle meyve ve sebzelerde küçük miktarlarda serbest halde bulunur (Bohn, 2014).

Fenolik bileşikler, özellikle flavonoidler, en önemlileri antioksidan aktivite, kılcal koruma ve tümör gelişiminin çeşitli aşamalarında meydana gelen inhibitör etkiler olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Fenolik bileşikler, besleyici ve antioksidan özellikler içermelerinin yanı sıra aroma, burukluk ve renk gibi birçok organoleptik özelliği etkileyerek birçok bitki bazlı gıdanın lezzetine ve aromasına katkıda bulunur. Fenolik bileşiklerin kokuya katkısı, esas olarak, daha yüksek alkollerin hidroliziyle veya maya ve laktik asit bakterileri gibi mikrobiyal metabolizmanın bir sonucu olarak üretilen uçucu fenollerin varlığından kaynaklanmaktadır (Kaur ve Mondal, 2014).

Flavonoidler de doğal gıda pigmentleridir ve bitkisel ürünlerin rengini önemli ölçüde etkiler. Bitki yapraklarında, çiçeklerinde ve polenlerinde bulunan bir flavonoid. Serbest radikal yok edici olarak hareket eder ve güçlü bir antioksidan ve anti-enflamatuar ajandır. Ayrıca tümörjenez ile yakından ilişkili prostaglandin sentaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz enzimlerini de inhibe eder (Nayak ve ark, 2015).

Flavonoidlerin lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri, hidroksil ve süperoksit radikallerinin peroksi radikalleri ile reaksiyonlarının bir sonucu olarak elektron transferi yoluyla temizlenmesi ile ilişkilidir. Flavonoidler, kanser, kardiyovasküler hastalık (CVD) ve gastrik mukozal hasar gibi serbest radikallerin neden olduğu hastalıkları önler. LDL'nin oksidasyondan korunması, aterosklerozun başlaması ve ilerlemesinde kritik öneme sahiptir, çünkü LDL oksidasyonu CVD oluşumu için önemli bir risk oluşturur (Nayak ve ark, 2015).

Fenolik bileşikler hücrede 3 farklı formda bulunur: 1) serbest, 2) ekstrakte edilebilir - konjuge ve 3) ekstrakte edilemez. Serbest biçimli fenoller, hücredeki vakuollerin içinde tutulur. Fenoller yapılarında bulunan aromatik halkalar ve hidroksil (-OH) grupları sayesinde konjuge glikozitlere veya düşük molekül ağırlıklı bileşiklere esterleşebilirler. Bağlı fenoller, selüloz, pektin ve proteinler gibi hücre duvarı yapılarına ester, eter veya asetal bağlar yoluyla kovalent olarak bağlanabilir.

Fenolün aromatik halkasının hidroksil (-OH) grubu, bitki hücre duvarının ligninine bir eter bağı ile bağlanır. Karboksil grupları (COOH), ester bağları yoluyla proteinlere ve karbonhidratlara bağlanabilir. Aynı zamanda, sınırlı fenolik bileşikler, gıda matrislerine ve çeşitli hücre yapılara bağlanmadan sadece fiziksel olarak makro bileşen yapılarında tutulur (Shahidi ve Yeo, 2016).

Gıdalardaki fenolik bileşiklerin serbest ve konjuge formları, sulu organik çözücüler (genellikle metanol, etanol veya aseton:su) kullanılarak geleneksel yöntemlerle belirlenebilir. Bununla birlikte, ekstraksiyon kalıntısında kalan ve toplam fenolik bileşiklerin önemli bir bölümünü oluşturan bağlı form göz ardı edilir. Çeşitli etkileşimler yoluyla makromoleküllere bağlanan ekstrakte edilemeyen fenolik yapılara ekstraksiyon solventleri ile ulaşılamaz. Bu nedenle bağlı fenol içeriği yüksek olan gıdaların toplam fenolik içeriği bugüne kadar tam olarak belirlenememiştir (Zhang ve Tsao, 2016).

Fenolik bileşiklerin gizli yapısı, bağlı fenoller, ilk olarak 1980'lerin başında Bate ve Smith tarafından baklagil çalışmalarında bağlı tanenlerin varlığı ile keşfedilmiştir. 1990'larda sınırlı araştırma, bugün MALDI-TOFF-MS (matriks destekli lazer dezorpsiyon iyonizasyon-uçuş süresi kütle spektrometresi), FT-IR (Fourier dönüşümü kızılötesi), NMR (nükleer manyetik rezonans), MS (kütle spektroskopisi) ve bağlı fenolik bileşikler, NIR (yakın kızılötesi spektroskopisi) gibi gelişmiş teknikler kullanılarak ayrıntılı olarak açıklanabilir (Zhang ve Tsao, 2016).

Yapılan araştırmalar fenolik bileşiklerin; antiallerjik, antienflamatuar, antidiyabetik, antimikrobiyal, antipatojenik, antiviral ve antitrombotik özelliklerini ve kardiyovasküler hastalıklar, kanser, osteoporoz, diyabetes mellitus ve nörodejeneratif hastalıklar da koruyucu etkilerini göstermektedir. Kılcal dolaşım sisteminde geçirgenliği düzenleyici ve kanbasıncını düşürücü etkisi gözönüne alınarak bazı kaynaklarda P faktörü (permeabilite faktörü) veya P vitamini olarak da adlandırılmaktadır. Gıda bileşeni olarak fenolik maddeler; tat ve koku oluşumundaki etkileri, renk oluşumu ve değişimine katılmaları, antimikrobiyal ve antioksidatif etki göstermeleri ve enzim inhibisyonuna neden olmaları gibi etkilerinden dolayı insansırlığı açısından önemlidir. Beslenme fizyolojisi açısından olumlu etkilerinden dolayı fenolik bileşiklere biyoflavonoid adı da verilmektedir (Cirillo ve ark, 2014).

### 2.10.1. Kırmızı pancarın fenolik bileşikleri

Betalain taşıyan birçok türün hücre duvarlarında nispeten yüksek konsantrasyonlarda ferulik asit bulunur. Farklı pancar malzemelerinde ferulik asit dışında diğer fenolik asitler ve fenolik asit konjugatları da rapor edilmiştir (Kujala T. S. ve ark, 2000).

Kujala ve ark. (2001), kurutulmuş pancardaki toplam fenolik bileşik miktarının 15.5 mg GAE/g olduğunu bildirmiştir.

Kujala ve ark. (2002), kırmızı pancarda 5,5'-tetrahidroksi-6,6' 3,3'-bis indolil, ferulil glukoz,  $\beta$ -D-früktofüoranosil- $\alpha$ -D-[6-O-(E)-ferulil glukopiranosid] olmak üzere üç fenolik madde; 2 fenolik amid (N-trans-Ferulil tiramin, N-trans-Ferulilhomovanililamin) 4 flavonoid (betagari, betavulgarin, Siklosporin A ve dihidro isoramnetin) tanımlamıştır (Kujala ve ark, 2001).

Kabuk ekstraktının fraksiyonlarında p-kumarik asit ve ferulik asit tespit edildi. Waldron ve ark. (1997), pancarın hücre duvarlarında ferulik asit, ferulik asit dehidrodimerleri, p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit ve trans-p-kumarik asit buldu.

Bokern et al. (1991), dondurularak kurutulmuş hücreler %50 sulu metanol ile ekstrakte edildiğinde, pancar hücre kültürlerinden beş ferulik asit konjugatı buldu. Beta vulgaris'in yapraklarında da ferulik asit bulunmuştur (Kujala ve ark, 2001).

Winter ve Herrmann (1986), %80 sulu metanol (3'-caffeoilquinic acid, 3'-p-coumaroylquinic acid, 3'-feruloilquinic acid, 1-O-p-coumaroyl- $\beta$ - ile ekstrakte edilen pancarın farklı kısımlarından birkaç fenolik asit bildirmiştir. D-glukoz, 1-O-feruloil- $\beta$ -D-glikoz, 1-O-sinapoil- $\beta$ -D-glikoz) (Kujala T. S. ve ark, 2000).



### **3. YÖNTEM VE MATERYAL**

#### **3.1. Materyal**

Tez çalışmasında, materyal olarak kırmızı pancar kullanılmıştır. Kırmızı pancar örnekleri yerel marketlerden temin edilerek ekstrakte edilinceye kadar +2°C'de depolanmıştır.

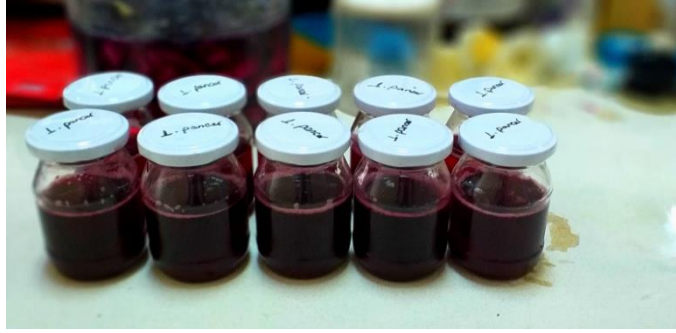
Tez kapsamında kullanılan kimyasal maddeler olarak Sodyum Karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), Sitrik Asit ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ), Sodyum Hidroksit ( $\text{NaOH}$ ), DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis (3- ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)), Folin Ciocalteau Reaktifi (FCR), Potasyum Peroksodisülfat ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) ve çözücü olarak Metanol kullanılmıştır.

Deneyleerde kullanılan gereçler olarak UV-VİS Spektrofotometresi, PH ölçüm cihazı, Sartorius Basic hassas terazi, Bozdolabı, Çeşitli hacimlerde ayarlanabilir hacimli otomatik pipetler ve cam pipetler, Çeşitli boyutlarda cam ve polipropilen deney tüpleri, Çeşitli boyutlarda cam baherler, Polistiren spektrofotometre küvetleri, Spatül, Çeşitli boyutlarda balonjoje, küçük kavanozlar ve Rende kullanılmıştır.

#### **3.2. Yöntemler**

##### **3.2.1. Ekstraksiyon işlemi**

Ekstraksiyon elde etmek için öncelikle kırmızı pancar örnekleri iyice yıkanıp kabuğu soyulmuştur. Daha sonra 80 gram kırmızı pancar blender ile parçalanarak 8 tane stok alınmıştır. Her stokta 10 gram parçalanmış kırmızı pancardan ve üzerine 100 ml saf su ilave edilmiştir. 7 tane stoktan pH 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10'a olarak ayarlanmıştır ve bir stok pH'ı ayarlamadan orjinel bir stok olarak bırakılmıştır. pH ayarlamak için % 5'lik sitrik asit ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ) çözeltisi ilave edilerek pH 4, 5 ve 6'a olan stoklar ayarlanmıştır. %10'luk sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) çözeltisi ilave edilerek pH 7, 8, 9 ve 10'a olan stoklar ayarlanmıştır. Orjinel stoğu kendi özgü pH değeri ise 6.850 belirlenmiştir.



**Şekil 3.1.** Kırmızı pancar stokları.

### **3.3. Antioksidant Aktivite Analiz Yöntemleri**

Tez çalışmasında, kırmızı pancar ekstraktlarının farklı konsantrasyonları ile radikal giderme aktiviteleri (DPPH ve ABTS) analizleri iki deneme ile yapılmıştır. Birinci deneme pH ayarlandıktan sonra 1.saatte (1sN) analizler yapılırken ikinci deneme ise pH ayarlandıktan sonra 24. saatte (24sN) analizler yapılmıştır.

Kırmızı pancar ekstrakt stokları 1/20, 1/40, 1/80, 1/120, 1/180 ve 1/240 farklı konsantrasyonlarda konsantre edilmiştir. Her stok için 6 tane konsantre edilerek analizler yapılmıştır.

Konsantra işleminde, 1/20 konsantrasyonu için ana stoktan 5 ml alınırken üzerine 95 ml saf su ilave edilmiş. 1/40 ppm konsantrasyonu için ana stoktan 2 ml alınırken üzerine 98 ml saf su ilave edilmiş. 1/80 konsantrasyonu için 1/40 konsantrasyondan 50 ml alınırken üzerine 50 ml saf su ilave edilmiş. 1/120 konsantrasyonu ise 1/80 konsantrasyondan 50 ml alınırken 50 ml saf su ilave edilmiş. 1/180 konsantrasyonu için 1/150 konsantrasyondan 50 ml alınırken 50 ml saf su ilave edilmiş. 1/240 konsantrasyonu için 1/180 konsantrasyondan 50 ml alınırken 50 ml saf su ilave edilmiş.





**Şekil 3.2.** Kırmızı pancar konsantralleri.

### **3.3.1. Toplam fenolik madde miktarı analizi**

Bu analiz için toplam fenolik madde miktarı (TFMM) mg gallik asit eşdeğeri/g olarak hesaplanmıştır. Analizler iki yöntemle gerçekleştirilmiştir. Birinci yöntem örnek stokları pH'ı ayarlanarak 1.saatte (1sN) analizler yapılmış ikinci yöntem ise pH'ı ayarlandıktan sonra 24. saatte (24sN) analizler yapılmıştır. Bu ölçümler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınarak verilmiştir.

Farklı pH ve ekstraksiyon süresi ile hazırlanan numunelerin toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde Folin-Ciocalteu spektrofotometrik yöntemi uygulanmıştır. Analiz için seyreltilmiş numuneden 0,1 ml (100 µl) alınıp üzerine 0,2 ml (200 µl) Folin ciocalteau reaktif solüsyonu ve 2 ml distile su eklenmiştir. Ardından vortex cihazı ile karıştırılarak 3 dk beklip üzerine 1 ml (%20'lik, suda) sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) çözeltisi eklenmiştir. Bu karışım 1 saat karanlıkta tutulduktan sonra oluşan mavi karışımın absorbans değerleri spektrofotometre (UVmini-1240 Shimadzu, Japan) kullanılarak 765 nm'de okunmuş ve toplam fenol miktarları; Gallik asidin mg cinsinden gallik aside eşdeğer olması için çizilen titrasyon eğrisinden hesaplanmıştır. Ayrıca körü hazırlamak için numune yerine 0,2 ml Folin-Ciocalteau, 1 ml (%20) sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) solüsyonu ve 0,1 ml distile su ilave edilmiştir.



**Şekil 3.3.** UV spektrofotometre kullanılarak toplam fenolik madde miktar analizi.

### **3.3.2. DPPH serbest radikal giderim aktivitenin belirlenmesi yöntemi**

Hazırlanan tüm ekstraktların antioksidan aktivitesi literatürde tanımlanan yöntemlere göre belirlenmişti. Bu test yöntemi, mor kaldırmanın spektrofotometrik ölçümlerine dayalı olarak, elektronları veya hidrojen atomlarını bağışlayan antioksidanların varlığında kararlı serbest radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) temizlenmesi ile karakterize edilmiştir.

Deneyi için kırmızı pancar konsantra örneklerinden yapılmıştır. pH'ı ayarladığı 1. saatte (1sN) yaptırılan analizi her konsantra örneği için 2 tekrarlı olarak UV spektrofotometre ile okunmuştur. Aynı şekilde pH'ı ayarlandıktan sonra 24. saatte (24sN) yaptırılan analiz her konsantra örneği için de 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınarak verilmiştir.

Çalışmada 0.020 gram DPPH radikali, 700 ml metanol ve 300 ml saf su ile DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) çözeltisi elde edilmiştir. Analiz için 3 ml (3000 µl) DPPH solüsyonu 0.2 ml (200 µl) konsantre numuneye ilave edilmiş ve vortekslenmiştir.

Bu çalışmada kontrol için metanol (70 ml metanol, 30 ml suda) çözeltisi ve saf su belirlenmiştir. Metanol kontrol analizi için 0.2 ml (200 µl) metanol örnek yerine eklenmiş ve aynı şekilde saf su kontrol analizi 0.2 ml (200 µl) saf su örnek yerine de kullanılmıştır. Örnekler oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta bekletilerek absorban değerleri 517 nm dalga boyuna sahip spektrofotometrede (UVmini-1240 Shimadzu, Japonya) okunmuştur.

Özütlerin absorban değerleri kullanılarak % inhibisyon değerleri aşağıda verildiği şekliyle hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_k - A_ö) / A_k] \times 100$$

Ak: Kontrolün absorban değeri, Aö: Örneğin absorban değeri

Elde edilen % inhibisyon değerleri, µg/ml olarak belirlenen ekstrakt konsantrasyonlarına karşı grafiğe geçirilmiştir.

Yöntemin sonunda IC<sub>50</sub> adı verilen ve ekstraktın DPPH radikalinin yarısını süpürebildiği konsantrasyon elde edilir. Bu IC<sub>50</sub> değeri, ekstraktın serbest radikal süpürücü etkinliğini gösterir. Düşük bir IC<sub>50</sub> değeri, çok güçlü bir antioksidan kapasiteyi gösterir (Brand-Williams ve ark, 1995).

### 3.3.3. ABTS radikal giderme aktivitesi

Bu çalışmada 0,019 gram ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenziazolin-6-sülfonik asit)] 5 mL distile suda eritilip üzerine 0,003 gram potasyum peroksodisülfattan (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) ilave edilerek Karıştırılmış ve karanlıkta oda sıcaklığında 16-24 saat saklanmıştır. Bu nedenle, mavi-yeşil bir çözelti ile sonuçlanan ABTS radikalleri oluştu. Bu koyu mavi çözelti, damıtılmış su ile 734 nm'de  $0,7 \pm 0,01$  nm'lik bir absorbanı seyreltildi.

ABTS Analizi kırmızı pancar konsantra örneklerinden yapılmıştır. pH'ı 1. saatte (1sN) yaptıran deneyi her konsantra örneği için 2 tekrarlı olarak UV spektrofotometre ile okunmuştur. Aynı şekilde pH'ı ayarlandıktan sonra 24. saatte (24sN) yaptıran analiz her konsantra örneği için de 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınarak verilmiştir.

Analiz için 0.5 ml (500 µl) konsantra edilmiş örnek üzerine 2.5 ml (2500 µl) ABTS çözeltisi ekleyerek 734 nm dalga boyunda (UVmini-1240 Shimadzu, Japonya) spektrofotometrede absorban değerleri okunmuştur. ABTS radikalinin 734 nm'deki absorbanı  $0,70 \pm 0,01$  nm olduğundan solüsyonun bu değerdeki absorbanına dikkat edilmelidir. Bu karışım her deney için taze/günlük olarak hazırlanmıştır.

ABTS radikal giderme aktivitesi (%), aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{ABTS radikal giderme aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A<sub>0</sub>: Kontrolün absorban değeri, A<sub>1</sub>: Örnek absorban değeri.

Elde edilen ölçümler neticesinde her bir ekstraktın inhibisyon konsantrasyon grafiği elde edilmiştir. Grafikten elde edilen denklem ile IC<sub>50</sub> değeri hesaplanarak verilmiştir.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi

Bu bölümde DPPH, ABTS serbest radikal yakalama ve toplam fenolik için analitik sonuçlar sunar.

#### 4.1.1. Toplam fenolik madde miktar sonuçları

Kırmızı pancar ekstraksiyonlardan toplam fenolik madde miktar 1. saatte (1sN) yapılan deneyler sonuçları tablo 4.1' de ve 24. saatte (24 sN) yapılan deneyler için sonuçlar tablo 4.2 'de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** 1sN numunesinin toplam fenolik madde miktar sonuçları.

pH	TPC mg GAE/g örnek
4,00	0,57±0,02
5,00	0,55±0,02
6,00	0,60±0,06
7,00	0,59±0,07
8,00	0,63±0,01
9,00	0,65±0,06
10,00	0,62±0,1
6,850 (orj)	0,46±0,07

**Tablo 4.2.** 24sN numunesinin toplam fenolik madde miktar sonuçları.

pH	TPC mg GAE/g örnek
4,00	2,30±0,19
5,00	1,38±0,16
6,00	1,21±0,12
7,00	1,10±0,07
8,00	1,15±0,07
9,00	1,03±0,04
10,00	1,05±0,06
6,850 (orj)	1,26±0,2

#### 4.1.2. DPPH serbest radikal giderim aktivite sonuçları

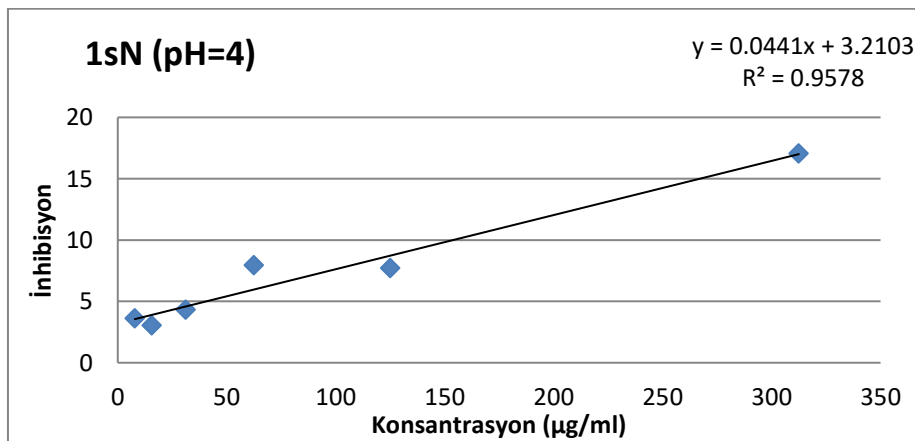
Hammadde olarak kullanılan kırmızı pancarın antioksidan kapasite sonuçlarını elde etmek için farklı konsantrasyonlarda ekstraktlar hazırlanmış ve elde edilmiştir. Analiz sonuçları için iki denemler yapılmıştır. Birinci deneme pH'ı ayarlanıp 1. saatte (1sN) analiz sonuçları bakılmış ve ikinci deneme de pH'ı ayarlanıp 24. saatte (24sN) sonra analiz sonuçları bakılmıştır. Her bir konsantrasyon için iki kare UV spektrofotometre cihazında inhibasyon ölçümleri yapılmış ve tablolarda inhibasyon ortalama olarak alınmıştır.

##### 4.1.2.1. pH ayarlanark 1. saatte yaptırılan deneyler sonuçları

Altı farklı konsantrasyondaki özütlerin serbest radikal giderim aktiviteleri aynı günde yapılan deneyler tablo 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10' de ve grafik şekilleri 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 'de verilmiştir.

**Tablo 4.3.** 1sN numunesinin pH 4'te 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

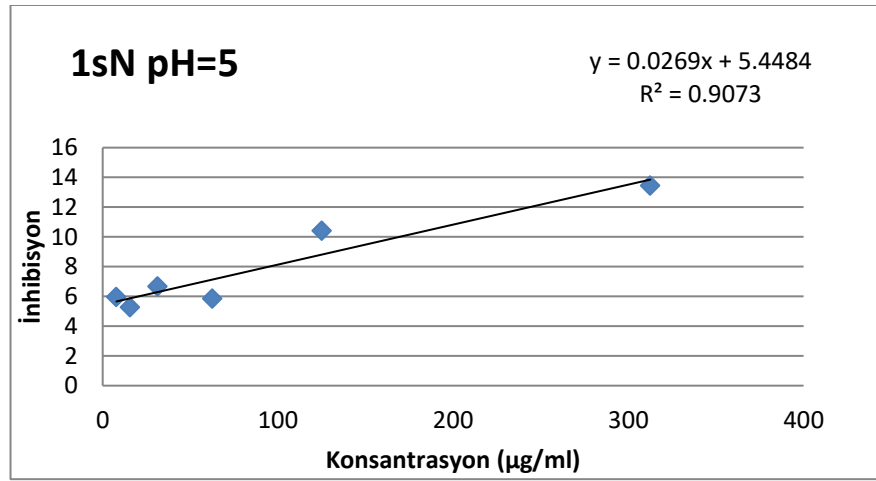
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon ( $\mu\text{g/ml}$ )
17,07602	312,5
7,719298	125
7,953216	62,5
4,327485	31,25
3,040936	15,625
3,625731	7,8125



**Şekil 4.1.** 1sN numunesinin pH 4'te alınan %İnh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.4.** 1sN numunesinin pH 5'te 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

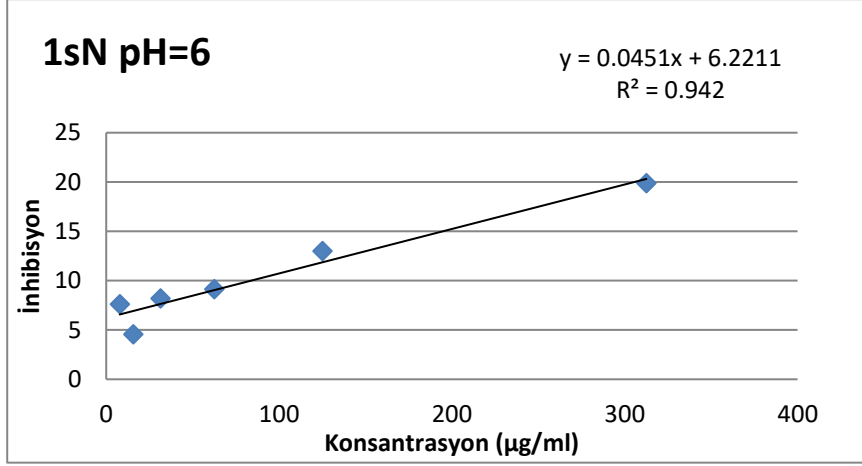
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
13,45029	312,5
10,40936	125
5,847953	62,5
6,666667	31,25
5,263158	15,625
5,964912	7,8125



**Şekil 4.2.** 1sN numunesinin pH 5'te %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.5.** 1sN numunesinin pH 6'da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

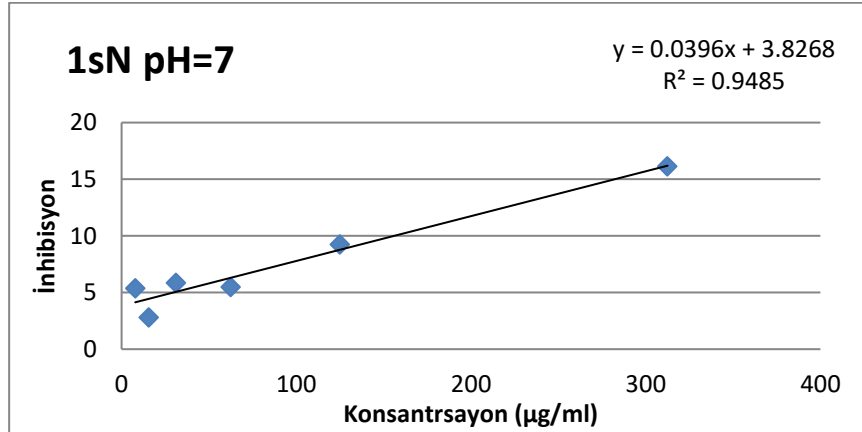
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
19,88304	312,5
12,98246	125
9,122807	62,5
8,187135	31,25
4,561404	15,625
7,602339	7,8125



Şekil 4.3. 1sN numunesinin pH 6’da %inh ortalaması grafiği.

Tablo 4.6. 1sN numunesinin pH 7’de 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
16,14035	312,5
9,239766	125
5,497076	62,5
5,847953	31,25
2,807018	15,625
5,380117	7,8125

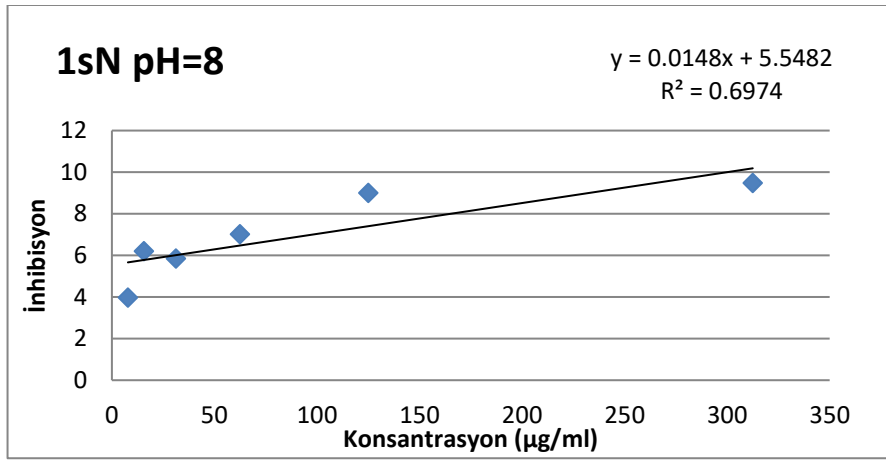


Şekil 4.4. 1sN numunesinin pH 7’de %inh ortalaması grafiği.



**Tablo 4.7.** 1sN numunesinin pH 8’de 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

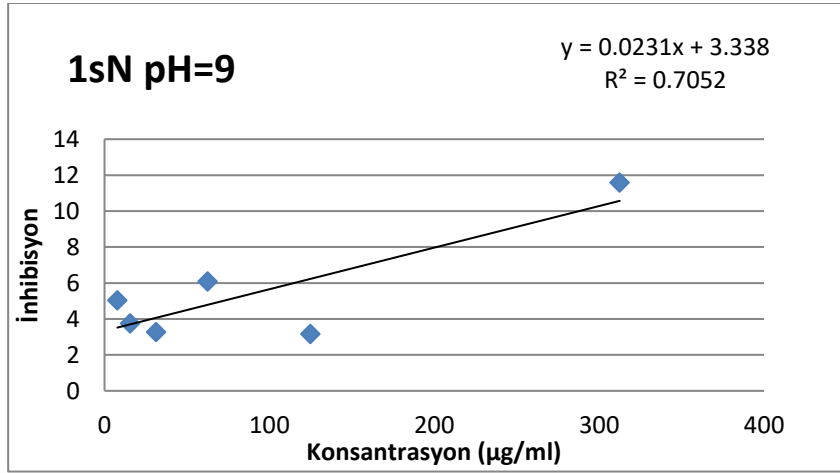
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
9,473684	312,5
9,005848	125
7,017544	62,5
5,847953	31,25
6,19883	15,625
3,976608	7,8125



**Şekil 4.5.** 1sN numunesinin pH 8’de %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.8.** 1sN numunesinin pH 9’da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

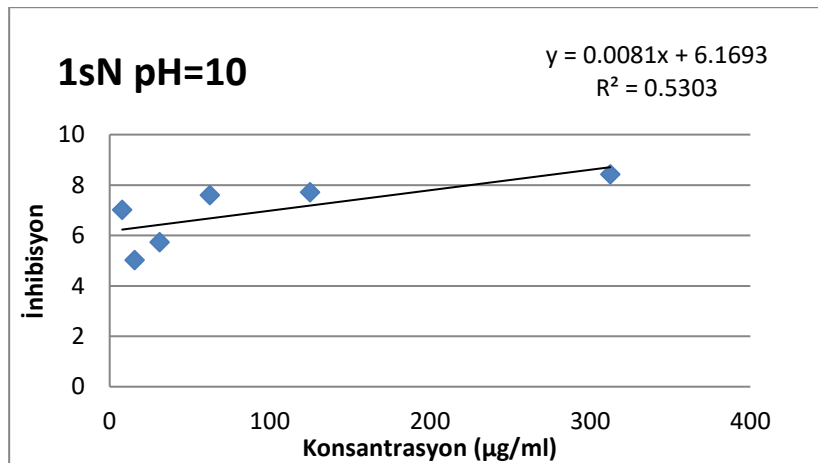
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
11,57895	312,5
3,157895	125
6,081871	62,5
3,27485	31,25
3,74269	15,625
5,02924	7,8125



Şekil 4.6. 1sN numunesinin pH 9’da %inh ortalaması grafiği.

Tablo 4.9. 1sN numunesinin pH 10’da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
8,421053	312,5
7,719298	125
7,602339	62,5
5,730994	31,25
5,02924	15,625
7,017544	7,8125



Şekil 4.7. 1sN numunesinin pH 10’da %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.10.** 1sN numunesinin DPPH IC<sub>50</sub> mg/mL hesaplama sonuçları.

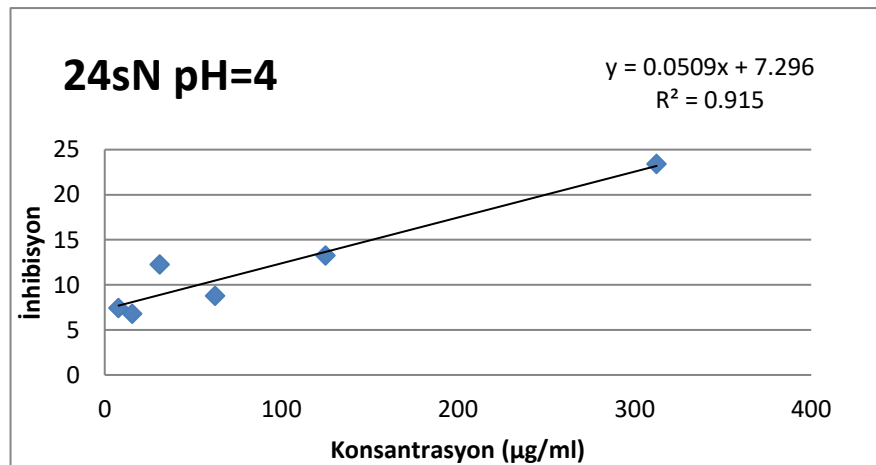
pH	DPPH IC <sub>50</sub> mg/mL
4,00	1,06±0,03
5,00	1,73±0,49
6,00	1,01±0,28
7,00	1,25±0,43
8,00	2,05±0,47
9,00	3,13±1,06
10,00	5,44±0,75

#### 4.1.2.2. pH ayarlandıktan sonra 24.saatte yapılan deney sonuçları

pH ayarlandıktan sonra 24.saatte (24sN) yapılan deney sonuçları tablo 4,11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18 'de ve grafik şekilleri de 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14 'de verilmiştir.

**Tablo 4.11.** 24sN numunesinin pH 4'te 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

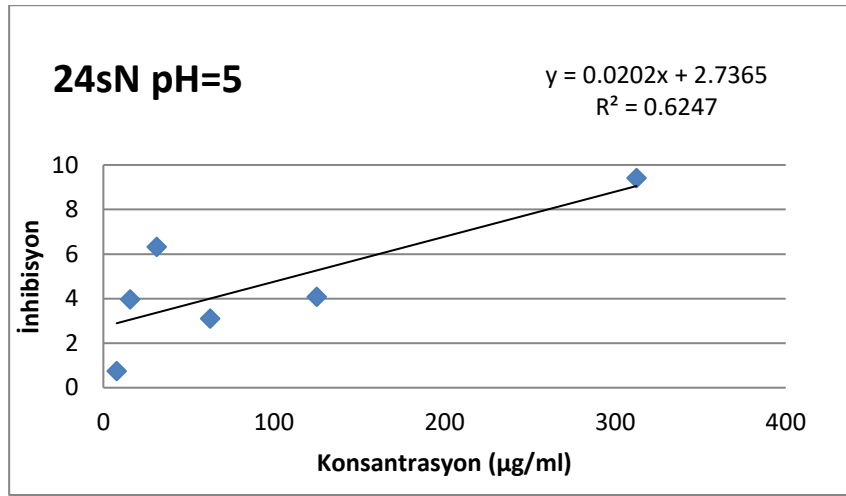
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
23,42007	312,5
13,25898	125
8,798017	62,5
12,26766	31,25
6,815366	15,625
7,434944	7,8125



**Şekil 4.8.** 24sN numunesinin pH 4'te %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.12.** 24sN numunesinin pH 5'te 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

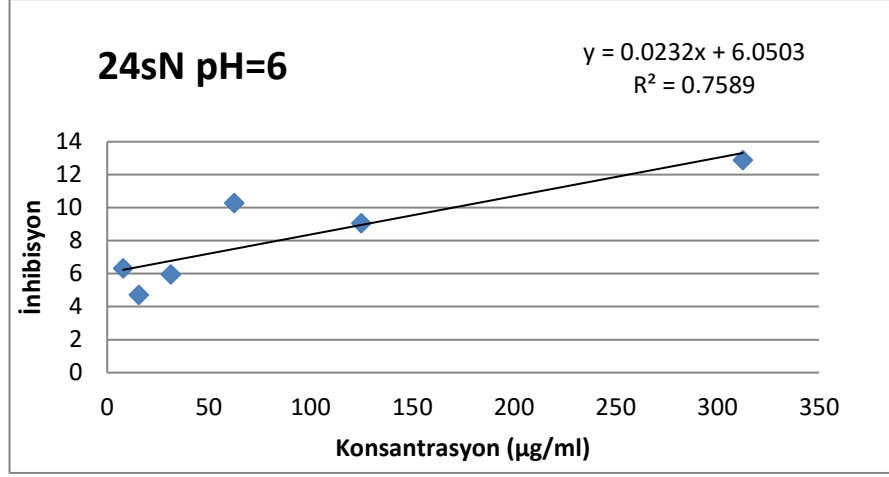
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
9,417596	312,5
4,089219	125
3,097893	62,5
6,319703	31,25
3,965304	15,625
0,743494	7,8125



**Şekil 4.9.** 24sN numunesinin pH 5'te %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.13.** 24sN numunesinin pH 6'da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

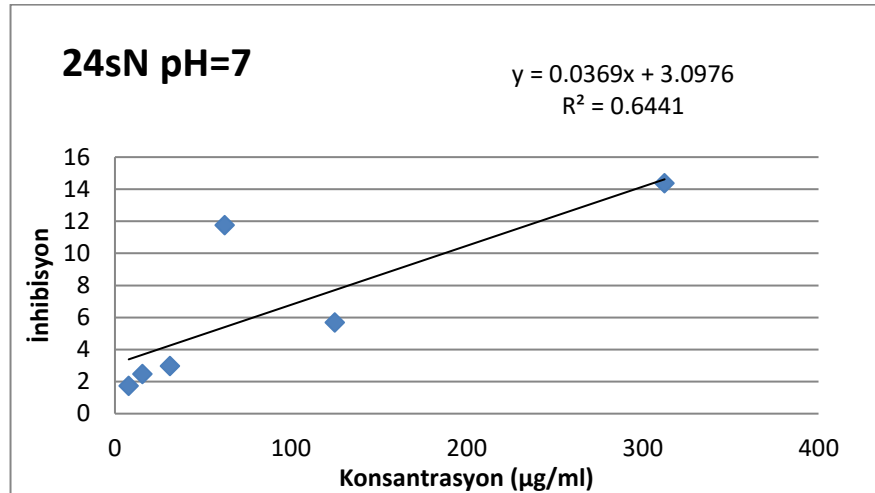
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
12,88724	312,5
9,045849	125
10,28501	62,5
5,947955	31,25
4,708798	15,625
6,319703	7,8125



Şekil 4.10. 24sN numunesinin pH 6'da %inh ortalaması grafiği.

Tablo 4.14. 24sN numunesinin pH 7'de 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

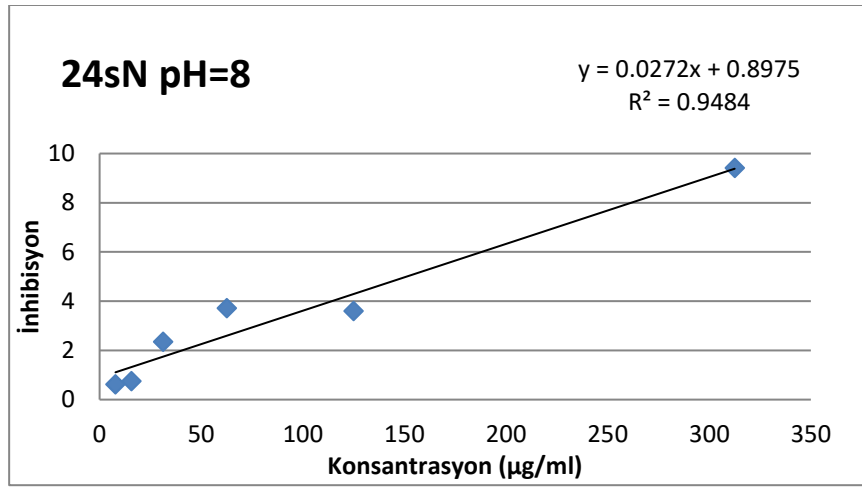
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
14,37423	312,5
5,700124	125
11,772	62,5
2,973978	31,25
2,478315	15,625
1,73482	7,8125



Şekil 4.11. 24sN numunesinin pH 7'de %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.15.** 24sN numunesinin pH 8’de 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

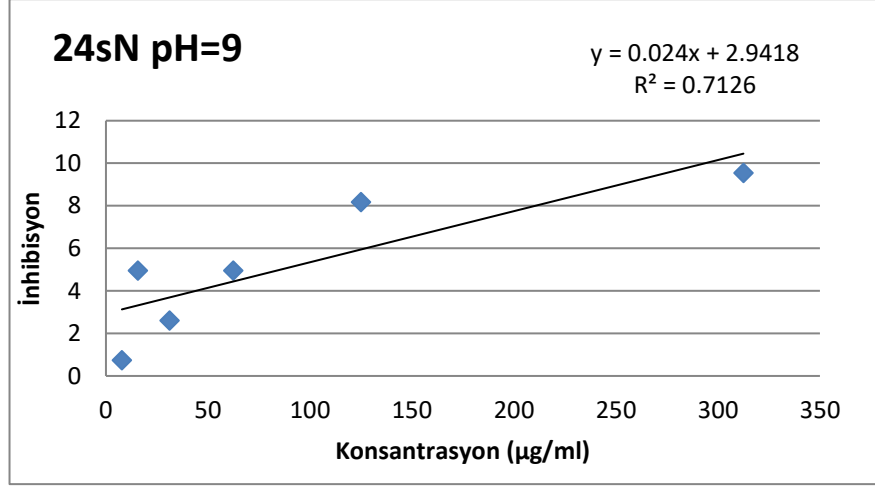
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
9,417596	312,5
3,593556	125
3,717472	62,5
2,354399	31,25
0,743494	15,625
0,619579	7,8125



**Şekil 4.12.** 24sN numunesinin pH 8’de %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.16.** 24sN numunesinin pH 9’da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

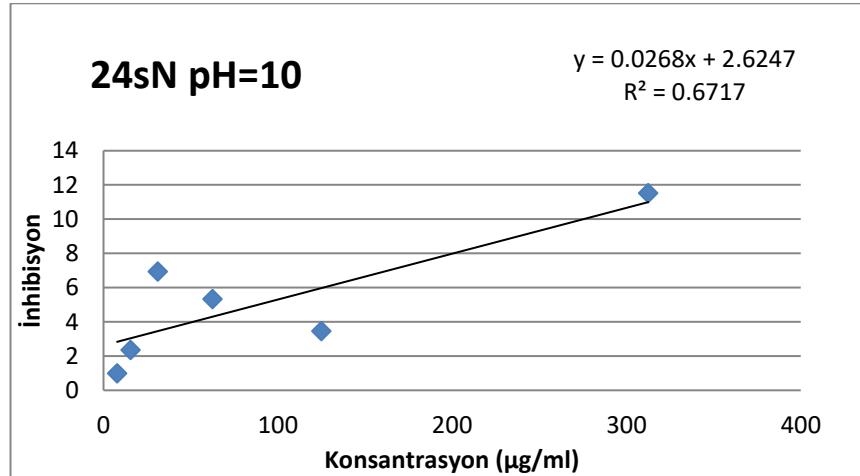
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
9,541512	312,5
8,178439	125
4,956629	62,5
2,60223	31,25
4,956629	15,625
0,743494	7,8125



Şekil 4.13. 24sN numunesinin pH 9’da %inh ortalaması grafiği.

Tablo 4.17. 24sN numunesinin pH 10’da 6 farklı konsantrasyon ile DPPH aktivite ölçmeleri.

% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
11,52416	312,5
3,469641	125
5,328377	62,5
6,939281	31,25
2,354399	15,625
0,991326	7,8125



Şekil 4.14. 24sN numunesinin pH 10’da %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.18.** 24sN numunesinin deneyi DPPH IC<sub>50</sub> mg/mL hesaplama sonuçları.

pH	DPPH IC <sub>50</sub> mg/mL
4,00	0,84±0,04
5,00	2,37±0,39
6,00	1,04±0,05
7,00	1,41±0,01
8,00	2,04±0,97
9,00	1,97±0,24
10,00	1,78±0,01

#### 4.1.3. ABTS radikal giderme aktivite sonuçları

ABTS yöntemi, diamonyum tuzu 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) gibi bir bileşiğin eliminasyonuna, başka bir deyişle inhibisyonuna dayalı olarak antioksidan kapasitenin belirlenmesi için bir yöntemdir.

ABTS radikal yakalama aktivite yöntemine göre elde edilen değerler grafiksel olarak gösterilmiştir. ABTS'nin radikal yakalama aktivitesi de konsantrasyon artışına bağlı olarak artmıştır.

Analiz sonuçları için iki denemler alınmıştır. Birinci deneme pH'ı ayarlanarak 1. Saatte (1sN) yapılan analiz sonuçları bakılmış ve ikinci deneme de pH'ı ayarlanıp 24. Saatte (24sN) sonra analiz sonuçları bakılmıştır. Her bir konsantrasyon için iki kare UV spektrofotometre cihazında inhibisyon ölçümleri yapılmış ve tablolarda inhibisyon ortalama olarak alınmıştır.

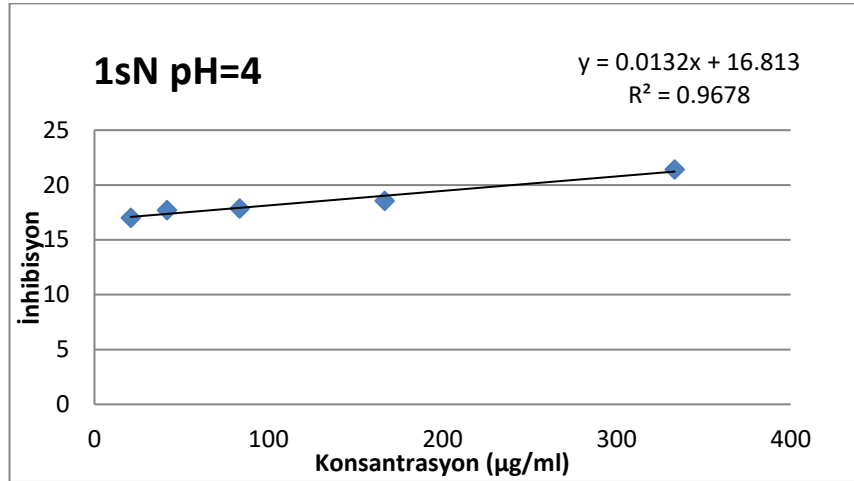
##### 4.1.3.1. pH ayarlanarak 1. Saatte yaptırılan deneyler sonuçları

Bu deney sonucu beş farklı konsantrasyondaki özütlerin serbest radikal giderim aktiviteleri pH ayarlanarak 1. Saatte (1sN) yapılan deneyler tablo 4.19, 4.20, 4.21, 4.22, 4.23, 4.24, 4.25, 4.26, 4.27 'de ve grafik şekilleri 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19, 4.20, 4.21, 4.22 'de verilmiştir.

**Tablo 4.19.** 1sN numunesinin pH 4'te 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
21,4175	333,33
18,5717	166,665
17,87417	83,3325
17,72893	41,666
17,02062	20,833

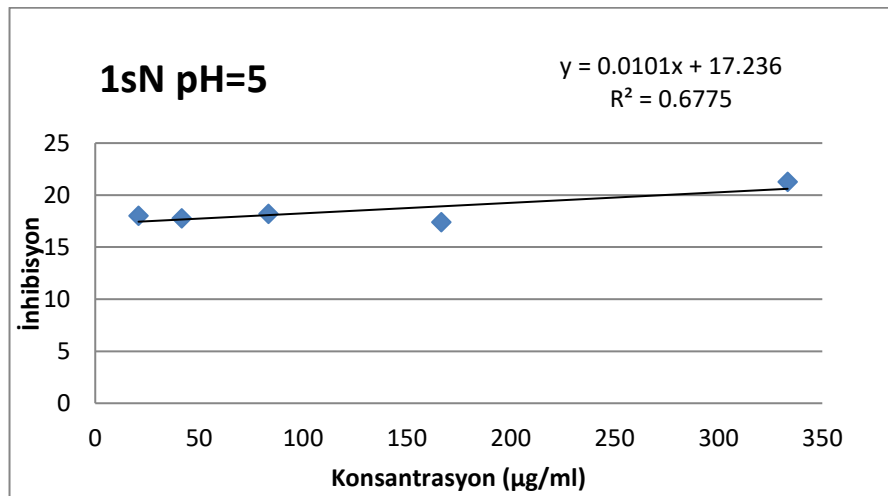




Şekil 4.15. 1sN numunesinin pH 4'te %inh ortalaması grafiği.

Tablo 4.20. 1sN numunesinin pH 5'te 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

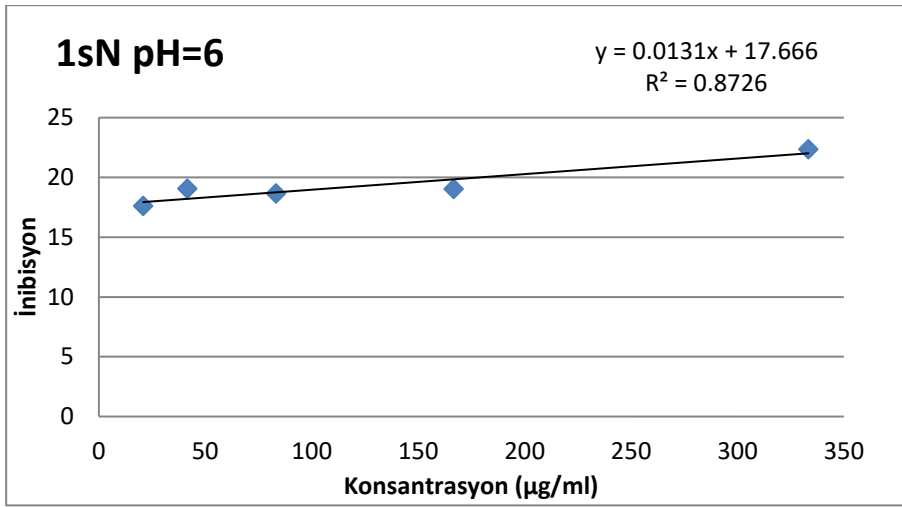
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
21,28337	333,33
17,40122	166,665
18,20003	83,3325
17,79594	41,666
18,03129	20,833



Şekil 4.16. 1sN numunesinin pH 5'te %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.21.** 1sN numunesinin pH 6’da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

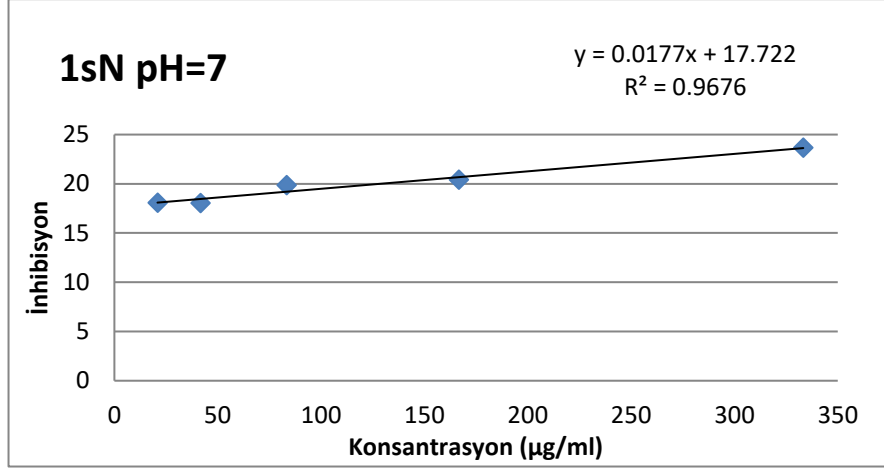
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
22,35227	333,33
19,04331	166,665
18,65557	83,3325
19,07874	41,666
17,63196	20,833



**Şekil 4.17.** 1sN numunesinin pH 6’da %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.22.** 1sN numunesinin pH 7’de 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

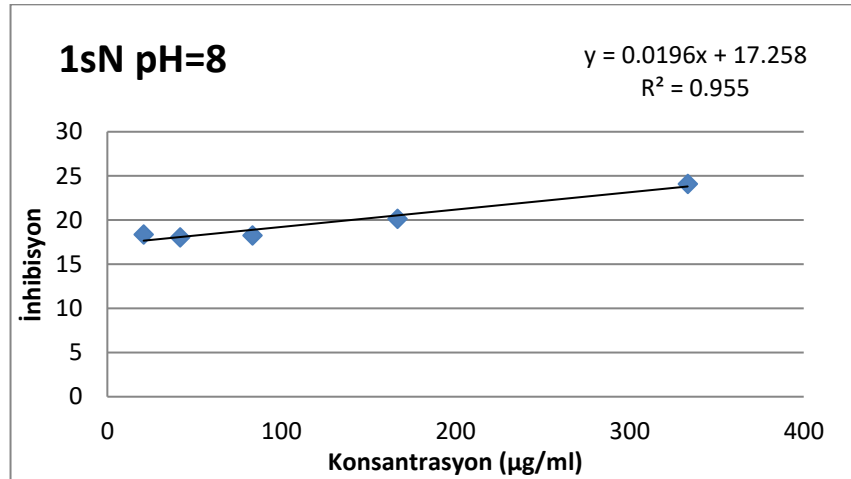
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
23,65094	333,33
20,40185	166,665
19,8617	83,3325
18,05511	41,666
18,08421	20,833



Şekil 4.18. 1sN numunesinin pH 7’de %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.23.** 1sN numunesinin pH 8’de 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

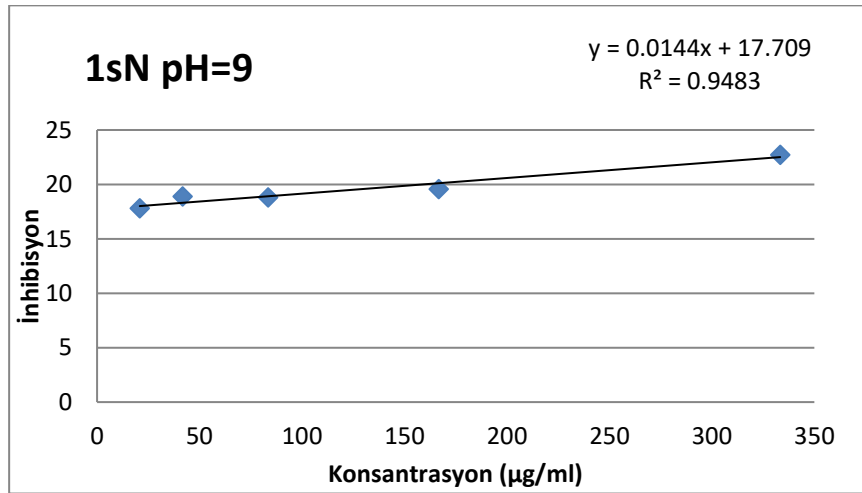
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
24,11361	333,33
20,144	166,665
18,25977	83,3325
18,06609	41,666
18,39138	20,833



Şekil 4.19. 1sN numunesinin pH 8’de %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.24.** 1sN numunesinin pH 9’da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

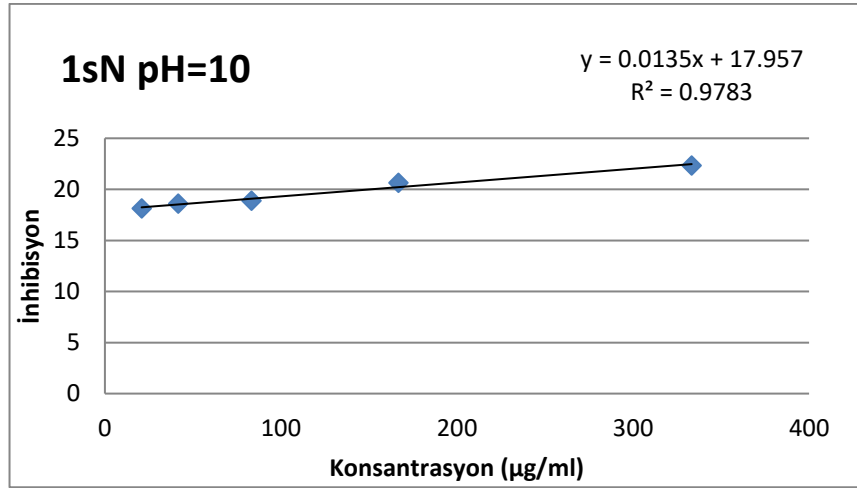
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
22,74157	333,33
19,57237	166,665
18,80952	83,3325
18,89671	41,666
17,82775	20,833



**Şekil 4.20.** 1sN numunesinin pH 9’da %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.25.** 1sN numunesinin pH 10’da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

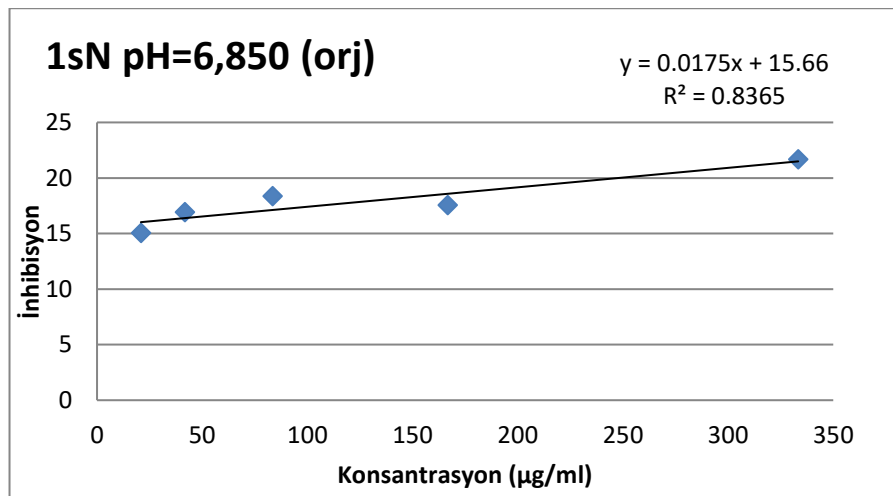
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
22,3131	333,33
20,63088	166,665
18,88357	83,3325
18,59716	41,666
18,10787	20,833



Şekil 4.21. 1sN numunesinin pH 10'da %inh ortalaması grafiği.

Tablo 4.26. 1sN numunesinin pH 6,80 (orj) 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
22,3131	333,33
20,63088	166,665
18,88357	83,3325
18,59716	41,666
18,10787	20,833



Şekil 4.22. 1sN numunesinin pH 6,850 (orj) 'da %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.27.** 1sN numunesinin yaptırılan deneyi ABTS IC<sub>50</sub> mg/mL hesaplama sonuçları.

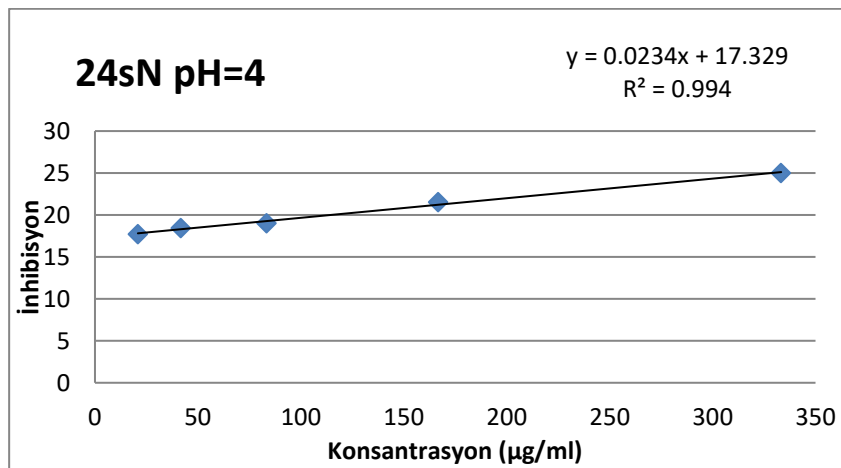
pH	ABTS IC <sub>50</sub> mg/mL
4,00	1,78±0,23
5,00	2,83±0,53
6,00	2,57±0,67
7,00	1,82±0,18
8,00	1,82±0,45
9,00	2,30±0,50
10,00	3,65±0,28
6,850 (orj)	2,85±0,95

#### 4.1.3.2. pH ayarlandıktan sonra 24.saatte yaptırılan deneyler sonuçları

Bu deney sonucu beş farklı konsantrasyondaki özütlerin serbest radikal giderim aktiviteleri pH ayarlandıktan sonra 24.saatte yapılan deneyler tablo 4.28, 4.29, 4.30, 4.31, 4.32, 4.33, 4.34, 4.35 'de ve grafik şekilleri 4.23, 4.24, 4.25, 4.26, 4.27, 4.28, 4.29, 4.30 'da verilmiştir.

**Tablo 4.28.** 24sN numunesinin pH 4'te 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

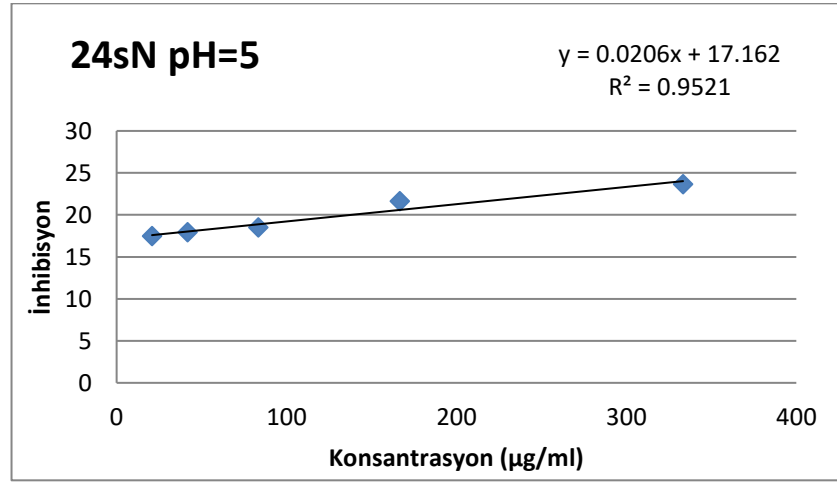
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
25,00143	333,33
21,54319	166,665
19,02625	83,3325
18,45153	41,666
17,70176	20,833



**Şekil 4.23.** 24sN numunesinin pH 4'te %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.29.** 24sN numunesinin pH 5'te 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

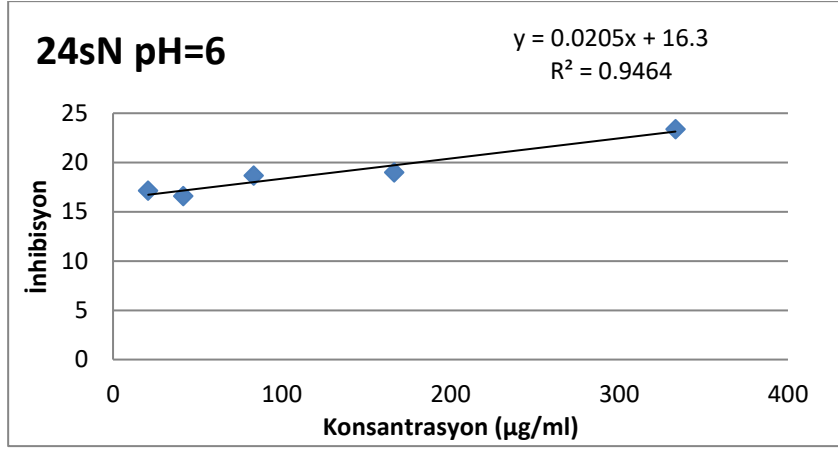
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon ( $\mu\text{g/ml}$ )
23,62803	333,33
21,61498	166,665
18,49922	83,3325
17,90439	41,666
17,45431	20,833



**Şekil 4.24.** 24sN numunesinin pH 5'te %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.30.** 24sN numunesinin pH 6'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

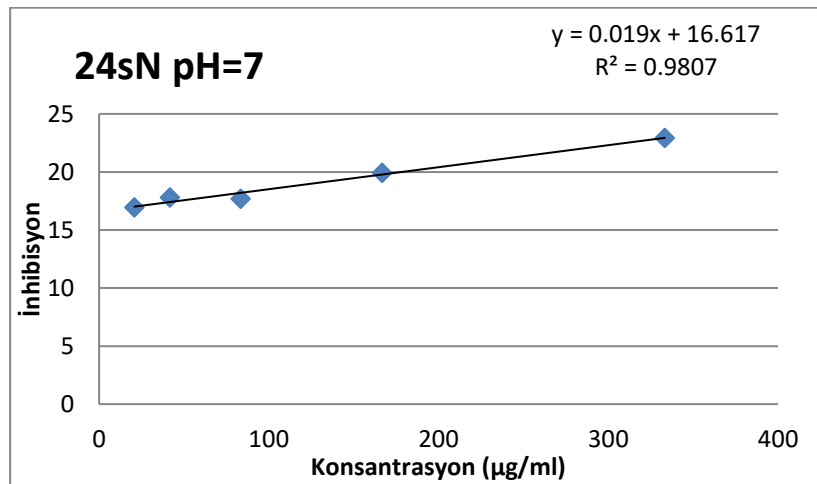
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon ( $\mu\text{g/ml}$ )
23,3904	333,33
18,97966	166,665
18,67324	83,3325
16,57999	41,666
17,12761	20,833



**Şekil 4.25.** 24sN numunesinin pH 6'da %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.31.** 24sN numunesinin pH 7'de 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
22,93552	333,33
19,93557	166,665
17,69462	83,3325
17,82313	41,666
16,94182	20,833

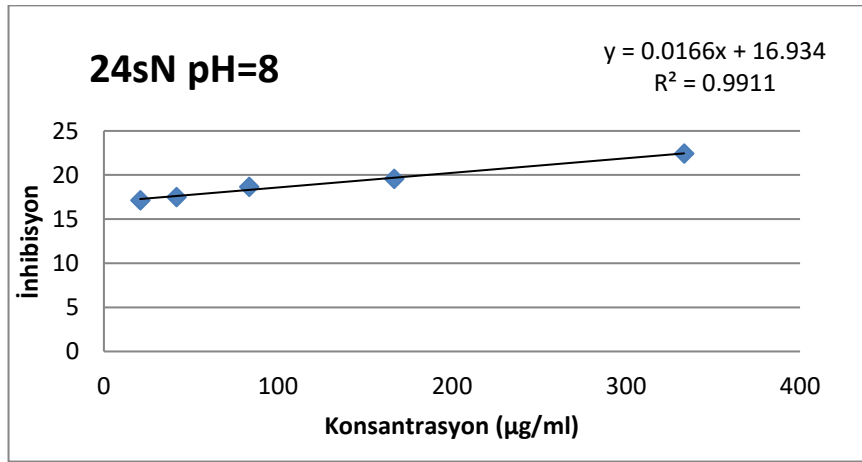


**Şekil 4.26.** 24sN numunesinin pH 7'de %inh ortalaması grafiği.



**Tablo 4.32.** 24sN numunesinin pH 8’de 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

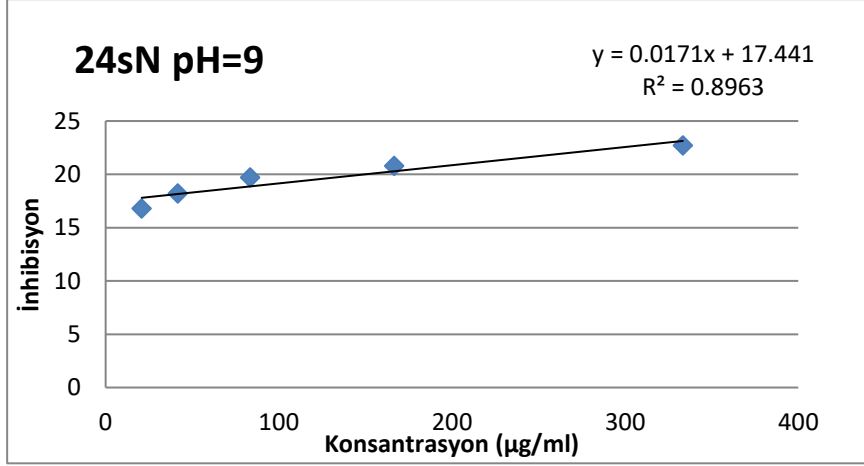
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
22,44082	333,33
19,59047	166,665
18,66265	83,3325
17,52759	41,666
17,14701	20,833



**Şekil 4.27.** 24sN numunesinin pH 8’de %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.33.** 24sN numunesinin pH 9’da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

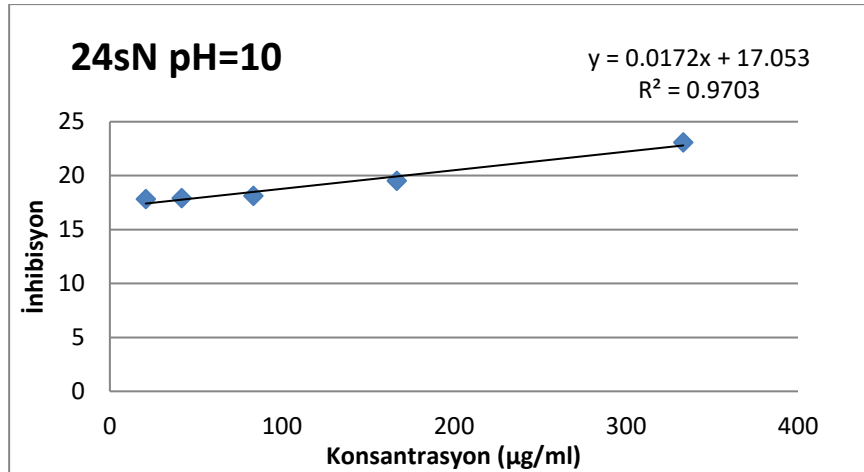
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
22,71804	333,33
20,79784	166,665
19,71198	83,3325
18,2148	41,666
16,78647	20,833



Şekil 4.28. 24sN numunesinin pH 9'da %inh ortalaması grafiği.

Tablo 4.34. 24sN numunesinin pH 10'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

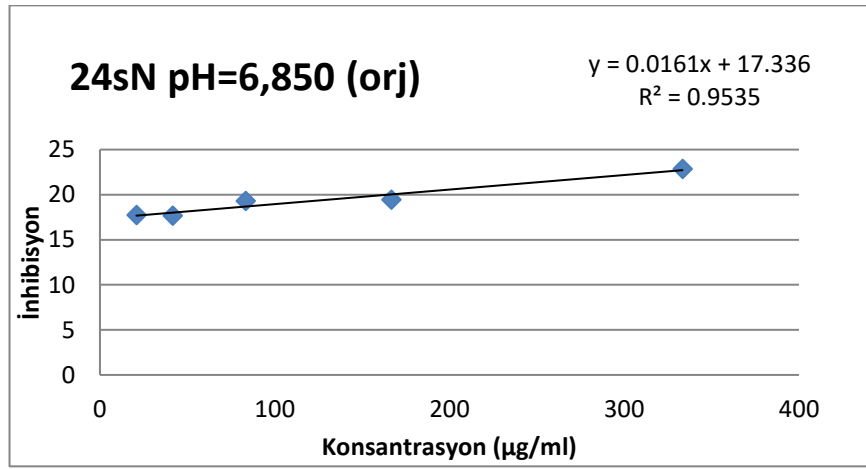
% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
23,06737	333,33
19,49831	166,665
18,10339	83,3325
17,91159	41,666
17,81782	20,833



Şekil 4.29. 24sN numunesinin pH 10'da %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.35.** 24sN numunesinin pH 6,850 (orj) 'da 5 farklı konsantrasyon ile ABTS aktivite ölçmeleri.

% İnhibisyon Ortalaması	Konsantrasyon (µg/ml)
22,87037	333,33
19,47649	166,665
19,30705	83,3325
17,69744	41,666
17,75485	20,833



**Şekil 4.30.** 24sN numunesinin pH 6,850 (orj) 'da %inh ortalaması grafiği.

**Tablo 4.36.** 24sN numunesinin deneyi ABTS IC<sub>50</sub> mg/mL hesaplama sonuçları.

pH	ABTS IC <sub>50</sub> mg/mL
4,00	1,46±0,42
5,00	1,61±0,12
6,00	1,66±0,26
7,00	1,78±0,18
8,00	1,99±0,04
9,00	1,91±0,07
10,00	1,95±0,38
6,850 (orj)	2,03±0,20



## 5. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bileşiklerin antioksidan aktivitelerini belirlemek için standart bir yöntem yoktur. Bunun nedeni, antioksidan aktiviteyi belirlemek için kullanılan yöntemlerin, incelenen sistemin substratlar, reaksiyon koşulları, konsantrasyonlar ve analiz edilen bileşik tipi gibi çeşitli parametrelerine bağlı olmasıdır. Bu nedenle, antioksidanların değerlendirilmesinin farklı oksitleyici koşullar altında çoklu yöntemler kullanılarak değerlendirilmesi önerilir. Tez kapsamında olarak, farklı yöntemler kullanılarak serbest radikallerin temizlenmesi ve bitki özlerinin antioksidan aktivitesi araştırılmıştır.

Çalışmamızdaki amacımız gıda olarak kullanılan kırmızı pancarın antioksidant kapasitesinin pH'ı ekstraksiyon süresine göre değişimi incelemektedir.

Kırmızı pancardan elde edilen ekstraktların pH'ı ayarlandıktan sonra 1.saatte (1sN) yapılan analizi toplam fenolik madde miktarı tablo 4.1. incelendiğinde, pH4 ( $0,57\pm 0,02$  mg GAE/g) ve pH5 ( $0,55\pm 0,02$  mg GAE/g) olan örneklerde her hangi bir değişim yoktur ve diğer pH değerlere baktığımızda çok büyük bir fark gözüküyor. verilen sonuçlara göre pH arttıkça toplam fenolik madde miktarı artmasını doğal olarak gözlenmiştir.

pH ayarlandıktan sonra 24.saatte (24sN) yapılan deneyler tablo 4.2 'de baktığımız zaman toplam fenolik madde miktarını düşmesine gözlenmiş pH4 ( $2,30\pm 0,19$  mg GAE/g) iken pH9 ( $1,03\pm 0,04$  mg GAE/g) bulunmuştur.

DPPH radikal süpürücü aktiviteleri incelenen antioksidan bileşiklerin  $IC_{50}$  değerleri tablo 4.11 'de pH ayarlanarak 1.saatte yapılan analizler incelendiğinde, en kuvvetli antioksidant aktiviteyi pH6 ( $1,01\pm 0,28$  mg/mL) ve pH4 ( $1,06\pm 0,03$  mg/mL) Örneklerden bulunmuştur. En düşük aktivite değeri ise pH10'da ( $5,44\pm 0,75$  mg/mL) gözlenmiştir.

24.saatte yapılan DPPH deneyler ortama bakınca tablo 4.19'de en kuvvetli aktivite değeri pH4 ( $0,84\pm 0,04$  mg/mL) ve pH6 ( $1,04\pm 0,05$  mg/mL) örneklerden

gözlenmiştir. En düşük aktivite ise pH5 ( $2,37\pm 0,39$  mg/mL) ve pH8 ( $2,04\pm 0,97$  mg/mL) örneklerden bulunmuştur.

ABTS aktivite incelenen antioksidan bileşiklerin IC<sub>50</sub> değerleri pH ayarlanarak 1.saatte yapılan analizler tablo 4.28’de baktığımızda pH4 ( $1,78\pm 0,23$  mg/mL), pH7 ( $1,82\pm 0,18$  mg/mL) ve pH8 ( $1,82\pm 0,45$  mg/mL) numuneleri etki göstermiştir. En düşük antioksidant aktiviteyi ise pH10 örneklerde ( $3,65\pm 0,28$  mg/mL) bulunmuştur.

24.saate yapılan analizler tablo 4.37’de baktığımız ise en yüksek antioksidant aktiviteyi pH4 ( $1,46\pm 0,42$  mg/mL) ve pH5 ( $1,61\pm 0,12$  mg/mL) örneklerde gözlenmiştir. En düşük aktivite değeri pH8 ( $1,99\pm 0,04$  mg/mL) örnekte bulunmuştur.

Kırmızı pancar ekstraktı pH=4’te ve 24 saatte en yüksek toplam fenolik içeriğe sahiptir. Bu ekstraktlar arasında ise kırmızı pancar en güçlü antioksidan etkiyi hem DPPH hem de ABTS aktivitesinde 24. saatte ve pH=4’te gösterdiği belirlenmiştir. Genel olarak, kırmızı pancar ekstraktı neredeyse tüm pH değerleri için güçlü DPPH ve ABTS aktivitelerine sahiptir.

Sonuç olarak, farklı pH değerleri ve ekstraksiyon süreleri elde edilen kırmızı pancar ekstraktları toplam fenolik içerikleri ve antioksidan özellikleri açısından karşılaştırılmıştır. Kırmızı pancar ekstraktının en yüksek TPC için ekstraksiyon süresinin 24 saat ve pH değerinin 4 olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda en güçlü DPPH aktivitesi için de ekstraksiyon süresinin 24 saat ve pH değerinin 4 olduğu görülmüştür. Öte yandan, ABTS aktivitesi için en iyi koşulların DPPH aktivite ile aynı olduğu tespit edildi. Elde edilen sonuçlara göre kırmızı pancar ekstraktlarının beslenmede doğal renklendirici katkı maddesi olarak kullanılmasının tercih edilebileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *J. Agric. Food Chem*, *64*(5), 997–1027. <https://doi/10.1021/acs.jafc.5b04739>
- Atınç, M., ve Kalkan, İ. (2018). Flavonoidler ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Aydın Gastronomy*, *2* (1), 31-38.
- Aydemir, B., & Karadağ Sarı, E. (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, *2*(2), 56-60.
- Azeredo, H. M. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science and Technology*, *44*(12), 2365–2376. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x>
- Bagchi, K., & Puri, S. (1998). Free radicals and antioxidants in health and disease. *Eastern Mediterranean Health Journal*, *4*(2), 350-360. <https://doi.org/10.4172/0974-8369.1000214>
- Belhadj Slimen, I., Najar, T., & Abderrabba, M. (2017). Chemical and Antioxidant Properties of Betalains. *Agricultural And Food Chemistry*, *65*(4), 675-689. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04208>
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Measurement Of Reducing Ability Of Plasma*, *239*(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bohn, T. (2014). Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutrition Reviews*, *72*(7), 429–452. <https://doi.org/10.1111/nure.12114>
- Bouayed, J., & Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants—Double-edged swords in cellular redox state. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* *3*(4), 228-237. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.4.12858>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, *28*(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cardoso-Ugarte, G., Sosa-Morales, M., Ballard, T., Liceaga, A., & Martín-González, M. S. (2014). Microwave-Assisted Extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). *Food science and Technology*, *59*(1), 276-282. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.025>
- Chawla, H., Parle, M., Sharma, K., & Yadav, M. (2016). Beetroot: A Health Promoting Functional Food. *Inventi Journals*, *9*(11), 6406-6420. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2577>

- Chemical, A. (2022, 18 Ekim). Ataman Chemical. atamankimya: <https://atamankimya.com/sayfalar.asp?LanguageID=3&cid=3&id=8&id2=321> adresinden 15 Kasım 2022 tarihinde alınmıştır
- Chemical, A. (2022, 07 Ekim). Ataman Chemical. atamankimya: <https://atamankimya.com/sayfalar.asp?LanguageID=1&cid=3&id=11&id2=1094> adresinden 15 Kasım 2022 tarihinde alınmıştır
- Chethana, S., Nayak, C. A., & Raghavarao, K. (2006). Aqueous two phase extraction for purification and concentration of betalains. *Food Engineering*, 81(4), 679–687. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.12.021>
- Cirillo, G., Curcio, M., Vittorio, O., Iemma, F., Restuccia, D., Spizzirri, U. G., . . . Picci, N. (2014). Polyphenol Conjugates and Human Health: A Perspective Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(2), 326–337. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.752342>
- Clifford, T., Howatson, G., West, D. J., & Stevenson, E. J. (2015). The Potential Benefits of Red Beetroot Supplementation in Health and Disease. *Nutrients*, 7(4), 2801-2822. <https://doi.org/10.3390/nu7042801>
- Cornwell, D. G., & Ma, J. (2007). Studies in Vitamin E: Biochemistry and Molecular Biology of Tocopherol Quinones. *Vitamins and Hormones*, 76, 99-134. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(07\)76005-3](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(07)76005-3)
- Coronglu, F., Bannı, S., Dessl, M., & Rice-Evans, C. (1993). Free Radicals And Antioxidants In Nutrition. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(10), 872-879. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(02\)00916-4](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4)
- Czapski, J. (1990). Heat stability of betacyanins in red beet juice and in betanin solutions. *European Food Research and Technology*, 191(4-5), 275-278. <https://doi.org/10.1007/BF01202425>
- Çelik, A., & Ayran, İ. (2020). Antioksidan Kaynağı Olarak Bazı Tıbbi Ve Aromatik Bitkiler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 13(2), 115-125.
- Dergisi, S. (2021, 22 Mart). Sabah. [sabah.com.tr: https://www.sabah.com.tr/saglik/2021/03/22/kirmizi-pancarin-faydalanerlerdir-kirmizi-pancar-nasil-tuketilir](https://www.sabah.com.tr/saglik/2021/03/22/kirmizi-pancarin-faydalanerlerdir-kirmizi-pancar-nasil-tuketilir) adresinden 3 Haziran 2022 tarihinde alınmıştır
- Devasagayam, T. P., Bloor, K. K., & Ramasarma, T. (2003). Methods for estimating lipid peroxidation: An analysis of merits and demerits. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics Vol. 40(5)*, 300-308.
- Emerit, E., Edeas, M., & Bricaire, F. (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 58(1), 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2003.11.004>
- Esatbeyoglu, T., Wagner, A. E., Schini-Kerth, V. B., & Rimbach, G. (2015). Betanin—A food colorant with biological activity. *InternMolecular Nutrition and Food Research*, 59(1), 36-47. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400484>
- Evcimen, M., & Aslan, R. (2015). Yaygın Kullanıma Sahip Tıbbi Aromatik Bitkilerdeki Bazı Antioksidan Fitokimyasalların Fizyolojik Etkileri. *Kocatepe Veterinary Journal*, 8(2), 65-78.



- Fang, Y.-Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Regulation Of Physiological Systems By Nutrients*, 18(10), 872-879. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(02\)00916-4](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4)
- Fernández-López, J. A., Angosto, J. M., Giménez, P. J., & León, G. (2013). Thermal Stability of Selected Natural Red Extracts. *Springer Science+Business Media New York 2013*, 68(1), 11–17. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0337-1>
- Frankel, E. N., & Finley, J. W. (2008). How To Standardize the Multiplicity of Methods To Evaluate Natural Antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13), 4901–4908. <https://doi.org/10.1021/jf800336p>
- Fu, Y., Shi, J., Xie, S.-Y., Zhang, T.-Y., P.Soladoye, O., & E.Aluko, R. (2020). Red Beetroot Betalains: Perspectives on Extraction, Processing, and Potential Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(40), 11595-11611. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04241>
- Gandhi, S., & Abramov, A. Y. (2012). Mechanism of Oxidative Stress in Neurodegeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2012/428010>
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International* 40(9), 1107–1121. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>
- Gökmen, S., Palamutoğlu, R., & Sarıçoban, C. (2012). Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 40(2), 36-50. <https://dx.doi.org/10.15237/gida.GD14040>
- Havlíková, L., Míková, K., & Kyzlink, V. (1983). Heat Stability of Betacyanins . *Z Lebensm Unters Forsch*, 177(4), 247-250. <https://doi.org/10.1007/BF01082487>
- Herbach, K., Stintzing, F., & Reinholdcarle, C. (2006). Betalain Stability and Degradation—Structural and Chromatic Aspects. *Journal of Food Science*, 71(4), 41-50. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x>
- Kahraman, A., Serteser, M., & Koken, T. (2018). Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3(1), 01-08. <https://doi.org/10.18229/ktd.98138>
- Karabulut, G., & Yemiş, O. (2019). Fenolik Bileşiklerin Bağlı Formları ve Biyoyararlılığı. *Akademik Gıda*, 17(4), 526-537. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.667270>
- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *DergiPark*, 1(1), 66-76. <https://doi.org/10.24880/maeuafd.260790>
- Karakaya, S., & El, S. N. (1997). Flavonoidler ve Sağlık. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 26(2), 54-60.
- Kaur, S., & Mondal, P. (2014). Study of total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and antimicrobial properties of medicinal plants. *Journal of Microbiology & Experimentation*, 1(1), 23-28. <https://doi.org/10.15406/jmen.2014.01.00005>
- Khan, M. I. (2016). Stabilization of betalains: A review. *Food Chemistry*, 197, 1280–1285. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.043>

- kimya, O. (2022, 14 Mart). o kimya A.Ş. okimya.com.tr: <https://okimya.com.tr/antimikrobiyal-kimyasallar/butil-hidroksi-anisol-bha/> adresinden 15 Mayıs 2022 tarihinde alınmıştır
- Kimyaevi. (2022, 12 Mart). Kimyaevi. Kimyaevi: <http://www.kimyaevi.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFF679A66406202CCB0B48A2ED314157011> adresinden 15 Ekim 2022 tarihinde alınmıştır
- Koca, N., & Karadeniz, F. (2005). Gıdalardaki Doğal Antioksidan Bileşikler. *Gıda*, 30(4), 229-236.
- Kolaç, T., Gürbüz, P., & Yetiş, G. (2017). Doğal Ürünlerin Fenolik İçeriği ve Antioksidan Özellikleri. *Ü.Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 5(1), 26-42.
- Kujala, T. S., Loponen, J. M., Klika, K. D., & Pihlaja, K. (2000). Phenolics and Betacyanins in Red Beetroot (*Beta vulgaris*) Root: Distribution and Effect of Cold Storage on the Content of Total Phenolics and Three Individual Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 48(11), 5338–5342. <https://doi.org/10.1021/jf000523q>
- Kujala, T., Loponen, J., & Pihlaja, K. (2001). Betalains and Phenolics in Red Beetroot (*Beta vulgaris*) Peel Extracts: Extraction and Characterisation. *Zeitschrift für Naturforschung*, 56(5-6), 343-348. <https://doi.org/10.1515/znc-2001-5-604>
- Kurilich, A. C., Tsau, G. J., Brown, A., Howard, L., Klein, B. P., Kushad, M., . . . Juvik, J. A. (1999). Carotene, Tocopherol, and Ascorbate Contents in Subspecies of Brassica oleracea. *J. Agric. Food Chem*, 47(4), 1576-1581. <https://doi.org/10.1021/jf9810158>
- Kurulu, M. W. (2022, 28 Nisan). Medicina sağlık grubu. medicina: <https://www.medicana.com.tr/sayfa/medicana-web-ve-yayin-kurulu> adresinden 20 Eylül 2022 tarihinde alınmıştır
- L., T., Butera, D., D'arpa, D., Dı Gaudio, F., Allegra, M., Gentile, C., & Livia, M. (2003). Increased Resistance to Oxidation of Betalain enriched Human Low Density Lipoproteins. *Free Radical Research*, 37(6), 689–696. <https://doi.org/10.1080/1071576031000097490>
- Lander, H. M. (2018). An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *The Faseb Journal*, 11(2), 118-124. <https://doi.org/10.1096/fasebj.11.2.9039953>
- Leather, R. R., Catherine Davin, C., & Zryd, J. P. (1992). Betalain Producing Cell Cultures Of Beta Vulgaris L. Var. Bikores Monogerm (Red Beet). *Tissue Culture Association*, 28(2), 39-45. <https://doi.org/10.1007/bf02823016>
- Lovell, M. A., Ehmann, W. D., Butler, S. M., & Markesbery, W. R. (1995). Elevated thiobarbituric acid-reactive substances and antioxidant enzyme activity in the brain in Alzheimer's disease. *Neurology* 45(8), 1594-1601. <https://doi.org/10.1212/WNL.45.8.1594>
- Manchali, S., Murthy, K. N., Nagaraju, S., & Neelwarne, B. (2012). Stability of Betalain Pigments of Red Beet. *Springer Science+Business Media New York* 2013, 1-20. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3458-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3458-0_3)

- Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2017). Coloring attributes of betalains: a key emphasis on stability and future applications. *Food & Function*, 8(4), 17-47. <https://doi.org/10.1039/c7fo00144d>
- Meral, R., Doğan, İ. S., & Kanberoğlu, G. S. (2012). Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Antioksidanlar. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.*, 2(2), 45-50.
- Moharram, H., & Youssef, M. (2014). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Alex. J. Fd. Sci. & Technol*, 11(1), 31-42. <https://doi.org/10.12816/0025348>
- Nayak, B., Liu, R. H., & Tang, J. (2015). Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(7), 887-918. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.654142>
- Okcu, G., Altuntaş, E. G., & Ayhan, K. (2011). Laktik Asit Fermentasyonunda Fenolik Bileşikler ve Önemi. *Ordu Üniv. Bil. Tek. Derg.*, 1(1), 50-64.
- Ötleş, S., & Atlı, Y. (1997). Karotenoidlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *Journal Of Engineering Sciences*, 3(1), 249-254.
- Özcan, K., & Bilek, S. E. (2018). Kırmızı Pancardan Renk Maddesi Üretimi ve Stabilitesinin Sağlanması. *Dergi park*, 16(4), 439-449. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.505529>
- Özyurt, V. H., Saralı, H., & Ötleş, S. (2019). Betalain ekstraktlarının gıdalarda kullanım olanakları. *Review Article*, 25(7), 864-870. <https://doi.org/10.5505/pajes.2019.03592>
- Pasch, J. H., & Elbe, J. H. (1979). Betanine Stability in Buffered Solutions Containing Organic Acids, Metal Cations, Antioxidants, Or Sequestrants. *Food Science*, 44(1), 72-75. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1979.tb10007.x>
- Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2011). Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 1(1), 1-10. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-1009.1000106>
- Podsedek, A. (2005). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *Food science and Tecnology*, 40(1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.023>
- Polturak, G., Grossman, N., Vela-Corcia, D., Dong, Y., Nudel, A., Pliner, M., . . . Aharoni, A. (2017). Engineered gray mold resistance, antioxidant capacity, and pigmentation in betalain-producing crops and ornamentals. *Pnas*, 114(34), 9062-9067. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707176114>
- Ravichandran, K., Palaniraj, R., Thaw Saw, N. M., Gabr, A. M., Ahmed, A. R., Knorr, D., & Smetanska, I. (2012). Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. *J Food Sci Technol*, 51(9), 2216-2221. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0728-6>
- Romulo, A. (2020). The Principle of Some In vitro Antioxidant Activity Methods: Review. *Earth and Environmental Science*, 426, 1755-1315. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/426/1/012177>

- Sadowska-Bartosz, I., & Bartosz, G. (2021). Biological Properties and Applications of Betalains. *Molecules*, 26(9), 2-36. <https://doi.org/10.3390/molecules26092520>
- Sarma, A. D., Mallick, A. R., & Ghosh, A. K. (2010). Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*, 1(3), 185-192.
- Savolainen, K., & Kuusi, T. (1978). The Stability Properties of Golden Beet and Red Beet Pigments: Influence of pH, Temperature, and Some Stabilizers. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.*, 166(1), 19-22. <https://doi.org/10.1007/BF01122999>
- Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The Role of Antioxidants in Human Health. *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy*, 1-37. <https://doi.org/10.1021/bk-2011-1083.ch001>
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S., & De, B. (2010). Free Radicals, Antioxidants, Diseases And Phytomedicines: Current Status And Future Prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3(1), 91-100.
- Shahidi, F., & Yeo, J. (2016). Insoluble-Bound Phenolics in Food. *Molecules*, 21(9), 2-22. <https://doi.org/10.3390/molecules21091216>
- Shamsi, D. (2020, Nisan 9). *Internet Archive*. Retrieved from archive.org: [https://archive.org/stream/4.beetroot..4.%20beetroot..\\_djvu.txt](https://archive.org/stream/4.beetroot..4.%20beetroot.._djvu.txt)
- Sharma, L., & Sardana, M. (2017). Organoleptic Properties of a Standardised Food Product (Cookies) Developed from Beet Root Extract and Bengal Gram Flour. *International Journal of Food, Nutrition and Dietetics*, 5(2), 51-57. <http://dx.doi.org/10.21088/ijfnd.2322.0775.5217.2>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Academic Press All rights of reproduction in any form reserved*, 299, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Sivakumar, V., Anna, J. L., Vijayeeswarri, J., & Swaminathan, G. (2009). Ultrasound assisted enhancement in natural dye extraction from beetroot for industrial applications and natural dyeing of leather. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(6), 782-789. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.03.009>
- Stanner, S., & Coe, S. (2018). Oxidative Stress and Cardiovascular Disease. *Cardiovascular Disease*, 76(4), 213-243. <https://doi.org/10.1002/9781118829875.ch9>
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 15(1), 19-38. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.07.004>
- Sturzoiu, A., Stroescu, M., Stoica, A., & Dobre, T. (2011). Betsnine Extraction From Beta Vulgaris – Experimental Research And Statistical Modeling. *U.P.B. Sci. Bull., Series B*, 73(1), 1454-2331.

- Suganyadevi, P., Saravanakumar, D., Aravinthan, D. K., Arunkumar, D. A., Krishna, R. K., & Karthikeyani, D. S. (2010). Extraction of Betacyanin from Red Beet root (*Beta vulgaris* L.) and to evaluate its antioxidant potential. *Pharmacy Research*, 3(11), 2693-2696.
- Şener, G., & Yeğen, B. Ç. (2009). İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim*, 1-13.
- Şenses, S. V., Özyazgan, S., & Gökhan, A. (1999). Serbest Oksijen Radikalleri – II: Antioksidan Vitaminler, Doğal Antioksidanlar ve Radikallerin Rol Oynadığı Durumlar. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*, 53-61.
- Teknik, M. (2021, 24 Eylül). Mikro Teknik Chemical Solutions. mikroteknik.com.tr: <http://www.mikroteknik.com.tr/urunler/askorbik-asit/> adresinden 29 Kasım 2022 tarihinde alınmıştır
- Tesoriere, L., Allegra, M., Butera, D., & Livrea, M. A. (2004). Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: potential health effects of betalains in humans. *The American Journal of clinical Nutrition*, 80(4), 941-945. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.4.941>
- Thanonkaew, A., Wongyai, S., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2015). Formation, antioxidant property and oxidative stability of cold pressed rice bran oil emulsion. *Food Scientists & Technologists (India)*, 52(10), 6520-6528. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1743-1>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Velioğlu, S. (2005). Doğal Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri. *Gıda*, 25(3), 167-176.
- Wikipedi. (2022, 23 Eylül). Wikipedi. [tr.wikipedia.org: https://tr.wikipedia.org/wiki/Antioksidan](https://tr.wikipedia.org/wiki/Antioksidan) adresinden 2 Ekim 2022 tarihinde alınmıştır
- Wikipedi, ö. a. (2021, 24 Kasım). Wikipedi. [wikipedia.org: https://tr.wikipedia.org/wiki/Pancar](https://tr.wikipedia.org/wiki/Pancar) adresinden 29 Aralık 2022 tarihinde alınmıştır
- Wikipedia. (2022, 22 Kasım). Wikipedia. Retrieved from [wikipedia: https://en.wikipedia.org/wiki/ABTS](https://en.wikipedia.org/wiki/ABTS) adresinden 28 Aralık 2022 tarihinde alınmıştır
- Wikipedia. (2022, 22 Ekim). Wikipedia. Retrieved from [wikipedia.org: https://en.wikipedia.org/wiki/%CE%92-Carotene](https://en.wikipedia.org/wiki/%CE%92-Carotene) adresinden 29 Aralık 2022 tarihinde alınmıştır
- Wiley, J., & Ltd, S. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82(2), 291 - 295. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004024>
- Wybraniec, S. (2005). Formation of Decarboxylated Betacyanins in Heated Purified Betacyanin Fractions from Red Beet Root (*Beta vulgaris* L.) Monitored by LC-MS/MS. *Agriculture And Food Chemistry*, 53(9), 3483-3487. <https://doi.org/10.1021/jf048088d>

- Yeşilbağ, D. (2009). Kanatlı Beslenmesinde Doğal ve Sentetik Antioksidanların Kullanımı. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 28(2), 55-60.
- Zhang, H., & Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33-42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.02.002>
- Zuidam, N. J., & Shimoni, E. (2009). Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. *Springer Science+Business Media, LLC 2010*, 3-29. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0_2)
- Zuritaa, J. L., Jos, A., Peso, A. d., Salguero, M., López-Artíguez, M., & Repetto, G. (2007). Ecotoxicological effects of the antioxidant additive propyl gallate in five aquatic systems. *Water Research*, 41(12), 2599– 2611. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.02.003>

## ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Rama ALKAYARI

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2019, Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği
- **Yükseklisans** : 2023, Sakarya Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Organik Kimya PR. (YL)

### YAYIN MAKALELER:

Suriye Burma Tatlısının Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi /Journal of the Institute of Science and Technology, 10(1): 271-279, 2020

Ekstraksiyon Süresinin ve pH Değerinin Kırmızı Pancarda Toplam Fenolik Madde ve Antioksidan Aktivitesi Üzerinde Etkisinin İncelenmesi / 2023 Published by All Sciences Proceedings