

**MOR HAVUÇ, KONSANTRESİ, ŞALGAM SUYU,
NAR SUYU VE NAR EKŞİSİ ÜRÜNLERİNDE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ TAYİNİ VE FENOLİK
MADDE PROFİLİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimyager Tuba ÖZTAN

Anabilim Dalı: Gıda Mühendisliği

Programı: Gıda Mühendisliği

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Beraat ÖZÇELİK

EKİM 2006

**MOR HAVUÇ, KONSANTRESİ, ŞALGAM SUYU,
NAR SUYU VE NAR EKŞİSİ ÜRÜNLERİNDE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ TAYİNİ VE FENOLİK
MADDE PROFİLİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimyager Tuba ÖZTAN
(506031515)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 26 Ekim 2006
Tezin Savunulduğu Tarih : 3 Kasım 2006**

**Tez Danışmanı: Doç.Dr. Beraat ÖZÇELİK
Diğer Jüri Üyeleri: Prof.Dr. Artemis KARAALI (İ.T.Ü)
Prof.Dr. Güldem ÜSTÜN (İ.T.Ü)**

EKİM 2006

ÖNSÖZ

Meyve ve sebzeler insan sağığı üzerine yaralı etkilerde bulunan antioksidanlarca zengin gıdalar olarak bilinmektedir. Antioksidan özellik taşıması ile ilgili olarak ise en iyi bilinen maddelerden biri fenolik maddelerdir. Bu Tez çalışmasında, yüksek fenolik içerikleri ile ilgili olarak, taze olarak sıkılmış nar suyu, ticari nar suyu, nar ekşisi, mor havuç, mor havuç suyu konsantresi ve şalgam suyu gıdaları ele alınmıştır.

Tez çalışmam süresince desteğini gördüğüm herkese, öncelikle, danışmanlığımı üstlenerek, değerli fikirleri ile beni yönlendiren, ilgi ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Doç.Dr. Beraat ÖZÇELİK'e saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmayı destekleyen FLORA projesi'ne (EU 6th Framework Strep Project, Flavonoids and Related Phenolics for Healthy Living Using Orally Recommended Antioxidants) ve bu projenin yürütücüsü sayın Prof. Dr. Artemis KARAALI'ye teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Uzman Yüksek Gıda Mühendisi Nalan DEMİR' e, arkadaşım Yüksek Gıda Mühendisi Seda ERUÇAR'a, Araş.Gör. Dilara NİLÜFER'e ve Araş.Gör. Neşe ŞAHİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, manevi desteğini gördüğüm tüm dostlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Destekleri ve sevgileri ile her zaman yanımda olan, varlıkları ile bana güven veren, bugünlere gelmemde büyük emek sahibi olan canım anneme, canım babama ve çok sevdiğim ağabeyim E. Koray ÖZTAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ekim, 2006

Tuba ÖZTAN

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	viii
ÖZET	x
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİSİ	3
2.1. Antioksidanlar	3
2.1.1. Antioksidanlar ve etki mekanizması	4
2.1.2. Antioksidan türleri	6
2.1.3. Antioksidan aktivitesi ölçüm yöntemleri	6
2.1.3.1. Oksijen radikali absorplama aktivitesi	7
2.1.3.2. Toplam radikal kapanı antioksidan parametresi	8
2.1.3.3. Toplam oksidan yakalama aktivitesi	9
2.1.3.4. Kemiluminesans	9
2.1.3.5. Krosin veya beta karoten ağartma metodu	9
2.1.3.6. Düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonu	10
2.1.3.7. Demir(III) indirgeyici antioksidan aktivite	10
2.1.3.8. Bakır(II) indirgeyici antioksidan aktivite	11
2.1.3.9. TEAC veya ABTS metodu	11
2.1.3.10.DPPH metodu	12
2.1.3.11.İndirgeme potansiyeli metodu	13
2.1.3.12.Linoleik asit emulsiyonu veya demir tiyosiyanat metodu	13
2.1.3.13.Metal şelatlama aktivitesi	14
2.1.3.14.Folin ciocalteu metodu	15
2.2. Fenolik Maddeler	18
2.2.1. Fenolik asitler	19
2.2.2. Flavonoidler	20
2.2.2.1. Flavonoidlerin yapı özellikleri ve sınıflandırılması	21
2.2.2.2. Antosiyaninler	22
2.2.2.3. Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi	26
2.2.2.4. Flavonoidlerin gıdalarda dağılımı	26

2.3. Kullanılan Hammaddeye İlişkin Literatür Bilgisi	27
2.3.1. Mor havuç	27
2.3.2. Mor havuç suyu konsantresi	28
2.3.3. Şalgam suyu	29
2.3.4. Nar	31
2.4. Analiz Yöntemleri	32
2.4.1. Flavonoidlerin ekstraksiyon yöntemleri	32
2.4.2. Spektrofotometrik yöntemler	33
2.4.3. Kromatografik yöntemler	33
3. MALZEME VE YÖNTEM	35
3.1. Malzeme	35
3.1.1. Analizlenen gıdalar	35
3.1.2. Kullanılan ekipman ve kimyasallar	35
3.2. Yöntem	36
3.2.1. Örneklerin Hazırlanması	36
3.2.2. Ekstraksiyon	36
3.2.3. Kompozisyon analizi	37
3.2.4. Toplam fenolik madde analizi	37
3.2.5. Toplam flavonoid analizi	38
3.2.6. Toplam antosiyanin analizi	39
3.2.7. Antioksidan aktivitesi tayin yöntemleri	39
3.2.7.1. DPPH radikali yakalama aktivitesi	39
3.2.7.2. ABTS radikal katyon yakalama aktivitesi	39
3.2.7.3. Metal şelatlama aktivitesi	40
3.2.7.4. Linoleik asit emülsiyon sistemi veya demir tiyosiyanat metodu	40
3.2.7.5. İndirgeme gücü	41
3.2.7.6. Fenolik madde profillerinin belirlenmesi	42
3.2.8. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	44
4.1. Kompozisyon Analizi	44
4.2. Toplam Fenolik Madde Analizi	44
4.3. Toplam Flavonoid Analizi	47
4.4. Toplam Antosiyanin Analizi	49
4.5. Antioksidan Aktivitesi Analizi Sonuçları	51
4.5.1. DPPH radikali yakalama aktivitesi	51
4.5.2. ABTS radikal katyon yakalama aktivitesi	53

4.5.3. Metal şelatlama aktivitesi	55
4.5.4. Linoleik asit emülsiyon veya demir tiyosiyanat metodu	57
4.5.5. İndirgeme gücü metodu	59
4.6. Örneklerin Fenolik Madde Profilleri	61
4.7. Antioksidan Aktivitesi ve Fenolik Madde İçeriği Arasındaki İlişki	70
5. SONUÇLAR	73
KAYNAKLAR	76
EKLER	86
ÖZGEÇMİŞ	93

KISALTMALAR

ABAP	: [2,2'-azobis (2-amidinopropan) dihidroklorür]
ABTS	: [2,2'-azonobis(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonat)]
AOA	: Antioksidan aktivitesi
AOK	: Antioksidan kapasitesi
ABS	: Absorbans
ANT	: Antosiyanin
BHT	: Butillendirilmiş hidroksianisol
BHT	: Butillendirilmiş hidroksitoluen
CE	: Kateşin eşdeğeri
CL	: Kemiluminesans
CUPRAC	: Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Aktivitesi
DPPH	: 2,2-Difenil-1-pikrihidrazil
EK	: Epikateşin
EGCG	: Epigallokateşin gallat
FC	: Folin-Ciocalteu
FRAP	: Demir(III) indirgeyici antioksidan kapasite
GA	Gallik asit
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GC	: Gaz kromatografisi
HAT	: Hidrojen atom transferine dayanan metot
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LPI	: Lipit peroksidasyon inhibisyonu
KMBA	: Ketomethiobütrik asit
ORAC	: Oksijen radikal absorbans kapasitesi
PG	: Propil gallat
SET	: Singlet elektron transferine dayanan metot
QE	: Kuersetin eşdeğeri
TBHQ	: Tersiyer butil hidrokinon
TE	: Troloks eşdeğeri
TEAC	: Troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi
TFM	: Toplam fenolik madde
TM	: Tanımlanmayan madde
TOCS	: Toplam oksidan yakalama aktivitesi
TRAP	: Toplam radikal kapanı antioksidan parametresi
TROLOX	: 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametil-kroman-2-karboksilik asit
TPTZ	: Tripiridiltriazin
UV	: Ultraviyole

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1 Literatürde mevcut bazı antioksidan aktivitesi ölçüm yöntemlerinin çeşitli özelliklerine göre sınıflandırılması.....	16
Tablo 2.2 Bazı meyve ve sebzelerin başlıca fenolik madde içerikleri.....	19
Tablo 2.3 Bazı fenolik maddelerin kimyasal yapısı.....	24
Tablo 3.1 Uygulanan yöntemin HPLC koşulları.....	42
Tablo 3.2 HPLC metodu gradient çalışma koşulları.....	42
Tablo 4.1 Örneklerin % toplam kuru madde ve % suda çözünür kuru madde değerleri.....	44
Tablo 4.2 Örneklerin pH değeri.....	44
Tablo 4.3 Örneklerin toplam fenolik madde miktarı.....	45
Tablo 4.4 Örneklerin toplam flavonoid madde miktarı.....	48
Tablo 4.5 Örneklerin toplam antosiyanin madde miktarı.....	49
Tablo 4.6 Örnek ekstraktlarının EC ₅₀ değeri ve Troloks eşdeğeri.....	51
Tablo 4.7 4.dakikada % ABTS ^{•+} azalması ve Troloks eşdeğeri.....	54
Tablo 4.8 10.dakikada % ABTS ^{•+} azalması ve Troloks eşdeğeri.....	54
Tablo 4.9 Örneklerin metal şelatlama aktivitesi.....	56
Tablo 4.10 Örneklerin çeşitli zamanlardaki linoleik asit peroksidasyon inhibisyon yüzdesi.....	58
Tablo 4.11 Örneklerin askorbik asit eşdeğeri olarak indirgeme gücü.....	60
Tablo 4.12 Standartlara ait kolonda alıkonma süreleri.....	61
Tablo 4.13 Mor havuç suyu konsantresi ekstraktındaki fenolik bileşikler..	62
Tablo 4.14 Mor havuç ekstraktındaki fenolik bileşikler.....	64
Tablo 4.15 Şalgam suyu ekstraktındaki fenolik bileşikler.....	65
Tablo 4.16 Taze nar suyu ekstraktındaki fenolik bileşikler.....	66
Tablo 4.17 Ticari nar suyu ekstraktındaki fenolik bileşikler.....	68
Tablo 4.18 Nar ekşisi ekstraktındaki fenolik bileşikler.....	69
Tablo B1 Örneklerin fenolik madde varyans analiz tablosu.....	90
Tablo B2 Örneklerin fenolik madde içeriğinin % 95 güven aralığında Tukey testi ile karşılaştırılması.....	90
Tablo B3 Örneklerin flavonoid madde varyans analiz tablosu.....	90
Tablo B4 Örneklerin flavonoid madde içeriğinin % 95 güven aralığında Tukey testi ile karşılaştırılması.....	91
Tablo B5 Örneklerin antosiyanin madde varyans analiz tablosu.....	91
Tablo B6 Örneklerin antosiyanin madde içeriğinin % 95 güven aralığında Tukey testi ile karşılaştırılması.....	91
Tablo B7 Antioksidan aktivitesi (DPPH metodu) ile toplam fenolik madde içeriğinin regresyon varyans analiz tablosu	92
Tablo B8 Antioksidan aktivitesi (DPPH metodu) ile toplam flavonoid madde içeriğinin regresyon varyans analiz tablosu	92

Tablo B9	Antioksidan aktivitesi (DPPH metodu) ile toplam antosiyanin madde içeriğinin regresyon varyans analiz tablosu	92
-----------------	---	----

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 : ORAC yöntemi ile antioksidan aktivitenin hesaplanması.....	8
Şekil 2.2 : Fe(III)- TPTZ + indirgen antioksidan → Fe(II) – TPTZ.....	10
Şekil 2.3 : Cu(II)'nin antioksidan madde ile Cu (I)' e indirgemesi	11
Şekil 2.4 : ABTS'nin kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.5 : DPPH radikalının kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.6 : Fenolik asitlerin kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2.7 : Flavonoidlerin C6-C3-C6 iskelet yapısı.....	21
Şekil 2.8 : Flavonoid alt gruplarının temel yapısı.....	21
Şekil 2.9 : Altı temel antosiyaninin kimyasal yapısı.....	23
Şekil 2.10 : Mor havuç suyu konsantresi üretimi.....	28
Şekil 2.11 : Klasik yöntem ile şalgam suyu üretimi.....	30
Şekil 4.1 : Gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	45
Şekil 4.2 : Örneklerin toplam fenolik madde miktarı.....	46
Şekil 4.3 : Epikateşin kalibrasyon eğrisi.....	47
Şekil 4.4 : Örneklerin toplam flavonoid madde miktarı.....	48
Şekil 4.5 : Örneklerin toplam antosiyanin madde miktarı.....	50
Şekil 4.6 : Troloks eşdeğeri olarak örneklerin antioksidan aktivitesi.....	52
Şekil 4.7 : Linoleik asit peroksidasyon inhibisyonunun grafiksel Gösterimi.....	58
Şekil 4.8 : Askorbik asitin indirgeme gücüne dayanılarak çizilen kalibrasyon eğrisi.....	59
Şekil 4.9 : Mor havuç suyu konsantresi ekstraktına ait 280 nm de HPLC kromatogramı.....	62
Şekil 4.10 : Mor havuç suyu konsantresi ekstraktına ait 520 nm de HPLC kromatogramı.....	62
Şekil 4.11 : Mor havuç ekstraktına ait 280 nm de HPLC kromatogramı...	63
Şekil 4.12 : Mor havuç ekstraktına ait 520 nm de HPLC kromatogramı ...	64
Şekil 4.13 : Şalgam suyu ekstraktına ait 280 nm de HPLC kromatogramı.....	65
Şekil 4.14 : Şalgam suyu ekstraktına ait 520 nm de HPLC Kromatogramı.....	65
Şekil 4.15 : Taze nar suyu ekstraktına ait 280 nm de HPLC Kromatogramı.....	65
Şekil 4.16 : Taze nar suyu ekstraktına ait 520 nm de HPLC Kromatogramı.....	67
Şekil 4.17 : Ticari nar suyu ekstraktına ait 280 nm de HPLC kromatogramı	67
Şekil 4.18 : Ticari nar suyu ekstraktına ait 520 nm de HPLC Kromatogramı.....	68
Şekil 4.19 : Nar ekşisi ekstraktına ait 280 nm de HPLC kromatogramı...	69

Şekil 4.20	: Nar ekşisi ekstraktına ait 520 nm de HPLC kromatogramı...	69
Şekil 4.21	: Toplam fenolik madde içeriği ve DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi regresyon analizi grafiği	71
Şekil 4.22	: Toplam flavonoid madde içeriği ve DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi regresyon analizi grafiği.....	71
Şekil 4.23	: Toplam antosiyanin madde içeriği ve DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi regresyon analizi grafiği.....	72
Şekil A.1	: (-)- Epikateşin standardı kalibrasyon eğrisi.....	86
Şekil A.2	: (-)- Epigallokateşin gallat standardı kalibrasyon eğrisi.....	86
Şekil A.3	: Ferulik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	86
Şekil A.4	: Gallik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	87
Şekil A.5	: (-)- Gallokateşin standardı kalibrasyon eğrisi.....	87
Şekil A.6	: (+)- Kateşin standardı kalibrasyon eğrisi.....	87
Şekil A.7	: Kafeik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	88
Şekil A.8	: Klorojenik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	88
Şekil A.9	: P-Kumarik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	88
Şekil A.10	: Şirinjik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	89
Şekil A.11	: Rutin standardı kalibrasyon eğrisi.....	89
Şekil A.12	: 3,4 dihidroksi benzoik asit standardı kalibrasyon eğrisi.....	89

MOR HAVUÇ, KONSANTRESİ, ŞALGAM SUYU, NAR SUYU VE NAR EKŞİSİ ÜRÜNLERİNDE ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ TAYİNİ VE FENOLİK MADDE PROFİLİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Meyve ve sebzeler besleyici olan ve besleyici olmayan kompleks karışımlardan oluşur. İçerdikleri yüksek fenolik içeriğe bağlı olarak meyve ve sebze tüketimi ile kanser ve çeşitli kronik hastalıkların oluşumunun azaldığı görülmüştür. Fenolik bileşiklerin bu yararlı etkileri serbest radikalleri yakalamalarından kaynaklanmaktadır. Son yıllarda diyetle alınan antioksidan fenoliklere karşı artan bir ilgi görülmektedir.

Bu çalışmada yüksek fenolik içerikleri ile ilgili olarak, taze olarak sıkılmış nar suyu, ticari nar suyu, nar ekşisi, mor havuç, mor havuç suyu konsantresi ve şalgam suyu gıdaları ele alınmıştır. İlk olarak fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktiviteleri çeşitli metotlar ile tespit edildikten sonra fenolik madde profilleri HPLC metodu ile belirlenmiştir.

Çalışmada incelenen nar suyu bilinen en iyi doğal antioksidanlardan biridir. Antioksidan özelliğine olan ilginin artması ile son zamanlarda nar suyu oldukça önem kazanmıştır. Literatürde mevcut çalışmalara bakıldığında nar suyunun fenolik maddelerden olan hidrolize tanenler ve antosiyaninler açısından oldukça zengin olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada ise taze sıkılmış nar suyu, ticari nar suyu örnekleri, ticari nar ekşisi örneği antioksidan aktivite ve fenolik maddeler açısından birbirleri ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmada incelenen mor havucun ise fenolik asitler ve antosiyaninler içerdiği bilinmekle birlikte literatürde mor havuç ile ilgili mevcut çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmanın mor havucun ve şalgam suyunun antioksidan aktivitesi ve fenolik madde profili ile ilgili olan boşluğu doldurmak adına faydalı olacağı düşünülmüştür.

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde Folin-Ciocalteu metodu kullanılmıştır. Ayrıca flavonoid miktarı, kolorimetrik flavonoid analizi ile ve toplam antosiyanin miktarı pH-diferansiyel metodu ile belirlenmiştir. Antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde ise çeşitli metodlardan yararlanılmıştır. DPPH radikal yakalama metodu, ABTS radikal katyonu yakalama metodu, Redüktif potansiyel metodu, Linoleik asit emülsiyon sistemi metodu ve Metal şelatlama aktivitesi metodları kullanılmıştır. Örneklerin fenolik madde profilleri ise HPLC yöntemi ile belirlenmiştir.

Örneklerin toplam fenolik madde miktarı 1,052-15,5 mg GA/g aralığında bulunmuştur. En yüksek fenolik madde miktarı, mor havuç suyu konsantresinde görülürken en düşük fenolik madde miktarı şalgam suyunda görülmüştür. Toplam flavonoid madde miktarı ise 0,05-1,5 mg EK/g aralığında bulunmuştur. En yüksek flavonoid miktarı mor havuç suyu konsantresinde görülürken, en düşük miktar ise nar ekşisinde görülmüştür. Toplam antosiyanin madde miktarı ise 0,022-7,5 mg

Ant/g aralığında bulunmuştur. En yüksek antosiyanin madde miktarı mor havuç suyu konsantresinde görülürken en düşük miktar nar ekşisi örneğinde görülmüştür.

Toplam fenolik, flavonoid ve antosiyanin miktarları belirlenen örneklerin bir sonraki aşamada farklı metodlar uygulanarak antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı oldukça yüksek olan mor havuç suyu konsantresinin antioksidan aktivitesi de ölçülen tüm metodlarda oldukça yüksek gözlenmiştir. Bunun yanı sıra fenolik madde miktarı oldukça yüksek olan taze sıkılmış nar suyu örneği de antioksidan aktivitesi ölçüm metodlarına göre oldukça iyi aktivite göstermiştir. Ayrıca taze sıkılmış nar suyu örneğinin ticari nar suyuna göre daha yüksek aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Bu durumun nedeni olarak ise ticari nar suyuna uygulanan ısıt işlemler sonucu fenolik maddelerdeki kayıplar ve hammadde farklılığı öne sürülebilir.

Son aşamada ise örneklerin fenolik madde içerikleri HPLC metodu ile kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir. Klorojenik asit, mor havuç suyu konsantresinde ve şalgam suyunda baskın fenolik maddelerden birisi olarak gözlenirken, 3,4 dihidroksi benzoik asit ise mor havuç ve mor havuç suyu konsantresinde baskın fenolik maddelerden birisi olarak gözükmemektedir. Taze sıkılmış nar suyu, ticari nar suyu ve nar ekşisi örnekleri ise önemli miktarda (-)- gallokateşin, (+)- kateşin ve kafeik asit içermektedir.

ANTIOXIDANT ACTIVITIES AND PHENOLIC SUBSTANCE PROFILE OF PURPLE CARROT, ITS CONCENTRATE, SHALGAM BEVERAGE, POMEGRANATE JUICE AND SOUR POMEGRANATE CONCENTRATE PRODUCTS

SUMMARY

Fruits and vegetables provide a complex mixture of nutrients and nonnutrients. Consumption of fruits and vegetables with the high phenolic content is associated with a decreased of cancer and other chronic diseases. Phenolic compounds may produce their beneficial effect by scavenging free radicals. In the past few years there has been an increasing interest in determining relevant dietary sources of antioxidant phenolics.

In this study, freshly squeezed pomegranate juice, commercial pomegranate juice, sour pomegranate concentrate, purple carrot, purple carrot juice concentrate and shalgam beverage were dealt with their high phenolic content. Firstly, the phenolic contents and antioxidant activity potential were determined by different methods. Then, their phenolic substance profiles were determined by HPLC method.

Pomegranate juice is one of the best known natural antioxidant. By increasing interest its antioxidant property it has been attached more importance. According to studies in the literature, pomegranate juice is a rich source of hydrolyzable tannins and anthocyanins. In this study, freshly squeezed pomegranate juice, commercial pomegranate juice, commercial sour pomegranate concentrate were compared with their phenolic substances and antioxidant activity.

Although, it is well known that purple carrot contains phenolic acids and anthocyanins, there are limited studies on literature about purple carrot. It was thought that, this study will be useful to reveal antioxidant activity potential and phenolic profile of purple carrot and shalgam beverage.

For determination of total phenolic content Folin-Ciocalteu method is used. Furthermore, total flavonoid amount was determined by colorimetric flavonoid analysis and total anthocyanin amount was determined by pH-differential method. For antioxidant activities determinations different methods were used. For evaluating antioxidant activities; DPPH radical scavenging activity assay, ABTS radical cation decolorisation assay, Reductive potential, Antioxidant activity in linoleic acid emulsion system and Metal chelating activity methods were performed. For determining phenolic profiles of samples, HPLC method was used.

The phenolic contents of sample found between 1,052-15,5 mg GA/g. Highest phenolic content observed in purple carrot juice concentrate and lowest phenolic content observed in shalgam beverage. Total flavonoid content found between 0,05-1.5 mg EC/g. Highest flavonoid content observed in purple carrot juice concentrate and lowest flavonoid content observed in sour pomegranate concentrate. Total

anthocyanin content found between 0,022-7,5 mg Ant/g. Highest anthocyanin content observed in purple carrot juice concentrate and lowest anthocyanin content observed in sour pomegranate concentrate.

In the next step, antioxidant activities were evaluated with different methods. Purple carrot juice concentrate which have the highest phenolic content, also found highest antioxidant activity for the all methods used. Beside this, freshly squeezed pomegranate juice which had the highest amount of phenolic substances showed good antioxidant activity. Freshly squeezed pomegranate juice also, showed better antioxidant activity than commercial pomegranate juice. This may be explained by loss of phenolic substances by heat treatment and differences between raw material.

In the last step, the phenolic contents of samples were determined by HPLC method. Phenolic substances were defined quantitatively and qualitatively by HPLC. Chlorogenic acid found as one of the dominant phenolic in purple carrot juice concentrate and shalgam beverage. 3,4 dihydroxy benzoic acid found as one the dominant phenolic in purple carrot and purple carrot juice concentrate. Freshly squeezed pomegranate juice, commercial pomegranate juice and sour pomegranate juice contain important amount of (-)- gallocatechin, (+)- catechin, caffeic acid.

1.GİRİŞ

Meyve ve sebzeler hücre oksidasyonuna karşı koruyucu etkisi olan ve gıdalarda oksidatif bozulmayı önleyen ya da geciktiren bileşikler olan antioksidanlarca zengindir. Bu doğal maddeler serbest radikalleri toplayarak antioksidan özellik göstermekte ve insan sağlığı üzerine yararlı etkilerde bulunmaktadır. Diyetel bir antioksidan reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin etkisini gidererek radikal zincir reaksiyonlarını durdurur yada reaktif oksidanların oluşumunu engeller (Ötleş ve Çağındı, 2005; Huang ve diğ., 2005).

Antioksidan özellik taşıması ile ilgili olarak en iyi bilinen maddelerden biri fenolik maddelerdir (Madhavi, 1996). Klinik denemeler ve epidemiyolojik çalışmalar, meyve ve sebze tüketimi ile kardiovasküler hastalıklar, kanser, yaşlanmaya bağlı rahatsızlıklar gibi çeşitli hastalıkların görülmesinde ters bir korelasyon olduğunu göstermektedir (Huang ve diğ., 2005).

Besinsel fonksiyonları olmamasına rağmen, sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı gıdalardaki fenolik maddeler ilgi çekmektedir. Meyve ve sebzelerdeki antioksidatif etkiye sahip olan maddeler; polifenoller, flavonoidler, lif, linoleik asidin konjuge izomerleri, gallat, epigallokateşin, soya proteini, isoflovononlar, A, B, C, E vitaminleri, tokoferoller, Ca, Se, klorofil, sülfidler, kateşik, ürik asit ve proteaz inhibitörleridir. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkileri serbest radikalleri bağlamaları, metallerle şelat oluşturmaları, bazı enzimleri inaktive etmeleriyle açıklanmaktadır (Ötleş ve Çağındı, 2005; Yang ve Tsao, 2003).

Ülkemizde oldukça önemli üretim kapasitesine sahip olan mor havuç ve nar gibi bitkisel gıdalar ve bunlardan elde edilen bazı ticari ürünler fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite açısından oldukça önem taşımaktadır.

Orta Asya orijinli bir bitki olan mor havuç, ülkemizde Çukurova yöresinde kullanımı yaygın olan şalgam suyunun hammaddesidir. Bilimsel olarak da kanıtlanmış faydalarının en önemli kaynağı mor havuça rengini veren fenolik

maddelerden antosiyanin pigmentlerinin antioksidan özelliğinden gelmektedir (Kırca ve diğ., 2005).

Nar ise Türkiye, İran, Amerika, Ortadoğu, Akdeniz ve Arap ülkelerinde yetişen güney doğu asya orijinli bir meyvedir. Yenilebilir kısmı önemli miktarlarda, asit, şeker, polisakkarit, vitamin ve polifenol içermektedir. Nar suyunun potansiyel antioksidatif özellikte olduğu rapor edilmiştir (Maskan, 2004). Florida’da yapılan kardiyoloji konferansında narda bol miktarda, C vitamini demir ve potasyum olduğu ve 1 bardak nar suyunun antioksidan özelliğinin 10 bardak yeşil çay ile aynı seviyede olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca nar suyunun antioksidan özelliğinin narda bulunan polifenol, tanen ve antosiyanin gibi fenolik maddelerden ve içerdiği C vitamininden kaynaklandığı belirtilmiştir. Antioksidan miktarının kırmızı şarap, kıızılcık ve portakal suyuna göre üç kat daha fazla olduğu ve bir bardak nar suyunun, iki kadeh kırmızı şarap, 10 bardak yeşil çay ve dört bardak kıızılcık suyu ile aynı seviyede olduğu belirtilmiştir (Anon 1, 2006).

Bu çalışmanın amacı mor havuç, mor havuç suyu konsantresi, şalgam suyu, nar suyu ve nar ekşisi gibi fenolik maddelerce zengin olan bu geleneksel gıdalarımızda antioksidan aktivitesinin ve fenolik madde profilin belirlenmesidir.

Çalışma temel olarak iki bölümden oluşmaktadır ilk kısım toplam olarak fenolik maddelerin miktar tayini ve farklı metotlar uygulanarak antioksidan aktivitesinin belirlenmesi ikinci kısım ise yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile örneklerin içerdiği fenolik maddeleri tek tek tanımlamaya çalışmak ve bunları kalitatif ve kantitatif olarak incelenmekten oluşmaktadır.

Çalışma; giriş bölümünü takiben, antioksidanlar, fenolik maddeler, kullanılan hammadde ve analiz yöntemlerini kapsayan literatür bilgisi, kullanılan malzeme ve yöntemler, bulgular ve tartışma, sonuçlar, kaynaklar listesi ve son olarak ekler şeklinde hazırlanmıştır.

2. LİTERATÜR BİLGİSİ

2.1. Antioksidanlar

Geleneksel tanım olarak antioksidan oksidasyona karşı koyan, oksijen yada peroksitlerle ilerleyen reaksiyonları engelleyen maddedir. Bu maddelerin çoğu çeşitli ürünlerde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Daha biyolojik olarak ise antioksidan madde, havanın oksijeni ile bozulan ürünlere ilave edilerek bu bozulmayı engelleyen veya geciktiren sentetik veya doğal madde olarak tanımlanmaktadır. Gıda endüstrisinde antioksidanlar geniş bir alana sahiptir. Oksijen ve nitrojen gibi reaktif türlerin insanlardaki normal fizyolojik fonksiyonları üzerindeki ters etkilerini oldukça önemli şekilde azaltan diyetel antioksidanlardan, yağların bozunmasını engelleyen maddeler içeren antioksidanlara kadar geniş bir kullanıma sahiptirler (Huang ve diğ., 2005).

Temel antioksidan kaynakları dörde ayrılmıştır (Prior ve diğ., 2005).

- 1- Enzimler; Süperoksit dismutaz, peroksidaz, katalaz
- 2- Büyük moleküller; Albumin, Ferritin ve diğer proteinler
- 3- Küçük moleküller; Askorbik asit, urik asit, tokoferol, karetonoidler, polifenoller (Epigallokateşin, epigallokateşingallat, epikateşin, kateşin, kafeik asit, klorojenik asit, gallik asit, ferulik asit, kumarik asit vb)
- 4- Bazı hormonlar; Östrojen, melatonin vb

Antioksidanların öyküsü serbest radikallerle başlamaktadır. Serbest radikaller ve reaktif karakterli maddeler ile bu maddeleri üreten tüm faktörler “oksidan” veya “prooksidan” olarak tanımlanmaktadır (Özyurt, 2005).

Serbest radikaller ve oksidanlar ise şöyle tanımlanmaktadır; dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron bulunan, kısa ömürlü, reaktif atom veya moleküllerdir. Serbest radikaller, radikal olmayan bir atom veya molekülden bir

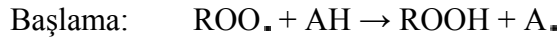
elektron çıkmasıyla veya radikal olmayan bir atom veya moleküle bir elektron ilavesiyle oluşurlar (Karafakoğlu, 2004).

Radikaller elektrik yükü olarak; pozitif, negatif ya da nötr olabilirler. Bir serbest radikaldeki eşlenmemiş elektron, herhangi bir kimyasal bağ içinde bir başka elektronla spin paylaşmadığından, radikaller, ekstra elektronları başka atomlara lokalize oluncaya yada elektron alıncaya dek oldukça reaktiftir. Aşırı reaktif bu maddeler diğer atom ve moleküllerle elektron alışverişine girerek, onların kimyasal yapılarını değiştirip kararsız (reaktif) bir atom haline getirme eğilimindedirler (Karafakoğlu, 2004). Oksijenden türeyen bazı reaktif oksijen türleri ise $O_2^{\cdot-}$ (Süperoksit) radikali, H_2O_2 (Hidrojen peroksit), $HO^{\cdot}$ (Hidroksil) radikali, $HOCl$ (Hipokloröz asit), Singlet O_2 ($O_2^{\uparrow\downarrow}$), $R^{\cdot}$ (Alkil radikali), $ROO^{\cdot}$ (Peroksil radikali), $RCOO^{\cdot}$ (Organik peroksit radikali), şeklinde sıralanabilmektedir (Huang ve diğ., 2005; 2005; Prior ve diğ., 2005; Naczki ve Shahidi, 2004).

Hücre içi ortamda oluşan serbest radikaller, önemli hücresel yapı ve bileşiklere etki ederler. Proteinler ve DNA; hücrede zarar gören önemli hedeflerden bazıları gibi gözükmektedir. Biyolojik sistemlerde, serbest radikalın saldıracağı diğer bir hedef de hücre membranındaki lipitlerdir (Naczki ve Shahidi, 2004).

2.1.1. Antioksidanlar ve Etki Mekanizması

Antioksidanlar hidrojen atomu verme kabiliyetine sahip kimyasal bileşenlerdir. Böylelikle, birincil radikalleri radikal olmayan kimyasal türlere çevirerek, okside olmuş antioksidan radikallere dönüştürürler. Antioksidanların molekül yapısı sadece hidrojen atomu verme açısından değil, aynı zamanda radikalleri düşük reaktiviteli hale getirip lipitler ile reaksiyona girmesini engellemesi açısından da oldukça uygundur (Madhavi, 1996). Antioksidan etki mekanizması basitçe aşağıda gösterildiği gibidir.



Sistemdeki etkin mekanizma antioksidan yapısı, özellikleri ile çözünürlük partiyon katsayısı ve sistemde kullanılan çözügen gibi etkenlerle belirlenir. Bağ disosiyasyon enerjisi (BDE) ve iyonizasyon potansiyeli (IP) mekanizmayı ve antioksidan etkinliğini belirleyen en önemli iki faktördür (Prior ve diğ., 2005).

Her bir oksidan ve antioksidan farklı kimyasal ve fiziksel karaktere sahiptir. Her bir antioksidan reaksiyon sistemine bağılı olarak çoklu mekanizmaları ile yada farklı bir tekli mekanizma ile rol alır. Ayrıca antioksidanlar, farklı radikal yada oksidan kaynağına karşı farklı karşılık verirler. Örneğin; Karotenoidler, fenoller ile kıyaslandığında peroksil radikallerine karşı iyi radikal yakalayıcısı değildirler. Öte yandan singlet oksijene karşı fenolik ve diğer antioksidanlar neredeyse etkisiz kalırken karotenoidler iyi bir radikal giderici etkiye sahiptir (Prior ve diğ., 2005).

Antioksidanlar iki tiptedir;

- 1- Birincil veya zincir kırıcı antioksidanlar
- 2- İkincil veya önleyici

Eser miktarlarda bulunan birincil antioksidanlar, peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek bunların doymamış lipit molekülleri ile reaksiyona girmesini engeller ve böylelikle daha kararlı ürünlere dönüşmesini sağlar. İkincil antioksidanlar ise çeşitli mekanizmalar ile zincir başlatıcı reaksiyonları geciktirir. Lipit otooksidasyon oranını azaltan ikincil antioksidanların etkisi metal iyonlarını bağlama, oksijen yakalama, UV absorblama ve singlet oksijeni inaktif hale getirme şeklindedir. Etkili olabilmeleri için, genellikle metal iyonları, indirgenme ajanları, tokoferoller, veya diğer fenolikler gibi ikincil bir komponentin varlığına ihtiyaç duyarlar (Madhavi, 1996). İkincil oksidanlar antioksidan sinerjistleridir. Bu antioksidanların sinerjistik etkileri ortamda bulunan diğer birincil antioksidanlara bağılıdır. Ortamda primer antioksidanlar bulunmadığı durumda antioksidan aktiviteleri çok düşüktür veya antioksidan aktivite göstermezler. Örneğin askorbik asit, ortamda fenolik maddelerin bulunması ile sinerjistik etki gösterir (Hudson, 1990).

Antioksidan aktivitesi fiziksel faktörler, substrat faktörleri, gıda maddesinin fizikokimyasal durumu gibi çeşitli faktörlere bağılı olarak değişiklik gösterir. Fiziksel faktörler; oksijen, sıcaklık ve konsantrasyondur. Yüksek oksijen basıncı, oksijenle temas yüzeyinin genişliği, ısıtma ve ışınlama gibi durumlar zincir reaksiyonunun başlama ve yayılma basamaklarını hızlandırdığından antioksidan aktivite azalacaktır. Farklı sıcaklıklarda ise antioksidan aktivitesi değişiklik gösterir. Antioksidan aktivitesi konsantrasyonun yükselmesi ile artar. Oksidasyonun yeterli bir derecede engellenebilmesi için konsantrasyon belli bir kritik değerin üzerinde olmalıdır (Pokorny ve diğ., 2001).

2.1.2. Antioksidan Türleri

Antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Çoğu sentetik antioksidan fenolik yapıdadır. Antioksidan aktivitesi arasındaki farklılık kimyasal yapı ile alakalıdır. Ticari olarak mevcut olan ve günümüzde kullanılan sentetik antioksidanlar butillendirilmiş hidroksianisol (BHA), butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), tersiyerbutil hidrokinon (TBHQ) ve propil gallat (PG) dir. Doğal antioksidanlar, bitki ve hayvan dokularında bulunan ve ekstrakte edilebilen yada gıdanın işlenmesi sırasında açığa çıkan bileşenlerdir. En önemli doğal antioksidanlar, tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler, vitamin C, karotenoidler, polifenoller ve selenyumdur. Son zamanlarda gıda kimyası ve koruyucu tıbbın bitki kaynaklı doğal antioksidanlara karşı ilgisi artmaktadır. Bunu nedeni sentetik antioksidanların (BHA, BHT, gibi) kanserojen olduklarının düşünülmesidir (Madhavi, 1996).

2.1.3. Antioksidan Aktivitesi Ölçüm Yöntemleri

Antioksidanlarla ilgili yayımlanan bilimsel makalelere bakıldığında zaman zaman antioksidan kapasitesini tarif etmek için farklı araştırmacılar tarafından bir çok farklı terim kullanıldığı görülür. Toplam antioksidan kapasitesini içeren bu terimler, etkinlik, güç parametre, potansiyel ve aktivite gibi terimlerdir. Kimyasal aktivite spesifik reaksiyon koşullarındaki basınç, sıcaklık, reaksiyon ortamı gibi etkenlere bağlıdır. Bu nedenle antioksidan aktivitesi o reaksiyon koşullarındaki ölçümü yansıtır. Yukarıda belirtilen diğer terimler ise spesifik reaksiyondan daha bağımsızdır (Huang ve diğ., 2005). Antioksidan aktivitesi ise bir bileşenin oksidatif degradasyonu (örneğin; lipit peroksidasyonunu) önleme kabiliyeti olarak tanımlanır (Roginsky ve Lissi, 2005).

Günümüzde antioksidan aktivitesi ölçümleri için birçok farklı yöntem mevcuttur. Bu yöntemler genellikle serbest radikalleri içermektedir. Reaktan olarak kullanılan serbest radikalın özelliğine bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilebilmektedir (Prakash, 2001).

Gıda bileşimlerinin karmaşık yapısından dolayı her bir antioksidan bileşeni ayırmak ve özel olarak bu bileşenle çalışmak hem yeterince etkili değildir hem de oldukça

masraflı bir yöntemdir. Tüm bu nedenlerden ötürü, hızlı ve uygun bir antioksidan tayin yöntemi bulma çalışmaları oldukça önem kazanmıştır (Huang ve diğ., 2005).

Antioksidan aktivitesi analizleri için literatürde mevcut çalışmalara bakıldığında kullanılan radikal kaynağına, reaksiyon mekanizmasına vb özelliklere göre çeşitli gruplandırmalar görülmektedir.

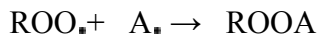
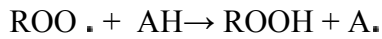
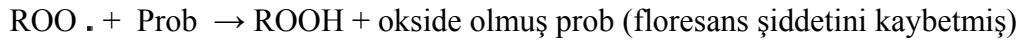
Başlıca antioksidan aktivitesi analizleri, kimyasal reaksiyon mekanizmasına göre kabaca iki kategoriye ayrılabilir.

1-Hidrojen Atom Transferine Dayanan Metot (HAT): Antioksidan kapasitesi (AOK), Serbest radikallerin antioksidan maddenin hidrojeni ile etkisiz hale gelmesinin ölçülmesi ile tayin edilir

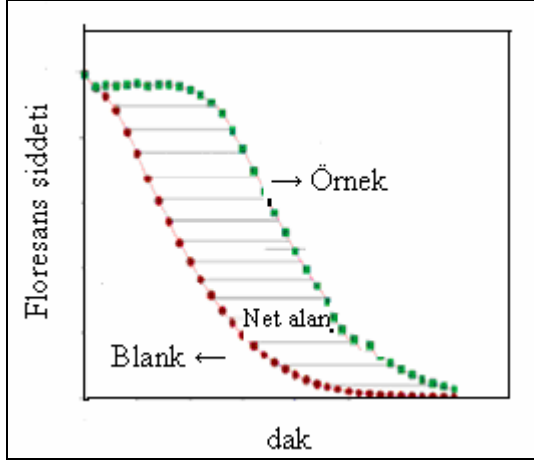
2- Singlet Elektron Transferine Dayanan Metot (SET): Potansiyel antioksidanların elektron transfer etmesi ile metal, karbonil ve radikal içeren bileşiklerin indirgenmesine dayanan metottur (Prior ve diğ., 2005).

2.1.3.1. ORAC: Oksijen Radikali Absorplama Aktivitesi (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Bu metot Cutler ve Cao tarafından geliştirilmiştir (Huang ve diğ., 2005). ORAC yönteminde oksidasyon sonucu oluşan peroksil radikallerinin, antioksidan madde tarafından inhibe edilmesi ölçülür. Klasik radikal zincir kırma reaksiyonlarından oluşur. Hidrojen atomu antioksidan madde tarafından radikale transfer edilir. Bu yöntemde AOK şöyle ölçülür: Peroksil radikalleri floresans bir madde (prob) ile reaksiyon vererek floresans özellikte olmayan bir ürün oluşturur. Floresans spektrofotometre ile miktar tayini yapılır. Antioksidan kapasitesi zamanla bu oluşan ürünün oranında ve miktarındaki azalma ile belirlenir (Prior ve diğ., 2005).



ORAC yönteminde antioksidan kapasitesi blank ve örnek arasındaki floresans şiddeti farkından (net alandan) yararlanarak hesaplanmaktadır. Şekil 2.1’de antioksidan aktivitesinin nasıl hesaplandığı gösterilmiştir.



Şekil 2.1: ORAC yöntemi ile antioksidan aktivitenin hesaplanması

ORAC metodu gıda ve fizyolojik sistemlerde peroksil radikalının kontrolünü sağlar. Metot çözgen ve radikal kaynağı değiştirilerek hidrofilik ve hidrofobik sistemlere uyarlanabilir. Ancak analiz süresinin uzun olması (yaklaşık 1saat) metot seçiminde sınırlayıcı etkenlerden biridir (Prior ve diğ., 2005).

2.1.3.2. TRAP: Toplam Radikal Kapanı Antioksidan Parametresi (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter)

Bu metot antioksidan maddenin, AAPH veya ABAP bileşeninden oluşan peroksil radikalleri ile prob madde arasındaki reaksiyona engel olmasına dayanır. Reaksiyon gözlemlenerek bileşenin antioksidan kabiliyeti belirlenir. Oksijen kaynağı olarak farklı metotlar kullanılabilir. R-phycoerythrin floresansı veya ABTS absorbansı reaksiyon prob maddesi olarak kullanılır (Prior ve diğ., 2005).

R-PE ve AAPH arasındaki reaksiyonun ilerlemesi florometrik olarak 495 ve 575 nm de izlenir (Huango ve diğ., 2005).

Antioksidan aktivitesi; zamanla antioksidanların tükenmesi yani okside olmuş prob maddenin görülme süresinin uzaması veya reaksiyon yüzdesinin azalması ile belirlenir. TRAP genellikle Troloksa tekabül eden süre ile karşılaştırılarak verilir. TRAP metodu glutathione, askorbik asit, tokoferol, beta karoten gibi enzimatik olmayan antioksidanları ölçtüğünden çoğunlukla serum ve plazmada in vivo olarak antioksidan kapasitesini ölçmek amacı ile kullanılır (Prior ve diğ., 2005).

2.1.3.3. TOCS: Toplam Oksidan Yakalama Aktivitesi (Total Oxidant Scavenging Capacity)

Bu metot hidroksil- peroksil ve peroksinitril radikallerine karşı antioksidan reaksiyonunun absorbans ölçümüne dayanır. Keto-&-methiobütrik asit (KMBA) substratı okside olarak etilen oluşturur. Oluşan etilen ise GC “head space” analizi ile belirlenir. Antioksidan kapasitesi ise; antioksidan maddenin etilen oluşumunu inhibe etmesi ile ölçülür. Burada kontrol reaksiyonuna karşı göreceli olarak antioksidan maddenin etilen oluşumunu inhibe etmesine bakılır (Prior ve diğ., 2005).

2.1.3.4. CL: Kemiluminesans (Chemiluminescence)

Bu metot radikal oksidanların işaretleyici bileşenlerle reaksiyon vererek uyarılmış duruma geçmesi ve böylelikle kemiluminesans ışığı yaymasına dayanır. Başlatıcı radikallerle reaksiyona giren herhangi bir molekül ışık oluşumunu engeller. Antioksidan kapasite ışık emisyonunun zamanla azalmasına dayanılarak ölçülür. kemiluminesans çok düşük emisyon şiddeti ile karakterize edilir. İşaretleyici olarak ise en yaygın olarak kullanılan bileşik luminoldür (Prior ve diğ., 2005).

2.1.3.5. Krosin veya Beta Karoten Ağartma Metodu (Crocine or β -karotene Bleaching Method)

Beta karoten renk kaybı, linoleik asitin ısı etkisi ile otooksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitlerin meydana getirdiği bir serbest radikal reaksiyonudur. Bu yöntemde, linoleik asit, β karoten ve antioksidan içeren bir sistem oluşturulur. Isı veya ışık etkisi ile oksidasyon yada otooksidasyona uğrayan karotenoidlerin renginde ağarma gözlenir. Oksidasyon sonucunda peroksil radikali oluşur. Bu sistemdeki β karotenin oksidatif yıkımı sonucu oluşan renk kaybı kolorimetrik olarak 470 nm de ölçülür. Karotenodilerdeki bu renk açılması antioksidan maddenin hidrojeninin, radikali yakalaması ile azalabilir yada önlenir (Prior ve diğ., 2005; Hudson, 1990).

Çoğunlukla hedef olarak β -karoten kullanılmasına karşın 470 nm de β -karoten dekarolizasyonu bir çok aşamadan geçtiğinden sonuçların yorumlanması komplike olabilir. Buna karşın Krosin doğrudan reaksiyona girer ve sadece radikal oksidasyonu ile dekarolize olur. Bu nedenle reaktant olarak β -karoten'e tercih edilebilir (Prior ve diğ., 2005).

Krosin'in serbest radikal oluşturucu AAPH tarafından rengi açılır. Antioksidan madde ise serbest radikal ile reaksiyona girerek bu renk değişimini engeller.

Reaksiyonun ilerleyişi UV-Vis spektrofotometre ile 443 nm de izlenir (Huang ve diğ., 2005).



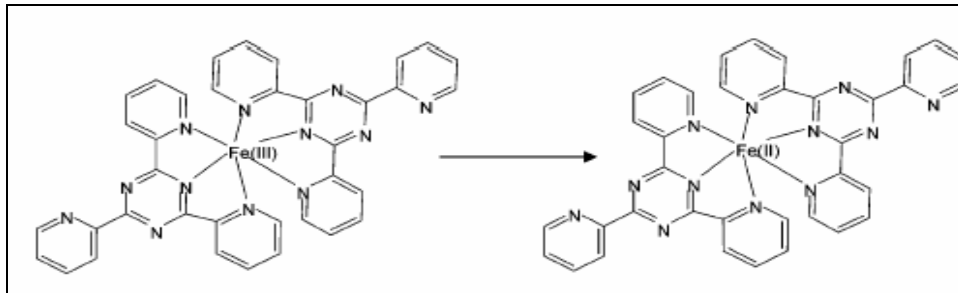
2.1.3.6. LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Oksidasyonu (Low Density Lipoprotein Oksidasyonu)

Antioksidan ölçümü için LDL nin ex vivo (canlı dışında) oksidasyonunu ölçmeye dayanan, bu metot linoleik asit veya LDL otooksidasyonunu Cu(II) veya azo bir başlatıcı ile suni olarak azaltılmasını ölçer (Huang ve diğ., 2005). Aynı zamanda LDL oksidasyonu uygulamaları ile fizyolojik sistemlerdeki antioksidan kapasitesi hakkında değer biçilebilir. Bu metotda görülen oksidatif reaksiyonlar canlıda görülen oksidatif reaksiyonlarla ilişkilidir (Prior ve diğ., 2005).

Otooksidasyon 234 nm de UV absorbansı ile izlenir (Linoleik asit oksidasyonu ile oluşan konjuge dien peroksitler 234 nm de maksimum absorbansa sahiptir) (Huang ve diğ., 2005).

2.1.3.7. FRAP: Demir (III) İndirgeyici Antioksidan Aktivite (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Bu metotda Fe(III) tripiridiltiazin (TPTZ) kompleksinin antioksidanlar varlığında renkli Fe(II) şelatına indirgenmesinden yararlanmaktadır (Şekil 2.2) (Apak, 2005). Reaksiyon bileşenleri 0-7 V redoks potansiyelde dedekte edilir. 0.7 V = (Fe+3-TPTZ redoks potansiyeli) (Prior ve diğ., 2005).

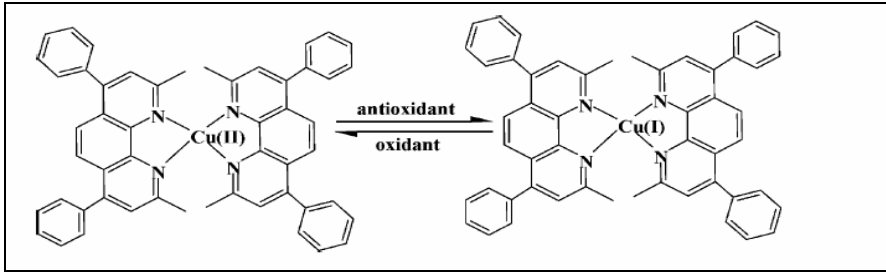


Şekil 2.2: Fe(III)- TPTZ + indirgen antioksidan $\longrightarrow$ Fe(II) – TPTZ (595 nm de şiddetli mavi renk)

Reaksiyon süresi kısadır (yaklaşık olarak 4 dk) ancak bazı polifenoller daha yavaş reaksiyon verebilirler. FRAP sadece ferrik iyonları indirgeyebilen maddeleri ölçer. (Prior ve diğ., 2005).

2.1.3.8. CUPRAC: Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Aktivitesi

FRAP metodunda kullanılan demir yerine burada bakır metali kullanılır. Bu metot antioksidan maddenin Cu(II)'yi Cu (I)'e indirgemesine dayanır (Şekil 2.3) (Prior ve diğ., 2005).



Şekil 2.3: Cu(II)'nin antioksidan madde ile Cu (I)'e indirgemesi

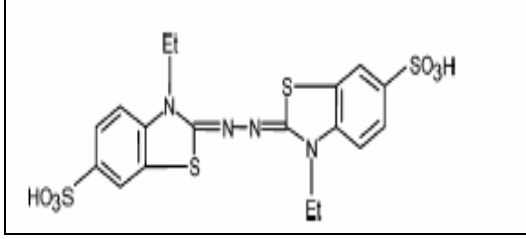
Bathocuprione ve Neocuproine Cu(I) ile 2:1 oranında birleşerek renkli bir kompleks oluşturur. Bathocuprione (2,9-dimetyl-4,7-diphenyl-1,10 phenanthroline) ve Cu (I) ile 490 nm de gözlenen bir kromofor oluşturur. Neocuproine (2,9-dimethyl-1,10 phenanthroline) de 450 nm de gözlenen bir kromofor absorbans ölçülür (Prior ve diğ., 2005). Metodun en önemli avantajlarından biri fizyolojik pH lara yakın olan pH=7 ortamında yürütülmesi dolayısı ile fizyolojik koşulları yansıtmaya olasılığının daha fazla olmasıdır (Apak, 2005).

2.1.3.9. TEAC veya ABTS Metodu

TEAC analizi ilk olarak Miller ve Rice-Evans tarafından 1993 te rapor edilmiştir. Daha sonraları ise bu metot geliştirilmiştir (Huang ve diğ., 2005).

Bu metotta ABTS [2,2'-azonobis(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonat)] peroksil veya diğer oksidanlara okside olur ve ABTS'+ radikal katyonu oluşur. Oluşan ABTS radikal katyonu oldukça şiddetli bir renge sahiptir. Antioksidan kapasite, test bileşeninin ABTS'+ radikal katyonu ile direkt olarak reaksiyona girmesi ile renk şiddetindeki azalma ölçülerek belirlenir (Prior ve diğ., 2005). 1 mM deneysel örneğin absorbansta yaptığı değişim kadar değişim yapan Troloks konsantrasyonu

TEAC (Troloks eşdeğer antioksidan kapasite) değeri olarak tanımlanmaktadır (Huang ve diğ., 2005).



Şekil 2.4: ABTS' nin kimyasal yapısı

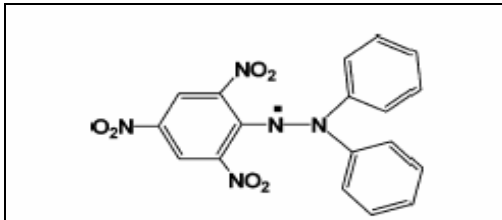
ABTS^{•+} radikal katyonundaki azalma denklem 2.1'de verilmiştir (Wettasinghe ve diğ., 2002).

$$\% \text{ABTS}^{\bullet+} \text{ azalması} = [(Abs_{\text{başlangıç}} - Abs_{\text{son}}) / Abs_{\text{başlangıç}}] \times 100 \quad (2.1)$$

ABTS^{•+} radikal katyonu 415, 645, 734, 815 nm de maksimum absorpsiyona sahiptir. Bunlardan 415 ve 734 nm bir çok araştırmacı tarafından ABTS^{•+} radikal katyonu ve antioksidan arasındaki reaksiyonu spektrofotometrik olarak gözlemlemek için seçilmiştir (Prior ve diğ., 2005). TEAC yöntemi kullanılması basit ve kolay ve hızlı olduğundan bir çok labaratuarda AOK tayininde sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir (Huang ve diğ., 2005).

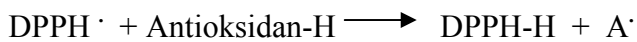
2.1.3.10. DPPH Metodu

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal yakalama yönteminde, kararlı ve sentetik bir radikal olan DPPH kullanılır ve antioksidanın bu serbest radikali yakalama yeteneği ölçülerek antioksidan aktivite tanımlanır (Pokorny ve diğ., 2001)



Şekil 2.5: DPPH radikalinin kimyasal yapısı

Antioksidan-DPPH radikali reaksiyon mekanizması aşağıda olduğu gibidir.



DPPH, koyu mor renkte bir radikaldır. Antioksidandan bir proton alarak renksiz α, α -difenil- β -pikrilhidrazil molekülüne dönüşür. Antioksidan madde tarafından indirgenmesi sonucu rengi açılır. En yaygın olarak kullanılan dekolarizasyon test metodu 515-517 nm de DPPH'in antioksidan madde ile reaksiyonunun absorbansının ölçülmesidir (Pokorny ve diğ., 2001; Huang ve diğ., 2005).

DPPH analizinde genellikle belirli miktarda DPPH çözeltisi ve örnek çözeltisi karıştırıldıktan 30 dk yada absorbans sabit oluncaya kadar geçen süre sonra 515 nm de absorbans okunur. İndirgenme reaksiyonu boyunca çözeltinin rengi solmaya devam eder (Huang ve diğ., 2005).

Kalan DPPH'in hesaplanması denklem 2.2'de verilmiştir.

$$\%DPPH \text{ kalan} = 100 \times [DPPH'] / [DPPH'] t_0 \quad (2.2)$$

Kalan DPPH' antioksidan konsantrasyonu ile orantılıdır ve başlangıç DPPH konsantrasyonunun yarıya indiği durumdaki antioksidan konsantrasyonu EC₅₀ olarak verilir DPPH metodu basit ve hızlı olduğundan antioksidan aktivitesi belirlemede sıklıkla kullanılır (Prior ve diğ., 2005).

2.1.3.11. İndirgeme Potansiyeli Metodu

Serbest radikalleri yakalama aktivitesi esasına dayanan diğer yöntemlerden biri olan indirgeme potansiyeli metodunda yüksek absorbans, yüksek indirgeme potansiyelini gösterir. Bu metotta antioksidan maddenin indirgeme gücüne bağlı olarak antioksidan aktivite belirlenir. Potasyum ferrisiyanid [K₃Fe(CN)₆] maddesindeki Fe(III) iyonlarının antioksidan reaksiyon sistemi içerisinde Fe(II) iyonlarına indirgenmesi 700 nm de ölçülerek antioksidan aktivite belirlenir. Yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme potansiyelini gösterir. Sonuçlar askorbik asit eşdeğeri olarak verilir (Mathew ve Abraham, 2006).

2.1.3.12. Linoleik Asit Emülsiyonu veya Demir-Tiyosiyanat Metodu

Oksijenin alkil radikallerle reaksiyonu sonucu oluşan peroksil radikalının oldukça iyi bir oksidasyon ajanı olduğu bilinmektedir. Bu radikal düşük redüksiyon potansiyeli sayesinde hidrojeni diğer moleküllerden çeker ve reaksiyon genellikle lipit peroksidasyonunun ilerleme safhasında görülür. Hücre membranları ise lipit peroksidasyonunun direkt hedefidir. Linoleik asit emülsiyonuna karşı antioksidan

özelliği gösteren maddeler lipit peroksidasyonunu belirli oranlarda inhibe edebilmektedirler (Siddhuraju ve Becker, 2006).

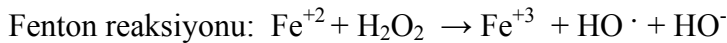
Bu metot ile linoleik asitin antioksidan madde varlığında ve antioksidan madde olmadığı durumda okside olma derecesi belirlenerek antioksidan aktivitesi ölçülür. Linoleik asit ve antioksidan madde içeren bir sistem oluşturulur ve antioksidan maddenin lipit peroksidasyonunu inhibe etme derecesi (LPI) antioksidan aktivitesinin bir göstergesi olarak kabul edilir.

Lipit peroksidasyonunu inhibe etme yüzdesi denklem 2.3’de verilmiştir (Mathew ve Abraham, 2006).

$$\%LPI = 100 - [Ab_{\text{örnek}} / Ab_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (2.3)$$

2.1.3.13. Metal Şelatlama Aktivitesi

Yaşamamız için temel elementlerden biri olan demir, aynı zamanda lipit, protein ve diğer bileşenlerle istenmeyen oksidatif reaksiyonlara neden olabilmektedir. Ayrıca demir fenton reaksiyonları sonucunda serbest radikal oluşturma kabiliyetindedir. Bu nedenle Fenton reaksiyonlarındaki Fe^{+2} konsantrasyonunun azalması ile oksidatif hasara karşı koruyucu etki görülmektedir (Rival ve diğ., 2001). Geçiş metalleri içerisinde Fe^{+2} iyonlarının yüksek reaktivitesinden dolayı lipit oksidasyonuna yol açan en önemli pro-oksidan olduğu bilinmektedir (Gülçin, 2005).



Metal şelatlama özelliği olan antioksidan maddeler serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirirler ve böylece fenton reaksiyonları sonucu oluşan hidroksil ve peroksit gibi radikal oluşumunu inhibe ederler. Bu nedenle metal şelatlama özelliği antioksidan aktiviteyi belirlemede önemli rol oynamaktadır (Arora ve diğ., 1998).

Bir başka deyişle, metal şelatlama aktivitesi, ortamda bulunan Fe^{2+} iyonlarının inhibisyonuna dayanır. Aktivite kendini şelat ajanlarının demir iyonlarını şelatlaması sonucu kırmızı renkteki azalmayla gösterir. Metal şelatlama aktivitesi lipit peroksidasyonundaki katalize olmuş geçiş metallerini indirgediği için önem taşımaktadır. Şelatlama ajanları redoks potansiyelini indirgeyerek metal iyonlarının oksidasyonunu stabilize edebilirler. Bu nedenle şelatlama ajanları ikincil

antioksidanlardır. Yüzde şelatlama aktivitesi denklem 2.4’de verilmiştir (Mathew ve Abraham, 2006).

$$\% \text{ Şelatlama Aktivitesi} = [1 - \text{Ab}_{\text{örnek}} / \text{Ab}_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (2.4)$$

2.1.3.14. Folin Ciocalteu (FC) Metodu: Toplam Fenol Metodu

Gıdaların içeriğinde bulunan toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi, antioksidan aktiviteyi sağlayan hidroksil grupları hakkında fikir vermesi açısından önemlidir. FC metodu doğal ürünlerde toplam fenolik madde ölçümü için kullanılmaktadır. Ancak aynı zamanda temel mekanizma oksidasyon redüksiyon reaksiyonlarına dayandığı için diğer bir AOK metotlarından biri olarak kullanılabilir. Genellikle toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitesi arasında oldukça iyi bir lineer korelasyon görülür (Huang ve diğ., 2005; Prior ve diğ., 2005).

FC reaktantı ile fenolik maddelerin okside olması sonucu 745-765 nm de gözlenebilen renkli bir ürün oluşur (Prior ve diğ., 2005).

Fenolik olmayan maddeler tarafından da indirgenebilen FC reaktantı sadece fenoliklere karşı spesifik değildir. Fenolik bileşenler FCR ile bazı şartlar altında reaksiyon verirler sodyum karbonat ile pH yaklaşık 10’ a ayarlanır. Fenolik protonların disosiyasyonu ile fenolat anyonu oluşur ve buda FCR yi indirgeyebilme özelliğine sahiptir. Fenolat anyonu ve FCR reaksiyonundan oluşan mavi renkli bileşen fenolik maddenin yapısından bağımsızdır (Huang ve diğ., 2005).

Bu metot basit, duyarlı ve kesinliği yüksek bir metottur. Ancak reaksiyon asidik pH ta yavaştır ve spesifikliğini kaybeder. Metodun en önemli dezavantajı, ortamda bulunan ekstrakte edilebilir proteinleri de ekstrakte etmesidir. Bu nedenle spesifik bir metot olarak kabul edilmemektedir. Ayrıca metodun diğer bir dezavantajı da analiz sırasında ortamda bulunan askorbik asit gibi indirgen maddelerle etkileşime uğramasıdır (Huang ve diğ., 2005).

Fenol referans standartı olarak gallik asit kullanılır. Fakat bazı kaynaklarda farklı standartlara da rastlanmıştır (Prior ve diğ., 2005).

Burada bahsedilen yöntemlerden farklı olarak hidrojen peroksit yakalama, hidroksil radikali yakalama, süper oksit anyon yakalama gibi yöntemlerde mevcuttur (Prior ve diğ., 2005).

Standart bir analizin eksikliğinden dolayı, farklı araştırma grupları tarafından rapor edilen sonuçları karşılaştırmak zordur. En önemli problem gıdalardaki ve biyolojik örneklerdeki antioksidan aktiviteyi güvenilir şekilde ölçen analiz metodlarının validasyon eksikliğidir (Huang ve diğ., 2005; Prior ve diğ., 2005).

Antioksidan aktivitesi ölçüm metodlarını standartlaştırmak anlamlı karşılaştırmalar yapabilmek açısından oldukça önemlidir.

Standartlaştırılmış bir metod;

- 1- Potansiyel uygulamalardaki kimyasal olayları önlemelidir.
- 2- Biyolojik olarak alakalı bir radikal kaynağı içermelidir.
- 3- Basit olmalıdır.
- 4- Metot belirli bir son nokta ve kimyasal mekanizmaya sahip olmalıdır.
- 5- Enstrümanlar kolaylıkla temin edilebilmelidir.
- 6- Tekrarlanabilirlik iyi olmalıdır.
- 7- Metot farklı radikal kaynağı kullanılarak lipofilik ve hidrofilik antioksidanlara uyarlanabilmelidir (Prior ve diğ., 2005).

Tablo 2.1: Literatürde mevcut bazı antioksidan kapasitesi ölçüm yöntemlerinin çeşitli özelliklerine göre sınıflandırılması (Huang ve diğ., 2005; Roginsky ve Lissi, 2005; Prior ve diğ., 2005).

Yöntem	Radikal kaynağı	Biyolojik ilgisi	Reaksiyon mekanizması	Ölçüm prensibi	Gerekli cihaz
ORAC	Peroksil (ROO [•])	Direkt	HAT	Peroksil radikalleri floresans bir madde ile reaksiyona girerek floresans olmayan bir madde oluşturur. Antioksidan maddenin peroksil radikalini inhibe etmesi sonucu bu maddedeki azalma miktarı floresans şiddetine bakılarak ölçülür	Floresans spektrofotometre LC-MS
TRAP	Peroksil (ROO [•])	Direkt	HAT	Peroksil radikalinin antioksidan madde tarafından inhibe edilmesi optik olarak yada floresans şiddetine bakılarak ölçülür	Floresans spektrofotometre
TOCS	Hidroksil, peroksil, peroksinitril	Direkt	HAT	KMBA substratı radikal madde ile etilen oluştur. Antioksidan madde radikal ile reaksiyona girerek etilen oluşumunda değişikliğe yol açar. Etilen inhibasyonu ölçülür	GC Head space
CL	Peroksil (ROO [•])	Direkt	HAT	Radikal maddenin işaretleyici bileşenlerle verdiği CL emisyon şiddetinin antioksidan madde tarafından azaltılması ölçülür	CL dedektör

PCL	Süper oksit ($O_2^{\cdot-}$)	Direkt	Belirtilmemiş	Süperoksit radikali fotokimyasal olarak oluşturulur ve CL ile kombine edildikten sonra antioksidan madde tarafından CL emisyon şiddetinin azaltılması ölçülür	Photo sensitizer CL dedektör
Beta karoten veya Krosin ağartma	Peroksil ($ROO^{\cdot}$)	Direkt	HAT	Radikal madde ile β karoten reaksiyonu sonucunda renk açılması gözlenir. Antioksidan madde radikal ile reaksiyona girerek bu renk açılmasını engeller ve 470 nm de β karoten veya 443 nm de krosin absorpsiyonundaki değişim ölçülür	UV-Vis spektrofotometre
LDL oksidasyonu	Peroksil ($ROO^{\cdot}$)	Direkt	HAT	Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan konjuge dien yada peroksitler 234 nm de ölçülür	UV-Vis spektrofotometre
FRAP	-	Dolaylı	SET	0.7 V redoks potansiyelde Ferrik TPTZ'nin indirgenmesi ile reaksiyon bileşenleri ölçülür İngirgenme sonucu oluşan renkli ürün spektrofotometrik olarak ölçülür. Polifenoller 593 nm de ölçülür	UV-Vis spektrofotometre
CUPRAC	-	Dolaylı	SET	Cu (II) nin antioksidan madde ile indirgenmesi sonucu oluşan Cu(I)in bathocuproine veya neocuproine ile oluşturduğu kromoforun absorpsiyonu ölçülür. Bathocuproine-Cu kompleksi 490 nm de Neocuproine-Cu kompleksi 450 nm de ölçülür	UV-Vis spektrofotometre
TEAC veya ABTS	ABTS $^{\cdot+}$	Dolaylı	SET&HAT	Antioksidan madde ile reaksiyonu sonucu ABTS $^{\cdot+}$ radikalinin renk şiddetinin azalması 415,645, 734, 815 nm lerin birinde ölçülür.	UV-Vis spektrofotometre
DPPH	DPPH $^{\cdot}$	Dolaylı	SET&HAT	Antioksidan maddenin DPPH radikalini indirgemesi ile DPPH renk şiddetindeki azalma 515-517 nm de ölçülür.	ESR yada UV-Vis Spektrofotometre
H ₂ O ₂ yakalama	H ₂ O ₂	Direkt	Belirtilmemiş	Antioksidan madde tarafından hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) oksidasyonunun engellenmesi ölçülür	UV-Vis spektrofotometre
HO $^{\cdot}$ yakalama	HO $^{\cdot}$	Direkt	Belirtilmemiş	H ₂ O ₂ nin fenton reaksiyonları sonucunda oluşturduğu hidroksil (HO $^{\cdot}$)radikalinin antioksidan madde tarafından yakalanması ölçülür	UV-Vis spektrofotometre
O ₂ $^{\cdot-}$ yakalama	O ₂ $^{\cdot-}$	Direkt	Belirtilmemiş	Süperoksit (O ₂ $^{\cdot-}$) radikalinin enzimatik antioksidanlar tarafından yakalanması ölçülür	UV-Vis spektrofotometre

2.2. Fenolik Maddeler

Fenolik bileşikler bitkinin normal gelişimi sırasında sentez edilen ikincil metabolitlerdir. Fenolik maddeler; genellikle bir veya birden fazla hidroksil grup içeren bir aromatik halkaya sahip, farklı yapı ve fonksiyonlardaki metabolitlerdir (Naczki ve Shahidi, 2004; Robards ve diğ., 1999). Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler en sıklıkla meyvelerde gözükmekle birlikte meyvenin çeşidine bağlı olarak farklılıklar söz konusudur. Ayrıca aynı meyve türünde; büyüme mevsimi, cins, çevresel ve iklimsel koşullar, bitki hastalıkları, toprak çeşidi, coğrafik bölge, olgunluk gibi etkenler fenolik bileşik içeriğini etkilemektedir (Sellapan ve diğ., 2002).

Gıdalarda bulunan fenolik maddeler; renk, acılık, burukluk, tat, koku ve ürünün oksidatif stabilitesine etki edebilmektedir (Naczki ve Shahidi, 2004). Besinsel fonksiyonu olmamasına rağmen gıdalardaki fenoliklerin sağlık üzerine olumlu etkileri vardır. Flavonoidler ve diğer bitki polifenoller yüksek redoks potansiyelleri ile önemli antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkileri serbest radikalleri bağlamaları, metallerle şelat oluşturmaları, bazı enzimleri inaktive etmeleriyle açıklanmaktadır (Yang ve Tsao, 2003).

Doğal olarak oluşan fenolik maddelerin en yaygın grubu flavonoidlerdir. Flavonoidlerin dışında bitki fenoller; basit fenoller, fenolik asitleri (benzoik ve sinamik asitler), kumarinleri, stilbenleri, hidrolize ve kondense tanenleri, lignan ve ligninleri içermektedir (Naczki ve Shahidi, 2004).

Fenolik maddeler, bitkilerde homojen olarak dağılmamaktadır. Suda çözünmeyen fenolikler hücre duvarının bileşeni iken, suda çözünenler bitki hücresinin içinde yer alırlar. Bitkisel dokuda bitkinin dış tabakası iç tabakadan daha fazla fenolik madde içermektedir. Lignin ve hidroksi sinamik asitler gibi hücre duvarında bulunanlar, çeşitli hücresel bileşenlerle bağlantılıdır. Bu maddeler; hücre duvarının mekanik gücüne katkıda bulunur ve bitki gelişiminde düzenleyici rol oynarlar (Naczki ve Shahidi, 2004).

Tablo 2.2: Bazı meyve ve sebzelerin başlıca fenolik madde içerikleri

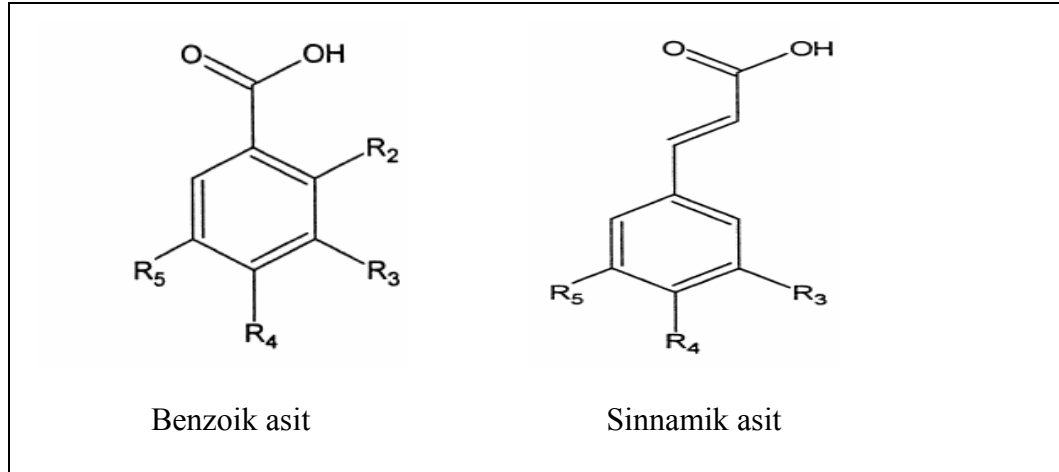
Meyve	Fenolik madde	Kaynak
Turunçgiller	Sinamik asit, kumarin, hesperidin, naringin, neohesperitin, eriositrin	(Ortuno ve diğ., 1997; Naidu ve diğ., 2000)
Elma	Kafeik asit, p-kumarik asit, kuersetin, klorojenik asit, dihidrokalkonlar, floretin, epikateşin	(Naidu ve diğ., 2000; Salces ve diğ., 2001; Uzelac ve diğ., 2005; Karadeniz, 1994)
Armut	p-kumarik asit, kuersetin, lökoantosiyonidin, proantosiyonidin, klorojenik asit, epikateşin	(Schieber, ve diğ., 2001; Tanrıöven, 1997)
Böğürtlen	Elajik asit, gallik asit, kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit, siyanidin-3-glikozit	(Sellappan ve diğ., 2002)
Üzüm	Mirisetin, kuersetin, kaempferol, isohamretinin siyanidin, delphinidin, petunudin, malvidin, rutin	(Lee ve diğ., 2004; Naidu ve diğ., 2000; Espada ve diğ., 2004).
Çilek	Elajik asit, Siyanidin-3-glikozit, pelargonidin-3-glikozit, hidroksisinnamik asit, hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, kuersetin, kaempferol	(Seram ve diğ., 2004; Hakinen ve Törrönen, 2000)
Kiraz	Neoklorojenik asit, hidroksisinnamik asit, hidroksibenzoik asit, p- kumarilkuinik asit, klorojenik asit	(Gonçalves ve diğ., 2004)
Erik	hidroksisinnamik asit, neoklorojenik asit, klorojenik asit, rutinozid glikozitleri	(Kim ve diğ., 2003)
Nar	Elajik asit, delphinidin, pelargonidin, siyanidin, hidrolize taninler, punicalagin, kateşin, epikateşin, gallokateşin	(Amakura ve diğ., 2000; Noda ve diğ., 2002; Gil ve diğ., 2000; de Pascual-Teresa ve diğ., 2000)
Havuç	Hidroksisinnamik asit türevleri, P- hidroksibenzoik asit, şirinjik asit, kafeik asit, isoklorojenik asit, klorojenik asit,	(Babic ve diğ., 1993; Alasalvar et al., 2001)
Domates	Kuersetin	(Dewanto ve diğ., 2002; Stewart ve diğ., 2004)

2.2.1. Fenolik Asitler

Fenolik asitler; sinamik ve benzoik asitler olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır. Fenol karbon asitleri ile de anılan fenolik asitlerden sinamik asitlerin yapısı C6-C3 iskeletine dayanmaktadır. Meyvelerde en fazla görülen sinamik asitler, kafeik asit, kumarik asit ve ferulik asittir. Sinamik asitler meyvelerde esterleşmiş halde de bulunabilmektedir. Kafeik asitin kuinik asit ile yaptığı ester olan klorojenik asit en yaygın görülen sinamik asit türüdür (Belitz ve diğ 2002; Naczki ve Shahidi, 2004).

Benzoik asitler ise C6-C1 iskeletine dayalı bileşiklerdir. Meyvelerde benzoik asit türevleri genellikle ester halinde bulunur. En önemli benzoik asit türevleri, salisilik asit (2-hidroksibenzoik asit), p-hidroksibenzoik asit (4-hidroksibenzoik asit),

protokateşik asit (3,4-dihidroksibenzoik asit), vanilik asit (3-metoksi-4-hidroksibenzoik asit), gallik asit (3-4-5-trihidroksibenzoik asit) dir. Şekil 2.6’da benzoik asit ve sinnamik asit iskelet yapısı gösteren fenolik maddelerin temel kimyasal yapısı gösterilmiştir (Belitz ve diğ; Naczk ve Shaidi, 2004).



Şekil 2.6: Fenolik asitlerin temel kimyasal yapısı

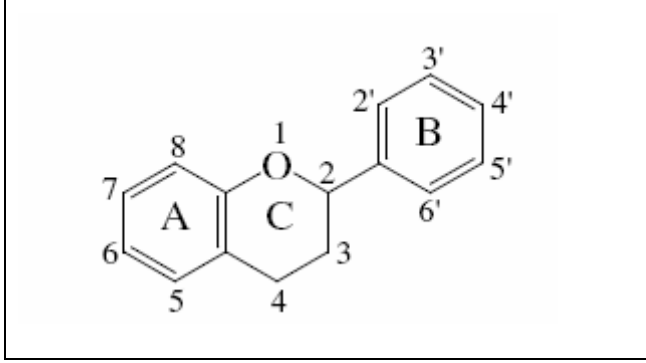
Lifli materyaller zengin bir flavon ve fenolik asit kaynağıdır. kumarik asit ve ferulik asit gibi bazı yaygın fenolikler düşük antioksidan aktivitesi göstermelerine rağmen kafeik asit ve klorojenik asit gibi moleküllerinde daha fazla fenolik hidroksil taşıyan maddelerde antioksidan aktivitesi daha yüksektir. Gallik asit ve esterleri ise bilinen en iyi güçlü antioksidanlardır (Hudson, 1990).

2.2.2. Flavonoidler

Flavon ismi Latince flavus (sarı) kelimesinden gelmektedir. Bitkilerden elde edilen ve genellikle sarı renkli olan bu bileşikler “flavonoid” olarak isimlendirilmiştir. Günümüze kadar yapılan çalışmaların sonucunda bitkilerden 4000’den fazla flavonoid izole edilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Hepsi antioksidan aktivite göstermekte ve bunlardan yaklaşık 50 tanesi gıdalarda bulunmaktadır. Çoğu flavonoid polifenolik bitki pigmentidir ve meyve ve sebzelere kırmızı, turuncu, sarı, mavi ve mor renk verirler. Bilinen flavonoidlerden yeşil çayda bulunan EGCG (epigallocateşin gallat) en umut vaad edici antikansorejen maddelerden biridir (Naczk ve Shahidi, 2004).

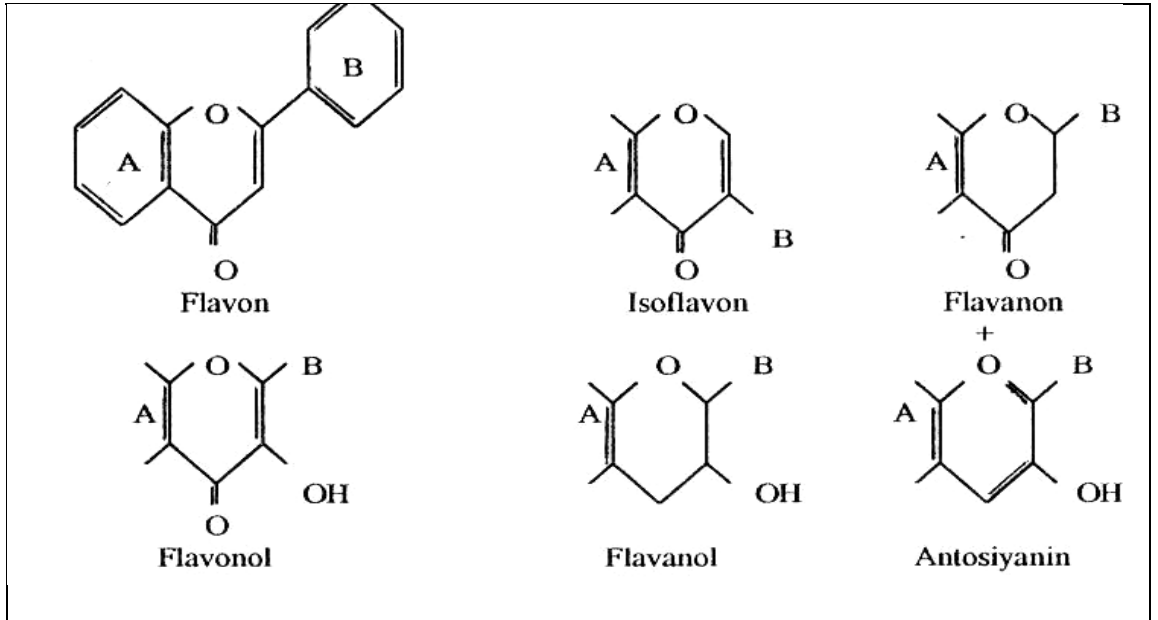
2.2.2.1. Flavonoidlerin Yapı Özellikleri ve Sınıflandırılması

Genellikle tüm flavonoidler; üç fenolik halkaya sahip ve hidroksil ile metil grubuna göre değişen 2-fenilkromonun türevleridirler. Kimyasal yapıları (C₆-C₃-C₆) iskelet yapısına dayanır (Şekil 2.7). (Madhavi, 1996; Shahidi, 1997).



Şekil 2.7: Flavonoidlerin C₆-C₃-C₆ iskelet yapısı

C halkasındaki sübsitüye gruplara ve B halkasının pozisyonuna bağlı olarak flavonoidler çeşitli alt gruplara sınıflandırılmıştır Doğal olarak meydana gelen flavonoidler, kimyasal yapılarına göre altı gruba ayrılabilirler; flavanon, flavonlar, izoflavonoidler, flavanlar (flavanoller), antosiyaninler ve flavonoller (Şekil 2.8) (Madhavi, 1996; Peterson ve Dwyer, 1998).



Şekil 2.8: Flavonoid alt gruplarının temel yapısı

Pratt ve Hudson bu bileşenlerin genel mekanizmalarını incelemiş ve yapı ve antioksidan aktivitesi arasındaki ilişkiyi gözlemişlerdir. Flavonoidlerin antioksidan aktivitesi genellikle üç türlü olmaktadır. Flavonoidler ya birincil antioksidan olarak,

ya da şelatlayıcı olarak ya da süperoksit anyon yakalayıcısı olarak serbest radikallerin etkisini giderirler. B halkasındaki 3'-4'-5' pozisyonlarındaki hidroksil grupların varlığı tek hidroksil içeren gruplara kıyasla antioksidan aktiviteyi arttırmaktadır. Aynı zamanda C halkasındaki 3- hidroksil grupları ve 2-3 çift bağlar antioksidan özellik üzerinde etki yapmaktadır (Madhavi, 1996).

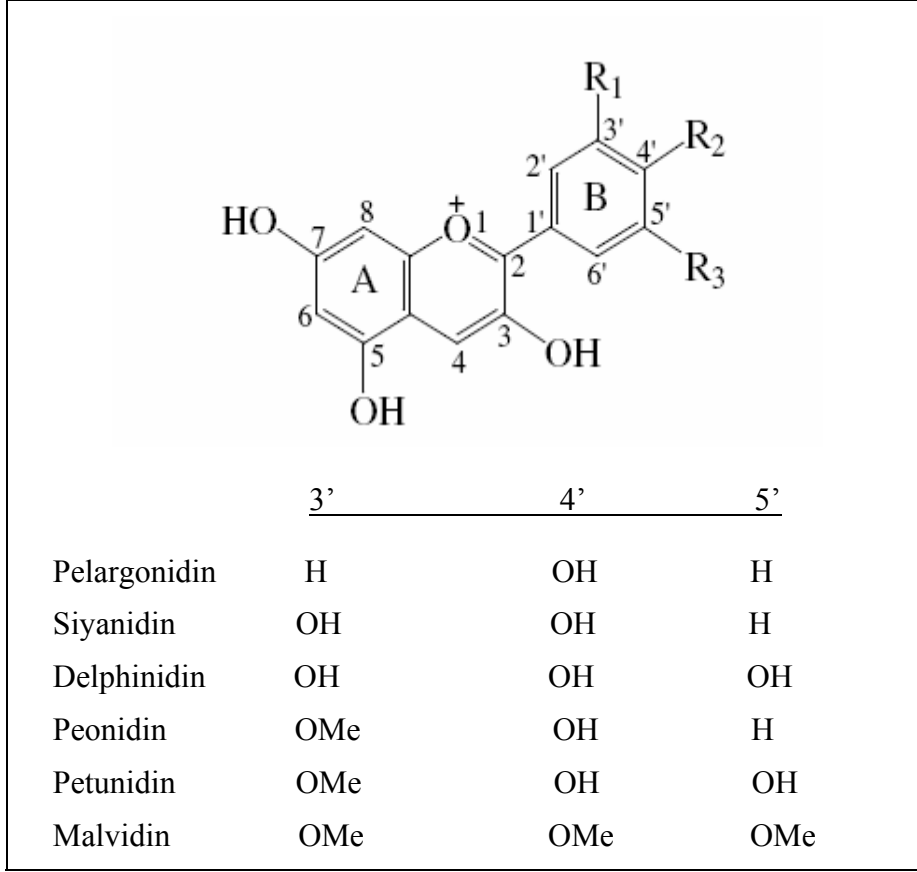
Flavonoidlerin yapı çeşitliliği, difenilpropan iskeletinin (C6-C3-C6) farklı yapılarda düzenlenme özelliğinin yanı sıra, her sınıf içinde, molekülün aromatik halkalarına bağlanan sübsitüent sayısı, özelliği ve bağlanma pozisyonlarına göre ortaya çıkar. Hidroksil grupları, flavonoid yapılarında bulunan en yaygın sübstitüentlerdir. Doğal flavonoidlerin yapısında en fazla yedi hidroksil grubunun bulunduğu bilinmektedir. Flavonoidlerin yapısındaki hidroksil grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla alkilenir veya glikozillenirler. Bu nedenle, flavonoidlerin metoksi ve glikozil türevlerine bitkilerde sıkça rastlanır (Çıkrıkçı, 2005).

2.2.2.2. Antosiyaninler

Antosiyaninler üzüm, çilek, kiraz, vişne gibi meyvelere rengini veren (kırmızı, mor, pembe, mavi) ayrıca çeşitli çiçekler ve bitki köklerinde de bulunan, en iyi doğal renklendiricilerdir. (Çalıklı, 2003; Villers ve diğ; 2004).

Antosiyaninlerin yapısında heterosiklik bir halka olan pirilyum katyonu bulunmaktadır. Pirilyum ise yapısında pozitif yüklü bir oksijen bulunan bir oksonyum iyonudur. Antosiyaninler bu eksik elektrondan ötürü oldukça aktif niteliktedir. Antosiyaninler kimyasal olarak 2-fenilbenzopirilin'in polihidroksi ve polimetoksi türevlerinden oluşan glikozitlerdir. Bu yapı, şeker gruplarının (mono-di-tri sakkaritler), şeker olmayan (aglikon) maddelerle birleşmesi ile oluşmaktadır. Antosiyaninlerin şeker olmayan kısmı, fenolik maddelerden antosiyanidinler (C6-C3-C6) olarak adlandırılmaktadır. Her bir antosiyanidin farklı şeker yada asitlerle, farklı pozisyonlarda bağlanması ile çok sayıda antosiyanin oluşabilmektedir. (Jamet ve Ebeling, 2002; Çalıklı, 2003).

Dephinidin, siyanidin, pelargonidin, malvidin, peonidin ve petunidin bilinen en yaygın antosiyanidin türleridir. Şekil 2.9'da 6 temel antosiyaninin kimyasal yapısı gösterilmiştir (Nacz ve Shahidi, 2004).



Şekil 2.9: Altı temel antosiyaninin kimyasal yapısı

Doğada antosiyaninler antosiyanidinlerin glikozitleri halinde bulunmaktadır ve bu glikozit yapıya bağlı aromatik veya alifatik asitler bulunabilir. P-kumarik asit, kafeik asit, ferulik, sinapik asit, gallik veya p-hidroksibenzoik asitler gibi asitler ile açılma antosiyaninlerin stabilitesi açısından oldukça önemli etkiye sahiptir (Türker ve diğ., 2004).

Antosiyanin flavonoidleri, pigment olarak rengin oluşumunda önemli etkiye sahiptirler. Bu bileşenler, taze yapraklarda ultraviyole ışınlarının neden olduğu zarara karşı koruyucu etki göstermekte, patojenlere direnci artırmaktadırlar. Ayrıca antosiyaninler antioksidan enzim inhibitörü olarak da rol oynayabilmektedirler. Buna ilaveten flavonoidler fotosentez ve enerji transfer bileşenleri olarak da fonksiyon gösterebilir ve bitkinin gelişiminde etkili olabilirler (Naidu ve diğ., 2000).

Antosiyaninlerin renkleri moleküler yapılarına ve bulundukları ortamın pH derecesine göre değişim göstermektedir. Örneğin hidroksil gruplarının sayısı arttıkça renk pembeden maviye dönüşür. Metoksil gruplar ise bu dönüşümü tersine çevirir. Asidik sulu çözeltide kırmızı renge sahip olan bu renk maddeleri pH > 4,5 olduğunda tamamen renksizleşir. Bu maddelerin renklendirici olarak kullanımında gıdanın ve

ürünün pH < 3,5 değerinde olması gerekmektedir. Antosiyaninler düşük pH da kararlıdır ve etkin bir kırmızı renk oluştururlar (Çalimli, 2003).

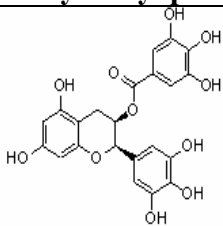
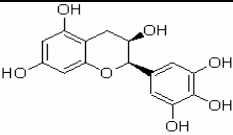
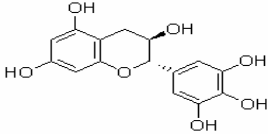
Antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen faktörler; pH, sıcaklık, ışık, kopigmentler, metalik iyonlar, oksijen, askorbik asit, şeker, degradasyon ürünleri şeklinde sıralanabilir. Bu faktörlerin yanı sıra açılma gibi antosiyanin yapısını etkileyen durumlar da stabiliteyi etkilemektedir (Türker ve diğ., 2004).

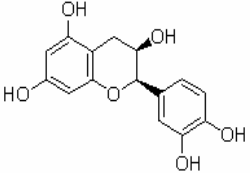
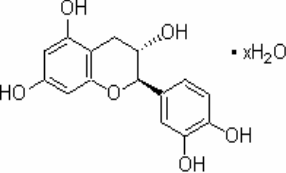
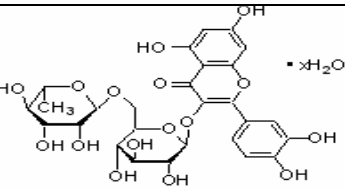
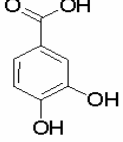
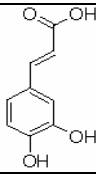
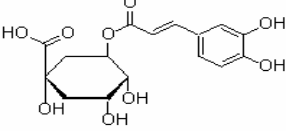
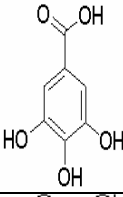
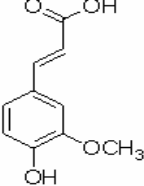
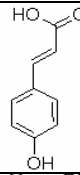
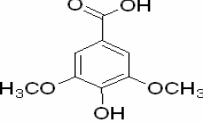
En önemli antosiyanin kaynakları, üzüm suyu ve şarap yapımında atık olarak ele geçen posalar, bazı üzüm çeşitleri, kuşburnu, (0.6-0.8 mg/g meyve) mürver ağacı meyvesi (2-10 mg/g meyve) kiraz (43,6 mg/100 g) ve vişne (35-82 mg/100 g meyve) şeklinde belirtilmiştir (Çalimli, 2003).

Genel olarak antosiyaninler doğal renklendirici olarak kullanılmaktadırlar. Üzümden elde edilen antosiyanin ticari amaçlı mor ve kırmızı renklendiriciler olarak alkolsüz içecekler, meyve şurupları, konserve meyveler, şarap, alkollü içecekler, tatlı ve yoğurtlarda kullanılmaktadır (Çalimli, 2003).

Antosiyaninlerin çözücü yöntemiyle ekstraksiyonu ile ilgili yapılan araştırmalarda, kuş burnu ve üzüm suyu ya da şarap üretiminde atık olan posalardan antosiyaninlerin elde edilmesinde asit-alkol ekstraksiyonu uygulanmıştır. Bu amaçla genelde etanol- 0.1 N HCl kullanılırken, kuşburnu posasında metanol- %0,03 HCl ile ekstraksiyon yapılmıştır (Çalimli, 2003).

Tablo 2.3: Bazı fenolik maddelerin kimyasal yapısı

Fenolik madde	Kimyasal yapısı
(-)- Epigallokateşin gallat	
(-)- Epigallokateşin	
(-)- Gallokateşin	

(-)- Epikateşin	
(+)- Kateşin hidrat	
Rutin hidrat	
3,4- Dihidroksibenzoik asit	
Kafeik asit	
Klorojenik asit	
Gallik asit	
Ferulik asit	
P-Kumarik asit	
Şirinjik asit	

2.2.2.3. Flavonoidlerin Antioksidan Aktivitesi

Flavonoidlerin yapısı; fizyolojik aktivitelerine dair birçok hipotezin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Flavonoidler içerdikleri hidroksil yapılarına göre güçlü zincir kıran antioksidanlar olarak hareket edebilmektedirler. Kimyasal olarak flavonoidlerin güçlü antioksidan özellikleri üç özellikten kaynaklanır; hidrojen vererek redoks reaksiyonlarına girebilirler. Flavonoidlerin yapısında bulunan, B halkasındaki (Şekil 2.7) oksijen atomunun bulunduğu yerden açılarak kolayca okside olabilmekte (aromatik halka yapılarındaki hidroksil grupları sayesinde) ve bu sayede serbest radikalleri yok edebilmektedir. Flavonoidler, aromatik heterosiklik ve çoklu doymamış bağlardan oluşan yapılarıyla dayanıklı bir kimyasal yapı oluştururlar. Metal şelatlama kapasitesine sahip yapısal grupları vasıtasıyla OH^- ve O^{2-} gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyebilirler (Cam ve Hışıl, 2003; Naczki ve Shahidi, 2004).

Antioksidan aktivitesi belirlemede hidroksilasyon derecesi ve pozisyonu en önemli parametrelerdir. Genellikle kabul gören görüşe göre B halkasının ortohidroksilasyonu önemli ölçüde göze çaracak şekilde flavonoidlerin antioksidan aktivitesine katkıda bulunur (Hudson, 1990).

Meta konfigürasyonunda antioksidan aktivitesi olmadığı durumda ise B halkasının para yapısı antioksidan aktivitesine daha çok katkıda bulunmaktadır. Ancak para ve meta hidroksilasyonu doğada sıklıkla rastlanan bir durum değildir. Bütün flavonoidler 3,4' dihidroksi konfigürasyonlarında antioksidan aktivitesine sahiptirler. Bunlardan iki tanesi (Robinetin ve mirisetin) 5' pozisyonunda ekstra hidroksil grubuna sahiptir. Bu durumda antioksidan aktivite fisetin ve kuersetin gibi 5' pozisyonunda hidroksil grup taşımayanlara kıyasla daha yüksektir. Naringenin ve hesperitin adlı iki flavonon B halkasında sadece tek bir hidroksil grubuna sahiptir. Bu nedenle diğerlerine göre daha düşük antioksidan aktiviteye sahiptir. Kısaca, B halkasındaki hidroksilasyon durumu antioksidan aktiviteyi belirlemede göz önünde bulundurulması gereken başlıca etkenlerden biridir (Hudson, 1990).

2.2.2.4. Flavonoidlerin Gıdalarda Dağılımı

Flavonoidler gıdalarda genellikle glikozit halinde bulunurlar, suda çözünür ve dayanıklıdır. Gıdalarda bulunan flavonoidler; genellikle renk, tat, yağların oksidasyondan korunması, vitaminlerin parçalanmasının ve enzim inaktivasyonunun

önlenmesinden sorumlu bileşenlerdir. Ancak lipitlerdeki oldukça düşük çözünürlükleri genellikle dezavantajdır (Justesen ve diğ., 1998; Peterson ve Dwyer, 1998; Hudson, 1990).

Doğal ürünlerde, özellikle bitkisel kaynaklı bir çok gıdada iki veya üç bileşenin etkileşimi ile bu bileşenlerin ayrı ayrı toplamından (sinerjistik etki) daha fazla koruyucu etkiye sahip bir antioksidan aktivitesi elde edilir. Örneğin tokoferoller (birincil antioksidanlar), fosfolipitler (proton donor), askorbik asit (oksijen yakalayıcı), flavonoidler (birincil antioksidan ve metal şelat) daha güçlü bir koruma sağlamak amacı ile bir araya getirilir (Hudson, 1990).

2.3. Kullanılan Hammaddeye İlişkin Literatür Bilgisi

2.3.1 Mor havuç

Mor havuç (*Daucus Carota*) özellikle Çukurova yöresinde kullanımı yaygın olan şalgam suyunun hammaddesidir. Bilimsel olarak da kanıtlanmış faydalarının en önemli kaynağı mor havuca rengini veren antosiyanin pigmentinin antioksidan özelliğinden gelmektedir.

Mor havuç antosiyanin pigmentleri açısından oldukça zengindir. Mazza ve Miniati (1993) taze mor havuçta antosiyanin içeriğinin 1750 mg/kg kadar olabileceğini rapor etmişlerdir. Mor havuç oldukça yüksek miktarlarda açılınmış antosiyaninler içerir. Mor havuç ekstraktında dört temel antosiyanin tanımlanmış ve bunların % 41'i açılınmış formda olduğu belirtilmiştir. Mor havuçta antosiyanin olmayan fenolikler daha düşük miktarda bulunur. Mor havuçta fenolik asitlerden *p*-kumarik, kafeik asit ve ferulik asit bulunur. Ayrıca üç çeşit hidroksibenzoik asit türeviden görülmüştür. kök kısmında 657 mg/kg ve konsantresinde 5815 mg/kg olmak üzere klorojenik asit (5-O-kafeoilquinik asit) en baskın fenolik bileşendir (Kammerer ve diğ., 2004).

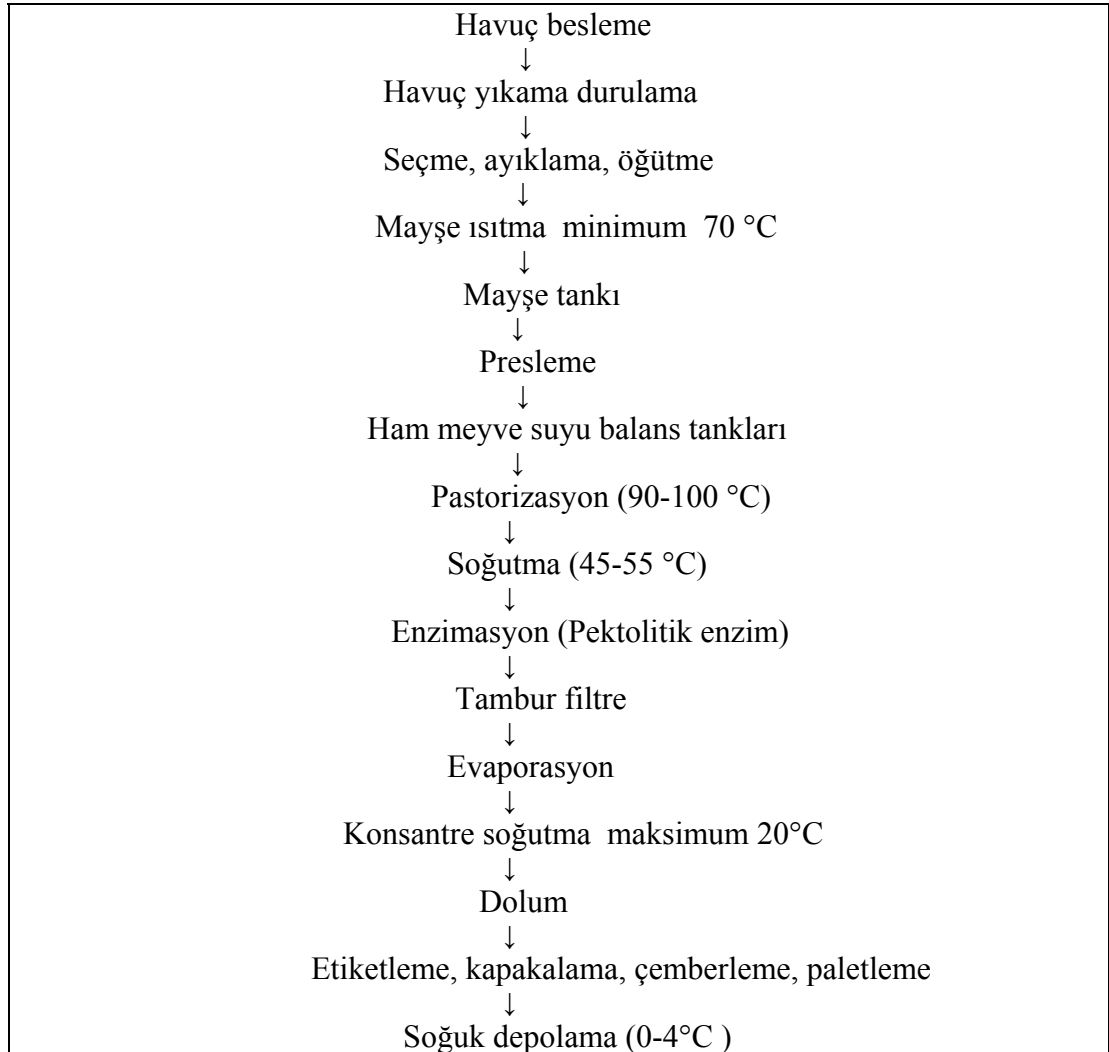
Mor havuç antosiyaninleri asidik pH da oldukça parlak kırmızı renktedir. Bu nedenle mor havuç suyu meyve suları, nektar, marmelat, konserve, şekerleme gibi ürünleri renklendirmede tercih edilir. Mor havuç suyu gıdalara renklendirici ingredient olarak eklenmektedir. Yüksek miktarlarda nutrasetik komponentler içerdiğinden mor havuç ile renklendirilmiş gıdalar sağlık açısından olumlu yararlar sağlamaktadır (Kırca ve diğ., 2005).

2.3.2. Mor Havuç Suyu Konsantresi

Mor havuç ve preparatları (Öz, konsantre, toz vs.) pH değeri 5.5 den küçük gıdalarda kullanıldığında kiraz rengi ile bordo arasında çok hoş ve parlak kırmızı tonlar elde edilmektedir. Daha yüksek pH değerlerinde ise leylak rengi ile mavi tonlarında göz alıcı renkler elde edilmektedir.

Konsantre olarak yiyecek içecek sektöründe doğal renklendirici ve katkı maddesi olarak kullanılabilir. Konsantre mor havuç kullanımının avantajları şöyle sıralanabilir;

- Diğer antosiyaninlere göre daha yüksek performans gösterir
- Kırmızı rengini daha yüksek pH değerlerinde de muhafaza eder.
- Isı ve ışık karşısında daha az hassasiyet gösterir (Anon 2, 2006).



Şekil 2.10: Mor havuç suyu konsantresi üretimi

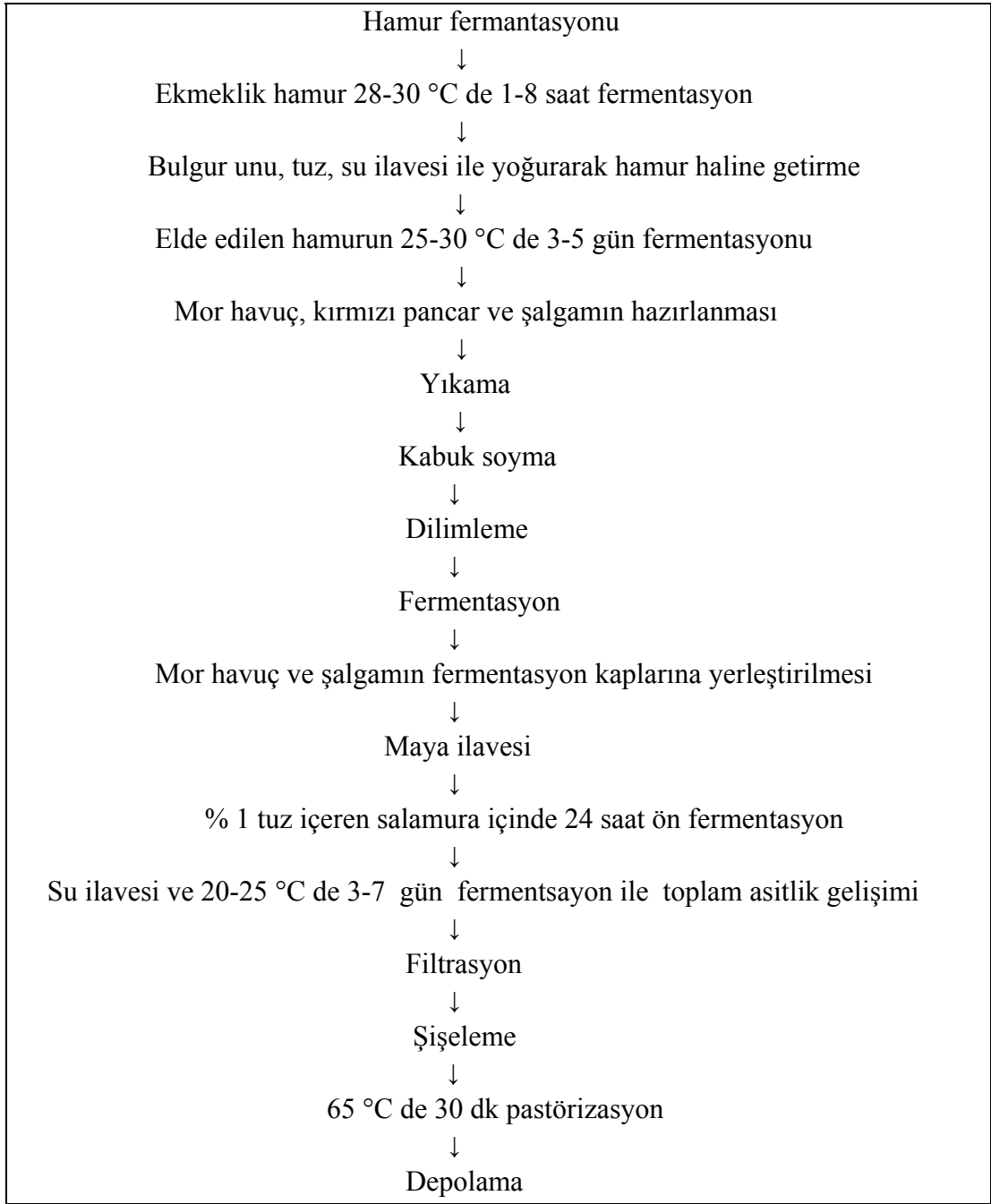
Bu çalışmada kullanılan mor havuç suyu konsantresinin 1 kilogramı yaklaşık olarak 9 kg mor havuçtan elde edilmiştir. Şekil 2.10'da mor havuç suyu konsantresi üretimi akış şeması gösterilmiştir (Asparuk, 2006).

2.3.3. Şalgam Suyu

Şalgam suyu mor havuçtan laktik asit fermentasyonu ile elde edilen morumsu kırmızı renkte ekşimsi bir içecektir. Şalgam suyu İçel ve Hatay illeri ile bunlara bağlı ilçelerde üretilmekle beraber, en yaygın olduğu yöre Adana ve yakın çevreleridir. Ancak, son yıllarda Ankara ve İstanbul gibi büyük illerimizin marketlerinde de rastlanmaktadır. İştah açıcı özelliği ve sindirim sistemi üzerinde yaptığı olumlu etki nedeniyle de önem taşımaktadır. Adını üretiminde kullanılan şalgam yumrusundan, rengini ise mor havuçtan alan şalgam suyunun üretiminde bazı yörelerde bu hammaddelere ek olarak kırmızı pancar da kullanılmaktadır. Bu fermente ürünün morumsu kırmızı rengi mor havuçta bol miktarda bulunan ve bir çok meyve ve sebzenin kırmızı, mavi, ve mor renginden sorumlu olan antosiyanin pigmentlerinden kaynaklanmaktadır (Özler, 1995; Erginkaya ve Hammes, 1992; Türker ve diğ; 2004).

Şalgam suyu üretiminde laktik asit bakterileri ile direkt olarak fermente edilen mor havuca tuz, kırmızı biber ve şalgam turpu ilave edilir. Bu karışıma laktik asit bakterileri ile ön fermentasyona uğramış bulgur unu karıştırılır. (Türker ve diğ., 2004).

Şalgam suyu üretiminde fermentasyon iki aşamada gerçekleştirilmektedir. İlk aşama bulgur unu, ekşi hamur, tuz ve su karışımından oluşan hamurun fermentasyonu, ikinci aşama ise hamurun bez torbalar içine alınarak, salamura ilavesinden sonra mor havuç ve şalgam ile birlikte gerçekleştirilen fermentasyondur (Özler, 1995). Şekil 2.11'de klasik yöntem ile şalgam suyu üretimi gösterilmektedir.



Şekil 2.11: Klasik yöntem ile şalgam suyu üretimi (Özler, 1995; Erginkaya ve Hammes, 1992).

Şalgam suyu üretimi starter kültür kullanımı ile de gerçekleştirilebilmektedir. Mor havuç ve şalgamların üzerine hazırlanan starter kültür ilave edilir ve 24 saat kapalı bidonda bekletilir. Bu aşamadan sonraki işlemler klasik yöntem ile şalgam suyu üretiminde olduğu gibi devam ettirilir (Özler, 1995).

Bilim adamları tarafından geleceğin besini olarak değerlendirilen fermente bitkisel ürünlere, özellikle fermentasyon sonucunda meydana gelen laktik asitten dolayı artan

bir ilgi gösterilmektedir. Laktik asidin muhafaza edici özelliğinin olduğu, bu özelliğinden dolayı da uzun zaman meyve ve sebzelerin muhafaza edilmelerinde ve dayanıklı hale getirilmelerinde laktik asit fermantasyonundan yararlanıldığı bilinmektedir (Özler, 1995).

2.3.4. Nar

Nar (*Punica granatum*) Türkiye, İran, Amerika, Ortadoğu, Akdeniz ve Arap ülkelerinde yetişen güney doğu asya orijinli bir meyvedir. Yenilebilir kısmı önemli miktarlarda, asit, şeker, polisakkarit, vitamin ve polifenol içermektedir. Nar suyunun potansiyel antioksidatif özellikte olduğu rapor edilmiştir (Maskan, 2004).

Nar taze olarak tüketilebildiği gibi aynı zamanda, nar suyu, sirup, reçel ve şarap şeklinde işlenebilir. Meyvenin kimyasal yapısı yetiştiği bölge, ekim koşulları, iklim, olgunluk ve depolama gibi faktörlerden etkilenmektedir. Bu koşullara bağlı olarak organik asitler, fenolik bileşenler, şeker, suda çözünen vitamin ve mineral kompozisyonu açısından önemli varyasyonlar olduğu bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. İçerdiği organik asitler ve fenolik bileşenler sağlık üzerine olumlu etki göstermelerinin yanı sıra duyuşal özelliklere de katkıda bulunurlar (Poyrazoğlu ve diğ., 2002).

Nar suyu önemli ölçüde fenolik madde içerir. Delphinidin, siyanidin, pelargonidin 3-glikozit ve 3,5-diglikozit antosiyaninleri başta olmak üzere gallil tipi tanenler, elajik asit ve türevleri antioksidan aktiviteye önemli ölçüde katkı sağlayan bileşenlerdir (Miguel ve diğ., 2004).

Nar suyunun içerdiği bu fenolik maddelerle ilgili yapılan bir çalışmada ise narda bulunan fenolik maddelerden tanenler, antosiyaninler, elajik asit ve türevleri ayrı ayrı hesaplanmıştır. Tanenler 1978 mg/l antosiyaninler 384 mg/l elajik asit 121 mg/l olarak rapor edilmiştir (Aviram ve diğ; 2005).

Narın pembeden mora kadar uzanan renk tonlarını veren maddeler, antosiyanin grubu maddelerdir. Narda en fazla bulunan antosiyaninlerden birisi pelargonidindir. Çoğu antosiyaninlerin rengi, pH derecesine bağlı olarak adeta bir indikatör gibi değişir. Meyvenin işlenmesi sırasında kolaylıkla parçalanıp, önemli renk kayıpları ortaya çıkmaktadır. Nar suyundaki antosiyanin rengi pH değerinin artması veya azalması ile değişmektedir. pH değerindeki 0,1 birim artış renk yoğunluğunda %5 azalmaya sebep olmaktadır (Vardin, 2000).

Nar suyu kendine özgü buruk bir lezzet taşır. Bu buruk lezzet çeşitli polifenolik maddelerden ve özellikle tanenlerden kaynaklanır. Bu maddeler aynı zamanda nar suyunun bulanıklık nedenidir. Fenolik bileşikler zamana bağlı olarak kondenzasyon ve polimerizasyon eğilimi göstermekte ve sonuçta suda çözünmeyen nitelikte bileşikler oluşmaktadır (Vardin, 2000).

Ülkemizin güney illerinde ekşi nar suyu kaynatılıp koyulaştırılarak “nardek” veya “ nar ekşisi” adıyla çorba salata ve özel yemeklerde kullanılmaktadır (Vardin, 2000).

Nar ekşisi üretiminde geleneksel metotlar kullanılmaktadır. Nar suyu şeker ve diğer katkı maddeleri kullanılmaksızın kaynatılarak konsantre edilir (Kaya ve Sözer, 2005).

2.4. Analiz Yöntemleri

2.4.1. Flavonoidlerin Ekstraksiyon Yöntemleri

Antioksidan bileşiklerinin yüksek verimle eldesinde çözgen seçimi en önemli faktörlerden birisidir. Fenolik bileşikler hidrofiliktir ve alkolde yüksek çözünürlüğe sahiptirler. Fenolik bileşiklerin çözünürlüğü; kullanılan çözgenin polaritesine, fenolik bileşiklerin polimerizasyon derecesine ve fenolik bileşiklerin yapısına bağlıdır. Bütün fenolik maddelerin hepsini veya belirli bir sınıf fenoliklerin hepsini ekstrakte edecek bir tek çözgen sistemi yoktur. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda genellikle metanol, etanol, aseton, su, etil asetat veya bunların kombinasyonları kullanılır (Naczki ve Shahidi, 2004; Wrolstad ve Grete, 2002).

Genellikle fenolik madde içeren bir çok bileşenin metanol ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin diğer çözgen sistemlerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Oreopoulou, 2003).

Antosiyanin bileşenleri polar moleküllerdir ve polar çözücülerde daha iyi çözünürler. Antosiyaninler bazik veya nötr koşullarda stabil değildir. Bu nedenle antosiyaninlerin ekstraksiyonunda asidik ortam kullanılır (Dao ve Takeoka, 2002).

Ayrıca koşullara bağlı olarak fenolik maddeleri ekstrakte ettikten sonra saflaştırma işlemi de uygulanabilmektedir. Vakum altında konsantre edildikten sonra petrol eteri, etil asetat ve dietileter ile ekstrakte edilerek lipitler ve istenmeyen polifenoller uzaklaştırılabilir. Ayrıca fenolikleri saflaştırmak için sıvı-katı veya sıvı-sıvı faz

prosedürü de uygulanabilmektedir. Sıvı - katı faz prosedüründe amberlit parçacıklar yardımı ile şeker yada bazı istenmeyen polar bileşenler fenolik maddelerden ayrılır. Sıvı-sıvı faz prosedürünün temeli ise birbiri içerisinde karışmayan iki sıvı ile ayırım yöntemine dayanır. Fazlardan birisi hareketli diğeri ise hareketsiz faz olarak kullanılır ve böylelikle farklı iki faz yardımı ile istenmeyen maddelerin ayırımı sağlanır (Naczki ve Shahidi, 2004).

Bunlardan başka, doğal antioksidan maddelerin ekstraksiyonunda yeni bir prosedür olan süperkritik karbondioksit yöntemi kullanılarak düşük sıcaklıkta ekstraksiyon sağlanabilmektedir. Örneğin, bazı bitkisel gıdalar 30 MPa ve 40°C’de süperkritik karbondioksit ile ekstrakte edildiğinde antioksidan aktivitesinin aynı bitkinin aseton ekstraktından daha yüksek yada aynı olduğu görülmüştür. Ancak genellikle süperkritik karbondioksit ile ekstraksiyon veriminin daha düşük olduğu görülmüştür. 31 MPa ve 60°C de yeşil çayın süperkritik karbondioksit ekstraksiyondan elde edilen kateşin veriminin etanol, yada sokselet cihazındaki sulu ekstraksiyondan daha düşük olduğu görülmüştür. Sulu etanol çözgeninin yardımcı çözgen olarak ilave edilmesinin ise ekstrakte edilen kateşin verimini arttırdığı görülmüştür (Oreopoulou, 2003).

2.4.2. Spektrofotometrik Yöntemler

Fenolik maddelerin miktarını belirlemek için bir çok yöntem geliştirilmiştir. Gıdalarda bulunan toplam fenolik madde miktarı genellikle Folin Ciocalteu yöntemiyle gerçekleştirilir. Bu yöntemlerin seçiciliği düşüktür fenolik olmayan bileşiklerde ekstrakta bulunduğu için spektrofotometrik yöntemler kromatografik yöntemlere göre fenolik bileşikleri daha fazla ölçebilmektedir (Escarpa ve Gonzales, 2001). Folin Ciocalteu metodunun yanı sıra Prussian blue testi, vanilin testi, folin-denis testi gibi metotlar nadir de olsa kullanılabilir (Prakash, 2001).

UV görünür spektroskopik teknikler basit fenollerin özellikle flavonoidlerin analizinde ve antioksidan aktivitesi ölçüm metotlarında sıklıkla kullanılır (Naczki ve Shahidi, 2004).

2.4.3. Kromatografik Yöntemler

Fenolik asitlerin, izoflavonların, fenolik aldehytlerin ve kondense tanen monomerlerinin analizinde çeşitli gaz kromatografisi (GC) teknikleri kullanılabilir. Gaz kromatografisi ile analiz öncesinde; ekstrattan lipit eliminasyonu, tanenlerin

enzimatik hidrolizi yada asit depolimerizasyonu gibi ön işlemler uygulananmalıdır. Kromatografik analizden önce, fenolik maddeler genellikle metilasyon ve trifloroasetilasyon ile daha uçucu türevlerine dönüştürüldükten sonra analizlenirler (Naczki ve Shahidi, 2004).

HPLC teknikleri ise fenolik maddelerin ayrılması için en sık kullanılan metottur. Ters fazlı kolon kullanımı HPLC ile ayrılmayı daha duyarlı hale getirmiştir. Gıdalarda bulunan fenolik maddeler genellikle UV görünür dalga boyunda UV-Vis dedektörleri ile ölçülmektedir (Naczki ve Shahidi, 2004).

Polifenolik maddelerin tanımlanmasında kolonda alıkonulma süresi temel alınır. HPLC’de bileşiklerin kimyasal yapısı alıkonma süresi üzerine etkilidir, hidroksillenmiş ve glikozitlenmiş fenoliklerin alıkonma süreleri kısa iken, metillenmiş veya açillenmiş fenoliklerin alıkonma süreleri ise uzundur (Dao ve Takeoka,2002).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Malzeme

3.1.1. Analizlenen Gıdalar

Çalışmada analizde kullanılmak üzere hammadde olarak Konya-Ereğli yöresinden temin edilen mor havuç, TARGİD gıdadan temin edilen mor havuç suyu konsantresi, DOĞANAY marka şalgam suyu, taze olarak marketten alınmış nar, DİMES marka nar suyu ve ARİFOĞLU marka nar ekşisi kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Ekipman ve Kimyasallar

Çalışmada sartorius TE2145 marka hassas terazi, Universal 32R marka santrifüj, Shimadzu UV-1700 spektrofotometre, Grant-SS40-D marka çalkalayıcı, su banyosu, Azaklı ultrasonoik banyo, Hevdolph MR3001 marka ısıtıcılı manyetik karıştırıcı, Biohit proline marka otomatik pipet, IKA MSI marka vorteks, kullanılmıştır. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi olarak ise (Kolon: Supelcosil C18, 5 µm, (25 x 4,6 mm) waters 2695 separation module ve 2996 photodiode array dedektör kullanılmıştır.

Deneylerde kullanılan kimyasallar ise; Etanol, Metanol, Asetonitril, Asetik asit, demir(III)klorür, Triloloroasetik asit, Potasyum hekzasiyanoferrat, tween 20, Amonyum tiyosiyanat Riedel firmasından, Folin Ciocalteau reaktantı, Linoleik asit Sigma firmasından, Sodyum karbonat, Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametil-kroman-2-karboksilik asit), DPPH, ABTS, Gallik asit, Beta karoten, Ferrozine Fluka firmasından, L- askorbik asit, Demir (II) klorür Aldrich firmasından, Potasyum klorür ve Sodyum asetat trihidrat Merck firmasından, HPLC için gerekli standartlar ise Gallik asit ve Ferulik asit Fluka, Rutin (kuersetin-3-rutinosid), Luteolin, Kafeik asit, Klorejenik asit, Kumarik asit, Elajik asit, (-) –Epikateşin, (-) – Gallokateşin, (-)- Epigallokateşin gallat, (-) Epigallokateşin, Şirinjik asit, (+)- Kateşin, Sigma, Kuersetin (Aldrich) Firmasından temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen deneylerde amaç olan mor havuç, mor havuç suyu konsantresi, şalgam suyu, taze sıkılmış nar suyu, ticari nar suyu ve ticari nar ekşisi gibi fenolik maddelerce zengin olan bu geleneksel Türk ürünlerinde toplam fenolik madde içeriğinin Folin-Ciocalteu yöntemiyle, toplam flavonoid analizinin kolorimetrik flavonoid analizi yöntemi ile, toplam antosiyanin içeriğinin ise pH-diferansiyel metodu ile toplam antioksidan aktivitesinin ise DPPH radikal yakalama metodu, ABTS radikal katyonu yakalama metodu, metal şelatlama, indirgeme potansiyeli ve linoleik asit emülsiyon metodu ile belirlenmesidir. Çalışmanın diğer bir amacı ise bu ürünlerin içerdiği fenolik maddelerin HPLC metodu ile kalitatif ve kantitatif olarak tanımlamaya çalışmaktır.

3.2.1. Örneklerin Hazırlanması

Mor havuç örneği bıçakla küçük parçalara ayrıldıktan sonra blender ile birkaç dakika parçalanmış ve homojen hale getirildikten sonra -18°C de dondurularak muhafaza edilmiştir. Daha sonra uygun koşullarda çözündürülerek ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Mor havuç suyu konsantresi ise ekstraksiyon işleminden önce buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Analiz öncesi taze olarak alınan ve -18 °C de dondurularak muhafaza edilen şalgam suyu ve ticari nar suyu örneği ise uygun koşullarda çözündürüldükten sonra her hangi bir işleme tabi tutulmadan belirli miktarlarda ölçülerek ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Taze nar suyu ise elektrikli sıkacak ile narın suyu çıkarıldıktan sonra ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur.

3.2.2. Ekstraksiyon

Antioksidan aktivitesi belirlemek amacı ile örneklerin içeriğindeki fenolik bileşiklerin eldesinde etanol çözgeni seçilmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde antosiyaninlerce zengin gıdaların ekstrakte edilmesinde asitlendirilmiş etanol çözgeninin sıklıkla tercih edildiği görülmüştür. Etanol çözgeninin daha az kanserojen olduğu bilindiğinden metanol çözgenine tercih edilmiştir.

Örnekler antosiyanin ağırlıklı fenolik madde içerdiğinden antosiyaninlerin hidrolize edilmesi amacı ile çözgen uygun miktarda asit kullanılarak asidik hale getirilmiştir ((%95 etanol:1.5 N HCl (85:15)). Örnekler bu asidik çözgen ile yatay çalkalayıcı ile orta hızda 30 dk süreyle karıştırılarak ekstrakte edilmiştir. (Lazcano ve diğ., 2001). 50 ml çözgen alınarak örneklerin bu çözgen içerisindeki başlangıç konsantrasyonu mor havuç, mor havuç suyu konsantresi, nar ekşisi, şalgam suyu, taze nar suyu, ticari nar suyu için sırasıyla 200 mg örnek/ml son çözelti, 20 mg örnek/ml son çözelti, 200 mg örnek/ml son çözelti, 0,2 ml örnek/ml son çözelti, 0,2 ml örnek/ml son çözelti, 0,2 ml örnek/ml son çözelti olacak şekilde hazırlanmıştır. Folin-Ciocalteu yöntemi ve toplam flavonoid analizi ve metal şelatlama yöntemlerinde ise örnekler %95 lik etanol çözgeni asit ile karıştırılmadan hazırlanmıştır. Tüm ekstraktlar Whatman No.4 filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir. Daha sonra ekstrakte edilmiş bu örneklerden toplam fenolik madde analizi ve antioksidan aktivitesi analizleri için seyreltilmiş alt örnekler hazırlanmıştır.

3.2.3. Kompozisyon Analizi

Toplam Kuru Madde Tayini: Örneklerin nem miktarlarını hesaplanması AOAC 925.45 B atmosferik kurutma koşullarında kuru madde analizine göre 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir (AOAC , 2000).

Suda Çözünür Kuru Madde Tayini: Suda çözünür kuru madde analizi için AOAC 932.12 meyve ve meyve ürünlerinde refraktometrik yöntem uygulanarak örneklerin % briks değerleri hesaplanmıştır (AOAC, 2000) Örneklerin asitliği ise pH-metre ile ölçülmüştür.

3.2.4. Toplam Fenolik Madde Analizi

Toplam fenolik madde analizi yaygın bir metot olan Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır. Deneyde Singleton ve Rossi (1965)' nin uyguladığı Folin-Ciocalteu metoduna göre fenolik madde tayini yapılmıştır. Bu yöntemle göre uygun oranlarda seyreltilmiş 300 µl ekstrakt çözeltisi ve 1,5 ml 2 N Folin-Ciocalteu reaktifi (10 kat seyreltilmiş olarak) karıştırılmıştır. %7.5 (w/v) lik sodyum karbonat çözeltisinden 1,2 ml eklendikten sonra tüpler vortekste karıştırılmıştır ve 25 °C de karanlıkta 90 dk bekletildikten sonra UV-Vis spektrofotometrede 765 nm de absorbans ölçülmüştür. Toplam fenol içeriği gallik asit kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak

gallik asit eşdeğeri olarak verilmiştir. Deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

3.2.5. Toplam Flavonoid Analizi

Toplam flavonoid konsantrasyonu Zhinsen ve diğ., (1999)'nin uyguladığı metoda göre göre kolorimetrik olarak UV spektrofotometre ile hesaplanmıştır. Uygun konsantrasyondaki analiz örneğinden deney tüpüne 1 ml alınarak üzerine 4 ml distile su ilave edilmiştir. Sıfırıncı dk da 0,3 ml %5 NaNO₂ 5.dk da %10 AlCl₃ ve 6. dk da 2 ml 1 M NaOH ve sonrasında 2.4 ml distile su eklenerek toplam hacim 10 ml ye tamamlanmıştır. Karışımın absorbansı 510 nm de ölçülmüş standart flavonoid olarak (+)- epikateşin kullanılmıştır. Deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

3.2.6. Toplam Antosiyanin Analizi (pH Diferansiyel Metodu)

Antosiyaninlerin kantitatif analizi karakteristik davranışlarını gösterdikleri asidik ortamda ölçülür. Asidik ortamda renkli oksonyum iyonu ile renksiz psedobase formu denge halindedir. Antosiyaninlerin kantitatif analizi için bir çok metot geliştirilmiştir. Bu çalışmada Fuleki ve Francis (1968)'in geliştirdikleri pH-diferansiyel metot olarak adlandırılan kolorimetrik bir yöntem kullanılmıştır. Bu metoda göre; antosiyaninler (%95 etanol:1.5 N HCl (85:15) çözgeni ile ekstrakte edilir. Daha sonra 1 ml ekstrakt pH =1 olan tampon çözelti (0.2 M KCl: 0.2 M HCl= 25:67; v/v) ile absorbans değeri 0.6 ile 0.8 arasında olacak şekilde seyreltilir. Daha sonra aynı miktar ekstrakt pH s= 4.5 olan tampon çözelti (1M sodyum asetat: 1 M HCl:Su= 100:60:90; v/v/v) ile seyreltilir ve seyreltilen örnekler karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra örneğin maksimum dalga boyunda absorbansları okunur. pH 4.5 ve pH 1.5 arasındaki absorbans farkı ortalama örneğin içerdiği yada temel bir antosiyanin molar ekstinksiyon katsayısına bölünerek toplam antosiyanin miktarı belirlenir. Antosiyanin miktarı denklem 3.1'den yararlanılarak hesaplanmıştır. Deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

$$\text{Konsantrasyon (mg Ant/L)} = (\text{Abs}_{510\text{ nm}} \times 10^3 \times \text{MW} \times \text{DF}) / (\epsilon \cdot L) \quad (3.1)$$

ϵ : Siyanidin-3-glikozitin molar absorpsivitesi = 29.600

($\text{Abs}_{510\text{ nm}}$): ($A_{\text{pH } 1} - A_{\text{pH } 4.5}$)

D.F: Seyreltme faktörü

L: Küvet uzunluğu=1 cm

MW: Siyanidin-3-glikozitin molekül ağırlığı = 445.2

3.2.7. Antioksidan Aktivitesi Tayin Yöntemleri

Örneklerin antioksidan aktivitesi belirlenmesi amacıyla 5 farklı yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemler DPPH radikali yakalama aktivitesi, ABTS $^{•+}$ radikal katyon yakalama aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi, linoleik asit emülsiyonu indirgeme potansiyeli kapasitesi metotlarından oluşmaktadır.

3.2.7.1. DPPH Radikali Yakalama Aktivitesi

Ekstraktların antioksidan aktivitesi hidrojen bağlama kabiliyeti yada başka bir deyişle DPPH radikalini yakalama kabiliyetine dayanılarak ölçülmüştür. Analiz, Yu ve diğ., (2002)'nin uyguladığı metoda göre yapılmıştır. Bu yönteme göre, belli bir konsantrasyon aralığındaki uygun oranda seyreltilmiş örnek ekstratlarından ve standart madde Troloxstan 0,1 ml alınmış ve üzerine 3,9 ml DPPH etanol solusyonu (10^{-4} M) ilave edildikten sonra vortekste karıştırılıp, reaksiyon stabil duruma gelinceye dek oda sıcaklığında, karanlıkta 2 saat bekletilmiştir. Reaksiyon sonucunda oluşan rengin absorbansı, spektrofotometrede 517 nm de ölçülmüştür. DPPH ($y=10591x-0,0292$ $R^2=0,9946$) ve Troloks kalibrasyon eğrisi çizilmiştir ($y=-9569,3x+95,196$ $R^2=0,9901$). Örneklerinin EC_{50} değerleri DPPH kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak hesaplanmış ve örneklerin antioksidan aktiviteleri, Troloksa eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Yapılan tüm deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

3.2.7.2. ABTS $^{•+}$ Radikal Katyon Yakalama Aktivitesi

Ekstraktların antioksidan kapasitesi, ABTS $^{•+}$ radikal katyon yakalama kabiliyetine dayanılarak ölçülmüştür. Bu metotta ABTS, peroksil veya diğer oksidanlara okside olur ve ABTS $^{•+}$ radikali oluşur.

Analiz Wettasinghe ve diğ., (2002); Mathew ve Abraham (2006)'nın uyguladığı yöntemler temel alınarak uygulanmıştır. Bu metoda göre ABTS $^{•+}$ radikal katyonu, ABTS çözeltisinin persülfat ile oksidasyonu sonucunda oluşturulmuştur. 7 mmol ABTS suda çözülmüş ve 2.45 mmol potasyum persülfat ile muamele edilmiştir. Karışım daha sonra oda sıcaklığında 16 saat koyu mavi renk oluşana kadar bekletilmiştir. Koyu mavi renkli bu çözelti, tampon çözelti (pH 7.4) ile absorbans 734 nm de 0.7 olana kadar seyreltilmiştir. Daha sonra bu seyreltilmiş çözeltilerden 4 ml (ABTS $^{•+}$ çözeltisi) alınarak 40µl uygun oranlarda seyreltilmiş örnek ekstraktı

ile karıştırılmış ve 4. ve 10. dk larda absorbans spektrofotometrede 734 nm de ölçülmüştür. ABTS^{•+} radikal katyonundaki azalma yüzde olarak hesaplanmış ve sonuçlar TEAC (Trolaks eşdeğer antioksidan kapasite) olarak verilmiştir. Yapılan tüm deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır. ABTS^{•+} radikal katyonundaki % azalma denklem 3.1'e göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ ABTS}^{\bullet+} \text{ azalması} = [(Ab_{\text{başlangıç}} - Ab_{\text{son}}) / Ab_{\text{başlangıç}}] \times 100 \quad 3.1$$

3.2.7.3. Metal Şelatlama Aktivitesi Metodu

Metal şelatlama özelliği olan antioksidan maddeler serbest demiri bağlamak suretiyle onu etkisizleştirirler ve böylece fenton reaksiyonları sonucu oluşan hidroksil ve peroksit gibi radikal oluşumunu inhibe ederler. Bu deneyde örneklerin Fe⁺² şelatlama etkisi incelemiştir. Bu amaçla FeCl₂ çözeltisi kullanılmıştır. Fe⁺² iyonu ve ferrozinin oluşturduğu kompleksin 562 nm de mor renk oluşturmaya dayanılarak şelatlama aktivitesi belirlenmiştir.

Örneklerin metal şelatlama aktivitesi Rival ve diğ, (2001); Duh ve diğ, (2001)' nin uyguladığı yöntemler temel alınarak uygulanmıştır. Uygun oranda seyreltilmiş analiz örneklerinin 1 ml si 3.7 ml %95 etanol ile karıştırılmıştır. Her bir örnek 0,1 ml 2 mM FeCl₂ ile 60 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 0,2 ml 5 mM ferrozine eklenerek 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Demir iyonları ve ferrozinin oluşturduğu kompleksin absorbansı 562 nm de ölçülmüştür. Kontrol örnek madde içermeyen etanol ile aynı koşullarda hazırlanmıştır. Yapılan tüm deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır. yüzde metal şelatlama aktivitesi denklem 3.2'ye göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Şelatlama Aktivitesi} = [1 - Ab_{\text{örnek}} / Ab_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad 3.2$$

3.2.7.4. Linoleik Asit Emülsiyon Sistemi veya Demir-Tiyosiyanat Metodu

Bu metotta linoleik asitin antioksidan madde varlığında ve antioksidan madde olmadığı durumda okside olma derecesi belirlenerek antioksidan aktivitesi ölçülmektedir. Metot oksidasyon sonucu oluşan peroksitleri ölçmeye dayanır (Gülçin, 2005). Linoleik asit ve antioksidan madde içeren bir sistem oluşturulur ve antioksidan maddenin lipit peroksidasyonunu inhibe etme derecesi (LPI) antioksidan aktivitesinin bir göstergesi olarak kabul edilir. Analiz Duh ve diğ., (1997)'nin

uyguladığı yöntemler temel alınarak uygulanmıştır. 5 ml belirli konsantrasyondaki örnek ekstraktı alınmış ve 155 µl linoleik asit ve 160 ml tween 20 ve 0,02 M pH= 7 olan fosfat tampon çözeltisinden 45 ml eklenerek iyice karıştırılmıştır. Daha sonra reaksiyon karışımı ağzı kapalı plastik santrifüj tüpleri içerisinde 37 °C de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sırasında çeşitli zaman aralıklarında 0,1 ml örnek alınmış üzerine 5 ml %75 v/v etanol, 0,1 ml %30 w/v amonyumtiyosiyanat ve 0,1 ml 0,02 M (% 3.5 HCl w/v içerisindeki) FeCl₂ eklenmiş ve vortekste karıştırılmıştır. Lipit oksidasyonu sonucu oluşan peroksitler Fe⁺² iyonlarını Fe⁺³ yükseltger ve oluşan Fe⁺³ tiyosiyanat ile reaksiyona girerek 500 nm de maksimum renge sahip bir kompleks oluşturur. Bu nedenle karışımın absorbansı 500 nm de ölçülmüştür. Aynı koşullar antioksidan madde içermeyen kontrol örneği için de uygulanmıştır. Yapılan tüm deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Lipit peroksidasyonu inhibisyonu; denklem 3.3'e göre hesaplanmıştır.

$$\%LPI= 100 - [Abs_{\text{örnek}} / Abs_{\text{kontrol}}) \times 100] \quad 3.3$$

3.2.7.5. İndirgeme Gücü (Redüktif potansiyel) Metodu

Antioksidan aktivite belirleme yöntemlerinden biri olan indirgeme gücü indirgeme gücü Oyaizu (1986)'nın uyguladıkları yöntem temel alınarak belirlenmiştir. Çeşitli konsantrasyondaki örnek ve standart (askorbik asit) ekstraktlarının 1 ml si 2.5 ml 0,2 M fosfat tampon çözeltisi (pH=6.6) ile karıştırılmıştır. Daha sonra 2.5 ml % 1 w/v potasyumferrisiyanid [K₃Fe(CN)₆] eklenerek 50 °C de 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. Bu aşamadan sonra reaksiyon karışımına 2.5 ml trikloroasetik asit (10% w/v) eklenerek 1000 g de 10 dk santrifüj edilmiştir. Bu çözeltinin üst kısmından 2.5 ml alınarak 2.5 ml distile su ve 0.5 ml %0.1 FeCl₃ eklendikten sonra 700 nm de absorbans okunmuştur. Yüksek absorbans değeri yüksek indirgeme potansiyelini göstermektedir. EtOH:Su (50:50 v/v) içerisindeki askorbik asitin çeşitli konsantrasyon aralığında (0,005-0.5 mg/ml) hazırlanarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Sonuçlar askorbik asit eşdeğeri olarak verilmiştir. Yapılan tüm deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

3.2.7.6. Fenolik Madde Profillerinin Belirlenmesi

Örneklerin fenolik profillerini belirlemede bazı modifikasyonlar uygulanarak Dragovic-Uzelac ve diğ., (2005)'e ait metot kullanılmıştır. Örnekler HPLC'ye şalgam suyu, taze nar suyu ve ticari nar suyu örneği için %50'lik metanol:su çözgeninde 1:1 oranında çözündürülerek, mor havuç ve nar ekşisi için %50'lik metanol:su çözgeninde 10 gr/100 ml olacak şekilde, mor havuç suyu konsantresi için ise %50'lik metanol:su çözgeninde 1 gr/100 ml olacak şekilde 3 tekrarlı olarak enjekte edilmiştir. Kullanılan yöntemin koşulları Tablo 3.1 ve Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.1: Uygulanan yöntemin HPLC koşulları

HPLC sistemi:	Waters 2695 Separation module, Waters 2996 PDA dedektör
Kolon:	Supelcosil C18, 5 µm, (25 x 4,6 mm)
Mobil sistem:	Gradient
Mobil faz A:	3% asetik asit - H ₂ O
Mobil faz B:	%3 asetik asit, %25 CH ₃ CN, %72 H ₂ O
Kolon sıcaklığı:	20°C
İnjesiyon hacmi:	20 µl
Dalga boyu:	280 nm (210-360 nm arası) ve 520 nm (500-550 nm arası)
Yazılım	Empower Build 1154

Sonuçlar integrasyon alan hesabı ile değerlendirilmiştir. Alanlar, her standart için kalibrasyon eğrilerinden konsantrasyon olarak hesaplanmıştır. Standartlara ait kalibrasyon eğrileri Ek A'da sunulmuştur.

Tablo 3.2: HPLC metodu gradient çalışma koşulları

Zaman	Başlangıç %A	Final %A	Akış Hızı
0-40 dk.	%100 A	%30 A	1 ml / dk
40-45 dk.	%30 A	%20 A	1 ml / dk
45-55 dk.	%20 A	%15 A	1.2 ml/dk
55-57 dk.	%15 A	%10 A	1.2 ml/ dk
57-75 dk.	%10 A	%10 A	1.2 ml/dk

3.2.8. İstatistiksel Analiz

Her örnek çeşitinin toplam fenolik madde, flavonoid madde ve antosiyanin madde içerikleri "Minitab® for Windows Release 1.12" programı ile karşılaştırılmıştır. Varyans analizi (ANOVA) tablosu oluşturulmuş, genel lineer modelleme yapılmıştır ve verilerin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı incelenmiştir. Model anlamlı bulunduğunda, Tukey ikili karşılaştırma testiyle %95 güven düzeyinde ikili karşılaştırmalar yapılarak, örnekler arasındaki farklılık incelenmiştir. Ayrıca DPPH yöntemi ile yapılan antioksidan aktivitesi sonuçları ile tüm örnek çeşitlerinin toplam fenolik madde, flavonoid madde ve antosiyanin madde içerikleri arasındaki ilişki yine Minitab programı ile regresyon analizi yapılarak incelenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Kompozisyon Analizi:

% Toplam kuru madde ve % Suda çözünür kuru madde değerleri Tablo 4.1’de olduğu gibidir.

Tablo 4.1: Örneklerin % toplam kuru madde ve % suda çözünür kuru madde değerleri

Örnek	% Toplam kuru madde	%Suda çözünür kuru madde (Briks)
Mor havuç	13,3	-
Mor havuç suyu konsantresi	65,64	62,5
Şalgam suyu	4,08	4
Taze nar suyu	15,8	14,5
Ticari nar suyu	17,6	12
Nar ekşisi	71,4	68

Örneklerin asitliği ise sıvı haldeki örnekler için direkt olarak ölçülmüştür ve daha sonra % (85:15 EtOH: 1.5 N HCl) çözgeni ile ekstrakte edilmiş asidik hali ile ölçülmüştür ve sonuçlar Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2: Örneklerin pH değeri

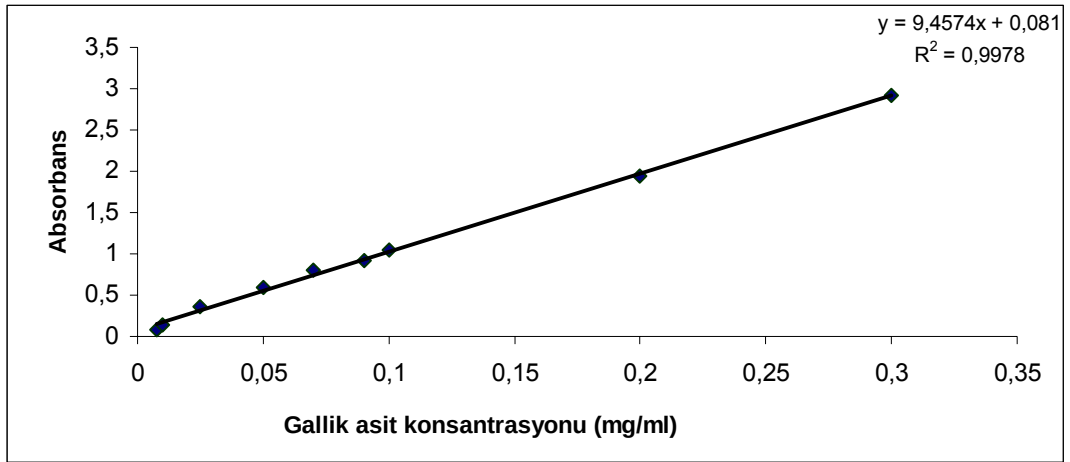
Örnek	pH değeri (direkt ölçüm)	pH değeri (asitli çözgende)
Mor havuç	-	1.45
Mor havuç suyu konsantresi	-	1.22
Şalgam suyu	3.45	1.25
Taze nar suyu	3	1.52
Ticari nar suyu	3.75	1.68
Nar ekşisi	-	1.57

4.2. Toplam Fenolik Madde Analizi

Analizlenen örneklerin içerdiği fenolik bileşiklerin, antioksidan aktivitesinde belirleyici grup olmalarından dolayı, örneklere ilk olarak toplam fenolik madde ve

daha sonra ise bu bileşiklerin alt grubu olan toplam flavonoid miktarı ve toplam antosiyanin madde miktarı analizleri yapılmıştır.

Toplam fenolik madde tayini (TFM) analizinde, örneklerin toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak verilmiştir. Bu amaçla öncelikle gallik asit kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Gallik asitin etanolik çözeltisi hazırlanmış ve kalibrasyon eğrisinin çizilmesinde 0,0075-0,3 mg/ml konsantrasyon aralığındaki aralığındaki gallik asit çözeltisi kullanılmıştır. Gallik asit kalibrasyon eğrisi Şekil 7.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1: Gallik asit kalibrasyon eğrisi

Gallik asit kalibrasyon eğrisi çizildikten sonra örnek konsantrasyonlarının absorbansı bu kalibrasyon eğrisinin içinde okunacak şekilde belirlenmiştir. Toplam fenolik madde analizi gallik asit kalibrasyon denkleminde yararlanılarak hesaplanmıştır. 3 paralel tekrar yapılmış ve ortalama alınmıştır.

Tablo 4.3: Örneklerin toplam fenolik madde miktarı

Örnek	Miktar
Mor havuç	1.078 mg GA/ g
Mor havuç suyu konsantresi	15.5 mg GA/ g
Şalgam suyu	1.052 mg GA/ g
Taze sıkılmış nar suyu	5.79 mg GA/ g
Ticari nar suyu	3.56 mg GA/ g
Nar ekşisi	2.74 mg GA/ g

Sıvı örnekler için piknometre yardımı ile yoğunluklar şalgam suyu, taze sıkılmış nar suyu, ticari nar suyu için sırasıyla 1.01, 1.04, 1.08 g/cm³ olarak hesaplanmış ve tüm örneklerin fenolik madde içeriği gram ekstrakta mg GAE olarak belirlenmiştir.

Sırasıyla mor havuç için, mor havuç suyu konsantresi için, şalgam suyu için, taze sıkılmış nar suyu, ticari nar suyu ve nar ekşisi için 1.078, 15.5, 1.052, 5.79, 3.568, 2.74 mg GA/ g örnek olarak bulunmuştur ve bu değerler Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2: Örneklerin toplam fenolik madde miktarı

Örneklerin toplam fenolik madde miktarı en yüksek olarak mor havuç suyu konsantresinde görülmüştür, sırasıyla taze sıkılmış nar suyu örneği, ticari nar suyu örneği, nar ekşisi, mor havuç ve şalgam suyu bunu izlemiştir (Şekil 4.2). Tek yollu Anova testi sonuçlarına göre örneklerin toplam fenolik madde içeriği arasında farklılık olduğu görülmektedir ($P<0,05$). Tukey testi ile örnekler arasındaki farklılık incelendiğinde ise şalgam suyu ve mor havuç örneklerinin fenolik madde içeriği arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunurken diğer tüm örneklerin birbiri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$). Varyans analiz sonuçları ve Tukey testinin detaylı sonuçları EK B’de Tablo B1 ve Tablo B2’de verilmiştir.

Bulunan sonuçları literatürde mevcut çalışmalarla karşılaştırdığımızda, Kaur ve Kapoor (2002) Asya kıtasına ait 36 sebze türünde toplam fenolik madde içeriği ile ilgili olarak yapmış oldukları çalışmada bazı havuç türlerinde fenolik madde içeriğini 55 mg/ 100 g ve 115.8 mg/ 100 g olarak bildirmişlerdir. Alasalvar ve diğ., (2001) ise mor havuçta toplam fenol içeriğini 102 mg/100 g olarak bulduğu değer bu çalışmada bulunan sonuca (107,8 mg/100 mg) oldukça yakın gözükmektedir.

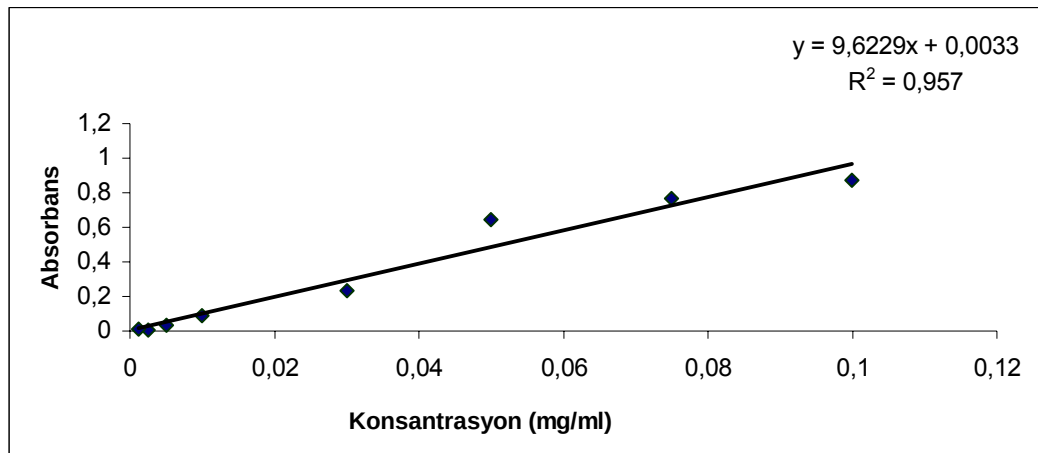
Şalgam suyu ile ilgili olarak ise bu zamana kadar toplam fenolik madde içeriği ile ilgili olarak yapılmış çalışmaya rastlanamamıştır. Bu çalışmada bulunan sonuçlar itibari ile mor havuç ve şalgam suyunun fenolik madde içeriğinin oldukça yakın olduğu görülmektedir.

Nar suyunun fenolik içeriği ile ilgili Aviram ve diğ., (2005)'nin yaptığı bir çalışmada ise narda bulunan fenolik maddelerden tanenler, antosiyaninler, elajik asit ve türevleri ayrı ayrı hesaplanmıştır. Tanenler 1978 mg/L antosiyaninler 384 mg/L elajik asit 121 mg/L olarak bildirilmiştir. Gil ve diğ., (2000) ise nar suyunda bulunan fenolik madde içeriğinin 1808-2566 mg/L aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise taze nar suyu için 6022 mg/L olarak ve ticari nar suyu için 3824 mg/L olarak bulunan toplam fenolik madde miktarının literatürde rastlanan değerlerin daha üzerinde olduğu görülmektedir

Diğer bazı meyvelerin fenolik madde içeriği ile ilgili çalışmalar incelendiğinde ise, Pantelidis ve diğ., (2006) böğürtlen ve ahududu meyvesinde fenolik madde içeriğini sırasıyla 1786-2310 mg GA/100 g ve 1137-2112 mg GA/100 g olarak bildirmişlerdir. Zheng ve diğ., (2005) çilekte fenolik madde içeriğini 102 mg GA/100g olarak bildirmişlerdir. Roussis ve diğ., (2005) ise dört çeşit şarap örneğinde toplam fenolik madde içeriğini 267-1710 mg GA/L arasında bulmuşlardır.

4.3. Toplam Flavonoid Analizi

Toplam flavonoid analizinde örneklerin flavonoid madde miktarı epikateşin eşdeğeri olarak verilmiştir. Bu amaçla öncelikle epikateşin kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Epikateşinin etanolik çözeltisi hazırlanmış ve kalibrasyon eğrisinin çizilmesinde 0,00125-0,1 mg/ml konsantrasyon aralığındaki epikateşin çözeltisi kullanılmıştır. Epikateşin kalibrasyon eğrisi Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



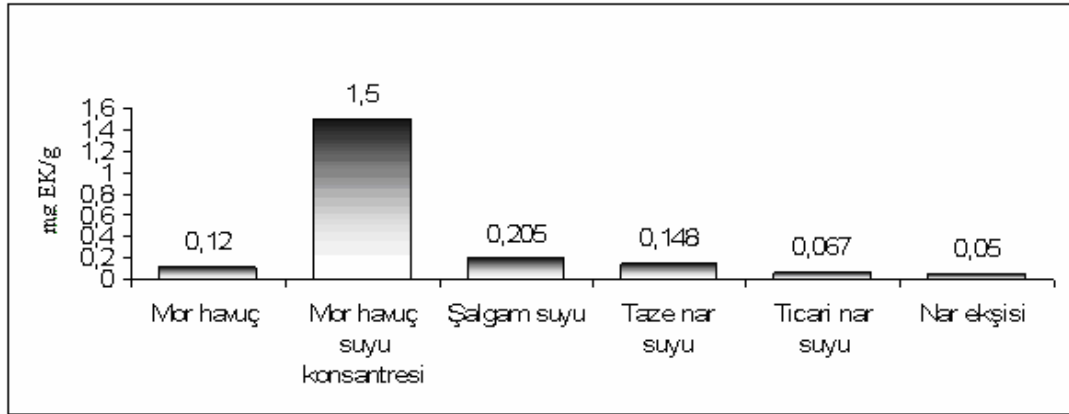
Şekil 4.3: Epikateşin kalibrasyon eğrisi

Toplam flavonoid madde tayini epikateşin kalibrasyon denkleminde yararlanılarak hesaplanmıştır. 3 paralel tekrar yapılmış ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

Tablo 4.4: Örneklerin toplam flavonoid madde miktarı

Örnek	Miktar
Mor havuç	0,12 mg EK/g
Mor havuç suyu konsantresi	1,5 mg EK/g
Şalgam suyu	0,205 mg EK/g
Taze sıkılmış nar suyu	0,148 mg EK/g
Ticari nar suyu	0,067 mg EK/g
Nar ekşisi	0,05 mg EK/g

Tüm örneklerin içerdikleri flavonoid miktarını karşılaştırmak amacıyla sıvı örnekler için piknometre yardımı ile hesaplanan yoğunluklardan yararlanılarak, flavonoid madde içeriği tüm örneklerde gram ekstrakta mg EK eşdeğeri olarak belirlenmiştir ve bulunan sonuçlar şekil 4.4’de gösterilmiştir.



Şekil 4.4: Örneklerin toplam flavonoid madde miktarı

En yüksek flavonoid içeriği 1,5 mg EK/g ile mor havuç suyu konsantresinde görülmüştür bunu sırasıyla şalgam suyu, taze nar suyu, mor havuç, ticari nar suyu ve nar ekşisi örnekleri izlemiştir. Tek yollu Anova testi sonuçlarına göre örneklerin flavonoid madde içeriği arasında farklılık olduğu görülmektedir ($P<0,05$). Tukey testi ile örnekler arasındaki farklılık incelendiğinde ise mor havuç suyu konsantresinin flavonoid madde içeriğinin diğer tüm örneklerden farklı olduğu görülmektedir. Ayrıca şalgam suyu örneğinin flavonoid madde içeriği ticari nar suyu ve nar ekşisi örneklerinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Diğer örneklerin birbiri arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P<0,05$).

Varyans analiz sonuçları ve Tukey testinin detaylı sonuçları EK B’de Tablo B3 ve Tablo B4’de verilmiştir.

Literatürde mevcut çalışmalar incelendiğinde bu çalışmada analizlenen örnekler ile ilgili olarak toplam flavonoid analizine rastlanamamıştır. Benzer bazı meyveler ile ilgili bazı çalışmalar ise şöyledir; Lin ve Tang (2006) çeşitli meyvelerde toplam flavonoid madde miktarını kuersetin flavonoidi cinsinden hesaplamışlar çilek için 14.6 mg QE/ 100 g, dut için 250.1 mg QE/ 100 g, ve erik için 37.6 mg QE/ 100 g olarak bulmuşlardır. Marinova ve diğ., (2005) ise kateşin eşdeğeri cinsinden toplam flavonoid miktarını ahududu için 26.6 mg CE/100 g, böğürtlen için 55.5 mg CE/100 g, çilek için ise 69,7 mg CE/100 g ve tatlı kiraz için 19.6 mg CE/100 g olarak bulmuşlardır.

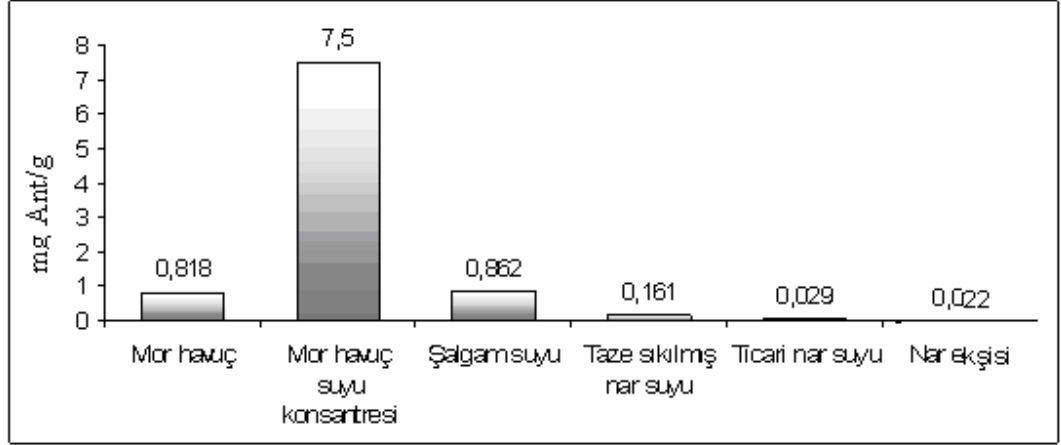
4.4. Toplam Antosiyanin Analizi

Örneklerin içerdiği antosiyanin miktarı siyanidin-3-glikozit cinsinden Tablo 4.5’de olduğu gibi bulunmuştur.

Tablo 4.5: Örneklerin toplam antosiyanin madde miktarı

Örnek	Miktar
Mor havuç	0,81 mg Ant/ g
Mor havuç suyu konsantresi	7,5 mg Ant/g
Şalgam suyu	0,86 mg Ant/g
Taze sıkılmış nar suyu	0,161 mg Ant/g
Ticari nar suyu	0,029 mg Ant/g
Nar ekşisi	0,022 mg Ant/g

Tüm örneklerin içerdikleri antosiyanin miktarını karşılaştırmak amacıyla sıvı örnekler için piknometre yardımı ile hesaplanan yoğunluklardan yararlanılarak, antosiyanin madde içeriği tüm örneklerde gram ekstrakta mg siyanidin-3-glikozit eşdeğeri olarak belirlenmiştir ve bulunan sonuçlar şekil 4.5’de mg Ant /g cinsinden gösterilmiştir.



Şekil 4.5: Örneklerin toplam antosiyanin madde miktarı

Analizlenen örneklerin içinde mor havuç suyu konsantresinin en fazla miktarda antosiyanin içerdiği görülmektedir. Daha sonra sırası ile şalgam suyu, mor havuç ve taze sıkılmış nar suyu gelmektedir. Ticari nar suyu ve nar ekşisinde ise antosiyaninler ısıtma işlemi sonucu degrade olduğu düşünülmektedir. Kırca ve diğ., (2005) Antosiyaninler'in yüksek reaktivitelerinden ve sıcaklığa olan dayanıksızlıklarından dolayı renksiz ya da istenmeyen kahverengi bileşenlere degrade olduklarını belirtmişlerdir. Ancak bunun yanı sıra Kırca ve diğ., (2005) mor havuç antosiyaninlerinin açılmış yapıda olduklarından ötürü diğer antosiyaninlere kıyasla ısıtma işlemi daha dayanıklı olduklarını belirtmişlerdir.

Örneklerin toplam antosiyanin içeriği tek yönlü ANOVA testi sonuçlarına göre farklı bulunmuştur. Tukey testi ile örnekler arasındaki farklılık incelendiğinde ise şalgam suyu ile mor havuç örneklerinin antosiyanin içeriği ve ticari nar suyu, taze nar suyu ile nar ekşisi örneklerinin birbiri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunurken, diğer örneklerin birbiri arasındaki fark ise önemli bulunmuştur. ($P < 0,05$). Varyans analiz sonuçları ve Tukey testinin detaylı sonuçları EK B'de Tablo B5 ve Tablo B6'da verilmiştir.

Bulunan sonuçları literatürde mevcut bazı çalışmalar ile karşılaştırdığımızda Mazza ve Miniati (1993) mor havucun antosiyanin içeriğinin taze meyvede 1750 mg/kg kadar olabileceğini bildirmişlerdir. Kırca ve diğ., (2006) ise mor havuç suyunda antosiyanin içeriğini 439 mg/L olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada ise mor havuç için antosiyanin miktarı 818 mg/kg olarak bulunmuştur. Şalgam suyunun antosiyanin miktarı ile ilgili olarak ise literatürde herhangi bir bilgiye rastlanamamıştır.

Nar ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde; Aviram ve diğ., (2005) narda bulunan antosiyanin miktarı 121 mg/L olarak bildirmişlerdir. Gil ve diğ., (2000) ise 161.9 ila 387.4 mg/L arasında olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada taze nar suyu için bulunan 174 mg/L değeri yapılan çalışmalara yakın bulunmuştur.

Benzer gıdalar ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde ise Pantelidis ve diğ., (2006) ise antosiyanin içeren ahududu ve böğürtlen gibi bazı zms meyvelerde antosiyanin miktarını pH- diferansiyel metodu ile belirlemişler ve siyanidin-3- glikozit eşdeğeri olarak en yüksek antosiyanin içeriği 223 mg/100g ile bĞrtlende görülürken en düşük antosiyanin içeriği 7.8 mg/100 g ile kuş üzümünde grlmştur. Zheng ve diğ., (2005) ilekte antosiyanin içeriğini pelargonidin-3-glikozit cinsinden 20.7 mg/100 g olarak bildirmişlerdir. Roussis ve diğ., (2005) 4 çeşit şarap örneğinde antosiyanin miktarını malvidin-3-glikozit cinsinden 0-130 mg/L arasında bulmuşlardır. Blando ve diğ., (2004) ise kromatografik analiz sonuçlarına göre ekşi kiraz çeşitlerinde antosiyanin içeriğini 27.8 ila 80.4 mg/100 g arasında olduğunu bildirmişlerdir.

4.5. Antioksidan Aktivitesi Analizleri Sonuçları

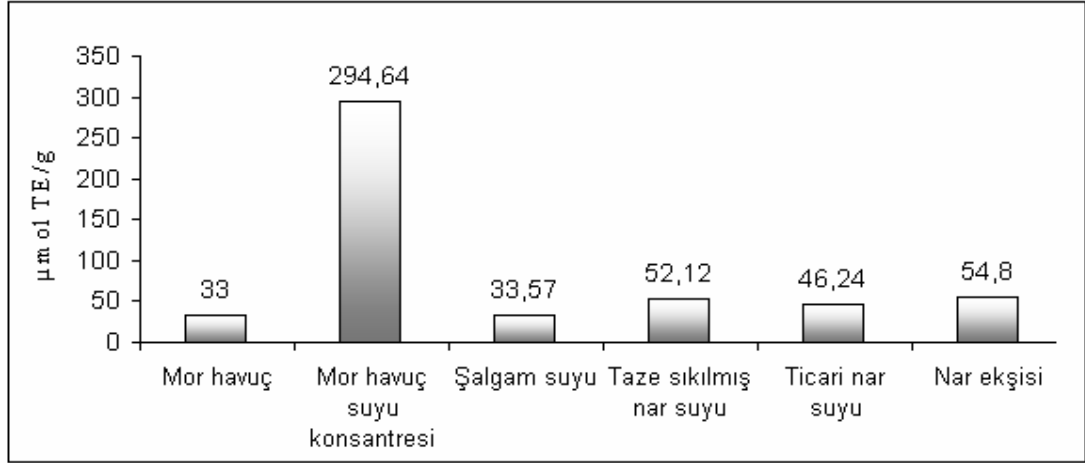
4.5.1. DPPH Radikali Yakalama Aktivitesi

DPHH radikali yakalama metodu ile yapılan antioksidan aktivitesi ölçümünde ilk olarak örneklerin EC₅₀ değeri hesaplanmış ve daha sonra Troloks standartı için EC₅₀ değeri hesaplanmıştır ve örneklerin antioksidan aktivite değerleri Troloks eşdeğerine çevrilerek verilmiştir. Toplam antioksidan aktivitesinde hesaplanan EC₅₀ değeri ne kadar düşükse örneklerin antioksidan aktivitesi o kadar yüksektir. rnek ekstraktlarının EC₅₀ değeri ve Troloks eşdeğeri Tablo 4.6 da gösterilmiştir.

Tablo 4.6: rnek ekstraktlarının EC₅₀ değeri ve Troloks eşdeğeri

rnek	EC ₅₀	Standart sapma	Troloks eşdeğeri
Mor havuç	0,57 (mg/ml)	± 0,026	33 μmol TE/g
Mor havuç suyu konsantresi	0,064 (mg/ml)	± 0,004	294.64 μmol TE/g
şalgam suyu	0,000556 (ml/ml)	± 1,271E-05	33.57 μmol TE/g
Taze nar suyu	0,000377 (ml/ml)	± 1,21 E-05	52.12 μmol TE/g
Ticari nar suyu	0,000441(ml/ml)	± 3,61 E-05	46.24 μmol TE/g
Nar ekşişi	0,3447 (ml/ml)	± 0,007	54.8 μmol TE/g
Troloks	0,00472 (ml/ml)	-	-

Deneysel çalışmalar sonucunda elde edilen antioksidan aktiviteleri; mor havuç, mor havuç suyu konsantresi, şalgam suyu, taze sıkılmış nar suyu, ticari nar suyu, nar ekşisi için sırasıyla 33, 294.64, 33.57, 52.12, 46.24, 54.8 $\mu\text{mol TE/g}$ olarak bulunmuş ve bu değerler Şekil 4.6’da karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.6: Troloks eşdeğeri olarak örneklerin antioksidan aktivitesi

Konsantre edilmiş mor havuç suyu örneğinde antioksidan aktivite en yüksek olarak gözlenirken en düşük aktivite ise mor havuçta görülmüştür. Troloks standardı mor havuç suyu konsantresinden yaklaşık 14 kat mor havuçtan ise 121 kat daha yüksek aktivite göstermektedir. Yapılan araştırmada mor havuç ve konsantresine ait literatür çalışmalarının sınırlı sayıda olduğu görülmüştür. El ve Karakaya (2004) yaptıkları çalışmada Troloks’un mor havuçtan 128 kat daha fazla aktivite gösterdiğini bulmuşlardır.

Nar suyu ile ilgili olarak ise literatürde mevcut çalışmalardan Gil ve diğ., (2000)’ e bakıldığında çeşitli ticari nar suyu örnekleri ile çalışılmış ve nar suyunun kırmızı şarap ve yeşil çay örneklerinden yaklaşık 3 kat daha fazla antioksidan aktivite gösterdiği DPPH metoduna göre belirlenmiştir.

Bir başka çalışmada, nar kabuğu ve tohumunun ekstraktlarında in vitro model kullanılarak DPPH metodu ile aktivite belirlenmiştir. 50 ppm de nar kabuğunun metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi %81 olarak 100 ppm de nar tohumunun metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi % 23.2 olarak rapor edilmiştir (Singh ve diğ., 2002).

Aviram ve diğ., (1999) ise nar suyunun oksidatif stresi düşürmesi ile ilgili olarak yapmış oldukları çalışmada antioksidan aktivitesini DPPH metodu ile ölçmüşler ve

nar suyunun antioksidan aktivitesini E vitamini eşdeğeri olarak 50 mmol E vit/L olarak bulmuşlardır. Troloks'un E vitamini analogu olduğu düşünülecek olursa, bu çalışmada taze nar suyu için bulunan 52,12 $\mu\text{mol TE/g}$ değerinin Aviram ve diğ., (1999)'nin bulduğu sonuca oldukça yakın olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada ise DPPH metodu ile antioksidan aktivitesi belirlemede örneklerin Troloks standardı cinsinden EC_{50} değerleri karşılaştırılmış ve taze nar suyu örneğinin mor havuç ve şalgam suyuna göre yaklaşık 1.5 kat daha yüksek aktivite gösterdiği görülmüştür. Bulunan sonuçlara göre nar suyunun iyi bir serbest radikal yakalayıcı olduğu gözlenmiştir. Ancak taze nar suyu örneğinin Troloks eşdeğerinin ticari nar suyuna göre nispeten daha yüksek olduğu görülmüştür.

Ayrıca bu yöntem ile yapılmış literatürde mevcut diğer bazı çalışmalar incelendiğinde, Miller ve diğ., (2000) çeşitli meyvelerde DPPH metodu ile antioksidan aktivitesini kırmızı elma için 14 $\mu\text{mol TE/g}$, kırmızı üzüm için 17 $\mu\text{mol TE/g}$, muz için 11 $\mu\text{mol TE/g}$, kivi için 10 $\mu\text{mol TE/g}$, armut için 6 $\mu\text{mol TE/g}$, domates için 2 $\mu\text{mol TE/g}$ olarak bulmuştur. Buradaki sonuçlar göz önüne alındığında, çalışmada analizlenen tüm örneklerin kırmızı üzüm, kırmızı elma, kivi, muz, armut ve domatesten daha yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğu görülmektedir.

4.5.2. ABTS $^{\bullet+}$ Radikal Katyon Yakalama Aktivitesi

Bu metotda örnek ekstraktlarının antioksidan kapasitesi ABTS $^{\bullet+}$ radikal katyonunu yakalama kabiliyetine göre ölçülmüş ve sonuçlar Troloks standardı ile kıyaslanmıştır.

ABTS $^{\bullet+}$ ve örnek ekstraktlarının reaksiyonundan 4.ve 10. dakikalardan sonra 734 nm de spektrofotometrik olarak ölçüm yapılmıştır. Ayrıca örneklerin belirlenen konsantrasyonlarda TEAC değerlerinin hesaplanması amacıyla 0-3 mM aralığında Troloks için aynı işlemler uygulanmıştır. ABTS $^{\bullet+}$ inhibisyonunun oldukça hızlı gerçekleştiği gözlenmiştir. Örneklerin antioksidan aktiviteleri Troloks eşdeğeri (TEAC) ve yüzde ABTS $^{\bullet+}$ inhibisyonu olarak Tablo 4.7 ve 4.8'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7: 4.dakikada % ABTS^{•+} azalması ve Troloks eşdeğeri

Örnek	Örneklerin başlangıç konsantrasyonu	%ABTS ^{•+} inhibisyonu	TEAC (mM troloks)
Mor havuç	200 ^a	92,58 ± 1,7	2,79 ± 0,05
	100 ^a	65,28 ± 5,6	1,90 ± 0,17
	50 ^a	49,69 ± 2,6	1,33 ± 0,081
Mor havuç suyu konsantresi	10 ^a	100	3
	5 ^a	69,3 ± 3,3	2,03 ± 0,1
	2,5 ^a	50,56 ± 2	1,43 ± 0,06
Şalgam suyu	0,2 ^b	49,36 ± 4,6	1,39 ± 0,14
	0,1 ^b	30,51 ± 1,3	0,79 ± 0,04
	0,05 ^b	23,9 ± 4	0,58 ± 0,12
Taze sıkılmış nar suyu	0,05 ^b	100	3
	0,025 ^b	88,5 ± 1,34	2,64 ± 0,04
	0,0125 ^b	62,45 ± 1,5	1,83 ± 0,04
Ticari nar suyu	0,05 ^b	100	3
	0,025 ^b	72,28 ± 1,5	2,12 ± 0,04
	0,0125 ^b	51,88 ± 2,5	1,46 ± 0,06
Nar ekşisi	200 ^a	100	3
	100 ^a	77,17 ± 5,2	2,27 ± 0,16
	50 ^a	43,12 ± 2,49	1,22 ± 0,07

a: mg örnek/ml çözgen

b: ml örnek/ml çözgen

Tablo 4.8 : 10.dakikada % ABTS^{•+} azalması ve Troloks eşdeğeri

Örnek	Örneklerin başlangıç konsantrasyonu	%ABTS ^{•+} inhibisyonu	TEAC (mM troloks)
Mor havuç	200 ^a	100	3
	100 ^a	71,5 ± 2,1	2,1 ± 0,06
	50 ^a	51,9 ± 2,6	1,77 ± 0,08
Mor havuç suyu konsantresi	10 ^a	100	3
	5 ^a	79,8 ± 3,8	2,36 ± 0,12
	2,5 ^a	53,5 ± 2	1,52 ± 0,03
Şalgam suyu	0,2 ^b	55,4 ± 3,6	1,59 ± 0,11
	0,1 ^b	32,1 ± 1,6	0,85 ± 0,02
	0,05 ^b	25,9 ± 2,6	0,65 ± 0,08
Taze sıkılmış nar suyu	0,05 ^b	100	3
	0,025 ^b	94,65 ± 2	2,83 ± 0,06
	0,0125 ^b	60 ± 3,5	1,73 ± 0,11
Ticari nar suyu	0,05 ^b	100	3
	0,025 ^b	74,48 ± 2,8	2,2 ± 0,09
	0,0125 ^b	42,32 ± 0,3	1,16 ± 0,01
Nar ekşisi	200 ^a	100	3
	100 ^a	76,7 ± 2	2,26 ± 0,06
	50 ^a	50 ± 4,7	1,41 ± 0,14

a: mg örnek/ml çözgen

b: ml örnek/ml çözgen

Belirli konsantrasyondaki örneklerin ABTS radikal katyonu yakalama aktivitesine bakıldığında mor havuç için en etkili konsantrasyonun 200 mg/ml olduğu ve bu konsantrasyonda ABTS^{•+} inhibisyonunun % 100 olduğu görülmüştür. Mor havuç suyu konsantresi ise 10 mg/ml de % 100 inhibisyon sağlamıştır. Şalgam suyunun ise 0,2 ml/ml konsantrasyonda yaklaşık % 55 lik bir inhibisyon sağladığı görülmüştür. Nar suyu örnekleri ise 0,05 ml/ml konsantrasyonda % 100 inhibisyon sağlamıştır. Nar ekşisi ise 200 mg/ml de % 100 inhibisyon sağlamıştır. Şalgam suyunun diğer örneklerle göre daha düşük aktivite gösterdiği dikkat çekicidir. Şalgam suyu DPPH radikaline karşı daha yüksek aktivite gösterirken ABTS radikal katyonuna karşı daha düşük aktivite göstermiştir. Buradan çıkan sonuca göre, örneklerin antioksidan aktivitelerinin farklı yöntemlere göre direkt olarak karşılaştırılamayacağıdır. Bunun nedeni antioksidan aktivitesini ölçen tüm bu metotların farklı reaksiyonlara ve koşullara bağlı olmaları olarak açıklanabilir.

Bu metot ile ilgili literatürde mevcut çalışmalar incelendiğinde, Garcia-Alonso ve diğ., (2003) 28 çeşit meyvede antioksidan aktivitesini TEAC metodu ile belirlemişlerdir. Trabzon hurması 406 μ mol TE/g ile en yüksek aktiviteyi gösterirken, bunu sırası ile 192 μ mol TE/g değeri ile böğürtlen ve 163 μ mol TE/g değeri ile çilek izlemiştir. Nar ise yaklaşık olarak 50 μ mol TE/g değere sahip görülmüş, kırmızı üzüm ise yaklaşık 25 μ mol TE/g ile nar suyundan daha düşük aktivite göstermiştir. Blando ve diğ., (2004) ekşi kiraz çeşitlerinde TEAC değerini 2000-2600 μ mol TE/100 g olarak bildirmişlerdir. Gülçin (2005) ise 25 μ g/ml konsantrasyonundaki kafeik asitte antioksidan aktivitesini % ABTS^{•+} inhibisyonu olarak %92.9 olarak bulmuştur.

Mor havuç ve şalgam suyu örnekleri ile ilgili olarak ise literatürde mevcut çalışmaya rastlanamamıştır.

4.5.3. Metal Şelatlama Aktivitesi

Örneklerin metal şelatlama aktivitesi sonuçları Tablo 4.9’da gösterilmiştir. Bu analizde FeCl₂ nin ferrozin ile koyu mor renkli bir kompleks oluşturmaya dayanılarak spektrofotometrik olarak ölçüm yapılmıştır. Antioksidan maddeler tarafından şelatlanan demir iyonları ferrozin tarafından bağlanamayacağı için oluşacak olan mor renk şiddeti daha düşük olacak ve absorbans daha düşük okunacaktır. Düşük absorbans değeri yüksek şelatlama aktivitesini göstermektedir.

Yapılan ön denemelerde örnekler 10 dak, 30 dak ve 60 dak süre ile FeCl₂ ile inkübasyona bırakılmıştır. 10. ve 30. dakikalarda şelatlama aktivitesinin oldukça düşük olduğu görülmüştür. Örneklerin FeCl₂ ile inkübasyon süresinin artması ile şelatlama etkilerinin arttığı gözlenmiş ve örneklerin şelatlama aktivitesi 60 dak inkübe edildikten sonra belirlenmiştir. Ayrıca tüm örneklerin şelatlama aktivitesi üç konsantrasyon için belirlenmiştir. Yapılan ön denemelerde konsantrasyon değerinin belli bir değerin üzerine çıkması durumunda şelatlama aktivitesinin artmadığı aksine azaldığı (pro-oksidan etki) görülmüştür. Bu durumda maksimum şelatlama aktivitesi 0,1 ml örnek /ml çözgen konsantrasyonundaki taze nar suyunda (% 60.8) görülmüştür.

Tablo 4.9: Örneklerin metal şelatlama aktivitesi

Örnek	Örneklerin başlangıç konsantrasyonu	% Şelatlama Aktivitesi
Mor havuç	100 ^a	48,4 ± 2,7
	50 ^a	38,5 ± 0,7
	25 ^a	26,3 ± 0,8
Mor havuç suyu konsantresi	10 ^a	53,2 ± 2
	5 ^a	43,6 ± 0,7
	2,5 ^a	31 ± 1,3
Şalgam suyu	0,1 ^b	45,7 ± 0,8
	0,05 ^b	34,4 ± 2,8
	0,025 ^b	26,2 ± 0,9
Taze sıkılmış nar suyu	0,1 ^b	60,8 ± 0,17
	0,05 ^b	49,8 ± 1,8
	0,025 ^b	20,9 ± 3,5
Ticari nar suyu	0,1 ^b	59,9 ± 0,53
	0,05 ^b	42,8 ± 2,2
	0,025 ^b	11,8 ± 2,1
Nar ekşisi	100 ^a	53,4 ± 1,28
	50 ^a	34,4 ± 1,4
	25 ^a	26 ± 1,7

a: mg örnek/ml çözgen

b: ml örnek/ml çözgen

Metal şelatlama aktivitesini etkileyen en önemli özellik, fenolik bileşiklerin yapısında bulunan fonksiyonel gruplara ve bu fonksiyonel grupların pozisyonuna ve bulunma miktarına bağlıdır. Yapısında, -OH, -SH, -COOH, -PO₃H₂, C=O, -NR₂, -S- ve -O- fonksiyonel gruplarından en az iki tane bulunduran ve bunların uygun yapı ve fonksiyonel konfügrasyonundaki fenolik bileşiklerin, şelatlama özelliklerinin daha iyi olduğu görülmüştür (Arora ve diğ., 1998; Gülçin, 2005). Bu nedenle

örneklerin şelatlama aktivitesindeki farklılık, fenolik madde miktarlarının farklı olmasının yanı sıra, farklı yapı ve pozisyonlardaki fenolik madde gruplarına sahip olmaları ile açıklanabilmektedir.

El ve karakaya (2004), 200 mg/l konsantrasyonundaki turp ve mor havuç için 60 dk inkübasyon süresinden sonra alınan ölçümlerde şelatlama aktivitesini sırasıyla %72.8 ve 78.9 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada ise mor havuç için % 48.4 olarak bulunan şelatlama aktivitesi, El ve karakaya'nın çalışmasında bulunan sonuçtan daha düşük gözlenmiştir.

Çalışmada analizlenen diğer örnekler ile ilgili olarak ise literatürde mevcut çalışmaya rastlanamamıştır.

Karşılaştırma yapmak amacı ile literatürde mevcut diğer çalışmalar incelendiğinde ise Gülçin (2005) 10 µg/ml konsantrasyonundaki kafeik asit için şelatlama aktivitesini % 53.2 olarak bulurken referans antioksidanların aynı konsantrasyondaki şelatlama aktivitesini BHA için, % 72.1, BHT için % 64.3 α tokoferol için % 21.6 ve Troloks için % 48.5 olarak bulmuştur.

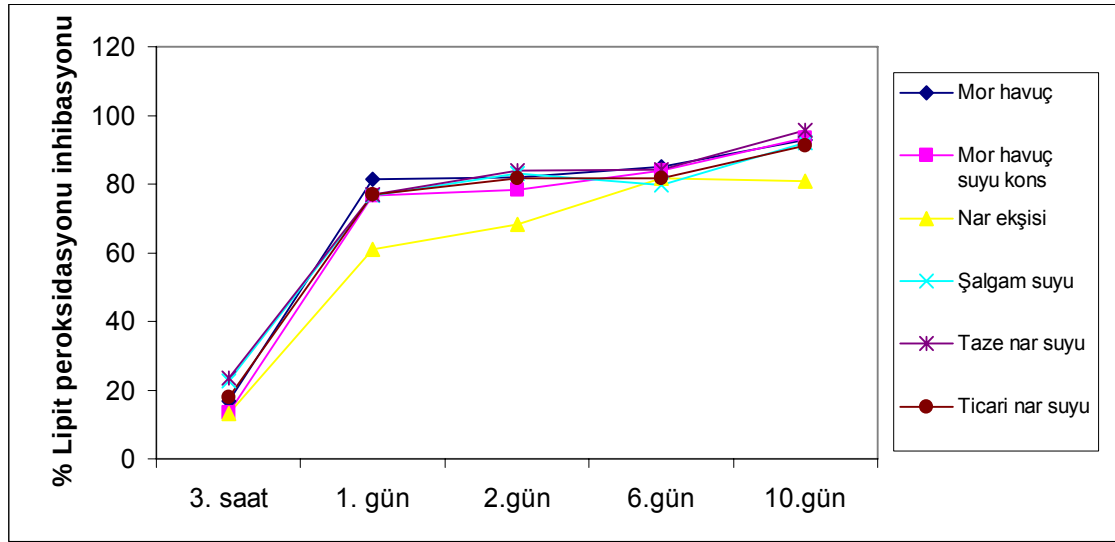
Kulkarni ve diğ., (2004)'nin nar suyunda bulunduğu bilinen fenolik maddelerden biri olan punikalagin ile ilgili yaptıkları çalışmada, metal şelatlama aktivitesi punikalagin için 100 µg/ml konsantrasyonda % 1.67 olarak oldukça düşük miktarda bulunmuştur ve yapısında oldukça fazla hidroksil iyonu bulunduran punikalagin maddesinin niçin şelatlama aktivitesi göstermediği açıklanamamıştır. Buradan gözlenen sonuca göre, hidroksilasyon sayısının, yanı sıra fenolik maddelerin yapısal durumun şelatlama üzerinde oldukça etkili bir faktör olduğudur.

4.5.4. Linoleik Asit Emülsiyon Sistemi veya Demir tiyosiyanat Metodu

Bu çalışmada analizlenen tüm örnek ekstraktlarının linoleik asit emülsiyonun sistemi içinde iyi bir antioksidan olduğu lipid peroksidasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği görülmektedir. Tablo 4.10 ve Şekil 4.7 örneklerin çeşitli zaman aralıklarında ölçülen linoleik asit peroksidasyon inhibisyon yüzdeleri göstermektedir.

Tablo 4.10: Örneklerin çeşitli zamanlardaki linoleik asit peroksidasyon inhibisyon yüzdesi

Örnek	3. saat	1. gün	2.gün	6.gün	10.gün
Mor havuç (200 mg/ml)	16,9±0,7	81,4±1,3	81,9±0,7	85±2	92,9±0,5
Mor havuç suyu konsantresi (20 mg/ml)	13,4±2,8	76,6±0,5	78,3±0,5	83,8±0,8	93,4±1,2
Şalgam suyu (0,2 ml/ml)	22,6±0,7	76,6±0,5	83,1±0,3	79,6±1,8	92±0,6
Taze nar suyu (0,2 ml/ml)	23,5±3,2	77±2,5	84±1,4	84± 0,7	95,6±0,4
Ticari nar suyu (0,2 ml/ml)	17,9 ±2,9	76,9±3,1	81,7±0,5	81,6±2,2	91,2±1
Nar ekşisi (100 mg/ml)	13±1,6	60,9±2,5	68,2±2,7	81,7±1	80,9±0,6



Şekil 4.7: Linoleik asit peroksidasyon inhibisyonunun grafiksel olarak gösterimi

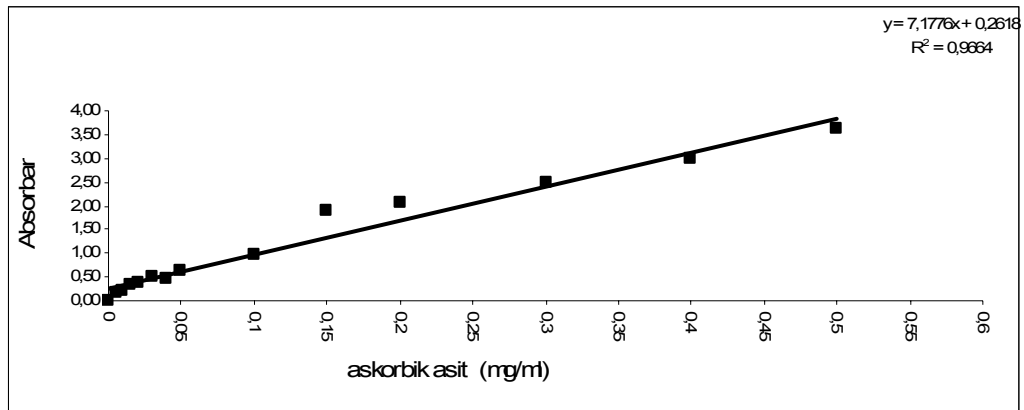
Tablo 4.10'a ve Şekil 4.7'ye bakıldığında tüm örneklerin linoleik asit peroksidasyonuna karşı oldukça yüksek inhibisyon gücüne sahip olduğu görülmektedir. Örneklerin lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi çeşitli zaman aralıklarında ölçülmüş ve inhibisyonun zamanla arttığı görülmüştür. 3. saatte yapılan ölçümlerde linoleik asitin yeterince okside olmaması nedeni ile antioksidan madde içeren örneklerde absorbans değeri kontrol örneğine yakın bulunmuştur. Linoleik asitin zamanla okside olması ile kontrol örneğinin absorbansı artmış ve örneklerin lipid peroksidasyonu inhibe etme yüzdesi de zamanla artmıştır ve tüm örneklerde en iyi inhibisyon 10. günde görülmüştür. Belirlenen konsantrasyon aralığındaki örnek ekstraktlarının lipid peroksidasyonunu inhibe etme dereceleri oldukça yakın olarak hesaplanmış tüm örnek ekstraktları 6. günün sonunda %80'in üzerinde aktivite

göstermiştir. 10. günde ise taze nar suyu örneğinin % 95.6 ile en yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

Literatürde mevcut çalışmalar incelendiğinde bu çalışmadaki analiz örnekleri ile ilgili olarak bu metot ile yapılmış çalışmaya rastlanamamıştır. Karşılaştırma yapmak amacı ile Gülçin (2005)'in kafeik asitte antioksidan aktivite belirleme ile ilgili yapmış olduğu çalışma incelendiğinde 12. saatin sonunda yapılan ölçümlerde kafeik asitin linoleik asit inhibisyonunu sırasıyla 20 µg/ml ve 10 µg/ml konsantrasyonda % 75.8, % 68.2 olduğu görülmüştür. Referans standart olarak kullanılan BHA, BHT, α tokoferol ve Troloks için ise 20 µg/ml konsantrasyonda linoleik asit inhibisyonunu sırasıyla % 74.4, %71.2, % 54.7, % 20.1 olduğu görülmüştür. Que ve diğ., (2006)'nin yapmış olduğu çalışma incelendiğinde ise, linoleik asit sistemi içerisinde 100 µl olarak bulunan sarı renkli şarap örneğinde, 120 saat sonunda yapılan ölçümlerde linoleik asit inhibisyonunun % 97.99 olduğu görülmüştür ayrıca aynı çalışmada 1 g/L α tokoferol ve 1 g/L BHA referans standart maddelerinin 100 µl'si için linoleik asit inhibisyonu sırasıyla %77.1 ve % 98.35 olarak bulunmuştur. Mathew ve Abraham (2006) ise 48. saat içinde yaptıkları ölçümde 200 µg/ml tarçın kabuğu ekstraktı ve 200 µg/ml BHA için sırasıyla % 93.3 ve % 89.8 olarak bulmuşlardır.

4.5.5. İndirgeme Gücü Metodu (Redüktif Potansiyel)

Örneklerin demir(III) iyonlarını indirgeme gücüne dayanılarak antioksidan aktivitesi belirlemeye dayanan bu yöntemde her bir analiz örneği için uygun olan iki konsantrasyonda çalışılmış ve sonuçlar askorbik asit için çizilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak askorbik asit standartına çevrilerek karşılaştırılmıştır. Şekil 4.8 askorbik asitin indirgeme gücünü göstermektedir.



Şekil 4.8 : Askorbik asitin indirgeme gücüne dayanılarak çizilen kalibrasyon eğrisi

Tablo 4.11’de örneklerin askorbik asit eşdeğeri gösterilmiştir. En yüksek değer 10 mg/ml konsantrasyonundaki mor havuç suyu konsantresinde görülmüştür, ardından 0,2 ml/ml konsantrasyonundaki taze ve ticari nar suyu örneği gelmektedir. Analizlenen örneklerin içerisinde en düşük indirgeme gücü ise şalgam suyunda görülmüştür. Yapılan ön denemelerde örnek konsantrasyonlarının bu analiz için hesaplanmış olan konsantrasyon değerlerinin üzerine çıkarılması durumunda indirgeme gücünün artmadığı görülmüştür. Bunun nedeni ise antioksidan maddelerin belirli bir konsantrasyonun üzerinde azalma eğilimi (pro-oksidan etki) göstermeleri ile açıklanabilmektedir.

Tablo 4.11: Örneklerin askorbik asit eşdeğeri olarak indirgeme gücü

Örnek	Örneklerin başlangıç konsantrasyonu	Askorbik asit eşdeğeri (mg/ml)
Mor havuç	100 ^a	0,16 ±0,01
	50 ^a	0,13 ±0,01
Mor havuç suyu konsantresi	10 ^a	0,25 ±0,05
	5 ^a	0,18 ±0,07
Şalgam suyu	0,2 ^b	0,08 ±0,01
	0,1 ^b	0,05 ±0,001
Taze sıkılmış nar suyu	0,2 ^b	0,2 ±0,05
	0,1 ^b	0,15 ±0,01
Ticari nar suyu	0,2 ^b	0,20 ±0,01
	0,1 ^b	0,17 ±0,01
Nar ekşisi	100 ^a	0,15 ±0,01
	50 ^a	0,14 ±0,01

a: mg örnek/ml çözgen

b: ml örnek/ml çözgen

Analizlenen örneklerin indirgeme gücü ile ilgili olarak literatürde mevcut çalışmaya rastlanamamıştır. Liyana-Patrihana ve diğ., (2005) bir çeşit kiraz (*Laurocerasus officinalis Roem*) türünde ve pekmezinde antioksidan aktivitesini indirgeme gücü metodu ile belirlemişler ve sonuçlar μM askorbik asit cinsinden ifade etmişlerdir. Kiraz için 100 ppm, 200 ppm ve 400 ppm konsantrasyonlarda sırası ile $7 \pm 0.1 \mu\text{M}$, $11.8 \pm 0.1 \mu\text{M}$, $20.7 \pm 0.1 \mu\text{M}$ olarak, pekmezinde ise 100 ppm, 200 ppm ve 400 ppm konsantrasyonlarda sırası ile $6.2 \pm 0.2 \mu\text{M}$, $17.2 \pm 0.5 \mu\text{M}$, $39.3 \pm 0.7 \mu\text{M}$ olarak hesaplanmıştır. Kateşin referansı ise 100 ppm, 200 ppm ve 400 ppm de 622 μM olarak hesaplanmıştır.

Que ve diğ., (2006)’nin yapmış olduğu çalışma incelendiğinde ise, 200 μl sarı renkli şarap örneği için indirgeme gücünü yaklaşık 0,3 Abs değeri olarak bulunmuştur.

İndirgeme gücünü referans standartlardan 200 µl ve 1 g/L α tokoferol ve 1 g/L BHA için ise sırasıyla 1.1 ve 0.7 Abs değeri olarak bulmuşlardır.

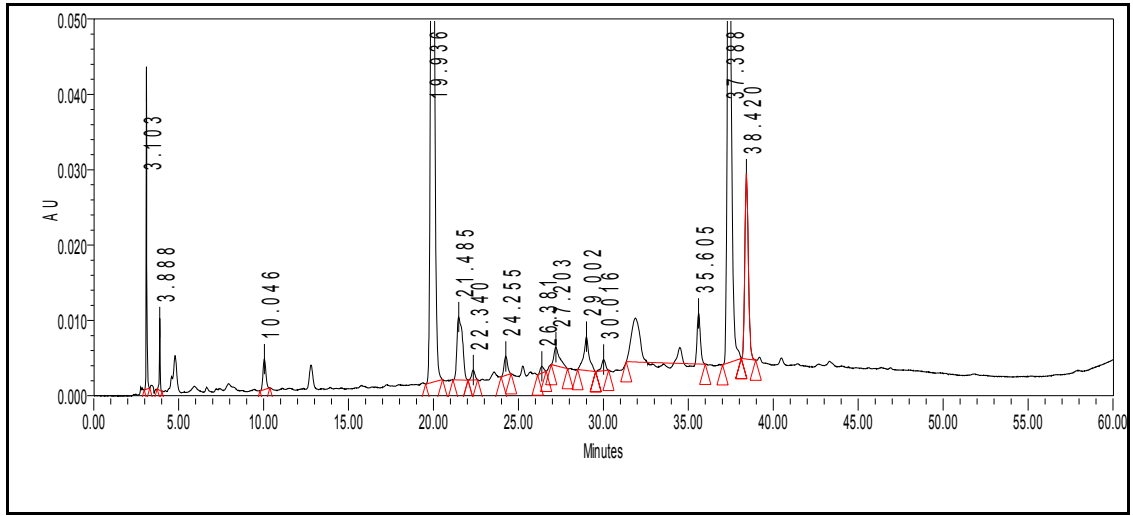
4.6. Örneklerin Fenolik Madde Profilleri

Antioksidan aktiviteleri çeşitli metotlar ile ve fenolik madde miktarları Folin-ciocalteu metodu ile belirlenmiş olan örneklerin, fenolik madde profilleri HPLC sisteminde tanımlanmıştır. Standartlara ait kolonda alıkonma süreleri Tablo 4.12’de verilmiştir.

Mor havuç suyu konsantresi ekstraksiyonuna ait HPLC kromatogramları Şekil 4.9 ve Şekil 4.10’da ve değerlendirme sonuçları Tablo 4.13’de, Mor havuç ekstraktına ait HPLC kromatogramları Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de ve değerlendirme sonuçları Tablo 4.14’de, şalgam suyu ekstraktına ait HPLC kromatogramları Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de değerlendirme sonuçları Tablo 4.15’de, Taze nar suyu ekstraktına ait HPLC kromatogramları Şekil 4.15 ve Şekil 4.16’da ve değerlendirme sonuçları Tablo 4.16’da, Ticari nar suyu ekstraktına ait HPLC kromatogramları Şekil 4.17 ve Şekil 4.18’de değerlendirme sonuçları Tablo 4.17’de, Nar ekşisi ekstraktına ait HPLC kromatogramları Şekil 4.19’ ve Şekil 4.20’de değerlendirme sonuçları Tablo 4.18’de, verilmiştir.

Tablo 4.12: Standartlara ait kolonda alıkonma süreleri

Alıkonma Süresi (dak.)	Fenolik bileşen
5.9	Gallik asit
8.7	3,4 Dihidroksibenzoik asit
9.2	(-)- Gallokateşin
18.4	(+)- Kateşin
20.5	Klorojenik asit
22.6	Kafeik asit
24.9	(-)- Epigallokateşingallat
26.6	Şirinjik asit
27.1	(-)-Epikateşin
31.9	P-Kumarik asit
36.7	Sinapik asit
36.8	Ferulik asit
39.6	Rutin
56.2	Kuersetin dihidrat
56.8	(-)-Kateşin
57.5	Luteolin

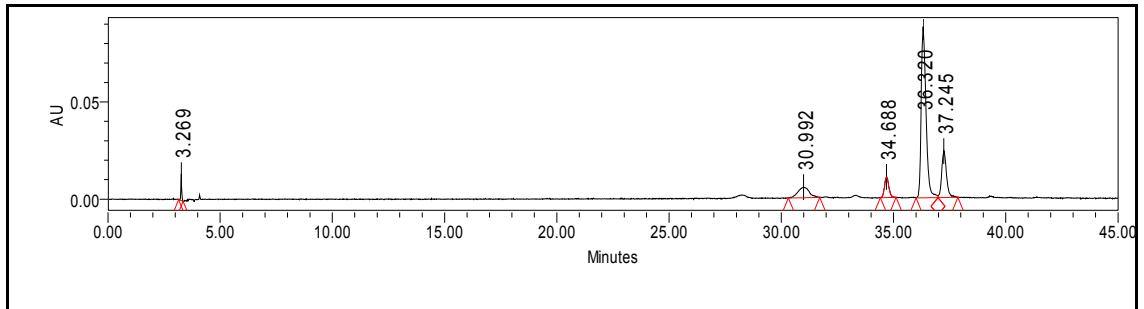


Şekil 4.9: Mor havuç suyu konsantresi ekstraktına ait 280 nm de HPLC kromatogramı

Tablo 4.13: Mor havuç suyu konsantresi ekstraktındaki fenolik bileşikler

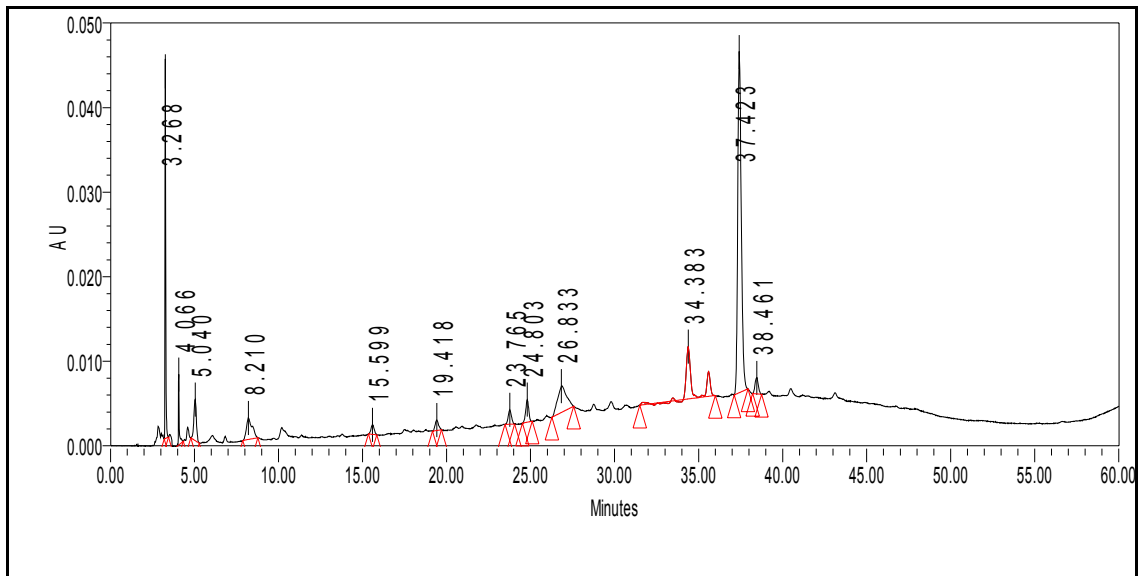
Alıkonna süresi (dak)	Fenolik madde	Alan	% Alan	Yükseklik	Miktar (mg/Kg)
3.103	Solvent piki	124009	2.90	37617	-
3.888	TM	29962	0.70	8343	-
10.046	3,4 dihidroksibenzoik asit	48235	1.13	4057	180
19.936	Klorojenik asit	1666160	38.93	118643	5900
21.485	Kafeik asit	189355	4.42	8355	186
22.340	TM	18056	0.42	1337	-
24.255	(-)-Epigallokateşingallat	36431	0.85	2529	320
26.381	Şirinjik asit	12857	0.30	889	47
27.203	(-) - Epikateşin	57604	1.35	2458	355
29.002	TM	98573	2.30	4491	-
30.016	TM	24175	0.56	1490	-
35.605	Antosiyanin	379050	8.86	6756	-
37.388	Antosiyanin	1240583	28.98	80243	-
38.420	Antosiyanin	355353	8.30	24609	-

TM: Tanımlanamayan madde



Şekil 4.10 : Mor havuç suyu konsantresi ekstraktına ait 520 nm de HPLC kromatogramı

Elde edilen kromatogram sonuçlarına göre mor havuç suyu konsantresinde 3,4 dihidroksibenzoik asit, klorojenik asit, kafeik asit, (-)- epikateşin, (-) epigallokateşin gallat ve şirinjik asit varlığı tanımlanmıştır. Klorojenik asitin 5900 mg/kg ile mor havuç suyu konsantresine ait temel fenolik bileşen olduğu görülmektedir. Kammarer ve diğ., (2004)'in, mor havuç ekstraktında yaptıkları çalışmada p-kumarik, kafeik ve ferulik asit gözlenmiş ve ayrıca hidroksi benzoik asit türevleri ve kuersetin glikozit de tespit edilmiştir. Kammarer ve diğ. yapmış olduğu çalışmada klorojenik asit mor havuç'un köklerinde 657 mg/kg ile ve konsantresinde 5815 mg/kg ile en baskın bileşen olduğu belirtilmiştir. Ayrıca mor havuç'un fenolik maddelerden olan antosiyaninlerce zengin olduğu bilinmektedir. Mor havuçta bulunan antosiyaninler açillenmiş yapıda olan veya açillenmemiş olan siyanidin türevleridir. Bu çalışmada antosiyanin madde varlığı aynı kromatografik koşulların 520 nm deki dalga boyunda incelenmesi ile belirlenmiştir. 280 nm ve 520 nm deki pikler incelendiğinde 520 nm deki kromatogramın daha sade olduğu görülmektedir. Bunun nedeni fenolik maddelerden antosiyaninlerin görünür ışığı 510-535 nm arasında absorblarken diğer fenolik maddelerin bu dalga boyu aralığında renksiz olmalarıdır. Bu çalışmada Revilla ve Ryan (2000)'ın üzüm ve şarap ekstraktlarından HPLC yöntemi ile antosiyanin ve diğer fenolik maddelerin ayrımı için kullandıkları farklı dalga boyu yöntemi örnek alınmıştır. Sonuç olarak 35.6, 37.3, 38.4 dak'larda gözlenen piklerin antosiyaninlere ait olduğu belirlenmiştir. Kromatogram incelendiğinde antosiyaninlerin yüzde olarak tüm fenolik maddelerin içinde yaklaşık % 47.5' lik alan taradığı görülmektedir.

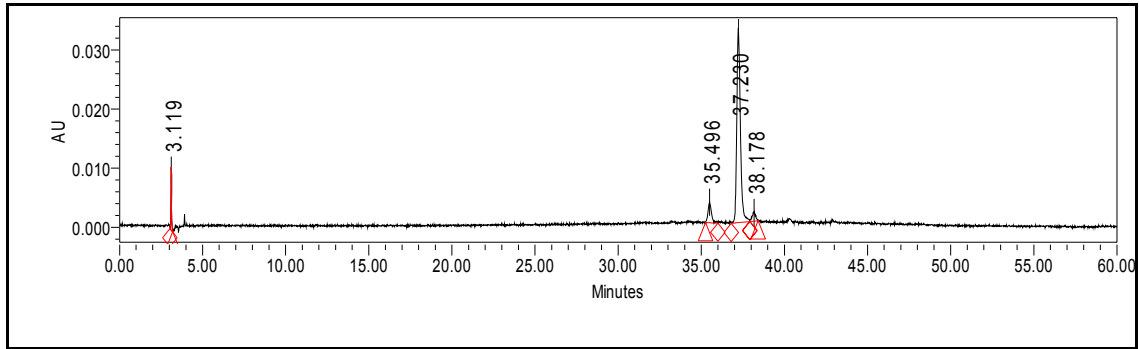


Şekil 4.11: Mor havuç ekstraktına ait 280 nm de HPLC kromatogramı

Tablo 4.14: Mor havuç ekstraktındaki fenolik bileşikler

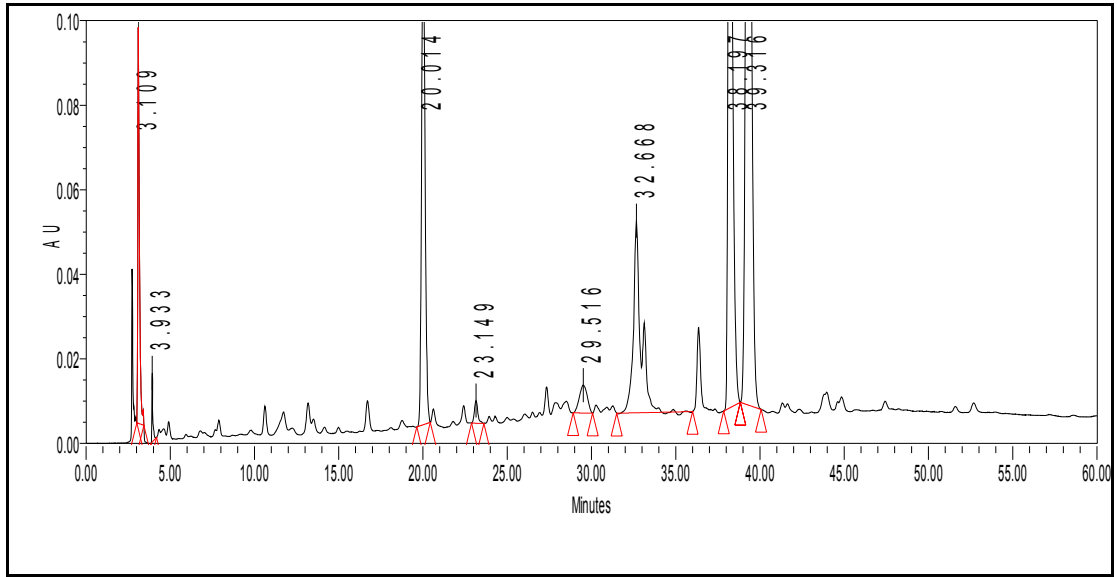
Ahkonma süresi (dak)	Fenolik madde	Alan	% Alan	Yseklik	Miktar (mg/Kg)
3.268	Solvent piki	129055	10.12	40934	-
4.066	TM	29549	2.32	7867	-
5.040	TM	51144	4.01	4889	-
8.210	3,4 dihidroksibenzoik asit	59985	4.71	2561	21.47
15.599	TM	15108	1.19	1139	-
19.418	Klorojenik asit	17447	1.37	1233	6
23.765	TM	22742	1.78	1686	-
24.803	(-)-Epigallokateşingallat	33311	2.61	2676	27.46
26.833	(-)- Epikateşin	114143	8.95	3099	78.16
34.383	Antosiyanin	172432	13.53	6204	-
37.423	Antosiyanin	592234	46.46	40437	-
38.461	Antosiyanin	26018	2.04	1893	-

TM: Tanımlanamayan madde



şekil 4.12: Mor havuç ekstraktına ait 520 nm de HPLC kromatogramı

Elde edilen kromatogram sonuçlarına göre mor havuç ekstraksiyonunda 3,4 dihidroksibenzoik asit, klorojenik asit, kafeik asit, (-)- epigallokateşin gallat ve (-)-epikateşin varlığı tanımlanmıştır. Mor havuun konsantresinde görülen kafeik asit ve şirinjik asit dışındaki tüm fenolikler mor havuç ekstraksiyonunda da görülmüştür. Ancak klorojenik asit mor havuçta çok düşük miktarda görülmüştür. 3,4 dihidroksibenzoik asit değeri konsantresinde 180 mg/kg iken mor havuç ekstraktında 21.47 mg/kg (%88 azalma), (-) epigallokateşin gallat değeri konsantresinde 320 mg/kg iken mor havuç ekstraktında 27.46 mg/kg (% 91 azalma), (-) – epikateşin değeri konsantresinde 355 mg/kg iken mor havuç ekstraktında 78.16 mg/kg (%75 azalma) olarak görülmüştür. 280 nm ve 520 nm deki her iki kromatogram incelendiğinde 35.4, 37.2, 38.1.dak’larda görülen piklerin antosiyaninlere ait olduğu belirlenmiştir. Kromatogram incelendiğinde antosiyaninlerin yüzde olarak tüm fenolik maddeler içinde yaklaşık % 69’ lık alan taradığı görülmektedir.

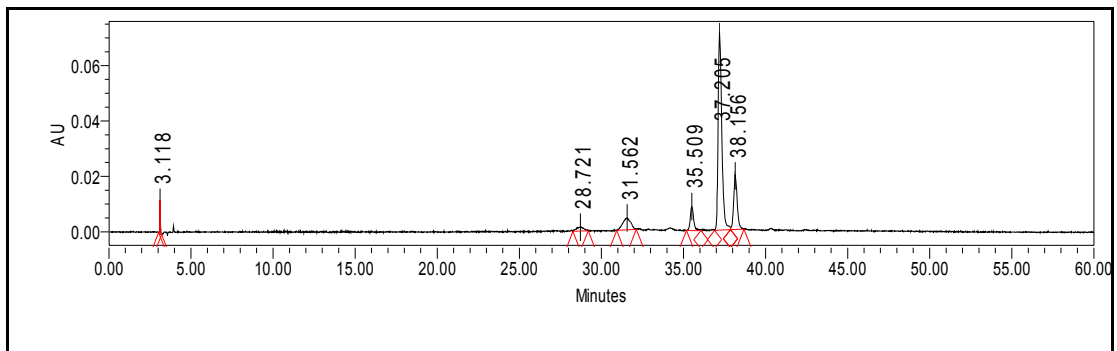


Şekil 4.13: Şalgam suyu ekstraktına ait 280 nm de HPLC kromatogramı

Tablo 4.15: Şalgam suyu ekstraktındaki fenolik bileşikler

Alıkonma süresi (dak)	Fenolik madde	Alan	% Alan	Yükseklik	Miktar (mg/L)
3.109	Solvent piki	626999	4.95	94975	-
3.933	TM	67013	0.53	15866	-
20.014	Klorojenik asit	1686821	13.32	118699	119.4
23.149	Kafeik asit	61760	0.49	4376	0.826
29.516	TM	215982	1.71	6583	-
32.668	p- Kumarik asit	1452583	11.47	45451	30.75
38.197	Antosiyanin	3391016	26.78	194965	-
39.316	Antosiyanin	5162180	40.76	241723	-

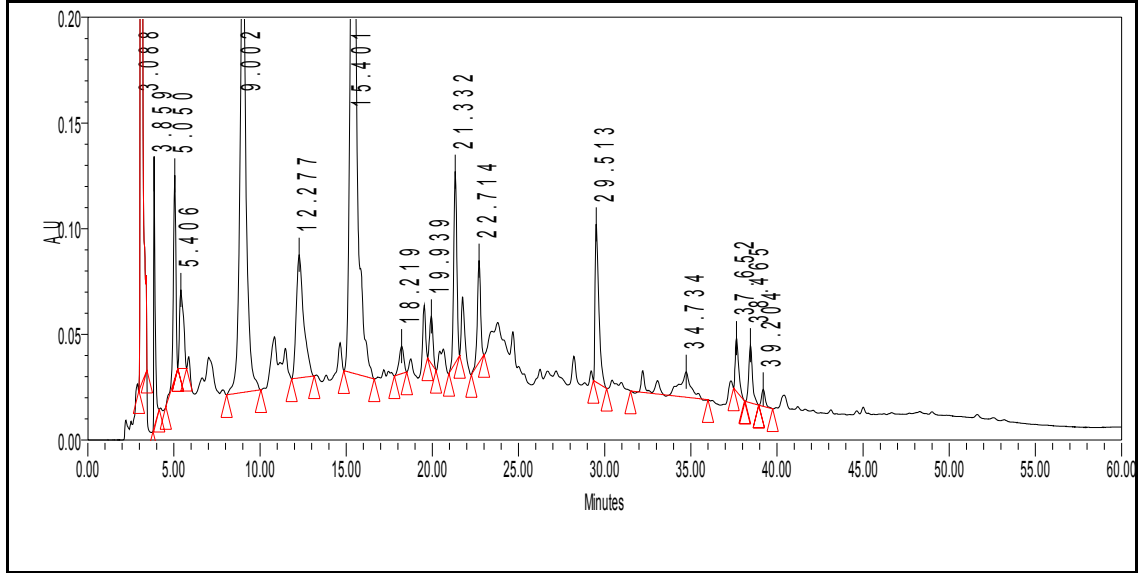
TM: Tanımlanamayan madde



Şekil 4.14: Şalgam suyu ekstraktına ait 520 nm de HPLC kromatogramı

Elde edilen kromatogram sonuçlarına göre şalgam suyunda klorojenik asitin 119.4 mg/L ile en baskın fenolik olduğu görülmektedir. Klorojenik asitin yanı sıra şalgam suyunda 30.75 mg/L p-kumarik asit varlığı tanımlanmıştır ayrıca çok düşük

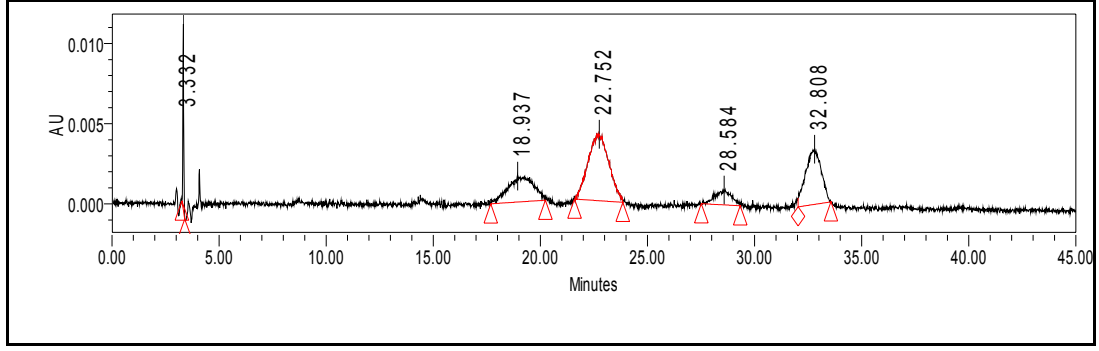
miktarda kafeik asit görülmüştür. 520 nm deki kromatogram incelendiğinde ise 35.5, 37.2, 38.1 dak larda görülen piklerin şalgam suyu antosiyaninlerine ait olduğu görülmektedir. Antosiyaninlerin ise yüzde olarak tüm fenolik maddeler içinde yaklaşık % 65' lik alan taradığı görülmektedir.



Şekil 4.15: Taze nar suyu ekstraktına ait 280 nm de HPLC kromatogramı

Tablo 4.16: Taze nar suyu ekstraktındaki fenolik bileşikler

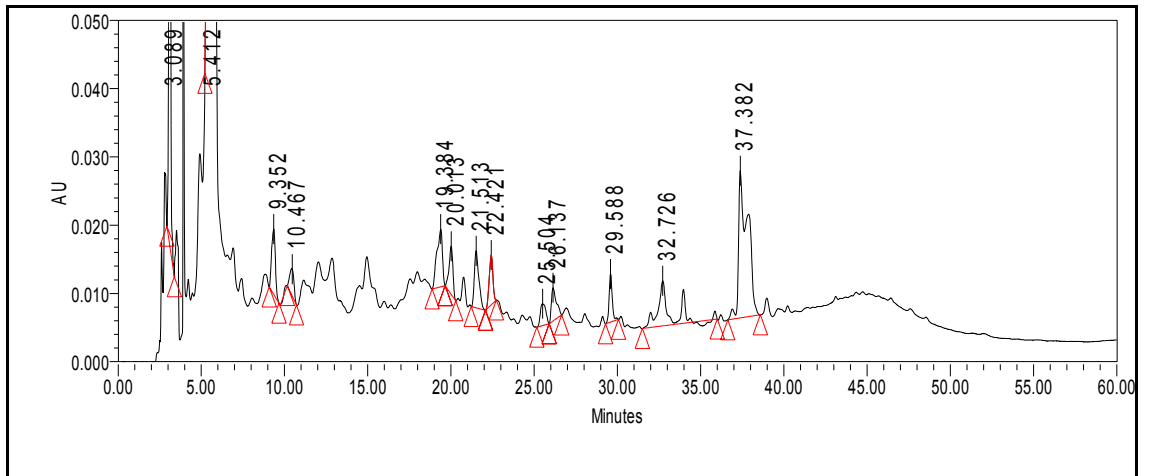
Altkonma süresi (dak)	Fenolik madde	Alan	% Alan	Yükseklik	Miktar (mg/L)
3.088	Solvent piki	8316512	26.46	1357418	-
3.859	TM	672310	2.14	123567	-
5.050	TM	986755	3.14	96057	-
5.406	Gallik asit	591032	1.88	37280	3
9.002	(-) - Gallokteşin	5381890	17.12	213195	162
12.277	TM	1714084	5.45	58268	-
15.401	TM	8627183	27.44	356779	-
18.219	(+) – Kateşin	239791	0.76	12975	30
19.939	Klorojenik asit	303392	0.97	22344	20.6
21.332	Kafeik asit	1154236	3.67	90451	31.7
22.714	TM	624244	1.99	48162	-
29.513	TM	1122964	3.57	74771	-
34.734	TM	827867	2.63	11984	-
37.652	Ferulik asit	351749	1.12	25200	15.6
38.465	TM	403607	1.28	27294	-
39.204	Rutin	118252	0.38	8083	16.9



Şekil 4.16: Taze nar suyu ekstraktına ait 520 nm de HPLC kromatogramı

Nar suyunun hidrolize olabilen tanenler ve antosiyaninlerce zengin bir ürün olduğu bilinmektedir. Nar suyunda bulunan hidrolize tanenlerin 417.3-556.6 mg/g antosiyaninlerin ise 161.9-387.4 mg/L aralığında olduğu rapor edilmiştir (Gil ve diğ., 2000). Du ve diğ., (1970) pelargonidin, delphinidin, ve siyanidin-3-glikozit ve 3,5 diglikozit antosiyaninlerini nar suyunda tanımlamışlardır. Yakın zamanlarda ise Gil ve diğ., (2000) Siyanidin 3-glikozit'in 59.5- 128 mg/L ile nar suyunun temel antosiyanini olduğunu belirtmişlerdir. Nar suyunda bulunan hidrolize tanenler ise gallotanenler, elajik asit, gallitanenler, punikalagin ve punikalın olarak belirtilmiştir (Gil ve diğ., 2000). Bunların yanı sıra nar suyunda düşük miktarlarda kateşin, epikateşin, gallokateşin, prosiyanidin varlığı tanımlanmıştır (de Pascual-Teresa ve diğ., 2000).

Bu çalışmadaki kromatogram sonuçlarına göre taze nar suyu örneğinde gallik asit, (-)- gallokateşin, (+) – kateşin, klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit ve rutin varlığı tanımlanmıştır. (-)- gallokateşin 162 mg/L ile en yüksek değere sahiptir. Ayrıca 520 nm deki kromatogramda görülen pikler nar suyu antosiyaninlerine aittir.

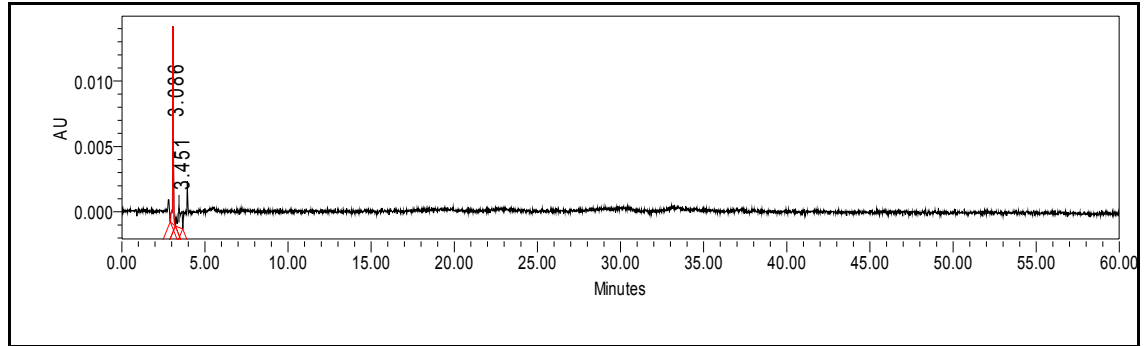


Şekil 4.17: Ticari nar suyu ekstraktına ait 280 nm de HPLC kromatogramı

Tablo 4.17: Ticari nar suyu ekstraktındaki fenolik bileşikler

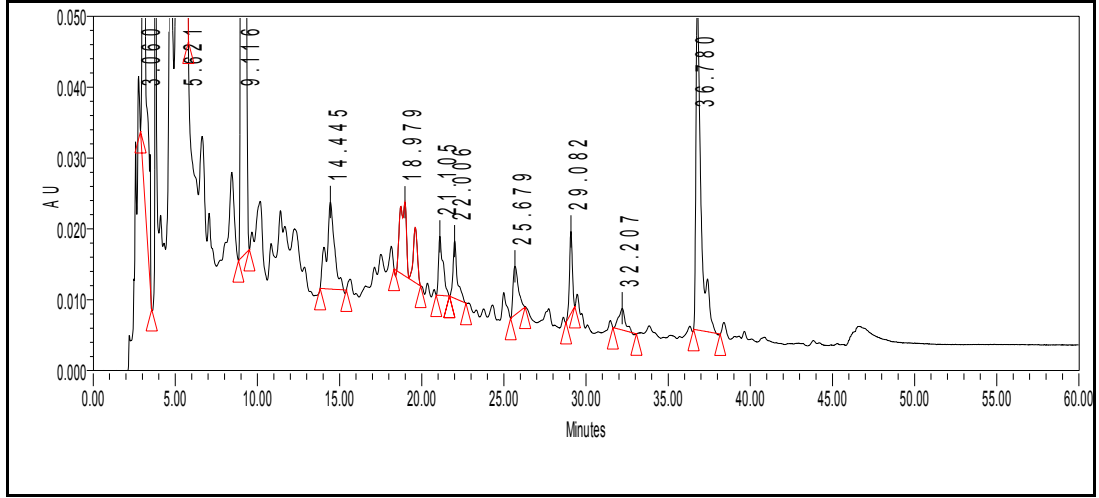
Ablkonma süresi (dak)	Fenolik madde	Alan	% Alan	Yükseklik	Miktar (mg/L)
3.089	Solvent piki	6810588	65.85	2049355	-
5.412	Gallik asit	129582	12.53	74249	7.8
9.352	(-)- Gallokateşin	148565	1.44	9557	13.6
10.467	TM	69156	0.67	3920	-
19.384	(+) – Kateşin	193946	1.88	8447	24.4
20.013	Klorojenik asit	113432	1.10	7077	7
21.513	TM	157577	1.52	8370	-
22.421	Kafeik asit	113233	1.09	7321	1.5
25.504	(-)-Epigallokateşingallat	73594	0.71	3193	18.2
26.137	TM	100638	0.97	4878	-
29.588	TM	92181	0.89	7062	-
32.726	P-kumarik asit	344292	3.33	6643	6.26
37.382	Ferulik asit	829590	8.02	21566	38.2

TM: Tanımlanamayan madde

**Şekil 4.18:** Ticari nar suyu ekstraktına ait 520 nm de HPLC kromatogramı

Kromatogram sonuçlarına göre ticari nar suyu örneğinde gallik asit, (-)- gallokateşin, (+)- kateşin, klorojenik asit, kafeik asit, (-)- epigallokateşingallat varlığı tanımlanmıştır. (-)- gallokateşin 13.6 mg/L ile taze nar suyu örneğine göre (162 mg/L) % 91 daha az görülmüştür. Bunun yanı sıra gallik asit miktarı 7.8 mg/L ile taze nar suyundan (3 mg/L) daha fazla görülmüştür. Ticari nar suyunda 24.4 mg/L olarak bulunan (+)- kateşin miktarları her iki nar suyu türünde de yakın görülmüştür. Klorojenik asit miktarı 7 mg/L ile taze nar suyuna göre (20.6 mg/L) % 66 daha az görülmüştür. Ticari nar suyunda görülen 1.5 mg/L ile kafeik asit miktarıda taze nar suyuna göre (31.7 mg/L) çok düşüktür. Ayrıca ticari nar suyu örneğinde taze nar suyunda görülmeyen (-)- epigallokateşingallat (18.2 mg/L) varlığı tanımlanmıştır. Ferulik asit miktarı ise (38.2 mg/L) ile taze nar suyunda görülen ferulik asitin yaklaşık iki katı olarak bulunmuştur. Her iki nar suyu örneğinde görülen fenolik maddeler arasındaki nitelik ve nicelik farklılığı kullanılan hammaddeden ve ticari nar suyu örneğine uygulanan ısıtıl işleminden kaynaklandığı

düşünülmektedir. Ayrıca 520 nm deki kromatogram incelendiğinde antosiyaninlere ait pike rastlanamamıştır, bunun nedeni ise yine ticari nar suyuna uygulanan ısıtıl işlem sonucu antosiyaninlerin degrade olması ile açıklanabilir.

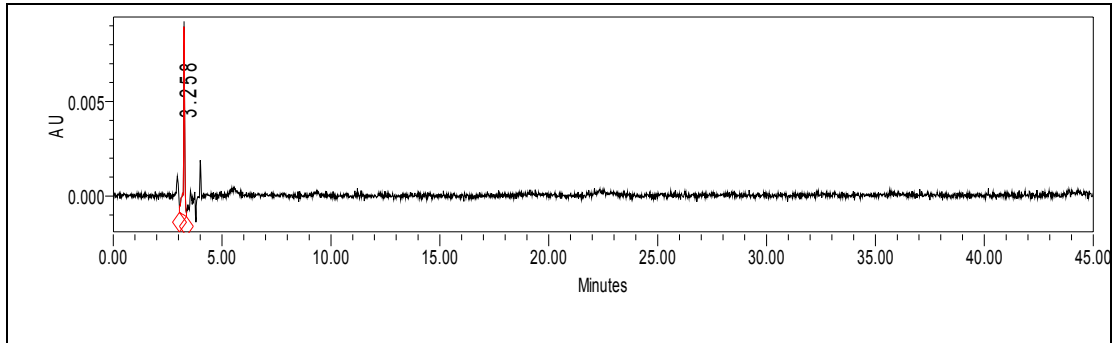


Şekil 4.19: Nar ekşisi ekstraktına ait 280 nm de HPLC kromatogramı

Tablo 4.18: Nar ekşisi ekstraktındaki fenolik bileşikler

Alınma süresi (dak)	Fenolik madde	Alan	% Alan	Yükseklik	Miktar (mg/Kg)
3.060	Solvent piki	7125714	34.91	1777674	-
5.621	Gallik asit	1029524	5.04	128113	30
9.116	(-)- Gallokteşin	9722523	47.64	842319	1484
14.445	TM	424568	2.08	12296	-
18.979	(+)- Kateşin	419844	2.06	10443	263
21.105	Klorojenik asit	156481	0.77	8341	50.4
22.006	Kafeik asit	144744	0.71	8111	12
25.679	(-) Epigallokteşingallat	156097	0.76	6891	222
29.082	TM	140875	0.69	11576	-
32.207	P-kumarik asit	89723	0.44	3076	3.18
36.780	Ferulik asit	999960	4.90	46200	231

TM: Tanımlanamayan madde



Şekil 4.20: Nar ekşisi ekstraktına ait 520 nm de HPLC kromatogramı

Kromatogram sonuçlarına göre nar ekşisi örneğinde gallik asit, (-)- gallokateşin, (+)- kateşin, klorojenik asit, kafeik asit, (-) epigallokateşin gallat varlığı tanımlanmıştır. (-)- gallokateşin 1484 mg/kg ile en baskın fenolik madde olarak görülmektedir. Nar ekşisi örneğinin taze nar suyu ve ticari nar suyunda görülen fenolik maddeler ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. 520 nm deki kromatogram incelendiğinde ise yine ticari nar suyu örneğinde olduğu gibi antosiyaninlere ait pik görülememiştir. Bunun nedeni ise nar ekşisinin nar suyunun kaynatılması (yüksek ısı ile işleme maruz kalma) sonucu elde edilen bir ürün olması ve bu esnada antosiyaninlerin degradasyona uğraması olarak düşünülmektedir.

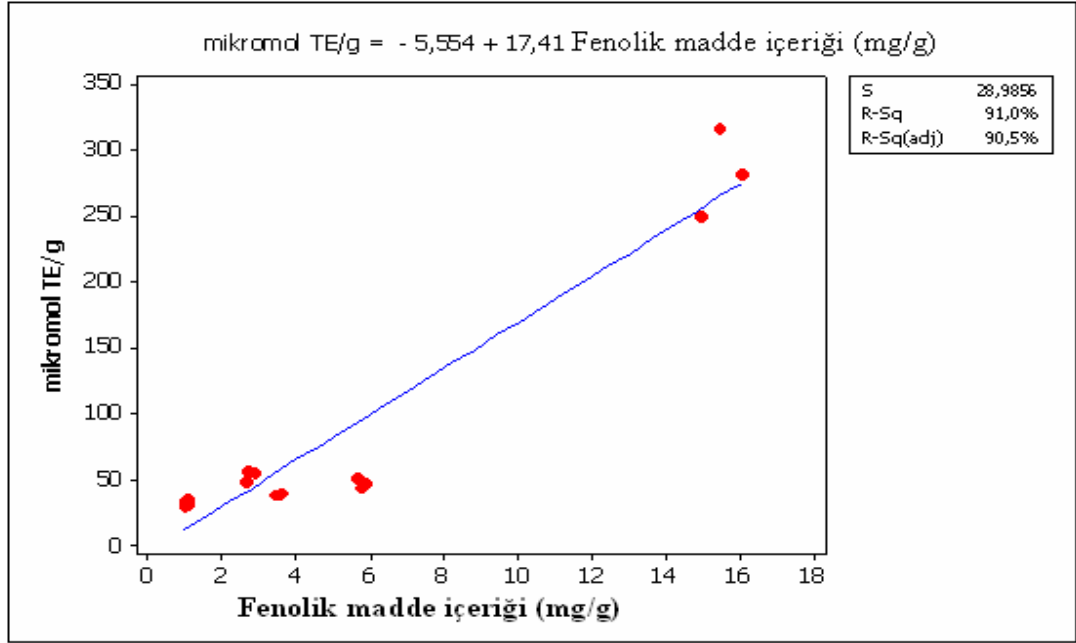
Örneklerin kromatogram sonuçlarından çıkan bilgiler ve antioksidan aktiviteleri arasındaki ilişki incelendiğinde, mor havuç suyu konsantresinde görülen yüksek antioksidan aktivitesi, içerdiği, klorojenik asit, 3,4 dihidroksi benzoik asit, kafeik asit, gibi fenolik maddelerle ilişkilendirilebilir. Yapısında oldukça fazla miktarda hidroksil iyonu içeren ve dolayısı ile antioksidan aktivitesi yüksek olan klorojenik asit mor havuç suyu konsantresinde oldukça yüksek oranda gözlenmiştir. Mor havuç suyu konsantresi önemli miktarlarda kafeik asit de içermektedir ve yine kafeik asit de fazla miktarda hidroksil iyonu içeren yapısı itibarı ile güçlü bir antioksidan olduğu bilinmektedir.

Literatür kısmında değinildiği gibi antioksidan aktivitesi belirlemede en önemli parametre hidroksilasyon derecesi ve pozisyonudur. Analiz sonucu örneklerde tanımlanan kumarik asit ve ferulik asit gibi bazı yaygın fenolikler nispeten daha düşük antioksidan aktivite göstermelerine rağmen kafeik asit ve klorojenik asit gibi moleküllerinde daha fazla fenolik hidroksil taşıyan maddelerde antioksidan aktivitesi daha yüksektir. Benzoik asit iskelet yapısı gösteren gallik asit ve esterleri ise bilinen en iyi güçlü antioksidanlardandır, ticari nar suyu ve nar ekşisi örneklerinde önemli miktarda tanımlanan EGCG'in (epigallokateşin gallat) en umut vaat edici antikanserojen maddelerden biri olduğu rapor edilmiştir (Hudson, 1990; Naczki ve Shaidi, 2004).

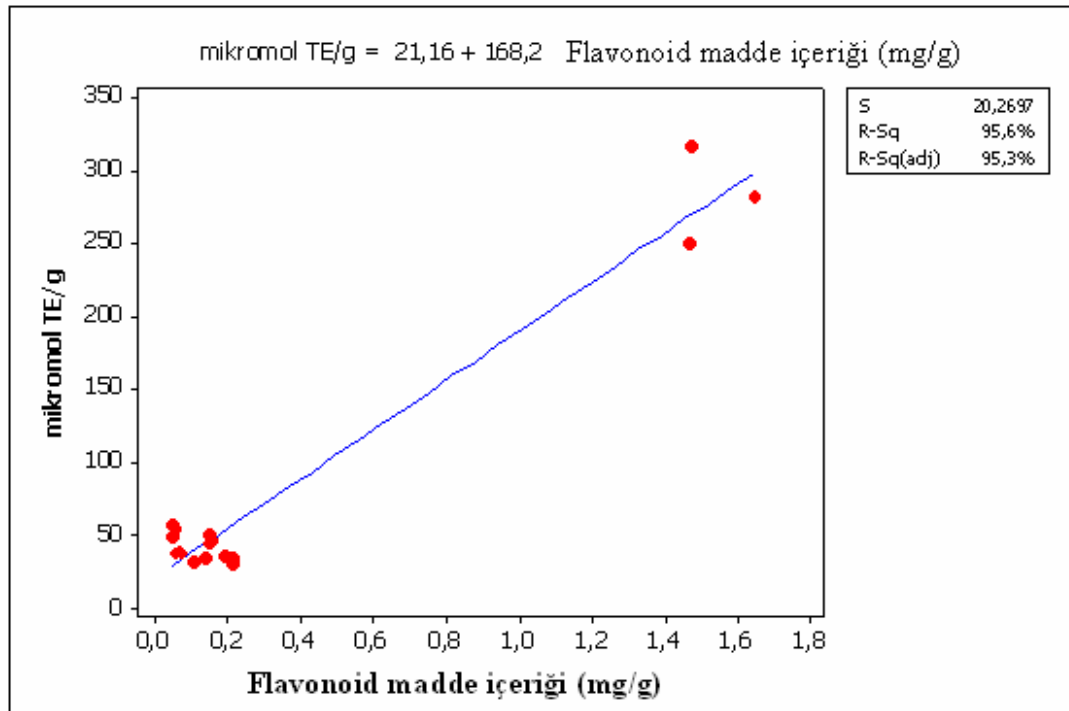
4.7. Antioksidan Aktivitesi ve Fenolik Madde İçeriği Arasındaki İlişki

Örneklerin antioksidan aktivitesi ile fenolik madde içeriği arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla DPPH yöntemi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivitesi sonuçları ile fenolik madde (toplam fenolik, toplam flavonoid ve toplam antosiyanin)

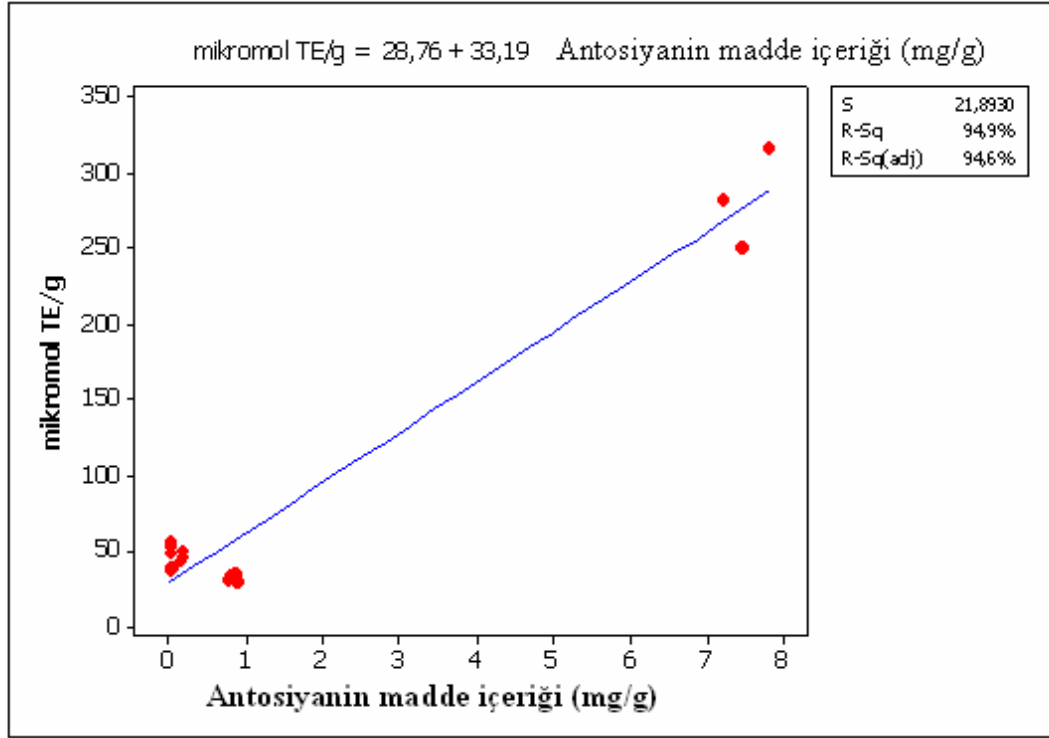
içerikleri arasında regresyon analizi yapılmıştır. Sonuçlar Şekil 4.21, Şekil 4.22 ve Şekil 4.23'te verilmiştir. Lineer regresyon varyans analizi sonuçları EK B'de ve Tablo B7, Tablo B8 ve Tablo B9'da detaylı olarak verilmiştir.



Şekil 4.21: Toplam fenolik madde içeriği ve DPPH yöntemi (µmol TE/g) ile antioksidan aktivitesi regresyon analizi grafiği



Şekil 4.22: Toplam flavonoid madde içeriği ve DPPH yöntemi (µmol TE/g) ile antioksidan aktivitesi regresyon analizi grafiği



Şekil 4.23: Toplam antosiyanin madde içeriği ve DPPH yöntemi ($\mu\text{mol TE/g}$) ile antioksidan aktivitesi regresyon analizi grafiği

Regresyon katsayıları incelendiğinde örneklerin fenolik madde, flavonoid madde ve antosiyanin madde içeriği ile antioksidan aktivitesi arasındaki ilişkinin oldukça önemli olduğu görülmektedir ($P < 0,05$). Buradan çıkan sonuca göre yüksek fenolik madde içeriği yüksek antioksidan aktivite ile ilişkilendirilebilir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada fenolik maddeler açısından zengin olan taze sıkılmış nar suyu, ticari nar suyu, nar ekşisi, mor havuç, mor havuç suyu konsantresi ve şalgam suyu örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri ve fenolik madde profilleri ortaya konularak antioksidan aktiviteleri çeşitli yöntemler ile belirlenmeye çalışılmıştır.

Analizlenen tüm örnekler incelendiğinde yüksek fenolik madde miktarı yüksek antioksidan aktivite ile ilişkilendirilebilir. Antioksidan aktivitenin yüksek olduğu örneklerde toplam fenolik maddenin de daha yüksek olduğu görülmüştür, ancak sonuçlar dikkatle incelendiğinde yüksek fenolik madde miktarına sahip olmanın, tüm antioksidan aktivitesi metodlarında yüksek sonuç vermediği görülmüştür. Örneğin şalgam suyu ve mor havuç örnekleri hemen hemen aynı miktarlarda fenolik madde içermelerine rağmen, uygulanan antioksidan aktivite metodlarında mor havucun daha yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Bunun nedeni ise HPLC analizi incelendiğinde içerdikleri fenolik maddeler arasında farklılıklar olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca tüm antioksidan aktivitesi analizi sonuçları incelendiğinde analiz örneklerinin her bir yöntem için yüksek antioksidan aktivitesi sıralamasında da farklılıklar olabildiği görülmektedir. Bundan ötürüdür ki tek bir yöntemle antioksidan aktivitesi hakkında kesin bir karar vermek doğru bir yaklaşım değildir. Her bir antioksidanın farklı radikallere karşı farklı reaksiyon mekanizmasına sahip olabileceği bilinen bir gerçektir. Bu çalışmada da bu durum gözlenmiştir. Örneğin DPPH radikaline karşı oldukça aktif olan şalgam suyu örneğinin ABTS radikal katyonuna karşı daha düşük reaktivite gösterdiği gözlenmiştir. Antioksidan aktivitesi belirlemede reaksiyon mekanizması oldukça önemli olduğundan ve her bir örneğin içerdiği antioksidan ve oksidan arasındaki reaksiyon tam olarak bilinemediğinden ötürü, farklı yöntemler ile antioksidan aktivitesi ölçmenin daha kesin bir yargıya varmada önemli olduğu görülmektedir. Ayrıca antioksidan aktivite metodunun fizyolojik koşulları yansıtabilmesi de oldukça önemlidir. Bu çalışmada seçilen DPPH ve ABTS radikali yakalamaya

dayanan yöntemlerin oldukça kararlı, deneysel olarak kesinliği ve tekrarlanabilirliği yüksek metotlar olduğu gözlenmesine rağmen bu radikallerin fizyolojik koşulları tam olarak yansıttığı söylenemez bu nedenle linoleik asit emülsiyon sistemi, metal şelatlama gibi fizyolojik koşulları daha çok yansıtan diğer metotların sonuçlarının da destekleyici ve güvenilirliği artırıcı etkisi olmuştur. Kısaca söylemek gerekirse; antioksidan aktivitesi belirlenirken, farklı yöntemler kullanarak canlı sistemlerdeki biyokimyasal olayları göz önünde bulundurarak, fizyolojik koşulları daha fazla yansıtacak ve aynı zamanda kesinliği ve tekrarlanabilirliği yüksek metotların uygulanması oldukça yararlı olacaktır. Ancak çalışma sonuçları ve aynı zamanda çalışma sırasında yapılan literatür taramaları göstermektedir ki gıdalardaki ve biyolojik örneklerdeki antioksidan kapasiteyi güvenilir şekilde ölçen bu analiz metotlarının farklı araştırma grupları tarafından rapor edilen sonuçlarını birbiri ile karşılaştırmak açısından güçlük çekilmektedir.

Uygulanan antioksidan aktivitesi metotları incelendiğinde taze sıkılmış nar suyu örneğinin tüm analiz metotlarında oldukça yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Ticari nar suyu örneği ve nar ekşisinde kısmen yüksek aktiviteye sahip olsa da taze sıkılmış nar suyundan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunun nedeni olarak ise proses sırasında uygulanan ısıtma işlemi ve hammadde farklılığı olarak öne sürülebilir.

HPLC analizi incelendiğinde ise mor havuç, konsantresi ve şalgam suyu için kromatogram sonuçlarının daha düzgün ve sade olduğu görülmektedir. Bununda nedeni bu ürünlerin antosiyaninler dışındaki fenolik maddeleri daha az oranda içermelerinden kaynaklanmaktadır. Mor havuç konsantresi ve şalgam suyu önemli miktarda fenolik asit içermekte, ancak bununla birlikte açıkça görülmüştür ki içerdiği fenolik maddelerin çoğu antosiyaninlerden kaynaklanmaktadır. Nar suyu ve nar ekşisi örneklerinin kromatogram sonuçlarına göre ise literatürde mevcut olan nar suyu bileşenlerinin bir bölümü bu sistemle tanımlanamamıştır. Nar suyunun içerdiği tanenler, fenolik asitler, antosiyaninler gibi fenolik madde grubunun çok çeşitli olması nar suyunun fenolik madde profilini daha karmaşık hale getirmektedir. Bu nedenle bu çalışmada gözlenen sonuçlar dahilinde nar suyunun fenolik bileşenlerini analiz etmeden önce fenolik maddeleri içerdiği gruba göre ayırma, saflaştırma gibi daha farklı işlemlerin uygulanması önerilebilir.

Sonuç olarak, nar suyunun potansiyel bir antioksidan olduğu ve sağlık üzerine olan yararları günümüzde artık çok iyi bilinmektedir. Bu çalışma ise taze sıkılmış nar suyunun ve ticari nar suyunun ayrıca yine nardan elde edilen ve ülkemizde oldukça yaygın olarak kullanılan bir ürün olan nar ekşisinin antioksidan aktivitelerinin karşılaştırılması açısından fikir vermektedir.

Mor havuç ise son zamanlarda daha çok yaygınlaşan şalgam suyu üretiminde kullanılan bir sebzedir. Fenolik maddeler ve antioksidan aktiviteleri ile ilgili olarak literatürde bugüne kadar mevcut çalışmalar incelendiğinde ise mor havucun antioksidan aktivitesi ile ilgili olan çalışmaların oldukça az olduğu görülmüştür. Bu çalışmadan çıkan sonuçların, literatürdeki boşluğu doldurmak adına oldukça yararlı olacağı düşünülmektedir.

Son olarak, mor havuç ve şalgam suyunun iyi bir antioksidan olduğu ancak nar suyuna göre daha düşük aktivite gösterdiği söylenebilir. Mor havucun konsantre edilmiş halinin ise oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu açıkça görülmektedir.

KAYNAKLAR

- AOAC, 2000.** Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Virginia, USA.
- ANON 1,** http://www.thehealthnews.org/tr/news/0545/nar_suyu.htm
- ANON 2,** <http://www.tameks.com/siyahhavuc.asp>
- Alasalvar, C., Grigor J.M., Zhang, D., Quantick, P.C. and Shahidi, F.** 2001. Comparision of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins and sensory Quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 1410-1416.
- Amakura Y., Okada M., Tsuji S. and Tonogai Y.,** 2000. High performance liquid chromatographic determination with photodiode array dedection of ellagic acid in fresh and processed fruits. *Journal of Chromatography*, **872**, 87-93.
- Apak, R.,** 2005. Gıda maddelerinde toplam antioksidan kapasite tayin yöntemleri arasında Cu(II) indirgeyici antioksidan kapasite CUPRAC. XIX. *Ulusal Kimya Kongresi*, Kuşadası, 30 Eylül-4 Ekim.
- Arora, A., Nair, M.G. and Strasburg, G.M.,** 1988. Structure activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radical Biology and Medicine*, **24**, 1355-1363.
- Asparuk, M.,** 2006. Kişisel görüşme. Targid gıda.
- Aviram, M., Rosenblant M. and Gaitini, D.,** 2005. Pomegranate juice improves carotid artery health and lowers blood pressure in patients with carotid artery stenosis. *Herbal Gram*, **65**, 28-30.
- Aviram M., Dornfeld, M., Rosenblant M., Volokva, N., Kaplan, M., Coleman, R., Hayek, T., Presser, D. and Furhman, B.,** 1999. Pomegranate juice consumption reduce oxidative stres, atherojenic modification to LDL and platelet aggreation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E deficient mice. *American Journal of Clinical Nutrition*, **71**, 1062-1067.

- Babic, J., Amiot, M.J., Nguyen-The C. and Aubert, S.,** 1993. Changes in phenolic content in fresh ready to use shredded carrots during storage. *Journal of Food Science*, **58**, 351-355.
- Belitz, H.D., Grosch, W. and Schieberle, P.** 2002. Phenolic compounds. In: Food Chemistry, Springer, pp.822-835.
- Blando, F., Gerardi, C. and Nicoletti I.,** 2004. Sour cherry anthocyanins as ingredients for functional foods. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, **5**, 253-258.
- Cam, M. ve Hışıl, Y.,** 2003. Gıdalardaki flavonoidler ve önemleri, 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara, 2-4 Ekim, s. 67-82.
- Çalimli, A.,** 2003. Kayısı ve vişne suyu üretimindeki atıkların değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri. Ankara. [http: papyrus.ankara.edu.tr/arastirma/2003/a2003_28/proje.pdf](http://papyrus.ankara.edu.tr/arastirma/2003/a2003_28/proje.pdf).
- Çıkrıkçı, S.,** 2005. 4'-dioktilamino-3-hidroksiflavon temelli floresans problemlerin sentezleri ve özelliklerinin incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- De Pascual-Teresa., Santos-Bluega, C. and Rivas-Gonzalo, M.** 2000. Quantitative analysis of flavan-3-ols in spanish foodstuffs and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 5331-5337.
- Dao, L. and Takeoka G.,** 2002. Anthocyanins. In. Methods of analysis for functional foods and nutraceuticals. CRC Pres LLC.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K. and Liu, R.H.,** 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **40**, 1531-1535.
- Du, C.T., Wang, P.L. and Francis, F.J.,** 1970. Anthocyanins of pomegranate. *Journal of Food Science*, **40**, 417-418. (Alınmıştır: **Shahidi, F. and Nacz, M.,** 2003. Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press).
- Duh, P.D., Yen, G.C., Yen, W.J. and Chang L.W.,** 2001. Antioxidant effects of water extracts from barley (*hordeum vulgare* L.) prepared under different roasting temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 1455-1463.
- Duh, Y. and Du, Y.,** 1997. Antioxidant activity of mung bean hulls, *Journal of the American Oil Chemists Society*, **74**, 1059-1063.(Alınmıştır: **Mathew, S. and Abraham, T.,** 2006. Studies on the antioxidant activities of

cinnamon bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, **94**, 520-528).

- Dragovic-Uzelac, V., Delonga, K., Levaj, B., Djarkovic, S. and Pospisil J., 2005.** Phenolic profiles of raw apricots, pumkins, and their purees in the evaluation of apricot nectar and jam authenticity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53(12)**, 4836-4843.
- El, S.N. and Karakaya, S., 2004.** Radical Scavenging and iron-chelating activities of some greens used as traditional dishes in mediterranean diet. *International Journal of Food Science and Nutrition*, **55**, 67-74.
- Erginkaya, Z. ve Hammes, W.P., 1992.** Şalgam suyu fermentasyonu sırasında mikroorganizmaların gelişimi ve izole edilen laktik asit bakterilerinin tanınmaları üzerine bir araştırma. *Gıda*, **17**, 311-314.
- Escarpa, A. and Gonzalez, M.C., 2001.** An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in Foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **31(2)**, 57-139.
- Espada, A.C.M., Wood, K.V., Bordelon, B. and Watkins, B.A., 2004.** Anthocyanins quantification and radical scavenging capacity of Concord, Norton, Marechal Foch grapes and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 677 9-6786.
- Fuleki, T. and Francis, F.J., 1968.** Quantitative methods for anthocyanins. purification of cranberry anthocyanins. *Journal of Food Science and Agricultural*, **33**, 266-274. (Alınmıştır: **Shahidi, F. and Naczki, M., 2003.** Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Pres).
- Garcia-Alonso, M., de Pascual Teresa, S., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J.C., 2003.** Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry*, **84** 13-18.
- Gil, M., Barberan, T., Pierce, B.H., Holcroft, D.M. and Kader, A.A., 2000,** Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 4581-4589 .
- Gil, I., Gil, M.I. and Ferreres, F., 2002.** Effect of processing techniques at industrial scale on orange juice antioxidant and beneficial health compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44**, 5107-5514.

- Gonçalves, B., Landbo, A.K., Knudsen, D., Silva, A.P., Pereira, M., Rosa, E., and Meyer, A.S.,** 2004. Effect of ripeness and postharvest storage on the phenolic profiles of cherries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 532-530.
- Gülçin, İ.** 2005. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*. **217**, 213-220.
- Hakkinken, S.H. and Törrönen, A.R.,** 2000. Contents of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influences of cultivar, cultivation site and technique. *Food Research International*, **33**, 517-554.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L.,** 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 1841-1856.
- Hudson, B.,** 1990. Food Antioxidants, Elsevier Science, USA, pp 173-188.
- Jamet, A. and Ebeling, P.W.** 2002. Stabilization Mechanisms for Anthocyanin: The Case for Copolymerization Reactions. Engineering and Food for the 21st Century, CRC Press LLC, pp.1-4.
- Justesen, U., Knudsen, P., Leth, T.,** 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavonones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, **799**, 101-110.
- Kammarer, D., Carle, R. and Schiber, A.,** 2004. Characterization of phenolic acids in black carrots (*Daucus carota* ssp. *Sativus* var. *Atro rubens Alef.*) by high performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Pub-Med*, **18(12)**, 1331-1340.
- Karadeniz, F.,** 1994. Elma suyunda fenolik madde dağılımının konsantreye işleme sırasında değişimi. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Karafakoğlu, Y.S.,** 2004. Tütün çalışanlarında oksidan-antioksidan durum. *The Medical Journal of Kocatepe*, **5**, 7.
- Kaya, A., Sözer, N.** 2005. Rheological behaviour of sour pomegranate juice concentrates. *International Journal of Food Science and Technology*, **40**, 223-227.

- Kirca, A., Özkan, M. and Cemeroğlu, B.** 2005. Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. *Food Chemistry*, **97**, 598-605.
- Kirca, A., Özkan, M. and Cemeroğlu, B.** 2006. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chemistry*, **101**, 212-218.
- Kulkarni, A. P., Aradhya, S. M. and Divakar, S.** 2004. Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant punicalagin from pith and carpellary of pomegranate fruit. *Food Chemistry*, **87**, 551-557.
- Kim, D.O., Chun, O.K., Moon, H.Y. and Lee, C.Y.,** 2003. Quantification of polyphenolics and antioxidant capacity in fresh plumps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 6509-6515.
- Lee, J.H. and Talcon, S.,** 2004. Fruit maturity and juice extraction influences ellagic acid derivatives and other antioxidant polyphenols in muscadine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 361-366.
- Lin, J.Y. and Ching, Y.T.,** 2006. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on Mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry*, **101**, 140-147.
- Liyana-Patrihana, C.M., Shaidi, F. and Alasalvar, C.,** 2005. Antioxidant activity of cherry-laural fruit (*Laurocerasus officinalis*) and its concentrated juice. *Food Chemistry*, **99**, 101-128.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K.,** 1996. Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives. Markel Dekker, Newyork, pp 41-50.
- Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, F.,** 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of the Chemical Technology and Metallurgy*, **40**, 255-260.
- Maskan, M.,** 2004. Production of pomegranate (*Punica granatum L.*) juice concentrate by various heating methods: colour degradation and kinetics. *Journal of Food Engineering*, **72**, 218-224.
- Mazza, G., Miniati, E.,** 1993. Anthocyanin in fruits, vegetables and grains (p 32). Boca Raton, FL.CRC pres: **(Alınmıştır: Kirca, A., Özkan, M. and Cemeroğlu, B.,** 2005. Stability of black carrot anthocyanins in various fruits juices and nectars. *Food Chemistry*. **97**, 598-605.)

- Mathew, S. and Abraham, T.E.,** 2006. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models, *Food Chemistry*, **94**, 520-528.
- Miguel, G., Dandlen, S., Antunes, D., Neves, A. And Martins, D.,** 2004. The effects of two methods of pomegranate (*punica granatum L*) juice extraction on quality during storage at 4°C. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, **5**, 332-337.
- Miller, H.E., Rigelhof, H., Marquart L., Prakash A., Kanter, M.** 2000. *Journal of American Clinical Nutritional*, **19**, 312. (Alınmıştır: **Triantis T., Stelakis A., Dimotikali D. And Papadapulos K.,** 2005. Investigations on the antioxidant activity of fruit and vegetable aqueous extracts on superoxide radical anion using chemiluminescence techniques. *Analytica Chimica Acta*. **536**, 101-105).
- Nacz, M. and Shahidi, F.,** 2004. Extarction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054**, 95-111.
- Naudi, A.S., Bidlack, W.R. and Crecelius, A.T.,** 2000. Flavonoids. CRC Pres. Newyork.
- Noda, Y., Kaneyuki, T., Mori, A. and Packer, L.,** 2002. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its: Delphinidin, cyanidin and pelargonidin. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **50**, 166-171.
- Oreopoulou, V.** 2003. Extraction optimization in food engineering: Extraction of natural antioxidants. CRC Press. Newyork.
- Ortuno, C., Reynaldo, L., Fuster, M.D., Botia, J., Puig, G., Sabater, F., Lidon, A.G., Porras, I. and Rio, J.A.D.,** 1997. Citrus cultivars with high flavonoid contents in the fruits. *Scietia Horticulturac*, **68**, 231-236.
- Oyaizu, M.,** 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, *Japan Journal of Nutrition*, **44**, 307-315. (Alınmıştır: **Mathew, S. and Abraham, T.E,** 2006, Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry*, **94**, 520-528).
- Ötleş S. ve Çağındı, Ö.,** 2005. İşleme ve depolamanın meyve sebze antioksidanlarına etkisi. *Dünya gıda dergisi*.
- Özler N.,** 1995. Şalgam suyu üretimi üzerine araştırmalar. *Yüksek Lisans Tezi*, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

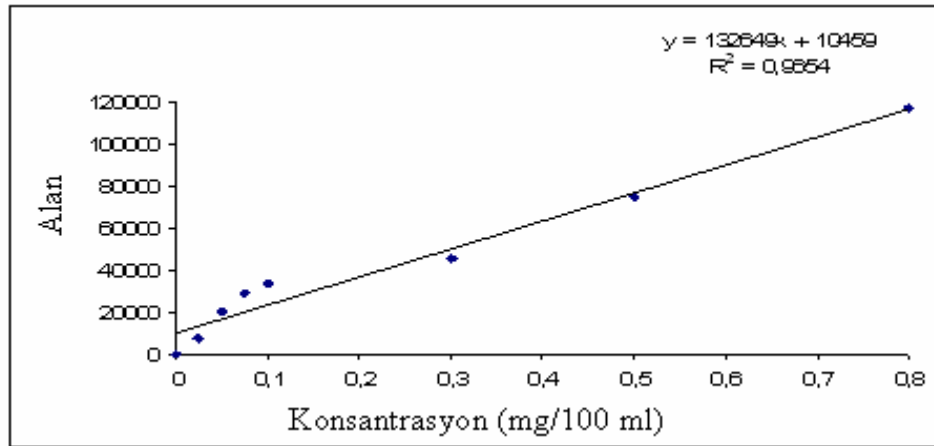
- Özyurt, D.**, 2005. Toplam flavonoid miktarının geliştirilen spektrofotometrik yöntem ile tayini. *Yüksek Lisans Tezi*, İTÜ Fen bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Pantelidis, G.E., Vasilakakis, M., Manganaris, G.A. and Diamantidis, Gr.** 2006. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*, xxx, available online at scindirect.com.
- Peterson, J., Dwyer, J., Bhagwat, S., Haytowitz, D., Holden, J., Eldridge, A.L., Beecher, G. and Aladesanmi, J.**, 2005. Major flavonoids in dry tea. *Journal of Food Composition and Analysis*, **18**, 487-501.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. And Gordon, M.** 2001. Antioxidants in food, CRC Press, USA.
- Poyrazoğlu, E., Gökmen, V. And Artık, N.**, 2002. Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica granatum L.*) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, **15**, 567-575.
- Prakash, A.**, 2001. Antioxidant activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*. **19**(2); www.medlabs.com/file.aspx.
- Prior, R.L., Wu, X., Scaich, K.**, 2005. Standardized methods for the determination antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**(8), 3110-3113.
- Revilla, E., Ryan, J.M.** 2000. Analysis of several phenolic compounds with potential antioxidant properties in grape extract and wines by high-performance liquid chromatography- photodiode array detection without sample preparation. *Journal of Chromatography A*, **881**, 461-469.
- Rival, S.G., Boerri, C.G. and Wichers, H.J.**, 2001. Caseins and casein hydrolysates antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 295-302.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W.**, 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, **66**, 401-436.
- Roginsky, V. And Lissi, E.A.**, 2005. Reviews of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, **92**, 235-254.

- Roussis, I.G., Lambropoulos I., Soulti, K., 2005.** Scavenging capacities of some wines and wine phenolic extracts. *Food technology and Biotechnology*, **43**, 351-358.
- Salces, R.M., Korta, E., Barranco, L., Berrueta, A., Gallo,B. and Vicente,F., 2001.** Determination of polyphenolic profiles of basque cider apple varieties using accelerated solvent extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 3761-3767.
- Schieber, A., Keller, P. and Carle, R., 2001.** Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatography *Journal of Chromatography A*, **910**, 265-273.
- Sellapan, S., Akoh, C.C ., Krewer, G., 2002.** Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 2432-2438.
- Seram, N.P., Lee, R., Scheuller, H.S. and Heber, D., 2004.** Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chemistry*, **97**, 1-11.
- Siddhuraju, P. and Becker, K., 2006.** Antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*vigna unguiculata L. walp.*) seed extracts. *Food Chemistry*. **101**, 10-19.
- Singh, R.P., Murthy, K.N. and Jayaprakasha, G.K., 2002.** Studies on the antioxidant activities of pomegranate (*punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 81-86.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A., 1965.**Colorimetry of total phenolics with phomolybdis-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**, 144-158. (**Alınmıştır: Shahidi, F. and Nazck, M., 2003.** Phenolics in Food and Nutraceuticals. CRC Press).
- Stewart, A.J., Bozonnet, S., Mullen, W., Jenkins, G.I., Lean, M.E.J. and Crozier, A., 2000.** Occurance of flavonols in tomatoes and tomato based products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**, 2663-2669.
- Que, F., Mao, L., Zhu, C. and Xie, G., 2006.** Antioxidan properties of Chinese yellow wine, its concentrate and volatiles. *Food Science and Technology*. **39**, 111-117.

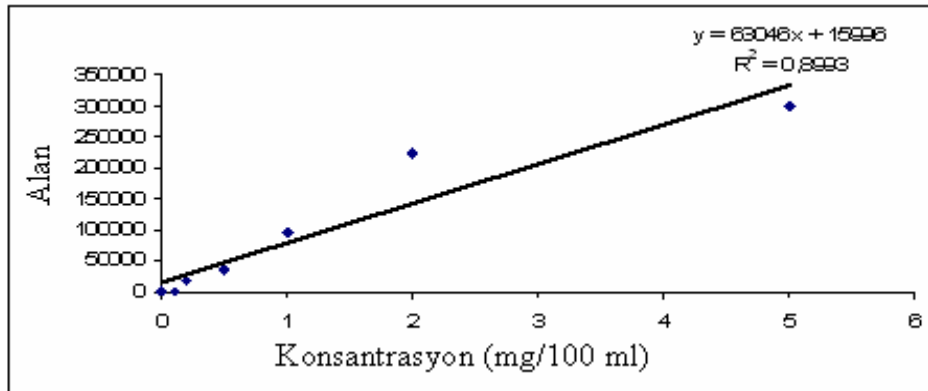
- Tanrıöven, D.**, 1997. Armut suyu ve konsantresinde fenolik madde dağılımı. *Yüksek Lisans Tezi*. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Turker, N., Aksay, S. and Ekiz, H.I.**, 2004. Effects of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (*Daucus carota* var. *L.*) beverage: shalgam. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **52**, 3807-3813.
- Uzelac, V.D., Pospisil, J., Levaj, B. and Delonga, K.**, 2005. The study of the phenolic profiles of raw apricots and apples and their purees by HPLC for the evaluation of apricot nectars and jams authenticity. *Food Chemistry*, **91**, 373-383.
- Vardin, H.**, 2000. Harran ovasında yetiştirilen değişik nar çeşitlerinde gıda sanayinde kullanım olanakları üzerine bir çalışma. *Doktora Tezi*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Villers, A., Vanhoenacker, G., Majek, P., Sandra, P.**, 2004. Determination of anthocyanins in wine by direct injection liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry and classification of wines using discriminant analysis. *Journal of Chromatography A*, **1054**, 195-204.
- Wettasinghe, M., Bolling, B., Pihak, L., Xiao, H. and Parkin, K.**, 2002. Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*beta vulgaris* *L.*) extracts from phenotypes of different pigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50**, 6704-6709.
- Wrolstad, R.E. and Grete, S.**, 2002. Flavonoids from berries and grapes. In: *Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects*, **2**, 72-103.
- Yang, R., Tsao, R.**, 2003. Optimization of a new mobile to know the complex and real polyphenolic composition: Towards a tool phenolic index using high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **1018**, 29-40.
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Haris, M., Wilson, J. And Qian, M.**, 2002. free radical scavenging properties of wheat extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **46**, 3630-3634.
- Zheng, Y., Wang, S.Y., Wang, C.Y. and Zheng, W.**, 2005. Changes in a strawberries phenolics, anthocyanins and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. *LWT*, **40**, 49-52. Available online www.sciencedirect.com.

Zhinsen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, **64**, 555-559.

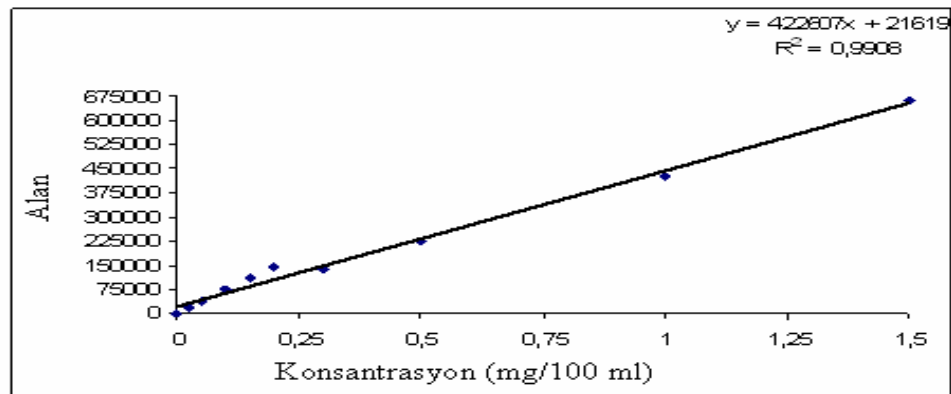
EK A:



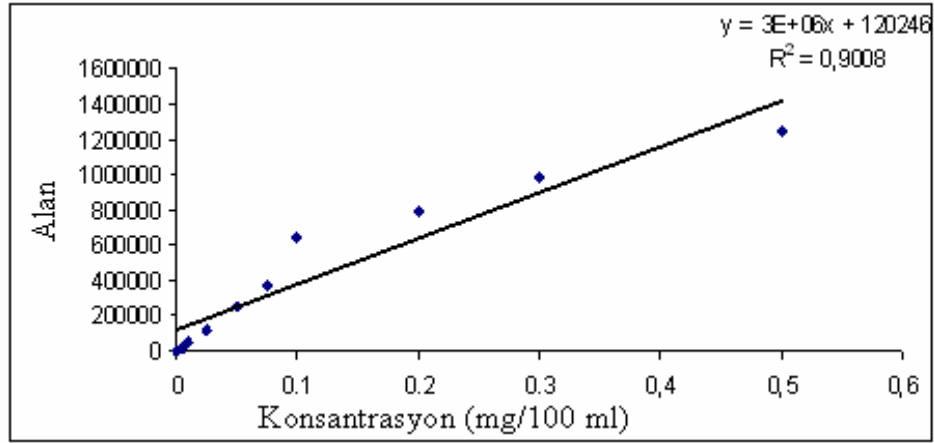
Şekil A.1: (-)- Epikateşin standardı kalibrasyon eğrisi



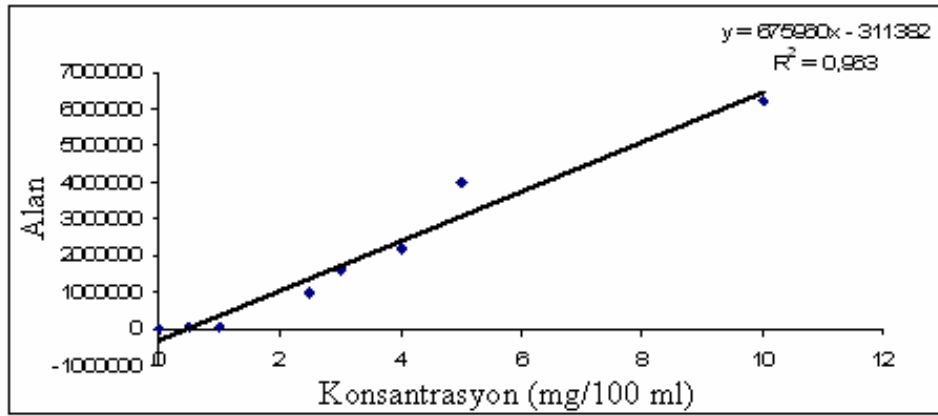
Şekil A.2: (-)- Epigallokateşin gallat standardı kalibrasyon eğrisi



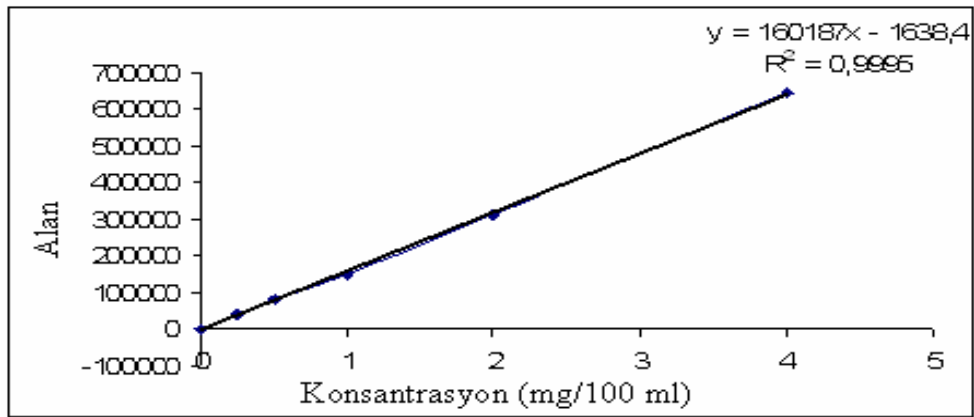
Şekil A.3: Ferulik asit standardı kalibrasyon eğrisi



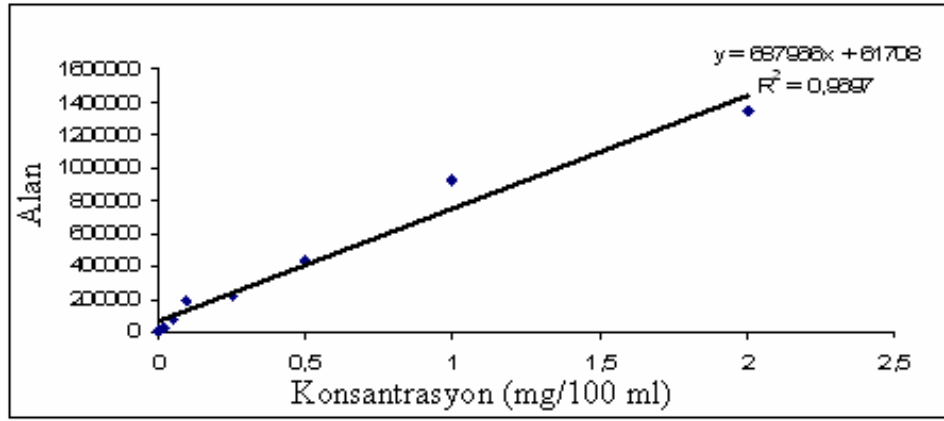
Şekil A.4: Gallik asit standardı kalibrasyon eğrisi



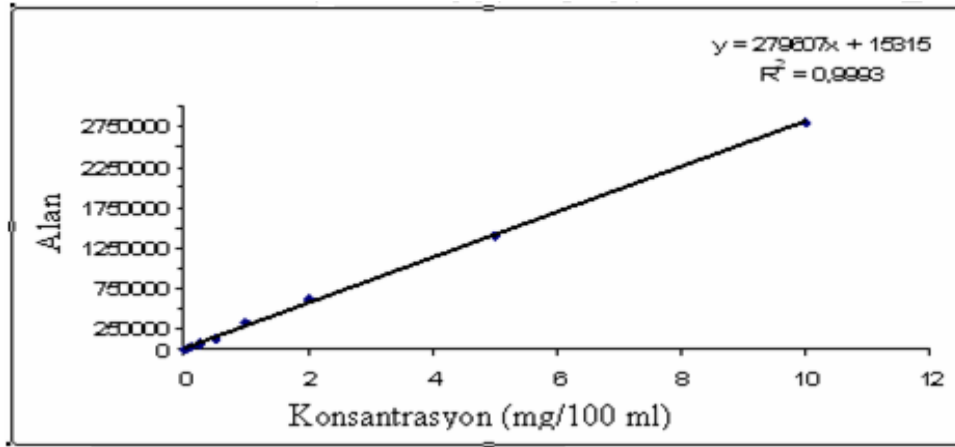
Şekil A.5: (-)- Gallokateşin standardı kalibrasyon eğrisi



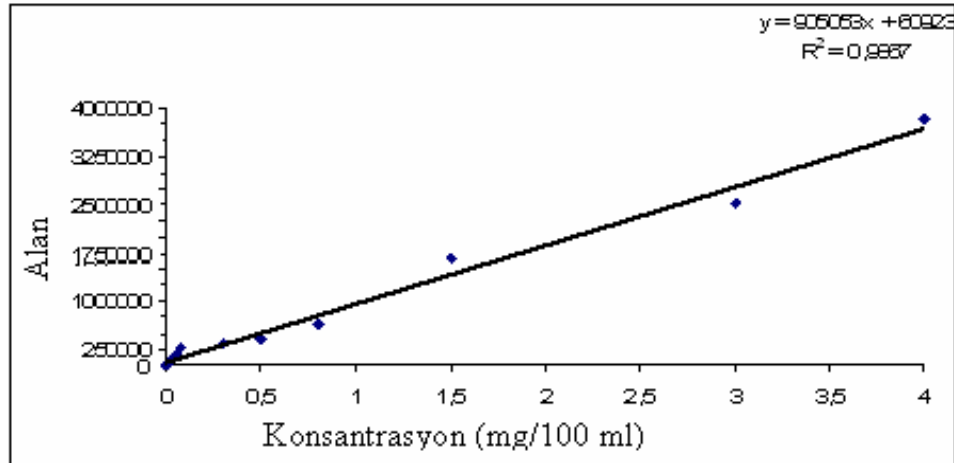
Şekil A.6: (+)- Kateşin standardı kalibrasyon eğrisi



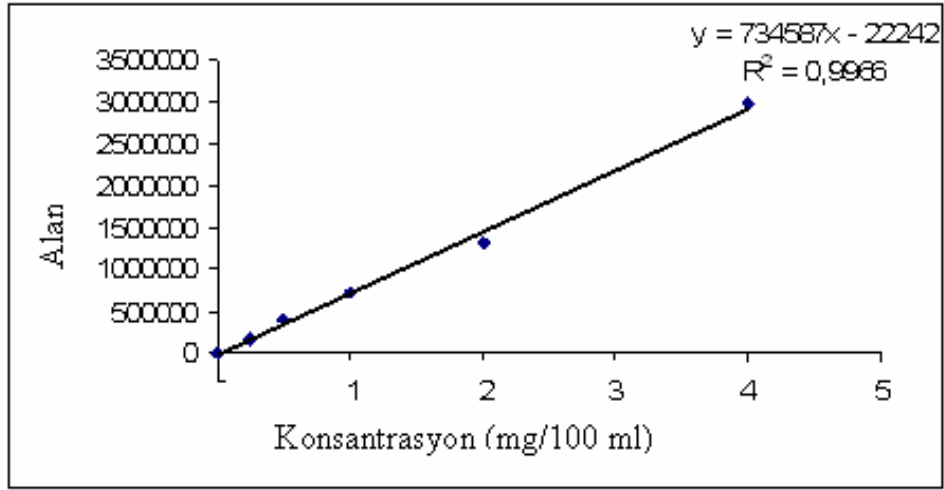
Şekil A.7: Kafeik asit standardı kalibrasyon eğrisi



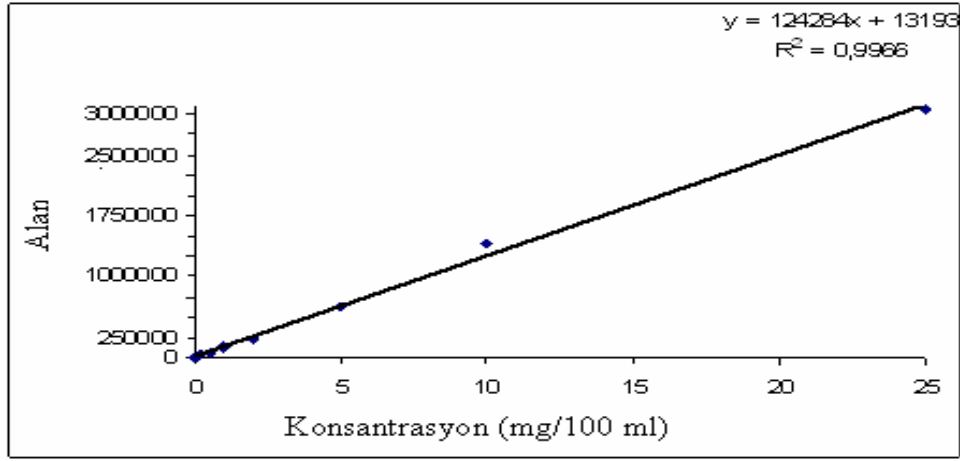
Şekil A.8: Klorojenik asit standardı kalibrasyon eğrisi



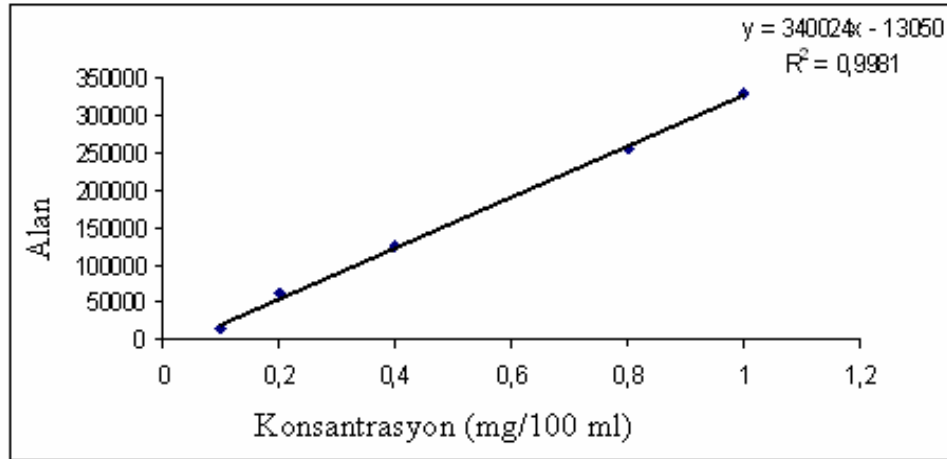
Şekil A.9: P-Kumarik asit standardı kalibrasyon eğrisi



Şekil A.10: Şirinjik asit standardı kalibrasyon eğrisi



Şekil A.11: Rutin standardı kalibrasyon eğrisi



Şekil A.12: 3,4 dihidroksi benzoik asit standardı kalibrasyon eğrisi

EK B: İstatistiksel Analizler

Tablo B.1: Örneklerin fenolik madde (mg/g) varyans analiz tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	DF	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Örnek	451,8518	5	90,3704	1530,90	0,000
Hata	0,7084	12	0,0590		
Toplam	452,5602	17			

Tablo B.2: Örneklerin fenolik madde içeriğinin % 95 güven aralığında Tukey testi ile karşılaştırılması

Karşılaştırılan örnekler	Alt limit	Orta	Üst limit
Mor havuç & mor havuç suyu konsantresi	13,836	14,502	15,168
Mor havuç & nar ekşisi	1,003	1,670	2,336
Mor havuç & şalgam suyu	-0,689	-0,023	0,643
Mor havuç & taze nar suyu	4,047	4,713	5,379
Mor havuç & ticari nar suyu	1,825	2,492	3,158
Mor havuç suyu kons & nar ekşisi	-13,499	-12,832	-12,166
Mor havuç suyu kons & şalgam suyu	-15,191	-14,525	-13,859
Mor havuç suyu kons & taze nar suyu	-10,455	-9,789	-9,123
Mor havuç suyu kons & ticari nar suyu	-12,676	-12,010	-11,344
Nar ekşisi & şalgam suyu	-2,359	-1,693	-1,026
Nar ekşisi & taze nar suyu	2,377	3,043	3,710
Nar ekşisi & ticari nar suyu	0,156	0,822	1,488
Şalgam suyu & taze nar suyu	4,070	4,736	5,402
Şalgam suyu & ticari nar suyu	1,848	2,515	3,181
Taze nar suyu & ticari nar suyu	-2,888	-2,221	-1,555

Tablo B.3: Örneklerin flavonoid madde (mg/g) varyans analiz tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	DF	Ortalama	F değeri	P değeri
Örnek	5,03696	5	1,00739	549,02	0,000
Hata	0,02202	12	0,00183		
Toplam	5,05898	17			

Tablo B.4: Örneklerin flavonoid madde içeriğinin % 95 güven aralığında Tukey testi ile karşılaştırılması

Karşılaştırılan örnekler	Alt limit	Orta	Üst limit
Mor havuç & mor havuç suyu konsantresi	1,2942	1,4117	1,5291
Mor havuç & nar ekşisi	-0,1871	-0,0697	0,0478
Mor havuç & şalgam suyu	-0,0295	0,0880	0,2055
Mor havuç & taze nar suyu	-0,0851	0,0323	0,1498
Mor havuç & ticari nar suyu	-0,1718	-0,0543	0,0631
Mor havuç suyu kons & nar ekşisi	-1,5988	-1,4813	-1,3639
Mor havuç suyu kons & şalgam suyu	-1,4411	-1,3237	-1,2062
Mor havuç suyu kons & taze nar suyu	-1,4968	-1,3793	-1,2619
Mor havuç suyu kons & ticari nar suyu	-1,5835	-1,4660	-1,3485
Nar ekşisi & şalgam suyu	0,0402	0,1577	0,2751
Nar ekşisi & taze nar suyu	-0,0155	0,1020	0,2195
Nar ekşisi & ticari nar suyu	-0,1021	0,0153	0,1328
Şalgam suyu & taze nar suyu	-0,1731	-0,0557	0,0618
Şalgam suyu & ticari nar suyu	-0,2598	-0,1423	-0,0249
Taze nar suyu & ticari nar suyu	-0,2041	-0,0867	0,0308

Tablo B.5: Örneklerin antosiyanin madde (mg/L) varyans analiz tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	DF	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Örnek	128804405	5	25760881	1612,74	0,000
Hata	191680	12	15973		
Toplam	128996085	17			

Tablo B.6: Örneklerin antosiyanin madde içeriğinin % 95 güven aralığında Tukey testi ile karşılaştırılması

Karşılaştırılan örnekler	Alt limit	Orta	Üst limit
Mor havuç & mor havuç suyu konsantresi	6335,2	6681,8	7028,4
Mor havuç & nar ekşisi	-1142,7	-796,1	-449,5
Mor havuç & şalgam suyu	-293,6	53,0	399,6
Mor havuç & taze nar suyu	-990,8	-644,2	-297,6
Mor havuç & ticari nar suyu	-1134,6	-788,0	-441,4
Mor havuç suyu kons & nar ekşisi	-7824,5	-7477,9	-7131,3
Mor havuç suyu kons & şalgam suyu	-6975,5	-6628,9	-6282,3
Mor havuç suyu kons & taze nar suyu	-7672,6	-7326,0	-6979,4
Mor havuç suyu kons & ticari nar suyu	-7816,5	-7469,9	-7123,3
Nar ekşisi & şalgam suyu	502,5	849,1	1195,7
Nar ekşisi & taze nar suyu	-194,7	151,9	498,5
Nar ekşisi & ticari nar suyu	-338,5	8,1	354,7
Şalgam suyu & taze nar suyu	-1043,8	-697,2	-350,6
Şalgam suyu & ticari nar suyu	-1187,6	-841,0	-494,4
Taze nar suyu & ticari nar suyu	-490,4	-143,8	202,8

Tablo B.7: Antioksidan aktivitesi (DPPH metodu) ile toplam fenolik madde içeriğinin regresyon varyans analiz tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	DF	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Regresyon	136329	1	136329	162,26	0,000
Hata	13443	16	840		

Tablo B.8: Antioksidan aktivitesi (DPPH metodu) ile toplam flavonoid madde içeriğinin regresyon varyans analiz tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	DF	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Regresyon	143198	1	143198	348,53	0,000
Hata	6574	16	411		

Tablo B.9: Antioksidan aktivitesi (DPPH metodu) ile toplam antosiyanin madde içeriğinin regresyon varyans analiz tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	DF	Kareler ortalaması	F değeri	P değeri
Regresyon	142102	1	142102	296,48	0,000
Hata	7669	16	479		

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Tuba Öztan

Doğum Yeri ve Tarihi: İstanbul, 08.09.1980

Medeni durumu: Bekar

Uyruğu: T.C

EĞİTİM DURUMU

Yüksek Lisans:(2003-devam etmekte: İstanbul Teknik üniversitesi, Gıda Müh Bölümü)

Tezsiz Yüksek Lisans: (2003-2004: İstanbul Üniversitesi, Kimya Öğretmenliği formasyonu)

Lisans: (1999-2003: İstanbul Teknik üniversitesi, Kimya Bölümü)

İngilizce Hazırlık Bölümü: (1998-1999 İstanbul Teknik üniversitesi)

MESLEKİ DENEYİMLER

EGE KİMYA A.Ş: 08/ 2002–09/2002 Proses Kontrol Bölümü/stajyer

DEVA HOLDİNG A.Ş: 07/ 2001–09/2001 Kalite Kontrol ve Güvence Bölümü/ stajyer

İ.T.Ü Gıda Mühendisliği Bölümü: 2005-2006 Araştırma laboratuvarı. Yüksek Lisans Tez çalışması: Mor havuç, konsantresi, şalgam suyu, nar suyu ve nar ekşisi ürünlerinde antioksidan aktivitesi tayini ve fenolik madde profilinin belirlenmesi

İ.T.Ü Kimya Bölümü: 2002-2003 Araştırma laboratuvarı: Bitirme Ödevi çalışması: Katyonik yüzey aktif maddelerin kil mineralleri üzerine adsorpsiyonu

BİLGİ ve BECERİLER

Yabancı Dil: İngilizce

Bilgisayar: Ofis programları: (Word, Excel, Power Point), Minitab (İstatistiksel yazılım), Empower (Kromatografik data yazılımı)