

***BETA VULGARIS* L. (KIRMIZI PANCAR)
VE TURŞULARINDA
PH DEĞİŞİMLERİ, ANTİOKSİDAN VE
SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİ İLE
FENOLİK BİLEŞENLERİNİN İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Gülcan OK DÜKER

Eskişehir, 2017

***BETA VULGARIS* L. (KIRMIZI PANCAR) VE TURŞULARINDA
PH DEĞİŞİMLERİ, ANTİOKSİDAN VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİ İLE
FENOLİK BİLEŞENLERİNİN İNCELENMESİ**

Gülcan OK DÜKER

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Farmakognozi Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK

Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mayıs, 2017

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Gülcan OK DÜKER'in "*Beta vulgaris* L. (kırmızı pancar) ve Turşularında pH değişimleri, Antioksidan ve Sitotoksik Aktiviteleri İle Fenolik Bileşenlerinin İncelenmesi" başlıklı tezi 24/05/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakognozi Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK	
Üye	Prof. Dr. Betül DEMİRCİ	
Üye	Prof. Dr. Ayşegül KÖROĞLU	

Prof. Dr. Dilek AK
Enstitü Müdürü



ÖZET

BETA VULGARIS L. (KIRMIZI PANCAR) VE TURŞULARINDA PH DEĞİŞİMLERİ, ANTİOKSİDAN VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİ İLE FENOLİK BİLEŞENLERİNİN İNCELENMESİ

Gülcan OK DÜKER

Farmakognozi Ana Bilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mayıs, 2017

Danışman : Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK

Bu çalışmada, Chenopodiaceae familyasına ait su ve etanol ile hazırlanan *Beta vulgaris* L. (kırmızı pancar) ekstreleri ile farklı NaCl ve asetik asit oranları ile hazırlanan turşu örneklerinin spektrofotometrik olarak toplam fenolik madde ve betalain miktarları, kromatografik olarak fenolik asit ve betalain tayinleri yapılmış, ayrıca 5 farklı yöntemle antioksidan kapasite ve MTT yöntemi ile CaCo-2 kolon kanseri hücrelerinde antiproliferatif etkileri incelenmiştir. % 0.05 Asetik asitli su ile hazırlanan P1 ekstresinin (255,62 mg GAE/g ekstre), diğer ekstre P2 ve turşu örneklerinden daha fazla toplam fenolik madde (TMF) içerdiği tespit edilmiştir. %5 tuz, %20 AA içeren (T9) turşu suyunun betalain miktarlarının diğer turşu örneklerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür (1.114 ± 0.08 mg/g ekstre). Kromatografik analizlerde ise ekstreler ve turşularda gallik, *p*-hidroksi benzoik, klorojenik, sirinjik, *p*-kumarik ferulik ve kafeik asitlere rastlanmıştır. Yüksek TFM taşıyan P1 ekstresinin DPPH serbest radikal süpürücü aktivite tayininde % inhibisyon değeri (% 70.72) sentetik antioksidan BHT ve diğer örneklerden daha yüksek bulunurken, turşu örneklerinde belirgin bir aktivite gözlenmemiştir. β -karoten-linoleik asit sisteminde T9 turşu suyu % 52,51, T6 (% 3 tuz, % 20 asetik asit) turşu örneği ise % 43.52 oranında inhibisyon göstermiştir. Redükleyici güç ölçümü ile tespit edilen EC₅₀ değerleri P1 için 0.46 mg/ml bulunurken, turşularda 8.47-29.41 arasında değişmektedir. Kırmızı pancar ve turşu suyu ekstrelerinin TEAK sonucunda bulunan toplam antioksidan aktivite değerleri %26.85-99.57 arasında belirlenmiştir. CaCo-2 kolon kanseri hücrelerinde MTT yöntemi ile ölçülen antiproliferatif etkileri incelendiğinde antioksidan aktivite yönünden zengin P1 ekstresinin diğer ekstre ve turşu sularından daha aktif olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler : *Beta vulgaris* L., turşu, probiyotik, antioksidan etki, sitotoksiste.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF PHENOLIC CONTENTS PH CHANGES, ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITIES of *BETA VULGARIS* L. (RED BEET) AND PICKLES

Gülcan OK DÜKER

Department of Pharmacognosy

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, May, 2017

Supervisor : Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK

In this study, belonging to Chenopodiaceae family, extracts of *Beta vulgaris* L. (red beet) prepared with water and etanol and pickles prepared of red beet. with different NaCl and acetic acid ratios, spectrometrically total phenolic compounds and total betalain quantities, chromatographically phenolic acid and betalain determinations, was done. In addition, antioxidant capacity in 5 different ways and antiproliferative effects on human colorectal adenocarcinoma cell line Caco-2 were investigated by MTT assay. Red Beet P1 extract % 0.05 acetic acid (AA) containing water was found to contain more total phenolic content (TMC) than from pickle sample. Pickled juice containing %5 NaCl and % 20 acetic acid, T9 betalain amounts were found to be higher than other pickle samples (1.114 ± 0.08 mg/g extract). Also in chromatographic analysis, in extracts and pickle juices was measured gallic, *p*- hydroxy benzoic, chlorogenic, syringic, *p*-coumaric, ferulic ve caffeic acids.

The P1 extract with higher than average TPC, is the most active extract in the DPPH assay, was more effective than BHT and other extracts in radical scavenging ability, but the significant activity wasn't observed in pickle samples. In β -caroten-linoleic acid system, inhibition percentages of the T9 and T6 pickle juices were measure 52.51-43.52 %, respectively. While EC₅₀ value determined by reducing power of P1 extract is 0.46 mg/ml, EC₅₀ values of the pickle samples measurement vary among 8.47-29.41 mg/ml. Total antioxidant activity values determined by TEAC of red beet and its pickle juice extracts was found among 26.85-99.57 %. The extracts and pickled juices were found to inhibit the growth of colon cancer cells in a dose-dependent manner as detected by the MTT assay.

Keywords : *Beta vulgaris* L, pickle, probiotic, antioxidant activity, cytotoxicity.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında emeğini hiç bir zaman esirgemeyen, bana anne şefkati ile davranan, anlayışlı, özverili, öğretmeyi ve çalışmayı çok seven, kıymetli danışman hocam sevgili Prof. Dr. Nilgün ÖZTÜRK'e,

Tüm samimiyetiyle bana bu süreçte destek olan, laboratuvar çalışmalarında elinden gelen desteği esirgemeyen, iyi kalpli sevgili arkadaşım Arş. Gör. H. Tuba KIYAN'a,

Sitotoksiste deneylerinde yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan saygıdeğer hocam Doç. Dr. Miriş DİKMEN ve öğrencileri Uzm. Bio. Selin ENGÜR ve Araş. Gör. Elif KAYA TILKI'ye,

Tezimi yaptığım dönemde bana desteklerini esirgemeyen sevgili çalışma arkadaşım Diyetisyen İbrahim DÖNGEL ve Demet ANÇI' ya,

Beni bu dünyaya getiren, onların çocuğu olduğum için hep şükrettiğim, fedakar, yeri doldurulamayacak kişiler annem ve babam Ayşe-Hasan OK'a,

Her zaman kararlarımın saygı duyan, sonsuz sabrıyla bana destek verip yanımda olan, bir eşten daha fazlası, kıymetlim, Melih DÜKER'e,

Karnımdayken ve dünyaya geldiği ilk zamanlarından itibaren sabırla ders çalışmama izin veren biricik kızım Ümrhan DÜKER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gülcan OK DÜKER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalardan bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Gülcan OK DÜKER

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
GÖRSELLER DİZİNİ.....	xii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
1.1. Fermentasyon.....	3
1.1.1. Fermentasyonda Kullanılan Yardımcı Maddeler.....	4
1.1.1.1. Tuz.....	4
1.1.1.2. Su.....	5
1.1.1.3. Aromatik bitki drogları ve tohumları.....	5
1.1.1.4. Asetik asit.....	6
1.1.1.5. Sitrik asit.....	6
1.2. Probiyotik ve Prebiyotikler.....	7
1.3. Antioksidanlar.....	10
1.4. Kırmızı Pancar (<i>Beta vulgaris</i> L.).....	11
1.4.1. Kimyasal yapısı.....	12
1.4.1.1. Fenolik maddeler.....	12
1.4.1.1.1. Betalainler.....	13
1.4.1.1.2. Flavonoidler.....	16
1.4.1.1.3. Fenolik asitler.....	18
1.4.1.1.4. Fenolik amidler.....	20
1.4.1.2. Triterpenik saponinler.....	21
1.4.1.3. Diğer bileşikler.....	21

1.4.2. Kırmızı pancarın gıda olarak kullanımı.....	23
1.4.3. Halk arasında kullanımı.....	23
1.4.4. Farmakolojik çalışmalar.....	24
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
2.1. Bitkisel Materyal.....	27
2.2. Bitkisel Materyalin Hazırlanması-Ekstraksiyon Yöntemleri.....	27
2.2.1. Ekstraksiyon 1.....	27
2.2.2. Ekstraksiyon 2.....	27
2.2.3. Fermentasyon.....	27
2.3. Ph Ölçümü.....	28
2.4. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini.....	28
2.5. Toplam Monomerik Antosiyanin Tayini.....	29
2.6. Toplam Betasiyanin ve Betaksantin Miktar Tayini.....	29
2.7. Toplam Betalain Miktar Tayini.....	30
2.8. YBSK-DAD ile Fenolik Asitlerin Tayini.....	30
2.9. YBSK ile Betalain ve Betaksantin Tayini.....	31
2.10. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	32
2.10.1. DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivite tayini....	32
2.10.2. β -karoten-linoleik asit sisteminde antioksidan aktivite tayini	32
2.10.3. Metal şelatlama kapasitesi.....	33
2.10.4. ABTS radikal katyon renksizleştirme yöntemi.....	34
2.10.5. Redükleyici güç ölçümü.....	34
2.10.6. MTT yöntemi ile sitotoksosite tayini.....	35
3. SONUÇLAR.....	37
3.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı.....	37
3.2. Toplam Betasiyanin, Betaksantin ve Betalain Miktarları.....	40
3.3. YBSK ile Fenolik Asit Miktar Tayini.....	41
3.4. YBSK ile Betalain Tayini.....	43
3.5. Ekstrelerin pH Değerleri.....	43
3.6. DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini.....	44
3.7. β -karoten-linoleik Asit Sisteminde Antioksidan Aktivite Tayini.....	46
3.8. Metal Şelatlayıcı Aktivite.....	47
3.9. Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (TEAC).....	48

3.10. Redükleyici Güç Ölçümü.....	49
3.11. MTT Yöntemi ile Sitotoksisite Tayini.....	51
4. TARTIŞMA.....	54
KAYNAKÇA.....	60
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Kırmızı Pancar Turşuları İçin Kullanılan NaCl ve Asetik Asit Oranları.	28
Tablo 3.1. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Kuru Drog ve Verimleri ve Toplam Fenolik Madde Miktarları.....	38
Tablo 3.2. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Betasiyanin, Betaksantin ve Betalain Miktarları.....	40
Tablo 3.3. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularında Ters-Faz YBSK ile Tespit Edilen Fenolik Asit Miktarları.....	41
Tablo 3.4. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının pH Değerleri.....	44
Tablo 3.5. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının DPPH Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini (% İnhibisyon).....	45
Tablo 3.6. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının β -karoten-linoleik Asit Sisteminde Antioksidan Aktiviteleri (% AA).....	47
Tablo 3.7. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının 10 mg/ml Konsantrasyonda 562 nm'de Absorbansları.....	48
Tablo 3.8. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasiteleri.....	49
Tablo 3.9. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Redükleyici Güç Ölçümü (EC ₅₀).....	50
Tablo 3.10. Kırmızı pancar ekstreleri ve turşularının CaCo-2 kolon kanseri hücrelerinde 48 saat sonra ölçülen % hücre canlılık değerleri.....	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Betalamik Asit (I), Betasiyanin (II) ve Betaksantin (III).....	14
Şekil 1.2. Betanin (I) ve Neobetanin (II).....	15
Şekil 1.3. Vulgaksantin (I), Vulgaksantin (II) ve İndikaksantin.....	16
Şekil 1.4. Flavonoid Yapısı.....	17
Şekil 1.5. Rutin (I), Betavulgarin (II), Kokliofilin A (III), Betagarin (IV), Isorhamnetin (V).....	18
Şekil 1.6. N-trans- feruloytramine.....	21
Şekil 1.7. Betavulgaroside I-X.....	22
Şekil 3.1. Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi.....	38
Şekil 3.2. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Toplam Fenolik Madde Miktarları.....	39
Şekil 3.3. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Betasiyanin ve Betaksantin Miktarları.....	40
Şekil 3.4. P1 Pancar Ekstresi Kromatogramı (I), T5 Turşu Ekstresi Kromatogramı (II), Fenolik Asit Standart YBSK Kromatogramı (III)....	42
Şekil 3.5. T2 ve T3 Ekstrelerinin YBSK Kromatogramları.....	42
Şekil 3.6. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının DPPH Serbest Radikal Süpürücü Antioksidan Aktiviteleri (% İnhibisyon).....	45
Şekil 3.7. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının β -karoten-linoleik Asit Sisteminde Antioksidan Aktiviteleri.....	46
Şekil 3.8. Kırmızı Pancar ekstresinin (P1) 0.1-5 mg/ml konsantrasyonlardaki TEAC sonuçları (% inhibisyon).....	49
Şekil 3.9. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Redükleyici EC ₅₀ değerleri....	50
Şekil 3.10. Kırmızı pancar ekstreleri ve turşularının CaCo-2 kolon kanseri hücrelerinde 48 saat sonra ölçülen % hücre canlılık değerleri.....	52

GÖRSELLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Görsel 1.1. <i>Beta vulgaris</i> L. (Kırmızı Pancar).....	12

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	: 2, 2'-Azino-Bis-3-Etilbenzothiazoline-6-Sulfonic Asit
ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ANOVA	: Analysis of Variance (Varyans Analizi)
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Bütil Hidroksi Toluen
Caco-2	: Kolon Kanseri Hücresi
cm	: Santimetre
CO₂	: Karbondioksit
Cu	: Bakır
dk	: Dakika
DMBA	: Dimetilbenz[a]anthrasen
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
E162	: Pancar Kökü Kırmızısı
FDA	: Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
FeCl₃	: Demir Klorür
GABA	: Gama Amino Bütirik Asit
GLP	: Glukagon Like Peptit (Glukagon Benzeri Peptit)
g	: Gram
HepG2	: İnsan Karaciğer Kanseri Hücre Dizisi

IS	: İç Standart (Internal Standard)
K₂S₂O₈	: Potasyum Peroksidisülfat
K₄[Fe(CN)₆].3H₂O	: Potasyum Ferrosiyanür
LDL	: Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
MTT	: 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil Tetrazolyum Bromür (Tetrazolium Tuzu)
MCF-7	: İnsan Meme Kanseri Hücresi Dizisi
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Mikromolar
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NaCl	: Sodyum Klorür
nm	: Nanometre
pH	: Power of Hidrojen (Hidrojen Konsantrasyonunun Kologaritması)
PBS	: Fosfat Tamponu
PYY	: Pankreatik Peptit YY Hormonu
S	: Kükürt
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences (Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi)
TAC	: Toplam Antioksidan Kapasite
TCA	: Trikloroasetik Asit
YBSK-DAD	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi–Diode Array Dedektör
µl	: Mikrolitre

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda yeme alışkanlıklarının değişmiş olması, besin üretim ve tüketimindeki yeni eğilimler, yüksek enerjili işlenmiş gıda tüketiminin artması, posalı gıda alımının (sebze ve meyve gibi) azalması gibi faktörler sağlık için risk oluşturmaktadır. Özellikle batılı ülkelerde dengesiz diyetle beslenerek yaşayan popülasyon, modern çağın hastalıkları olan kardiyovasküler hastalıklar, obezite, osteoporoz, kanser, diyabet, alerji, astım ve diş problemleri ile yüz yüze gelmektedir (Cencic ve Chingwaru, 2010, s. 611).

Bu hastalıkların yanlış beslenmeden kaynaklandığının farkına varılması, insanlarda sağlıklı beslenme bilincinin gelişmesi, bireylerin gıdalardan besleyici özelliğin yanı sıra farklı yararlar sağlamayı beklemesi farmakognozi alanında ve gıda biliminde yaşanan gelişmelerle, gıda ürünlerine vücudumuz için yararlı bazı doğal maddelerin katılmasıyla fonksiyonel gıda üretimi ve tüketimi artmıştır (Meral ve Doğan, 2009, s. 194).

Hipokratın dediği gibi ‘yedikleriniz ilacınız, ilacınız yedikleriniz olsun’ mantığı geliştikçe, insanlar gıdaların tedavi edici özelliklerini bulmaya çalışmış ve dolayısıyla bilim adamlarının ilgi alanları, doğal tedavi yöntemleriyle yaşam kalitesini geliştirmeye yönelmiş, homeopati, alternatif tıp ve fonksiyonel gıdaları araştırmaya başlamışlardır. Bu yönde de fonksiyonel gıda terimi ortaya çıkmıştır (Medic-Saric vd., 2009, s. 8).

Fonksiyonel gıdalar, normal diyetin bir parçası olan geleneksel gıdalar gibi görünselerde geleneksel gıdalar ve fonksiyonel gıdaları ayıran nokta, basit besin fonksiyonlarının ötesinde fonksiyonel gıdaların fizyolojik faydaları ve kronik hastalık riskini azaltabilmeleri, bağırsak sağlığını koruyabilmeleridir ([http-1](http://1)).

Fonksiyonel gıda olarak kullanılan ürünler, genel olarak diyet lifleri, prebiyotikler, probiyotikler, çoklu doymamış yağ asitleri, antioksidanlar olarak sınıflandırılır (Das vd., 2012, s. 175). Ayrıca bir besini, zararlı bileşiklerini içinden çıkararak veya biyoyararlılığını arttırmak için yapısında değişiklik yaparak fonksiyonel gıda haline getirebiliriz (Sağdıç vd., 2004, s. 221; Dayısoylu, Gezginç ve Cingöz, 2014, s. 58).

Fonksiyonel gıdalar, önemli düzeyde özel besin maddelerini içermeli, bu maddelerin yapısı ve vücuttaki fonksiyonu bilinmeli, besin öğelerinin yanı sıra sağlığa yararlı olduğu ispatlanmalı, FDA tarafından kabul edilen hastalık-diyet ilişkisi

konusunda iddiasını kanıtlamış bilimsel çalışmalara sahip olmalıdır. (Güven ve Gülmez, 2006, s. 91).

Fonksiyonel gıdaların özellikle gastrointestinal sistemde sağlık problemlerini hafifletici etkileri tartışılmaktadır. Probiyotikler ve çeşitli bitkilerde fonksiyonel bir besin bileşeni olan prebiyotiklerden inülin ve oligofruktozun fonksiyonel gıda katkısı olarak, gastrointestinal fizyolojide ve immün fonksiyonlarda olumlu etkileri çalışmalarda gösterilmiştir (Cencic ve Chingwaru, 2010, s. 613; Roberfroid, 2002, s. 107).

Antioksidanlar, fonksiyonel gıda olarak en çok kullanılan gruptur. Özellikle antioksidan etkili fenolik bileşikler, ürünlere katılarak fonksiyonel gıdalar geliştirilmektedir. Fenolik asitler, flavonoidler ve betalainleri yüksek oranda içeren kırmızı pancar ekstrelerinin diğer sebzelerle karşılaştırıldığında daha güçlü bir antioksidan aktivite gösterdiği birçok çalışmada gösterilmiştir (Clifford vd., 2015, s. 2803; Kujala vd., 2002, s. 508).

Kurutma işlemiyle toz haline getirilen kırmızı pancar, Avrupa Birliği tarafından gıda renklendiricisi olarak kullanımına izin verilmiş ve E162 olarak etiketlenen ekstre, betalain içeriğinden dolayı doğal boya kaynağı olarak kabul edilmektedir. Betalain pigment karışımları, kırmızı pancar tozu, konsantre kırmızı pancar suyu gibi formlarda gıda, ilaç ve kozmetik ürünler için doğal katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır (Dörnenburg ve Knorr, 1996, s. 142).

Antosiyaninler en yaygın ve en çok kullanılan kırmızı, mor renk aralığını kapsayan doğal pigmentler olmasına rağmen, betalainler pH ve sıcaklık değişikliklerinde daha fazla dayanıklı kalabilmektedirler. Betalainler, antosiyaninlerle renklendirilmesi imkansız düşük asitli gıdalar için uygun geniş pH dayanıklılığı gösterirler. Suda çözünebilen ve azot içeren betalainler, aynı zamanda antimikrobiyal ve antiviral etkiye sahiptir ve insan kanser hücrelerinin proliferasyonunu da önlerler (Strack, Vogt ve Schliemann, 2003, s. 247-249).

Betalamik asitin, aminler ve amino asitler ile kondensasyonundan oluşan, kırmızı pancarda bulunan pigmentlerden betaksantinler, suda kolay çözüldüğü için sarı turuncu gıda renklendirmesi uygulamalarında, çözünürlüğü zayıf olan, sarı turuncu renk aralığı için kullanılan karotenoidlerin yerine kullanılabilir (Cai vd., 2001, s. 4429).

Inülin içeriği nedeniyle prebiyotik olarak tanımlanan kırmızı pancar ve turşusu, laktik asit fermentasyonu sonucunda oluşan probiyotik etkileri ve fenolik

bileşiklerinden dolayı sağlık için olumlu etkileri olan, özellikle son yıllarda dikkat çekmeye başlayan fonksiyonel bir gıdadır. Ayrıca kapsüllenmiş kırmızı pancar betalainleri gıdalarda renk değişikliğini korumak ya da gıdaları zenginleştirmek için katkı maddesi olarak gelecek vaat etmektedir (Ravichandran vd., 2014, s. 2220). Yeni çalışmalar sayesinde *Beta vulgaris* ve alt türlerinin kimyasal içeriğinin önemli ölçüde anlaşılmasının, nutrasötiklerin ve fonksiyonel gıdaların gelişimine katkı sağlayacağı düşünülmektedir (Cai, Sun ve Corke, 2005, s. 454).

Bu çalışmada, ülkemizde halk arasında sıkça tüketilen ve farklı oranlarda tuz ve asit konsantrasyonlarında hazırlanan kırmızı pancar turşu suları üzerinde bazı fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmaları gerçekleştirilmiş, sonuçlar kırmızı pancar ekstraktları ile karşılaştırılmıştır.

1.1. Fermentasyon

Dünyada yemek kültüründe geleneksel tutsüleme, kurutma, tuzlama ve fermentasyon gibi işlemler gıdaları korumak ve uzun süreli tüketimini sağlayabilmek için eski insanlar tarafından geliştirilmiş yöntemlerdir. Fermente gıdalar ve içecekler, dünyadaki her toplumun beslenme kültürünün vazgeçilmez unsurları olarak sadece besin kaynağı olarak kullanılmamakta, aynı zamanda sağlığı koruyarak hastalıkları önlemede de büyük potansiyele sahiplerdir. Fermente sebzeler, soya ve diğer baklagiller, tahıl ürünleri, süt ürünleri, balıklar ve et ürünleri yeryüzünde genel olarak tüketilen fermente ürünleri oluşturmaktadır (Tamang ve Kailasapathy, 2010, s. 12; Kabak ve Dobson, 2011, s. 248)

Fermente ürünler, maya ve özellikle laktik asit bakterileri gibi farklı mikroorganizmaları barındırmaları sebebiyle probiyotik gıdalardır. Bu sebeple antimikrobiyal ve antioksidan etkili, kolesterol düşürücü olmaları ve insan sağlığına faydalı biyolojik işlevi olan bileşikleri içermeleri nedeniyle fonksiyonel besin oldukları kabul edilmektedirler (Karaçıl ve Acar-Tek, 2013, s. 163). Ayrıca yapılan çalışmalar gelecekte fermente bazı ürünlerin koruyucu olarak et ürünlerinde kullanılabileceğini de göstermiştir. Besinleri bozulmadan koruyabilmeleri ve sağlığı koruyucu ve geliştirici faydaları nedeniyle fermente yiyecek ve içeceklere olan ilgi son yıllarda oldukça artmıştır (Chavhan vd., 2015, s. 1226).

Geleneksel ve bilinen en eski yöntem olan doğal fermentasyonla üretilen turşu, meyve ve sebzelerin bozulmadan saklanabilmesi, aynı zamanda yumurta ve et gibi hayvansal ürünleri saklayabilmek için de uygulanan bir metoddur. Özellikle eşsiz lezzet ve probiyotik özellikleri ile bu benzersiz yöntem yararlı mikroorganizmaları korur (Kabak ve Dobson, 2011, s. 249; Chavhan vd., 2015, s. 1223).

Turşular, sirkeli bir asit solüsyonu içerisinde, laktik asit bakterilerinin fermentasyonu ve tuz ile hazırlanır (Ahmad, 2012, s. 1). Dolayısıyla asidik özelliklere sahiptir ve önemli miktarda askorbik asit, Cu ve Fe gibi mineralleri içerirler. Sebze ve meyveler kullanılarak yapıldığı için de yüksek antioksidan aktivite gösterirler (Kharat vd., 2016, s. 125). Bir çalışmada, turşu oluşumundaki laktik asit fermentasyonu sırasında toplam fenolik, antosiyanin, flavonoid ve diğer antioksidan miktarları değerlendirilmiş, bu değerlerin fermentasyonun 5. ve 9. günleri arasında en yüksek miktarlara ulaştığı görülmüş, daha uzun veya kısa fermentasyon sürelerinde bu miktarların azaldığı belirtilmiştir (Jing vd., 2014, s. 9688).

1.1.1. Fermentasyonda kullanılan yardımcı maddeler

1.1.1.1. Tuz

Tuz organizmada osmotik basıncı yükselterek, hücre geçirgenliğini artırıp mikroorganizmaların etkinliğini azaltır ve önler. NaCl suda çözünüp iyonlarına ayrıldığında her bir iyon ortamdan bir molekül su çeker ve böylece iyon hidrasyonu gerçekleşir. Dolayısıyla fermentasyon işleminde ortama ilave edilen tuz, serbest suyu kendine çektiği için ortamdaki nem mikroorganizmalar için çoğalma ve gelişmeye elverişsiz hale gelmektedir. Düşük tuz konsantrasyonlarında (% 5-8) fermentasyon daha hızlı seyrederken, yüksek tuz konsantrasyonlarında (% 10 ve üzeri) daha yavaştır veya hiç gerçekleşmez (Aktan vd., 1999, s. 13).

Sodyum klorür oranı yüksek olan gıdaların hipertansiyonla ilişkisi olduğu bugüne kadar yapılan birçok çalışmada vurgulanmıştır. Bu sebeple kan basıncını yükselten yüksek tuz oranına sahip diğer gıdalar gibi turşuların da tüketimi günümüzde azalmıştır. Fakat turşunun hem probiyotik hem fonksiyonel bir gıda olmasından kaynaklı sağlık faydalarının bulunması, akademik camiyi yeni nesil düşük tuz oranlı turşularla ilgili araştırmalar yapmaya sevketmiştir. Yapılan bir çalışmada, yüksek miktarda GABA içeren pirinç kepeği kullanılarak, ACE-inhibitör peptit ilave edilip,

%2.5 NaCl ile geleneksel yöntemlerle üretilen turşuların antihipertansif etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonuçları, turşunun hipertansif ratlarda kan basıncını azalttığını kesin olarak göstermiştir (Oda vd., 2014, s. 888). Ayrıca 2015 te yapılan bir çalışmada turşu üretiminde sodyum klorür yerine kalsiyum klorür kullanılabileceği vurgulanmıştır (Perez-Diaz vd., 2015, s. 2835). Asetik asit, propiyonik asit veya laktik asitler ile birlikte % 3 tuz ilave edilen turşularda Gram (-) bakterilerde büyük bir azalma olduğu gözlemlenmiştir (Bae ve Lee, 2015, s. 455). Düşük tuz konsantrasyonlarıyla yapılan (% 3-4), pastörize edildikten sonra depolanan (70 °C, 15 dakika) turşuların salamuralarında herhangi bir mikroorganizma gelişmesi görülmemiştir. Bu durum pastörizasyon uygulaması sayesinde düşük tuz konsantrasyonlu turşularda bile üründe mikrobiyal stabilitenin sağlanabileceğini göstermektedir (Özçelik ve İç, 2000, s. 118).

1.1.1.2. Su

Su, turşu üretiminde sebze veya meyveleri temizlemek ve salamura hazırlanmasında kullanılan temel sıvıdır. Ayrıca ana ürünle birlikte fermentasyonun sonuna kadar kaldığı ve tüketildiği için turşunun bir hammaddesi olarak görülmektedir. Bu yüzden turşu üretiminde kullanılan suyun özellikleri fermentasyonun sorunsuz oluşması için önemlidir. Suların sert olması fermentasyonda asit oluşturarak çökeltme oluşmasına ve turşu yüzeyinde bu çökelti maddelerinin birikerek hoş olmayan görünüş ve değişimler kazanmasına yol açar. Aynı zamanda suların dezenfeksiyonu için kullanılan klor ve benzeri maddelerin suda fazla olması, mikroorganizmalara toksik etkili olduğu için fermentasyonu önleyebilir. Bu sebeplerden fermentasyonda kullanılan sular sert olmamalı, ağır metal iyonları ve alkali özellikteki tuzları içermemelidir (Aktan vd., 1999, s. 20).

1.1.1.3. Aromatik bitki drogları ve tohumları

Turşu üretiminde aroma verici bitkilerin kullanılmasının nedeni, aromatik hoş koku sağlamak, turşudaki asit ve ham meyve tatlarını örtmektir. Kullanılan aroma verici bitkiler, sarımsak ve soğan, kişniş, hardal, haşhaş, karabiber, estragon (tarhun), merzengüş gibi bitki tohumlarıdır (Aktan vd., 1999, s. 40-41).

1.1.1.4. Asetik asit (E 260)

Asetik asit çözeltisi turşu suyu olarak popülerlik kazanmıştır (Dale vd., 2003, s. 57). Turşularda bir koruyucu olarak kullanılan asetik asit, iyonlaşmamış asetik asit molekülü nedeniyle bakteriyostatik etki göstermektedir. Sirke % 4-6 asetik asit içerdiğinden, asetik asit sirkenin temel bileşeni durumundadır. Asetik asidin, maya ve bakteriyel gelişmeyi durdurma açısından küflerden daha etkili olduğu bilinmektedir. Glutamik asit de, asit direncini arttırarak asetik asidin bilinen etkilerinden *E. coli* suşlarını koruyan, turşu salamuralarının bir bileşenidir (Breidt vd., 2004, s. 12).

1.1.1.5. Sitrik asit (Antioksidan E330)

Sitrik asit, narenciyelerde büyük miktarlarda bulunan zayıf bir organik asittir. İnsan bünyesinde sentez edilebilen sitrik asidin biyolojik orjinli olması sebebiyle toksik etki göstermediği ve bu nedenle fermentasyonda tercihen kullanıldığı bilinmektedir. En çok bilinen sitrik asit kaynaklarından biri limon suyudur ve % 6-8 sitrik asit içerir. Sitrik asit, bir antioksidan olmamakla birlikte, antioksidanlarla kullanıldığı takdirde sinerjik etki yaptığı çalışmalarda vurgulanmıştır. Sistemik inflamasyonu olan farelerde, sitrik asit (1-2 g / kg) alımının, beyin lipid peroksidasyonu ve inflamasyonu, karaciğer hasarı, ve DNA parçalanmasında azalma yaptığı gösterilmiştir (Aktan vd., 1999, s. 24-25; Abdel-Salam vd., 2014, s. 597).

Benzoik asit ve tuzları (Koruyucu E 210), sorbik asit ve tuzları (Koruyucu E 200), kükürtdioksit (Koruyucu E 220) ve kalsiyum klorür (Sertleştirici 509) diğer koruyucular olarak sayılabilir.

Fumarik asit ve alil izotiyosiyanatın, ısıl işlem yapılmadan turşuların saklanabilmesi için sodyum benzoat veya sodyum metabisülfid yerine koruyucu olarak kullanılabileceği yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Perez-Diaz ve McFeeters, 2010, s. 208).

1.2. Probiyotik ve Prebiyotikler

İnsanlar, doğal ve işlenmemiş ürünlerin tüketildiği dönemlerde daha fazla posa, mineral ve probiyotik içeren besinlerle beslenirken, günümüzde çok daha fazla miktarda yağ, tuz ve şeker içeren enerji içeriği yüksek, rafine ürünlerle beslenmeye başlamıştır. Bitkisel kaynaklardan alınan posa ve antioksidan tüketiminin azalmasıyla birlikte kronik hastalıkların artmaya başladığı görülmektedir. Yağlı ve rafine gıdaların fazlaca tüketilmesi, yiyeceklerdeki ağır metaller ve hormon içeren etler, gıdalardaki renklendirici ve tatlandırıcı gibi kimyasallarla birlikte beslenme tarzında görülen değişikliklerin, insanların bağırsak florasını değiştirerek otoimmün hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir. Gelişmiş ülkelerin diyet tarzındaki gıdaların çoğu, vitamin, mineral içeriği çok yetersiz olan rafine karbonhidratlarca zengin olduğu için bağırsaklarımızın üst kısmında emilerek, gastrointestinal floramızın gelişmesinde ve devamlılığının sağlanmasında faydalarının olmadığı bilinmektedir. Son yıllarda, bağırsak mikrobiyotası, insan sağlığı üzerinde oynadığı önemli etkiyle bilim adamlarının dikkatini çekmeye başlamış, florayı düzenleyen probiyotik ve prebiyotiklerin önemi anlaşılmaya başlanmıştır. Bu sebeple probiyotik bakterileri içeren besinlerin veya probiyotiklerin yaşamasını sağlayan prebiyotik besinlerin tüketiminin artması son yıllarda giderek daha çok önem kazanmıştır (Alkan-Yılmaz, 2015, s. 16-17; De Jesus Raposo vd., 2016, s. 1-2; Campbell, 2014, s.1-3; Bengmark, 2013, s. 162). Gıdalarla birlikte veya dışarıdan alınabilen, yeterli sayıda ve çeşitte olduğunda bağışıklık sistemini düzenleyen, bağırsak sağlığını zararlı mikroorganizmaların yerine geçerek koruyan, dolayısıyla da konakçıya faydası olan hem canlı hemde yararlı mikroorganizmalara "probiyotik" denir. Probiyotik kavramı "pro" ve "biota" olmak üzere iki kısımdan oluşur. İlk defa 1960 larda probiyotik için söylenen 'yaşam için' terimi özellikle son dönemlerde probiyotiklerin sağlık üzerine olan etkileriyle oldukça kuvvetlenmiştir (FAO/WHO, 2002, s. 2-7; Senok vd., 2005, s. 958-960).

Probiyotik bakterilerin, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde, antimikrobiyal, antimutajenik, antikanserojenik etkileri yanında, ishallerin önlenmesinde, laktoz metabolizmasının gelişmesinde, *Helicobacter pylori* enfeksiyonları, enflamatuvar bağırsak hastalıkları, Krohn ve huzursuz bağırsak sendromu gibi sindirim sistemi ile ilgili sağlık problemlerinde, kolesterol değerinin düşürülmesi, alerjilerin önlenmesi ve genitoüriner sistem enfeksiyonlarında kullanıldığı bilinmektedir (Senok vd., 2005, s.960; Sağdıç vd., 2004, s. 221-222).

Sağlıklı bir yetişkinin bağırsak florasında yaklaşık 10^{14} kadar probiyotik bakteri bulunduğu, bağırsak flora genomlarının, insan genomlarından, 50 ila 100 kat daha fazla olduğu tahmin edilmektedir. Bağırsak mikroflorasının metabolik aktivitesinin, karaciğerinkine eşit olduğu düşünülmektedir (Gill ve Guarner, 2004, s. 516).

Sağlığa faydaları oldukça fazla olan probiyotikler doğal olarak; süt, yoğurt, peynir ve kefir gibi fermente süt ürünlerinde, turşu, bira mayası, şarap ve sirkede bol miktarda bulunmaktadır (Alkan-Yılmaz, 2015, s. 16; Heller, 2001, s. 374).

Prebiyotikler ise vücudumuza yararlı olan mikroorganizma çeşitlerinin çoğalmasını sağlayan, probiyotikler tarafından seçilerek metabolize edilen sindirilmeyen besin bileşenleridir. Vücudumuz için sağlık faydaları olan probiyotik bakterilerin beslenebilmesi için gereklidirler. Beslenme düzeniyle alınan bir prebiyotik olan kısa zincirli frukto-oligosakkaritlerin tüketiminin yüksek olduğu toplumlarda yaşam süresinin uzun olduğunun farkedilmesi ile prebiyotiklerin önemi anlaşılmaya başlanmıştır (Coşkun 2007, s. 82-83).

Prebiyotikler sindirim sisteminde herhangi bir değişikliğe uğramadan bağırsaklara ulaşmakta ve burada bifidobakteriler tarafından hidrolize edilmektedirler. Bu işlemin sonunda çeşitli sağlık faydaları olan kısa zincirli yağ asitleri açığa çıkmakta ve bunlardan propiyonik asit, karaciğerdeki yağ asidi sentezini durdurarak kandaki LDL düzeylerini, asetat ise bağırsak pH'sını düşürmektedir. Böyle ortamlarda patojen mikroorganizmalar çoğalamayıp, faydalı mikroorganizmalar arttığından bağışıklık olumlu etkilenmektedir (Tokunaga, 2004, s. 90).

Prebiyotiklerden zengin beslenme düzeni, bağırsak florasının sağlığı için yararlı olduğu kanıtlanan probiyotiklerden bifidobakteriler ve laktobasillerin aktivitesini artırıp, sayılarını çoğaltmaya yardımcı olmaktadır (Manning ve Gibson, 2004, s. 287).

Fermentasyon ürünlerinden olan turşu, yoğurt, peynir, sirke, tuzlama yiyeceklerin de bağırsak florasında bulunan bifidobakteriler ve laktobasillerin sayısını arttırdığı bilinmektedir (Nazlıkul 2012, s. 90).

Prebiyotiklerden zengin beslenmenin iştah kontrolünü olumlu yönde etkilediğine dair önemli çalışmalar vardır. Randomize, çift körlü olarak yapılan çalışmada, 5 erkek ve 5 kadın olmak üzere sağlıklı 10 kişi rastgele iki gruba ayrılmıştır. Bir gruba 2 hafta süre ile 16 g prebiyotik, diğerine de 16 gr dekstrin maltoz verilerek sonuçlar karşılaştırıldığında prebiyotik alanlarda, yemek sonrasında plazma glukoz cevabını azaltan Glukagon Like Peptit (GLP) ve Pankreatik Peptit YY (PYY)

konsantrasyonunun arttığı tespit edilmiş ve prebiyotiklerin bağırsak florasını iyileştirerek açlık ve enerji alımını azalttığı, tokluk sağladığı vurgulanmıştır (Cani vd., 2009, s. 1243).

Ratlarla yapılan bir çalışmada, prebiyotik lif kaynakları inülin ve oligofruktozun tokluk üzerinde doza bağlı etkileri araştırılmış, obez farelere sırası ile % 0, % 10, % 20 lif verilerek, prebiyotiklerin tokluk hormonları, enerji harcaması, gastrik boşalma ve bağırsak mikrobiyotasına etkileri incelenmiştir. Doza bağlı olarak, tokluk hormonu olan PYY artmasıyla farelerde kilo kaybı, enerji alımında azalma ve glukoz toleransında artma gözlenmiştir. Sonuç olarak prebiyotiklerin bu mekanizmalardaki etkilerinin doza bağlı olduğu ve obezitede prebiyotiklerin kombine etkilerinin tedavi edici olabileceği düşünülmüştür (Parnell ve Reimer, 2012, s. 601-613).

Farelerle yapılan başka bir çalışmada, obez farelerin bağırsak florasında normal farelere göre % 50 daha çok *Firmucutes* bakterisine rastlanmıştır. Farelerin bağırsaklarında *Bacteroidetes-Firmicutes* oranının azalmasının obeziteye zemin hazırladığını gösteren bilimsel sonuçlar bulunmaktadır. Bu durumun da sindirilemeyen polisakkaritlerden kaynaklandığı vurgulanmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının güçlendirilmesinin obezite ve ona bağlı hastalıkların patogenezinde potansiyel etkili olduğu vurgulanmaktadır (Kallus ve Brandt, 2012, s. 23-24; Hansen vd., 2015, s. 1). Bu sonuçlar bize probiyotik ve prebiyotik gıdalardan zengin beslenmenin bağırsak florasında yaptığı değişikliklerle kilo kontrolündeki önemini göstermektedir.

Probiyotikler ve prebiyotikler birçok farklı mekanizmalarla intestinal mikrobiyotanın bileşimini etkilerler ve mikrobiyomun metabolik özelliklerini değiştirirerek antienflamatuar etki gösterirler. Probiyotikler, farklı bağışıklık hücrelerinin salgılanması ve antienflamatuar sitokinlerin indüksiyonu üzerindeki etkileri ile hidrojen peroksit, hidrojen sülfid, laktik asit, ve spesifik bakteriyosinler gibi antibakteriyel maddeleri üretilip, epitel hücre yüzeyi ya da bağırsak mukoza arayüzündeki zararlı mikroorganizmaları çıkararak antienflamatuar özelliklerini sergilerler. Prebiyotikler ise kısa zincirli yağ asitlerinin üretimini artırıp, kolon ortamının pH'ını düşürerek potansiyel olarak patojenik mikroorganizmaların büyümesini engellerler. Bütiratlar ise bir besin olarak işlev görür ve zarar görmüş bağırsak epitelinin onarımını artırırlar. Probiyotik ve prebiyotik kullanımının enflamatuar bağırsak hastalığı tedavisinde ve bazı prebiyotiklerin ülseratif kolit

hastalarında fayda sağlayabildiği çalışmalarda vurgulanmaktadır (Orel ve Trop, 2014, s. 11505).

Çocuklarda alerjik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde probiyotik ek gıdalar kullanılmaktadır. Çeşitli epidemiyolojik veriler alerjik çocukların bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı çocuklarındakinden farklı olduğunu göstermektedir. Bu floranın bakteri çeşitliliği de bağışıklık sistemini etkilemektedir. Alerjik çocukların bağırsak florasının, bir probiyotik olan bifidobakterileri sağlıklılara göre düşük kolonizasyonda içerdiği bilinmektedir. Çoğu literatür verisi, probiyotiklerin bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu ayarlayabileceğini ve immünomodülatör etkisi olabileceğini göstermektedir. Dengesiz mikrobiyota alerjik hastalıkların gelişimine yardım ettiği için, probiyotiklerin; bağırsak mikrobiyotasını dengeleme, normal bağırsak geçirgenliğini onarma, immünolojik bağırsak bariyeri fonksiyonunu geliştirme, proenflamatuar sitokinlerin üretimini düzenleme kapasitesi nedeniyle alerjik hastalıklara karşı faydalı olabileceği görülmektedir (Meneghin vd., 2012, s. 727-729).

Metabolik hastalıklarda bakteriyel dengesizlik durumunda, vücut ağırlığı, insülin hassasiyeti, glikoz metabolizması ve diğer kardiyometabolik risk faktörlerinin ortaya çıkmasında bağırsak mikrobiyotasının rol oynadığı görülmektedir (Hansen vd., 2015, s. 2).

Hipertansiyonun, kardiyovasküler hastalıklar için en önemli risk faktörü olduğu, fermente gıdaların üretiminde yaygın olarak kullanılan ve insan sağlığını destekleyici etkileri nedeniyle probiyotikler olarak kabul edilen laktik asit bakterilerinin oral uygulamasının, sistolik kan basıncını, uygulama süresince önemli ölçüde düşürdüğü görülmüştür (Yang vd., 2015, s. 9).

1.3. Antioksidanlar

Besin kalitesi bozulmasının başlıca nedeni olan lipid oksidasyon, besinlerin kalitesi, rengi, tadı ve özelliklerini olumsuz etkileyen bazı değişimleri başlatmaktadır (Wettasinghe ve Shahidi, 1999, s. 401). Antioksidanlar, lipidlerin oksidatif bozulmasını önleyerek ya da geciktirerek besin kalitesini koruyan veya oksidasyon boyunca besin maddesinin bozulmasını, küflenmesini ve renginin solmasını önleyen maddelerdir (Wu, Cao ve Prior, 2002, s. 1865).

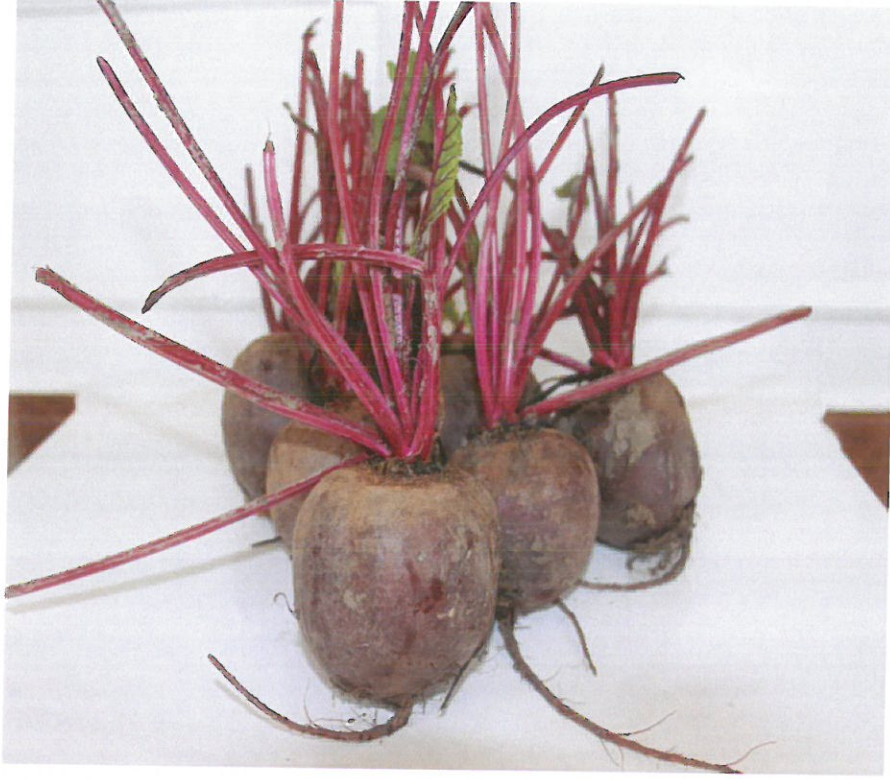
Gıda maddelerine antioksidan ilavesi çeşitli yönetmelikler tarafından sınırlandırılmıştır. Örneğin; ABD'de yürürlükte olan FDA yönetmeliği, besinlerde antioksidan varlığının ürünlerin etiketlerinde bildirilmesini ve ne amaçla kullanıldığının açıklamasını istemektedir (Shahidi ve Naczki, 1995, s. 32). Gıda ürünlerinde kullanıma uygun sentetik antioksidanlar: bütillenmiş hidroksitoluol (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), gallatlar (propil gallat (PG), dodesil gallat (DG)) ve *ter*-bütildihidrokinon (TBHQ)'dur (Wettasinghe ve Shahidi, 1999, s. 401, Pinho vd., 2000, s. 353). Uzun zamandır gıda maddelerine antioksidan olarak ilave edilen sentetik koruyucuların toksisitesinin anlaşılması, tüketicileri doğal antioksidan bileşiklere ve gıdalarda bazı bozulmayı önleyici hazırlama tekniklerine yöneltmiş, bu aşamada da halk arasında yüzyıllardır kullanılagelen yöntemler ön plana çıkmıştır (http-2).

Tuzlu su ve sirke ağırlıklı karışım içine domates, salatalık, lahana, patlıcan, kavun, armut, ayva, erik, biber, mantar, soğan, sarımsak, patlıcan, karnabahar, kırmızı pancar gibi fenolik bileşik içeren sebze ve meyvelerin konulup, bekletilmesiyle elde edilen turşular da iyi bir antioksidan kaynağı olarak görülmektedirler. Çünkü sebze ya da olgunlaşmamış meyveler turşuları hazırlanarak pişirilmeksizin taze saklandıkları için içeriklerindeki antioksidan bileşikler korunur. Bu antioksidan bileşikler sayesinde serbest radikallerin ataklarına karşı vücut korunmakta, hatta kanser, diyabet, arterioskleroz, enflamasyon, kalp hastalıkları gibi kronik hastalıkların seyri yavaşlamaktadır (http-3).

1.4. Kırmızı Pancar (*Beta vulgaris* L.)

Beta vulgaris L. (kırmızı pancar) taksonomik sınıflandırmada Angiospermae bölümü, Dicotyledonae sınıfı, Chenopodiaceae familyasına dahildir. Yapılan kaynak taramalarında *Beta vulgaris* L. şeker pancarı olarak adlandırılmasına rağmen ülkemizde yazılan bazı bilimsel kaynaklarda *Beta vulgaris* L. var. *rapa* forma *rubra* (Tanker, Koyuncu ve Coşkun 2007, s.73) ya da *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *conditiva* (http-4) olarak adlandırılırken, yurt dışında yapılan birçok çalışmada *Beta vulgaris* L. (Bator vd., 2016, s. 979; Cardoso-Ugarte vd., 2014, s. 276; Wruss vd., 2015, s. 46), *Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* (Canadanovic-Brunet vd. 2011, s. 575), bazılarında ise *B. vulgaris rubra* (Ninfali ve Angelino, 2013, s. 188) olarak verilmiştir. Bu çalışmada

kırmızı pancarın Latince adı The Plant List (<http-5>) 'de verildiği gibi *Beta vulgaris* L. olarak kullanılmıştır.



Görsel 1.1. *Beta vulgaris* L. (Kırmızı Pancar)

Beta vulgaris L. ılıman serin iklimlerin bitkisidir. Avrupa'nın kuzeyi ve güneyi kırmızı pancarın ana vatanıdır. İsveç'in güneyinden, güney İngiltere'ye hatta Akdeniz'e kadar uzanır. Ülkemizde çoğunlukla kuzey Ege ve Marmara bölgelerinde yetiştirilir. İlkbaharda ekilip yazın yetiştirilirse de, serin mevsimde yetiştirilenleri renk ve nitelik yönünden daha kalitelidir (Tanker, 2003, s. 73).

Şeker pancarından daha küçük kırmızı renkli depo köklere sahip kırmızı pancar, ince köklü, iki yıllık, otsu bitkidir. İlk yıl bitkinin toprakaltı depo kökleri ile toprak üstü yeşil kısımları, ikinci yıl ise çiçek ve tohumları gelişir. Kırmızı pancarın yenen kısımları olan depo kökleri yuvarlak, alt ve üstünden hafif basıktır. Depo köklerin kabuk ve eti koyu siyahımsı rengindedir (Aellen, 1967, s. 300)

1.4.1. Kimyasal yapısı

1.4.1.1. Fenolik maddeler

Bitkilerin yapısında doğal olarak bulunan fenolik maddeler sebze, meyve, kurubakliyat gibi kaynaklarla vücudumuza girebilmekte ve insan sağlığı üzerinde koruyucu olarak çok sayıda fizyolojik etkileri olduğu birçok çalışmada görülmektedir. Fenolik maddeler son 20 yıldır çeşitli kronik hastalılara karşı koruyucu bir antioksidan olarak bilinmektedir (Tomas-Barberan vd., 2016, s. 471-472).

Kırmızı pancarın içeriğindeki fenolik maddeler başlıca betalain, flavonoid, fenolik asit, fenolik amidler gibi farklı molekül yapıları içerirler (Ninfali ve Angelino, 2013, s.189).

1.4.1.1.1. *Betalainler*

Bitki ve meyve ile beslenen hayvanlar meyve veya sebzenin olgunlaşma derecesini tahmin etmek ve yenilebilecek kısımları tanımak için bitkilerin rengine güvenirler. Pigmentler, herhangi bir bitkinin tanınmasına yardımcı olacak temel ipuçları verirler. Bitkide önce özelleşmiş plastitlerde oluşur, sonra vakuollerde depolanırlar. En çok bilinen pigmentler karotenoidler, klorofiller, antosiyaninler ve betalainlerdir. Antosiyaninler neredeyse tüm Angiospermae üyelerinin renklerinden sorumlu iken, betalainler sadece Caryophyllales sınıfı Chenopodiinae alt takımında bulunmaktadır. İlginç olan antosiyaninler ile betalainler hiçbir zaman aynı bitkide bulunmazlar. Yapısal farklılıkları, farklı biyokimyasal yollara dayanmaktadır; tirozin betalainlerin, fenilalanin ise antosiyaninlerin prekürsörü olarak bilinir (Stintzing ve Carle, 2004, s. 19-21).

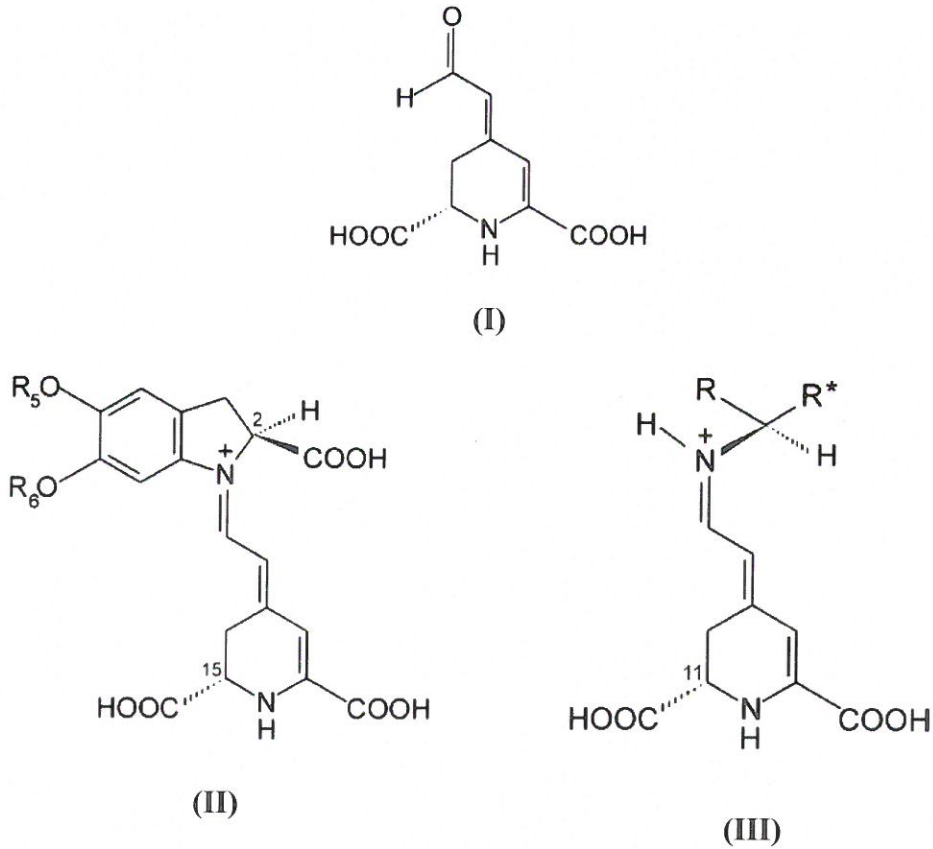
Bitki dokularındaki renk çeşitliliği sadece antosiyaninlerin ya da betalainlerin yapısal farklılıkları ile anlaşılmaz. Morfolojik farklılıklarda bitkinin görünüşüne katkıda bulunur. Bu özellikler nadiren gıda boyası olarak kullanımlarda dikkat çekmektedir. Ayrıca antosiyaninler ve betalainlerin yıkıcı oksidatif hasara karşı bitkilerin korunmasındaki fizyolojik rolleri yoğun olarak çalışılmaktadır. Benzer pozitif etkiler bu pigmentleri sindiren insanlarda da görülmektedir (Nowacki vd., 2015, s.192).

Bitkiler ağırlıklı olarak fotosentez yapabilmek için klorofile ihtiyaç duyarlar. Klorofil bitkilerde yeşil renkten sorumludur. Hayvanların dikkatini çekerek hem tozlaşma hem de tohumların dağıtılmasını sağlamak amacıyla pigmentasyonda yeşil dışındaki zıt renklere de ihtiyaç vardır. Bunun yanında, bitkilerde pigment sentezinin nedenlerinin dış etkenler, yaşlanma ve değişen çevreye uyum sağlama olduğu

kanıtlanmıştır. Bu anlamda, klorofiller, karotenoidler ve flavonoidler ilgili dokularda fizyolojik durumu dengede tutmak için üretilirler (Stintzing ve Carle, 2004, s. 20).

Caryophyllales takımının 13 familyasında antosiyaninlerin yerini alan betalainler de, benzer fonksiyonlar gösterirler. Polen transferi için hayvanların ilgisini çekmesi ve meyve yiyen hayvanların hazmettikleri tohumların dağılması, bitkilerin üremesini kolaylaştırmak için esastır. Buz çiçeğinde (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) betasiyanin birikmesi UV radyasyonun bitki dokusuna vereceği hasarı önler (Ibdah vd., 2002, s. 1145). Fakat yer altında yetişen meyvenin renklenmesi konusunda çok fazla bilgi yoktur. Kırmızı pancarın virüslerden korunmayı geliştirmek (Nemzer vd., 2011, s. 42), patojenlere karşı direncini arttırabilmek (Stafford, 1994, s. 92) için renklendiği düşünülmektedir. Bu varsayımlar, en yüksek betasiyanin konsantrasyonunun kırmızı pancar sapı ve etinde değil, derisinde tespit edilen bir çalışma ile desteklenmektedir (Kujala vd., 2000, s. 5342).

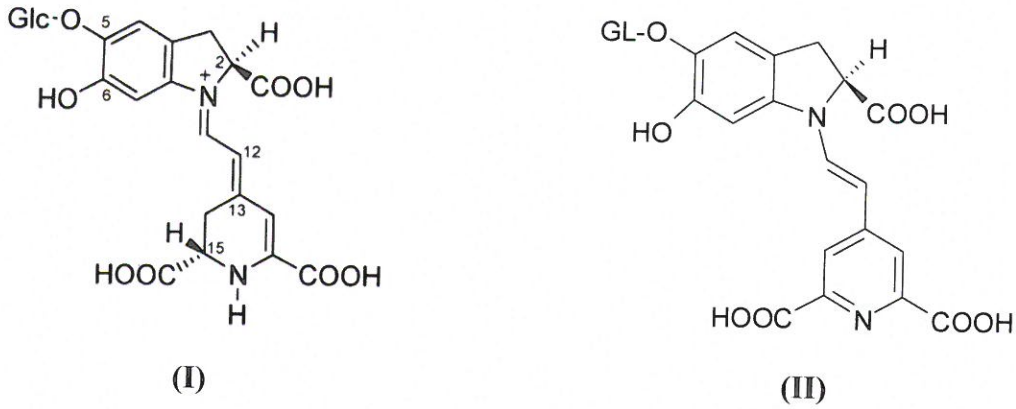
Bir çalışmada betasiyaninlerin vakuollerde kristal olarak depolandığı (Iwashina vd., 1988, s. 178), başka bir çalışmada betalainlerin bis-anyonlar olarak hücre özsuyunda çözülmüş olarak bulunduğu (Wyler, 1969, s. 146) belirtilmektedir.



Şekil 1.1. Betalamik asit (I), Betasiyanin (II) ve Betaksantin (III)

Fakat, *Bougainvillea*, *Celosia*, *Gomphrena*, *Portulaca* ve *Mirabilis* cinslerine ait türlerin çiçekleri ile bazı kaktüs çiçek ve meyvelerinin yapılarında sarı, kırmızı ve mor tonları açıklayan çok daha büyük bir çeşitlilik vardır (Stintzing ve Carle, 2004, s. 20). Söz konusu yapısal farklar betalainin iki alt grubunun bulunduğunu göstermektedir; Betasiyaninler ve betaksantinler (Pavlov, Georgiev ve Ilieva, 2005, s. 1532).

Yapısal olarak, betasiyaninler C-5 ya da C-6'de değişen açılme ve glikolizasyon modelleri ile substitüe olmuş *siklo*-Dopa yapısı ile karakterize iken, betaksantinler betalamik asit ve çeşitli amino gruplarının kondensasyon ürünleridir. Betasiyaninlerin en yaygın temsilcisi kırmızı pancardan (*B. vulgaris* ssp.) elde edilen betanidin 5-*O*-glucoside (betanin)'dir (Kujala, Lopenen ve Pihlaja, 2001, s. 344).



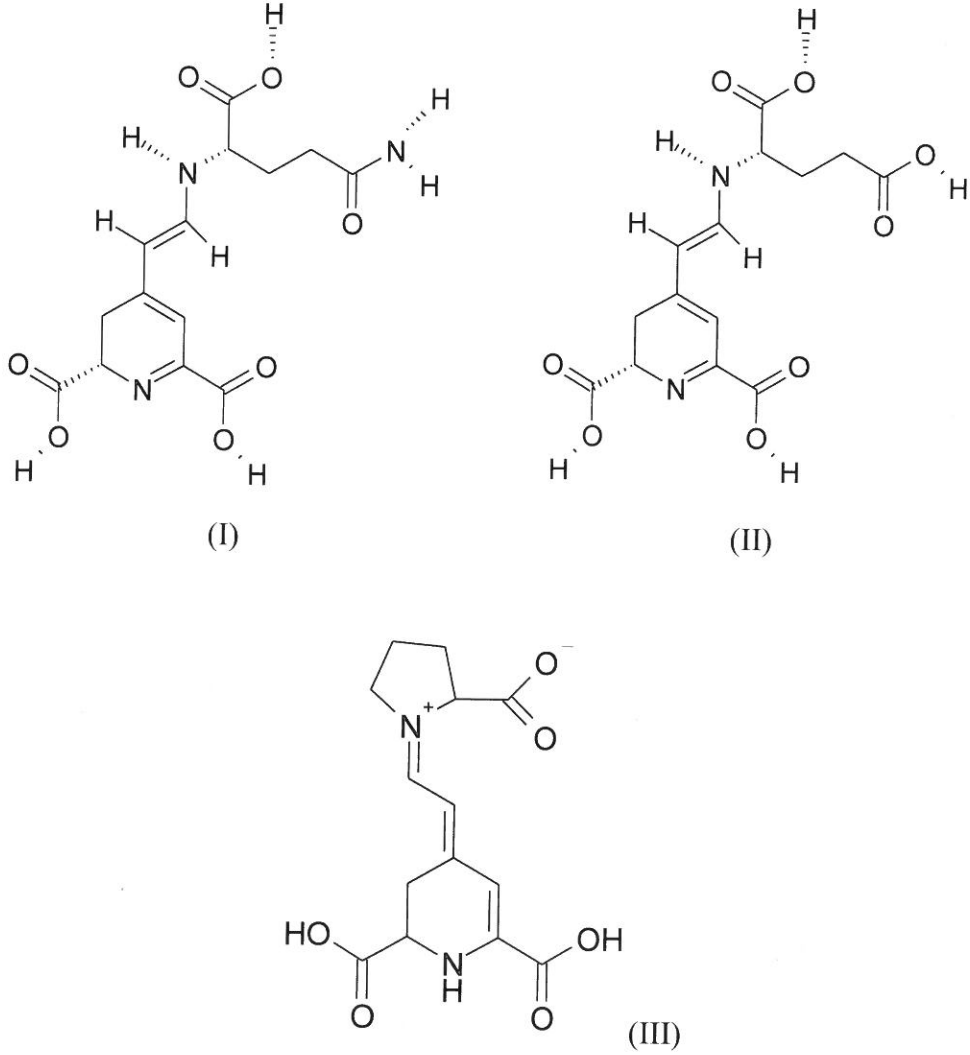
Şekil 1.2. Betanin (I) ve Neobetainin (II)

Betasiyaninler iki dalga boyunda maksimum absorbans verirler; ilki *siklo*-Dopa yapısından dolayı UV alanda 270-280 nm arasında, ikincisi ise çözücü sisteminden dolayı görünür alan 535-538 nm arasındadır (Kujala vd., 2002, s. 507).

Neobetainin (14,15-dehidrobetanin) kırmızı pancardan elde edilen ilk bileşik olup betasiyanine benzer yapı gösterirken, betaksantinler gibi 465 nm de maksimum absorbans verir (Alard vd., 1985, s. 2383).

Betaksantinler, betasiyaninlerin aksine sarı renklidir, karışımları bitkisel dokularda farklı tonların oluşmasını sağlar. Betalamik asitin aminler ve amino asitler ile kondensasyonundan oluşan betaksantinlerde yapılan modifikasyonlar, hipo ve batokromik kaymalara neden olur. Amin grupları ile kondensasyon sonucu daima daha düşük maksimum soğurma, aminoasitlerle kondensasyon sonucu ise daha yüksek

maksimum soğurma görülmektedir. Ortamın çözücüsü ve pH 1 maksimum absorbans değerlerini değiştirebilir (Ibdah vd., 2002, s. 1147).



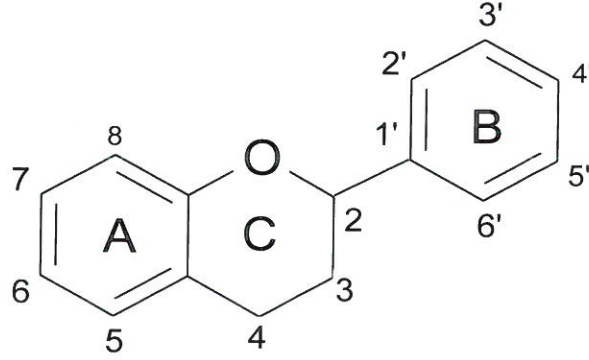
Şekil 1.3. Vulgaksantin (I), Vulgaksantin (II) ve İndikaksantin (III)

B. vulgaris kabuklarının fenolik içeriğinin araştırıldığı bir çalışmada bulunan betaksantinler, betanin ile birlikte bulunan vulgaksantin I, vulgaksantin II ve indikaksantin olarak tespit edilmiştir (Kujala vd., 2001, s. 345).

1.4.1.1.2. Flavonoidler

Flavonoidler, benzo-piron yapısına sahip fenolik bileşiklerin büyük bir grubunu oluşturlar. C₆-C₃-C₆ yapısına uyan, aromatik A halkasına birleşmiş heterosiklik C halkasından ve buna da ikinci aromatik B halkasının birleşmesinden oluşmaktadır.

Günümüzde 4000 den fazla flavonoid yapısında bileşik olduğu bilinmektedir. Flavonoidlerin biyoyararlanımı, metabolizması ve biyolojik aktivitesi nükleer yapıdaki hidroksil grupların sayısına, konfigürasyonuna ve fonksiyonel grupların bağlandığı yerlere göre değişmektedir (Kumar ve Pandey, 2013, s. 162750).

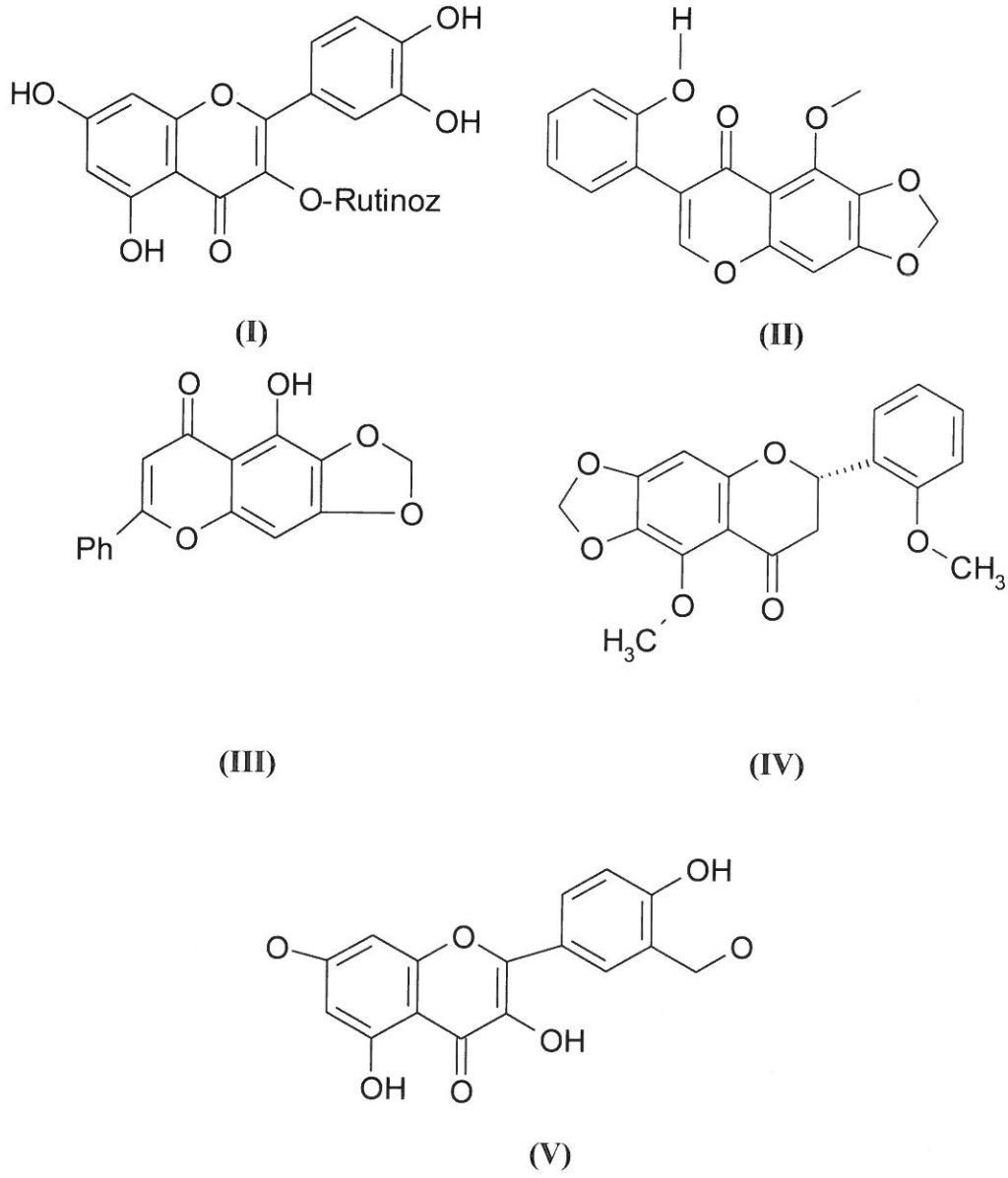


Şekil 1.4. *Flavonoid yapısı*

Flavonoidler bitkide mezofil hücrelerin çekirdeğinde büyüme faktörlerini düzenleyici olarak bulunurlar. Bitkide mikrobiyal enfeksiyonlara karşı koruyucu olarak sentezlenir. Potansiyel antiviral aktivite gösterirler. Oksidatif stres ile mücadele ederek ve serbest radikal süpürücü kapasitesiyle antioksidan aktivite gösterirler (Kumar ve Pandey, 2013, s. 2).

Kırmızı pancarda, flavonoidlerden rutin başta olmak üzere kateşin hidrat, epikateşin (Georgiev vd., 2010, s. 105), ayrıca köklerin asetonitril fraksiyonundan betagarin, betavulgarin, kokliofilin A ve dihidrosorhamnetin izole edilmiştir. Betavulgarinin mantar ve abiyotik tedavilerde kullanılmakta olduğu bilinmektedir (Kujala vd., 2002, s. 509).

Besinlerdeki flavonoidler oksidatif strese karşı önemli ekzojen savunma mekanizmalarıdır. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz'ı inhibe etmektedirler. Bu enzimler platelet agregasyonu ile makrofaj, prostoglandin ve lökotrien oluşumunda anahtar rol oynamaktadırlar. Epidemiyolojik çalışmalarda flavonoidler, aterosklerozis, trombozis ve karsinogeneziste önemli etkisi olduğu düşünülen LDL peroksidasyonunu da önlemekte, ayrıca koroner kalp hastalıklarını önleyici ve antikanser özellikler de göstermektedirler (Chen, Lapsley ve Blumberg, 2006, s. 2245; Coşkun vd., 2005, s. 117).



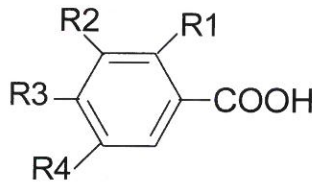
Şekil 1.5. Rutin (I) Betavulgarin (II) , Kokliofilin A (III) , Betagarin (IV), Isoramnetin (V)

1.4.1.1.3. Fenolik asitler

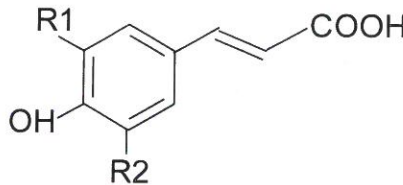
Fenolik asitler, bitkilerde geniş olarak bulunan genellikle suda çözünen fenolik bileşiklerdir (Miller vd., 2000, s. 312). Benzoik ve sinnamik asitlerden türeyen hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asit türevleri olarak iki grupta incelenmektedirler.

Bununla birlikte fenolik asitler çoğu zaman serbest olarak bulunmazlar, kombinasyon şeklinde ya vakuollerde çözünmüş ya da hücre duvarı bileşenlerine bağlanmış durumdadırlar (Macheix ve Fleuriet, 1998, s. 36).

Hidroksibenzoik asit türevleri genellikle C₆-C₁ yapısına sahip gallik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, vanilik ve sirinjik asitleri içermektedirler (Balasundram vd., 2006, s. 191-203). Bunlardan dördü (*p*-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, vanilik ve sirinjik asitler) angiospermelerde yaygın olarak bulunur, diğerleri ise (örn., gallik asit ve salisilik asit) daha çok şeker molekülleri ya da organik asitlerle kompleks yapılar veya basit türevler şeklindedirler (Macheix ve Fleuriet, 1998, s. 36-37).

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
	H	H	OH	H	<i>p</i> -hidroksibenzoik asit
	H	OH	OH	H	protokateşik asit
	H	OCH ₃	OH	H	vanilik asit
	H	OH	OH	OH	gallik asit
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	sirinjik asit

Hidroksisinnamik asit türevleri ise üç karbonlu yan zinciri içeren aromatik halkalı yapılardır; örn., kafeik, *p*-kumarik, ferulik ve sinapik asitler gibi (Balasundram vd., 2006, s. 191-203). Sinnamik asitten türemiş ve genellikle kumarik, kafeik, ferulik ve sinapik asitlerin kombinasyonları şeklindedirler (Macheix ve Fleuriet, 1998, s. 37). Çoğunlukla organik asit veya glikozit esterleri şeklinde ya da proteinlere veya diğer hücre duvarı polimerlerine bağlı olarak bulunurlar (Chen ve Ho, 1997, s. 2374).

	R ₁	R ₂	
	H	H	<i>p</i> -kumarik asit
	OH	H	kafeik asit
	OCH ₃	H	ferulik asit
	H	OH	gallik asit
	OCH ₃	OCH ₃	sinapik asit

Fenolik asit ve esterlerinin antioksidan aktivitesi moleküldeki hidroksil grupları sayısı ile orantılı olarak artmaktadır (Balasundram, Sundram ve Samman, 2006, s. 192). Antioksidan aktiviteyi, hidrojen atomlarını vererek hidroksil, singlet oksijen, peroksil, peroksinitrit radikallerini süpürerek veya geçiş metalleriyle şelat oluşturarak gerçekleştirmektedirler (Halliwell, 2002, s. 968). Yapılan çeşitli antioksidan aktivite çalışmalarında, hidroksisinnamik asit türevlerinin hidroksibenzoik asit türevlerine göre daha etkili olduğu gösterilmiştir (Chen ve Ho, 1997, s. 2375).

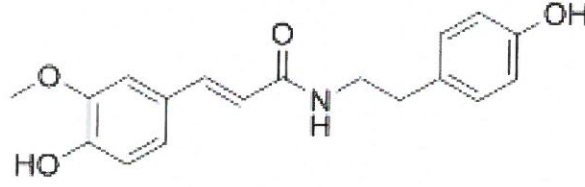
Fenolik asitlerin lipid peroksidasyonunu önlediği de saptanmıştır. Doğrudan LDL oksidasyonunu ve agregasyonunu inhibe etmektedirler. Ayrıca arteriyel duvarda birikerek arteriyel makrofajlarda NADPH oksidazın aktivasyonunu inhibe edip makrofaj lipid peroksidasyonunun da önüne geçmektedirler (Halliwell, 2002, s. 969).

Kırmızı pancarda farklı oranlarda 4- hidroksibenzoik, gallik asit, sirinjik asit, kafeik asit, klorojenik asit gibi fenolik asitlerin bulunduğu bildirilmiştir (Wruss vd., 2015, s. 51; Georgiev vd., 2010, s. 107). Yapılan çalışmalarda gallik, ferulik, sirinjik ve kafeik asitlerin, kırmızı pancardaki toplam fenolik bileşiklerin % 3' ünü oluşturduğu belirtilmiştir (Wruss vd., 2015, s. 51). Ayrıca, kırmızı pancarın içinde bulunduğu Chenopodiaceae ailesi feruloglukoz gibi hidroksisinnamik asit glikozitleri ve esterlerini de içermektedir (Kujala vd., 2002, s. 508).

Kafeik ve gallik asitin antikarsinojen etkili olduğunu (İşleroğlu vd. 2005, 23), ayrıca gallik ve p-hidroksibenzoik asitlerin aynı zamanda antimikrobiyal etki gösterdiği ve gıdalarda doğal koruyucu olarak kullanıldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Coşkun, 2006, s. 28).

1.4.1.1.4. Fenolik amidler

Fenolik asitlerin karboksil grupları karbohidratlar, glikozitler, aminoasitler veya proteinlerle reaksiyona girebilirler. Reaksiyon sonucu alkoller ile fenol esterlerini, amino bileşikleri ile de fenolik amidleri oluştururlar (http-6). Kırmızı pancar kabuklarının asetonitril fraksiyonundan N-trans ferulotramin ve N-trans ferulohomovanilamin isimli fenolik amidler izole edilmiştir (Kujala vd., 2002, s. 509). Bu bileşikler, radikal süpürücü ve renk koruyucu etkileri nedeniyle antioksidan ve antikanser olarak kullanılmaktadır (Ninfali ve Angelino, 2013, s. 191).



Şekil 1.6. *N-trans-feruloiltrammin*

1.4.1.2. *Triterpenik saponinler*

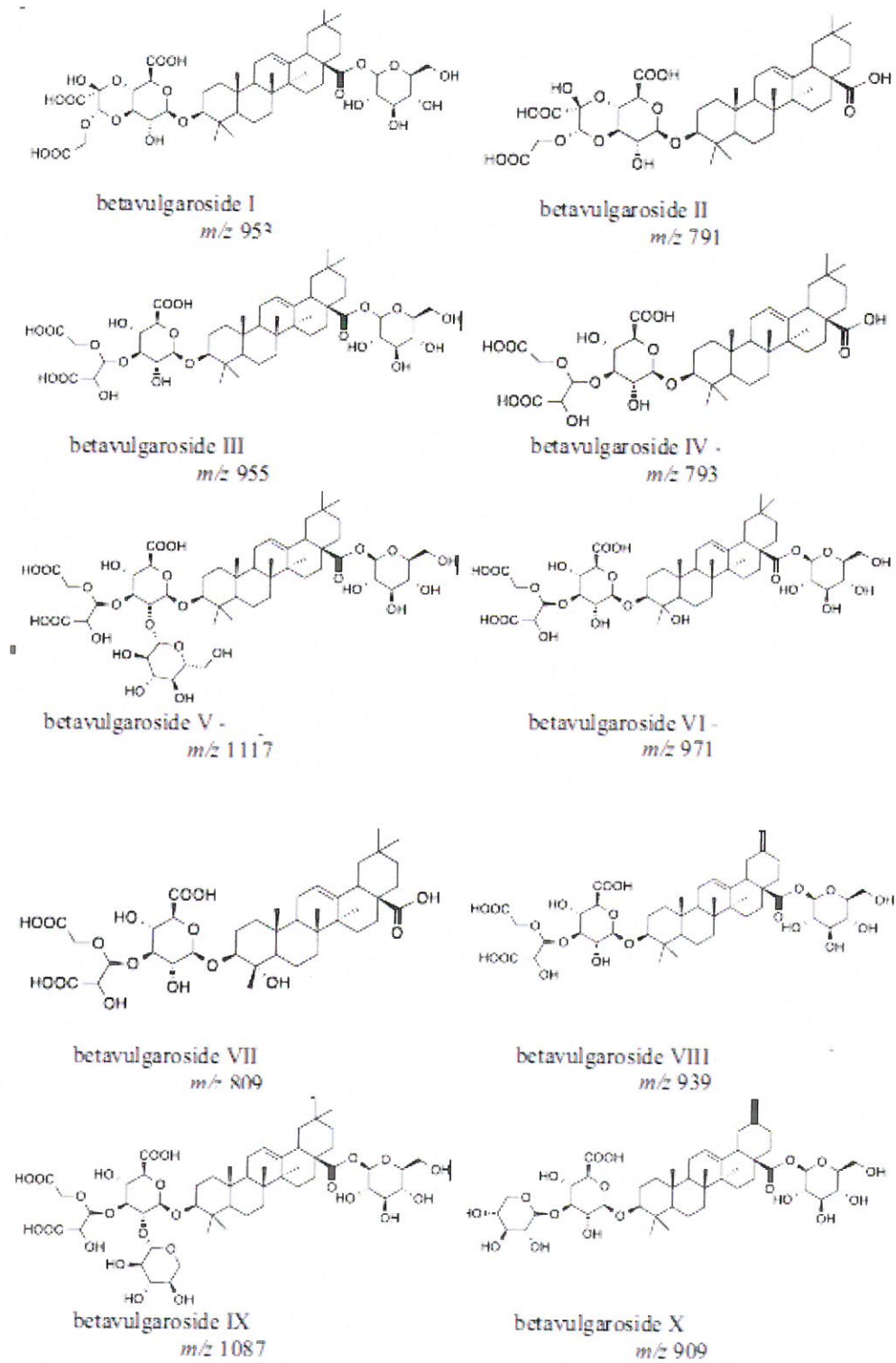
Dünya çapında geleneksel tıpta kullanılan birçok bitki, terapötik özelliklerinden sorumlu olduğu düşünülen saponin yapısında bileşikler içermektedir (Bator vd., 2016, s. 979). Saponinlerin antienflamatuar, immünomodülatör, sitotoksik, antitümör, antimutajenik, antihepatotoksik, antidiyabetik, hemolitik, antiviral, antibakteriyal ve antiparaziter etkilerinin olduğu bilinmektedir (Mroczek vd., 2012, s. 12397).

Kırmızı pancarda 44 çeşit triterpenik saponin olduğu gösterilmiştir. Bu bileşikler oleanolik asit, hederagenin, akebonoik asit ve gipsogenin olmak üzere dört farklı aglikon içermektedirler. Yapılan çalışmalarda 44 saponinde 10 farklı izomer grubu bulunmuştur; betavulgarosid I-X (Bator vd., 2016, s. 989) (Şekil 1.7).

1.4.1.3. *Diğer Bileşikler*

Kırmızı pancar, ayrıca karbonhidrat ve lif açısından da zengin bir bitkidir. Toplam şeker miktarı % 77.5 olmakla birlikte bunun % 94.8 i sükröz, % 3.3 ü glikoz, % 1.9' u fruktoz olduğu bilinmektedir (Wruss vd., 2015, s. 52). Kalsiyum, sodyum, potasyum, fosfor, nitrat gibi minerallerce de zengindir (Ninfali ve Angelino, 2013, s. 192). Ayrıca, önemli oranda C vitamini (16 mg/100 gr) içermektedir. Tiamin, riboflavin, niasin, B6 ve B12 ayrıca yağda çözünen A, E ve K vitaminlerini taşımaktadır. Trans yağ asidi ve kolesterol içermeyen kırmızı pancarın içindeki doymamış yağ asidi miktarı, doymuş yağ asidine göre daha yüksektir (http-7).

Bu bileşiklerin dışında kırmızı pancar kabuklarında 5,5',6,6'-tetrahidroksi-3,3 bisindol alkaloidi olduğu da rapor edilmiştir (Kujala vd, 2002, s. 508).



Şekil 1.7. Betavulgaroside I-X (Bator vd., 2016, s. 988)

1.4.2. Kırmızı pancarın gıda olarak kullanımı

Renkler, gıdaların tüketiciler tarafından ilgi görmesine neden olan önemli kalite belirleyicileridir. Tüketiciler, gıda ürünlerinde sentetik renklendiricilerden kaçındıkça, gıda sanayilerinde doğal pigmentlerin kullanımı artmaya başlamıştır. Gıda ve ilaç endüstrisinde yapay renklendiriciler yerine doğal renklendiricilerin kullanılmasının iyi bir alternatif olabileceği düşünülmektedir (Ravichandran vd., 2014, s. 2221).

Doğal kırmızı pigmentler içeren mürver, kırmızı lahana, ebegümeci, kırmızı pancar, kırmızı böceği boyası ve kaktüs meyveleri kırmızı gıda boyası olarak kullanılmaktadır (Fernandez-Lopez vd., 2013, s. 16). Kırmızı pancar betalain içeriğinden dolayı doğal boya kaynağı olarak kabul edilir. Özellikle son dönemlerde kırmızı pancarın işlenmiş ürünlerde antioksidan ve doğal boya olarak kullanılabilmesi için betalainleri ve fenolik bileşenleri ekstre etme ve analiz etme yöntemleri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (Jin vd., 2014, s. 480).

Kapsüllenmiş kırmızı pancar betalainleri gıdanın renk değişikliğini korumak veya gıdaları zenginleştirmek için gıda katkısı olarak gelecek vaat etmektedir (Ravichandran vd., 2014, s. 2221). Avrupa Birliği tarafından betalainlerin gıda renklendirici olarak kullanımına izin verilmiş ve betalainler E162 olarak etiketlenmiştir. Betalainlerin özellikle boyanmış gıda ürünlerinde kullanımı uygundur (Cai vd., 2001, s. 4429; Roy vd., 2004, 1087).

1.4.3. Halk arasında kullanımı

Kırmızı pancar, Romalılar zamanından beri doğal tedavi amaçlı kullanılmıştır. Avrupa ülkelerinde kırmızı pancar üretiminin ve tüketiminin ülkemize göre daha erken başladığı (16. yüzyıl başları ve ortaları) ve önemli miktarda üretim ve tüketim yapıldığına ilişkin bilgiler vardır (Page, 1999, s. 183). Günümüzde de birçok ülkede yetiştirilip, beslenme düzeninin bir parçası olarak kullanılmaya devam etmektedir. Avrupa'da yemeği yapılan, salata ve turşularda çiğ olarak tüketilen bir sebze olan kırmızı pancarın, ülkemizde genellikle turşu olarak tüketimi yaygındır (Swain vd., 2014, s. 250424).

Anadolu’da saç dökülmeleri, sedef, egzama, ürtiker, kurdeşen, cilt güzelleştirici, vücut kaşıntıları ve karaciğer hastalıkları için dahilen, basurda ise haricen kullanıldığı bilinmektedir (http-8).

Dünyanın bazı yerlerinde depo köklerin antitümör, karminatif, emenagog ve hemostatik olarak kullanıldığı bilinse de, bu iddiaları kanıtlamak için yeterli klinik çalışma bulunmamaktadır (http-9). Kırmızı pancar doğal renklendiriciler arasında değerlendirilmekte olup doğal ürünleri kullanmanın giderek daha çok tercih edilmesi, kırmızı pancarın da önemini artırmaktadır (Feinandez-Lopez vd., 2013, s. 13).

1.4.4. Farmakolojik çalışmalar

Fenolik asitler, flavonoidler ve betalainleri yüksek oranda içeren kırmızı pancarın zengin bir antioksidan kaynağı olduğu kanıtlanmıştır (Clifford vd., 2015, s. 2801; Kujala vd., 2002, s. 505). Kırmızı pancardaki betalainler; betanin, izo-betanin, dekarboksibetanin ve neobetanindir (Sporna-Kucab vd., 2015, s. 29). Araştırmalarda betalainlerin yüksek antioksidan ve antienflamatuvar kapasiteleri *in vitro* ve *in vivo* ortamdaki çalışmalarla gösterilmiş (Georgiev vd., 2010, s. 105), ayrıca stres faktörlerini azalttığı, hücreleri oksidatif hasardan koruduğu ve bilişsel aktiviteyi arttırdığı da vurgulanmıştır (Clifford vd., 2015, s. 2821; Wootton-Beard vd., 2014, s. 9). Betaninin lipid peroksidasyonunu önlemede en etkili betalain olduğu belirtilmiştir (Clifford vd., 2015, s. 2822).

2015’ te yapılan bir çalışmada, özellikle MCF-7 kanser hücrelerine betanin/izobetanin uygulanmış, apoptoza giden hücrelerin arttığı, bu hücrelerde otofagazom veziküller oluştuğu gözlenmiş, otofajik hücre ölümü görülmüştür. Bu durumda betanin ve steroizomeri izo betaninin kanser hücresi çoğalmasını ve yaşamasını azalttığı sonucuna varılmıştır (Nowacki vd., 2015, s. 1973).

Bireylerde hiperglisemi ve hiperinsülineminin tekrarlanması insülin direncine neden olmaktadır. İnsülin direnci, Tip 2 diyabetin gelişmesinde temel nokta olup metabolik sendromun bir ayağıdır. Küresel toplumlarda insan sağlığı için risk oluşturan bu hastalıkların ekonomik yükleri de fazla olduğu için, azaltılması veya önlenmesi son derece önemlidir. Dünyadaki Tip 2 diyabetli insan sayısının 2040 yıllarında 642 milyonu bulacağı tahmin edildiğinde, bitkilerin antihiperglisemik etkilerini araştırmak daha da önemli hale gelmektedir. Yapılan bir çalışmada, kırmızı pancar suyunun

postprandiyal glikoz üzerine etkisi incelenmiş, bireylere 225 mL kırmızı pancar suyu, kontrol olarak da toplam 50 g'lık sukroz, fruktoz, glikoz içeren karbonhidrat kaynağı sıvı verilmiştir. Karşılaştırma yapıldığında kırmızı pancar alan grupta, ilk 30 dakikadaki glikoz cevabı ve ilk 60 dakikadaki yemek sonrası insülin cevabının düşük çıktığı görülmüştür. Kırmızı pancar suyunda bulunan betalain, polifenol ve diyet nitratinin hem yemek sonrası hiperglisemiye düşürerek hem de glikozun sindirim, emilim ve transferini azaltarak reaktif hiperinsülinemiye dengelediği belirtilmiştir (Wootton-Beard vd., 2014, s. 8).

Kırmızı pancar suyunun, domates, havuç gibi sebze suları ile portakal ve ananas gibi meyve sularının antioksidan kapasitesinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, kırmızı pancar suyunun, nar suyu hariç diğerlerinden daha aktif olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada, kırmızı pancar suyunun DNA oksidatif hasarına karşı koruyucu olduğu vurgulanmıştır (Clifford vd., 2015, s. 2822).

Çeşitli hayvan modellerinde kırmızı pancar suyunun, tümör oluşumlarını azalttığı gözlenmiştir. Kapadia ve arkadaşları, düşük dozda uzun süre kırmızı pancar ekstresi kullanımının, insanlarda kanseri önleyici olarak güvenli ve yeterli olabileceğini belirtmişlerdir. Farklı konsantrasyonlardaki kırmızı pancar ekstralarının, kanser ilacı olan doksorubisinin, insan pankreas, meme ve prostat kanseri hücrelerindeki sitotoksik etkileri incelenmiş, 72 saatlik uygulamada kırmızı pancar ekstralarının doksorubisin kombinasyonu ile birlikte insan kanser hücrelerini tedavi ettiği görülmüştür (Kapadia vd., 2013, s. 10).

Lee ve arkadaşlarının yaptığı bir sitotoksikite çalışmasında ise betanin ve betain sırasıyla 0-400 µg/ml ve 0-800 µg/ml konsantrasyonlarda 48 saat boyunca HepG2 hücreleriyle maruz bırakılmış, betanin, HepG2 çoğalmasında 200 µg/ml konsantrasyonunda % 49 azaltırken, betain 800 µg/ml konsantrasyonunda % 25 azalttığı görülmüştür. Betaninin, betaine göre çok daha yüksek sitotoksikiteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada, kırmızı pancarın olumlu sağlık etkilerinden sorumlu betalain ve betain içeriklerinin yetiştirme koşulları değiştirilerek artırılabilirliği vurgulanmıştır (Lee vd., 2014, s. 1330-1331).

2014 yılında yapılan bir çalışmada, laboratuvar ortamında güçlü bir karsinogen ve immünosupresif olan 7,12 dimetilbenz[a]anthrasen (DMBA) ile meme bezinde, DNA hasarı oluşturulmuştur. Kırmızı pancar suyu ile tedaviden sonra meme bezinde, DMBA detoksifikasyonunda aktif bir enzim olan *glutasyon-S-transferaz* enzim seviyesinin

arttığı gözlenmiştir. Bu etki, ekstre içerisindeki betalaine bağlanmıştır (Szafer vd., 2014, s. 55,61).

Laktik asit bakterileri ile fermente edilmiş kırmızı pancar suyu ile ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, fermente olmuş pancar suyunun kansere karşı koruma sağlayabileceği ve dışkıdaki sitotoksik ve genotoksik etkileri azaltacağı ve organizmanın oksidatif durumunu geliştirebileceği belirtilmiştir (Klewicka vd., 2012, s. 904).

Ratlar üzerinde kırmızı pancar suyunun karaciğer hasarını önlediği (Krajka-Kuzniak vd., 2012, s. 2027-2033) ve radyasyondan koruyucu etkisi olduğu gösterilmiş, ama bunun altında yatan mekanizma tam olarak açıklanamamıştır. Betalainlerin antioksidan etkisi ve bağışıklık sisteminde oluşturdıkları olumlu etkilerinden dolayı olduğu düşünülmüştür (Lu vd., 2009, s. 227).

Fareler üzerinde yapılan diğer bir çalışmada, iki gruba ayrılan farelere % 20 yağlı ve % 1 kolesterolü diyet verilmiş, sadece bir grubun diyetine % 8 oranında kurutulmuş kırmızı pancar yaprakları ilave edilmiştir. Dört hafta boyunca bu şekilde beslenen farelerde, kırmızı pancar yaprağı ilave edilen gruptaki diyetin, lipid peroksidasyonunu önlediği, plazma ve dokulardaki antioksidan sistemini geliştirdiği görülmüştür. Ayrıca farelerde kırmızı pancarlı diyetin vücut yağ dokusunda ciddi azalma göstererek beden ağırlığında hafiflemeye neden olduğu gösterilmiştir (Lee vd., 2009, s. 115,121).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bitkisel Materyal

Yumru gövde metamorfozu olan *Beta vulgaris* L. (kırmızı pancar) depo kökleri Eskişehir semt pazarından 2014 yılı Nisan ayında alınmıştır. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü'nden Doç Dr. Onur Koyuncu tarafından teşhis edilmiştir.

2.2. Bitkisel Materyalin Hazırlanması-Ekstraksiyon Yöntemleri

2.2.1. Ekstraksiyon 1

10 g taze kırmızı pancar depo kökleri kesildikten sonra rondoda parçalanmış, 100 ml su (% 0,05 asetik asit içeren) ile 3 saat çalkalanarak ekstre edilmiştir. İşlem 3 kez tekrarlanmış, süre sonunda süzülerek birleştirilen ekstreler dondurularak liyofilize edilmiştir (P1). Daha sonra % ekstre verimi hesaplanmıştır (Ravichandran vd., 2013, s. 672).

2.2.2. Ekstraksiyon 2

100 g taze kırmızı pancar yumruları kesildikten sonra rondoda parçalanmış 500 ml % 2 sitrik asit içeren etanol ile 24 saat çalkalanarak ekstre edilmiştir. İşlem 3 kez tekrarlanmış, süre sonunda süzülen ekstreler 40 °C de alçak basınç altında rotavaporda yoğunlaştırılarak etanolden kurtarılmış ve bakiye liyofilize edilmiştir (P2). Daha sonra % ekstre verimleri hesaplanmıştır (Alard vd., 1985, s. 2384)

2.2.3. Fermentasyon

Yaklaşık 200 g kırmızı pancar yumrusu yıkanıp, halkalar halinde doğrandıktan sonra 500 ml'lik cam kavanozlara yerleştirilmiş, üzerlerine üç farklı NaCl oranı (% 1, % 3 ve % 5) ve iki farklı asetik asit oranı (% 10 ve % 20) ile hazırlanmış 400 ml su ilave edilmiştir. Bu aşamada geleneksel turşu hazırlamada kullanılan klorsuz su

kullanılmıştır. Hazırlanan turşular oda sıcaklığında karanlık ortamda sekiz hafta saklanmış, daha sonra suları ve katı maddeleri ayrılarak derin dondurucuda dondurularak, liyofilize edilmiştir (T1-T9). Aktivite ve miktar tayinlerinde liyofilize ürünler kullanılmıştır.

Tablo 2.1. *Kırmızı Pancar Turşuları için Kullanılan NaCl ve Asetik Asit Oranları*

	Çiğ pancar miktarı	Su	NaCl	Asetik Asit
T1 (s) ¹	216 gr	400 mL	% 1	% 10
T2 (k) ² -T3 (s)	203 gr	400 mL	% 1	% 20
T4 (s)	202 gr	400 mL	% 3	% 10
T5 (k)-T6 (s)	194 gr	400 mL	% 3	% 20
T7 (s)	200 gr	400 mL	% 5	% 10
T8 (k)-T9 (s)	212 gr	400 mL	% 5	% 20

¹sıvı ²kıta

2.3. pH Ölçümü

Bir maddenin pH değeri hidrojen iyonu [H⁺] ile hidroksil iyonunun [OH⁻] derişimlerinin oranına bağıdır (Özçelik ve İç, 2000, s. 115). Liyofilize kırmızı pancar ekstre ve turşularının pH değerleri INOLAB pH720 marka cam elektrotlu dijital pH metre ile ölçülmüştür.

2.4. Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini

Ekstreler içindeki toplam fenol miktarları Folin-Ciocaltaeu Metodu kullanılarak kolorimetrik olarak tayin edilmiştir (Singleton vd., 1999, s. 153). Bütün örnekler ve standart olarak kullanılan gallik asit % 50'lik metanolde çözülmüştür. 0.5 ml örnek, 2.5 ml Folin-Ciocaltaeu reaktifi (%10'luk, h/h, suda) ve 7.5 ml sodyum karbonat çözeltisi (% 20'lik, a/h, suda) deney tüpünde karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözeltilerin absorpsan değerleri 750 nm'de spektrofotometrede okunmuş, aynı işlem gallik asitin 5 farklı konsantrasyonu için yapılarak, gallik asit kalibrasyon grafiğı çizilmiş, elde edilen kalibrasyon eşitliğı (r²=0.997) kullanılarak,

toplam fenol miktarı gram ekstrede mg gallik asite eşdeğer (mg GAE/g ekstre) olacak şekilde hesaplanmıştır.

2.5. Toplam Monomerik Antosiyanin Tayini

Toplam Monomerik Antosiyanin miktarı pH diferansiyel metodu kullanılarak spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (Lee, Drust ve Wrolstad, 2005, s.1270). Bu metodun prensibi, monomerik antosiyaninlerin pH 1.0'da renkli oksonyum formunun, pH 4.5'de ise renksiz hemiketal formuna sahip olmasına dayanmaktadır. Buna göre, ortam pH'ı 1.0 ve 4.5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerlerinin farkı, doğrudan antosiyanin konsantrasyonu ile orantılı bulunmaktadır.

İşlem, 1 cm kalınlığındaki tek kullanımlık küvetlerde UV-Visible Spektrofotometre (Shimadzu 160A)'de yapılmış, ancak ekstraların spektrofotometrede 700 nm'de absorbans vermedikleri görülmüştür.

2.6. Toplam Betasiyanin ve Betaksantin Miktar Tayini

Betaksantin ve betasiyanin miktarı UV/vis spektrofotometre ile belirlenmiştir. Hazırlanan ekstraların 476 ve 535 nm dalga boyundaki absorbansları okunarak aşağıdaki formülle betaksantin ve betasiyanin miktarları mg/g olarak hesaplanmıştır (Castellanos-Santiago ve Yahia, 2008, s. 5760).

$$\text{Betasiyanin/Betaksantin Miktarı (mg/100 g)} = \frac{A. (DF).(MA) .Vd}{\epsilon.L.Wd} \times 100$$

A: 535 ve 476 nm dalga boyunda okunan absorbans değerleri

DF: seyreltme faktörü

MA: molekül ağırlığı (550 g/mol)

Vd: ekstraksiyonda kullanılan çözücü miktarı (mL)

ε: Molar ekstinksiyon katsayısı (betasiyanin için 60,000 L/mol cm; betaksantin için 48,000 L/mol cm)

L: kuvetin boyu (1 cm)

Wd: örnek miktarı (g)

2.7. Toplam Betalain Miktar Tayini

Toplam betalain miktarı; toplam betasiyanin ve toplam betaksantin miktarlarının toplanması ile hesaplanmıştır.

2.8. YBSK-DAD ile Fenolik Asitlerin Tayini

Kırmızı pancar ve turşularına ait ekstrelerin içerdiği fenolik asitlerin miktar tayinleri ters-faz C₁₈ kolon ve gradient elüsyon çözücü sistemiyle daha önce gerçekleştirdiğimiz çalışmaya uygun olarak Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi–Diode Array Dedektör (YBSK_DAD) sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Öztürk vd., 2007, s. 589).

Ters faz analitik kolonda ayrılan fenolik bileşiklerin YBSK-DAD sisteminde, UV spektrumları kontrol edilerek ekstreler içindeki fenolik bileşiklerin teşhisleri gerçekleştirilmiş ve miktar tayini çalışmalarına geçilmiştir (Rodriguez-Delgado vd., 2001, s. 249 , Sakakibara, vd., 2003, s. 572 , Öztürk vd., 2007, s. 590).

Analiz Koşulları

Cihaz: Shimadzu 20 AVP (Shimadzu, Kyoto, Japan)

İşlemci: Class VP Chromatography Manager Software (Shimadzu, Kyoto, Japan)

Pompa: Shimadzu LC20AT (Shimadzu, Kyoto, Japan)

Kolon: INERTSIL ODS3-C₁₈ kolon (100 mm, 4.6 mm i.d., 3 mm partikül çapı) (GL Sciences Inc.)

Degazer: DGU-20A₅(Shimadzu, Kyoto, Japan)

Enjektör: SIL 20A (Shimadzu, Japan)

Akış hızı: 1 ml/dak

Enjeksiyon hacmi: 10 µL

Dedektör: SPD-M 20A (Shimadzu, Kyoto, Japan) 280 nm

Hareketli Faz A: Metanol: su: formik asit (10:88:2, h/h/h)

Hareketli Faz B: Metanol: su: formik asit (90:8:2, h/h/h)

Gradient program: 0'dan 15 dakikada % 15 B'ye, 6 dakika % 15 B'de devam etmiş, % 15'den % 50 B'ye 10 dakikada, % 50'den % 100 B'ye 5 dakikada arttırılmış ve 6 dakikada başlangıç konsantrasyonuna dönmüştür (enjeksiyon süresi 42 dakika) (Öztürk vd., 2007, s. 588).

Sonuçların değerlendirilmesinde, ayırımın tekrarlanabilirliğini sağlamak amacıyla İç Standart (Internal Standart) (IS) yöntemi kullanılmış, sunulan analiz koşullarında ilgili fenolik asitlerle birlikte sisteme IS olarak propil paraben eklenmiş ve IS'nin karışıklığa neden olmayan bir yerde belirlediği gözlenmiştir.

2.9. YBSK ile Betalain ve Betaksantin Tayini

Kırmızı pancar ve turşularına ait ekstrelerin içerdiği betalain ve betaksantin tayinleri ters-faz C₁₈ kolon, gradient elüsyon ve Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi–Diode Array Dedektör (YBSK-DAD) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir

Analiz Koşulları

Cihaz: Shimadzu 20 AVP (Shimadzu, Kyoto, Japan)

İşlemci: Class VP Chromatography Manager Software (Shimadzu, Kyoto, Japan)

Pompa: Shimadzu LC20AT (Shimadzu, Kyoto, Japan)

Kolon: INERTSIL ODS3-C₁₈ kolon (100 mm, 4.6 mm i.d., 3 mm partikül çapı) (GL Sciences Inc.)

Degazer: DGU-20A₅ (Shimadzu, Kyoto, Japan)

Enjektör: SIL 20A (Shimadzu, Japan)

Akış hızı: 1 ml/dak

Enjeksiyon hacmi: 10 µL

Dedektör: SPD-M 20A (Shimadzu, Kyoto, Japan) (538 nm ve 476 nm)

Hareketli Faz A: 0.2 % (v/v) formik asit (suda)

Hareketli Faz B: asetonitril

Gradient program: 0-25 min, 10-55 % B (Cai, vd., 2005, s. 455).

2.10. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.10.1. DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivite tayini

Kararlı bir radikal olan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali bir elektron veya hidrojen kabul eder. Antioksidanların, DPPH radikale bir hidrojen atomu verme yetenekleri üzerinden süpürücü etki gösterdikleri düşünülmektedir. Bu yöntem ile antioksidanların stabil DPPH radikalini, indirgenmiş DPPH (DPPH-H) formuna getirme yetenekleri değerlendirilir. Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında kısa zamanda sonuç veren bir yöntemdir (Molyneux, 2004, s. 213).

Test edilen ekstrelerden hazırlanan çözeltilerin DPPH üzerindeki serbest radikal süpürücü etkileri Sanchez-Moreno vd. (1998, s. 272) tarafından modifiye edilmiş yöntem kullanılarak tayin edilmiştir.

Metanol içerisinde hazırlanmış 9.6×10^{-4} - 3.6×10^{-3} mg/ml konsantrasyonlardaki örnek çözeltilerinden 0.1, 0.2 ve 0.4 ml alınarak, üzerlerine metanolde hazırlanmış 3 mL DPPH (2×10^{-2} g/L) çözeltisi ilave edilerek vorteksde 30 sn karıştırılmış ve karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 517 nm'de absorbans değerleri kaydedilmiş, serbest radikal süpürücü etki (% İnhibisyon) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır:

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

A: kontrol absorbansı

B: örneğin absorbansı

Radikal süpürücü etki (% inhibisyon) konsantrasyona karşı korele edilmiştir. Her test 3 kez tekrarlanarak ortalamaları alınmış, referans madde olarak butil hidroksi toluen (BHT) kullanılmıştır.

2.10.2. β -Karoten-linoleik asit sisteminde antioksidan aktivite tayini

Bu yöntem, β -Karoten ve linoleik asit sulu emülsiyon sisteminde ısı yardımıyla oksidasyonun indüklenmesi esasına dayanmaktadır (Koleva vd., 2002, s. 13).

Kuru bir kaba tartılan 40 mg linoleik asit ve 400 mg Tween 80 ile β -karoten çözeltisinin tamamı (3 mg/mL kloroformda) vorteksde iyice karıştırılmış, kloroform

alçak basınç altında 40°C'de rotavaporda ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bakiye su ile emülsifiye edilerek 100 mL'ye tamamlanmıştır. Portakal renkli bu stok çözelti deneyler sırasında karanlıkta saklanmıştır. 3 mL β -Karoten çözeltisi içerisine 0.2 mL numune çözeltisi (0.6 mg/mL konsantrasyonda) ilave edilerek vorteksde iyice karıştırılmış, herbir numune çözeltisi (0.2 mL) mikropiplara yerleştirilerek işlem sırasında 40°C de etüvde tutulmuş ve 15 dakika aralıklarla 180 dk. süresince 490 nm'de ELISA mikropiplak okuyucuda absorbansları ölçülmüştür. Her bir deney 3 kez tekrarlanmış, sonuçlar zamana (dakika) karşı okunan absorbans değerleri grafiğe geçirilerek ve ayrıca antioksidan aktivite fenolik asit ilave edilmeksizin kontrole karşı oksidasyonun inhibisyon yüzdesi olarak aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmış ve sentetik antioksidan BHT'nin sonuçları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Kontrol olarak metanol kullanılmıştır.

$$\% \text{ Antioksidan aktivite} = 100 \times [1 - (A_s^0 - A_s^{180}) / (A_k^0 - A_k^{180})]$$

A_s^0 = örneğin başlangıçtaki absorbansı (490 nm)

A_s^{180} = örneğin 180 dakika sonraki absorbansı (490 nm)

A_k^0 = kontrolün başlangıçtaki absorbansı (490 nm)

A_k^{180} = kontrolün 180 dakika sonraki absorbansı (490 nm)

2.10.3. Metal şelatlama kapasitesi

Kırmızı pancar ve turşularından elde edilen ekstraktların demir iyonlarını şelatlama kapasitesi Orhan ve arkadaşlarının çalışması modifiye edilerek tayin edilmiştir (Orhan ve Üstün, 2011, s. 386-388; Dinis vd., 1994, s. 161).

Çeşitli konsantrasyonlarda 400 μ L örnek (10 mg/ml) üzerine 40 μ L FeCl_2 (2mM) ve 80 μ L Ferrozin (5mM) eklenmiştir, metanolla 2 ml'ye tamamlanmıştır. 10 dk bekletildikten sonra 562 nm'de absorbansları okunmuş, pozitif kontrol olarak etildiamin tetraasetik asit (EDTA) (0.5 mg/ml) kullanılmıştır (n=3).

Metal şelatlatlama kapasitesi (%) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır;

$$\% \text{ Metal şelatlama kapasitesi} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

2.10.4. ABTS radikal katyon renksizleştirme yöntemi

Reaktif çözeltisinin hazırlanması; 10 ml 7mM 2, 2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) çözeltisi ile 176 µL 140 mM K₂S₂O₈ karıştırılarak 12-16 saat karanlıkta bekletilmiştir. ABTS'in potasyum persülfat ile oksidasyonu sonucunda ABTS radikal katyonu oluşmaktadır. Her çalışma öncesi taze hazırlanması gereken bu reaktif, 753 nm de absorbanısı 0,700 (± 0.02) olacak şekilde etanol ile seyreltilerek antioksidan aktivite tayininde kullanılmıştır (Re vd., 1999, s. 1233).

Reaksiyon için, 10 µL örnek çözeltisi (0.1-10 mg/ml konsantrasyonda) üzerine 1 ml reaktif çözeltisi ilave edilerek 5 dakika beklenmiş ve 734 nm'de absorbanısı ölçülmüştür. Çalışmada kör olarak etanol, pozitif kontrol olarak Trolox çözeltisi (0.5 mg/ml) kullanılmıştır.

Deney sonunda, ABTS radikal katyonunun % giderimi aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Total aktioksidan aktivite} = (A_c - A_s) / A_c \times 100$$

Ac: ABTS reaktif çözeltisinin 734 nm'deki absorbanısı

As: Ekstre içeren reaktif çözeltisinin 734 nm'deki absorbanısı

Elde edilen sonuçlar eşitlikde yerine konarak % inhibisyon hesaplanmış, sonuçlar pozitif kontrolün sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

2.10.5. Redükleyici güç ölçümü

Redükleyici güç tayini Shon vd., tarafından geliştirilen metoda uygun olarak yapılmıştır (Shon vd., 2003, s. 595). Öncelikle % 1'lik potasyum ferrisiyanid (K₄[Fe(CN)₆].3H₂O) ve 200 mM fosfat tamponu (PBS) (pH 6,6) hazırlanmıştır. 200 µL örnek çözeltisi (0.5 mg/ml konsantrasyonda) üzerine 500 µl PBS ve 500 µL % 1 lik K₄[Fe(CN)₆].3H₂O eklenmiş, karışım 50 °C de etüvde 20 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra karışıma 500 µL % 10'luk trikloroasetik asit (TCA) eklenerek 4000 devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası 500 µL süpernatant, 500 µL distile su ve 200 µL 0,1'lik FeCl₃ ile karıştırılarak elde edilen reaksiyon çözeltisinin absorbanısı, 700 nm'de örnek içeren reaksiyon karışımına (kör) karşı okunmuştur (n=3). 700 nm'de

ölçülen absorbansın 0.5 olduğu konsantrasyon (mg/ml) EC_{50} değeri olarak verilmiştir. Pozitif standart olarak askorbik asit ve butil hidroksi tolüen (BHT) kullanılmıştır (Lee, Yen ve Mau, 2007, s. 6).

2.10.6. MTT yöntemi ile sitotoksosite tayini

Çalışmada Caco-2 (ATCC HTB-37) kolon hücre hattı kullanılmıştır. Ekstreler, dimetilsülfoksit (Sigma) (DMSO)'da çözülerek ana stok çözeltiler hazırlanmıştır. Çalışma öncesinde, stok çözeltiden medyumla gerekli seyreltmeler (50, 100, 200 400 ve 800 $\mu\text{g/ml}$ çalışma konsantrasyonları) taze olarak hazırlanmıştır (En yüksek konsantrasyonunda DMSO oranı % 0.1'dir). Stoktan çıkarılan Caco-2 hücreleri, % 10'luk fetal sıgır serumu ve % 1 penisilin-streptomisin içeren RPMI-1640 (% 1 L-glutamin, %1 sodyum pirüvat) besiyeri içinde, flasklarda % 95 bağıl nem ve % 5 CO_2 'li gaz ortamında ve 37°C 'deki inkübatörde kültüre edilip çoğaltılmıştır.

Yöntem: 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür (MTT) ölçümü, *in vitro* koşullarda hücre metabolizmasının canlılığını ve sitotoksiteyi ölçmek için uygulanan kantitatif kolorimetrik bir yöntemdir. Canlı hücrelerde mitokondrinin, MTT boyasının içerdiği tetrazolyum halkasını parçalayabilmesi ve mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesine dayanmaktadır. Canlılığı azaltan; fakat öldürmeyen özellikteki, sarı renkli, suda çözünebilen tetrazolyum tuzu (MTT), hücrelere aktif olarak absorbe olur ve suda çözünmeyen koyu mavi renkli formazana indirgenir. Tetrazolyum halkasının parçalanması sonucu soluk sarı renkli MTT boyası koyu mavi-mor formazan ürününe dönüşmektedir. Formazan miktarı, direkt olarak canlı hücre sayısı ile orantılıdır. Hücrelerin MTT indirgeme özelliği, hücre canlılığının ölçütü olarak alınır ve MTT analizi sonucunda elde edilen boya yoğunluğu canlı hücre sayısı ile korelasyon gösterir (Mosmann, 1983, s. 59; Dikmen vd., 2011a, s.1642; Dikmen vd., 2011b, s. 753).

Sonuç olarak canlı ve mitokondri fonksiyonu bozulmamış hücreler mor renkte boyanmakta, ölü ya da mitokondri fonksiyonu bozulmuş hücreler boyanmamaktadır. Formazan kristalleri DMSO, izopropanol veya diğer uygun çözücü ilavesiyle çözünür ve çözünmüş olan formazanın miktarının verdiği absorbansa göre spektrofotometrik olarak ölçüm yapılır. Hücrelerin MTT indirgeme özelliği mitokondrinin sağlamlığı ve

metabolik aktivitesinin tanımlanmasını sağlar. Bu da hücre canlılığının ölçüsü olarak alınır (Mosmann, 1983, s. 55-63; Horakova vd., 2001, s. 658).

Metodun uygulanması: MTT (Sigma), PBS içinde çözülerek hazırlanmıştır. Uygun besiyeri ve kültür ortamında çoğaltılan Caco-2 hücrelerinin canlı hücre sayımı yapılmış ve her hücre hattı ayrı ayrı 96 kuyucuklu plakalara her bir kuyucukta 3.000 hücre olacak şekilde besiyeri ortamında ekilmiş ve hücrelerin yapışmaları için 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ekstrelerin, stok solüsyonlarından hücre kültür besiyeri içinde gerekli seyreltmeler yapılarak uygulanacak konsantrasyonları (50, 100, 200 400 ve 800 µg/ml) hazırlanmıştır. Daha sonra plakaların içindeki eski besiyeri atılmış ve kuyucuklara taze olarak kültür besiyerinde hazırlanan ekstre konsantrasyonları uygulanmıştır. Negatif kontrol grubundaki hücrelere de % 0.1 oranında DMSO içeren besiyeri uygulanmıştır. Daha sonra plakalar 48 saatlik inkübasyonlara bırakılmıştır. İnkübasyon süreleri sonunda plakanın içindeki besiyeri atılmış ve her bir 96'lık kuyucuktaki hücreler üzerine, 100 µL MTT çalışma solüsyonu ilave edilerek hücreler 3 saat inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda her kuyucuğa 100 µL DMSO konulmuştur ve 540 nm dalga boyunda ELIZA cihazında absorbans değerleri, her bir grupta 6 kuyucuk olacak şekilde okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri, hücrelerin metabolik aktivitelerini verir ve bu değer de yaşayan hücre sayısı ile ilişkilendirilmiştir. Sonuçlar kontrole göre % hücre canlılığı olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

$$\% \text{ Hücre Canlılığı} = \frac{\text{Örneğin absorbans değeri}}{\text{Kontrolün absorbans değeri}} \times 100$$

Elde edilen % canlılık değerleri, SPSS 11,5 yazılım programında tek yönlü ANOVA Tukey's post-hoc testi ile analiz edilmiştir. Birbirinden bağımsız 3 tekrar deney sonuçlarının, ortalama $\pm$ st. sapma değerleri olarak hesaplanmıştır. Anlamlılık değerleri ($p < 0,05^*$; $p < 0,01^{**}$; $p < 0,001^{***}$) kontrole göre değerlendirilmiştir.

GraphPad Prism 6.0 Anlamlılık Değerleri

**** $p < 0,0001$

*** $p < 0,001$

** $p < 0,01$

* $p < 0,05$

n.s. $p > 0,05$

3. SONUÇLAR

Doğal ya da sentetik maddelerin antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesi için birçok *in vitro* ve *in vivo* yöntem geliştirilmiştir. Bunun yanında, tek bir antioksidanın veya fitokimyasal ajanın antioksidan kapasitesini tam olarak belirleyici bir sistem bulunmamaktadır. Doğal antioksidanların çoğu bitkilerden elde edilmekte olup, tüm yüksek bitkilerin hemen hemen bütün kısımlarında genellikle fenolik ve polifenolik bileşikler bulunmaktadır (Shahidi 2000, s. 158).

Tez çalışması kapsamında, son yıllarda özellikle gıda endüstrisinde önem kazanan, doğal kaynaklı antioksidan ve pro/prebiyotik ürünlerden biri olan ve insan sağlığı açısından çok yararlı *Beta vulgaris* (kırmızı pancar) depo köklerinden hazırlanmış ekstrelerin ve farklı konsantrasyonlarda NaCl ve asetik asit ile hazırlanmış turşuların katı ve sıvı kısımlarının toplam fenolik madde ve toplam betasiyanin miktarları spektrofotometrik, fenolik asit miktarları ve betalain ve betaksantin varlığı kromatografik olarak belirlenmiştir. Söz konusu kısımların antioksidan aktivite- DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü aktivite, β -karoten linoleik asit sisteminde antioksidan aktivite, TEAC, Metal şelatlama kapasitesi ve Redükleyici güç sonuçları; standart antioksidanlar Trolox, EDTA, askorbik asit ve BHT'nin sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Bunların yanında, turşu suları ve pancar ekstrelerinin sitotoksik etkileri MTT yöntemi ile tespit edilmiştir.

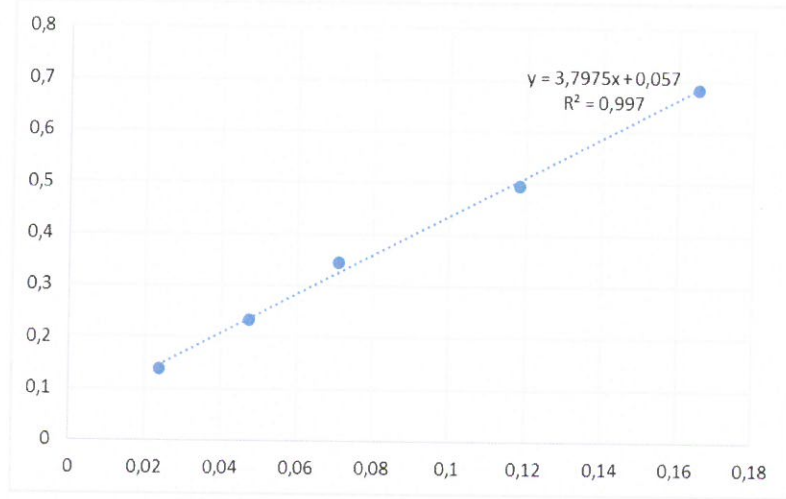
3.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı

Polifenolik bileşikler, yapıları gereği taşıdıkları fonksiyonel gruplardan dolayı elektron ve hidrojen verebilme kapasitesine sahip en önemli antioksidan bileşiklerdir. Bu gruplar onlara polar olma özelliği katarken antioksidan özelliklerini artırır, aynı zamanda da serbest radikalleri ve oksitleyici grupları elimine ederler (Medic-Saric vd., 2009, s. 9).

Yöntemin temeli kısaca fenolik bileşikler ve diğer indirgeyici bileşiklerden molibdenyum'a elektron transfer edilmesine dayanmaktadır. Mavi renkli kompleks oluşumu 750-765 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenir.

Kırmızı pancar turşu suları ve ekstrelerinin içerdiği toplam fenolik madde konsantrasyonları Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak Şekil 3.1. de verilen gallik asitin

metanol çözeltisinin kalibrasyon grafiğinden elde edilen denklemden yararlanılarak gram ekstrede gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Elde edilen kalibrasyon eşitliği $y = 3,7975x + 0,057$ 'dir.



Şekil 3.1. Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi

Kırmızı pancar ekstreleri ve turşularının toplam fenolik madde miktarları ve ekstrelerin kuru baz üzerinden % verimleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Kuru Drog Verimleri ve Toplam Fenolik Madde Miktarları

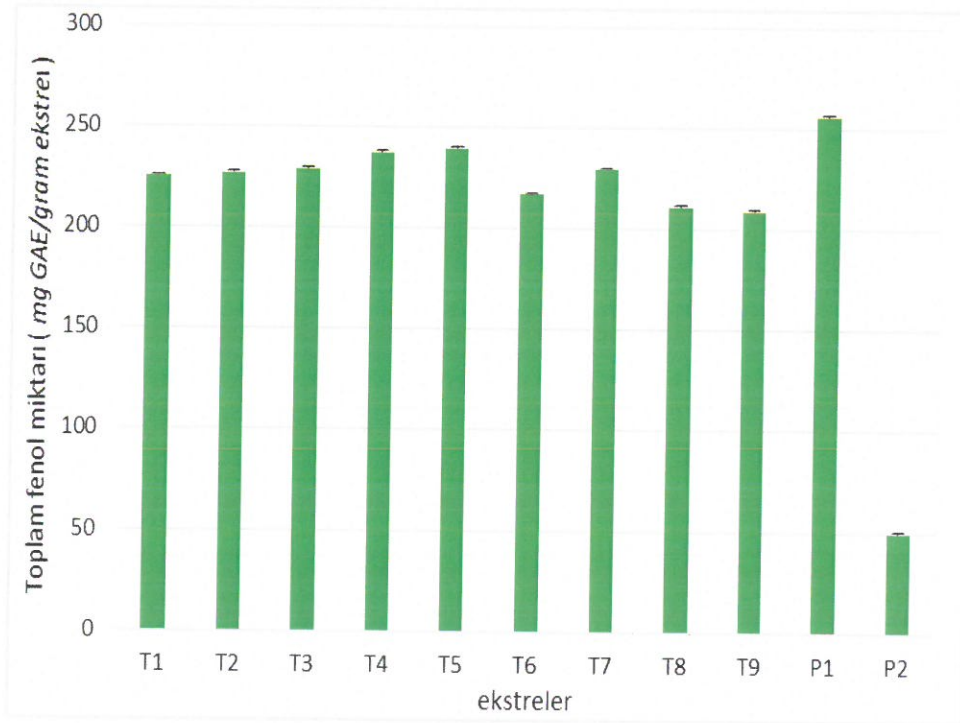
Ekstreler	% Verim	Toplam fenol miktarı ^{1,*}
T1	4.92	225.07 ± 2.43
T2	15.90	226.87 ± 3.90
T3	10.36	228.72 ± 1.12
T4	5.36	237.15 ± 4.09
T5	19.45	239.21 ± 30.20
T6	2.90	216.72 ± 4.37
T7	2.90	229.20 ± 3.98
T8	17.81	211.11 ± 0.83
T9	9.22	209.01 ± 1.25
P1	20.10	255.62 ± 2.37
P2	1.48	49.52 ± 0.02

¹ mg GAE/gram ekstre ±SD.

Tez kapsamında çalışılan kırmızı pancar ekstreleri ve turşu sularının ekstraksiyon verimleri kuru baz üzerinden % olarak hesaplanmış; % 1.48 (P2) - % 20.10 (P1)

arasında bulunmuştur. Turşuların katı kısımları ve sularının ekstre verimlerine bakıldığında katı kısımların turşu sularına oranla daha yüksek ekstre verimine sahip olduğu görülmektedir (Tablo 3.1)

Tablo 3.1'de görüldüğü gibi ekstrelerin Folin Ciocalteu reaktifi kullanılarak hesaplanan toplam fenolik madde miktarları sırasıyla; $P2 < T9 < T8 < T6 < T1 < T2 < T3 < T7 < T4 < T5 < P1$ olarak artmaktadır. Kırmızı pancar ekstreleri ve turşu sularından en yüksek toplam fenolik madde miktarları; ekstraksiyon 1 yöntemine göre % 0.05 asetik asitli su ile hazırlanan kırmızı pancar ekstresinde (P1) (255.62 ± 2.37) ve % 3 NaCl ve %20 asetik asit ile hazırlanan turşu örneğinin katı kısmında (T5) (239.21 ± 30.20) bulunurken, en düşük fenolik madde miktarı ise ekstraksiyon 2 yöntemine göre sitrik asitli etanol ile hazırlanan (P2) kırmızı pancar ekstresinde (49.52 ± 0.02) tespit edilmiştir.



Şekil 3.2. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Toplam Fenolik Madde Miktarları

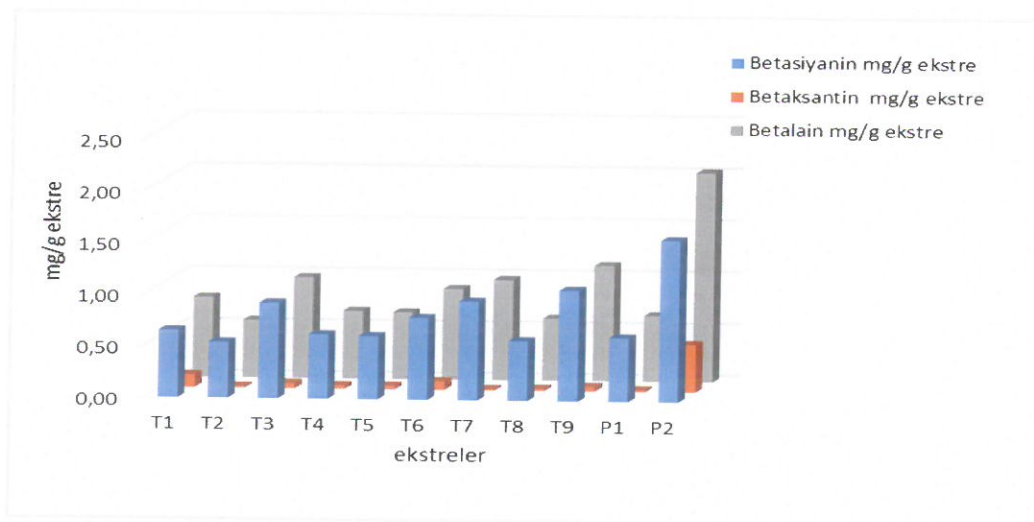
Turşuların suları ve katı kısımlarının toplam fenolik madde miktarlarının, sitrik asitli su ile hazırlanan P1 ekstresinden daha düşük olması, fermentasyon sırasında bitkisel materyaldeki fenolik madde oranının azaldığını göstermektedir.

3.2. Toplam Betasiyanin, Betaksantin ve Betalain Miktarı

Betalainler, kırmızı ya da mor renkli betasiyaninler ile sarı renkli betaksantinler olmak üzere suda çözünen azot içeren pigmentlerdir. Caryophyllales ordosundaki familyaların türleri için karakteristik maddelerdir (Merceddy vd., 2017, s. 311). Bitkilerde spektrofotometrik metodla tayin edilirler.

Tablo 3.2. *Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Toplam Betasiyanin, Betaksantin ve Betalain Miktarları*

Ektreler	Betasiyanin mg/g ekstre	Betaksantin mg/g ekstre	Betalain mg/g ekstre
T1	0.652 ± 0.12	0.122 ± 0.01	0.774 ± 0.13
T2	0.540 ± 0.01	0.016 ± 0.04	0.556 ± 0.05
T3	0.924 ± 0.01	0.049 ± 0.01	0.973 ± 0.02
T4	0.624 ± 0.03	0.031 ± 0.03	0.655 ± 0.06
T5	0.611 ± 0.04	0.033 ± 0.01	0.644 ± 0.05
T6	0.792 ± 0.08	0.084 ± 0.02	0.876 ± 0.10
T7	0.954 ± 0.01	0.014 ± 0.01	0.968 ± 0.02
T8	0.579 ± 0.02	0.022 ± 0.02	0.601 ± 0.04
T9	1.070 ± 0.07	0.044 ± 0.01	1.114 ± 0.08
P1	0.617 ± 0.02	0.018 ± 0.01	0.635 ± 0.03
P2	1.56 ± 0.08	0.46 ± 0.02	2.02 ± 0.10



Şekil 3.3. *Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Betasiyanin ve Betaksantin Miktarları*

Tez çalışmasında Tablo 3.2'de verilen sonuçlara göre kırmızı pancar ekstraktları ve turşularının toplam betalain miktarları spektrofotometrik olarak ölçülen toplam betaksantin ve toplam betasiyanin miktarları toplanarak bulunmuştur. Ekstrelerdeki toplam betalain miktarları sırasıyla $T2 < T8 < P1 < T5 < T4 < T1 < T6 < T7 < T3 < T9 < P2$ olarak tespit edilmiştir. Buna göre en yüksek oranda betalain içeren ekstre, ekstraksiyon 2'ye göre hazırlanan P2 iken, turşular kendi içinde değerlendirildiğinde %5 NaCl % 20 asetik asit içeren turşu örneğinin (T9) betalain içeriği diğerlerinden daha yüksek bulunmuştur. Turşu sularının, katı kısımlara oranla daha yüksek miktarda betalain içerdiği tespit edilmiştir.

3.3. YBSK ile Fenolik Asit Miktar Tayini

Shimadzu LC 20A Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) Cihazı kullanılarak analizi gerçekleştirilen pancar ekstraktları ve turşu sularında bulunan fenolik asitlerin (gallik (GA), protokateşik (proto-KA), *p*-hidroksi benzoik (*p*-OH-BA), kafeik (KA), klorojenik (KLA), sirinjik (SA), *p*-kumarik (*p*-KU), , ferulik (FA)) ayırımı C_{18} kolonda deneysel kısımda belirtildiği koşullarda gerçekleştirilmiş, sonuçlar Tablo 3.3'de verilmiştir.

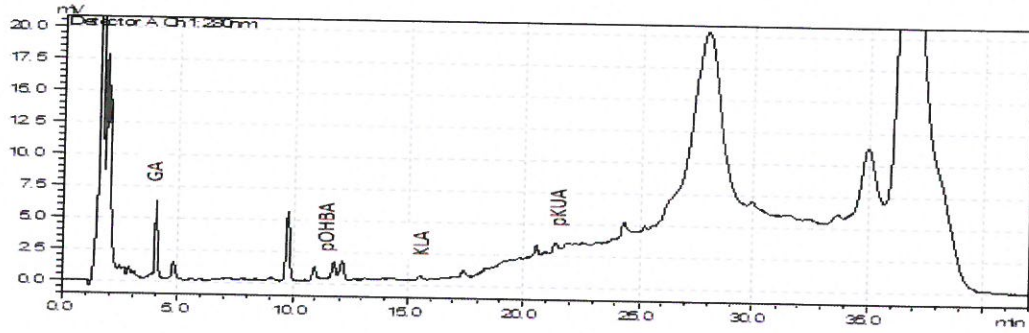
Tablo 3.3. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularında Ters-Faz YBSK ile Tespit Edilen Fenolik Asit Miktarları

Ekstreler	Fenolik asit miktarları (µg/g bitki)							
	GA	proKA	p-OHBA	KA	KLA	SA	p-KU	FA
T1	1.48		3.94		8.12	3.69	1.68	4.95
T2	1.04		7.20		2.19	2.78	1.65	1.27
T3	0.98		6.51		1.94	1.50	1.02	1.31
T4	1.35		4.42		1.78	1.43	1.35	2.41
T5	1.11		4.98	0.73	2.94	1.79	1.29	0.81
T6	0.95		6.74		4.88	1.50	1.17	2.03
T7	0.96		4.56		2.68	2.82	1.19	1.59
T8	1.61		5.81	0.91		0.86	2.12	1.72
T9	1.77	0.44	4.12	1.047		0.79	2.57	1.88
P1	2.89	0.56	8.12	1.23	3.21	2.13	2.87	1.43
P2	0.45		0.92		0.32	0.21	0.67	0.89

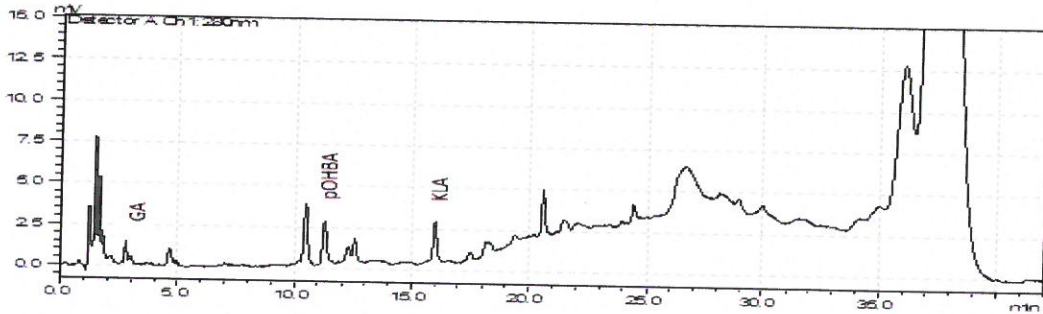
GA: Gallik Asit, pro-KA: Protokateşik Asit, *p*-hid-BA: *para*-Hidroksi Benzoik Asit, KA: Kafeik Asit, KLA: Klorojenik Asit, SA: Sirinjik Asit, *p*-KU: *para*-Kumarik Asit, FA: Ferulik Asit).

Toplam fenolik madde miktarı fazla olan kırmızı pancar ekstresinde (P1) ve T9 turşu ekstralarında YBSK ile tespit edilen başlıca fenolik asitler; gallik, protokateşik, *p*-hidroksi benzoik, klorojenik, kafeik, sirinjik, *p*-kumarik ve ferulik asitlerdir. % 10 Asetik asitle ve % 1 tuzla hazırlanan ekstralarda YBSK ile belirlenen başlıca fenolik asitler, klorojenik ve ferulik asit olarak tespit edilmiştir.

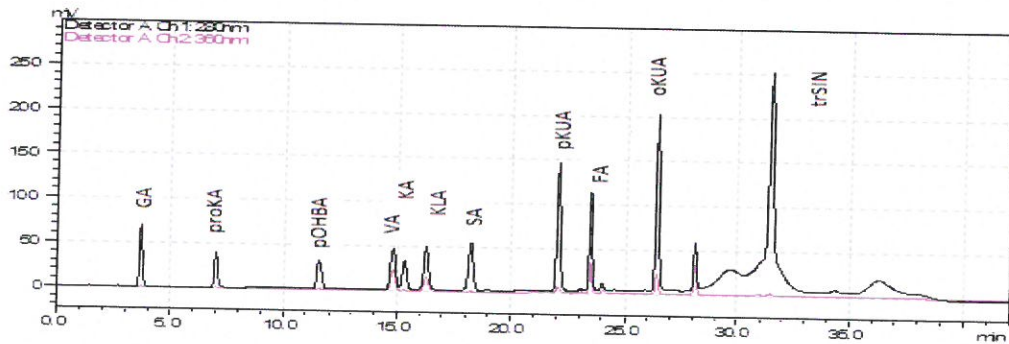
Şekil 3.4’de antioksidan aktivite sonuçları daha iyi çıkan P1 pancar ekstresi ve T5 turşu ekstresi kromatogramı ile fenolik asit standart YBSK kromatogramı gösterilmiştir.



(I)



(II)

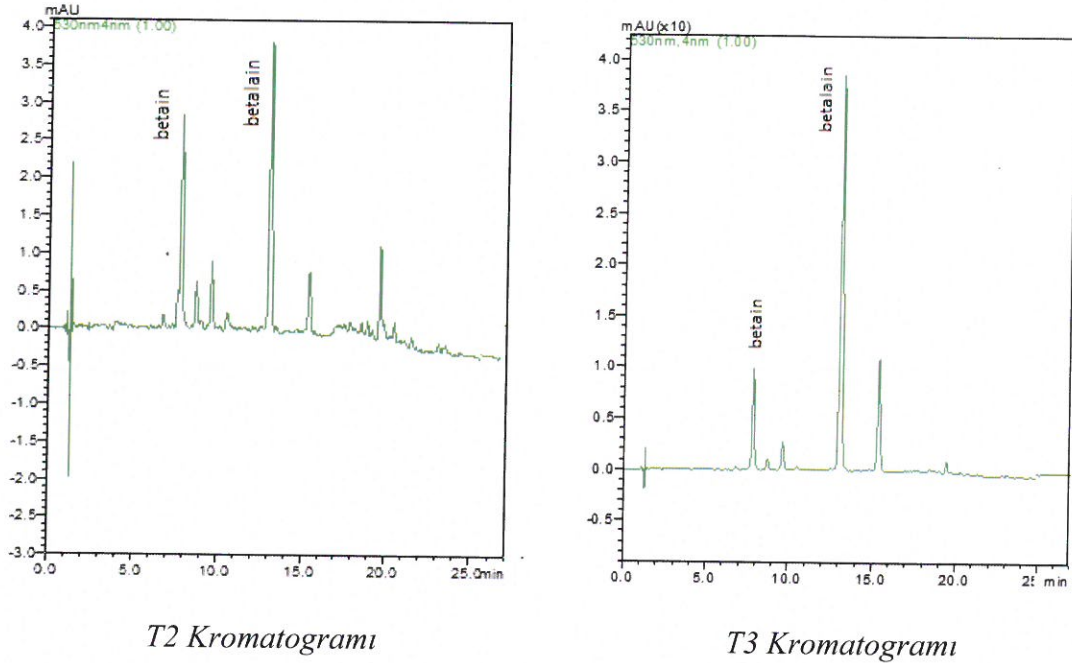


(III)

Şekil 3.4. P1 Pancar Ekstresi Kromatogramı (I), T5 Turşu Ekstresi YBSK Kromatogramı (II), Fenolik Asit Standart YBSK Kromatogramı (III)

3.4. YBSK ile Betalain Tayini

Shimadzu LC 20A Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK) cihazı, ters faz kolon ve gradient elüsyon sistemi kullanılarak analizi gerçekleştirilen pancar ekstreleri ve turşu sularında bulunan betalain ve betasiyanin tayinleri yapılmıştır.



Şekil 3.4. T2 ve T3 Ekstrelerin YBSK Kromatogramları

3.5. Ekstrelerin pH Değerleri

Kırmızı pancar ve turşularından hazırlanan ekstrelerin pH metrede ölçülen pH değerleri Tablo 3.4'de verilmiştir. En düşük pH değeri P2 kırmızı pancar ekstresi için ölçülürken en yüksek pH değeri % 3 NaCl ve % 20 asetik asitle hazırlanan turşu örneğinin katı kısmı için (T5) ölçülmüştür. Genel olarak kırmızı pancar ekstrelerinin (P1 ve P2) pH değerleri, turşuların pH değerlerinden düşük olarak kaydedilmiştir. Literatürdeki değerlere bakıldığında ise taze kırmızı pancarın yetiştirme şartlarına göre pH değerleri 6.0-7.4 arasında değişirken, liyofilize su ekstratının pH değerinin ise 6.6 olduğu görülmektedir (Kazimierczak vd., 2014, s. 2622; http-4). Ayrıca farklı materyalden hazırlanan turşulardaki pH değerlerinin ise 3.4 - 3.9 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çetin, 2011, s. 14929; Özçelik ve İç, 2000, s. 116).

Tablo 3.4. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının pH Değerleri

Ekstreler	pH değerleri
T1	4.85
T2	4.85
T3	4.81
T4	4.38
T5	5.35
T6	4.90
T7	4.60
T8	4.89
T9	4.53
P1	4.37
P2	3.74

3.6. DPPH Üzerinden Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini

Genel olarak, kimyasal maddelerin elektron verme yetenekleri lipid oksidasyona karşı gösterdikleri antioksidan aktivitelerinin sonucudur. DPPH üzerinden serbest radikal süpürücü etki tayini; hidrojen verme potansiyelinin araştırılması için en kısa, en ucuz yöntemlerden birisidir (Kikuzaki vd., 2002, s. 2161). Doğadaki birçok radikal iyonu değişik kimyasal reaksiyonlarla bazı bileşikler tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Kararlı bir organik radikal olan DPPH farklı bitki ekstraktları gibi bileşiklerin antioksidan aktivitesini belirlemede de kullanılmaktadır (Brand-Williams vd., 1995, s. 25).

Metanol içerisinde hazırlanmış 0.1, 0.2 ve 0.4 mL örnek çözeltileri (reaksiyon ortamındaki örnek konsantrasyonları 9.6×10^{-4} , 1.8×10^{-3} , 3.6×10^{-3} mg/mL) üzerine metanolde hazırlanmış 3 mL DPPH (2×10^{-2} g/L) çözeltisi ilave edilerek 30 dk karanlıkta beklenmiş, daha sonra spektrofotometrede 517 nm absorbansları ölçülmüştür. İşlem sonunda okunan yüksek absorbanslardan düşük konsantrasyonda aktivite görülmediği anlaşılmıştır (yani DPPH + örnek çözeltilerinin renginde solma meydana gelmemiştir). Bu nedenle sadece çalışılan yüksek konsantrasyondaki (3.6×10^{-3} mg/mL) örneklerde % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır.

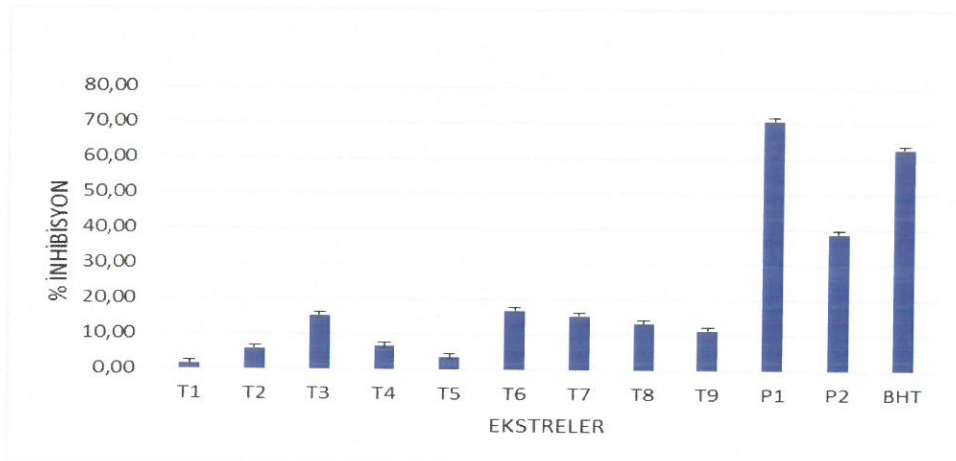
Tablo 3.5. *Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının DPPH Serbest Radikal Süpürücü Etki Tayini (% inhibisyon)*

Ekstreler	% İnhibisyon 3.6×10^{-3} *
T1	1.64 ± 0.03
T2	5.92 ± 1.13
T3	15.13 ± 3.56
T4	6.58 ± 1.42
T5	3.62 ± 0.98
T6	16.78 ± 2.42
T7	15.13 ± 3.09
T8	13.16 ± 2.12
T9	11.18 ± 2.01
P1	70.72 ± 4.98
P2	38.65 ± 2.42
BHT	62.66 ± 4.11

Sonuçlar ortalama değer $\pm$ standart sapma (n=3) olarak verilmiştir.

* ilave edilen ekstre/BHT miktarı (mg/ml)

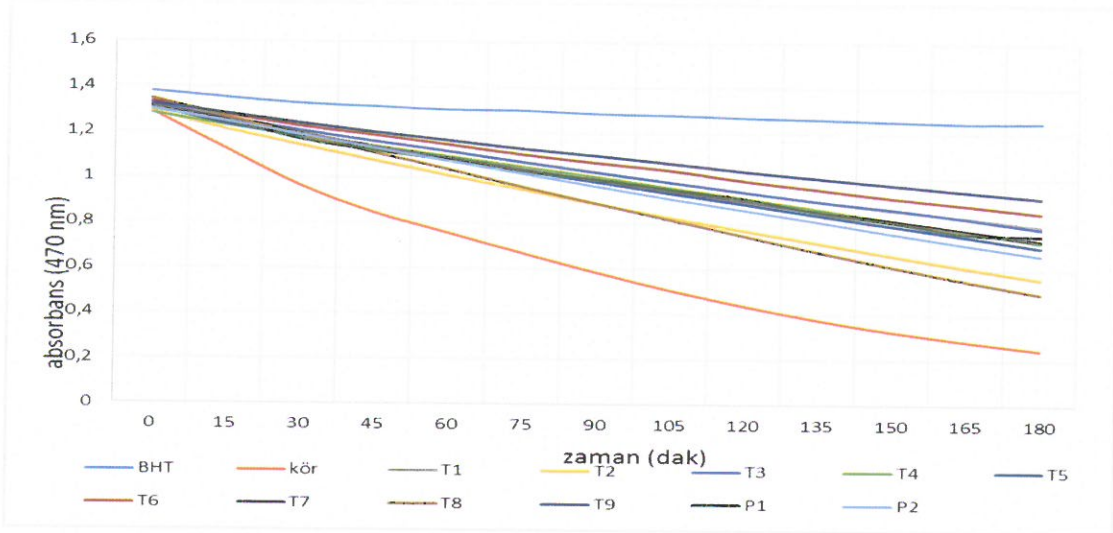
DPPH serbest radikal süpürücü etki sonuçlarına göre, P1 kırmızı pancar ekstresi, 70.72 ± 4.98 inhibisyon yüzdesiyle BHT'den (62.66 ± 4.11) daha yüksek antioksidan aktivite göstererek en yüksek aktiviteye sahip ekstre olarak tespit edilmiştir. Ayrıca en yüksek aktiviteye sahip turşu örneği 16.78 ± 2.42 inhibisyonla % 3 NaCl ve % 20 asetik asit içeren T6 ile T3 ve T7 turşu suyu örnekleri olurken, en düşük antioksidan aktiviteyi 1.64 ± 0.03 inhibisyon yüzdesiyle % 1 NaCl ve % 10 asetik asit içeren T1 turşu suyu göstermiştir.



Şekil 3.6. *Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının DPPH Serbest Radikal Süpürücü Antioksidan Aktiviteleri (% inhibisyon)*

3.7. β -Karoten-Linoleik Asit Sisteminde Antioksidan Aktivite Tayini

Bu yöntem, emülsiyondaki linoleik asit oksidasyonu sonucu oluşan radikallerin β -karoten ile reaksiyonundan oluşan sarı rengin zaman içerisinde kaybolmasına dayanmaktadır. Antioksidan madde varlığı rengin açılmasını önlemektedir (Kulisic vd., 2004, s. 638). β -Karoten-linoleik asit sisteminde test süresi olan 3 saat boyunca β -karotenin solmasının önlenmesi yüksek antioksidan aktivitenin varlığını göstermektedir.



Şekil 3.7. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının β -karoten-linoleik Asit Sisteminde Antioksidan Aktiviteleri

Bu yöntemle kırmızı pancar ekstre ve turşularının katı ve sıvı kısımlarının antioksidan aktiviteleri ölçülmüş ve sonuçlar sentetik antioksidan BHT'nin sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Tablo 3.6'da görüldüğü gibi; β -karoten-linoleik asit sisteminde sırasıyla % 3 ve % 5 NaCl ve aynı oranda asetik asit içeren (% 20) T6 (43.52) ve T9 (% 52.51) turşu suları BHT (% 84.94749) kadar olmasada, pancar ekstreleri ve turşu örnekleri içinde yüksek inhibisyon ve dolayısıyla belirgin antioksidan aktivite göstermiştir. P1 pancar ekstresinde ise P2 den daha fazla antioksidan etki tespit edilmiştir.

Tablo 3.6. *Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının β -karoten-linoleik Asit Sisteminde Antioksidan Aktiviteleri (%AA)*

Ektreler	% AA ¹
T1	37.33 $\pm$ 1.98 ²
T2	14.93 $\pm$ 1,23
T3	37.68 $\pm$ 2.89
T4	34.53 $\pm$ 2.56
T5	29.05 $\pm$ 1.87
T6	43.52 $\pm$ 2.34
T7	31.97 $\pm$ 0.98
T8	17.70 $\pm$ 0.19
T9	52.51 $\pm$ 1.98
P1	45.90 $\pm$ 1.45
P2	25.90 $\pm$ 1.67
BHT	84.55 $\pm$ 3.01

¹% İnhibisyon = $100 \times [1 - (A_s^0 - A_s^{180}) / (A_k^0 - A_k^{180})]$

²Sonuçlar ortalama değer $\pm$ standart sapma (n=3) olarak verilmiştir.

3.8. Metal Şelatlayıcı Aktivite

Metal iyonu şelatlama aktivitesi; kırmızı pancar ekstreleri ve turşu sularının çözeltideki Fe^{2+} iyonlarını bağlayabilmek için ferrozin ile yarışmasına göre değerlendirilmiş, standart madde olarak iyi bir metal şelatlayıcı olan EDTA kullanılmıştır.

Tez kapsamında kullanılan kırmızı pancar ekstreleri ile turşu suyu ve katı kısımları, 10 mg/mL konsantrasyona kadar çıkılmasına rağmen 562 nm’de pozitif standart EDTA’nın 0.5 mg/ml de verdiği absorbans değerine ulaşamamış, çalışılan örneklerin absorbansları kontrol absorbansının düzeyinde kalmıştır. Bu nedenle çalışılan tüm konsantrasyonlarda ölçülen absorbans değerleri birbirine yakın ve yüksek tespit edildiği için en yüksek konsantrasyonun (10 mg/mL) absorbans değerleri Tablo 3.7’de verilmiştir.

Tablo 3.7’de de görüldüğü gibi kırmızı pancar ekstreleri ve turşu sularının metal şelatlama kapasiteleri yoktur.

Tablo 3.7. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının 10 mg/ml Konsantrasyonda 562 nm'de Absorbansları

Ekstreler	Absorbans (562 nm)
T1	1.451
T2	1.088
T3	1.486
T4	1.538
T5	1.184
T6	1.240
T7	1.486
T8	1.229
T9	1.355
P1	1.616
P2	1.103
Akontrol	1.189
EDTA (0.5 mg/ml)	0.239

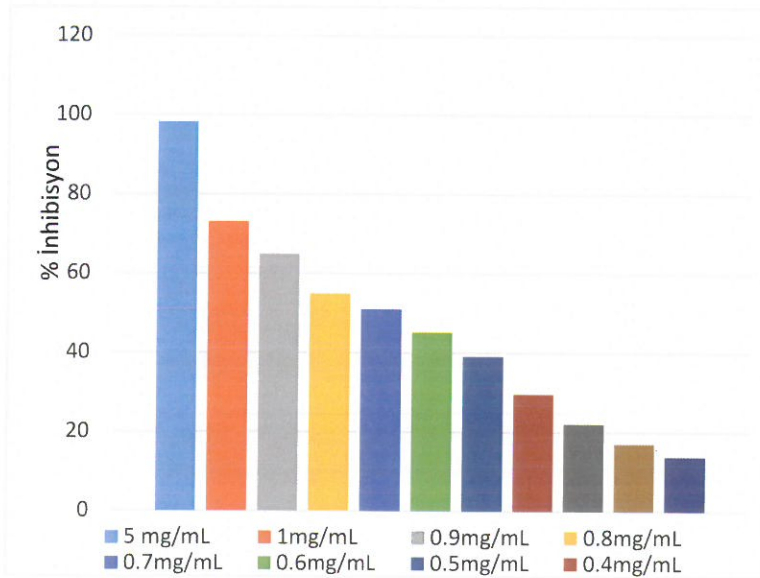
3.9. Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (TEAC)

Bu yöntem, 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS^{•+}) radikal kasyonu tarafından tutulan antioksidatif maddelerin miktarının, sentetik bir antioksidan olan TROLOKS'un (suda çözünen E vitamini analogu) standart miktarlarıyla kıyaslanarak bağıl ölçümü ile gerçekleştirilmektedir. Ölçümler, mavi/yeşil renkli stabil bir bileşik olan ABTS radikalinin renginin indirgenmesinin spektrofotometrik olarak belirlenmesiyle yapılmıştır. Mavi/yeşil ABTS^{•+} kromoforu oluşturmak için ABTS ve potasyum persülfat arasında gerçekleşen reaksiyondan yararlanılmıştır.

TEAC sonuçlarına göre 10 mg/ml konsantrasyonda en yüksek inhibisyon gösteren % 0.05 asetik asitli su ile hazırlanan kırmızı pancar ekstresi (P1) (% 99.57) diğer örneklerden daha aktif bulunmuştur. Turşu suyu ekstralarının Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasiteleri en yüksek % 1 NaCl, % 20 asetik asit içeriği ile T3 görülürken (Tablo 3.8), birbirine yakın değerlerle T6 ve T9 da ikinci sırada yer almaktadır. Turşu suları ve katı kısımların TEAC sonucu hesaplanan % inhibisyon değerleri birbirine yakın olmakla birlikte, yüksek asit içeren turşu sularının diğerlerine göre TEAC bakımından daha aktif oldukları görülmüştür.

Tablo 3.8. *Kırmızı pancar Ekstreleri ve Turşularının Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasiteleri*

Ekstreler	Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite % inhibisyon
T1	31.41
T2	34.26
T3	38.60
T4	31.84
T5	26.85
T6	36.25
T7	34.40
T8	33.12
T9	36.11
P1	99.57
P2	53.13
Trolox (0.5 mg/mL)	76.89



Şekil 3.8. *Kırmızı Pancar Ekstresinin (P1) 0.1-5 mg/mL Konsantrasyonlardaki TEAC Sonuçları (% inhibisyon)*

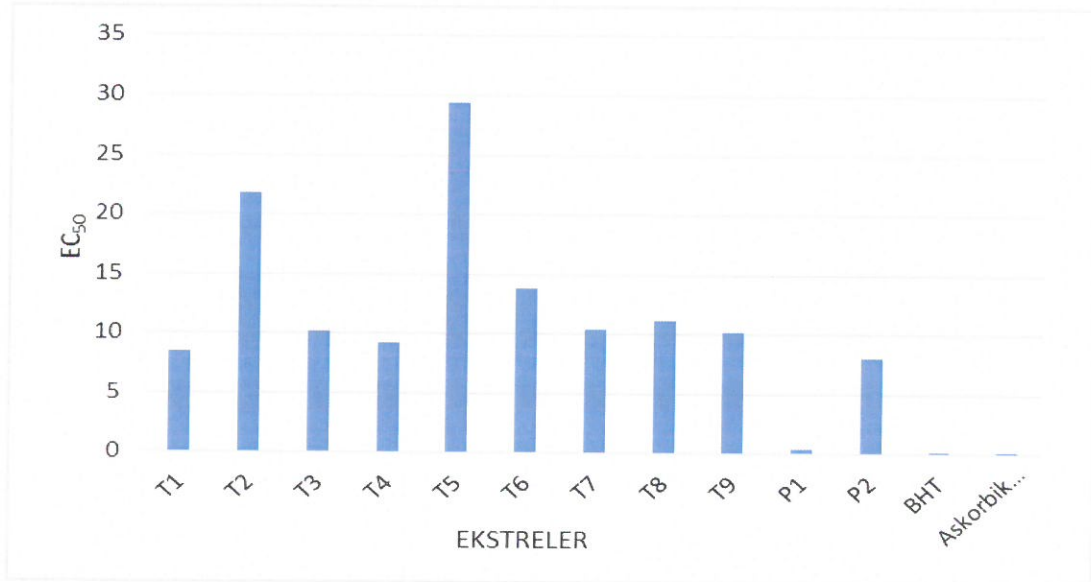
3.10. Redükleyici Güç Ölçümü

Ekstrelerin redükleyici güç ölçümü, potasyum demirsiyanid redükleyici metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin hidrojen verme kabiliyetlerinden

kaynaklandığı düşünölen indirgeme gücü genellikle redüktonların varlığı ile ilişkilendirilmektedir (Shon vd., 2003, s. 595).

Tablo 3.9. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Redükleyici Güç Ölçümü (EC_{50})

EKSTRELER	EC_{50}
T1	8.47
T2	21.74
T3	10.20
T4	9.26
T5	29.41
T6	13.89
T7	10.42
T8	11.11
T9	10.20
P1	0.46
P2	8.06
BHT	0.21
Askorbik Asit	0.175



Şekil 3.9. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının Redükleyici EC_{50} değeri

Redükleyici güç ölçümü ile antioksidan aktivite sonuçlarına göre; EC_{50} değeri BHT (0.21) ve askorbik asit (0.175) ile karşılaştırıldığında en yüksek redükleyici güç

aktivitesine sahip ekstrenin kırmızı pancar yumrularından % 0.05 sitrik asitli su ile hazırlanmış P1 ekstresinde (0.46) olduğu, en düşük aktiviteye sahip ekstrenin ise EC₅₀ değeri 29.41 olan % 3 NaCl ve % 20 asetik asit içeren T5 turşu örneği olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, en yüksek antioksidan aktivite gösteren turşu örneğinin ise 8.47 EC₅₀ değerine sahip % 1 NaCl ve % 10 asetik asit içeren T1 turşu suyu olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak turşu sularının antioksidan aktivitelerinin turşuların katı kısımlarının antioksidan aktivitelerine oranla daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 3.9) (Şekil 3.9).

3.11. MTT Yöntemi ile Sitotoksosite Tayini

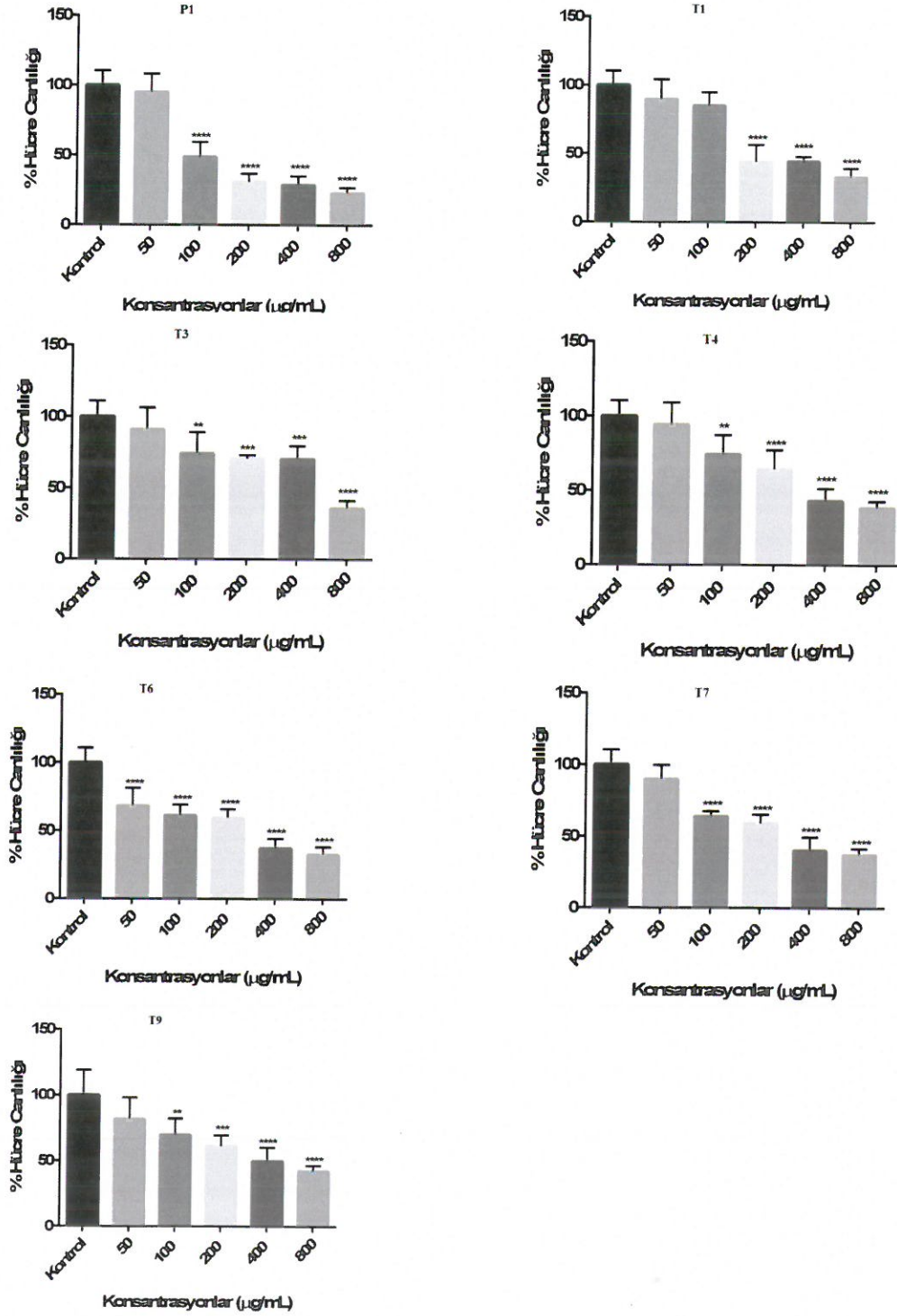
Metabolik aktivitenin ölçümüne dayalı hücre sitotoksosite testlerinde yaygın olarak tiyazol difenil tetrazolyum (MTT) tuzları kullanılmaktadır. Çalışma prensibi, temel olarak proliferasyona uğrayan hücrelerin artan dehidrojenaz enzim aktivitesi ile tetrazolyumu (MTT: sarı) kullanarak formazan (mor) boya üretmesi sonucu görülen renk değişiminin absorbans olarak ELISA okuyucu ya da spektrofotometre ile ölçülmesine dayalıdır (Terzioğlu vd., 2013, s. 78).

MTT yöntemi ile CaCo-2 kolon kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksosite çalışmaları, antioksidan aktivite tayinlerinde yüksek aktivite gösteren % 0.05 asetik asitli su ile hazırlanan kırmızı pancar ekstresi P1 ve kırmızı pancar turşu suları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, medyum içeren kontrol grubunun sonuçları referans alınarak değerlendirilmiştir.

Sonuçlara bakıldığında (Tablo 3.10), % 0.05 asetik asitli su ile hazırlanan kırmızı pancar ekstresi P1'in en aktif ekstre olduğu, 48 saat sonunda 50 µg/ml konsantrasyonda % 95 hücre canlılığına sahipken, 100 µg/ml de hücre canlılığı yaklaşık yarı yarıya düşerek % 48.67'ye indiği tespit edilmiştir (Şekil. 3.9). P1 ekstresinin 800 µg/ml deki konsantrasyondaki hücre canlılığı turşuların hepsinden daha az (% 23.11) olduğu görülmüştür. Sitotoksosite için en aktif turşu örneği ise % 3 tuz, % 20 asetik asit içeren T6 ekstresidir (Şekil 3.9). T6 ekstresi 50 µg/ml konsantrasyonda kırmızı pancardan daha aktifken, sonraki konsantrasyonlarda % 0.05 asetik asitli su ile hazırlanan kırmızı pancar ekstresi P1 kadar hızlı hücre ölümü gerçekleştirememiş, 800 µg/ml de hücre canlılığı % 32.97 olarak tayin edilmiştir.

Tablo 3.10. *Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının CaCo-2 Kolon Kanseri Hücrelerinde 48 saat Sonra Ölçülen % Hücre Canlılık Değerleri*

EKSTRELER	% Hücre canlılık değerleri					
	Kontrol (%0.1 DMSO)	50 µg/ml	100 µg/ml	200 µg/ml	400 µg/ml	800 µg/ml
T1	100,00	89,82	85,12	44,28	44,42	33,31
T3	100,00	91,13	74,40	70,77	70,60	36,13
T4	100,00	94,42	74,51	64,72	43,46	38,76
T6	100,00	68,54	61,47	59,79	37,46	32,97
T7	100,00	90,18	64,27	59,39	40,38	37,58
T9	100,00	82,10	69,91	61,72	49,98	42,49
P1	100,00	95,06	48,67	28,81	31,20	23,11
P2	100,00	95,80	66,41	60,66	55,12	43,51



Şekil 3.10. Kırmızı Pancar Ekstreleri ve Turşularının CaCo-2 Kolon Kanseri Hücrelerinde 48 Saat Sonra Ölçülen % Hücre Canlılık Grafikleri

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, kırmızı pancar (*B. vulgaris* L.) sulu ve etanolü ekstraktları ile farklı NaCl ve asetik asit oranları içerecek şekilde hazırlanan kırmızı pancar turşu örneklerinin toplam fenolik madde, betalain miktarı ve toplam antioksidan kapasite ve sitotoksisite açısından sonuçları incelenmiştir.

Antioksidanlarca zengin bir kaynak olan kırmızı pancarın tüketimi, içindeki fenolik bileşikler sayesinde, oksidatif hasarı azaltarak, insanlarda yaşa bağlı olarak görülen kardiovasküler, dolaşım sistemi, sinir sistemi hastalıklarından ayrıca kanser ve diyabetten korumaya katkıda bulunmaktadır (Ravichandran vd., 2012, s. 16).

Tez çalışması kapsamında, öncelikle farklı NaCl ve asetik asit oranları ile yapılan turşu örneklerinin toplam fenolik madde miktarları kırmızı pancar ekstraktları ile karşılaştırılmıştır. P1 asetik asitle hazırlanan pancar ekstresinin (255,62 mg GAE/g ekstre), diğer ekstre P2 ve turşuların katı ve sıvılarından daha fazla fenolik madde içerdiği tespit edilmiştir. Taze kırmızı pancardaki toplam fenolik madde miktarının diğer örneklerden daha fazla olması ve fermentasyon sırasında fenolik madde miktarının azalmasının temel nedeninin polifenol oksidaz enzimi olduğu düşünülmektedir. Turşu yapımında bu enzimin aktivitesinin uygun NaCl miktarı ve asidite ile inhibe edilerek kontrol altına alınabileceği rapor edilmiştir (Güldiken vd., 2016, s. 3).

Turşu ekstraktlarına bakıldığında ise toplam fenolik madde değerleri birbirine yakın olmakla birlikte, % 3 tuz, % 20 asetik asit içeren turşuların katı kısımlarında (T5 ekstresi) toplam fenolik madde miktarının diğerlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. NaCl oranı arttığında veya azaldığında (% 1 veya % 5) fenolik madde miktarının az miktarda düştüğü belirlenmiştir. Vulic ve arkadaşlarının (2012, s. 673) yaptığı çalışmada, kırmızı pancardaki toplam fenolik madde miktarı, gallik asit eşdeğeri olarak kuru ağırlıkta 1.87-11.98 mg/g arasında bulunmuştur. Bu değerler bizim çalışmamızdaki toplam fenolik madde değerlerinin (Tablo 3.1) oldukça altındadır. Toplam fenolik madde içeriğinin büyük miktarı kabukta (% 50'si) bulunmakla beraber, sırasıyla tepe ve etli kısmında % 37 ve % 13 olarak bildirilmiştir (Kujala vd., 2000, s. 5339).

Fenolik asitler, bitkilerde hücre çeperindeki yapısal bileşenlere bağlı olarak bulunmaktadır. Pastörizasyon, fermentasyon ve dondurma gibi gıda işleme yöntemleri, bağlı fenolik asitlerin serbest hale geçmesine katkıda bulunurken (Kujala vd. 2000),

fermentasyon sırasında mikroorganizmalar tarafından üretilen β -glikozidaz gibi enzimlerin, serbest fenolik maddeleri katalizlemesiyle (Güldiken vd., 2016, s. 4) fenolik madde miktarında düşüş meydana gelmektedir. Fermentasyon süresine bağlı olarak bazı fitokimyasal maddelerin bu süreçte bozulabileceği ihtimali, düşen fenolik madde miktarı ile açıklanmaktadır (Jing vd., 2014, s. 9676).

Kırmızı pancar ekstreleri ve turşularında bulunan fenolik asitlerin analizinde, % 1 NaCl içeren turşu örneklerinde gallik, *p*-hidroksi benzoik, klorojenik, sirinjik, *p*-kumarik ve ferulik asit bulunurken, *p*-hidroksi benzoik asitin en fazla miktarda bulunan fenolik asit olduğu, % 3 NaCl içeren turşu grubunda yine gallik, *p*-hidroksi benzoik, klorojenik, sirinjik, *p*-kumarik ve ferulik asitler bulunurken, *p*-hidroksi benzoik asite ilaveten klorojenik asitinde en fazla miktarda bulunan fenolik asitler olduğu; % 5 NaCl içeren grupta ise gallik, *p*-hidroksi benzoik, klorojenik, kafeik, sirinjik, *p*-kumarik ve ferulik asitler bulunduğu görülmüştür. Vulic vd. (2012, s. 674) tarafından yapılan çalışmada kırmızı pancar ekstrelerinin *p*-hidroksibenzoik asit başta olmak üzere, ferulik, protokateşik, vanilik, sirinjik asit, sinamik asit, klorojenik asit ve kafeik asitleri içerdiği görülmektedir, bu sonuçlar çalışmamızla tamamen örtüşmektedir. Ayrıca, başka bir çalışmada ise eser miktarda kumarik asitlerin bulunduğu belirtilmiştir (Ravichandran vd., 2012, s. 17).

Kırmızı pancar kökleri, antioksidan ve serbest radikal süpürücü fonksiyonlara sahip betalainlerin kaynağı olarak kabul edilmektedir (Pavlov vd., 2005, s. 1531). Betain ve betalainin linoleik asit peroksidasyonunu ve LDL oksidasyonunu, tokoferol veya kateşin gibi diğer bilinen antioksidanlardan daha düşük konsantrasyonlarda inhibe etme kapasitesi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca betalainlerin, yaralanmalar ve bakteriyel sızmalar gibi zararlardan bitkileri koruduğu bilinmektedir (Vulic vd., 2012, s. 673). Gıda renklendiricisi olarak da kullanılan betalainlerin fonksiyonel gıda ve doğal antioksidan olarak sentetik antioksidanların yerine kullanılabileceği vurgulanmaktadır (Nemzer vd., 2011, s. 42).

Bitkide betalain miktarları, spektrofotometrik olarak ölçülen betaksantin ve betasiyanin miktarlarının toplanması ile hesaplanmaktadır. Bitki köklerinin boyutu, çeşidi, yetiştiği iklim koşulları ve tarım uygulamalarına göre betalain miktarlarının değiştiği bilinmektedir (Lee vd., 2014, s.1329).

Çalışmamızda, kırmızı pancar turşularının toplam betalain miktarlarına (Tablo 3.2) bakıldığında; % 5 tuz içeren (T7) turşuların betalain miktarlarının daha yüksek

olduğu görülmüştür (0.968 ± 0.02 mg/g ekstre). Aynı tuz oranında % 20 asetik asit içeren turşu çeşidi % 10'a göre daha yüksek betalain içermektedir (1.114 ± 0.08 mg/g, T9). Kırmızı pancar ekstrelerine baktığımızda ise % 2 sitrik asit içeren etanol ile hazırlanan P2 ekstresinin, % 0.05 asetik asit içeren su ile hazırlanan P1 ekstresinden daha fazla toplam betalain miktarına sahip olduğu görülmüştür. Farklı çalışmalarda betasiyanin miktarı taze kırmızı pancarda, 0.3 mg/g - 3.0 mg/g ekstre, betaksantin miktarı 0.2 mg/g - 1.4 mg/g ekstrede olmak üzere çok farklı oranlarda bulunmuştur (Czapski vd., 2009, s. 120). Ayrıca, sıcaklık, ısıtma işlemleri, pH ve ürünün nem miktarı, ışık ve oksijen gibi etkenlerin ve ağır metal katyonlarının varlığının betalainlerin stabilitesini etkilediği rapor edilmiştir (Nemzer vd., 2011, s. 45). Kırmızı pancarın içerdiği betalainin % 54'lük kısmının kabuğunda bulunduğu, taç kısmında % 32, etli kısmında % 14 kadar bulunduğu (Kujala vd., 2000, s. 5339) düşünüldüğünde, bu çalışmada kırmızı pancar ekstreleri ve turşularında toplam betalain miktarlarının diğer çalışmalara göre düşük çıkmasının nedeni geleneksel turşu hazırlama yöntemindeki kabuk soyulma işleminden ve pancar yetiştirme koşullarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

DPPH serbest radikal süpürücü aktivite sonuçlarına göre (Tablo 3.5) taze kırmızı pancardan hazırlanan P1 ekstresinin % inhibisyon değeri (% 70.72) standart olarak kullanılan antioksidan BHT'nin % inhibisyon değerinden (% 62.66) daha yüksek bulunurken; P2 ekstresinde de belirgin aktivite görülmüştür. Bunun yanında turşu örneklerinde ise kayda değer bir aktivite gözlenmezken, % 3 NaCl oranına sahip T6 ve % 1 NaCl oranına sahip T3'ün diğer turşu örneklerinden daha fazla DPPH üzerinden hesaplanan radikal süpürücü etki gösterdiği görülmüştür. En düşük antiradikal aktivite gösteren turşu örneği % 1 NaCl ve % 10 asetik asit içeren T1 turşu suyu (1.64 ± 0.03) olmuştur.

Canadanovic-Brunet vd. (2011, s. 581) yaptığı çalışmada, kırmızı pancarın DPPH serbest radikal süpürücü aktivite EC_{50} değeri 0.133-0.275 mg/ml bulunurken, fenolik madde miktarı, flavonoidler, betaksantin ve DPPH süpürücü aktivite arasında son derece anlamlı bir korelasyon olduğu gözlenmiştir.

Vulic vd. (2012, s. 674) kırmızı pancar çeşitlerinin antiradikal etkinliklerini araştırmış, EC_{50} değerlerinin 0.183-0.333 mg/ml aralığında tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise, vakumlama, kaynatma, kavurma, mikrodalga fırında ısıtma gibi yöntemlerle hazırlanan kırmızı pancar örneklerinde DPPH ve TEAC sonuçlarında

değişkenlik görülürken, yüksek vakumda DPPH aktivite sonuçlarının % 13, TEAC sonuçlarının ise % 11 arttığı tespit edilmiştir (Ravichandran vd., 2012, s. 19).

Kırmızı pancarın taze, kaynatılmış, kurutulmuş, turşu, meyve suyu, reçel, püre formunda kimyasal içeriklerinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise toplam antioksidan değerlerini yansıtan DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC deney sonuçlarına göre kırmızı pancarın turşu ve meyve suyu şeklinde ürünlerinin antioksidan değerlerinde diğer yöntemlere göre önemli miktarda azalma olduğu rapor edilmiştir (Güldiken vd., 2016, s. 8).

β -karoten-linoleik asit sisteminde antioksidan aktivite tayini sonuçlarına göre P1 taze pancar ekstresi, sentetik antioksidan BHT (%84,50)'nin yaklaşık yarısı kadar aktivite gösterirken, %5 tuz, % 20 asetik asit içeren T9 örneği % 52,51, %3 tuz, % 20 asetik asit içeren T6 turşu örneği ise % 43.52 oranında aktivite göstermiştir.

Kırmızı pancar ve turşularının redükleyici güç ölçümü ile antioksidan aktivite sonuçları Tablo 3.9'da verilmiştir. Sonuçlar, BHT ve askorbik asitin sonuçları ile karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu görülmektedir. Kırmızı pancarın P1 ekstresinin EC_{50} değeri 0.46 mg/ml olarak belirlenmişken, farklı tuz ve asit oranları ile hazırlanan turşu örneklerinde en iyi sonuç T1'de (%1 NaCl, %10 asetik asit) EC_{50} değeri 8.47 olarak tespit edilmiştir. Ekstre ve turşu sularının redükleyici güç etkilerinin zayıf olduğu görüşmüştür.

Ravichandran vd. (2012, s. 17) tarafından yapılan çalışmada kırmızı pancarın Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC); soğan, sarımsak, brüksel lahanası, pırasa, lahana, patates ve bezelyeden daha aktif bulunmuş, kırmızı pancarın potansiyel antioksidan kaynağı olduğu rapor edilmiştir. Tez çalışmamızdaki TEAC sonuçlarına göre Troloxun yüksek aktivite gösterdiği konsantrasyonda kırmızı pancar ekstreleri (P1-P2) ve turşu örnekleri aktivite göstermezken, konsantrasyon arttırıldıkça etki görülmeye başlanmıştır. Tablo 3.8'de verilen sonuçlar 10 mg/ml konsantrasyona sahip sonuçlar olmakla birlikte bu konsantrasyonda sadece % 0.05 asetik asit ile hazırlanan kırmızı pancar ekstresinin (P1) % inhibisyon değeri kayda değer olarak bulunmuştur. Turşu örneklerinin aktivitesi ise 10 mg/ml 'ye çıkılmasına rağmen düşük olarak tespit edilmiştir.

Sonuçlarımıza göre; kırmızı pancar ekstreleri ve turşu örneklerinin antioksidan kapasitelerini tayin etmek için yapılan deneylerde, NaCl oranı % 3-5 olan turşuların diğerlerine göre daha aktif olduğu, ayrıca pancar ekstrelerine göre turşularda daha

düşük aktivite bulunmasının başlıca nedeni halk arasında turşu hazırlanırken yumrularının kabuklarının soyulması, çalışmamızda turşu örneklerinin bu şekilde hazırlanması bizce en önemli nedendir. Bu bağlamda diğer neden de antioksidan aktiviteden sorumlu fenolik bileşiklerin fermentasyon sırasında hızla bozunması olarak görülmektedir (http-10). Czapski vd., kırmızı pancarın antioksidan etkisinin içindeki kırmızı pigmentler olan betalainlerin miktarına bağlı olduğunu vurgulamıştır (Czapski vd., 2009, s. 120). Halbuki, tez çalışması kapsamında bu sebeple %2 sitrik asitli etanol ile hazırladığımız P2 ekstresinde P1 ekstresi kadar antioksidan aktivite görülmemiştir.

Kırmızı pancar ve turşularının metal şelatlayıcı antioksidan aktivite sonuçlarının referans madde EDTA'ya göre çok düşük olduğu görülmüştür. Bu nedenle kırmızı pancar yumrularının metal şelatlayıcı kapasitesi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Tez kapsamında, CaCo2 kolon kanseri hücrelerinde MTT yöntemi ile kırmızı pancar ekstreleri ve turşularının antiproliferatif etkileri araştırılmış, yine % 0.05 asetik asitli kırmızı pancar ekstresi P1 diğer ekstre ve turşu sularından daha aktif bulunmuştur. P1 ekstresinin 800 µg/ml konsantrasyondaki hücre canlılığı P2 ekstresi ve turşuların hepsinden daha az (% 23.11) olarak tespit edilmiştir. Turşu sularından T6 (%3 tuz, %20 asetik asit içeren) polifenolik bileşenlerce zengin %0.05 asetik asitli su ile hazırlanan kırmızı pancar ekstresi P1 kadar hızlı hücre ölümü gerçekleştirememiş, 800 µg/ml de hücre canlılığı % 32.97 olarak tayin edilmiştir. Ayrıca, farklı konsantrasyonlarda asit ve tuz karışımlarıyla hazırlanan diğer turşu sularının hücre canlılık performansları en yüksek konsantrasyon 800 µg/ml de % 32.97-38.76 olarak gözlenmiştir.

Deney sonuçları değerlendirildiğinde, üç farklı tuz oranı ile yapılan bu çalışmada % 3 NaCl içeren turşuların diğerlerinden toplam fenolik madde, toplam antioksidan kapasite ve sitotoksosite sonuçları ve betalain miktarları açısından daha iyi olduğu görülmektedir. Ayrıca geleneksel yöntemlerle hazırlanan turşuların, kırmızı pancarın antioksidan değerini ve sitotoksitesini arttırmak için fermentasyon işleminin uygun bir yöntem olmadığı da görülmüştür.

Fermente ürünlerden olan turşunun geleneksel yapımında NaCl oranının %15-%20 aralığında olduğundan, kan basıncında yükselmelere neden olması, damar sistemine verdiği zararlar tüketimini sınırlandırmaktadır. Oysa ki laktik asit fermentasyonu ile sindirim sistemi ve bağışıklık sistemi için faydalar içeren, probiyotik ve prebiyotik gıda olan, sebzelerden yapıldığı için vitamin, mineral içeriği yüksek,

antioksidan değerlere sahip olan turşunun % 3 NaCl oranı içerecek şekilde hazırlanması bu zararlarını ciddi boyutlarda engelleyecek, faydalarını açığa çıkaracaktır.

Kırmızı pancarın tüketilmeyen kabuk kısımlarının gıda veya ilaç endüstrisinde, kozmetik sanayinde, fonksiyonel gıda katkısı, boyar madde ve/veya doğal bir antioksidan kaynağı olarak kullanımını sağlamak, içindeki bileşikler ve antioksidan miktarı ile fonksiyonel besin olan kırmızı pancarı tüketirken veya işlerken kabuğunun ayrılmasından dolayı kaybolan antioksidan değerleri ve betalainleri değerlendirebilmek için uygun bir fırsat olacaktır.

Hastalıkları iyileştirmek ve hafifletmek, hastalıklardan korunmak, tedaviye yardımcı olmak için drogları ve droglardan hazırlanan preparatları kullanma yoluyla uygulanan tamamlayıcı tedavi şekli fitoterapi için kırmızı pancar iyi bir kaynak, düşük tuz oranlı turşuları ise tüketimi teşvik edilen fonksiyonel gıda ve probiyotik olarak değerlendirilmelidir.

KAYNAKÇA

- Abdel-Salam, O.M., Youness, E.R., Mohammed, N.A., Youssef Morsy, S.M., Omara, E.A. ve Sleem, A.A. (2014). Citric acid effects on brain and liver oxidative stress in lipopolysaccharide-treated mice. *J. Med. Food*, 17 (5), 588-598.
- Aellen, P. (1967) In P. H. Davis "Chenopodiaceae" in Flora of Turkey and Eastern Islands, Edinburgh University Press, II, 299-300.
- Ahmad, F.H.B. (2012). The effect of pickling on total phenolic contents antioksidant activity, nutritional contents and colour of *Cleome gynandra*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Selangor. Food Science and Technology Faculty of Applied Sciences University Teknologi Mara.
- Aktan, N., Kalkan, H. ve Yücel, U. (1999). *Turşu Teknolojisi*. İzmir: Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksekokulu Yayınları.
- Alard, D., Wray, V., Grotjahn, L., Reznik, H. ve Strack, D. (1985). Neobetanin: isolation and identification from *Beta vulgaris*. *Phytochem.*, 24 (10), 2383-2385.
- Alkan-Yılmaz, Ö. (2015). Yaşlılarda sağlıklı beslenme-probiyotikler. *Ege Tıp Dergisi*, 54 (Ek Sayı), 16-21.
- Bae, Y.M. ve Lee, S.Y. (2015). Combined effects of organic acids and salt depending on type of acids and pathogens in laboratory media and acidified pickle. *J. Appl. Microbiol.*, 119 (2), 455-464.
- Balasundram, N., Sundram, K. ve Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plant and agri-industrial byproducts: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.*, 99 (1), 191-203.
- Bator, K.M., Blaszczyk, A., Czyzniewski, M. ve Kachlicki, P. (2016). Characterisation and identification of triterpene saponins in the roots of red beets (*Beta vulgaris* L.) using two HPLC-MS systems. *Food Chem.*, 192, 979-990.
- Bengmark, S. (2013). Nutrition of the critically Ill-A 21st-Century Perspective. *Nutrients*, 5 (1), 162-207.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. ve Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 28, 25-30.
- Breidt, F.J., Hayes, J.S. ve McFeeters, R.F. (2004). Independent effects of acetic acid and pH on survival of *Escherichia coli* in simulated acidified pickle products. *J. Food Prot.*, 67 (1), 12-18.
- Cai, Y., Sun, M. ve Corke, H. (2005). HPLC characterization of betalains from plants in the Amaranthaceae. *J. Chromatogr. Sci.*, 43 (9), 454-460.

- Cai, Y., Sun, M., Schliemann, W. ve Corke H. (2001). Chemical stability and colorant properties of betaxanthin pigments from *Celosia argentea*. *J. Agric. Food Chem.*, 49 (9), 4429-4435.
- Campbell, A.W. (2014). Autoimmunity and the gut. *Autoimmune Dis.*, 2014, 152428.
- Canadanovic-Brunet, J.M., Savatovic, S.S., Cetkovic, G.S., Vulic, J.J., Dj Ilas, S.M., Markov, S.L ve Cvetkovic, D.D. (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of beet root pomace extracts. *Czech J. Food Sci.*, 29 (6), 575–585.
- Cani, P.D., Lecourt, E., Dewulf, E.M., Sohet, F.M., Pachikian, B.D., Naslain, D., De Backer, F., Neyrinck, A.M. ve Delzenne, N.M. (2009). Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *Am. J. Clin. Nutr.*, 90 (5), 1236-1243.
- Cardoso-Ugarte, G.A. Sosa-Morales, M.E. Ballard, T. ve San Martín-Gonzalez, M.F. (2014). Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). *Food Sci. Tech.*, 59 (1), 276-282.
- Castellanos-Santiago E. ve Yahia, E.M. (2008). Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 5758–5764.
- Cencic, A. ve Chingwaru, W. (2010). The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health. *Nutr.*, 2 (6), 611–625.
- Chavhan, D.M., Hazarika, M., Brahma, M.L., Hazarika, R.A. ve Rahman, Z. (2015). Effect of incorporation of fermented bamboo shoot on physicochemical and microbial quality of pork pickle. *J. Food Sci. Technol.*, 52 (2), 1223-1227.
- Chen, C.Y., Lapsley, K. ve Blumberg, J. (2006). A nutrition and health perspective on almonds. *J. Sci. Food Agri.*, 86 (14), 2245-2250.
- Chen, H. J. ve Ho, C. T. (1997). Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds *J. Agric. Food Chem.*, 45 (7), 2374-2378.
- Clifford, T., Howatson, G., West, D.J. ve Stevenson, E.J. (2015). The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutr.*, 7 (4), 2801-2822.
- Coşkun, F. (2006). Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular. *Gıda Teknol. Elektr. Der.*, 2, 27-33. (15.03.2016).
- Coşkun, O., Kanter, M., Korkmaz, A. ve Oter, S. (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacol. Res.*, 51 (2), 117-123.

- Coşkun, T., (2007). Pro-, pre- ve sinbiyotikler. *Türkiye Klinikleri J. Pediatr. Sci.*, 3 (6), 82-98.
- Czapski, J., Mikołajczyk, K. ve Kaczmarek M. (2009). Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of its betalain pigments. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 59 (2), 119-122.
- Çetin B. (2011). Production of probiotic mixed pickles (tursu) and microbiological properties. *African J. Biotechnol.*, 10 (66), 14926-14931.
- Dale, R.B., Leaver-Dunn, D. ve Bishop, P. (2003). A compositional analysis of a common acetic acid solution with practical implications for ingestion. *J. Athl. Train.*, 38 (1), 57-61.
- Das, L. Bhaumik, E. Raychaudhuri, U. ve Chakraborty, R. (2012). Role of nutraceuticals in human health. *J. Food Sci. Technol.*, 49 (2), 173-183.
- Dayısoylu, K.S., Gezginç, Y. ve Cingöz, A. (2014). Fonksiyonel gıda mı, fonksiyonel bileşen mi? Gıdalarda fonksiyonellik. *Gıda*, 39 (1), 57-62.
- De Jesus Raposo, M.F., De Morais, A.M. ve De Morais, R.M. (2016). Emergent sources of prebiotics: seaweeds and microalgae. *Mar. Drugs.*, 14 (2), 1-27.
- Dikmen, M., Öztürk, N. ve Öztürk, Y. (2011a). The antioxidant potency of *Punica granatum* L. fruit peel reduces cell proliferation and induces apoptosis on breast cancer. *J. Med. Food.*, 14 (12), 1638-1646.
- Dikmen, M., Cantürk, Z., Öztürk, Y. ve Tunalı, Y. (2011b). Investigation of the apoptotic effect of curcumin in human leukemia HL-60 cells by using flow cytometry. *Cancer Biother. Radiopharm.*, 25 (6), 749-755.
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. ve Almeida, L.M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate, and 5 aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.*, 315 (1), 161-169.
- Dörnenburg, H. ve Knorr, D. (1996). Generation of colors and flavors in plant cell and tissue cultures. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 15(2), 141-168.
- Fernandez-Lopez, J.A., Angosto, J.M., Gimenez, P.J. ve Leon, G. (2013). Thermal stability of selected natural red extracts used as food colorants. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 68 (1), 11-17.
- Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO) Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. (2002). Canada. www.who.int/foodsafety/fs.../en/probiotic_guidelines.pdf?
- Georgiev, V.G., Weber, J., Kneschke, E.M., Denev, P.N., Bley, T. ve Pavlov, A.I. (2010). Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact

plants and hairy root cultures of the redbeetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit dark red. *Plant Foods Hum Nutr.*, 65 (2), 105-111.

Gill, H.S. ve Guarner, F. (2004). Probiotics and human health: a clinical perspective. *Postgrad Med. J.*, 80 (947), 516-526.

Güldiken, B., Toydemir, G., Memis, K.N., Okur, S., Boyacioglu, D. ve Capanoglu, E. (2016). Home-processed red beetroot (*Beta vulgaris* L.) Products: Changes in Antioxidant Properties and Bioaccessibility. *Int. J. Mol. Sci.*, 17, 858.

Güven, A. ve Gülmez, M. (2006). Fonksiyonel gıdalar ve sağlıkla ilişkisi. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 12 (1), 91-96.

Halliwell, B. (2002). Effect of diet on cancer development: is oxidative DNA damage a biomarker? *Free Radic Biol Med.*, 32 (10), 968-974.

Hansen, T.H., Gobel, R.J., Hansen, T. ve Pedersen, O. (2015). The gut microbiome in cardio-metabolic health. *Genome Med.*, 7 (1), 33, 1-16.

Heller, K.J. (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *Am. J. Clin. Nutr.*, 73 (2), 374-379.

Horakova, K., Sovcikova, A., Seemannova, Z., Syrova, D., Busanyova, K., Drobna, Z. ve Ferencik, M. (2001). Detection of drug-induced, superoxide-mediated cell damage and its prevention by antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.*, 30 (6), 650-664.

http-1 Report on Functional Foods. http://www.fao.org/ag/agn/index_en.stm (10.5.2016)

http-2 Health Benefits of Pickles <https://www.organicfacts.net/health-benefits/other/health-benefits-of-pickles.html>. (07.09.2016)

http-3 Are Pickles Good For You <http://www.newhealthadvisor.com/Are-Pickles-Good-For-You.html> (10.10.2016)

http-4 Kırmızı Pancar (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*. var. *conditiva*) Liyofilize Su Ekstraktının Bazı Kalite Özellikleri <https://www.researchgate.net/.../560528d108aeb5718ff04925> (09.09.2016)

http-5 The Plant List <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=beta> (Erişim Tarihi: 10.10.2016)

http-6 Fenolik Bileşikler http://www.food.hacettepe.edu.tr/turkish/ouyeleri/gmu428/bilesenler_2_fenolikler.pdf (06.09.2016)

- http-7 National Nutrient Database for Standard Reference Release 28, <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2863?fgcd=&manu=&facet=&format=&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=Beets>, United States Department of Agriculture. (12.03.2016)
- http-8 <http://www.pancar.org/pancarin-faydalari.html> (14.10.2016)
- http-9 Beetroot, <https://www.drugs.com/npp/beetroot.html> (10.10.2016)
- http-10 <http://adudspace.adu.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11607/1246/TEZ%C4%B0M.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (27.09.2016)
- Ibdah, M., Krins, A., Seidlitz, H. K., Heller, W., Strack, D. ve Vogt, T. (2002). Spectral dependence of flavonol and betacyanin accumulation in *Mesembryanthemum crystallinum* under enhanced ultraviolet radiation. *Plant, Cell and Env.*, 25 (9), 1145-1154.
- Iwashina, T., Ootani, S. ve Hayashi, K. (1988). On the pigmented spherical bodies and crystals in tepals of cactaceous species in reference to the nature of betalains or flavonols. *J. Plant Res.*, 101 (2), 175-184.
- İşleroğlu, H., Yıldırım, Z. ve Yıldırım, M. (2005). Fonksiyonel bir gıda olarak keten tohumu. *GOÜ Ziraat Fak. Derg.*, 22 (2), 23-30.
- Jin, S.K., Choi, J.S., Moon, S.S., Jeong, J.Y. ve Kim, G.D. (2014). The assessment of red beet as a natural colorant and evaluation of quality properties of emulsified pork sausage containing red beet powder during cold storage. *Korean J Food Sci Anim. Resour.*, 34 (4), 472-481.
- Jing, P., Song, L.H., Shen, S.Q., Zhao, S.J., Pang, J. ve Qian, B.J. (2014). Characterization of phytochemicals and antioxidant activities of red radish brines during lactic acid fermentation. *Molecules.*, 19 (7), 9675-9688.
- Kabak, B. ve Dobson, A.D. (2011). An introduction to the traditional fermented foods and beverages of Turkey. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 51 (3), 248-260.
- Kallus, S.J. ve Brandt, L.J. (2012). The intestinal microbiota and obesity. *J. Clin. Gastr.*, 46 (1), 16-24.
- Kapadia, G.J., Rao, G.S., Ramachandran, C., Iida, A., Suzuki, N. ve Tokuda, H.J. (2013). Synergistic cytotoxicity of red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract with doxorubicin in human pancreatic, breast and prostate cancer cell lines. *J. Complement Integr. Med.*, 10 (1), 1-10.
- Karaçıl, M.Ş. ve Acar-Tek, N. (2013). Dünyada üretilen fermente ürünler: Tarihsel süreç ve sağlık ile ilişkileri. *UÜ. Zir. Fak. Derg.*, 27 (2), 163-173.
- Kazimierczak R., Hallmann E., Lipowski J., Drela N., Kowalik, A., Pussa, T., Matt, D., Luik, A., Gozdowski D. ve Rembiałkowska E. (2014). Beetroot (*Beta vulgaris*

- L.) and naturally fermented beetroot juices from organic and conventional production: metabolomics, antioxidant levels and anticancer activity. *J. Sci. Food Agric.*, 94, 2618–2629.
- Kharat, M.M., Adiani, V., Variyar, P., Sharma, A. ve Singhal, R.S. (2016). Antioxidant compounds in traditional Indian pickles may prevent the process-induced formation of benzene. *J. Food Prot.*, 79 (1), 123-131.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K. ve Taniguchi, H. (2002). Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *J. Agr. Food Chem.*, 50, 2161-2168.
- Klewicka, E., Nowak, A., Zdunczyk, Z., Juskiewicz, J. ve Cukrowska, B. (2012). Protective effect of lactofermented red beetroot juice against aberrant crypt foci formation, genotoxicity of fecal water and oxidative stress induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b] pyridine in rats model. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 34 (3), 895-904.
- Koleva, I.I., Van Beek, R.A., Linssen, J.P.H., De Groot, A. ve Evstatieva, L.N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparison study on three testing methods. *Phytochem. Anal.*, 13, 8-17.
- Krajka-Kuzniak, V., Szaefer, H., Ignatowicz, E., Adamska, T. ve Baer-Dubowska, W. (2012). Beetroot juice protects against N-nitrosodiethylamine-induced liver injury in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 50 (6), 2027-2033.
- Kujala, T.S., Loponen, J.M., Klika, K.D. ve Pihlaja K. (2000). Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: Distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 48 (11), 5338-5342.
- Kujala, T.S., Loponen, J. ve Pihlaja, K. (2001). Betalains and phenolics in red beetroot (*Beta vulgaris*) peel extracts extraction and characterisation. *Z. Naturforsch.*, 56 (5-6), 343-348.
- Kujala, T.S., Vienola, M.S., Klika, K.D., Loponen, J.M. ve Pihlaja, K. (2002). Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. *Eur. Food Res. Technol.*, 214 (6), 505-510.
- Kulisić, T., Radonić, A., Katalinić, V., Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioksidative activity of oregano essential oil. *Food Chem.*, 85, 633-640.
- Kumar, S. ve Pandey, A.K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids. *Sci. World J.*, 2013, 162750.
- Lee, E.J., An, D., Nguyen, C.T.T., Patil, B.S., Kim, J. ve Yoo, K.S. (2014). Betalain and betaine composition of greenhouse- or field-produced beetroot (*Beta vulgaris* L.) and inhibition of HepG2 cell proliferation. *J. Agric. Food Chem.*, 62 (6), 1324-1331.

- Lee, J., Durst, R.W. ve Wrolstad, R.E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *J. AOAC Int.*, 88(5), 1269-1278.
- Lee, J.H., Son, C.W., Kim, M.Y., Kim, M.H., Kim, H.R., Kwak, E.S., Kim, S. ve Kim, M.R. (2009). Red beet (*Beta vulgaris* L.) leaf supplementation improves antioxidant status in C57BL/6J mice fed high fat high cholesterol diet. *Nutr. Res. Pract.*, 3 (2), 114-121.
- Lee, Y., Yen, M. ve Mau, J. (2007). Antioxidant properties of various extracts from *Hypsizigus marmoreus*, *Food Chem.*, 104 (1), 1-9.
- Lu, X., Wang, Y. ve Zhang, Z. (2009). Radioprotective activity of betalains from red beets in mice exposed to gamma irradiation. *Eu J. Pharmacol.*, 615 (1-3), 223-227.
- Macheix, J.J. ve Fleuriet, A. (1998). A phenolic acids in fruit. New York: Marcel Dekker. 35-39.
- Manning, T.S. ve Gibson, G.R. (2004). Microbial-gut interactions in health and disease. Prebiotics. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, 18 (2), 287-298.
- Medic-Saric, M., Rastija, V., Bojic, M. ve Males, Z. (2009). From functional food to medicinal product: Systematic approach in analysis of polyphenolics from propolis and wine. *Nutr. J.*, 8-33.
- Meneghin, F., Fabiano, V., Mameli, C. ve Zuccotti, G.V. (2012). Probiotics and atopic dermatitis in children. *Pharmaceuticals (Basel)*, 5 (7), 727-744.
- Meral, R. ve Doğan, İ.S. (2009). Fonksiyonel öneme sahip doğal bileşenlerin unlu mamüllerin üretiminde kullanımı. *Gıda*, 34 (3), 193-198.
- Merreddy, R., Chan, A., Fanning, K., Nirmal, N. ve Sultanbawa, Y. (2017). Betalain rich functional extract with reduced salts and nitrate content from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) using membrane separation technology. *Food Chem.*, 215, 311-317.
- Miller, H.E., Rigelhof, F., Marqart, L., Prakash, A. ve Kanter, M. (2000). Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *J. Am. Coll. Nutr.*, 19 (3), 312-319.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *J. Immunol. Methods*, 65 (1-2), 55-63.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26 (2), 211-219.

- Mroczek, A., Kapusta, I., Janda, B. ve Janiszowska W. (2012). Triterpene saponin content in the roots of red beet (*Beta vulgaris* L.) Cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, 60 (50), 12397–12402.
- Nazlıkul, H. (2012). Probiyotiklerin İnsan Sağlığındaki Önemi. İstanbul: Alfa Yayınları.
- Nemzer, B., Pietrzkowski, Z., Sporna, A., Stalica, P., Thresher W., Michałowski T. ve Wybraniec S. (2011). Betalainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. *Food Chem.* 127 (1), 42–53.
- Ninfali, P. ve Angelino, D. (2013). Nutritional and functional potential of *Beta vulgaris* cicla and rubra. *Fitoterapia*, 89, 188-199.
- Nowacki, L., Vigneron, P., Rotellini, L., Cazzola, H., Merlier, F., Prost, E., Ralanairina, R., Gadonna, J.P., Rossi, C. ve Vayssade, M. (2015). Betanin-enriched red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract induces apoptosis and autophagic cell death in MCF-7 cells. *Phytother Res.*, 29 (12), 1964-1973.
- Oda, K., Imanishi, T., Yamane, Y., Ueno, Y. ve Mori, Y. (2014). Bio-functional pickles that reduce blood pressure of rats. *Biosci Biotechnol. Biochem.*, 78 (5), 882-890.
- Orel, R. ve Trop, T.K. (2014). Intestinal microbiota, probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.*, 20 (33), 11505–11524.
- Orhan, I. ve Üstün, O. (2011). Determination of total phenol content, antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibition in selected mushrooms from Turkey. *J. Food Compos. Analys.*, 24 (3), 386-390.
- Özçelik, F. ve İç, E. (2000). Hıyar Turşularının düşük tuz konsantrasyonlarında depolanması üzerine bazı koşulların etkileri. *Tarım Bilimleri Derg.*, 6 (4), 115-119.
- Öztürk, N., Tunçel, M. ve Tunçel, N.B. (2007). Determination of phenolic acids by a modified HPLC: its application to various plant materials. *J. Liq. Chromatogr.*, 30, 587-596.
- Page, L. (1999). Detoxification. USA: Healthy Healing Publications.
- Parnell, J.A. ve Reimer, R.A. (2012). Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter *bacteroidetes* and *firmicutes* in lean and obese JCR:LA-cp rats. *Br. J. Nutr.*, 107 (4), 601-613.
- Pavlov, A., Georgiev, V. ve Ilieva M. (2005). Betalain biosynthesis by red beet (*Beta vulgaris* L.) hairy root culture. *Process Biochem.* 40 (5), 1531–1533.
- Perez-Diaz, I.M. ve McFeeters, R.F. (2010). Preservation of acidified cucumbers with a natural preservative combination of fumaric acid and allyl isothiocyanate that target lactic acid bacteria and yeasts. *J. Food Sci.*, 75 (4), 204-208.

- Perez-Diaz, I.M., McFeeters, R.F., Moeller, L., Johanningsmeier, S.D., Hayes, J., Fornea, D.S., Rosenberg, L., Gilbert, C., Custis, N., Beene, K. ve Bass, D. (2015). Commercial scale cucumber fermentations brined with calcium chloride instead of sodium chloride. *J. Food Sci.*, 80 (12), 2827-2836.
- Pinho, O., Ferreira, I.M.P.L.V.O., Oliveira, M.B.P.P. ve Ferreira, M.A. (2000). Quantification of synthetic phenolic antioxidants in liver pâtés. *Food Chem.*, 68, 353-357.
- Ravichandran, K., Ahmed, A., Knorr, D., Smetanska, I. (2012). The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of red beet. *Food Res. Inter.* 48 (1), 16-20.
- Ravichandran, K., Thaw Saw, N.M.M., Mohdaly, A.A.A., Gabr, A.M.M., Kastell, A., Riedel, H., Cai, Z., Knorr, D. ve Smetanska, I. (2013). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Res. International*, 50, 670-675.
- Ravichandran, K. Palaniraj, R. Saw, N.M. Knorr, D. ve Smetanska, I. (2014). Effects of different encapsulation agents and drying process on stability of betalains extract. *J. Food Sci. Technol.*, 51 (9), 2216-2221.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26 (9-10), 1231-1237.
- Roberfroid, M. (2002). Functional food concept and its application to prebiotics. *Dig Liver Dis.* 34 (2), 105-110.
- Rodriguez-Delgado, M.A., Malovana, S., Perez, J.P., Borges, T. ve Garcia-Montelongo, F.J. (2001). Separation of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography with absorbance and fluorimetric detection. *J. Chromatogr. A.*, 912(2), 249-257.
- Roy, K., Gullapalli, S., Chaudhuri, U.R. ve Chakraborty, R. (2004). The use of a natural colorant based on betalain in the manufacture of sweet products in India. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 39 (10), 1087-1091.
- Sağdıç, O., Küçüköner, E. ve Özçelik, S. (2004). Probiyotik ve prebiyotiklerin fonksiyonel özellikleri. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 35 (3-4), 221-228.
- Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H. ve Kanazawa, K. (2003). Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. *J Agric Food Chem.*, 51, 571-581.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.* 76, 270-276.

- Senok, A.C., İsmail, A.Y. ve Botta, G.A. (2005). Probiotics: facts and myths. *Clin. Microbiol. Infect.*, 11 (12), 958–966.
- Shahidi, F. (2000). Antioxidants in foods and food antioxidants. *Nahrung*. 44, 158-163.
- Shahidi, F. ve Naczki, M. (1995). *Food Phenolics*. USA: Taylor and Francis.
- Shon, M.Y., Kim, T.H. ve Sung, N.J. (2003). Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chem.*, 82 (4), 593-597.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. ve Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymol.*, 299, 152-178.
- Sporna-Kucab, A., Garrard, I., Ignatova, S. ve Wybraniec, S. (2015). New solvent systems for gradient counter-current chromatography in separation of betanin and its derivatives from processed *Beta vulgaris* L. juice. *J. Chromatogr A.*, 1380, 29-37.
- Stafford, H.A. (1994). Anthocyanins and betalains: evolution of the mutually exclusive pathways. *Plant Sci.*, 101, 91-98.
- Stintzing, F.C., ve Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends Food Sci. Technol.*, 15 (1), 19-38.
- Strack, D. Vogt, T. ve Schliemann, W. (2003). Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, 62 (3), 247-269.
- Swain, M.R., Anandharaj, M., Ray, R.C., Rani, R.P. (2014). Fermented fruits and vegetables of Asia: A potential source of probiotics. *Biotech. Res. Inter.*, 2014, 250424.
- Szaefer, H., Krajka-Kuzniak V., Ignatowicz, E., Adamska, T. ve Baer-Dubowska, W. (2014). Evaluation of the effect of beetroot juice on DMBA-induced damage in liver and mammary gland of female Sprague-Dawley rats. *Phytother Res.*, 28 (1), 55-61.
- Tamang, J.P. ve Kailasapathy, K. (2010). *Fermented foods and beverages of the World*. New York: CRC Press.
- Tanker N., Koyuncu M., Coşkun M. (2007). *Farmasötik Botanik*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Terzioğlu, G., Keskin, A.Ü. ve Yanıkkaya Demirel, G. (2013). Hücre proliferasyonu ölçüm yöntemleri ve çeşitli ticari proliferasyon kitlerinin karşılaştırılması. *Türk J. Immunol.*, 1(3), 74-89.

- Tokunaga, T. (2004). Novel physiological function of fructooligosaccharides. *Biofactors.*, 21 (1-4), 89-94.
- Tomas-Barberan, F.A., Selma, M.V. ve Espin, J.C. (2016). Interactions of gut microbiota with dietary polyphenols and consequences to human health. *Curr Opin Clin. Nutr. Metab. Care.* 19 (6), 471-476.
- Vulic, J., Canadanovic-Brunet, J., Cetkovic, G., Tumbas, V., Djilas, S., Cetojevic-Simin, D. ve Canadanovic, V. (2012). Antioxidant and cell growth activities of beet root pomace extracts. *J. Func.Foods*, 4, 670-678.
- Wettasinghe, M. ve Shahidi, F. (1999). Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted Borage (*Borago officinalis* L.) Seeds, *Food Chem.*, 67, 399-414.
- Wootton-Beard, P.C., Brandt, K., Fell, D., Warner, S. ve Ryan, L. (2014). Effects of a beetroot juice with high neobetanin content on the early-phase insulin response in healthy volunteers. *J. Nutr. Sci.*, 3, e9, 1-9.
- Wruss, J., Waldenberger, G., Huemer, S., Uygun, P., Lanzerstorfer, P., Müller, U., Hoglinger, O. ve Weghuber, J. (2015). Compositional characteristics of commercial beetroot products and beetroot juice prepared from seven beetroot varieties grown in Upper Austria. *J. Food Composition and Analy.*, 42, 46–55.
- Wu, X., Cao, G. ve Prior, R.L. (2002). Absorption and metabolism of anthocyanins in elderly women after consumption of elderberry or blueberry. *J. Nutr.*, 132(7), 1865-1871.
- Wyler, H. (1969). Die Batalaine. *Chemie.*, 3 (5), 146-151.
- Yang, G., Jiang, Y., Yang, W., Du, F., Yao, Y., Shi, C. ve Wang, C. (2015). Effective treatment of hypertension by recombinant *Lactobacillus plantarum* expressing angiotensin converting enzyme inhibitory peptid. *Microb. Cell. Fact.*, 14, 202, 1-9.
- Yu, J., Gao, W., Qing, M., Sun, Z., Wang, W., Liu, W., Pan, L., Sun, T., Wang, H., Bai, N. ve Zhang, H. (2012). Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles in Sichuan, China. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 58, 163-172.