

**BESİNSEL LİFLERE BAĞLI BİYOAKTİF MADDELERİN
ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ VE REJENERASYON
DAVRANIŞININ QUENCHER METODUYLA
BELİRLENMESİ**

**DETERMINATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY AND
REGENERATION BEHAVIOUR OF BIOACTIVE
MATERIALS BOUND TO DIETARY FIBERS WITH
QUENCHER PROCEDURE**

ECEM EVRİM ÇELİK

Prof. Dr. VURAL GÖKMEN

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

GIDA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2013

ECEM EVRİM ÇELİK'in hazırladığı “**Besinsel Liflere Bağlı Biyoaktif Maddelerin Antioksidan Kapasitesi ve Rejenerasyon Davranışının QUENCHER Metoduyla Belirlenmesi**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

(Prof. Dr., Hamit Köksel)

Danışman

(Prof. Dr., Vural Gökmen)

Üye

(Prof. Dr., Ender Poyrazoğlu)

Üye

(Prof. Dr., Ümran Uygun)

Üye

(Prof. Dr., Yaşar Kemal Erdem)

Bu tez **HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ** tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Fatma SEVİN DÜZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallara uygun olarak elde ettiğimi
- görsel, işitel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

08/07/2013

Ecem Evrim Çelik

ÖZET

BESİNSEL LİFLERE BAĞLI BİYOAKTİF MADDELERİN ANTIOKSİDAN KAPASİTESİ VE REJENERASYON DAVRANIŞININ QUENCHER METODUYLA BELİRLENMESİ

ECEM EVRİM ÇELİK
Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü
Tez Danışmanı: Prof. Dr. VURAL GÖKMEN
Haziran 2013, 61 sayfa

Bu çalışma, çözünmeyen gıda matriksine bağlı antioksidanların rejenerasyon potansiyelini araştırmayı amaçlamıştır. Çalışmalar in vitro koşullarda besinsel lif (BL) ve bağlı antioksidanlarca zengin çeşitli gıda matriksleri ile gerçekleştirilmiştir. Çözünür fraksiyon uzaklaştırıldıktan sonra, çözünmeyen fraksiyonun antioksidan kapasitesi (AK) QUENCHER prosedürüyle ABTS•+ ve DPPH• radikal çözeltilerinin her ikisi de kullanılarak ölçülmüştür. Daha sonra bu fraksiyon, lif üzerindeki sönümlenmiş antioksidanları rejenere etmek üzere belirli koşullar altında antioksidan çözeltisi veya antioksidanca zengin bir içecek ile muamele edilmiş, ve AK'si tekrar ölçülmüştür. İkinci ve üçüncü rejenerasyon basamakları da ayrıca gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, katı BL'e bağlı antioksidanların sıvı fazda bulunan diğer antioksidan bileşikler tarafından üç sefere kadar önemli ölçüde rejenere edilebileceğini göstermiştir. İlk rejenerasyon basamağında elde edilen rejenerasyon verimleri çözünmeyen gıda matriksi ve rejenerasyon ajanı türüne göre 21.5% ila 154.3% aralığında bulunmuştur. Kahve, çay, portakal suyu ve kırmızı şarap gibi antioksidanca zengin içecekler, rejenerasyon işleminde saf antioksidanlar veya bunların karışımına göre çok daha etkili olmuştur. Bu sonuçlar çözünmeyen gıda materyaline bağlı antioksidanların fizyolojik önemini vurgulamıştır: bu antioksidanlar gastrointestinal (Gİ) kanalda sindirim süreci sırasında serbest radikallere karşı savaşabilirler ve aynı zamanda gıdalarla alınan diğer antioksidan bileşikler tarafından rejenere edilebilirler.

Anahtar Kelimeler: Bağlı antioksidanlar, çözünmeyen gıda matriksi, besinsel lifler, antioksidan kapasitenin rejenerasyonu

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY AND REGENERATION BEHAVIOUR OF BIOACTIVE MATERIALS BOUND TO DIETARY FIBERS WITH QUENCHER PROCEDURE

ECEM EVRİM ÇELİK

Master of Science, Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. VURAL GÖKMEN

June 2013, 61 pages

This study aimed to investigate the regeneration potential of antioxidants bound to insoluble food matrix. Studies were performed *in vitro* with several food matrices rich in dietary fiber (DF) and bound antioxidants. After removing soluble fraction, antioxidant capacity (AC) of insoluble fraction was measured by the QUENCHER procedure using both ABTS•+ and DPPH• radical solutions. Then, this fraction was treated with either antioxidant solution or antioxidant-rich beverage under certain conditions to regenerate depleted antioxidants on the fiber, and its AC was measured again. Second and third regeneration steps were also performed. The results revealed that antioxidants bound to solid DF could be significantly regenerated up to three times by other antioxidant compounds present in the liquid phase. Regeneration efficiencies obtained on first regeneration step were found range between 21.5% and 154.3% depending on the type of insoluble food matrix and on the regeneration agent. Antioxidant-rich beverages such as coffee, tea, orange juice or red wine are much more effective on regeneration process than pure antioxidants or mixture of them. These results highlighted the physiological relevance of antioxidants bound to the food insoluble material: these antioxidants can counteract the free radicals during the digestion process in gastrointestinal (GI) tract and also they can be regenerated by other antioxidant compounds from foods.

Keywords: Bound antioxidants, insoluble food matrix, dietary fibers, regeneration of antioxidant capacity

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca değerli görüşleri ve fikirleri ile yol göstericim olan, desteğini her aşamada gördüğüm çok değerli danışmanım sayın Prof. Dr. Vural GÖKMEN'e,

İhtiyaç duyduğum her an değerli düşünceleri ve yardımlarıyla yanımda olan değerli hocam Dr. Arda SERPEN'e,

Her konuda yardımları ve manevi destekleri ile beni hiç yalnız bırakmayan Araş. Gör. Burçe ATAÇ MOGOL'a, Araş. Gör. Neslihan GÖNCÜOĞLU'na, Kübra ÖZDEMİR'e, Araş. Gör. Tolgahan KOCADAĞLI'ya, Araş. Gör. Aytül HAMZALIOĞLU'na, Araş. Gör. Gül AKILLIOĞLU'na, Araş. Gör. Cemile Yılmaz'a ve tez yazım sürecinde moral kaynağım olan hocalarım Uzman Yelda Zencir'e ve Uzman Selin Heybeli'ye

Her zaman yanımda olan ve varlıklarıyla bana güç veren annem Esin ÇELİK'e, babam Yaşar Murat ÇELİK'e

sonsuz teşekkürlerimi sunarım

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	
ATIF SAYFASI.....	
ETİK.....	
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Antioksidanlar.....	3
2.1.1. Antioksidan Kaynağı Gıdalar: Doğal Antioksidanlar.....	4
2.1.2. Antioksidan Kapasite Ölçümü.....	5
2.1.2.1. Klasik Antioksidan Kapasite Ölçüm Metotları.....	6
2.1.2.2. QUENCHER Metodu.....	7
2.1.3. Antioksidan- Sağlık İlişkisi.....	8
2.2. Besinsel Lifler.....	8
2.2.1. Çözünen ve Çözünmeyen Besinsel Lifler.....	9
2.2.2 Besinsel Lif- Sağlık İlişkisi.....	9
2.3. Besinsel Liflere Bağlı Antioksidanlar.....	12
2.3.1. Besinsel Liflere Bağlı Antioksidanların Diyetteki Yeri.....	13
2.3.2. Besinsel Liflere Bağlı Antioksidanların Antioksidan Kapasitesi.....	14
2.3.3. Besinsel Liflere Bağlı Antioksidanların Gastrointestinal Sistemde İzlediği Yol.....	15
2.3.4. Besinsel Liflere Bağlı Antioksidanların Gastrointestinal Sistemde Yavaş ve Sürekli Salınımı: Sağlık etkileri.....	16

3. MATERYAL ve METOT.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. Antioksidan Kapasite Analizinde Kullanılan Kimyasalların Hazırlanması.....	18
3.1.2. Rejenerasyon Ajanı Olarak Kullanılan İçeceklerin Hazırlanması.....	19
3.1.3. Örneklerin Hazırlanması.....	19
3.1.3.1. Yıkama.....	19
3.1.3.2. Yıkama Kontrolü.....	20
3.2. Metot.....	21
3.2.1. Gıdaların Çözünmeyen Fraksiyonlarında Fenolik Asit Analizi.....	21
3.2.2. Besinsel Liflere Bağlı Biyoaktif Maddelerin Antioksidan Kapasite Ölçümü.....	22
3.2.3. Besinsel Liflere Bağlı Biyoaktif Maddelerin Rejenerasyonu.....	23
3.2.3.1. Rejenerasyon Çalışmalarında Kullanılacak Örneklerin Belirlenmesi.....	25
3.2.3.2. Rejenerasyon Ajanı Olarak Kullanılacak Antioksidan Çözeltilerin Konsantrasyonunun Belirlenmesi	25
3.2.4. Askorbik Asit ve Dehidroaskorbik Asit Analizi	25
3.2.5. İstatistiksel Analizler.....	26
4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	27
4.1. Besinsel Liflere Bağlı Biyoaktif Maddelerin Antioksidan Kapasite Ölçümü: Rejenerasyon Çalışmalarında Kullanılacak Örneklerin Belirlenmesi.....	27
4.2. Seçilen Örneklerin Çözünmeyen Fraksiyonlarının Fenolik Asit İçerikleri.....	29
4.3. Rejenerasyon Ajanı Olarak Kullanılacak Antioksidan Çözeltilerinin Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	31
4.4. Rejenerasyon.....	32
4.4.1. Çözünmeyen Gıda Matriksinin Rejenerasyon Davranışı Üzerine Etkisi.....	32
4.4.2. Rejenerasyon Ajanının Rejenerasyon Davranışı Üzerine Etkisi.....	36
4.5. Rejenerasyon Mekanizması.....	44

4.6. <i>In Vivo</i> Yaklaşım.....	46
KAYNAKLAR.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	61

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	Askorbik asit
AACC	Amerikan Hububat Kimyacıları Birliği (American Association Cereal Chemists)
ABTS	2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)
AK	Antioksidan Kapasite
BL	Besinsel Lif
CUPRAC	Bakır(II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (Cupric Reducing Antioxidant Capacity)
DHAA	Dehidroaskorbik asit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
EK	Epikateşin
FRAP	Ferrik Demir İndirgeyici Antioksidan Gücü (Ferric Reducing Antioxidant Power)
Gİ	Gastrointestinal
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)
KJA	Klorojenik asit
KVH	Kardiyovasküler Hastalıklar
LC	Sıvı Kromatografisi (Liquid Chromatography)
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
MRM	Çoklu Reaksiyon İzleme (Multiple Reaction Monitoring)
MS	Kütle Spektrometresi (Mass Spectrometry)
ORAC	Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (Oxygen Radical Absorbance Capacity)
TEAK	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite
TRAP	Toplam Radikal Yakalama Antioksidan Potansiyeli (Total Radical Trapping Antioxidant Potential)
VCEAK	Vitamin C Eşdeğeri Antioksidan Kapasite

1. GİRİŞ

Sağlık, uzun yıllar insanların tek ortak endişesi olmuştur. Sağlıklı gıdalara olan talebin gün geçtikçe artması nedeniyle özellikle son yıllarda küresel gıda sektörünün de temel gündemi haline gelmiştir. Gıdaların sağlık potansiyellerine katkıda bulunan antioksidanlar da (KHV, kanser, nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif süreçlere olan eğilimi azaltarak) bu bağlamda önem kazanmıştır [1].

Toplam AK değeri, antioksidanca zengin gıdaların besin kalitesini gösteren önemli bir araçtır [2]. Ancak, antioksidanların sağlık yararlarının belirlenmesinde anahtar role sahip olan faktör, antioksidanca zengin gıdaların fiziksel yapısıdır. Antioksidanların biyolojik özellikleri onların serbest radikallerle reaksiyona girme yeteneğine bağlıdır. Bu bileşiklerin biyoyararlılığı ve/ veya biyodönüşümleri, yani vücut tarafından kullanılabilmesi ancak onların sindirim veya bağırsak fermentasyonu sırasında gıda matriksinden salınmaları ile mümkün olmaktadır [3].

Kompleks gıda matrikslerinde, antioksidanlar çoğunlukla gıda matriksi içinde gömülü ve bir şekilde karbonhidratlar, proteinler, lipidler [4] ve özellikle BL'ler gibi çeşitli makromoleküllerle bağlı formda bulunurlar.

BL'ler, ince bağırsakta sindirime ve absorpsiyona dirençli bileşenlerdir [5] ve bu durum lif matriksine bağlı antioksidanların salınım oranını azaltarak onların biyoyararlanımını etkilemektedir [6]. BL'lerin, karotenoidlerin yanı sıra fenolik antioksidanların ve büyük olasılıkla α - tokoferolün absorpsiyonunu geciktirdiği bildirilmiştir [7].

Önemli miktarda besinsel antioksidan, BL'lere bağlı formda herhangi bir değişime uğramadan ince bağırsaktan geçip ve kolona ulaşmaktadır. Burada, bakteriyel mikrobiyota tarafından lif matriksinden ayrılarak kolonda absorbe edilebilecek biyoaktif metabolitler üretirler [8, 9]. Tüm absorbe olmayan metabolitler ve fermente edilemeyen polifenoller kolonik lümende kalıp, serbest radikalleri sönmölemek ve besinsel pro-oksidanların etkileriyle mücadele etmek suretiyle burada sağlıklı bir antioksidan ortam yaratırlar [10]. Bu noktada BL'ler, GI kanalın üst kısımlarındaki absorpsiyonu engelleyerek

antioksidan bileşikleri kolon mikroflorasına taşıyan mükemmel bir araç olarak kabul edilirler [11].

BL'lere bağlı polifenoliklerin, kolonda fermente edildikten sonra yavaş ve sürekli salınımı, insan vücudunun anti- inflamatuvar tepki göstermesine neden olan bazı biyoaktif metabolitlerin bazal oranlarının artışına sebep olabilir [12]. Bu çerçevede, GI kanalda önemli bir süre kalan bağlı antioksidanların burada sürekli olarak üretilen serbest radikalleri söndürülerek, kolon kanseri gibi bazı hastalıkların önlenmesinde merkezi bir rol oynadıkları varsayılmaktadır [13].

Bağırsak lümeni, absorpsiyon olayları ve makro besin indirgenme işlemlerinin yanı sıra radikaller ve çözünen/ çözünmeyen antioksidanların birbiriyle reaksiyona girdiği ve BL'lere bağlı antioksidanların çok önemli bir role sahip olduğu dinamik bir sistem olarak düşünülmelidir.

Bu çalışmada, çözünmeyen materyale, özellikle de BL'lere bağlı antioksidanların rejenerasyon davranışının incelenmesi amaçlanmıştır. Rejenerasyon ajanı olarak çeşitli saf antioksidan çözeltileri ve doğal antioksidanlarca zengin sıvı gıdalar kullanılarak, farklı gıda kaynaklarına ait çözünmeyen fraksiyonların AK'lerinin *in vitro* rejenerasyon oranları belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Antioksidanlar

Hücreler, moleküler oksijeni suya indirgeyerek enerji üretirler. Bu sırada, küçük miktarlarda “reaktif oksijen türleri” olarak adlandırılan, kısmen indirgenmiş oksijen formları oluşur [14]. Bunlar, hücrelerin normal aerobik solunumu sırasında kaçınılmaz olarak oluşan zararlı yan ürünlerdir [14, 15]. Kirlilik, kuraklık, sıcaklık, aşırı miktarda ışık ve kısıtlı beslenme gibi çevresel stres faktörleri, bu zararlı yan ürünlerin üretimini arttırmaktadır [16]. Reaktif oksijen türleri, reaktif sülfür türleri ve reaktif nitrojen türleri ile birlikte serbest radikal üretimine sebep olurlar [14, 17]

Serbest radikaller, diğer moleküllerle reaksiyona girmek konusunda oldukça aktif olan çiftlenmemiş elektrona sahip atomlar, moleküller veya iyonlardır ve vücutta oksidatif reaksiyonların gerçekleşmesine neden olurlar [14, 17]. Yağların oksidasyon zincir reaksiyonları, bu reaktif türler tarafından başlatılır. Oksijen türevi serbest radikallerin doymamış yağ asitlerinden bir H atomu koparması, lipid serbest radikallerini oluşturur [14]. Lipid serbest radikalleri de ortamda bulunan oksijen ile kararsız ve reaktif türler olan peroksitleri oluşturur. Bunlar da başka bir doymamış yağ asidinden H atomu alarak hidroperoksitlere dönüşür [18]. Bu süreç daha sonra başka bir yağ asidine sıçrar ve otokatalitik olarak devam eder [19]. Bakır ve demir gibi geçiş metal iyonları, ısı ve ışık etkisi ise oksidasyonu şiddetlendirir [17, 18].

Antioksidanlar, oksidasyonu azaltan veya önleyen kimyasal maddelerdir [20]. Antioksidan molekülleri, serbest radikallerle direkt olarak reaksiyona girip elektron alarak veya vererek onları nötralize ederler; bu sırada kendileri de sözkonusu radikallerden daha az aktif, daha az zararlı ve daha uzun ömürlü yeni serbest radikallere dönüşürler. Bunlar da, diğer antioksidanlar veya diğer mekanizmalar tarafından nötralize edilebilirler [17]. Antioksidanların, oksidasyon reaksiyonlarını önleyen çeşitli tipleri mevcuttur: (I) Serbest radikal oksidasyon reaksiyonlarını inhibe eden antioksidanlar. Hidroperoksitlerin serbest radikallere dönüşmesini ve lipid serbest radikallerinin oluşumunu engelleyen türlerdir. (II) Otooksidasyon zincir reaksiyonlarının ilerlemesini

durduran, zincir- kırıcı antioksidanlar, (III) Singlet oksijen yakalayıcılar (karotenler, likopen), (IV) Zincir- kırıcı antioksidanların sinerjistleri (sitrik asit), (V) Hidroperoksitleri kararlı bileşenlere dönüştüren indirgeyici ajanlar (tiyoller, sülfidler), (VI) Metal pro-oksidanlarını (özellikle demir ve bakır türevleri) kararlı ürünlere dönüştüren metal şelatörleri (kuersetin, tanninler ve fitatlar [21]), (VI) Pro- oksidan enzim (özellikle lipoksigenazlar) inhibitörleri [22]. Bazı antioksidanlar ayrıca diğer antioksidanların biyosentezini de indüklerler [23]. Bununla birlikte antioksidan özellik gösteren enzimlerin aktivitesini artırarak hücrelerdeki serbest radikal düzeyini düşürebilirler. [24, 25].

2.1.1 Antioksidan Kaynağı Gıdalar: Doğal Antioksidanlar

İnsan vücudu, oksidatif stresi ortadan kaldırmak için glutatyon ve katalaz gibi antioksidan enzimleri ürettiği çeşitli mekanizmalara sahiptir. Bununla birlikte ferritin gibi metal bağlayan proteinler ve serüloplazmin gibi enzimatik olmayan endojen antioksidanlar da reaktif türlerin etkilerine karşı savunmada rol oynamaktadır [14]. Ancak, endojen antioksidan savunma sisteminin diyet yoluyla dışarıdan alınan antioksidanlarla desteklenmesi gerekmektedir. İnsan diyetinde yer alan en önemli antioksidan kaynakları, bağıl tüketim miktarları da göz önüne alındığında, tahıllar, sebze ve meyveler, bitkisel yağlar, sert kabuklu yemişler, baklagiller, soya ürünleri, çeşitli baharat ve içeceklerdir [22, 26].

Çok sayıda bitkisel kaynaktan bulunan doğal antioksidanların başında fenolik maddeler gelmektedir [27]. Başlıca bitki fenolikleri: fenolik asitler (gallik, kafeik, p- kumarik, ferülik, diferülik [28] ve klorojenik [29] asitler (KJA)), fenolik diterpenler (karnosol, karnosik asit), flavonoidler (kuersetin, kateşin, epikateşin (EK), rutin) ve uçucu yağlardır (eugenol, karvakrol, timol, mentol [30]) [18]. Bunlardan fenolik asitler genellikle serbest radikal yakalayıcı antioksidanlar olarak; flavonoidler ise serbest radikal sönmüleyici ve metal şelatörleri olarak davranırlar [31].

Diğer doğal antioksidanlar arasında başlıca askorbik asit (AA), tokoferoller ve karotenoidler sayılabilir [27, 32]. AA, toksik peroksitleri nötralize etme ve serbest radikalleri kararlı hale getirme yeteneğine sahiptir; bulunduğu ortam

şartlarına göre antioksidan, prooksidan, metal şelatörü, indirgeyici ajan veya oksijen tutucu olarak davranabilir [33]. Tokoferoller, peroksil radikallerini söndürerek zincir reaksiyonlarını sonlandırırlar [34, 35]. Karotenoidler ise serbest radikal türlerini söndürebilir ve zincir- kırıcı antioksidan olarak davranabilirler [36]. Ayrıca aminoasitler, proteinler, fosfolipidler, steroller, gamlar, besinsel lifler, CoQ₁₀, klorofil türevleri, alkaloidler, kalsiyum ve selenyum gibi mineraller ve sülfidler ile ısı işlem sonucu oluşan Maillard reaksiyon ürünleri, fermentasyon ürünleri, protein hidrolizatları ve kürlenme sonucu oluşan nitrozil bileşiklerinin de antioksidan aktiviteye sahip oldukları rapor edilmiştir [27, 32, 37].

Bitkiler, fenolik maddelerin yanı sıra C ve E vitaminleri ile karotenoidler açısından zengindirler [26]. Tahıllardan tam buğday unu ve kepek en yüksek fenolik madde içeriğine sahip ürünlerdir [38]. Sebzelerden patlıcan, hindiba, enginar, maydanoz, pırasa ve ıspanak [39], meyvelerden ise özellikle yaban mersini ve böğürtlen gibi çilekçiller familyasına ait meyveler ile siyah üzüm, kiraz, turunçgiller, erik, kuru erik, elma, armut ve kivi antioksidanlarca zengindir [22]. İçecekler arasında ise bira [40], şarap (özellikle kırmızı şarap), çay ve kahve önemli antioksidan kaynakları olarak gösterilmektedir. Çay yapraklarının yüksek miktarda kateşin içerdiği bilinmektedir. Kahve ise KJA açısından zengindir. Ayrıca, kahvenin kavulması sırasında antioksidan aktiviteye sahip kompleks Maillard reaksiyon ürünleri (melanoidinler) oluşmaktadır [22]. Hem gıda hem de içecek üretiminde kullanılan kakao ise çay veya şarap ile karşılaştırıldığında porsiyon başına daha fazla fenolik madde içermektedir [41]. Meyve suları (portakal suyu [42], üzüm suyu ve diğerleri[43]) da ilgili meyvelerle benzer antioksidanlara sahiptir [22].

2.1.2 Antioksidan Kapasite Ölçümü

Antioksidanlar, yukarıda sayılan özellikleri sebebiyle gıdaların sağlık potansiyellerine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle, bir gıdanın besleyici kalitesinin belirlenmesinde antioksidan aktivitesinin bilinmesi oldukça önemlidir [44]. Bu amaçla, çok sayıda AK ölçüm metodu kullanılmaktadır.

2.1.2.1 Klasik Antioksidan Kapasite Ölçüm Metotları

AK ölçüm metotlarının çoğu temelde aynı prensibe dayanır: sentetik renkli bir radikal veya redoks-aktif bir bileşik oluşturulur ve biyolojik örneğin radikal sönmüleme veya redoks aktif bileşiği indirgeme yeteneği spektrofotometre aracılığıyla belirlenir. Kuantifikasyon için ise troloks veya Vitamin C gibi bir standart kullanılarak AK değeri, TEAK veya VCEAK cinsinden belirtilir [45]. Ölçüm metotları, iki ana gruba ayrılır. Elektron transferine dayanan ilk grup metotlarda, renkli bir oksidanın indirgenmesi sırasında renkte meydana gelen değişim incelenir. Hidrojen atomu transferine dayanan ikinci grup metotlarda ise antioksidan ve substratın serbest radikaller için yarışması izlenir [46]. ABTS, DPPH, FRAP ve CUPRAC gibi metotlar elektron transferine dayanan metotlar arasında sayılırken; TRAP ve ORAC gibi metotlar hidrojen atomu transferine dayanan metotlar arasındadır [46, 47].

ABTS metodu, antioksidanların sulu bir faz içinde oluşturulan mavi/yeşil ABTS•+radikalini sönmüleme yeteneğini ölçer ve bunu Trolox standardıyla karşılaştırır. Bu nedenle metot çoğu zaman TEAK olarak ifade edilir. Yöntem hızlıdır ve hem sulu hem de organik çözücü sistemlerinde, geniş bir pH aralığında kullanılabilir [45, 48, 49]. DPPH metodu ise, mor renkli DPPH• radikalinin 1,1- difenil- 2- pikril hidrazine indirgenmesi esasına dayanır [45]. Bu yöntem yaygın olarak saf fenolik bileşiklerin ve doğal bitki ekstraktlarının AK'sini belirlemek için kullanılır [50, 51, 52, 53, 54, 55]. ABTS•+ ve DPPH• radikalleri fizyolojik olmamalarına rağmen, her iki yöntemin de uygulanması pratik olduğundan en popüler yöntemler arasında yer alırlar [20]. FRAP metodu, serbest radikal içermemesi nedeniyle diğerlerinden ayrılır. Burada, ferrik demirin (Fe^{+3}) ferröz demire (Fe^{+2}) indirgenmesi izlenir [45]. ORAC metodunda ise, antioksidanların floresans özelliğe sahip bir molekülü serbest radikal atağından koruma yeteneği incelenir. Burada, floresan molekülünün bir peroksil radikali tarafından oksidatif hasara uğradığı sırada floresansında meydana gelen düşüş ölçülür [20]. Bahsedilen her yöntemin farklı noktalarda avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Ölçülen AK değerleri de kullanılan yöntemlere göre farklılık gösterebilmektedir [45].

2.1.2.2 QUENCHER Metodu

Yukarıda anlatılan klasik ölçüm metotlarında AK, genellikle gıdaların kimyasal sulu-organik çözücüler (metanol, etanol, aseton, kloroform, vs.) ile elde edilen ekstraktlarından ölçülmektedir. Ancak, bir gıda içerisinde bulunan tüm antioksidanları, özellikle de kompleks karbonhidratlar ve proteinlerle ilişkili olanları ekstrakte edebilecek yeterlilikte bir çözücü bulunmamaktadır [56]. Çözünmeyen fraksiyonun ekstrakte edilebilmesi için, gıdanın doğal yapısına zarar veren birtakım kimyasal veya enzimatik uygulamalara gerek duyulmaktadır ki, bu da metodun biyolojik güvenilirliğini olumsuz etkilemektedir [57]. Dolayısıyla, ekstrakte edilemeyen önemli miktarda antioksidan, çalışmalarda ihmal edilmektedir. Ancak, bu antioksidanlar vücuda alındıklarında sindirim enzimleri ve bağırsak mikroflorası tarafından serbest hale getirilerek önemli biyolojik etkiler sergilemektedir [58]. Bu noktada, hiç bir ekstraksiyon ve hidroliz işlemine gerek kalmadan direkt olarak AK ölçümüne olanak veren QUENCHER metodu öne çıkmaktadır. Metot, tüm ekstraksiyon basamakları atlanarak katı örnek ile radikal çözeltisinin direkt temasına dayanmaktadır. Bu yolla örneğin çözünür fraksiyonu, antioksidan aktivitesini çözeltide bulunan radikalleri klasik sıvı-sıvı interaksiyonuna göre sönümleyerek sergiler. Aynı zamanda, çözünmeyen fraksiyon da katı-sıvı interfazında gerçekleşen yüzey reaksiyonuna bağlı olarak antioksidan aktivitesini sergiler. Burada katı fazı çözünmeyen polisakkarit fraksiyonuna bağlı antioksidanlar, sıvı fazı ise çözeltide bulunan serbest radikaller temsil etmektedir [59].

QUENCHER yönteminin, çeşitli tahıllar için klasik ekstraksiyon işlemlerine dayanan yöntemlere göre daha yüksek veya onlara eşit AK değerleri verdiği bulunmuştur. Daha güvenilir bir TEAK değeri vermesinin yanı sıra zaman alan ekstraksiyon basamaklarından kaçınılması sayesinde diğer yöntemlere göre çok daha hızlı olması yöntemin başlıca avantajıdır. Özellikle BL açısından zengin tahıl ürünleri gibi örnekler için oldukça kullanışlı bir yöntemdir. Bununla birlikte, ısı işlem görmüş (kavurma, kızartma, pişirme) ürünler için de diğer yöntemlerle kıyaslandığında çok daha iyi sonuçlar vermektedir. Bu durumun, Maillard reaksiyonu ile oluşan yeni bileşenlerin zayıf çözünürlüklerine bağlı olduğu düşünülmektedir [2].

2.1.3 Antioksidan- Sağlık İlişkisi

Serbest radikal üretimi, patofizyolojik koşullar altında aşırı boyutlara ulaşmaktadır [60]. Serbest radikal üretimi ile radikal sönmüleyici sistemler arasındaki dengenin, serbest radikal üretimi lehine bozulması ise oksidatif strese neden olmaktadır [14]. Oksidatif stres sonucu DNA, lipitler, proteinler ve diğer biyomoleküller zarar görmekte bu da doku hasarı ile birlikte hipertansiyon, bazı kanser türleri, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, KVH, katarakt, yaşa bağlı kas dejenerasyonu ve romatoid artrit gibi pek çok hastalığın patogenezeine katkıda bulunmaktadır [14, 61, 62, 63, 64].

Antioksidanların rolü serbest radikallerin aşırısını nötralize etmek, hücreleri onların toksik etkilerinden korumak ve vücudun hastalıklardan korunmasına yardımcı olmaktır [65]. Oksidatif stresin antioksidanlar tarafından düzenlenmesi kanserli hücre bölünmesinden sorumlu genleri baskılayarak, çoğalmayı ve kanserin yayılmasını engellemektedir. Antioksidanların lipid peroksidasyon hızını sınırlandırması ise KVH üzerinde olumlu etkiye sahiptir [66]. Boekholdt ve ark. [67] yüksek plazma C vitamini konsantrasyonunun düşük koroner arter hastalığı riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, Salonen ve ark. [68], Vitamin C ve α - tokoferolün akut takviyesini takiben hiperkolesterolemik hastaların intima-media arter kalınlığında ciddi miktarda azalma; Ellingsen ve ark. [69] ise, meyve tüketimi ile ateroskleroz arasında ters ilişki gözlemişlerdir. Ayrıca, antioksidanların karbonhidrat tüketiminden sonra sindirim enzimleri ile etkileşerek insülin hassasiyetini arttırabilecekleri veya kan glukoz seviyesindeki artışı düzenlenleyebilecekleri ileri sürülmektedir [70].

2.2. Besinsel Lifler

BL, AACC uzman komitesi, tarafından “hücre duvarı polisakkaritleri, lignin ve insan sindirim enzimlerine dirençli ilişkili maddeler “ olarak tanımlanmıştır [71]. “İlişkili maddeler” ifadesi; dirençli nişasta, dirençli protein, oligosakkaritler ve sentetik polimerler gibi çok sayıda bileşeni kapsamaktadır [10]. Nişasta dışı polisakkaritler, bazı şeker-alkoller, polifenoller, Maillard reaksiyon ürünleri ve diğer pek çok bileşeni içine alan BL’ler, ince bağırsakta absorbe olmayan kimyasal olarak heterojen maddelerdir [72, 73].

BL çoğunlukla meyve, sebze, baklagiller, sert kabuklu yemişler ve tam tahıllar gibi bitkisel ürünlerden sağlanmaktadır. Meyve ve sebzeler yüksek su içeriklerinden dolayı tam tahıllara göre yapılarında daha az lif bulundurmaktadır. BL'in en yoğun bulunduğu kaynaklar tam tahıllar ve tahıl kepekleridir [74]. BL'ler kepekte yoğunlaştığından kepeğin ayrılmasına yönelik işlemler tahılların lif içeriğini azaltmaktadır [74, 11].

2.2.1 Çözünen ve Çözünmeyen Besinsel Lifler

BL'ler, insan sindirim sıvılarındaki çözünürlüklerine göre çözünen BL'ler ve çözünmeyen BL'ler olarak ikiye ayrılırlar [10]. Çözünen BL'ler suda çözünerek viskoz jeller oluştururlar [5]. Bunlar, mide boşalmasını geciktirir, glukoz absorpsiyonunu yavaşlatır, bağışıklık fonksiyonlarını artırır ve serum kolesterol seviyesini düşürürler [74]. İnce bağırsaktan sindirime uğramadan geçip kalın bağırsak mikroflorası tarafından kolayca fermente edilirler [5]. Çözünen BL'ler, burada büyük oranda hepatik kolesterol sentezini inhibe eden kısa zincirli yağ asitlerine fermente olurlar. Meyveler, yulaf, arpa ve baklagillerde bulunan pektinler, gamlar ve müsilajlar gibi selülozik olmayan polisakkaritler çözünen BL sınıfına girmektedir [74]. Çözünmeyen BL'ler, suda çözünmediklerinden viskoz jeller oluşturamazlar ve fermentasyonları ciddi şekilde sınırlıdır [5]. Çözünmeyen BL, bağırsak transit süresini kısaltır, fekal kütle arttırır ve dışkıyı yumuşatır. Başlıca buğday, çoğu tahıl ürünleri ve sebzelerde bulunan selüloz, lignin ve hemiselüloz gibi hücre duvarı bileşenleri çözünmeyen BL sınıfına girmektedir. Gıdalarda bulunan BL'in yaklaşık 75%'i çözünmeyen fraksiyona aittir [74]. Tahıllarda dış tabakalar çözünmeyen BL açısından zenginken, endosperme yakın tabakalarda çözünen BL miktarı daha fazladır [11].

2.2.2 Besinsel Lif- Sağlık İlişkisi

BL'ler ve tam tahıllar dirençli nişasta, vitaminler, mineraller, fitokimyasallar ve antioksidanlar dahil olmak üzere biyoaktif bileşenlerin eşsiz bir karışımı içerir [5]. Bu zengin yapıların potansiyel sağlık yararlarının bilinmesi, sağlığın giderek önem kazandığı günümüz dünyasında oldukça büyük bir önem

taşımaktadır.

BL'ler, ağızdan anüse tüm GI kanalı etkilemektedir. Yüksek lifli gıdalar genellikle daha düşük enerji yoğunluğuna sahiptirler ve yenmeleri daha uzun zaman almaktadır [75]. Mide boşalmasını geciktirme özelliğine sahip olan çözümlü lifler gıda maddelerinin ince bağırsaktan yavaş geçişini sağlarken, çözünmeyen lifler bağırsak hareketlerini hızlandırmaktadırlar [76]. Kolonda fermente edilebilen lifler, prebiyotik olarak davranarak *Lactobacilli* ve *Bifidobacteria* gibi sağlığa faydalı probiyotiklerin gelişimini desteklemekte, faydalı bakteriyel kütleleri arttırmaktadırlar [77]. BL'lerin su bağlama özelliklerinden dolayı dışkı miktarında artışa sebep olmaları, kabızlığın önlenmesine yardımcı olmaktadır [78, 79].

Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar, BL ve tam tahıl tüketiminin obezite [80], tip-2 diyabet [81], kanser [82] ve KVH [83] ile ters ilişkili olduğunu göstermiştir. FDA'ya göre, yağ tüketiminin azaltılmasıyla birlikte, meyve, sebze ve tam tahıllardan sağlanan BL tüketiminin artırılması bazı kanser türlerini azaltmaktadır [84]. Son çalışmalar, BL ile kolorektal, ince bağırsak, ağız, gırtlak ve meme [82, 85, 86] dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinin gelişimi arasındaki bu ters ilişkiyi desteklemektedir. Hayvan modelleri ve gönüllü insanlar üzerinde yapılan çalışmalar, çözünmeyen liflerin karsinogenezise karşı koruyucu etkisinin daha büyük olduğunu ve bu etkinin fermentasyon tarafından modifiye edildiğini ortaya koymaktadır [87, 88, 89]. Koruyucu etkiyi sağlayan mekanizmalar halen net olmamakla birlikte, bu konuda çeşitli öneriler bulunmaktadır. BL'lerin; ince bağırsakta sindirilmeden kalın bağırsağa geçmesi ve burada anti-karsinojenik özellikteki kısa zincirli yağ asitlerine fermente olması [90], fekal hacmi ve viskoziteyi artırarak potansiyel karsinojenler ve mukozal hücreler arasındaki temas süresini kısaltması, safra asitleri ve karsinojenler arasındaki bağlanmayı artırması, önerilen mekanizmalar arasındadır [5]. Bunların yanısıra, BL alımının vücut antioksidan düzeyini artırmasının da bu anlamda etkili olduğu düşünülmektedir [5].

BL'lerin sağlık yararlarını destekleyen ikinci FDA iddiası, doymuş yağ ve kolesterol içeriği düşük, meyve, sebze ve tam tahıllar açısından zengin diyetlerin, koroner kalp hastalığına (KKH) yakalanma riskini azalttığını ortaya

koymaktadır [91]. Bir çok çalışma da, BL ve KVH arasındaki bu ters ilişkiyi desteklemektedir. Ayrıca, yapılan yeni çalışmalar diyete her 10 g lif ilavesinin, KVH'ların mortalite riskini 17-35% oranında azalttığını göstermektedir [83, 92]. Çözünür liflerin, safra asitlerini bağlayıp dışkı ile safra atımını arttırdığı, misel oluşumunu engellediği ve böylece serum total ve LDL kolesterolü düşürdüğü rapor edilmiştir [93, 94]. Ayrıca, başta propiyonat olmak üzere kolonda üretilen kısa zincirli yağ asitlerinin kolesterol sentezini inhibe ettiği [95] bilinmektedir. BL'in plak stabilitesi üzerine etkiye sahip olabilecek interlökin-18 gibi pro-enflamatuar sitokinleri azalttığı [96] ve artan BL alımının bir iflamasyon markörü ve koroner kalp hastalığı için bir prediktör olan C-reaktif proteinin kandaki miktarını azalttığı da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [97].

Obezite ve tip-2 diyabet, genel nüfus içinde artan yaygınlıkları nedeniyle özel bir öneme sahiptir [98, 99]. BL'ler, kilo kaybını arttıran ya da sağlıklı vücut ağırlığında kalmayı sağlayan enerji alımını düzenleme yetenekleriyle, obezite tedavisinde kritik bir rol oynamaktadır. BL'lerin kilo kaybını arttırması veya kilo alımını azaltmasında, çözünür liflerin kalın bağırsakta fermentasyonundan sonra oluşan ve tokluk hissi veren glukagon benzeri hormonların rol oynadığı bilinmektedir [100]. Ayrıca, BL'lerin ince bağırsakta sindirime dirençli olmaları, kalın bağırsakta ancak kısmen fermente edilebilmeleri, yağların sindirimini azaltmaları gibi etmenler de enerji alımını ciddi anlamda sınırlandırmaktadır. Kilo kaybında hem çözünür hem de çözünmeyen formdaki BL'lerin etkisi bulunmaktadır. Ancak, yüksek yağlı diyetlerde çözünmeyen BL'ler çok daha önemli bir rol oynamaktadır. BL'lerin enerji alımını azaltmasının yanında glisemik kontrolü sağlaması, tip-2 diyabet riskini azaltmaktadır [5]. Yapılan araştırmalar, çözünür liflerin mide boşalmasını geciktirmesi makro besinlerin absorpsiyonunu azaltmasının kan glukoz ve insülin seviyelerini düşürdüğünü ortaya koymuştur [101]. Aynı şekilde çözünmeyen BL'lerin de gıda maddelerinin GI kanaldan geçiş hızını arttırarak, basit karbonhidratlar gibi besin öğelerinin absorpsiyonunu azaltmasının bu anlamda etkili olduğu düşünülmektedir [5].


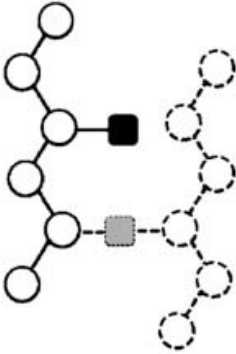
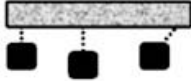
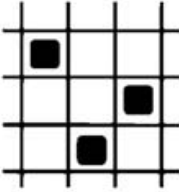
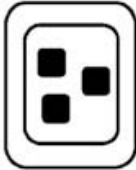
2.3 Besinsel Liflere Bağlı Antioksidanlar

Antioksidanlar gıda mikroyapısında çeşitli formlarda bulunabilmektedirler: (I) herhangi bir fiziksel veya kimyasal interaksiyona girmemiş (serbest), (II) gıda matriksi içerisinde fiziksel olarak tutuklanmış , (III) diğer makromoleküllere kimyasal olarak bağlanmış veya (IV) çözünmeyen formda [2] (Çizelge 2.1). Ancak, kompleks gıda matrikslerinde antioksidanlar çoğunlukla gıda matriksi içine gömülü ve bir şekilde karbonhidratlar, proteinler, lipidler [4] ve özellikle BL'ler gibi çeşitli makromoleküllerle bağlı formda bulunurlar.

BL ve antioksidanlarla ilgili geniş literatür (son 5 yılda, sırasıyla 2600 ve 3000'in üzerinde BL ve antioksidan dergi makalesi, MEDLINE), bu bileşenleri kimyasal yapıları, fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri ve metabolik yollarındaki önemli farklılıklar nedeniyle birbirinden bağımsız ve ilişkisiz maddeler olarak göstermiştir. Buna rağmen, BL ve önemli miktarda besinsel antioksidanın GI sistem içinde ortak ve sinerjik bir fizyolojik süreci takip ettiği bilinmektedir. Özellikle polifenolikler ve bazı karotenoidlerden oluşan önemli miktarda besinsel antioksidan, ince bağırsaklardan BL ile birlikte bir bütün olarak geçmektedir [10]. Bu antioksidanlar, bakteriyel mikrobiyota faaliyeti ile BL matriksinden ayrılıp metabolitler ve antioksidan çevre ürettikleri kolona ulaşmaktadır [8, 9].

En sık rapor edilen besinsel antioksidanlar, ince bağırsakta çözünen ve tamamen ya da kısmen absorbe olabilen çeşitli basit moleküllerdir (C ve E vitaminleri, karotenoidler, düşük molekül ağırlıklı polifenoller ve diğerleri) [102]. Bunlar, yukarıda sözü edilen serbest formda bulunan antioksidanlardır. Besinsel antioksidanlar üzerine yapılan çoğu çalışma da, ince bağırsaklarda biyoerişilebilir durumda olan bu antioksidanları kapsamaktadır [103]. Bununla birlikte ince bağırsakta biyoerişilebilir durumda olmayan veya BL'lere bağlı olan (polimerik polifenolikler, BL matriksine bağlı veya lif yapısı içinde tutuklanmış düşük molekül ağırlıklı polifenoller, daha az miktarda karotenoidler ve diğerleri) antioksidanlar, çalışmalarda çoğunlukla göz ardı edilmektedir.

Çizelge 2.1. Antioksidanların gıda mikroyapısındaki muhtemel formları ve lokalizasyonları [2]

Serbest	Bağlı			
	Kimyasal Olarak Bağlı		Fiziksel Olarak Tutuklanmış	
	Makromoleküllere (kovalent)	Gıda Matrisine (iyonik)	Gıda Matrisi İçinde	Zarar Görmemiş Hücre İçinde
				

Ancak, yapılan son çalışmalar bu antioksidanların besinsel antioksidanların önemli bir kısmını oluşturduğunu göstermiştir [8]. Son zamanlarda ortaya çıkan “BL-antioksidanları” konseptiyle de, BL matrisine bağlı antioksidanlar özel bir önem kazanmıştır [104, 105, 106, 107]. BL-antioksidanları, birincil BL bileşenlerinin (polisakkarit ve lignin) özelliklerine benzer olarak sindirim enzimleri tarafından parçalanamamakta, kolonda kısmen fermente edilebilmekte, dışkı ile lipid ve protein atımını arttırmaktadır [56]. Besinsel antioksidanların önemli bir kısmını oluşturan ve BL’ler için de minör bileşen olmayan bağlı antioksidanlar, BL’lerin fizyolojik özelliklerini önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Daha da önemlisi, BL’lere bağlı antioksidanlar, hem BL’ler hem de antioksidanlar için atfedilen sağlık etkilerine katkıda bulunmaktadır [10].

2.3.1 Besinsel Liflere Bağlı Antioksidanların Diyetteki Yeri

İnsan diyetinde en bol bulunan antioksidanlar olan polifenoliklerin kayda değer bir kısmı, bitkisel gıdalarda veya içeceklerde hücre duvarı (veya BL) bileşenlerine bağlı formda bulunmaktadır. Polifenolikler, hücre duvarı

yüzeyindeki polisakkaritler ve proteinlere çeşitli noktalardan bağlanmalarını sağlayacak hem hidrofobik aromatik halkalara hem de hidrofilik hidroksil gruplarına sahiptirler [108]. Bunlar, polifenolik bileşiklerin hidroksil grubu ile polisakkaritlerin polar grupları arasında meydana gelen non-kovalent bağlar (hidrojen bağları, elektrostatik ve dipolar etkileşimler, Van der Waals etkileşimleri), hidrofobik interaksyonlar, fenolik asitler ile polisakkaritler arasındaki ester bağları gibi kovalent bağlarla bağlanmaktadır [10, 109].

Yapılan çalışmalar BL'lere bağlı polifenoliklerin genel olarak diyetle yer alan bütün bitkisel gıdalar ve içeceklerde bulunduğunu göstermiştir [8]. Baklagiller, sert kabuklu yemişler, tahıllar, sebze ve meyveler BL'lere bağlı antioksidan kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır [8, 110]. Yapılan bir çalışmada, tahıl polifenoliklerinin yaklaşık 85-90%'ının hücre duvarı polisakkaritlerine kovalent olarak bağlandığı tespit edilmiştir [11]. Ferülik asit, kafeik asit, hesperidin, naringin, kateşin, EK, elajik asit, gallik asit türevleri, protokateşin ve p-hidroksibenzoik asit diyetle bitkisel gıdalarda bulunan başlıca biyoerişilebilir olmayan polifenoliklerdir [8]. Melanoidinler ve karotenoidler de BL'lere bağlı formda kolona ulaşan bileşenler arasında yer almaktadır [9, 111]. İçeceklerde bulunan sindirime dirençli polisakkaritlerin de başta flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere önemli miktarda polifenolik bileşiği yapısında taşıdığı anlaşılmıştır [10].

2.3.2 Besinsel Liflere Bağlı Antioksidanların Antioksidan Kapasitesi

BL matrisinde bulunan polifenoller ve diğer minör bileşenler (karotenoidler, Maillard ürünleri, iz mineraller ve diğerleri) kümülatif sinerjistik antioksidan etki göstererek [10], BL'lere önemli miktarda antioksidan aktivite sağlamaktadır. Bu nedenle BL'ler de diğer pek çok bileşenle birlikte antioksidan özellik gösteren maddeler arasında sayılmaktadır. BL üzerinde belirgin etkileri olan AK değerinin belirlenmesi; lif karakterizasyonunun tamamlanması, potansiyel sağlık yararlarının belirlenmesi ve fonksiyonel ingrediyen uygulamaları hakkında bilgi vermesi açısından önem taşımaktadır [11].

BL'lere bağlı antioksidanların AK'si, çoğu ölçüm metodunda BL ekstraktları ve hidrolizatlarından ölçülmekte [58]; BL'lerin suda ve organik çözücülerde

çözünürlüklerinin düşük olmasına bağlı olarak genellikle olduğundan daha düşük değerler elde edilmektedir [11]. Ancak, hiç bir ekstraksiyon işlemine gerek kalmadan, çözünmeyen fraksiyonda da direkt AK ölçümüne imkan veren QUENCHER metodu ile daha gerçekçi sonuçlar elde edilmektedir. Çözünmeyen fraksiyonun sahip olduğu önemli miktardaki AK'nin bu yolla ölçülebilmesi, özellikle BL açısından zengin gıdaların fizyolojik önemine yeni bir perspektif getirmiştir [11].

2.3.3 Besinsel Liflere Bağlı Antioksidanların Gastrointestinal Sistemde İzlediği Yol

BL'lere bağlı antioksidanların biyoerişilebilir ve potansiyel olarak biyoyararlanılabilir olmaları için, öncelikle sindirim sürecinde biyoyararlanımlarını engelleyen BL matriksinden ekstrakte edilmeleri gerekmektedir [112].

Ağızda, çiğnemenin mekanik etkisi ile birlikte bitkisel gıda hücrelerinin parçalanması, vakuollerde bulunan ve hücre duvarına zayıf bağlanmış durumdaki fenolik bileşiklerin serbest bırakılmasını sağlamaktadır. Hücre duvarına daha yakından bağlanmış olan polifenoller ise (bitki kabuk ve zarlarında), gastro-pankreatik sindirim fazı sırasında, midenin asidik ortamı ve ince bağırsağın bazik ortamının etkisiyle gıda matriksiden ayrılmaktadır [112, 113]. Ancak, biyoerişilebilir hale gelen bu düşük molekül ağırlıklı polifenolik bileşiklerin yalnızca küçük bir bölümü (monomerler ve oligomerler) ince bağırsak duvarından geçebilmektedir. Besinsel polifenollerin önemli bir kısmını oluşturan BL matriksine bağlı düşük molekül ağırlıklı fenolik bileşikler ve polifenoller (biyoerişilebilir olmayan kısım), insan ince bağırsağında absorbe olamamaktadır. Bu bileşenlerin biyoyararlı olabilmeleri için ince bağırsakta sindirilmeleri gerekmektedir [4]. BL'lerin ince bağırsaktaki birincil etkisi, besinlerin veya antioksidanların salınım hızı ve bazı durumlarda salınım miktarını azaltmaktadır [6]. Bu durumdan sorumlu ana faktörler; (i) antioksidanların sindirim sırasında BL matriksi içinde fiziksel olarak tutuklanması, (ii) enzimlerin substratlarına, safra tuzlarının misel oluşturmamış yağlara ve çözünür antioksidanların bağırsak duvarına ulaşmasını sağlayan peristaltik karıştırma işleminin gastrik sıvıların artan viskozitesi nedeniyle

sınırlandırılmasıdır [114]. İkincil faktörler ise safra tuzlarının (ve belki enzimlerin) spesifik lif bileşenlerine bağlanması ve difüzyonlarının engellenmesidir [105, 119]. Böylece fenolik bileşiklerle birlikte karotenoidlerin de biyoyararlanımı sınırlandırılmaktadır [4].

İnce bağırsakta sindirilemeyen ve absorbe olamayan polifenoller ve karotenoidler gibi bağlı antioksidanlar, sindirilemeyen karbonhidratlar, proteinler, lif matriksi içinde tutuklanmış lipidler ve safra tuzları ile birlikte bakteriyel mikrofloraya fermente edilebilir substrat kaynağı oluşturmak üzere kolona ulaşırlar [102]. Polifenollerin kolonik fermentasyonu sonucu; fenilasetik, fenilbütirik ve fenilpropiyonik asitler ile ürolitin A ve B gibi sistemik etkiler sergileyebilecek, absorbe edilebilen metabolitler elde edilir [116]. Absorbe edilemeyen metabolitler ve fermente olmayan fenolik bileşikler, kolonik lümende kalırlar. Burada, serbest radikalleri sönmölemek ve besinsel prooksidanların etkileriyle mücedele etmek suretiyle antioksidan çevreye katkıda bulunurlar [117]. Aynı şekilde bakteriyel enzimlerin faaliyeti sonucu polisakkaritlerin hidrolize edilmesiyle karotenoidler de serbest hale gelerek kolonda antioksidan aktivitelerini gösterirler [4]. Diğer taraftan, bazı polifenoller dışkı ile atılırlar [118].

2.3.4 Besinsel Liflere Bağlı Antioksidanların Gastrointestinal Sistemde Yavaş ve Sürekli Salınımı: Sağlık Etkileri

Bağırsak sıvısı içindeki antioksidan konsantrasyonu, enterik absorpsiyon yoluyla sürekli azalmakta ve besinlerden salınan antioksidanlarla takviye edilmektedir. Bu sıralı salınım sürecinin devam etmesi ise özellikle transit süresinden (belirli bir emici yüzey veya sindirim çevresine maruz kalma süresi) etkilenmektedir [109].

Lifli gıda tüketiminin bağırsak transit süresini arttırması, çözünmeyen materyalin Gİ sistemde uzun süre kalmasına imkan vermekte bu da BL matriksine bağlı antioksidanların kan dolaşımına yavaş ve sürekli salınımını sağlamaktadır [11].

Rondini ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada serbest ferülik asidin alımdan 4 saat sonra plazmada tamamen yok olduğu; buna karşın

kepek BL'ine bağlı ferülik asidin plazma konsantrasyonunun alımdan sonra 24 saat boyunca sabit kaldığı gözlenmiştir [119].

Fenolik bileşiklerin nispeten düşük bir konsantrasyonda sürekli varlığı, serbest fenolik bileşik bakımından zengin bir gıda alımından hemen sonra plazma antioksidan konsantrasyonunda oluşan pikten daha yüksek bir potansiyel faydaya sahiptir. Ortamda sürekli olarak varlık gösteren fenolik bileşikler, sürekli bir antioksidan çevre yaratarak pek çok hastalık için koruyucu bir rol üstlenmektedir [11].

Bazı yazarlar, tahıl fenolik bileşiklerinin plazma konsantrasyonunun çok düşük olduğunu ve LDL oksidasyonunu engelleyemeyeceklerini savunmuşlardır [120, 121]. Ancak, fizyolojik koşullarda insan biyolojik sıvılarındaki oksijen konsantrasyonunun da oldukça düşük olduğu ve ortamda düşük konsantrasyonda, simültane hareket eden farklı antioksidanlar bulunduğu bilinmektedir. Diğer yandan, birçok hastalığın önleminde besinsel antioksidanların önemini doğrulayan epidemiyolojik veriler, *in vivo* etkileri elde etmek için gereken konsantrasyonların *in vitro* koşullar için gerekenlerle aynı olmadığını, düşük konsantrasyonların *in vivo* koşullarda yeterli olduğunu göstermektedir.

Buna göre, antioksidanların çok yüksek kan konsantrasyon piklerine ulaşmaları (bazı durumlarda aynı zamanlarda pro-oksidan çevre de yaratabilir) önem taşımamaktadır. İstenilen sağlık yararları, ancak besinsel antioksidanların ortamda sürekli varlığı ile elde edilebilmektedir.

Bu bakış açısıyla, tam tahıllar gibi lif bakımından zengin gıdaların düzenli tüketiminin sürekli bir antioksidan çevre yaratması açısından özellikle faydalı olduğu düşünülmektedir. Bu sayede KVH, diyabet ve Gİ sistem rahatsızlıkları gibi nedeni ve gelişimi dengesiz redoks durumuna bağlı pek çok rahatsızlık için sürekli bir korunma sağlanmaktadır [11]. Kolonda yaratılan sürekli antioksidan çevre ile, burada devamlı olarak oluşan radikaller sönmülenebilmekte, oksidatif DNA hasarları ve inflamasyonlar önlenilmekte ve polip oluşumunun önüne geçilebilmektedir. Böylece, kolorektal kanser için de kemopreventatif etki sağlanmaktadır [122].

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Potasyum peroksidisülfat, selüloz (toz formda), 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS), 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 6-hidroksi-2,5,7,8 tetrametilkroman-2 karboksilik asit (Troloks), (-) epikateşin, klorojenik asit, o- kumarik asit, ferülik asit ve analitik saflıktaki metanol Sigma (Steinheim, Germany) firmasından; etanol Colony Sugar Mills Ltd. (Pakistan) firmasından; askorbik asit Acros Organics (New Jersey, USA) firmasından; sodyum hidroksit pelletleri, hidroklorik asit (%37) ve ekstra saflıktaki dietileter Meck (Darmstadt, Almanya) firmasından; dehidroaskorbik asit (DHAA) Calbiochem (Canada) firmasından ve %95 saflıktaki n-heksan ile etil asetat Labscan (Dublin, Ireland) firmasından temin edilmiştir.

Bu çalışmada çözünmeyen katı gıda matriksi olarak kullanılan kurutulmuş meyveler (üzüm, yaban mersini, kuşüzümü, erik), buğday kepeği, yulaf kepeği, çavdar ezmesi, ekmek kabuğu, kavrulmuş kahve çekirdekleri, kakao (toz formda), karabiber (toz formda), kırmızı pancar kabuğu, Meksika fasulyesi (konserve), yer fıstığı zarı ve Antep fıstığı zarı yerel marketlerden temin edilmiştir. Yer fıstığı zarı ve Antep fıstığı zarı, piyasadan temin edilen yer fıstığı ve Antep fıstığından ayıklanarak elde edilmiştir. Fındık zarı ise Tikta A.Ş. den temin edilmiştir.

Rejenerasyon ajanı olarak kullanılan siyah çay, yeşil çay, instant kahve, kavrulmuş kahve çekirdekleri, portakal suyu ve kırmızı şarap (öküzgözü-boğazkere) da yerel marketlerden temin edilmiştir.

3.1.1 Antioksidan Kapasite Analizinde Kullanılan Kimyasalların Hazırlanması

ABTS•+ stok çözeltisi, 2.45 mM potasyum peroksidisülfat çözeltisi ile 7 mM ABTS çözeltisinin karıştırılması ve oda sıcaklığında, karanlıkta, 12-16 saat bekletilmesiyle hazırlanmıştır [123]. ABTS•+ çalışma çözeltisi, ABTS•+ stok çözeltisinin etanol:su (50:50) karışımı ile 734 nm'de 0.750-0.800 absorbans

aralığına kadar seyreltilmesi ile hazırlanmıştır. 5 ml ABTS •+ stok çözeltisinden yaklaşık 400 ml ABTS •+ çalışma çözeltisi elde edilmektedir.

DPPH• stok çözeltisi, 40 mg DPPH• in 200 ml etanol:su (50:50) karışımında çözünmesiyle günlük olarak hazırlanmıştır. DPPH• çalışma çözeltisi, 200 ml DPPH stok çözeltisinin yaklaşık 800 ml etanol/su (50:50) karışımı ile 525 nm'de 0.750-0.800 absorbans aralığına kadar seyreltilmesi ile hazırlanmıştır [50].

3.1.2. Rejenerasyon Ajanı Olarak Kullanılan İçeceklerin Hazırlanması

Siyah çay ve yeşil çay, 3 gram kuru çayın 100 ml sıcak su ile 15 dk. boyunca demlenmesi ile hazırlanmıştır. Espresso için, öğütülen kavrulmuş kahve çekirdeklerinden 6 gram tartılarak mutfak tipi kahve makinesinden 40 ml kahve ekstrakte edilmiştir. İstant kahve ise 2 gram çözünür kahvenin 200 ml suda çözünmesiyle hazırlanmıştır. Piyasadan “şeker ilavesiz %100” etiketiyle temin edilen portakal suyu, kullanımdan önce filtre edilerek katı partiküllerinden arındırılmıştır. Tüm içecekler normal tüketim sıcaklıklarında kullanılmıştır.

3.1.3 Örneklerin Hazırlanması

Aşağıdaki işlemler, bu araştırmanın ilgi konusu olan çözünmeyen BL'ler ve onlara bağlı antioksidanları da içine alan, örneklerin çözünmeyen fraksiyonlarını elde etmek üzere uygulanmıştır.

3.1.3.1 Yıkama

Örnekler, çözünür özellikteki antioksidanlar başta olmak üzere, çözünür bileşenlerin gıda matriksinden uzaklaştırılması amacıyla yıkanmıştır.

Bu amaçla tüm örnekler öğütülerek 15 ml'lik falkonlara 1'er g tartılmıştır.

Standart yıkama prosedürü kapsamında örnekler sırasıyla su, etil alkol ve su ile 3'er defa yıkanarak suda ve alkolde çözünen bileşenlerinden arındırılmıştır.

Yağ içeren örnekler (kahve, kakao, kuruyemiş zarıları, hububat kepekleri, çavdar ezmesi, karabiber) ilk aşamada heksan ile 2 defa yıkanarak

yağlarından arındırılmış, daha sonra standart yıkama işlemine başlanmıştır. Antosiyanince zengin örnekler için ise (kahve, kakao, kurutulmuş meyveler, kuruyemiş zarlari, karabiber, Meksika fasulyesi, kırmızı pancar kabuğu), standart yıkama prosedüründeki etil alkol, metanol:1N HCl (v:v, 85:15) karışımı ile yer değiştirmiştir.

Temel olarak, 1 gram örnek için 5 ml çözücü kullanılmıştır. İlk yıkama çözeltisi eklendikten sonra, karışım ultraturaks (Heidolph Silent Crusher M) yardımı ile 12 rpm de homojenize edilmiştir. Homojenizasyon ile kuru üzüm, kuru erik gibi öğütme işlemiyle istenilen partikül boyutuna ulaşamayan örneklerde de etkin bir parçalanma sağlanmıştır. Daha sonra karışım orbital döngülü çalkalayıcıya konularak (Edmund Bühler GmbH) 350 rpm de 10 dakika boyunca çözünür fraksiyon ekstrakte edilmiştir. 6080 g' de 5 dakika santrifüjün ardından supernatant uzaklaştırılmıştır.

Takip eden basamaklarda; yıkama çözeltileri sırasıyla eklenmiş, karışım 1 dakika vortexlenmiş, 10 dakika çalkalama ile çözünür fraksiyon ekstrakte edilmiş, 6080 g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant uzaklaştırılmıştır.

Böylece suda ve alkolde (ve heksanda) çözünen bileşenler gıda matriksinden uzaklaştırılarak, örneklerin çözünmeyen fraksiyonları elde edilmiştir.

İşlem sonunda yıkanmış örnekler -80°C'de dondurulup liyofilize edilmiştir. Liyofilize edilen örnekler, seramik bir havan yardımıyla öğütüldükten sonra 425 µm por çaplı (40 mesh boyutlu) elekten geçirilerek homojen irilikte partiküller elde edilmiştir. Hazırlanan örnekler, analize kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.3.2 Yıkama Kontrolü

AK ölçümünden önce, analize hazır haldeki örnekte çözünür antioksidan madde kalmadığından emin olmak için, yıkama işleminin etkinliği test edilmiştir. Başarılı bir yıkama işlemi ile çözünür antioksidanlar başta olmak üzere tüm çözünür fraksiyonun örnekten uzaklaştırılması gerekmektedir.

Yıkama sırasında uzaklaştırılmayıp gıda matriksinde kalan çözünür antioksidanlar, başlangıç AK değerini arttıracaktır. Ancak, bu antioksidanlar rejenerasyon basamağından önce uygulanan yıkama işlemi sırasında

ortamdan uzaklaşabileceklerinden, gıda matrisindeki rejener edilebilir türlerin miktarında bir azalma söz konusu olacaktır. Bu durumda rejenerasyondan sonra ölçülen AK değeri ve rejenerasyon verimi olduğundan daha düşük görünecektir. Bu nedenle yıkama işlemi kontrol edilmesi şart olan kritik bir basamaktır.

Kontrol için; analize hazır haldeki örnekten eppendorf içine 50 mg tartılarak üzerine 1 ml su eklenmiş, karışım 2 dk. süre ile vortekslenerek, örnekte bulunabilecek çözümlü antioksidanların ekstraksiyonu sağlanmıştır. 6080 g' de 5 dakika santrifüj işleminden sonra elde edilen berrak süpernatantın AK'si, deiyonize suyun AK'si ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla 4 ml lik kuvarz küvetlerde 2,9 ml ABTS radikal çözümlüsü ile 100 µl süpernatant ve 100 µl su ayrı ayrı karıştırılarak absorbanları etanol:su (v:v, 50:50) karışımına karşı okunmuştur.

Okunan iki absorban değeri arasındaki fark, istatistiksel açıdan önemli ise, yıkama işlemi ek basamaklar ile desteklenerek tekrar uygulanmış ve çözümlü fraksiyonun örnekten tamamen uzaklaştırılması sağlanmıştır. Örnek tekrar liyofilize edilerek analize hazır hale getirilmiştir.

3.2 Metot

3.2.1 Gıdaların Çözünmeyen Fraksiyonlarında Fenolik Asit Analizi

Gıda örneklerinin çözünmeyen fraksiyonlarına bağlı fenolik asitlerin analizi Moore ve ark. [124] tarafından anlatılan prosedüre göre yapılmıştır. Bağlı formlar, ekstraksiyondan önce oda sıcaklığında 4 saat süren alkali hidrolizi (4 N NaOH) ile serbest hale getirilmiştir. pH 2.0'ye ayarlandıktan sonra (6 N HCl ile), hidrolizatlar etil asetat dietil eter (1:1, v/v) karışımı ile 4 seferde ekstrakte edilmiştir. Bir araya getirilen ekstraktlar, 30°C'de N₂ akışı altında kuruyana kadar buharlaştırılmıştır. Son kalıntı, 1.5 ml metanolde çözüldükten sonra 0.45 µm naylon filtreden geçirilerek kromatografik analize hazır hale getirilmiştir.

Kromatografik analizler fotodiyot dizi dedektörü, dörtlü pompa, otomatik örnekleyici ve kolon fırınından oluşan bir Agilent 1200 HPLC sistemi ile

gerçekleştirilmiştir. Fenolik asitler; bir Waters Atlantis C18 kolonunda (250 mm × 4.6 mm, 5 µm), çözücü A (formik asit/su, 1:99, v/v) ve çözücü B (saf metanol) ihtiva eden bir mobil faz ile, 0.8 ml/dak. akış hızında bir lineer gradyen elüsyon programı kullanılarak ayrılmıştır. Çözücü gradyanı, Zilic ve ark. [125] tarafından anlatıldığı gibi programlanmıştır. Fenolik asitlerin belirlenmesi, piklerin alıkonma ve spektral verilerinin standart bileşiklerin verileriyle karşılaştırılması yoluyla gerçekleştirilmiştir. Kuantifikasyon, örneklerde belirlenen her bir bileşik için oluşturulan kalibrasyon eğrilerine dayanmaktadır.

3.2.2 Besinsel Liflere Bağlı Biyoaktif Maddelerin Antioksidan Kapasite Ölçümü

AK ölçümü, direkt katı-sıvı yüzey etkileşimi esasına dayanan QUENCHER yöntemiyle [126], ABTS ve DPPH radikal çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Yıkama kontrolü yapılmış örnekten 15ml'lik falkona 10 mg tartılmış, ardından 10 ml ABTS•+ veya DPPH• çalışma çözeltisinin eklenmesiyle reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyon karışımı orbital döngülü bir çalkalayıcıya yerleştirilerek 350 rpm'de karanlıkta ve oda sıcaklığında 27 dk boyunca çalkalanmıştır. Hemen ardından 6080 g'de 2 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve elde edilen berrak supernatant spektrofotometrik küvete aktararak 30 dk'lık reaksiyon süresinin bitiminde 734 nm'de (ABTS metodu için) veya 525 nm'de (DPPH metodu için) absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir. Her bir örnek iki defa analiz edilmiş ve ortalama değerler kullanılmıştır.

Sonuçlar, troloks ile elde edilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak, troloks cinsinden AK olarak verilmiştir (mmol troloks/kg çözünmez BL). Troloks standartları 0-600 µg/ml aralığında metanolde hazırlanmıştır. 100 µl standart çözeltisi 10 ml ABTS•+ veya DPPH• çalışma çözeltisi ile falkonda karıştırılarak reaksiyon başlatılmıştır. Karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletilen karışım 30 dakikalık reaksiyon süresi sonunda spektrofotometrik küvete aktararak 734 nm de (ABTS metodu için) veya 525 nm de (DPPH metodu için) absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir.

Absorbans değerlerinin ölçülebilecek aralık dışına düştüğü durumlarda,

örnekler ABTS (ve DPPH) radikal çözeltisine karşı inert bir materyal olan selülozla seyreltilmiştir. Bu amaçla liyofilize edildikten sonra öğütülüp elekten geçirilen yüksek AK'ye sahip örnekler (kurutulmuş meyveler, kuruyemiş zarlari, kahve, kakao, Meksika fasulyesi, karabiber, kırmızı pancar kabuğu), toz haldeki selülozla ağırlıkça 1:10 oranında karıştırılmıştır. Selülozla seyreltme işlemi, yapılarındaki pektin içeriğinin fazla olmasından dolayı liyofilizasyondan sonra yapışkan tekstürel özellik gösteren örnekler (kurutulmuş meyveler) için de ayrıca önerilmektedir [2]. Bu örneklerde öğütme aşamasında yapılan seyreltme, örnek partiküllerinin birbirine yapışmasını engelleyerek öğütme işleminin etkinliğini arttırmaktadır.

3.2.3 Besinsel Liflere Bağlı Biyoaktif Maddelerin Rejenerasyonu

AK ölçümü gerçekleştirilen örnek, ABTS•+ veya DPPH• radikal çözeltisinin fazlasının ortamdan uzaklaştırılması amacıyla 10 ml su ile yukarıda anlatıldığı şekilde 3 defa yıkanmıştır. Daha sonra çözünmeyen fraksiyon, BL üzerinde bulunan sönmülmüş antioksidanların rejenerasyonu amacıyla uygun derişimde hazırlanan 10 ml saf antioksidan çözeltisi veya antioksidanca zengin bir içecek ile karıştırılmıştır. Karışım, orbital döngülü çalkalayıcıya yerleştirilerek 350 rpm'de oda sıcaklığında ve karanlıkta 1 saat boyunca çalkalanmıştır. Hemen ardından 6080 g'de 5 dk santrifüj edilerek rejenerasyon ajanı ortamdan uzaklaştırılmıştır. Örnek, rejenerasyon ajanının fazlasının ortamdan uzaklaştırılması amacıyla yukarıda anlatıldığı şekilde 10 ml su ile 3 defa yıkanmıştır.

Son yıkama suyunun antioksidan madde içeriği yukarıda anlatıldığı şekilde test edilerek, yıkama kontrolü yapılmıştır. Absorbans değerlerinin istatistiksel açıdan önemli derecede farklı olduğu; yani rejenerasyon ajanının ortamda kalıntı bıraktığı durumlarda, ilave basamaklarla yıkama işlemine devam edilerek rejenerasyon ajanının ortamdan tamamen uzaklaştırılması sağlanmıştır. Rejenerasyon ve yıkama işlemlerinin ardından, çözünmeyen fraksiyon üzerine 10 ml ABTS•+ veya DPPH• çalışma çözeltisi eklenerek yukarıda anlatıldığı şekilde AK ölçümü gerçekleştirilmiştir.

Rejenerasyon ajanı olarak; antioksidan aktivite gösterdiği bilinen AA, EK ve KJA' in saf çözeltileri ile bunların karışımı ve portakal suyu, kırmızı şarap, siyah çay, yeşil çay, espresso, instant kahve gibi antioksidanca zengin içecekler kullanılmıştır.

Rejenerasyon çalışmaları, yukarıda anlatılan rejenerasyon işleminin ardışık üç basamak halinde uygulanması ile, üç-basamaklı olarak yürütülmüştür. Her basamak sonunda AK ölçümü tekrarlanmıştır. Ölçülen AK değerlerine göre, her rejenerasyon basamağında başlangıç AK değerine göre Rejenerasyon (%) değeri aşağıda gösterildiği gibi hesaplanmıştır:

$$\text{Rejenerasyon (\%)} = (\text{AK}_{\text{n.Rejenerasyon}} * 100) / (\text{AK}_{\text{Başlangıç}})$$

$\text{AK}_{\text{n.Rejenerasyon}}$ = n. basamak rejenerasyon işleminden sonra ölçülen AK değeri

$\text{AK}_{\text{Başlangıç}}$ = Başlangıç AK değeri

DeneySEL çalışmalar iki aşamada yapılmıştır. İlk aşamada, çözünmeyen gıda matriksinin, rejenerasyon davranışı üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, farklı çözünmeyen gıda matriksleriyle rejenerasyon denemeleri yapılmıştır. AA çözeltilerinin sabit rejenerasyon ajanı olarak seçildiği deneylerde AK ölçümü hem ABTS•+ hem de DPPH• radikal çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Böylece, iki ölçüm metodunun korelasyonu da incelenmiştir. İkinci aşamada ise rejenerasyon ajanının rejenerasyon davranışı üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla çeşitli antioksidan çözeltileri ve antioksidanca zengin içeceklerle üç basamaklı rejenerasyon çalışmaları yapılmıştır. Buğday kepeğinin sabit çözünmeyen gıda matriksi olarak seçildiği deneylerde tüm antioksidan çözeltileri 100 ppm sabit derişimde hazırlanarak kullanılmıştır. AK ölçümleri ABTS•+ radikal çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada antioksidan çözeltilerindeki serbest antioksidanlar ile kompleks sıvı gıda matrikslerinin içerisinde bulunan serbest veya bağlı formdaki antioksidan karışımlarının rejenerasyon verimlerinin karşılaştırması yapılmıştır.

3.2.3.1 Rejenerasyon Çalışmalarında Kullanılacak Örneklerin Belirlenmesi

Rejenerasyon çalışmalarında kullanılacak örneklerin belirlenmesi amacıyla, yukarıda belirtildiği şekilde analize hazırlanan tüm örneklerin AK değerleri, QUENCHER metoduyla ABTS•+ radikal çözeltisi kullanılarak ölçülmüştür. Örneklerin çözünmeyen fraksiyonlarına ait AK'lerinin yanı sıra rejenerasyonda esas rolü oynayan BL içerikleri de dikkate alınarak deneysel çalışmalarda kullanılacak çözünmeyen gıda matrisleri belirlenmiştir.

3.2.3.2 Rejenerasyon Ajanı Olarak Kullanılacak Antioksidan Çözeltilerin Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Çalışmalarda kullanılacak antioksidan çözeltileri için uygun konsantrasyonun belirlenmesi amacıyla farklı konsantrasyonlardaki AA çözeltileri ile tek basamaklı rejenerasyon denemeleri yapılmıştır. Buğday kepeğinden elde edilen çözünmeyen fraksiyon; 10, 100 ve 1000 ppm konsantrasyonlarda hazırlanan AA çözeltileri ile ayrı ayrı muamele edilmiştir. Rejenerasyondan önce ve sonra ölçülen AK değerlerine göre her bir konsantrasyon için Rejenerasyon (%) değeri aşağıda gösterildiği gibi hesaplanmıştır:

$$\text{Rejenerasyon (\%)} = (\text{AK}_{\text{son}} \times 100) / (\text{AK}_{\text{ilk}})$$

AK_{son}: Rejenerasyondan sonra ölçülen AK değeri

AK_{ilk}: Rejenerasyondan önce ölçülen AK değeri (Başlangıç AK değeri)

3.2.4 Askorbik Asit ve Dehidroaskorbik Asit Analizi

AA ve DHAA, buğday kepeğinin rejenerasyonundan önce ve sonra bir LC-MS/MS sistemi ile analiz edilmiştir. AA ve DHAA analizinde Agilent 6460 triple quadruple kütle spektrometresine bağlı, elektropray iyonizasyon kaynağına sahip bir Agilent 1200 serisi HPLC sistemi, negatif modda kullanılmıştır. Kromatografik seperasyonlar HIBAR Purespher-STAR RP-18e (150mm x 4,6mm id., 5µm) kolonunda gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak suda %0.1 formik asit ile metanolde %0.1 formik asit karışımı (95:5), 0.5 ml/dk akış hızında kullanılmıştır. Kolon, 30°C'de dengelenmiştir. Elektrosprey kaynağı takip eden ayarlara sahiptir: 4 kV kapiler voltaj; 80 V fragmentör voltaj; 300°C

source sıcaklığı; 10 L/dk source gaz akış hızı; 350 °C sheath gazı sıcaklığı; 11 L/dk sheath gazı (Nitrojen) akış hızı. AA ve DHAA, iki fragment iyon geçişinin çoklu reaksiyon izleme (MRM, multiple reaction monitoring) yöntemiyle belirlenmiştir. AA için; ana iyon olan $[M+H]^+$ 175 parçalanmış ve fragment iyonlar 115 ve 87 (8 V ve 16 V çarpışma enerjili) takip edilmiştir. DHAA için ise ana iyon olan $[M+H]^+$ 173 parçalanmış ve fragment iyonlar 113 ve 71 (4 V ve 10 V çarpışma enerjili) takip edilmiştir. AA ve DHAA'in quantifikasyonu için product iyonlardan sırasıyla 115 ve 113 kullanılmıştır. AA ve DHAA konsantrasyonları 1.0 ve 100 ng/ml (1, 2, 10, 50 ve 100 ng/ml) konsantrasyon aralığında oluşturulan kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.2.5 İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS-17.0 programından yararlanılarak yapılmıştır. Birbirinden bağımsız iki paralel halinde yapılan ölçümlerin ortalamaları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ile incelenmiştir. Grup çiftleri arasındaki istatistiksel anlamlı farklılığı araştırmak için Duncan HSD Post-Hoc testi uygulanmıştır. Bu test ile $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiki olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1 Besinsel Liflere Bağlı Biyoaktif Maddelerin Antioksidan Kapasite Ölçümü: Rejenerasyon Çalışmalarında Kullanılacak Örneklerin Belirlenmesi

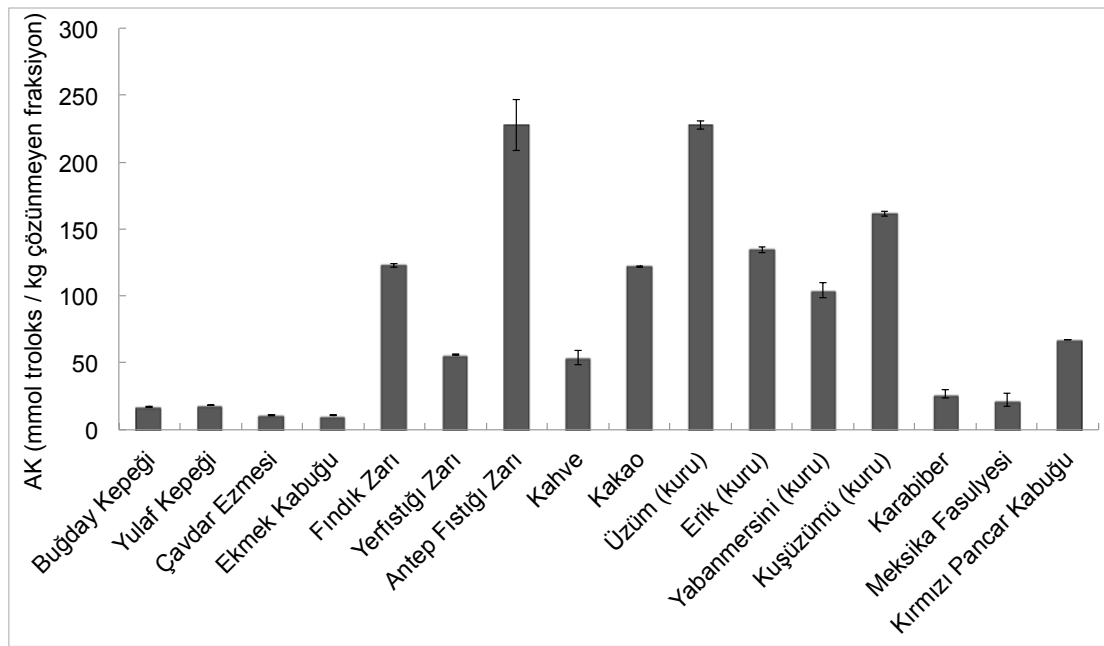
BL'lere bağlı biyoaktif maddeler, besinsel antioksidanların önemli bir kısmını oluşturmakta ve BL'lere özel bir antioksidan aktivite kazandırmaktadır [10]. Bu antioksidan aktivitenin bilinmesi, lif matrisine bağlı antioksidan içeren gıdaların sağlık yararlarının, biyolojik ve teknolojik değerlerinin belirlenmesi, ürüne işlenmesi ve hatta proses sırasında ortaya çıkan yan ürün ve artıkların değerlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışma kapsamında BL içeriği ve / veya antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu bilinen; buğday kepeği, yulaf kepeği, çavdar ezmesi, ekme kabuğu, kuruyemiş zarlari (fındık, Antep fıstığı, yer fıstığı), kurutulmuş meyveler (üzüm, erik, yaban mersini, kuşüzümü), kahve, kakao, karabiber, Meksika fasulyesi (konne) ve kırmızı pancar kabuğundan oluşan 16 örnek kullanılmıştır. AK ölçümü; örneklerin çözünmeyen fraksiyonlarında QUENCHER metodu ile ABTS•+ radikal çözültisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir örnek için çözünmeyen BL fraksiyonuna bağlı biyoaktif maddelerin AK değeri mmol troloks/ kg çözünmeyen fraksiyon cinsinden Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Yapılan ölçümler sonucu, farklı gıdaların çözünmeyen fraksiyonlarının AK değeri arasında önemli farklılıklar görülmüştür: AK değeri 10.8 – 227.5 mmol troloks/ kg çözünmeyen fraksiyon aralığında geniş bir dağılım göstermiştir. Bu aralıkta en yüksek AK değeri kuru üzüm ve Antep fıstığı zarına, en düşüğü ise ekme kabuğuna aittir.

Şekil 4.1'den de görüldüğü gibi tahıl ürünlerinin AK'leri diğerlerine göre daha düşük bulunmuştur. Karabiber ve Meksika fasulyesine ait çözünmeyen fraksiyonlarda da benzer AK değeri elde edilmiştir. Bununla birlikte kuru meyveler, kuruyemiş zarlari, kahve, kakao ve kırmızı pancar kabuğu örneklerinin AK'leri nispeten daha yüksek bulunmuştur.

Rejenerasyon çalışmalarında kullanılacak örneklerin seçiminde örneklerin AK değerleri kadar BL içerikleri ve diyetteki tkretim oranları da dikkate alınmıştır. AK değerinin yüksek olması, gıdanın rejenera edilebilecek daha fazla antioksidana sahip olduğunu göstermektedir. Öte yandan BL, rejenerasyonda esas rolü oynayan; antioksidanların Gİ sistemde uzun süre kalmasına olanak sağlayan bileşendir. Tkretim miktarı ise gıdanın diyetteki önemini belirttiğinden oldukça önemli bir parametredir. Tkretim miktarına bakılarak rejenerasyondan sağlanacak fayda ile ilgili değerlendirmeler yapmak mümkün olmaktadır.



şekil 4.1. Çeşitli gıda rneğlerinin znmeyen fraksiyonlarının AK değerleri

Tahıl rnleri BL bakımından en zengin kaynaklardan biri olarak gösterilmektedir [74]. Bunun yanı sıra kolay ulaşılabilir ve çok tkretilen ürünlerdir. AK'leri düşük olmasına rağmen insan diyetinde önemli bir yere sahip olmaları, tahıl ürünlerini rejenerasyon çalışmaları için ilgi çekici hale getirmiştir. Kırmızı pancar kabuğu, karabiber ve Meksika fasulyesi de yine BL bakımından zengin gıdalardır. Ancak, tkretim miktarları göz önüne alındığında deneysel çalışmalar için çekiciliklerini kaybetmektedirler. Kurutulmuş meyvelerin de günlük tkretimleri sınırlıdır. Ancak, BL bakımından zengin gıdalar olmalarının yanı sıra AK'leri de diğer rneğlere kıyasla çok daha yüksektir. Bu zellikleri onları rejenerasyon çalışmaları için cazip

örnekler haline getirmiştir. Kahve ve kakao da BL ve antioksidan bakımından zengin gıdalardır. Bunun yanı sıra sık tüketilen popüler ürünlerdir. Ancak diyetle aldıkları pay yine de tahıl ürünleri kadar yüksek değildir.

Kuru yemiş zarları, yüksek AK'lerinin yanı sıra BL bakımından zengin ve ucuz 'endüstriyel artıklar' dır. Temel olarak, kuru yemişlerdeki fenoliklerin önemli bir kısmı zarlarında toplanmaktadır [127]. Yer fıstığı endüstrisinin yan ürünü olarak ortaya çıkan yer fıstığı zarı, yüksek verimlerle elde edilmekte ve fazla miktarda proantosiyanidin içermektedir. Ancak yer fıstığı zarından yeteri kadar yararlanılamamakta, büyük bir kısmı yem veya yakıt olarak kullanılmaktadır [128]. Genellikle bir yan ürün olarak görülen fındık zarı da polifenolik bileşikler bakımından en zengin kaynaklardan biridir. Spesifik olarak tanımlanan polifenolik bileşenler hayvanlar ve insanlar için pek çok sağlık etkileriyle ilişkilendirilmiş ve fındık zarının şaşırtıcı AK'si onu günlük antioksidan alımını doğal ingrediyanlerle arttırmak konusunda ilgi çekici ve inovatif bir malzeme haline getirmiştir [127]. Benzer şekilde Antep fıstığı endüstrisinin önemli bir yan ürünü olan Antep fıstığı zarı da, fenoliklerin büyük bir kısmını tohumdan ziyade kendi yapısında toplamaktadır ve mükemmel bir antioksidan aktiviteye sahiptir [129]. Bu çerçevede daha efektif değerlendirilmeleri şart olan kuruyemiş zarları, deneysel çalışmalar için oldukça uygun matrikslerdir.

Bu bilgiler doğrultusunda; buğday kepeği, yulaf kepeği, çavdar ezmesi, Antep fıstığı zarı, fındık zarı, yer fıstığı zarı ve kuru üzümde oluşan 7 örnek rejenerasyon çalışmalarında kullanılmak üzere seçilmiştir.

4.2 Seçilen Örneklerin Çözünmeyen Fraksiyonlarının Fenolik Asit İçerikleri

Seçilen örneklerin çözünmeyen fraksiyonlarında, bağlı fenolik asitlerin iki baskın formu olan ferülik ve o-kumarik asitler, alkali hidrolizi sonrası analiz edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Örneklerin ferülik asit ve o-kumarik asit içerikleri geniş bir skalada dağılım göstermiş; ferülik asit içeriği en yüksek olan örnek buğday kepeği, o-kumarik asit içeriği en yüksek olan örnek ise kuru üzüm olarak belirlenmiştir. Miktarları değişmekle birlikte, analiz edilen tüm örneklerde çözünmeyen fraksiyona bağlı fenolik asit bulunduğu tespit edilmiştir.

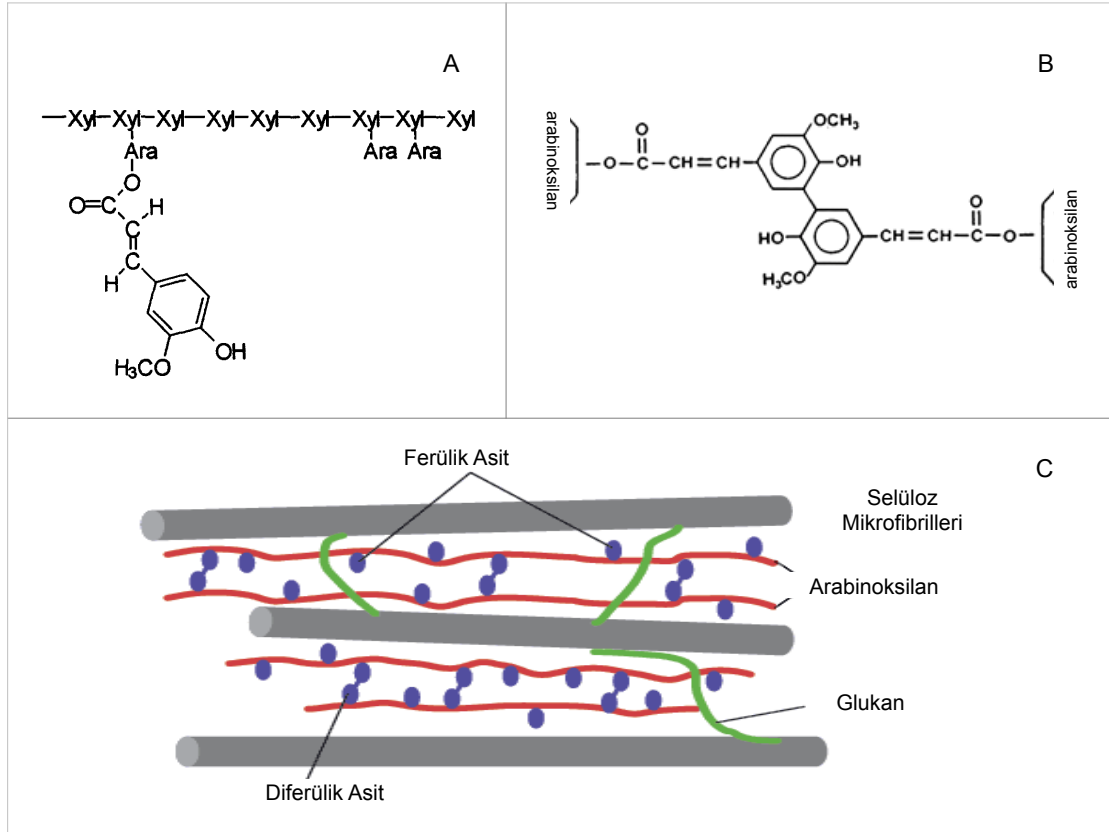
BL matriksine bağlı antioksidanların, BL yapısı ve özelliklerini etkilediği daha önce yapılan çalışmalardan bilinmektedir [11]. Tahıllardaki en önemli polifenol olarak bilinen ferülik asit, özellikle buğday kepeğinin biyoyararlanımı üzerinde önemli etkilere sahiptir [102].

Çizelge 4.1. Çeşitli gıda örneklerinin çözünmeyen fraksiyonlarında tespit edilen bağlı ferülik ve o- kumarik asit konsantrasyonları

	Ferülik asit, mg/kg	o-Kumarik asit, mg/kg
Buğday Kepeği	2178.7±55.76	58.5±4.47
Yulaf Kepeği	272.3±21.43	23.1±1.48
avdar Ezmesi	134.4±3.68	21.6±1.34
Fındık Zarı	21.5±3.11	36.6±3.11
Yerfıstığı Zarı	231.3±25.95	18.3±3.32
Antep Fıstığı Zarı	240.1±12.37	38.4±1.84
Kuru Üzüm	108.1±48.86	739.9±6.29

Ferülik asit, danelerin hücre duvarlarında, arabinoksilan üniteleri ile esterleşmiş durumda bulunur [102] (Şekil 4.2- A). İki arabinoksilan ünitesine bağlı ferülik asit birimi, peroksidaz tarafından katalizlenen bir reaksiyonla çapraz bağlandığında ise diferülik asit oluşur [130, 131] (Şekil 4.2- B). Çapraz bağlanma ile birlikte, glukanlar ve arabinoksilanlar tarafından selüloz miyofibrilleri arasına inşa edilen hücre duvarı ağ yapısı daha da sağlamlaşır [131] (Şekil 4.2-C). Bununla birlikte, BL'in çözünürlüğü de azalır [132].

Fenolikler aracılığıyla çapraz bağlanan glukuronoarabinoksilanların, insan fekal bakterileri tarafından parçalanmaya dirençli olduğu rapor edilmiştir [133]. Ayrıca fareler üzerinde yapılan bir çalışmada bu bağlanmanın ferülik asit absorpsiyonunu azalttığı bildirilmiştir [134, 135]. BL'in çözünürlüğünün azalması, onun kolondaki fermentasyonunu da sınırlandırmaktadır.



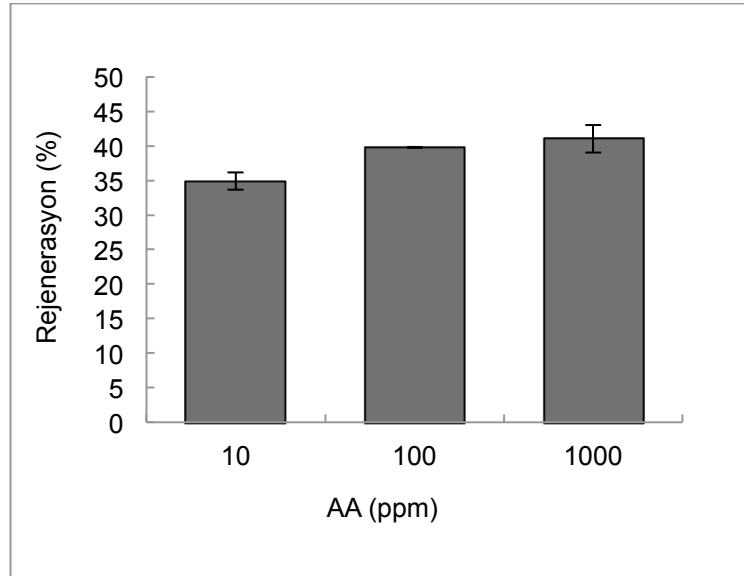
Şekil 4.2. (A) Arabinoksilan ile esterleşmiş ferülük asit [136], (B) İki arabinoksilan ünitesine bağlı ferülük asidin çapraz bağlanması: diferülük asit oluşumu [137], (C) Hücre duvarı ağ yapısı [131].

Hayvan modelleri ve gönüllü insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, çözünmeyen BL'lerin karsinogenezise karşı koruyucu etkisinin daha fazla olduğu ve koruyucu etkinin fermentasyonla modifiye edildiği görülmüştür [87, 88, 89]. Buradan da anlaşıldığı gibi, çözünürlüğün ve fermentasyonun azalmasıyla birlikte antikarsinogenik etki artmaktadır [132]. Deneysel çalışmalarda kullanılan çözünmeyen gıda matrikslerindeki bağlı fenolik asitler de aynı şekilde onların çözünürlüğünü azaltarak Gİ kanaldaki faydalı etkilerini arttıracaktır.

4.3 Rejenerasyon Ajanı Olarak Kullanılacak Antioksidan Çözeltilerinin Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Deneysel çalışmalarda rejenerasyon ajanı olarak kullanılacak antioksidan çözeltileri için uygun konsantrasyonun belirlenmesi amacıyla, buğday kepeğine ait çözünmeyen fraksiyon üç farklı konsantrasyonda (10, 100 ve 1000 ppm) hazırlanan AA çözeltisi ile rejenere edilmiştir.

Yapılan tek basamaklı rejenerasyon işlemleri sonucunda buğday kepeğinin Rejenerasyon (%) değerleri 10, 100 ve 1000 ppm AA konsantrasyonları için sırasıyla 34.9, 39.8 ve 41.0 olarak bulunmuştur (Şekil 4.3). AA konsantrasyonunun 10 ppm olduğu durumda elde edilen Rejenerasyon (%) değeri diğer konsantrasyonlarda elde edilenlere göre daha düşüktür ($p < 0.05$). 100 ppm ve 1000 ppm konsantrasyonlarda elde edilen Rejenerasyon (%) değerleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 4.3. Buğday kepeğinin çözünmeyen fraksiyonunun 10, 100 ve 1000 ppm AA ile tek basamaklı rejenerasyonu sonucu elde edilen Rejenerasyon (%) değerleri

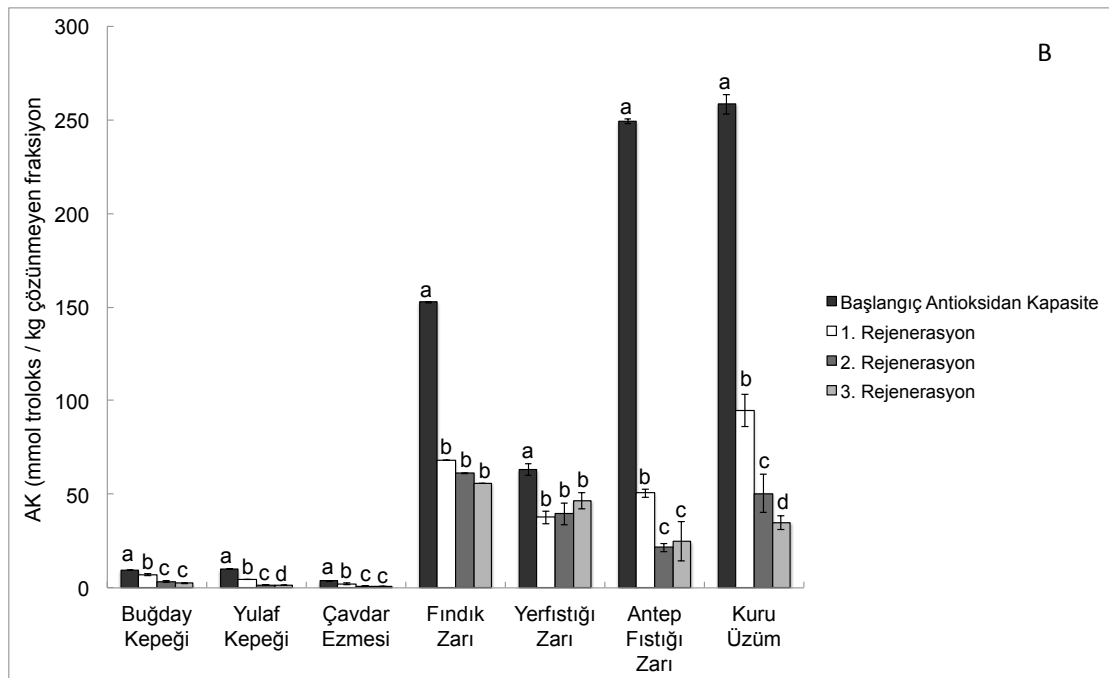
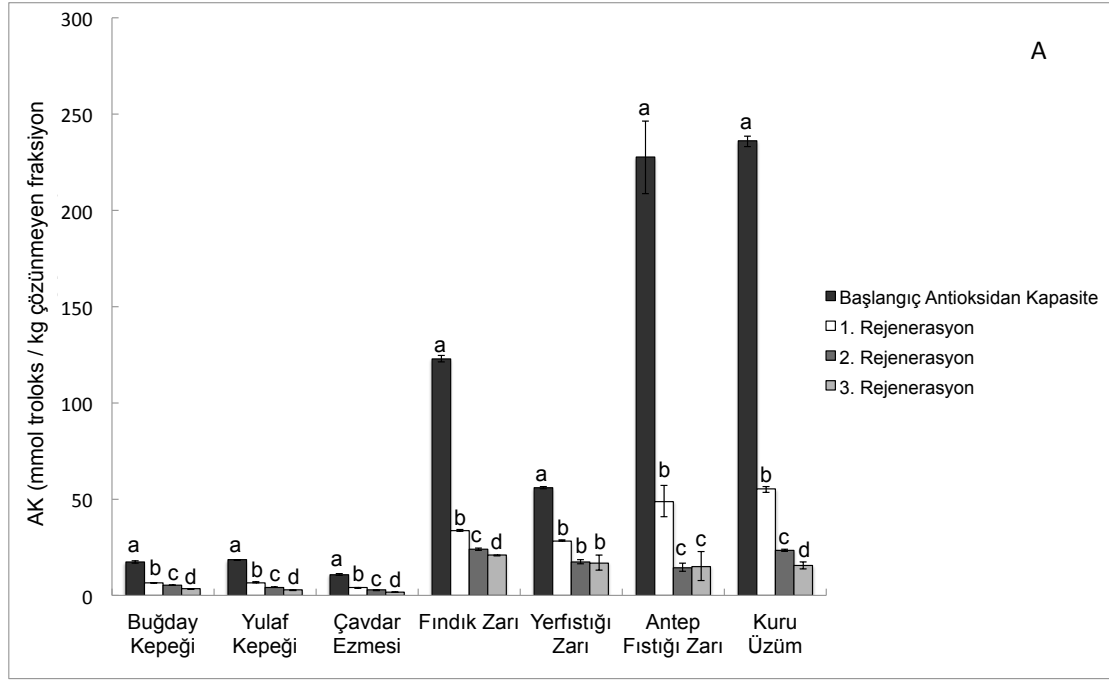
Buradan 100 ppm'lik bir konsantrasyonun rejenerasyon için yeterli olduğu anlaşılmıştır. AA için ortaya konan bu sonuç diğer rejenerasyon ajanları için de öngörülerek rejenerasyon çalışmalarının 100 ppm konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerle yürütülmesine karar verilmiştir.

4.4 Rejenerasyon

4.4.1 Çözünmeyen Gıda Matrisinin Rejenerasyon Davranışı Üzerine Etkisi

Çözünmeyen gıda matrisinin rejenerasyon davranışı üzerine etkisini incelemek amacıyla; seçilen 7 örnekten elde edilen çözünmeyen fraksiyonlar, sabit rejenerasyon ajanı olarak belirlenen AA çözeltisi ile 3 basamaklı rejenerasyon işlemine tabi tutulmuştur. AK ölçümü, hem ABTS•+ hem de

DPPH• radikal çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin ilk AK'leri ve her rejenerasyon basamağı sonunda ölçülen AK değerleri mmol troloks / kg çözünmeyen fraksiyon cinsinden ABTS•+ (A) ve DPPH• (B) radikal çözeltileri için Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Farklı çözünmeyen gıda matrislerinin AA ile üç basamaklı rejenerasyonu boyunca ABTS•+ (A) ve DPPH• (B) radikal çözeltileri ile ölçülen AK değerleri

Şekilden de görüldüğü gibi, ABTS•+ ve DPPH• radikal çözeltileri ile yapılan ölçümlerde birbiriyle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. ABTS•+ yerine DPPH• radikal çözeltisi kullanıldığında, örneklerin rejenerasyon verimlerinde ancak çok küçük farklar oluşmuştur. Bu durum, DPPH• radikalinin polaritesi daha az olan çözücülerde daha iyi çözünmesinden ve hidrofobik antioksidanlara karşı daha reaktif olmasından kaynaklanmaktadır [138].

Üç rejenerasyon basamağı boyunca her iki yöntemle de ölçülen AK değerlerine göre, rejenerasyon davranışının çözünmeyen gıda matriksine bağlı olarak değiştiği görülmüştür. ABTS•+ radikal çözeltisi ile yapılan ölçümlerde; 1. Rejenerasyon basamağında başlangıç AK değerlerine göre rejenerasyon verimi, 21.46% (Antepfıstığı Zarı) – 50.52% (Yerfıstığı Zarı) aralığında değişmiştir (Çizelge 4.2). 2. Rejenerasyon basamağında bu aralık 6.37% (Antepfıstığı Zarı) – 31.22% (Yerfıstığı Zarı); 3. Rejenerasyon basamağında 6.54 % (Kuru Üzüm) - 30.47 % (Yerfıstığı Zarı) olmuştur. DPPH• radikali ile yapılan ölçümlerde de yine bunlara paralel, ancak daha yüksek rejenerasyon verimleri elde edilmiştir.

Genel olarak, tüm çözünmeyen gıda matriksleri için ilk rejenerasyon basamağındaki rejenerasyon verimi en yüksek olmuştur. Takip eden basamaklarda ise verim azalarak rejenerasyon devam etmiştir. Her iki yöntemde de başlangıç AK değeri ve takip eden basamaklarda ölçülen AK değerleri arasındaki farklar bazı örnekler hariç diğer tüm örnekler için istatistiksel açıdan anlamlı olmuştur ($p < 0.05$). Ancak ilerleyen basamaklarda, kuru üzüm, fındık zarı ve Antep fıstığı zarına ait çözünmeyen fraksiyonların rejenerasyon verimi çok daha hızlı bir düşüş eğilimi göstermiştir. Başlangıç AK'leri diğer çözünmeyen gıda matrikslerine göre düşük olmasına rağmen, tahıl ürünlerinin rejenerasyon verimi 3 basamaklı rejenerasyon işlemi boyunca daha yüksek olmuştur. Yer fıstığı zarına ait çözünmeyen fraksiyon da benzer şekilde oldukça yüksek bir rejenerasyon etkinliği sergilemiştir. İncelenen her bir örnek için farklı bir rejenerasyon profili elde edilmiştir.

Rejenerasyon davranışındaki bu değişikliklerin, çözünmeyen gıda matrikslerinin farklı lif yapılarına ve bağlı antioksidanlarının niteliğine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.2. ABTS•+ ve DPPH• radikal çözeltileri ile yapılan ölçümlerde çeşitli çözünmeyen gıda matrisleri için her bir rejenerasyon basamağında elde edilen ortalama rejenerasyon (%) değerleri.

	1. Rejenerasyon		2. Rejenerasyon		3. Rejenerasyon	
	ABTS•+	DPPH•	ABTS•+	DPPH•	ABTS•+	DPPH•
Buğday Kepeği	36.53	73.47	29.52	34.20	19.44	27.17
Yulaf Kepeği	36.41	44.15	23.63	17.18	19.45	13.38
Çavdar Ezmesi	35.15	62.68	24.17	29.20	14.85	24.07
Fındık Zarı	27.53	44.58	19.35	39.99	16.91	36.59
Yerfıstığı Zarı	50.52	59.62	31.22	62.60	30.47	73.48
Antep Fıstığı Zarı	21.46	20.29	6.37	8.65	6.67	9.87
Kuru Üzüm	23.35	36.63	9.93	19.53	6.54	13.46

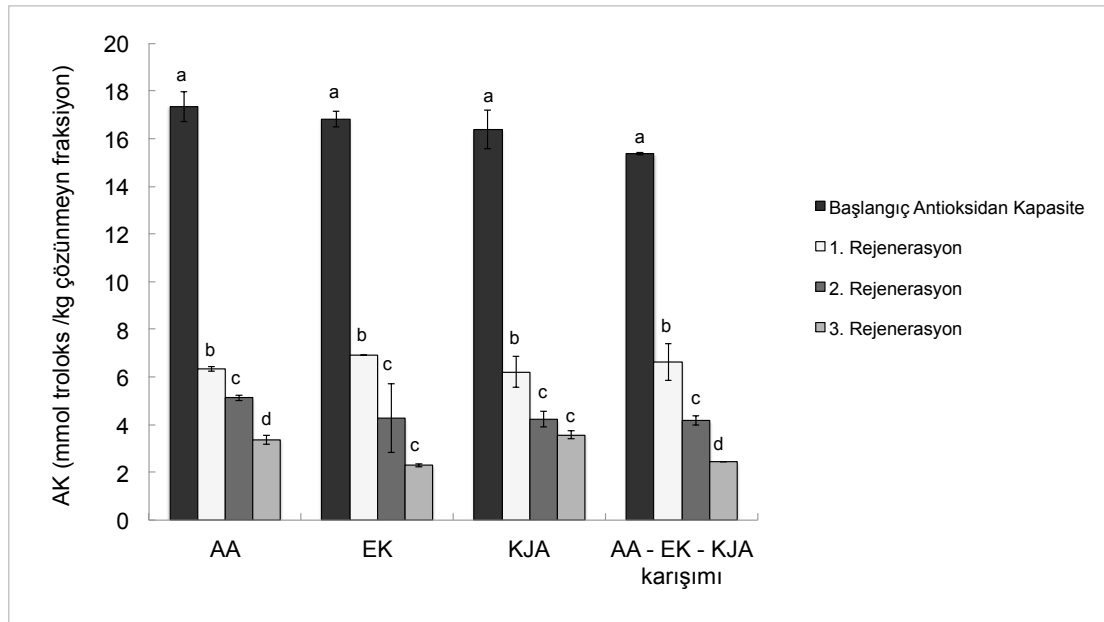
Kurutulmuş meyvelerden elde edilen BL'ler çoğunlukla pektik maddelerden oluşmaktadır. Buna karşın tahıl ürünlerinin BL yapısını selülozik maddeler oluşturmaktadır. Pektin, kolon mikroflorası tarafından kolayca parçalanabilen bir bileşendir [5]. Böylece, antioksidanların lif matrisinden ayrılmasına ve dolayısıyla rejenerasyon veriminin düşmesine sebep olabilmektedir. Selüloz ise çok daha yavaş fermente olmaktadır [139]. Böylece yapısında daha fazla antioksidan barındırabilmekte ve rejenerasyon verimini daha üst seviyelerde tutabilmektedir. Bu noktada, lif yapısının direncinin onun Gİ sistemdeki rejenerasyon davranışını büyük oranda etkilediği düşünülmektedir. Kuru üzümün rejenerasyon veriminin tahıl ürünlerine kıyasla daha düşük olması da bu şekilde açıklanabilir. Bunun dışında lif yapısına bağlı antioksidanların kimyasal yapıları, fiziksel özellikleri ve lif matrisi içindeki pozisyonlarının da rejenerasyon davranışını etkileyebileceği düşünülmektedir.

Deneyisel çalışmaların bu kısmında analiz edilen çözünmeyen gıda matriksleri arasından buğday kepeğine ait çözünmeyen fraksiyon, ileri çalışmalarda kullanılmak üzere aşağıda belirtilen sebeplerden dolayı seçilmiştir.;

- i) buğday kepeği rejenerasyon konsepti için temel materyal olan BL açısından zengindir,
- ii) Gİ kanalda antioksidan taşıma yeteneği oldukça iyi bilinir
- iii) hem polifenol hem de karbonhidrat kısmı iyi karakterize edilmiştir,
- iv) yaygın olarak tüketilir.

4.4.2 Rejenerasyon Ajanının Rejenerasyon Davranışı Üzerine Etkisi

Rejenerasyon ajanının rejenerasyon davranışı üzerine etkisini incelemek amacıyla; AA, EK ve KJA çözeltileri, bunların üçlü karışımı ve antioksidanca zengin çeşitli içecekler ile buğday kepeğinden elde edilen çözünmeyen fraksiyon üzerinde üç basamaklı rejenerasyon çalışmaları yapılmıştır. AK ölçümü, ABTS•+ radikal çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiş, antioksidan çözeltileri ve antioksidanca zengin içecekler için sonuçlar, mmol troloks / kg çözünmeyen fraksiyon cinsinden sırasıyla Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.5. Buğday kepeğinin çözünmeyen fraksiyonunun AA, EK, KJA ve AA-EK-KJA üçlü karışımı ile üç basamaklı rejenerasyonu boyunca ABTS•+ radikal çözeltisi ile ölçülen AK değerleri.

Aynı konsantrasyondaki (100 ppm) saf antioksidan çözeltileri ile yapılan rejenerasyon çalışmalarında; her bir antioksidan çözeltisi için buğday kepeğinden elde edilen çözünmeyen fraksiyonun başlangıç AK'si ve takip eden rejenerasyon basamakları sonunda ölçülen AK değerleri incelendiğinde, rejenerasyon davranışının kullanılan antioksidan çözeltisinin türüne göre istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik sergilemediği görülmüştür ($p < 0.05$).

Kullanılan tüm antioksidan çözeltileri için üç rejenerasyon basamağı boyunca başlangıç AK değerine göre hesaplanan Rejenerasyon (%) değerleri Çizelge 3'te gösterilmiştir.

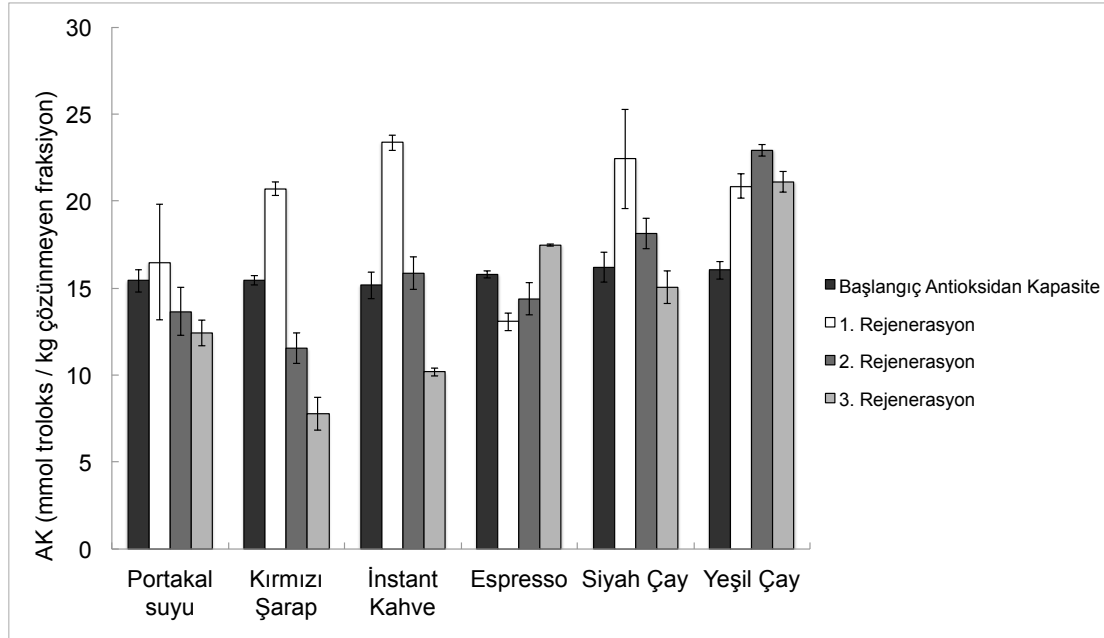
Çizelge 4.3. ABTS•+ radikal çözeltisi ile yapılan ölçümlere göre çeşitli antioksidan çözeltileri için her bir rejenerasyon basamağında elde edilen ortalama Rejenerasyon (%) değerleri.

	1. Rejenerasyon	2. Rejenerasyon	3. Rejenerasyon
AA	36.53	29.52	19.44
EK	41.05	25.40	13.60
KJA	37.87	25.79	21.77
AA-EK-KJA karışımı	43.12	27.15	15.82

Her bir rejenerasyon basamağında elde edilen Rejenerasyon (%) değerleri incelendiğinde, rejenerasyon davranışının değişmediği buradan da açıkça görülmektedir. AA, EK ve KJA çözeltilerinin tek başlarına kullanıldığı durumlar ile bu üç antioksidanın karışım halinde kullanıldığı durumda ortaya çıkan rejenerasyon davranışları arasında önemli bir fark olmaması, kullanılan üçlü antioksidan karışımındaki antioksidanlar arasında herhangi bir sinerjist interaksiyon olmadığını da ayrıca göstermektedir.

Bununla birlikte, tüm antioksidan çözeltileri için rejenerasyon veriminin takip eden rejenerasyon basamakları boyunca azaldığı görülmüştür. Şekil 4.5'ten de görüldüğü gibi, başlangıç AK değeri ile takip eden iki rejenerasyon basamağı sonunda ölçülen AK değerleri arasındaki farklar tüm antioksidan çözeltileri için; ikinci ve üçüncü rejenerasyon basamakları sonunda ölçülen AK değerleri arasındaki farklar ise AA ile AA- EK- KJA üçlü karışımı için istatistiksel açıdan anlamlı olmuştur ($p>0.05$).

Deneysel çalışmalar, antioksidanca zengin içeceklerle tekrarlandığında ise buğday kepeğinin rejenerasyon davranışının önemli ölçüde değiştiği görülmüştür.



Şekil 4.6. Buğday kepeğinin çözünmeyen fraksiyonunun antioksidanca zengin çeşitli içecekler ile üç basamaklı rejenerasyonu boyunca ABTS•+ radikal çözültisi ile ölçülen AK değerleri

Genel olarak kullanılan tüm içeceklerin rejenerasyon verimleri saf antioksidan çözültülerininkinden çok daha yüksek olmuştur. Portakal suyu ve espresso hariç diğer tüm içecekler için, buğday kepeğinin ilk rejenerasyon basamağından sonra ölçülen AK değerinde başlangıç AK değerine göre önemli oranda bir artış kaydedilmiştir ($p < 0.05$) (Şekil 4.6). Çizelge 4.4'ten de görüldüğü gibi, ilk rejenerasyon basamağında çoğu içecek için %100'ün üzerinde bir rejenerasyon verimi elde edilmiştir. Takip eden rejenerasyon basamaklarında elde edilen verimlerde bir azalma söz konusu olsa da, Rejenerasyon (%) değerleri antioksidan çözültülerine göre daha yüksek değerlerde seyretmiştir.

Antioksidanca zengin içeceklerin rejenerasyon yeteneğinin saf antioksidan çözültülerine göre ciddi oranda yüksek olması ve özellikle rejenerasyondan %100'ün üzerinde verim alınabilmesi, içeceklerle yapılan rejenerasyon

çalışmalarını ilgi çekici hale getirmiştir. Bu noktada, içeceklerin mevcut AK'yi rejenere etmekle kalmayıp çözünmeyen gıda matriksine ilave AK kazandırdıkları düşünülmektedir. Rejenerasyon ajanı içeceklerin, saf antioksidan çözeltilerine göre, geri kazanılan AK değerinde meydana getirdikleri bu olağandışı artış 2 farklı yaklaşım ile açıklanabilir.

Çizelge 4.4. ABTS•+ radikal çözeltisi ile yapılan ölçümlere göre antioksidanca zengin çeşitli içecekler için her bir rejenerasyon basamağında elde edilen ortalama Rejenerasyon (%) değerleri.

	1. Rejenerasyon	2. Rejenerasyon	3. Rejenerasyon
Portakal Suyu	91,36	88,79	80,58
Kırmızı Şarap	134,30	74,82	50,48
İstant Kahve	154,28	104,82	67,28
Espresso	82,81	91,21	110,75
Siyah Çay	138,22	111,86	92,81
Yeşil Çay	130,20	143,12	131,81

İlk olarak, içeceklerde bulunan antioksidanlar arasında bir takım sinerjistik interaksiyonların olabileceği üzerinde durulmaktadır. Rejenerasyon veriminin, antioksidanların sinerjisine bağlı olarak arttığı düşünülmektedir. Her ne kadar antioksidan çözeltileri ile yapılan çalışmalarda AA, EK ve KJA (Şekil 4.5) arasında açık bir sinerjizm görülme de, farklı pek çok antioksidan arasında sinerjistik etkileşimlerin meydana geldiği bilinmektedir.

AA ve sitrik asit gibi asidik bileşiklerin fenolik antioksidanlarla birlikte kullanıldıklarında ortaya çıkan sinerjistik etki buna örnek gösterilebilir. Burada asidik bileşikler metallerle şelat oluşturur. Ayrıca sinerjistik asitler, antioksidan radikali- sinerjistik kompleksi oluşturarak hem antioksidan radikalinin hem de sinerjistik radikalinin oksidasyon reaksiyonlarını katalizlemesini engeller. Bu kimyasal birliktelik, antioksidan radikalinin lipid peroksitlerini yıkma yeteneğini baskılar [140]. Bunun dışında Pinelo ve ark. [141] üzüm çekirdeğinden türetilmiş kateşin, resveratrol ve/veya kuersetin karışımında, tüm çözelti kombinasyonları için antioksidan aktivitede önce bir artış, ardından bir düşüş gözlediklerini rapor etmiştir. Ayrıca, kuersetin, rutin ve resveratrol arasında

muhtemel bir sinerjiden bahsetmişlerdir. Bununla birlikte, antosiyaninlerin de AA'i bakır gibi metal iyonlarının sebep olabileceği oksidasyonlardan koruduğu bilinmektedir [142].

Çeşitli antioksidanları farklı oranlarda içeren sıvı gıda sistemleri için de böyle interaksiyonların gerçekleşmesi mümkün olabilir. İçeceklerde çok sayıda ve çeşitli özelliklerde antioksidanın bir arada bulunması, birbiriyle sinerjist intereaksiyona girebilecek antioksidan sayısını ve etkileşim olasılığını artırır. Gerçekleşen interaksiyonlar, içeceklerin rejenerasyon yeteneğini arttırarak, saf antioksidan çözeltilerine göre rejenerasyondan çok daha fazla verim alınmasına imkan verebilir.

İkinci yaklaşım, BL matriksi ile rejenerasyon ajanı olarak kullanılan materyallerin antioksidanları arasında gerçekleşen hidrofobik – hidrofilik etkileşimlere odaklanmaktadır. Rejenerasyon ajanı antioksidanların, aktivite gösterebilmeleri için öncelikle lif matriksine difüze olmaları, daha sonra da orada bulunan ve etkinliğini kaybetmiş vaziyetteki antioksidanları (bağlı polifenolik radikaller) rejenere etmeleri gerekmektedir. Deneysel çalışmalarda kullanılan saf antioksidan çözeltilerinin tamamı hidrofilik karakterlidir. Buna karşın, içeceklerde hem hidrofilik hem de hidrofobik karakterde çeşitli antioksidan yapıları bir arada bulunmaktadır. Rejenere edilecek çözünmeyen gıda matriksleri de kompleks yapılarından dolayı hidrofobik ve hidrofilik karakterli pek çok bileşene sahiptir. Bu noktada içeceklerin yüksek rejenerasyon etkinliği sergilemelerinde, içeriklerindeki hidrofobik karakterli antioksidanların rolü olabileceği düşünülmektedir: hidrofobik antioksidanların, lif yapısındaki hidrofobik bölgelere daha kolay difüze olduğu ve orada bağlı bulunan antioksidanları rejenere etmek konusunda hidrofilik antioksidanlara göre daha istekli davrandıkları üzerinde durulmaktadır. Böylece lif matriksi üzerindeki hidrofobik bölgelere de ulaşılabilen ve oralarda da etkinlik gösterilerek rejenerasyon verimi arttırılabilmektedir. Tamamı hidrofilik karakterli olan AA, EK ve KJA çözeltileri ile bunların üçlü karışımının ise, aynı sebeplerden dolayı çok daha düşük rejenerasyon etkinliği sergiledikleri düşünülmektedir.

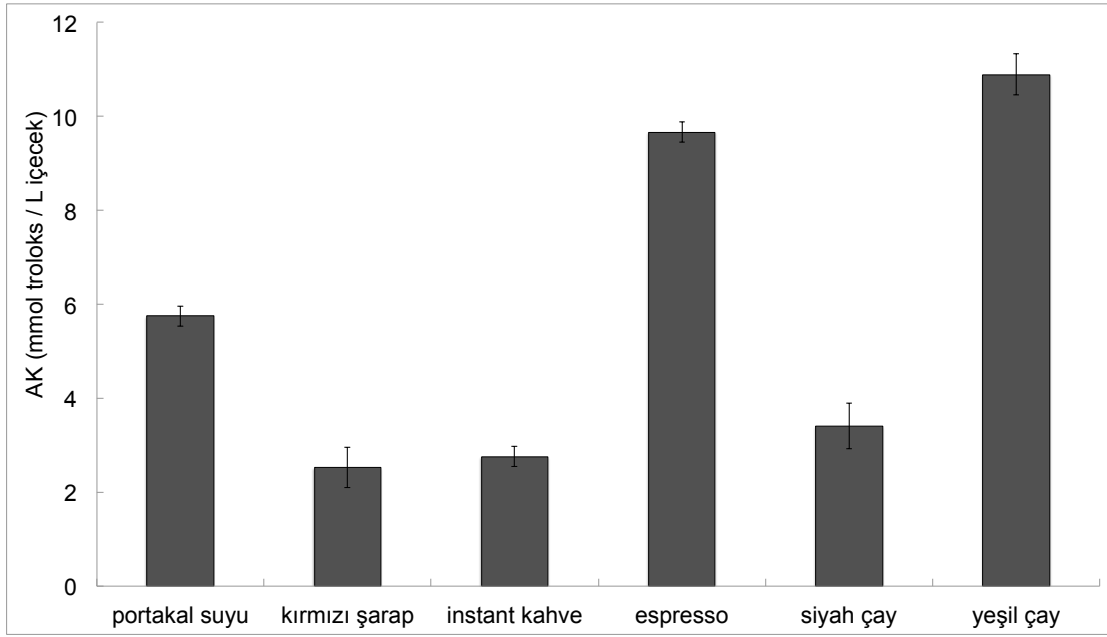
Ayrıca, içeceklerle yapılan rejenerasyon işlemlerinden %100'ün üzerinde verim alınmasının, yine içeceklerin yapısında bulunan çeşitli hidrofobik

karakterli antioksidanların lif matriksini kontamine etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Rejenerasyon sırasında lif matriksine difüzlenn antioksidanlar, rejenerasyondan sonra uygulanan yıkama işlemi ile buradan uzaklaştırılamayabilirler. Bu yolla lif matriksine ilave antioksidan sağlanarak AK arttırılabilir.

Antioksidan çözeltilerinin aksine içecekler, rejenerasyon etkinlikleri açısından da kendi aralarında önemli farklılıklar göstermişlerdir. İlk rejenerasyon basamağından sonra kırmızı şarap ve instant kahvenin rejenerasyon verimlerinde keskin bir düşüş görülürken; portakal suyu ve siyah çay ile yapılan rejenerasyonlarda ikinci ve üçüncü basamaklarda oldukça hafif bir düşüş görülmüştür. Buna karşın, espresso ve yeşil çay örnekleri ile yapılan çalışmalarda rejenerasyon basamakları ilerledikçe elde edilen verimlerde sıradışı bir artış meydana gelmiştir. Yapılan çalışma ile farklı içecek türlerinin farklı rejenerasyon profilleri ortaya koyduğu açıkça görülmüştür. Buğday kepeğinin üç rejenerasyon basamağı boyunca ölçülen AK değerleri dikkate alındığında içeceklerin rejenerasyon yetenekleri; yeşil çay > espresso > siyah çay > instant kahve > portakal suyu > kırmızı şarap sıralamasını takip etmiştir.

Çeşitli içecek türlerinin rejenerasyon yetenekleri arasında görülen bu farklılığın, bu içeceklerde bulunan çok sayıda antioksidanın redoks potansiyeli ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Redoks potansiyeli, indirgeyici ajanların düşük veya yüksek antioksidan aktivite sergilemesi ve antioksidanlardan reaktif oksijen türlerine elektron transferi üzerinde rol oynayan önemli bir parametredir [143]. Kompleks sıvı gıda sistemlerinde, farklı redoks potansiyeline sahip çeşitli antioksidanların bir arada bulunması, aynı çözünmeyen gıda matriksi üzerinde çok farklı rejenerasyon davranışlarının görülmesine sebep olmaktadır.

Öte yandan rejenerasyon ajanı olarak kullanılan antioksidanca zengin içecekler ve saf antioksidan çözeltilerinin AK'lerinin de bu türlerin rejenerasyon yeteneklerini etkileyebileceği düşünülmüş ve bu konuda yapılan araştırma sonucunda ortaya oldukça ilgi çekici bir tablo çıkmıştır.

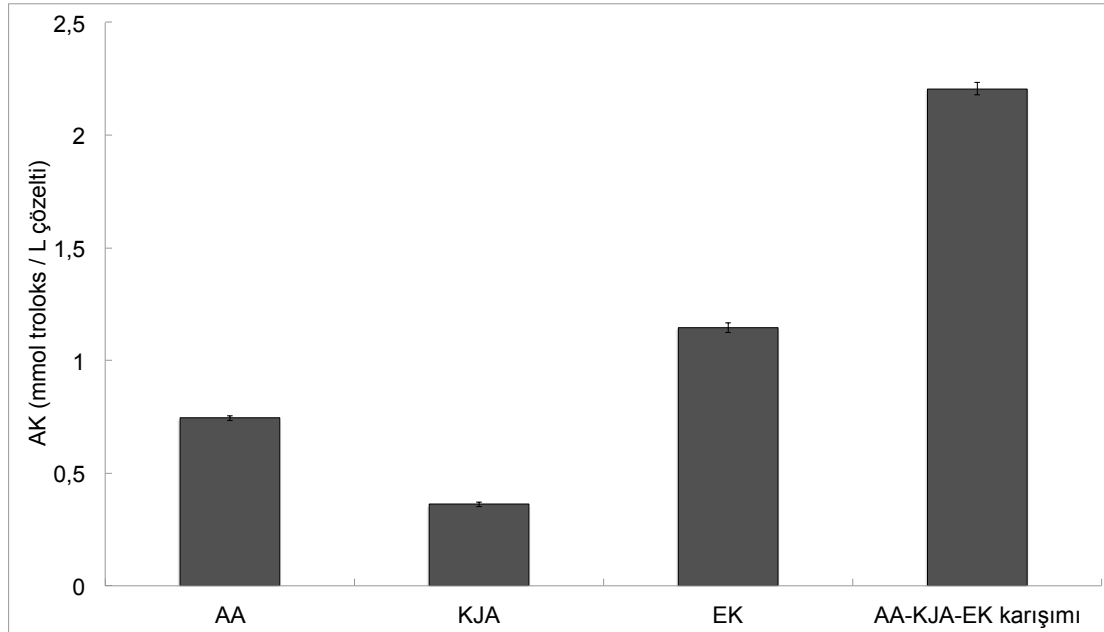


Şekil 4.7. Rejenerasyon ajanı olarak kullanılan antioksidan zengin içeceklerin ABTS•+ radikal çözeltisi ile ölçülen AK değerleri

Şekil 4.7'ye göre rejenerasyon ajanı olarak kullanılan içeceklerin AK'leri; yeşil çay > espresso > portakal suyu > siyah çay > instant kahve > kırmızı şarap sıralamasını takip etmektedir. Aynı içeceklerin rejenerasyon yetenekleri ise yeşil çay > espresso > siyah çay > instant kahve > portakal suyu > kırmızı şarap sıralamasını takip etmekteydi. Buradan, yüksek AK'ye sahip yeşil çay ve espresso gibi içeceklerin rejenerasyon yeteneklerinin de yüksek olduğu; aynı şekilde diğerlerine göre en düşük AK'ye sahip kırmızı şarabın rejenerasyon yeteneğinin de en düşük olduğu açıkça görülmektedir. Portakal suyu, siyah çay ve instant kahve örnekleri için aynı bağlantı direkt olarak görülemez de, genel olarak içeceklerde AK değeri arttıkça rejenerasyon yeteneğinin de artacağı söylenebilir.

Ancak aynı ilişki, saf antioksidan çözeltilerinde görülemediği görülmüştür. Şekil 4.8'den aynı konsantrasyondaki (100 ppm) saf antioksidan çözeltilerinin AK'lerinin AA-EK-KJA > EK > AA > KJA sıralamasını takip ettiği görülmektedir. Buna karşın, rejenerasyon davranışının kullanılan antioksidan çözeltisinin türüne göre değişmediği daha önce yapılan çalışmalarda görülmüştü. Buradan, saf

antioksidan çözeltilerinin AK'leri ile rejenerasyon yetenekleri arasında herhangi bir bağlantı bulunmadığı, AK artışının rejenerasyon yeteneğini etkilemediği söylenebilir.



Şekil 4.8. Rejenerasyon ajanı olarak kullanılan aynı konsantrasyondaki (100 ppm) saf antioksidan çözeltilerinin ABTS•+ radikal çözeltisi ile ölçülen AK değerleri

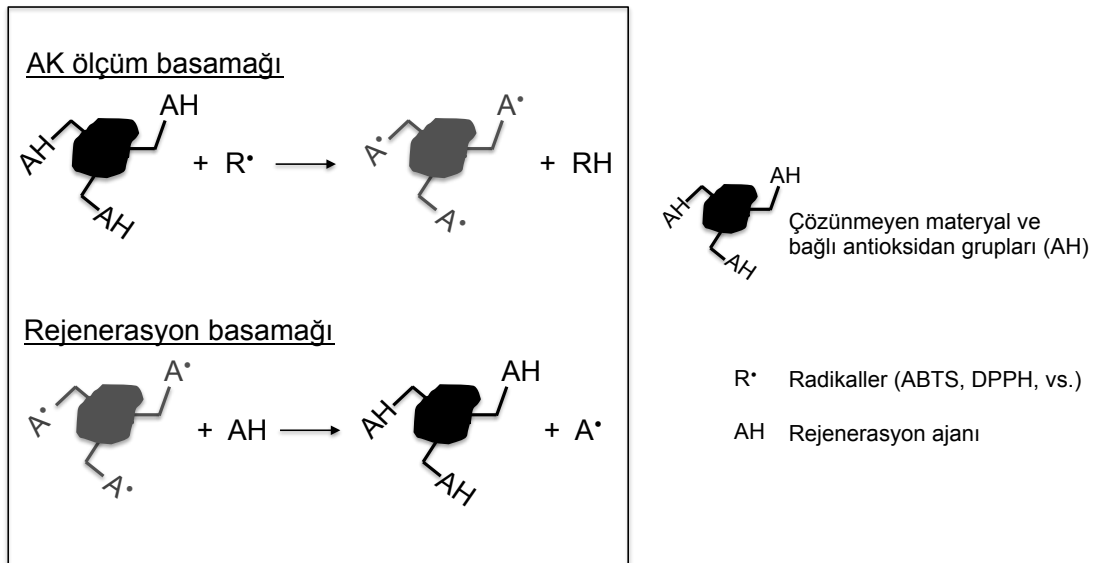
İçecekler için genel anlamda AK ile rejenerasyon yeteneği arasında bir ilişki görülürken; antioksidan çözeltileri için bu iki parametre arasında herhangi bir korelasyon saptanamamıştır. Yapılan çalışma ile, saf antioksidan çözeltilerinin AK'sine katkıda bulunan türlerin rejenerasyon yeteneklerinin aynı olduğu anlaşılmıştır. Diğer yandan, içeceklerin AK'sine katkıda bulunan türlerin rejenerasyon yeteneklerinin birbirinden farklı olduğu; genel olarak AK arttıkça rejenerasyon yeteneğinin de arttığı görülmüştür. Bu noktada, yüksek antioksidan aktivite sergileyen içeceklerde bulunan türlerin aynı zamanda rejenerasyon yeteneklerini arttıracak bir takım özelliklere sahip oldukları söylenebilir. Bunun anlaşılabilmesi için, içeceklerde bulunan antioksidanları saf antioksidanlardan ayıran özellikler üzerinde durulmalıdır.

Öncelikle, içeceklerde aynı özelliğe sahip tek tip antioksidanların aksine farklı özelliklere sahip çeşitli antioksidanlar bir arada bulunmaktadır. Daha önce bahsedildiği gibi, bu antioksidanlar arasında meydana gelebilecek sinerjistik

interaksiyonlar içeceklerin rejenerasyon yeteneğini arttırabilmektedir. Bununla birlikte içeceklerin yapılarındaki hidrofobik antioksidanlar da lif matriksindeki hidrofobik bölgelere ulaşarak bu bölgelerde rejenerasyon etkinliği gösterebilirler. Ayrıca yüksek antioksidan aktivite sergileyen türlerin redoks potansiyelleri daha düşük olacağından bunların rejenerasyon verimleri de daha yüksek olacaktır.

4.5 Rejenerasyon Mekanizması

Buraya kadar yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar, çözünmeyen gıda matrikslerinin başlangıç AK'lerinin antioksidan özellik gösteren diğer materyaller, özellikle sıvı gıdalar tarafından önemli oranda rejeneredilebildiğini ortaya koymuştur. Çözünmeyen gıda matriksine bağlı antioksidanların rejenerasyonu için önerilen mekanizma ise Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

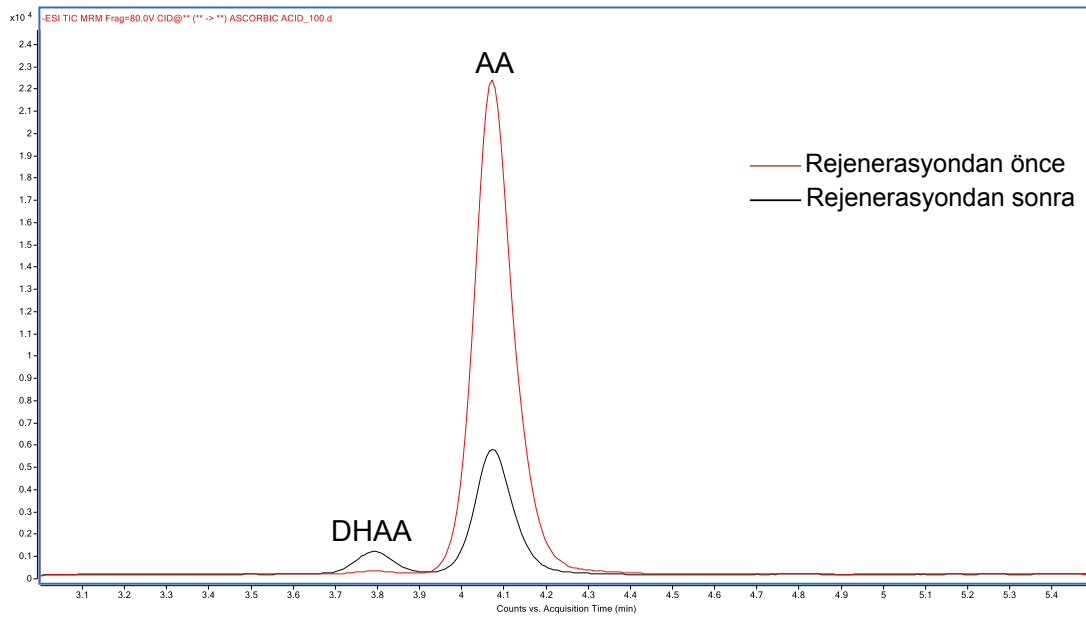


Şekil 4.9. Gıdaların çözünmeyen fraksiyonlarına bağlı antioksidanların rejenerasyonu için önerilen mekanizma

Çözünmeyen materyale bağlı bir antioksidan, ABTS•+ veya DPPH• gibi bir radikal atağına maruz kaldığında, o radikali sönmek için bir H atomu veya elektronunu vererek kendisi radikal forma dönüşür. Önerilen mekanizmaya göre; bu çevrede sinerjistik antioksidan bileşikler serbest halde

bulunurlarsa bunlar, çözünmeyen materyal üzerinde oluşan radikallerle temas edip bir H atomu veya elektronlarını vererek onları hızla rejenerere ederler ve kendileri radikal forma dönüşürler.

Deneysel çalışmalarda; çözünmeyen gıda matrisine bağlı antioksidanların, AK ölçümü için ortama eklenen ABTS•+ veya DPPH• radikallerini sönmüleyerek radikal forma dönüştüğü ve daha sonra deney ortamına eklenen rejenerasyon ajanları (saf antioksidan çözeltileri veya antioksidanca zengin içecekler) ile rejenerere edildiği, rejenerasyondan önce ve sonra gerçekleştirilen AK ölçümleri ile görülmüştür.



Şekil 4.10. Rejenerasyon işlemi sırasında AA'in DHAA'e dönüşümünü gösteren kromatogram

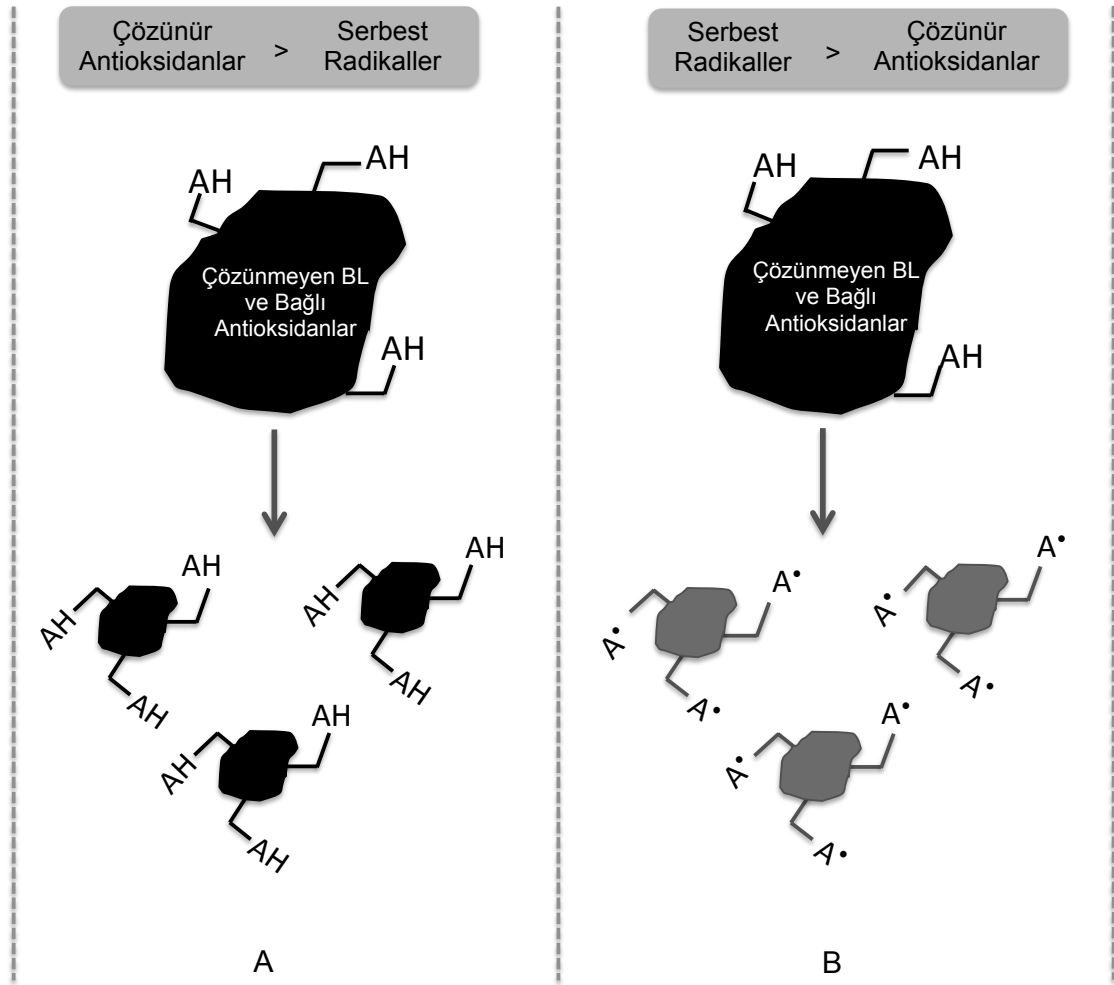
Bu mekanizmanın *in vitro* koşullarda teyit edilmesi için, buğday kepeğinden elde edilen çözünmeyen fraksiyonun AA ile rejenerasyonu sırasında AA'in, kendisinin okside formu olan DHAA'e olası dönüşümü analiz edilmiştir. Bu amaçla, bir LC- MS/MS sistemi ile, rejenerasyon ajanı olarak ortama eklenen AA çözeltilinde ve rejenerasyon işleminin ardından ortamdan uzaklaştırılan çözeltilde AA ve DHAA analizi yapılmıştır. Elde edilen kromatogram Şekil 4.10'da verilmiştir. Kromatogramdan görüldüğü gibi, başlangıçta reaksiyon sisteminde mevcut bulunan AA'in büyük bir kısmı, rejenerasyon işlemi sırasında harcanmış ve işlem sonunda DHAA oluşmuştur. Bu durum, reaksiyon ortamına eklenen AA'in, lif matrisine bağlı antioksidan radikallerine

bir H atomunu vererek onları rejenere ettiğini göstermektedir. Yapılan hesaplamalarda, deney ortamına eklenen AA'in 70%'den fazlasının DHAA'e dönüştüğü saptanmıştır. Böylece, Şekil 4.9'da gösterilen mekanizma deneysel olarak doğrulanmıştır.

Elde edilen sonuçlar, bu çalışmada önerilen ve Gİ sisteme de rahatlıkla uyarlanabilecek olan *in vitro* rejenerasyon konseptini açıkça kanıtlanmıştır. BL'lere bağlı antioksidanların başka bir antioksidan madde tarafından önemli oranda rejenere edilebildiği görülmüştür. Özellikle tahıl ürünleri için, rejenerasyon ajanı olarak antioksidanca zengin içecekler kullanıldığında, oldukça yüksek rejenerasyon verimleri elde edilmiştir. Kullanılan çözünmeyen gıda matriksi ve rejenerasyon ajanı türüne göre elde edilen rejenerasyon verimleri farklılık göstermiş; ancak hesaplanan en düşük rejenerasyon verimi bile oldukça anlamlı bulunmuştur.

4.6 *In Vivo* Yaklaşım

Bu sonuçlar, insan Gİ kanalındaki sindirim prosesi boyunca BL'lere bağlı antioksidanların *in vivo* davranışı için anlamlı olarak nitelendirilmiştir. Çeşitli çözünmeyen gıda maddeleri ve antioksidanca zengin sıvı gıdalar arasında meydana gelen rejenerasyon işleminin insan Gİ kanalında da gerçekleşebileceği düşünülmektedir. Gıdaların çözünmeyen fraksiyonlarının (BL gibi) Gİ kanalda uzun süre kaldığı (yaklaşık 24 saat) bir gerçektir. BL fraksiyonuna bağlı biyoaktif maddeler de burada kaldıkları süre zarfında antioksidan savunma sistemine katkıda bulunmaktadır. Bu noktada, antioksidanca zengin içeceklerin düzenli tüketimi ile BL bakımından zengin gıdaların Gİ kanalda sağladığı faydanın rejenere edilebileceği varsayılmıştır. Lif matriksine bağlı sönümlenmiş antioksidatif fonksiyonel uçların, bu içeceklerde bulunan antioksidanlar tarafından rejenere edilebileceği ve bu yolla aktive edilen fonksiyonel uçların, antioksidan aktivitelerini tekrar tekrar sergileyebilecekleri düşünülmektedir.



Şekil 4.11. Çözünür antioksidanlar ile serbest radikallerin dengesine bağlı olarak: (A) sağlıklı Gİ kanal ortamı ve (B) sağlıksız Gİ kanal ortamı

Bu görüşten hareketle sağlıklı (A) ve sağlıksız (B) Gİ kanal ortamları Şekil 4.11'de şematize edilmiştir. Buna göre; Gİ kanalda çözünür antioksidanların miktarı çözünür radikallerden fazla olduğunda (A), ortamdaki serbest radikallerin sönmülmesi ve çözünmeyen BL'lere bağlı antioksidanların rejenere edilmesi mümkün olacaktır. Böylece serbest radikallerin vücutta meydana getirebileceği hasarın önüne geçilecek ve daha da önemlisi Gİ kanalda uzun süre kalan bağlı antioksidanların tekrar tekrar aktivite göstermesi sağlanacaktır. BL'lere bağlı antioksidanların faydalı etkileri, onların insan Gİ kanalındaki uzun yaşam süreleri boyunca devam edecek; dolayısıyla sürekli - sağlıklı bir Gİ kanal ortamı yaratılacaktır. Oluşturulan sürekli antioksidan çevre, buradaki oksidatif stresin düzenlenmesini sağlayacak ve

başta çeşitli kanser türleri olmak üzere pek çok Gİ sistem rahatsızlığı için faydalı olacaktır.

Diğer yandan Gİ kanalındaki serbest radikallerin miktarı, çözünür antioksidanlardan fazla olduğunda (B), ortamdaki tüm serbest radikallerin sönümlenmesi ve bağlı antioksidanların rejenere edilmesi mümkün olmayacaktır. Bu durumda, serbest radikallerin aşırısı vücutta oksidatif strese neden olacak, bağlı antioksidanlar ise vücutta kaldıkları uzun süre boyunca yalnızca bir defa aktivite gösterecek ve daha sonra onlar da radikal forma dönüşeceklerdir. Bu radikal türler de serbest radikallerle birlikte pek çok hastalığın patogenezeine katkıda bulunacaklardır.

Özet olarak, sindirim sırasında ve bakteriyel metabolizma tarafından üretilen oksidatif radikal türler ile hem çözünen hem de çözünmeyen besinsel antioksidanlar arasındaki doğru denge, pek çok Gİ sistem rahatsızlığını önleyebilecek sağlıklı bir antioksidan ortam oluşmasını mümkün kılmaktadır. Gİ kanalında BL'lere bağlı biyoaktif maddelerin AK'sini rejenere edebilecek yeteneğe sahip antioksidan türlerin bulunması, bağlı antioksidanların Gİ kanalındaki antioksidatif etki süresini uzatarak bu sağlıklı ortamın sürekliliğini sağlayabilir. Bu yönüyle rejenerasyon konsepti, Gİ sistem sağlığı için umut verici bir gelişme olarak nitelendirilmektedir.

Bu çalışma ile *in vitro* ortamda gerçekleştirildiği kanıtlanan rejenerasyon işlemi, çözünmeyen fraksiyonun Gİ kanalında geçirdiği uzun süreden fayda sağlanmasına imkan verecek fonksiyonel bir beslenme rejimi tasarlanması için yol gösterici olacaktır. "Simbiyoz antioksidan beslenme" olarak tanımlanabilecek bu beslenme rejimi ile tüketilen BL ve antioksidanların Gİ kanalında sağladığı faydanın maksimize edilmesi hedeflenir. Ortak beslenme olarak da tanımlanan simbiyoz beslenme, iki canlının tek bir organizma gibi birbirleriyle yardımlaşarak yaşamaları anlamına gelmektedir. Aynı şekilde BL'ler ve antioksidanların da birbiriyle yardımlaşması; daha somut bir ifadeyle birbirlerinin sağladığı faydayı desteklemesi simbiyotik beslenme rejiminin temelini oluşturur. Tahıl ürünleri başta olmak üzere meyve ve sebzeler, baklagiller ve sert kabuklu yemişler gibi BL açısından zengin gıdaların yer aldığı bir diyet, antioksidanca zengin ve sık tüketilen çay, kahve ve portakal suyu gibi içeceklerle düzenli olarak desteklendiğinde Gİ kanalında yaratılan

sağlıklı ortam sŸrdŸrŸlŸebilir olacaktır. Bununla birlikte, bu çalışmada ŸzŸnmeyen gıda matriksi olarak kullanılıp rejenerasyon davranışları test edilen ve yan ŸrŸn olarak ortaya çıkan kuruyemiş zarlarının, Ÿzellikle yŸksek verimlerle rejenere edilen yerfıstığı zarının, yem ve yakıt olmaktan Ÿte fonksiyonel gıda Ÿretiminde kullanılması adına endŸstriyel anlamda da faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Kaliora, A. C., Dedoussis, G. V., Natural antioxidant compounds in risk factors for CVD, *Pharmacological Research*, 56, 99-109, **2007**
- [2] Gökmen, V., Serpen, A., Fogliano, V., Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the 'QUENCHER' approach, *Trends in Food Science & Technology*, 20, 278-288, **2009**
- [3] Pastoriza, S., Delgado-Andrade, C., Haro, A., Rufián-Henares, J.A, A physiologic approach to test the global antioxidant response of foods. The GAR method, *Food Chemistry*, 129, 1926-1932, **2011**
- [4] Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala. J.F., González-Aguilar, G.A., The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants, *Journal of Food Science*, 76, R6-R15, **2011**
- [5] Lattimer, J.M., Haub, M.D., Effects of DF and its Components on Metabolic Health, *Nutrients*, 2, 1266-1289, **2010**
- [6] Brownlee I., Dettmar P., Strugala V., Pearson J., The interaction of dietary fibres with the colon, *Current Nutrition and Food Science*, 2, 243-64, **2006**
- [7] Hoffmann J., Linseisen J., Riedl J., Wolfram G., Dietary fiber reduces the antioxidative effect of a carotenoid and α -tocopherol mixture on LDL oxidation ex vivo in humans, *European Journal of Nutrition*, 38, 278-285, **2000**
- [8] Arranz, S., Silván, J. M., Saura-Calixto, F., Non extractable polyphenols, usually ignored, are the major part of dietary polyphenols: a study on the Spanish diet, *Molecular Nutrition & Food Research*, 54, 1-13, **2010**
- [9] Mainai, G., Periago, M. J., Catasta, G., Toti, E., Goñi, I., Bysted, A., Granado-Lorencio, F., Olmedilla, B., Knuthsen, P., Valoti, M., Böhm, V., Mayer, E., Behsnilian, D., Schelemer, U., Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans, *Molecular Nutrition & Food Research*, 53, 194-218, **2009**
- [10] Saura-Calixto, F., Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 43-49, **2011**
- [11] Vitaglione, P., Napolitano, A., Fogliano, V., Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 451-463, **2008**
- [12] Visioli, F., De La Castra, C.A., Andres-Lacueva, C., Aviram, M., Calhau, C., Cassano, A., D'Archivio, M., Faria, A., Fave, G., Fogliano, V., Llorach, R., Vitaglione, P., Zoratti, M., Edeas, M., Polyphenols and Human Health: A Prospectus, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 524-546, **2011**
- [13] Babbs, C. F., Free radicals and the etiology of colon cancer, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 8, 191-200, **1990**

- [14] Rao P, S., Kalva, S., Yerramilli, A., Mamidi, S., Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants, *Free Radicals and Antioxidants*, 1, 2-7, **2011**
- [15] Gutteridge, J. M. C., Halliwell, B., Free radicals and antioxidants in the year 2000: A historical look to the future, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899, 136–147, **2000**
- [16] Arora, A., Sairam, R. K., Srivastave, G. C., Oxidative stress and antioxidative systems in plants, *Current Science*, 82, 1227–1238, **2002**
- [17] Lü, J. M., Lin, H.P., Yao, Q., Chen, C., Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14, 840-860, **2010**
- [18] Brewer, M.S., Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10, 221-247, **2011**
- [19] Srinivasan, D., Parkin, K.L., Fennema, O.R., 4th ed., *Fennema's food chemistry*, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1144, **2008**
- [20] Lucas-Abellán, C., Mercader-Ros, M.T., Zafrilla, M.P., Gabaldón, J.A., Núñez-Delicado, E., Comparative study of different methods to measure antioxidant activity of resveratrol in the presence of cyclodextrins, *Food and Chemical Technology*, 49, 1255-1260, **2011**
- [21] Leopoldini, V., Russo, N., Chiodo, S., Toscano, M., Iron chelation by the powerful antioxidant flavonoid quercetin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6343–6351, **2006**
- [22] Pokorny, J., Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidants?, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 629-642, **2007**
- [23] Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., Aster, J., Cellular Adaptations, cell injury and cell death. *Robbins and Cotran, Pathologic basis of disease*, Saunders, Philadelphia, 15-18, **2009**
- [24] Panchatcharam, M., Miriyala, S., Gayathri, V.S., Suguna, L., Curcumin improves wound healing by modulating collagen and decreasing reactive oxygen species, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 290, 87–96, **2006**
- [25] Shih, P.H., Yeh, C.T., Yen, G.C., Anthocyanins induce the activation of phase II enzymes through the antioxidant response element pathway against oxidative stress-induced apoptosis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 9427–35, **2007**
- [26] Kołakowska, A., Bartosz, G., Oxidation of Food Components: An Introduction. *Food Oxidants and Antioxidants: Chemical, Biological, and Functional Properties*, (ed: Bartosz, G.), CRC Press, **2013**
- [27] Reische, D. W., Lilliard, D. A., Eitenmiller, R. R., Antioxidants. *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, (eds: Akoh, C. C., Min, D., B.), Marcel Dekker, New York, **2002**
- [28] Vitaglione, P., Napolitano, A., Fogliano, V., Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut,

Trends in Food Science and Technology, 19, 451-463, **2008**

- [29] Shahidi, F., Naczk, M., Antioxidant Properties of Food Phenolics. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*, CRC Press, **2004**
- [30] Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M., Corke, H., Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7749–59, **2005**
- [31] Geldof, N., Engeseth, N. J., Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3050–3055, **2002**
- [32] Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Antioxidants, *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*, (eds: Nollet, L. M. L., Toldra, F.), CRC Press, Boca Raton, 310-321, **2010**
- [33] Frankel, E.N., Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality, *Food Chemistry*, 57, 51-55, **1996**
- [34] Traber, M.G., Atkinson, J., Vitamin E, antioxidant and nothing more, *Free Radical Biology & Medicine*, 43, 4-15, **2007**
- [35] Schneider, C., Chemistry and biology of vitamin E, *Molecular Nutrition & Food Research*, 49, 7-30, **2005**
- [36] Krinsky, N.I., Johnson, E.J., Carotenoid actions and their relation to health and disease, *Molecular Aspects of Medicine*, 26, 459-516, **2005**
- [37] Kaur, C., Kapoor, H.C., Antioxidants in fruits and vegetables- the millennium's health, *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 703-725, **2001**
- [38] Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F., Antioxidant and free radical scavenging activities of whole wheat and milling fractions, *Food Chemistry*, 101, 1151–1157, **2007**
- [39] Dimitrios, B., Sources of Natural Phenolic Antioxidants, *Trends in Food Science & Technology*, 17, 505–512, **2006**
- [40] Lugasi, A., Polyphenol content and antioxidant properties of beer, *Acta Alimentaria*, 32, 181–192, **2003**
- [41] Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H. J., Lee, C. Y., Cocoa has more phenolic phytochemicals and higher antioxidant capacity than teas and red wine, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7292– 7295, **2003**
- [42] Fiore, A., La Fauci, L., Cervellati, R., Guerra, M. C., Speroni, E., Costa, S., Galvano, G., de Lorenzo, A., Bacchelli, V., Fogliano, V., Galveni, F., Antioxidant activity of pasteurized and sterilized commercial red orange juices, *Molecular Nutrition & Food Research*, 49, 1129–1135, **2005**
- [43] Lichtenthaler, R., Marx, F., Total oxidant scavenging capacities of common European fruit and vegetable juices, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 103–110, **2003**
- [44] Rice-Evans, C., Miller, N. J., Paganga, G., Antioxidant properties of

phenolic compounds, *Trends in Plant Science*, 2, 152-159, **1997**

[45] Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., Chun, K. O., Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods, *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 1043–1048, **2011**

[46] Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841–1856, **2005**

[47] Prior, R.L., Wu, X., Schovich, K., Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 52–63, **2005**

[48] Arnao, M.B., Cano, A., Acosta, M., Methods to measure the antioxidant activity in plant material. A comparative discussion, *Free Radical Research*, 31, 89–96, **1999**

[49] Lemanska, K., Szymusiak, H., Tyrakowska, B., Zielinski, R., Soffer, A.E.M.F., Rietjens, I.M.C.M., The influence of pH on the antioxidant property and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 31, 869–881, **2001**

[50] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28, 25–30, **1995**

[51] Sripriya, G., Chandrasekharan, K., Murty, V.S., Chandra, T.S., ESR spectroscopic studies on free radical quenching action of finger millet (*Eleusine coracana*), *Food Chemistry*, 47, 537–540, **1996**

[52] Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C., Kinetics and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 30, 609–615, **1997**

[53] Mahinda, W., Shahidi, F., Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals, *Food Chemistry*, 70, 17–26, **2000**

[54] Peyrat-Maillard, M.N., Bonnely, S., Berset, C., Determination of the antioxidant activity of phenolic compounds by coulometric detection, *Talanta*, 51, 709–716, **2000**

[55] Fukumoto, L.R., Mazza, G., Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3597–3604, **2000**

[56] Bravo, L., Abia, R., Saura-Calixto, F., Polyphenols as dietary fiber associated compounds. Comparative study on in vivo and in vitro properties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1481–1487, **1994**

[57] Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 5036-5040, **2005**

[58] Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Díaz- Rubio, M. E., Serranob, J., Goñib, I., Saura-Calixtoa, F., Updated methodology to

determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results, *Food Research International*, 41, 274–285, **2008**

[59] Serpen, A., Capuano, E., Fogliano, V., Gökmen, V., A New Procedure To Measure the Antioxidant Activity of Insoluble Food Components, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7676-7681, **2007**

[60] Sies, H., Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants, *Experimental Physiology*, 82, 291-295, **1997**

[61] Halliwell, B., Antioxidants in human health and disease, *Annual Review of Nutrition*, 16, 33-50, **1996**

[62] Diplock, A. T., Antioxidants and disease prevention, *Molecular Aspects of Medicine*, 15, 293–376 ,**1994**

[63] Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jurgens, G., The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL, *Free Radical Biology & Medicine*, 13, 341–390, **1992**

[64] Luis, A., Navab, M., Lipoprotein oxidation and gene expression in the artery wall: New opportunities for pharmacologic intervention in atherosclerosis, *Biochemical Pharmacology*, 46, 2119–2126, **1993**

[65] Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C., Free radicals, Antioxidants in Disease and Health, *International Journal of Biomedical Science*, 4, 89-96, **2008**

[66] Griending, K. K., FitzGerald, G. A., Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II: Animal and human studies, *Circulation*, 108, 2034–2040, **2003**

[67] Boekholdt, S. M., Meuwese, M. C., Day, N. E., Luben, R., Welch, A., Wareham, N. J., Khaw, K.T., Plasma concentrations of ascorbic acid and C-reactive protein, and risk of future coronary artery disease, in apparently healthy men and women: The EPIC-Norfolk prospective population study, *British Journal of Nutrition*, 96, 516–522, **2006**

[68] Salonen, R. M., Nyyssonen, K., Kaikkonen, J., Porkkala-Sarataho, E., Voutilainen, S., Rissanen, T. H., Tuomainen, T. P., Valkonen, V. P., Ristonmaa, U., Lakka, H. M., Vanharanta, M., Salonen, J. T., Poulsen, H. E., Six-year effect of combined vitamin C and E supplementation on atherosclerotic progression: The Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention (ASAP) study, *Circulation*, 107, 947–953, **2003**

[69] Ellingsen, I., Hjerkin, E. M., Seljeflot, I., Arnesen, H., Tonstad, S., Consumption of fruit and berries is inversely associated with carotid atherosclerosis in elderly men, *British Journal of Nutrition*, 99, 674–681, **2008**

[70] Bryans, J. A., Judd, P. A., Ellis, P. R., The effect of consuming instant black tea on postprandial plasma glucose and insulin concentrations in healthy humans, *Journal of the American College of Nutrition*, 26, 471–477, **2007**

[71] DeVries, J. W., On defining dietary fibre, *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 37-43, **2003**

- [72] AACC Report, The definition of dietary fiber, *Cereal Foods World*, 46, 112-126, **2001**
- [73] Ferguson, L. R., Chavan, R. R., Harris, P. J., Changing concepts of dietary fiber: implications for carcinogenesis, *Nutrition and Cancer*, 39, 155-169, **2001**
- [74] Dreher, M. L., Dietary Fiber Overview. *Handbook of Dietary Fiber*, (eds: Cho, S. S., Dreher M. L.), CRC Press, USA, **2001**
- [75] Haber, G.B., Heaton, K.W., Murphy, D., Burroughs, L.F., Depletion and disruption of dietary fibre. Effects on satiety, plasma- glucose, and serum-insulin, *Lancet*, 2, 679-682, **1977**
- [76] Cummings, J.H., The effect of dietary fiber on fecal weight and composition. *Dietary Fiber in Human Nutrition*, (ed: Spiller, G.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 183-252, **2001**
- [77] Roberfroid, M.B., Introducing inulin-type fructans, *British Journal of Nutrition*, 93, S13-S25, **2005**
- [78] Kahlon, T. S., Chow, F. I., Hoefler, J. L., Betschart, A. A., Effect of wheat bran fiber and bran particle size on fat and fiber digestibility and gastrointestinal tract measurements in the rat, *Cereal Chemistry*, 78, 481-484, **2001**
- [79] Logan, A. C., Dietary fiber, mood, and behavior, *Nutrition*, 22, 213-214, **2006**
- [80] Tucker, L. A., Thomas, K. S., Increasing total fiber intake reduces risk of weight and fat gains in women, *Journal of Nutrition*, 139, 576-581, **2009**
- [81] Meyer, K. A., Kushi, L. H., Jacobs, D. R., Jr., Slavin, J., Sellers, T. A., Folsom, A. R., Carbohydrates, dietary fiber, and incident type 2 diabetes in older women, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 921-930, **2000**
- [82] Park, Y., Brinton, L. A., Subar, A. F., Hollenbeck, A., Schatzkin, A., Dietary fiber intake and risk of breast cancer in postmenopausal women: The National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90, 664-671, **2009**
- [83] Streppel, M. T., Ocke, M. C., Boshuizen, H. C., Kok, F. J., Kromhout, D., Dietary fiber intake in relation to coronary heart disease and all-cause mortality over 40 y: The Zutphen Study, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88, 1119-1125, **2008**
- [84] FDA, *Health claims: Fiber-containing grain products, fruits and vegetables and cancer*, Code of Federal Regulations, Volume 2, Silver Spring, MD, USA, **2008**
- [85] Nomura, A. M., Hankin, J. H., Henderson, B. E., Wilkens, L. R., Murphy, S. P., Pike, M. C., Le Marchand, L., Stram, D. O., Monroe, K. R., Kolonel, L. N., Dietary fiber and colorectal cancer risk: The multiethnic cohort study, *Cancer Causes Control*, 18, 753-764, **2007**

- [86] Schatzkin, A., Park, Y., Leitzmann, M. F., Hollenbeck, A. R., Cross, A. J., Prospective study of dietary fiber, whole grain foods, and small intestinal cancer, *Gastroenterology*, 135, 1163-1167, **2008**
- [87] Folino, M., McIntyre, A., Young, G. P., Dietary fibers differ in their effects on large bowel epithelial proliferation and fecal fermentation-dependant events in rats, *Journal of Nutrition*, 125, 1521-1528, **1995**
- [88] Harris, P. J., Ferguson, L. R., Dietary fibre: its composition and role in protection against colorectal cancer, *Mutation Research*, 290, 97-110, **1993**
- [89] Reddy, B. S., Dietary fiber and colon cancer: animal model studies, *Preventive Medicine*, 16, 559-565, **1987**
- [90] Young, G. P., Hu, Y., Le Leu, R. K., Nyskohus, L., Dietary fibre and colorectal cancer: A model for environment—gene interactions, *Molecular Nutrition & Food Research*, 49, 571-584, **2005**
- [91] FDA, *Health claims: fruits, vegetables, and grain products that contain fiber, particularly soluble fiber, and risk of coronary heart disease*, Code of Federal Regulations, Volume 2, Silver Spring, MD, USA, **2008**
- [92] Pereira, M. A., O'Reilly, E., Augustsson, K., Fraser, G. E., Goldbourt, U., Heitmann, B. L., Hallmans, G., Knekt, P., Liu, S. M., Pietinen, P., Spiegelman, D., Stevens, J., Virtamo, J., Willett, W. C., Ascherio, A., Dietary fiber and risk of coronary heart disease—A pooled analysis of cohort studies, *Archives of Internal Medicine*, 164, 370-376, **2004**
- [93] Story, J.A., Furumoto, E. J., Buhman, K. K., Dietary fiber and bile acid metabolism—an update, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 427, 259-266, **1997**
- [94] Kirby, R. W., Anderson, J. W., Sieling, B., Rees, E. D., Chen, W. J., Miller, R. E., Kay, R. M., Oat-bran intake selectively lowers serum low-density lipoprotein cholesterol concentrations of hypercholesterolemic men, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 34, 824–829, **1981**
- [95] Amaral, L., Morgan, D., Stephen, A. M., Whiting, S., Effect of Propionate on Lipid-Metabolism in Healthy-Human Subjects, *The FASEB Journal*, 6, A1655, **1992**
- [96] Esposito, K., Nappo, F., Giugliano, F., Di Palo, C., Ciotola, M., Barbieri, M., Paolisso, G., Giugliano, D., Meal modulation of circulating interleukin 18 and adiponectin concentrations in healthy subjects and in patients with type 2 diabetes mellitus, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 1135-1140, **2003**
- [97] Ma, Y. S., Griffith, J. A., Chasan-Taber, L., Olendzki, B. C., Jackson, E., Stanek, E. J., Li, W. J., Pagoto, S. L., Hafner, A. R., Ockene, I. S., Association between dietary fiber and serum C-reactive protein, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83, 760-766, **2006**
- [98] Ogden, C. L., Carroll, M. D., Curtin, L. R., McDowell, M. A., Tabak, C. J., Flegal, K. M., Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999–2004, *The Journal of American Medical Association*, 295, 1549-1555, **2006**

- [99] Mokdad, A. H., Ford, E. S., Bowman, B. A., Dietz, W. H., Vinicor, F., Bales, V. S., Marks, J. S., Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001, *The Journal of American Medical Association*, 289, 76-79, **2003**
- [100] Keenan, H. A., Doria, A., Aiello, L. P., King, G. L., Positivity of C-peptide, GADA and IA2 antibodies in type 1 diabetic patients with extreme duration, *Diabetes*, 55, A65, **2006**
- [101] Jenkins, D. J., Wolever, T. M., Leeds, A. R., Gassull, M. A., Haisman, P., Dilawari, J., Goff, D. V., Metz, G. L., Alberti, K. G., Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance: Importance of viscosity, *British Medical Journal*, 1, 1392-1394, **1978**
- [102] Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Remesy, C., Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies, *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 230S-242S, **2005**
- [103] Bjelakovic, G., Nikolova, D., Simonetti, R., Gloud, C., Antioxidants supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis, *Lancet*, 364, 1219-1228, **2004**
- [104] Jiménez-Escrig, A., Rinco´n, M., Pulido, R., Saura-Calixto, F., Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fibre, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5489-5493, **2001**
- [105] Martínez-Tomé, M., Murcia, M. A., Frega, L., Ruggirei, S., Jimenez, A. M., Roses, F., Parras, P., Evaluation of antioxidant capacity of cereal brans, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4690-4699, **2004**
- [106] Saura-Calixto, F., Antioxidant dietary fibre product: a new concept and a potential food ingredient, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4303-4306, **1998**
- [107] Yu, L., Scott, H., Perret, J., Harris, M., Wilson, J., Qian, M., Free radical scavenging properties of wheat extract, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1619-1624, **2002**
- [108] Hanlin, R. L., Hrmova, M., Harbertson, J. F., Downey, M. O., Condensed tannins and grape cell wall interactions and their impact on tannins extractability into wine, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16, 173-188, **2010**
- [109] Eastwood, M. A., Morris, E. R., Physical properties of dietary fiber that influence physiological function: a model for polymers along the gastrointestinal tract, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 55, 436-42, **1992**
- [110] Arranz, S., Saura-Calixto, F., Shaha, S., Kroon, P. A., High contents of nonextractable polyphenols in fruits suggest that polyphenol contents of plant foods have been underestimated, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 7298-7303, **2009**
- [111] Silvan, J. M., Morales, F. J., Saura-Calixto, F., Conceptual study on Maillardized dietary fiber in coffee, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 12244-12249, **2010**

- [112] Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., Conte, A., In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols, *Food Chemistry*, 120, 599–606, **2009**
- [113] Del Rio, D., Costa, L. G., Lean, M. E.J., Crozier, A., Polyphenols and health: what compounds are involved?, *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 20,1–6, **2009**
- [114] Montagne, L., Pluske, J. R., Hampson, D. J., A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals, *Animal Feed Science and Technology*, 108, 95–117, **2003**
- [115] Adiotomre, J., Eastwood, M. A., Edwards, C. A., Brydon, W. G., Dietary fiber: in vitro methods that anticipate nutrition and metabolic activity in humans, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 52, 128–34, **1990**
- [116] Rechner, A. R., Smith, M. A., Kuhnle, G., Gibson, G.R., Debnam, E. S., Srai, S. K. S., Moore, K. P., Rice-Evans, C. A., Colonic metabolism of dietary polyphenols: influence of structure on microbial fermentation products, *Free Radical Biology & Medicine*, 36, 212–25, **2004**
- [117] González, I., Serrano, J., The intake of dietary fiber from grape seeds modifies the antioxidant status in rat cecum, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1877–81, **2005**
- [118] Bravo, L., Man˜as, E., Saura-Calixto, F., Dietary non-extractable condensed tannins as indigestible compounds: effects on faecal weight, and protein and fat excretion, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63, 63–68, **1993**
- [119] Rondini, L., Peyrat-Maillard, M. N., Marsset-Baglieri, A., Fromentin, G., Durand, P., Tome, D., Prost, M., Berset, C., Bound ferulic acid from bran is more bioavailable than the free compound in rat, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4338-4343, **2004**
- [120] Chen, C. Y., Milbury, P. E., Kwak, H. K., Collins, F. W., Samuel, P., Blumberg, J. B., Avenanthramides and phenolic acids from oats are bioavailable and act synergistically with vitamin C to enhance hamster and human LDL resistance to oxidation, *Journal of Nutrition*, 134, 1459-1466, **2004**
- [121] Harder, H., Tetens, I., Let, M. B., Meyer, A. S., Rye bran bread intake elevates urinary excretion of ferulic acid in humans, but does not affect the susceptibility of LDL to oxidation ex vivo, *European Journal of Nutrition*, 43, 230-236, **2004**
- [122] Knasmüller, S., DeMarini, D. M., Johnson, I., Gerhauser, C., *Chemoprevention of Cancer and DNA Damage by Dietary Factors*, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany, **2009**
- [123] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237, **1999**

- [124] Moore, J., Hao, Z., Zhou, K., Luther, M., Costa, J., Yu, L.L., Carotenoid, tocopherol, phenolic acid, and antioxidant properties of Maryland-grown soft wheat, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 6649–6657, **2005**
- [125] Zilic, S., Serpen, A., Akilloğlu, G., Gökmen, V., Vancetovic, J., Phenolic Compounds, Carotenoids, Anthocyanins, and Antioxidant Capacity of Colored Maize (*Zea Mays* L.) Kernels, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 1224-1231, **2012**
- [126] Serpen, A., Gökmen, V., Fogliano, V., Total antioxidant capacities of raw and cooked meats, *Meat Science*, 90, 60-65, **2009**
- [127] Daniele Del Rio, D., Calani, L., Dall’Asta, M., Brighenti, F., Polyphenolic Composition of Hazelnut Skin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 9935-9941, **2011**
- [128] Liu, Z., Yang, Q., Zhang, C., Zhang, Y., Wang, S., Sun, J., Study on Antioxidant Activity of Proanthocyanidins from Peanut Skin, *Advanced Materials Research*, 197-198, 1582-1586, **2011**
- [129] Tomaino, A., Martorana, M., Arcoraci, T., Monteleone, D., Giovinazzo, C., Saija, A., Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins, *Biochimie*, 92, 1115-1122, **2010**
- [130] Bunzel, M., Ralph, J., Marita, J. M., Hatfeld, R. D., Steinhart, H., Diferulates as structural components in soluble and insoluble cereal dietary fibre, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 653-660, **2001**
- [131] Wakabayashi, K., Regulation by Gravity of Ferulate Formation in Cell Walls of Rice Seedlings (Ferulate), *JAXA Special Publication*, 05- 037, 2-7, **2007**
- [132] Kroon, P. A., Faulds, C. B., Ryden, P., Robertson, J. A., Williamson, G., Release of Covalently Bound Ferulic Acid from Fiber in the Human Colon, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 661-667, **1997**
- [133] Stevens, B. J. H., Selvendran, R. R., Bayliss, C. E., Turner, R., Degradation of cell wall material of apple and wheat bran by human fecal bacteria *in vitro*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 44, 151-166, **1988**
- [134] Adam, A., Crespy, V., Levrat-Verny, M. A., Leenhardt, F., Leuillet, M., Demigné, C., Rémésy, C., The bioavailability of ferulic acid is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats, *The Journal of Nutrition*, 132, 1962– 1968, **2002**
- [135] Zhao, Z., Egashira, Y., Sanada, H., Ferulic acid sugar esters are recovered in rat plasma and urine mainly as the sulfoglucuronide of ferulic acid, *Journal of Nutrition*, 133, 1355–1361, **2003**

- [136] Oudgenoeg, G., Boeriu, C. G., Hilhorst, M. H., Gruppen, H., Laane, N. C. M., Voragen, A. G. J., inv., Method of enzymatically cross-linking proteins and phenolic polymers, European Patent Application, **2002**
- [137] Stone, B., Cell walls of cereal grains, The Regional Institute, *55th Australian Cereal Chemistry Conference & Pacific Rim Symposium*, 3-7 July, Sydney, Australia, **2005**
- [138] Molyneux, P., The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26, 211-219, **2004**
- [139] Oakenfull, D., Physicochemical Properties of Dietary Fiber: Overview. *Handbook of Dietary Fiber*, (eds: Cho, S. S., Dreher M. L.), CRC Press, USA, 195-206, **2001**
- [140] Aurand, L. W., Woods, A. E., Lipids. *Food chemistry*, (eds: Aurand, L.W., Woods, A. E.), The AVI Publishing Company, Westport, Conn, 125–126, **1979**
- [141] Pinelo, M., Manzocco, L., Nunez, M. J., Nicoli, M. C., Interaction among phenols in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1177–1180, **2004**
- [142] Sarma, A. D., Sreelakshmi, Y., Sharma, R., Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxidation, *Phytochemistry*, 45, 671–674, **1997**
- [143] Becker, E. M., Nissen, L. R., Skibsted, L. H., Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects, *European Food Research and Technology*, 219, 561–571, **2004**

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Ecem Evrim ÇELİK

Doğum Yeri: Ankara

Medeni Hali : Bekar

E- posta: ecemevrin@hacettepe.edu.tr

Eğitim

Lise 2004- 2007 TED Polatlı Koleji

Lisans 2007- 2011 Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Yüksek Lisans 2011-2013 Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce- Çok iyi

İş Deneyimi

2011- 2013 Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü- Ankara

Deneyim Alanları

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

Chemical Reactions in Food VII, Poster Sunumu, Prag, Çek Cumhuriyeti, Kasım 2012

Eurofoodchem XVII, Sözlü Sunum, İstanbul, Türkiye, Mayıs 2013