



Testing of Reproducibility and Consistency of Commonly Used Five Different Antioxidant Capacity Methods on Turnip Juice

Metin Konuş^{1,a,*}, Can Yılmaz^{1,b}, Nizamettin Özdoğan^{2,c}, Doğan Çetin^{1,d},
Nurhan Didem Kızılkın^{1,e}, Abdussamet Kayhan^{1,f}

¹Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science, Van Yüzüncü Yıl University, 65080 Van, Turkey

²Environmental Engineering Department, Faculty of Engineering, Bülent Ecevit University, 67100 Zonguldak, Turkey

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 30/09/2019 Accepted : 01/11/2019</p> <p>Keywords: Antioxidant Antioxidant capacity Free radical Turnip juice Antioxidant capacity methods</p>	<p>Antioxidants, usually contain phenolic groups, molecules may prevent the formation of free radicals or by blocking the radicals to prevent damage to the cell. Antioxidant molecules can be produced by the body or taken into the body through foods. Today, there are many different methods used to measure antioxidant capacity. In these methods, measurements are usually carried out by adding the tested substances into a solution containing free radicals. These methods can give different results depending on the characteristics of the reactant used. In this study, the reproducibility and consistency of five different antioxidant capacity methods (DPPH, ABTS, galvinoxil, phosphomolybdenum and FRAP) in commercially available and homemade turnip samples were tested. At the end of the study, antioxidant activities of the tested samples were evaluated. According to the evaluation of the antioxidant activities (from higher to lower) of these samples, the results of, DPPH, galvinoxyl, phosphomolybdenum and FRAP methods were very similar. However, ABTS method results showed difference compared to other method results. As a result of study, reproducibility and consistency of results of DPPH, galvinoxyl, phosphomolybdenum and FRAP methods were determined.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 7(12): 2233-2238, 2019

Yaygın Kullanılan Beş Farklı Antioksidan Kapasite Metodunun Şalgam Suyu Üzerinde Tekrarlanabilirliğinin ve Tutarlılığının Test Edilmesi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 30/09/2019 Kabul : 01/11/2019</p> <p>Anahtar Kelimeler: Antioksidan Antioksidan kapasite Serbest radikal Şalgam suyu Antioksidan kapasite metodları</p>	<p>Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşmasını ya da radikalleri süpürerek hücrenin hasar görmesini engelleyen ve genellikle yapısında fenolik grup taşıyan moleküllere denmektedir. Antioksidan moleküller, vücut tarafından üretilebilmekte ya da gıdalar aracılığıyla vücuda alınabilmektedir. Günümüzde antioksidan kapasite ölçümleri için kullanılan birçok farklı metot bulunmaktadır. Bu metotlar genellikle test edilen maddelerin serbest radikalleri içeren bir çözelti içerisine eklenerek ölçülmesiyle gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemler kullanılan tepkenin özelliğine bağlı olarak farklı sonuçlar verebilmektedir. Bu çalışmada, ticari olarak satılan ve ev yapımı olan şalgam numunelerinde beş farklı antioksidan kapasite metodunun (DPPH, ABTS, galvinoxil, fosfomolibden ve FRAP) tekrarlanabilirliği ve tutarlılığı test edilmiştir. Çalışmanın sonucunda, test edilen şalgam suyu örneklerin antioksidan aktivitelerine bakılarak değerlendirme yapılmıştır. Bu örneklerinin antioksidan aktivitelerinin sıralamasına bakılarak yapılan (yüksekten düşüğe doğru) değerlendirme sonucunda DPPH, Galvinoxil, Fosfomolibden ve FRAP metodlarında ki sonuçların birbirine oldukça benzer olduğu belirlenmiştir. Buna karşın, ABTS metoduna göre elde edilen sıralama ise diğer metotlara göre farklılık göstermiştir. Çalışma sonucunda, DPPH, galvinoxil, fosfomolibden ve FRAP metotları sonuçlarının tutarlı ve tekrarlanabilir olduğu belirlenmiştir.</p>

^a mkonus@yyu.edu.tr

^c nozdogan@beun.edu.tr

^e nurhandidemkizilkın@hotmail.com

^b <https://orcid.org/0000-0002-9953-1375>

^d <https://orcid.org/0000-0001-5520-5124>

^f <https://orcid.org/0000-0003-4129-1396>

^b cyilmaz@yyu.edu.tr

^d dogan.194@hotmail.com

^f abdussamet.kayhan@gmail.com

^b <https://orcid.org/0000-0002-0028-6614>

^d <https://orcid.org/0000-0002-5733-4007>

^f <https://orcid.org/0000-0002-7927-1529>



Giriş

Meyve ve sebzeleri uzun süreli saklamaya ve tüketmeye uygun hale getirmek için kullanılan en eski yöntemlerden birisi fermantasyon işlemidir. Günümüzde bu yöntemle hazırlanan ürünlere her toplumda rastlamak mümkündür. Şalgam suyu bu ürünlerden biridir (Tangüler, 2010). Ülkemize özgü bir içecek olan şalgam suyu laktik asit fermantasyonuyla üretilmektedir. Bu üretimde kullanılan başlıca hammaddeler ise su, bulgur unu, şalgam turbu, ekşi hamur, kara havuç ve tuzdur (Üçok ve Tosun, 2012). Fermentasyon işlemi bulgur unu, ekşi hamur, su ve yemeklik tuzun karıştırılmasıyla hazırlanan özütün, şalgam, mor havuç ve isteğe göre acı toz biberle karıştırılmasıyla başlar. Laktik asit fermantasyonu ile oluşturulan ürün ısı işlem ile daha uzun süre dayanıklı hale getirilebilir (Anonim, 2003). Ülkemizde, şalgam suyunun geleneksel yöntemlerle de üretilmeye devam edildiği yörelerden biri olan Çukurova’da başlıca hammadde ise mor havuçtur. Antosiyanin pigmentleri açısından oldukça zengin olan mor havuçtaki (1.750 mg/kg kadar) bu pigmentin antioksidan etkiye sahip olduğu da rapor edilmiştir (Mazza ve Miniati, 1993; Kırca ve ark., 2006). Ayrıca, şalgam suyunda bulunan fenolik bileşiklerinde antioksidan aktiviteye sahip oldukları ve bu sayede serbest radikallerin meydana getirebileceği olası reaksiyon ya da reaksiyonları engelleyerek kanser, kalp ve akciğer hastalıkları gibi birçok hastalığın oluşumuna engel olabileceği rapor edilmiştir (Nizamlioğlu ve Nas, 2010).

Antioksidanlar genel olarak düşük derişimlerde bulunsalar dahi radikallerin hedeflediği biyomoleküllerin olası oksidatif hasarını geciktirebilen, engelleyebilen veya ortadan kaldıracılaben maddelerdir (Halliwell ve ark., 1986; Aruoma ve ark., 2006; Korkmaz ve ark., 2018; Sevindik, 2018). Böylece, özellikle antioksidanca zengin besinlerin tüketilmesi reaktif oksijen radikallerinin hücrelerde yaratabileceği oksidasyonu engelleyerek hastalık oluşumunu durdurabilmektedir (Hermsdorff ve ark., 2011; Sevindik, 2019). Günümüzde antioksidan kapasite ölçümleri için kullanılan birçok farklı metot bulunmaktadır. Bu metotlarda genellikle test edilen maddeler serbest radikalleri içeren bir çözelti içerisinde eklenerek ölçümler gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemler kullanılan tepkenin (serbest radikal) özelliğine bağlı olarak farklı sonuçlar verebilmektedir (Prakash, 2001). Gıdalarda antioksidan kapasiteyi ölçmek için ABTS, FRAP, DPPH, TRAP, ORAC gibi birçok antioksidan kapasite metodu bulunmaktadır. Gıda bileşimlerinin kompleks olmasından dolayı farklı antioksidan kapasite metodlarında farklı sonuçlar alınabilmektedir. Bu yüzden antioksidan kapasiteyi ölçmek için birden fazla yöntem kullanılmalıdır (Frankel ve Meyer, 2000). Bazı yöntemler sağladığı avantajlardan dolayı diğerlerine göre daha çok tercih edilmektedir. Örneğin, ABTS ve FRAP yöntemlerinin kullanımının kolay olması hem hidrofilik hemde lipofilik antioksidan tayini için kullanılabilmesinden dolayı tercih edilmektedir. Ayrıca, DPPH yöntemi ise basit, hızlı ve mikropkala ile uygulanabilmesi gibi avantajlara sahiptir. Buna karşın, DPPH’ın sulu ortamda çözünememesi, FRAP yöntemiyle glutasyon gibi tiyol içeren antioksidanların ölçümünde kullanılamaması ve ABTS yönteminde uzun süreli reaksiyonlarda reaksiyon bitmeden okumanın yapılması bu yöntemlerin dezavantajlarıdır (Büyüktünel, 2013).

Bu çalışmada, ticari olarak satılan ve ev yapımı olan şalgam numunelerinde beş farklı antioksidan kapasite metodunun (DPPH, ABTS, galvinoksil, fosfomolibden ve FRAP) tekrarlanabilirliği ve tutarlılığı test edilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu çalışmada ticari olarak satılan üç (T1, T2 ve T3) ve ev yapımı olarak üretilen üç tane (G1, G2 ve G3) olmak üzere altı farklı şalgam suyu örneği kullanılmıştır. Ticari şalgam sularının içeriğinde su, tuz, mor havuç, bulgur, gluten (T1 ve T3), şalgam turbu, nohut (sadece T3) ve sodyum benzoat bulunmaktadır. Ev yapımı şalgam suları ise Adana ve Van illerinden, geleneksel üretim yapan kişilerden temin edilmiştir. İçeriğinde su, tuz, mor havuç, bulgur, şalgam turbu (G1 ve G2), sarımsak ve acı biber bulunmaktadır. Şalgam suları temin edildikten sonra, ölçümlere kadar +4°C’de muhafaza edilmiştir.

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Yöntemi

Blois (1958)’in metodu modifiye edilerek oluşturulan DPPH yöntemi (Blois, 1958) ile şalgam örneklerinin radikal süpürme kapasiteleri belirlendi. DPPH reaksiyonu kahverengi şişeler içerisinde DPPH radikalinin son konsantrasyonu 100 µM (Mikromolar) olacak şekilde gerçekleştirildi. DPPH yöntemi için standart olarak troloks ve askorbik asit kullanıldı. Tüm seyreltmeler saf etanol ile yapıldı. Seyreltmelerde beş ayrı konsantrasyon kullanıldı. Ölçümü yapılan her konsantrasyon ve kör (blank) için üçer örnek hazırlandı. Hazırlanan bu örnekler 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyondan sonra UV/VIS spektrofotometrede 517 nm’de referans olarak kullanılan etanole karşı okundu. Tüm ölçümler üçer tekrar olarak gerçekleştirildi. Radikal süpürme aktivitesi (% RSA) “Eş.3.1”de belirtildiği gibi hesaplanarak troloks ve askorbik asit ile karşılaştırıldı.

$$\%RSA = \frac{(KörAbs - ÖrnekAbs)}{KörAbs} \times 100 \quad (1)$$

ABTS (2,2-azino bis (3-etil benzothiazolin-6-sülfonik asit) Yöntemi

ABTS yöntemi ilk defa Miller ve arkadaşları tarafından rapor edilmiş olup (Miller ve ark., 1993) daha sonrasında ise Re ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Re ve ark., 1999). ABTS prosedürü, spektrofotometrik olarak çeşitli maddelerin toplam antioksidan aktivitesini ölçmede yaygın şekilde uygulanmaktadır. Bu yöntem, 2,2’-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat) (ABTS) radikal katyonunun antioksidan maddeler tarafından yükseltgenmesi ve nihayetinde 734 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerlerinin düşmesi temeline dayanmaktadır. ABTS (7 mM) çözeltisi, potasyum persülfat (2,45 mM) ile 12-16 saat inkübe edilerek indirgenir. İnkübasyon sonucu çözelti seyreltilir ve absorbansı ölçülür. Farklı konsantrasyonlardaki şalgam örneklerinin, seyreltilmiş ABTS çözeltisiyle hazırlanan karışımı, inkübasyon sonrası, 734 nm’de ölçülür. Standart madde olarak askorbik asit ve troloks kullanıldı.

Galvinoksil Yöntemi

Shi ve Niki (1998) tarafından bildirilen galvinoksil metodu (Shi ve Niki, 1998) optimize edilerek uygulandı.

Galvinoxil radikali 428 nm'de maksimum soğuruma sahiptir. Bu radikalin hidrojen veren bir antioksidan molekülle tepkimesi sonucu absorbansında azalma meydana gelir. Meydana gelen absorbans değişim oranına dayalı olarak antioksidan aktivite hesaplanmaktadır. Bu yöntemde 160 µM galvinoxil solüsyonu etanol ile hazırlandı. Test edilecek olan şalgam suları beş ayrı konsantrasyon şeklinde etanol ile seyreltildi. Her tüpe farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış 1140 µL şalgam ve 60 µL galvinoxil çözeltisi eklendi. Tüpler 20 dakika karanlık ortamda inkübasyona alındı ve spektrofotometrede 428 nm'de referansa karşı okuma yapıldı. Kör (blank) için 1140 µL etanol ve 60 µL galvinoxil çözeltisi küvete eklenerek referansa karşı okuma yapıldı. Tüm ölçümler üç tekrar olarak gerçekleştirildi. Standart olarak troloks ve kuersetin kullanıldı. DPPH yöntemindeki gibi % RSA değerleri hesaplandı.

Fosfomolibden Yöntemi

Bu yöntemin temel prensibi antioksidan bileşikler tarafından Mo (VI)'nın indirgenerek asidik ortamda yeşil fosfat Mo (V) bileşiğinin oluşmasıdır. Prieto ve arkadaşlarının (1999) metodunun (Prieto ve ark.,1999) modifiye edilmesiyle oluşturulan prosedür için gerekli araç solüsyon 0,6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat içerecek şekilde dH₂O içerisinde hazırlandı. Her bir ependorf tüpüne 1 ml araç solüsyon ve üzerine 0,1 ml farklı konsantrasyonlarda seyreltilmiş şalgam suları eklenerek karıştırıldı. Elde edilen reaksiyon solüsyonu 95°C'de, 90 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra örnekler 20-25 dakika oda sıcaklığında bekletilip soğutulduktan sonra absorbansları spektrofotometrede 695 nm dalga boyunda etanol içeren kör tüpe karşı okundu. Tüm ölçümler üç tekrar olarak gerçekleştirildi. Elde edilen değerler, pozitif kontrol olarak kullanılan troloks ve askorbik asidin farklı konsantrasyonlarında hazırlanan standart eğrilerinden yararlanılarak askorbik asit eşdeğeri ve troloks eşdeğeri olarak ifade edildi.

FRAP Yöntemi

Benzei ve Strain (1996) tarafından geliştirilen prosedür modifiye edilerek uygulanmıştır (Benzei ve Strain, 1996). Bu metot Fe (III)'ün indirgenme kapasitesi kullanılarak test edilen maddelerin antioksidan özelliğinin belirlenmesine dayanmaktadır. Fe (III) ile tripiridiltriazin (TPTZ) reaksiyonu ile meydana gelen [Fe(III)-TPTZ], test

edilen örneklerin antioksidan kapasitelerine bağlı olarak, 593 nm de maksimum absorbans veren koyu mavi renkli Fe (II) tripiridiltriazin [Fe(II)-TPTZ] kompleksine indirgenmektedir (Yıldız, 2007).

İstatistiksel Analiz

Tüm ölçümler üçer tekrarlı olarak yapılmıştır. İstatistiksel analizler için MINITAB 14.0 istatistik yazılımında student-t testi kullanılarak ortalamanın standart hatası hesaplanmıştır.

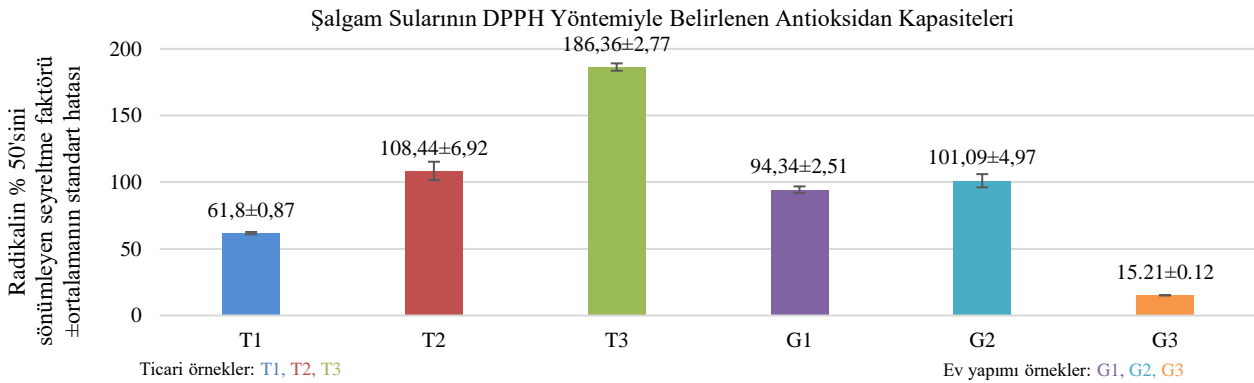
Bulgular ve Tartışma

DPPH Yöntemi Sonuçları

DPPH yöntemi antioksidanların radikal yakalama aktivitelerinin belirlenmesinde en yaygın kullanılan yöntemlerden birisidir. DPPH• radikalinin başlangıçtaki rengi mordur. DPPH• radikali, antioksidan maddeler tarafından DPPH-H formuna indirgendiğinde mor renkten sarı renge doğru bir renk değişimi meydana gelir. Meydana gelen renk değişimi spektrofotometrede 517 nm'de ölçülerek süpürülen radikal miktarı hesaplanır (Özenç, 2011).

Bu çalışmada DPPH yöntemiyle radikal süpürme aktiviteleri test edilen örneklerin radikalin %50'sini inhibe eden seyreltme faktörü SF₅₀ (radikalin %50'sini inhibe eden seyreltme faktörü) değeri olarak ifade edildi. SF₅₀ değeri burada seyreltme faktörü olarak ifade edildiğinden, daha yüksek SF₅₀ değeri daha düşük konsantrasyonu, ve dolayısıyla daha yüksek antioksidan kapasiteyi ifade etmektedir. Test edilen örneklerin, DPPH metodu ile hesaplanan SF₅₀ değerlerinin karşılaştırılması Şekil 1'de verilmiştir. Grafikteki değerlere bakıldığında örneklerin antioksidan aktivitesi yüksekten düşüğe doğru T3>T2>G2>G1>T1>G3 olarak görülmektedir.

T3 örneği en yüksek antioksidan kapasiteyi gösterirken G3 örneği en düşük antioksidan kapasiteye sahiptir. G3'ün içeriğinde şalgam turbunun olmamasının, antioksidan aktivitesinin düşük olmasına neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, T3'ün içeriğinde test edilen diğer şalgamlardan farklı olarak nohutun bulunması antioksidan kapasiteye ekstra katkıda bulunmuş olabilir (Li, 2008); buna karşın, gluteninde antioksidan kapasiteye olumlu etkisi de daha önceki çalışmalarda rapor edilmesine karşın (Kong, 2008), bu çalışmada test edilen şalgam sularında bu etkinin oldukça sınırlı olduğu görülmüştür.



Şekil 1 DPPH yöntemiyle test edilen örneklerin SF₅₀ değerlerinin kıyaslanması
Figure 1 Comparison of the DF₅₀ values of tested samples in DPPH method

ABTS Yöntemi Sonuçları

Bu çalışmada antioksidan kapasiteleri test edilen örneklerin radikalın %50'sini inhibe eden seyreltme faktörü SF₅₀ değeri olarak ifade edildi. Seyreltme faktörü arttıkça antioksidan maddenin konsantrasyonu azalacağından dolayı yüksek SF₅₀ değeri, yüksek antioksidan kapasite anlamına gelmektedir.

Örneklerin SF₅₀ değerlerinin kıyaslanması Şekil 2'de verilmiştir. Şekildeki değerlere göre antioksidan aktivite yüksekten düşüğe doğru G1>T3>G2>T2>T1>G3 şeklindedir.

Fabrikasyon ürünlerde sonradan eklenen sodyum benzoat ve türevlerinin, toplam antioksidan kapasitede zamanla gerçekleşen kaybı yavaşlattığı rapor edilmiştir (da Silva, 2016). Bu nedenle, ticari şalgam sularının bu çalışmada genel olarak daha yüksek antioksidan kapasite göstermesine sodyum benzoat neden olmuş olabilir.

ABTS metodu sonuçlarına göre de DPPH metodundakine benzer şekilde ticari şalgamlar kendi içlerindeki sıralama benzer olmasına karşın, geleneksel yapım şalgamlarda durum değişiklik göstermiştir. Geleneksel yapım şalgamlardan G1 test edilen şalgamlar içerisinde en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Ayrıca, ticari şalgamlardan da yüksek aktivite belirlenmiştir. Buradaki farkın temel sebebi olarak bu metodun hem lipofilik hemde hidrofilik bileşiklerin antioksidan kapasitesini belirleyebilme özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Magalhães ve ark., 2008).

Galvinoxil Yöntemi Sonuçları

Galvinoxil yönteminde test edilen şalgam suyu örneklerinin SF₅₀ değerlerinin kıyaslanması Şekil 3'te görülmektedir. Şekilde belirtilen SF₅₀ değerleri radikalın %50'sini inhibe eden seyreltme faktörünü ifade etmektedir. Dolayısıyla SF₅₀ değerleri arttıkça antioksidan aktivitede artacaktır. Şekilde de görüldüğü gibi örneklerin antioksidan aktiviteleri sırasıyla en yüksekten en düşüğe doğru T3>G2>G1>T2>T1>G3 şeklindedir.

DPPH yöntemiyle elde edilen sonuçlarla paralel olarak, galvinoxil yöntemine göre en yüksek antioksidan aktivite T3 örneğinde ve en düşük aktivite ise G3 örneğinde elde edildi. G3 örneğinde şalgam turbinun olmaması aktivitenin en düşük seviyede olmasına sebep olurken, T3 örneğinin içeriğinde nohut olmasında ve koruyucu sodyum benzoattan dolayı da aktivitenin bu örnekte en yüksek olduğu düşünülmektedir.

Üç farklı radikal yakalama aktivitesi metodunun sonuçlarına bakıldığında zaman her üç metot sonucuna göre

G3'ün en düşük aktivite gösterdiği tespit edilirken, T3 şalgam suyunun DPPH ve galvinoxil yöntemlerinde en yüksek aktivite gösterdiği tespit edildi. Buna karşın, sadece G1'in ABTS metodunda diğer iki metotta en yüksek radikal yakalama aktivitesi gösteren T3'ten fazla aktivite gösterdiği tespit edildi. Bu farklılığın temel nedeni ise ABTS metodunun hem hidrofobik hemde hidrofilik maddelerin aktivitesinin belirleyebilmesinden kaynaklanmış olabilir (Büyüktuncel, 2013). Diğer test edilen şalgam sularından G2 ise T1 'den her üç metotta ile yapılan ölçümlerde daha yüksek aktivite göstermiştir. Sonuç olarak, bu üç aktivite ölçüm metodundan DPPH ile galvinoxil metodu birbirine oldukça benzer sonuç gösterirken, ABTS metodunun diğer iki metottan farklılık gösterdiği belirlendi.

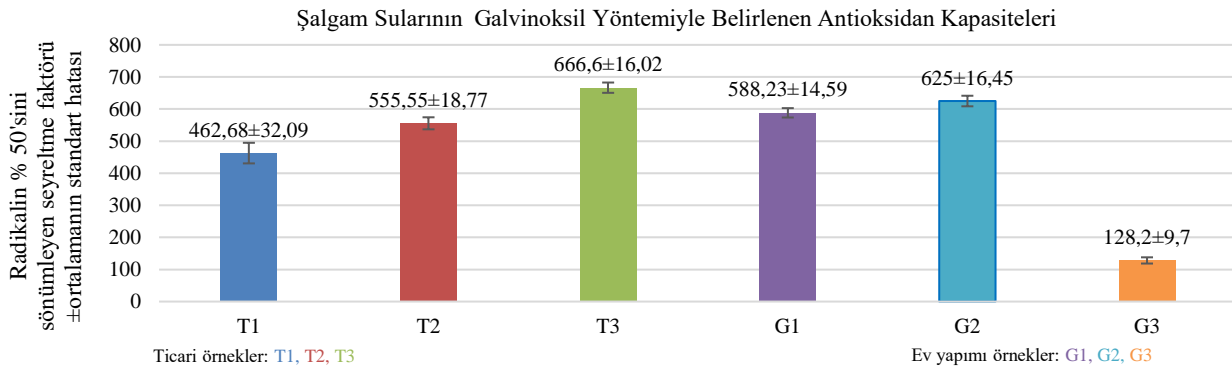
Fosfomolibden Yöntemi Sonuçları

Fosfomolibden yöntemi antioksidan madde tarafından Mo (VI)'nın Mo (V)'e indirgenerek yeşil rengin oluşmasına ve oluşan bu rengin 695 nm'de ölçülmesi prensibine dayanır. Test edilen örneklerin fosfomolibden yöntemine göre indirgeme değerleri Çizelge 1'de gösterilmiştir. Çizelgede tüm örnekler aynı oranda seyreltilerek (176 kat) (Bu seyreltme oranı eşdeğer olarak kullanılan troloks ve askorbik asit standartlarına göre belirlenmiştir) yapılan fosfomolibden yöntemi çalışması sonucunda elde edilen absorbans değerleri verilmiştir. Bu çizelgede, artan absorbans değeri artmış indirgeme kuvveti anlamına gelmektedir. Ayrıca, çizelge 1'de örneklerin troloks ve askorbik asit eşdeğerleri de verilmiştir.

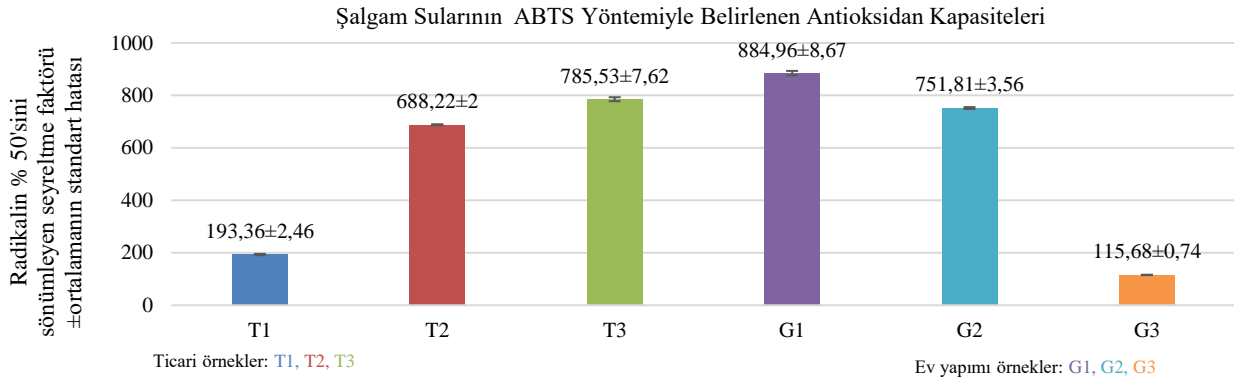
Çizelge 1'deki değerlere göre örneklerin indirgeme kabiliyetlerinin sıralaması en yüksekten düşüğe doğru T3>G1>T2>G2>T1>G3 şeklindedir.

FRAP Yöntemi Sonuçları

Bu çalışmada kullanılan şalgam suyu örnekleri yine fosfomolibden yöntemindekine benzer şekilde seyreltilip indirgeme kapasiteleri ölçüldü. Örneklerin FRAP yöntemine göre indirgeme kapasitesi sonuçları çizelge 2'de verilmiştir. Çizelgede tüm örnekler aynı seyreltme oranı kullanılarak (300 kat) karşılaştırıldı ve karşılık gelen troloks ve askorbik asit değerleri standart grafiklerinden yararlanılarak hesaplandı. Renk koyulaştıkça absorbans değeri arttığından indirgeme kapasitesinin artmasından dolayı aynı konsantrasyonda absorbans değeri arttıkça indirgeme kapasitesi artmaktadır. Buna göre örneklerin FRAP yöntemine göre indirgeme özellikleri yüksekten düşüğe doğru T3>G1>T1>T2>G2>G3 şeklindedir.



Şekil 2 ABTS yöntemiyle test edilen örneklerin SF₅₀ değerlerinin kıyaslanması
Figure 2 Comparison of DF₅₀ values of tested samples in ABTS method



Şekil 3 Galvinoksil yöntemiyle test edilen örneklerin SF50 değerlerinin kıyaslanması
Figure 3 Comparison of DF50 values of tested samples by Galvinoxyl method

Çizelge 1 Fosfomolibden yöntemiyle test edilen örneklerin troloks ve askorbik asit eşdeğerleri ile karşılaştırılması
Table 1 Comparison of tested samples with trolox and ascorbic acid equivalents in phosphomolybdenum method

Örnek*	Absorbans (695 nm) ±ortalamanın standart hatası	Troloks eşdeğeri (µM)	Askorbik asit eşdeğeri (µM)
T1	0,122 ±0,005	27,11	14,70
T2	0,137 ±0,003	30,44	16,51
T3	0,222 ±0,005	49,33	26,75
G1	0,169 ±0,007	37,56	20,36
G2	0,129 ±0,003	28,67	15,54
G3	0,042 ±0,003	9,33	5,06

* T1, T2, T3 (Ticari örnekler), G1, G2, G3 (Ev yapımı örnekler), µM: Mikromolar

Çizelge 2 FRAP yöntemiyle örneklerin troloks ve askorbik asit eşdeğerleri ile karşılaştırılması
Table 2 Comparison of tested samples with trolox and ascorbic acid equivalents in FRAP method

Örnek*	Absorbans (593 nm) ±ortalamanın standart hatası	Troloks eşdeğeri (µM)	Askorbik asit eşdeğeri (µM)
T1	0,471 ±0,001	20,76	16,03
T2	0,408 ±0,002	17,99	13,89
T3	0,848 ±0,001	37,37	28,85
G1	0,476 ±0,004	20,99	16,20
G2	0,401 ±0,004	17,67	13,64
G3	0,059 ±0,0003	2,60	2,01

* T1, T2, T3 (Ticari örnekler), G1, G2, G3 (Ev yapımı örnekler), µM: Mikromolar

İndirgeme kuvveti aktivitesi metotlarının sonuçlarına bakıldığında zaman her iki metot sonucuna görede yine radikal yakalama aktivite metotlarından DPPH ile galvinoksil metotlarındakine benzer şekilde G3'ün en düşük aktivite gösterdiği tespit edilirken, T3'ün en yüksek aktivite gösterdiği tespit edildi. Ayrıca, G1'de her iki metoda göre T3'ten sonra en yüksek aktiviteyi gösterdiği tespit edildi. Buna karşın, sadece G1'in ABTS metodunda diğer iki metotta en yüksek radikal yakalama aktivitesi gösteren T3'ten fazla aktivite gösterdiği tespit edildi. Ayrıca, diğer test edilen şalgam sularıda her iki metot ile birbirlerine oldukça benzer sonuçlar gösterdi. Örneğin, fosfomolibden metoduna göre troloks eşdeğerleri düşükten yükseğe doğru sırasıyla T1 (27,11), G2 (28,67) ile T2 (30,44) şeklinde olup birbirlerine oldukça yakındır. FRAP metoduna göre ise bu sıralama düşükten yükseğe doğru sırasıyla G2 (17,67), T2 (17,99) ile T1 (20,76) şeklinde olup birbirlerine oldukça yakındır.

Sonuç olarak, bu iki indirgeme kuvveti aktivite ölçüm metodunda hem birbirlerine hemde DPPH ile galvinoksil metodu birbirine oldukça benzer sonuç gösterdiği tespit edildi.

Sonuç

Bu çalışmada, beş farklı antioksidan kapasite metodunun (DPPH, ABTS, galvinoksil, fosfomolibden ve FRAP) tekrarlanabilirliği ve tutarlılığını test etmek için altı farklı şalgam suyu örneğinin antioksidan kapasiteleri test edilmiştir. Kullanılan örnekler, ticari olarak satılan (T1, T2 ve T3) ve ev yapımı olarak üretilen (G1, G2 ve G3) şalgam suyu örnekleriydi. Tüm deneyler üç ayrı tekrar şeklinde yapılarak kullanılan her antioksidan kapasite metoduna göre şalgam suyu örnekleri birbirleriyle kıyaslandı. Çalışmanın sonucunda test edilen örneklerin antioksidan aktivitelere bakılarak yapılan değerlendirme sonucunda test edilen şalgam suyu örneklerinin antioksidan aktiviteyi sıralaması (yüksekten düşüğe doğru) DPPH, galvinoksil, fosfomolibden ve FRAP metotlarında oldukça benzer sıralamalar elde edildi. Buna karşın, ABTS metoduna göre elde edilen sıralama diğer metotlara göre farklılık gösterdi. Bu sonuçlara bakıldığında şalgam suyuyla yapılacak antioksidan çalışmalarında DPPH, galvinoksil, fosfomolibden ve FRAP metotlarının kullanılabilmesi görülmüştür.

Kaynaklar

- Anonim 2003. TS 11149 Şalgam Suyu Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, <https://intweb.tse.org.tr/standard/standard/Standard.aspx> (Erişim Tarihi: 12.04.2019).
- Aruoma OI, Grootveld M, Bahorun T. 2006. Free radicals in biology and medicine: from inflammation to biotechnology. *Biofactors*, 27(1-4): 1-3.
- Benzie IF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1): 70-76.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617): 1199.
- Büyüktuncel E. 2013. Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal* 17: 93-103
- Frankel EN, Meyer AS. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13): 1925-1941.
- Halliwell B, Gutteridge JM. 1986. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Archives of biochemistry and biophysics*, 246(2): 501-514.
- Hernsdorff HHM, Puchau B, Volp ACP, Barbosa KB, Bressan J, Zulet MÁ, Martínez JA. 2011. Dietary total antioxidant capacity is inversely related to central adiposity as well as to metabolic and oxidative stress markers in healthy young adults. *Nutrition & metabolism*, 8(1), 59.
- Kırca A, Özkan M, Cemeroğlu B. 2006. Stability of blackcarrotanthocyanins in variousfruitjuicesandnectars. *FoodChemistry*, 97: 598-605.
- Kong X, Zhou H, Hua Y. 2008. Preparation and antioxidant activity of wheat gluten hydrolysates (WGHs) using ultrafiltration membranes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(5): 920-926.
- Korkmaz AI, Akgul H, Sevindik M, Selamoğlu Z. 2018. Study on determination of bioactive potentials of certain lichens. *Acta Alimentaria*. 47(1): 80-87.
- Li Y, Jiang B, Zhang T, Mu W, Liu J. 2008. Antioxidant and free radical-scavenging activities of chickpea protein hydrolysate (CPH). *Food chemistry*, 106(2): 444-450.
- Magalhães LM, Segundo MA, Reis S, Lima JL. 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica chimica acta*, 613(1): 1-19.
- Mazza G, Miniati E. 1993. Anthocyanin in fruits, vegetables and grains (p 32). Boca Raton, FL.CRC pres: (Alınmıştır: Kırca, A., Özkan, M. and Cemeroğlu, B., 2005. Stability of black carrotan thocyanins in various fruits juices and nectars. *Food Chemistry*. 97, 598-605.)
- Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science*, 84 (4): 407-412.
- Nizamloğlu NM, Nas S. 2010. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Cilt 5(1): 20-35 s.
- Özenç B. 2011. *Fumaria Officinalis' Un Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi (Doktora tezi)*, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.
- Prakash A. 2001. Antioxidant activity. *Med Lab Anal Prog* 19(2):1-6
- Prieto P, Pineda M, Aguilar M. 1999. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity Through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*. 269(2): 337-341.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant biology and medicine, 26 (9-10): 1231-1237.activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical*
- Sevindik M. 2019. The novel biological tests on various extracts of *Cerrioporus varius*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(5): 3713-3717.
- Sevindik M. 2018. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cerrena unicolor*. *Mycopath*. 16(1): 11-14
- Shi H, Niki E. 1998. Stoichiometric and kinetic studies on Ginkgo biloba extract and related antioxidants. *Lipids*, 33 (4): 365.
- Silva NKVD, Sabino LBDS, Oliveira LSD, Torres LBDV, Sousa PHMD. 2016. Effect of food additives on the antioxidant properties and microbiological quality of red guava juice. *Revista Ciência Agronômica*, 47(1): 77-85.
- Tangüler H. 2010. *Şalgam Suyu Üretiminde Etkili Olan Laktik Asit Bakterilerinin Belirlenmesi Ve Şalgam Suyu Üretim Tekniğinin Geliştirilmesi, (Doktora Tezi)*. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana
- Üçok EF, Tosun H. 2012. Şalgam suyu üretimi ve fonksiyonel özellikleri. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1): 17-26.
- Yıldız L. 2007. Bazı bitki örneklerinde antioksidan kapasitenin spektrofotometrik ve kromatografik tayini. *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Fen bilimleri enstitüsü, Kimya anabilim dalı, Yüksek lisans tezi, İstanbul.*