

**T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KEFİR VE BOZANIN İN VİTRO ANTIOKSİDAN  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**AYŞİN ÖZPINAR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA ANABİLİM DALI  
BİYOKİMYA PROGRAMI**

**DANIŞMAN  
DOÇ. DR. AYŞEGÜL PEKSEL**

**İSTANBUL, 2012**

## ÖNSÖZ

---

Yüksek lisans öğrenimim boyunca, tez konusunun belirlenmesinde, çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde bilgi ve deneyimleriyle bana yardım eden ve desteğini esirgemeyen değerli hocam tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ayşegül PEKSEL'e, Çalışmam süresince benimle düşüncelerini paylaşan, laboratuvar olanaklarını kullanabilme ve çalışma şartları konusunda desteğini esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Nilay Altaş KIYMAZ'a,

Tanıştığımız andan beri benden hiçbir desteğini esirgemeyen, sevecen tavırlarıyla her zaman yüreğimi ferahlatan, hep sevgi ve saygıyla andığım sevgili arkadaşlarım Sayın Fulya AYTAÇ ve Sayın Dilara BÜLBÜL'e

Hayatımın her alanında yanımda olup maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen annem Fatma YILMAZ, babam Şazim YILMAZ'a ve ablam Cevriye ERGÜL'e

Tez çalışmam sırasında hoşgörüsüyle bana sonsuz destek veren canım eşim Fatih ÖZPINAR'a

Çalışmam boyunca ihmal etmek zorunda kalmama rağmen beni asla yalnız bırakmayan canım oğlum Metehan ÖZPINAR'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ağustos, 2012

Ayşin ÖZPINAR

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	vii
KISALTIMA LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ .....	x
ÖZET .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
<b>BÖLÜM 1</b>	
GİRİŞ .....	1
1.1    Literatür Özeti.....	1
1.2    Tezin Amacı.....	3
1.3    Hipotez.....	4
<b>BÖLÜM 2</b>	
SERBEST RADİKALLER .....	5
2.1    Serbest Radikallerin Oluşumu.....	5
2.2    Serbest Radikal Kaynakları.....	6
2.2.1    Endojen Kaynaklar.....	7
2.2.2    Eksojen kaynaklar.....	10
2.3    Serbest Radikal Türleri .....	11
2.3.1    Süperoksit Radikali .....	11
2.3.2    Hidrojen Peroksit .....	13
2.3.3    Hidroksil Radikali.....	13
2.3.4    Singlet Oksijen .....	14
2.3.5    Nitrik Oksit Radikali .....	14
2.4    Serbest Radikallerin Etkileri .....	15
2.4.1    Serbest Radikallerin Membran Lipidlerin Etkileri .....	15
2.4.2    Proteinlere Etkileri .....	15

2.5 Serbest Radikallerin Metabolizmadaki Olumsuz Etkileri.....	16
----------------------------------------------------------------	----

### BÖLÜM 3

ANTIOKSİDANLAR.....	18
3.1 Antioksidan Etki Tipleri.....	18
3.2 Antioksidanların Sınıflandırılması .....	19
3.3 Enzimatik Antioksidanlar .....	19
3.3.1 Süperoksit Dismutaz (SOD).....	19
3.3.2 Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	20
3.3.3 Katalaz (CAT).....	20
3.4 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar .....	20
3.4.1 E Vitamini ( $\alpha$ - tokoferol).....	20
3.4.2 C Vitamini (askorbik asit).....	21
3.4.3 $\beta$ -karoten .....	22
3.5 Yapay Antioksidanlar.....	23
3.5.1 BHA (Bütillendirilmiş Hidroksi Anisol) .....	23
3.5.2 BHT (Bütillendirilmiş Hidroksi Toluen) .....	24
3.6 Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri.....	24

### BÖLÜM 4

KEFİR ve BOZA .....	26
4.1 Kefir .....	26
4.1.1 Kefir Tanesi .....	26
4.1.2 Kefirin Mikroflorası .....	27
4.1.3 Kefirin Bileşimi ve Kimyasal Özellikleri .....	30
4.1.4 Kefir Üretimi .....	32
4.1.4.1 Geleneksel Yöntemle Kefir Üretimi .....	32
4.1.4.2 Endüstriyel Yöntemle Kefir Üretimi .....	34
4.1.5 Kefirin Sağlık Açısından Önemi .....	35
4.1.5.1 Kefirin Kolesterol Düşürücü Etkisi.....	35
4.1.5.2 Kefirin Antimikrobiyal ve Gastrointestinal Etkisi .....	35
4.1.5.3 Kefirin Antikanserojen Etkisi .....	36
4.2 Boza .....	37
4.2.1 Bozanın Mikroflorası .....	38
4.2.2 Boza Üretimi .....	39
4.2.3 Bozanın Kimyasal Bileşimi .....	40
4.2.4 Bozanın Sağlığa Faydaları .....	41

### BÖLÜM 5

MATERYAL VE METOD .....	43
5.1 Kullanılan Materyaller .....	43
5.1.1 Kullanılan Kimyasallar .....	43

5.1.2	Kullanılan Cihazlar .....	45
5.1.3	Kullanılan Materyalin Temin Edilmesi .....	46
5.1.4	Kefir ve Boza Ekstrelerinin Hazırlanması .....	46
5.2	Antioksidan Aktivite Tayin Metodları .....	46
5.2.1	İndirgeme Gücü .....	46
5.2.2	$\beta$ -Karoten Renk Giderme .....	47
5.2.3	Metal Şelatlama Aktivitesi .....	47
5.2.4	Toplam Antioksidan Aktivite Tayini. ....	48
5.2.5	DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi .....	48
5.2.6	ABTS Radikali Süpürme Aktivitesi .....	50
5.2.7	DMPD Radikali Süpürme Aktivitesi .....	50
5.2.8	Süperoksit Radikali Süpürme Aktivitesi .....	51
5.2.9	Nitrik Oksit Radikali Süpürme Aktivitesi .....	51

## BÖLÜM 6

BULGULAR.....	52
6.1 İndirgeme Gücü.....	52
6.2 $\beta$ -Karoten Renk Giderme Aktivitesi.....	53
6.3 Metal Şelatlama Aktivitesi .....	54
6.4 Toplam Antioksidan Aktivite Tayini.....	54
6.5 DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi.....	55
6.6 ABTS Radikali Süpürme Aktivitesi .....	56
6.7 DMPD Radikali Süpürme Aktivitesi .....	57
6.8 Süperoksit Radikali Süpürme Aktivitesi.....	57
6.8 Nitrik Oksit Radikali Süpürme Aktivitesi .....	58

## BÖLÜM 7

SONUÇ VE ÖNERİLER....	60
KAYNAKLAR.....	64
ÖZGEÇMİŞ.....	70

## SİMGE LİSTESİ

---

A	Absorbans
°C	Santigrat derece
kob	Koloni oluşturan birim
L	Litre
mL	Mililitre
μ	Mikro
μL	Mikrolitre
g	Gram
mg	Miligram
μg	Mikrogram
μmol	Mikromol
M	Molar
mM	Milimolar
nm	Nanometre
α	Alfa
β	Beta
%	Yüzde

## KISALTMA LİSTESİ

---

- ABTS• 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzenothiazoline-6-sülfonik asid) radikali
- BHA Bütillendirilmiş hidroksianisol
- BHT Bütillendirilmiş hidroksitoluen
- DPPH• 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil serbest radikali
- DMPD• N-N\_dimetil\_1,4\_fenilendiamonyumdiklorit radikali
- LAB Laktik asit bakterisi
- TCA Trikloroasetik asit
- ROS Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
- HDL High Density Lipoproteins (Yüksek Yoğunluklu Lipoproteinler)
- DNA Deoksiribonükleik asit

## ŞEKİL LİSTESİ

---

	Sayfa
Şekil 2. 1	Araşidonik Asit Metabolizması Sırasında Serbest Radikallerin Sentezi .....9
Şekil 2. 2	Canlı Organizmada Serbest Radikal Aracılı Hasar Oluşabilecek Durumlar ...16
Şekil 3. 1	$\alpha$ -Tokoferolun Kimyasal Formülü .....21
Şekil 3. 2	Askorbik Asitin Kimyasal yapısı .....22
Şekil 3. 3	$\beta$ -karotenin Kimyasal Yapısı.....23
Şekil 3. 4	Bütillendirilmiş Hidroksi Anisol'un Yapısı .....24
Şekil 3. 5	Bütillendirilmiş Hidroksi Toluen'in Yapısı .....24
Şekil 4. 1	Kefir Tanesi .....27
Şekil 4. 2	Geleneksel Kefir Üretim Aşamaları .....33
Şekil 4. 3	Endüstriyel Kefir Üretim Aşamaları.....34
Şekil 4. 4	Boza Üretim Şeması .....40
Şekil 5. 1	DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikalinin Yapısı .....49
Şekil 6. 1	Kefir ve Boza Örneklerinin İndirgeme Gücü .....53
Şekil 6. 2	Kefir, Boza ve EDTA'nın Metal Şelatlama Aktiviteleri .....54
Şekil 6. 3	Kefir ve Bozanın Toplam Antioksidan Aktiviteleri.....55
Şekil 6. 4	Kefir ve Boza Örneklerinin DPPH Radikalini Süpürme Aktivitesi .....56
Şekil 6. 5	Ekstrelerin ABTS Radikali Süpürme Aktiviteleri .....56
Şekil 6. 6	Kefir, Boza ve Standartların 20 $\mu$ g/mL Konsantrasyonda DMPD Radikali Süpürme Aktiviteleri.....57
Şekil 6. 7	100 $\mu$ g/mL Konsantrasyonda Boza, Kefir ve Standartların Süperoksit Radikali Süpürme Aktiviteleri.....58
Şekil 6. 8	Kefir ve Boza Ekstrelerinin İnkübasyon Sırasında Oluşan NO'i Süpürme Aktiviteleri.....59

## ÇİZELGE LİSTESİ

---

	Sayfa
Çizelge 2. 1 Serbest Radikal Kaynakları .....	7
Çizelge 2. 2 Serbest Radikal Türleri .....	11
Çizelge 4. 1 Kefir Tanesinde Bulunan Bazı Bakteriler .....	27
Çizelge 4. 2 Kefir Tanesinde Bulunan Bazı Mayalar .....	29
Çizelge 4. 3 Kefirin Kimyasal Bileşimi ve Besinsel Değeri .....	31
Çizelge 5. 1 Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kodları.....	43
Çizelge 6. 1 Kefir ve Bozanın $\beta$ -Karoten Renk Giderme Aktiviteleri .....	53

**KEFİR VE BOZANIN İN VİTRO ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

Ayşin ÖZPINAR

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ayşegül PEKSEL

Geleneksel fermente ürünler, özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde gıda potansiyelinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Dünyadaki tüm ülkeler dikkate alındığında sayısal olarak iki binden fazla, farklı özellikte fermente gıda ürünü bulunduğu ifade edilmektedir. Bu durum geleneksel fermente ürünlerin, insan beslenmesinde önemli bir yer tuttuğunu ve dünya gıda ürünleri yelpazesi içinde büyük bir alan teşkil ettiğini göstermektedir.

Dünyada ve ülkemizde tüketilen geleneksel gıdaların büyük bir bölümünün üretimi, bakteri ve mayalardan oluşan karışık bir mikrofloranın etkin olduğu doğal fermentasyon ile gerçekleşmektedir. Doğal fermentasyonda etkili olan laktik asit bakterilerinin probiyotik etkileri bilinmektedir. Bu tip gıdalar, değişik hammaddelerin kimi ön işlemlerden geçirilmesinden sonra belirli sıcaklık seviyelerinde belirli mikroorganizmaların yardımıyla daha dayanıklı yeni ürünlere dönüşmesi sonucu meydana gelirler. Bu ürünlerden bazıları da geleneksel Türk içeceği olan kefir ve bozadır.

Kefir ve bozanın, içerdikleri probiyotikler sayesinde sağladığı antimikrobiyal ve gastrointestinal sistem üzerine olumlu etkileri yapılan birçok in vivo çalışma ile ortaya konmuştur. Ancak bu ürünlerin antioksidatif özelliklerini inceleyen çalışma sayısı oldukça azdır.

Bu çalışmanın amacı geleneksel fermente gıdalardan olan ve sağlık üzerine olumlu etkileri bilinen kefir ve boza örneklerinin antioksidan kapasitelerini belirlemektir. Bu amaçla kefir ve boza örneklerinde indirgeme gücü,  $\beta$ -karoten renk giderme aktivitesi, metal şelatlama kapasitesi, toplam antioksidan aktivite tayini, DPPH<sup>•</sup> radikali, ABTS<sup>•+</sup> radikali, süperoksit radikali, DMPD<sup>•+</sup> radikali ve NO radikali süpürme aktiviteleri gibi antioksidatif özellikler incelenmiştir ve sonuçlar bazı standart antioksidanlarla (BHA, BHT, askorbik asit, troloks,  $\alpha$ -tokoferol ve epikateşin) karşılaştırılmıştır. Kefir ve boza örnekleri çoğu parametrede birbirine yakın sonuçlar sergilemekle birlikte, kefir örneği, özellikle düşük konsantrasyonlarda, boza ve çoğu standart antioksidanlardan daha fazla total antioksidan aktivite göstermiştir. Boza örneğinin nitrik oksit radikali süpürme aktivitesi ise kefirde daha yüksek, standart antioksidanlara ise eşdeğer seviyede bulunmuştur. Kefir ve bozanın  $\beta$ -karoten renk giderme aktivitelerinin hem birbirlerine hem de standart antioksidan olarak karşılaştırılan BHA'ya çok yakın oldukları saptanmıştır.

Sonuçlar, kefir ve bozanın, sahip oldukları antioksidatif özellikleriyle, doğal antioksidanlar olarak tüketilebileceğini göstermiştir. Kefir ve boza, probiyotikleri içeren önemli fermente ürünlerdir. Daha önceki çalışmalar özellikle kefir tüketiminin bağışıklık sistemini güçlendirdiğini, kanın glukoz ve lipid seviyelerini düşürdüğünü, yüksek kan basıncını dengelediğini ve pro-karsinojenlerin karsinojenlere dönüşmesini baskıladığını göstermiştir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre kefir ve bozanın sağlık üzerindeki koruyucu etkilerinin, içerdikleri antioksidan aktiviteler ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** antioksidan aktivite, fermente süt ürünü, fonksiyonel gıda, kefir, boza, probiyotikler

**INVESTIGATION OF IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITIES  
OF KEFIR AND BOZA**

Ayşin ÖZPINAR

Department of Chemistry

MSc. Thesis

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL

Traditional fermented products make up a significant portion of food potential particularly in underdeveloped and developing countries. There are more than 2000 fermented food products with a variety of features in the world. They are a significant part of human's diet and represent a large portion of the world's food variety.

Production of traditional foods consumed in our country and in the world is carried out through a natural fermentation in which a microflora of bacteria and yeasts is active. It is well-known that lactic acid bacteria effective in natural fermentation have probiotic effects. This kind of fermented food are prepared through a series of processes in which a variety of raw foods kept in certain heat levels turn into more durable new products with the effects of certain microorganism. Traditional Turkish drinks, kefir and boza are examples of this kind of fermented products.

Several in vivo studies have demonstrated that kefir and boza are antibacterial and have positive effects on gastrointestinal system due to probiotics they contain. However, studies investigating antioxidative features of these products are very limited.

The purpose of this study is to determine the antioxidant capacity of kefir and boza which are traditional fermented products with positive effects on health. For this

purpose, antioxidative features of kefir and boza samples such as reducing power,  $\beta$ -carotene bleaching test, chelating activity on  $Fe^{+2}$ , total antioxidant activity, DPPH radical, ABTS<sup>•+</sup> radical, superoxide radical scavenging activity, DMPD<sup>•+</sup> radical and NO radical scavenging activities were investigated and results were compared to some standard antioxidants (BHA, BHT, ascorbic acid, trolox,  $\alpha$ -tocopherol ve epicatechin). Results retrieved from this study showed that although kefir and boza demonstrated similar characteristics in several parameters, kefir, especially in low concentrations, demonstrated more total antioxidant activity than boza and many other standard antioxidants. On the other hand, nitric oxide radical scavenging activity in boza was higher than kefir and similar to the standard antioxidants. Also,  $\beta$ -carotene bleaching test observed in kefir and boza was similar to each other and to BHA used a standard antioxidant in the study.

As a result, it is suggested that kefir and boza can be consumed as natural antioxidants due to their antioxidative features. Kefir and boza are important fermented products. Previous studies have shown that particularly kefir consumption strengthens immune system, reduces glucose and lipid levels in blood, balances blood pressure, and prevents pro-carcinogens to convert into carcinogens. Results of this study suggest that preventive effects of kefir and boza on health are closely related to the antioxidative activities they contain.

**Key words:** antioxidant activity, fermented dairy products, functional food, kefir, boza, probiotics.

#### 1.1 Literatür Özeti

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya birden fazla çiftleşmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu yapıdaki maddeler çiftleşmemiş elektronlarından dolayı oldukça reaktif ve zararlıdır [1].

Serbest radikaller ortamda kendisine en yakın olan kararlı moleküle saldırıp oldukça hızlı reaksiyona girerler ve stabilite kazanmak için ihtiyaç duydukları elektronları ele geçirmeye çalışırlar. Bu molekül elektronunu kaybettiğinde serbest radikale dönüşür ve zincir reaksiyonlar başlar. Reaksiyonlar bir kere başladığında durması çok zordur [2].

Biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerin en önemlisi, oksijenden oluşan serbest radikallerdir [3]. Oksijen, insan vücudunda solunum zinciri içinde süperoksit, singlet oksijen, hidroksil vb. reaktif oksijen türleri (ROS) açığa çıkarmaktadır. Reaktif oksijen birikimi organizmada bulunan veya gıdayla alınan antioksidanlarla dengelenmediği takdirde oksidatif stres oluşmaktadır. Oksidatif stres ile DNA ve hücre membranları gibi biyolojik yapıların oksidatif hasarına neden olabilen radikalik zincir reaksiyonları meydana gelmektedir. Bu hasarlar kanser, koroner kalp rahatsızlığı, hücresel yıpranma ve yaşlanma, mutajenizm, bağışıklık sistemi hastalıkları ve lipoprotein (LDL) oksidasyonu gibi hasarlara sebep olur. Antioksidanlar, serbest radikallerin bu gibi olumsuz etkilerini önemli ölçüde önleyen bileşiklerdir. Antioksidanlar, kendi elektronlarını serbest radikallere aktararak onları nötralize eder ve elektron verdikleri halde kararlı yapılarından dolayı serbest radikallere dönüşmezler [4]. Ancak bu savunma sistemi bütün bu hasarlardan tam olarak korunmak için yeterli gelememekte

ve dolayısıyla insan vücudunun bu oksidatif hasardan korunmasında antioksidan içeren gıda alımları yardımcı olabilmektedir. Probiyotik ürünler bu aşamada oldukça büyük bir önem kazanmaktadır.

Besinlerle birlikte veya ayrı olarak alınan, mukozal ve sistemik immüniteyi düzenleyerek, bağırsaklarda besinsel ve mikrobiyal dengeyi sağlayan dolayısıyla de konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen bu canlı mikroorganizmalara “probiyotik” adı verilir. Uzun yıllar bakterilerin vücudumuza zararlı ve hastalıklara neden olduğu kanısı benimsenmiştir. Ancak günümüzde yapılan birçok bilimsel araştırma sonuçları canlı mikroorganizmaların bazı hastalıkların tedavisinde, hatta önlenmesinde kullanılabileceğini saptamıştır. Genelde “doğal” olanı kullanma ve tüketme alışkanlığının bulunması probiyotiklere olan ilgiyi arttırmıştır. Çeşitli gastrointestinal sistem hastalıklarının tedavisinde yardımcı, çocuklarda allerjik reaksiyonların ortaya çıkışını geciktirmede etkin, kadınlarda vajinal ve üriner sistem infeksiyonlarının tedavi ve önlenmesinde probiyotiklerin yararlı olduğu ortaya konulmuştur [5] .

Dünya’da ve ülkemizde tüketilen geleneksel gıdaların büyük bir bölümünün üretimi, bakteri ve mayalardan oluşan karışık bir mikrofloranın etkin olduğu doğal fermentasyon ile gerçekleşmektedir. Doğal fermentasyonda etkili olan laktik asit bakterilerinin probiyotik etkileri bilinmektedir.

Kefir ve boza da diğer bazı fermente ürünler gibi yeterli doz ve sürede verilirse insan ve hayvan organizmalarında sağlık için katkıları olan ve probiyotik olarak nitelendirilen fermente bir ürün grubunda değerlendirilir [6].

Kefir, sütteki yağ, laktoz, mineral maddeler ve vitaminler gibi besin maddelerinin hepsini yapısında bulundurmaktadır. Oluşumu sırasında da protein ve laktozun kısmen parçalanması ve bazı vitaminlerin sentezlenmesi kefirin beslenme değerini artırmaktadır. Ayrıca kefir, mikroflorasında asetik asit bakterileri ve mayaları bulundurmasından dolayı, yoğurt ve diğer fermente süt ürünleriyle karşılaştırıldığında intestinal mikroorganizmalara karşı yüksek antibiyotik aktiviteye sahiptir. Kefir gastrointestinal ve metabolik rahatsızlıkları olan bireylere de tavsiye edilmektedir [7]. Bahsedilen yararlarının yanı sıra kefirin doğal bir antioksidan desteği olarak antioksidan kapasitesini inceleyen çalışmalar yok denecek kadar azdır.

Fermente ürünlerden bir diğeri de değişik hammaddelerin kimi ön işlemlerden geçirilmesinden sonra belirli sıcaklık seviyelerinde belirli mikroorganizmaların yardımıyla daha dayanıklı yeni ürünlere dönüşmesi sonucu meydana gelen ve geleneksel bir Türk içeceği olan bozadır [8]. Bozanın içediğı çeşitli laktik asit bakterilerinin, bozanın tüketilmesiyle sindirim sistemine alındığı bilinmektedir. Bu bakteriler sayesinde bağırsakta bulunan ve prokarsinojen maddeleri, karsinojen yapıya dönüştüren glukoronidaz, azoredüktaz, nitroredüktaz gibi enzimlerin aktivitesinde bir azalma meydana gelir. Bu da bireyleri muhtemel karsinojen etkiden korumada önem taşımaktadır. İçediğı laktik asit bakterileri nedeniyle bağırsak florasını düzenleyici etkiye sahip olan boza, mide bezlerinin faaliyetlerini de olumlu yönde etkiler. Ayrıca B kompleksi vitaminleri içediğinden beslenme de önemli bir role sahiptir. Ancak günümüzde bozanın antioksidatif etkilerini ortaya koyan çalışmalar mevcut değildir.

## **1.2 Tezin Amacı**

Dünyada farklı adlar altında bilinen ancak temelde birbirine yakın özellikler gösteren 400'den fazla fermente gıda bulunmaktadır. Günümüzde bu gıdalar değerli besin kaynakları olarak tüketilmekte, içerdikleri probiyotikler ile sağlığa yararlı gıdalar olarak kabul edilmektedir. Gıda ürünlerinin işlenmesi sonucu besinsel değerlerindeki düşüş, gıdalarda sentetik antioksidanların kullanımını artırmıştır. Ancak sentetik antioksidanlarında bazı toksik etkileri nedeniyle son yıllarda doğal antioksidan kullanımını oldukça yaygınlaştırmıştır. Doğal antioksidan kaynaklı gıdalar grubuna giren kefir ve bozanın, içerdikleri probiyotikler ile sağlığı olumlu yönde etkiledikleri yapılan birçok araştırmayla ortaya konmuştur.

Bu çalışmada kefir ve bozanın antioksidan aktivite yeteneklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Literatürde kefir ve bozanın antioksidan aktiviteleri üzerine fazla sayıda araştırma bulunmaması sebebiyle bu çalışmanın bilimsel kaynak olarak faydalı olacağı düşünülmüştür.

### **1.3 Hipotez**

Çalışmamızda, probiyotik gıdalar grubunda bulunan kefir ve bozanın antioksidan aktivite yetenekleri, indirgeme gücü,  $\beta$ -karoten renk giderme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi, toplam antioksidan aktivite tayini, DPPH radikali, ABTS radikali, DMPD radikali, süperoksit radikali ve nitrikoksit radikali süpürme aktivitesi yöntemleriyle belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar bazı standart antioksidan maddelerin antioksidan aktiviteleriyle karşılaştırılmıştır.

## BÖLÜM 2

---

### SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya birden fazla çiftleşmemiş elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu yapıdaki maddeler çiftleşmemiş elektronlarından dolayı oldukça reaktif ve zararlıdır. Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon), veya elektriksel olarak nötral olabilirler [1], [9].

Biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerin en önemlisi, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve geçiş metalleri iyonları anahtar rodedir [3].

#### 2.1 Serbest Radikallerin Oluşumu

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Hücresel koşullarda da ciddi bir miktar ve çeşitlilikte radikaller üretilmektedir. Nerede ve nasıl üretildiklerine bakılmaksızın, radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşurlar [10].

##### - Kovalent bağların homolitik kırılması ile;

Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık (500-600 °C) kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir ve her iki atom üzerinde de paylaşılmamış elektron kalır. Organik moleküllerdeki bağların heterolitik kırılması durumunda zıt yüklü iyon çiftleri oluşur ve bu türler de reaktiftir.



**-Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile;**

Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa, radikal formu oluşur. Örneğin askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller (E vitamini) gibi hücrel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formları oluşur. Glutatyon (GSH) radikalleri indirgerken, kendisinin tiyil radikali (GS.) oluşur. İki tiyil radikalinin birbiriyle tepkimesi sonucu oluşan tür ise glutatyonun oksitlenmiş (GSSG) formudur.



**- Normal bir moleküle elektron transferi ile;**

Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşturuluyorsa, bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksitin (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) oluşumuna neden olur. Bu mekanizma ile radikal yapımı biyolojik sistemlerde yaygın olarak gerçekleştiğinden canlılar için önemlidir [10].



## 2.2 Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikal kaynakları endojen ve eksojen olmak üzere iki genel başlık altında sınıflandırılabilir. Çizelge 2.1'de bu sınıflandırma gösterilmiştir.

Çizelge 2.1 Serbest Radikal Kaynakları [12]

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Mitokondriyal e <sup>-</sup> transport zinciri	Çözücüler
Mikrozomal e <sup>-</sup> transport zinciri	Anestezikler
Kloroplast e <sup>-</sup> transport zinciri	İlaçlar
Oksidan enzimler	İyonize radyasyon
Proteinler	X-Işını
Araşidonik asid döngüsünün aktivasyonu	Güneş ışığı (UV)
Oksidatif stres	Isı şoku
Peroksizomlar	Ozon
Plazma membranı	Sigara dumanı
Transizyon metalleri	Kirleticiler
Fagositik hücreler	Egzos gazları
Endojenik bileşiklerin otooksidasyon reaksiyonları	Glutasyonu okside eden maddeler Asetaminofen, kokain
Egzersiz	Metal iyonları

### 2.2.1 Endojen Kaynaklar

#### - Mitokondriyal ve Mikrozomal e<sup>-</sup> Transport Zinciri;

Hücrelerdeki en büyük serbest radikal kaynağı, elektron transport zincirinden elektron sızıntısıdır. Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondriyal süperoksit radikal üretimi de artar. Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda serbest radikal üretimi ise membrana

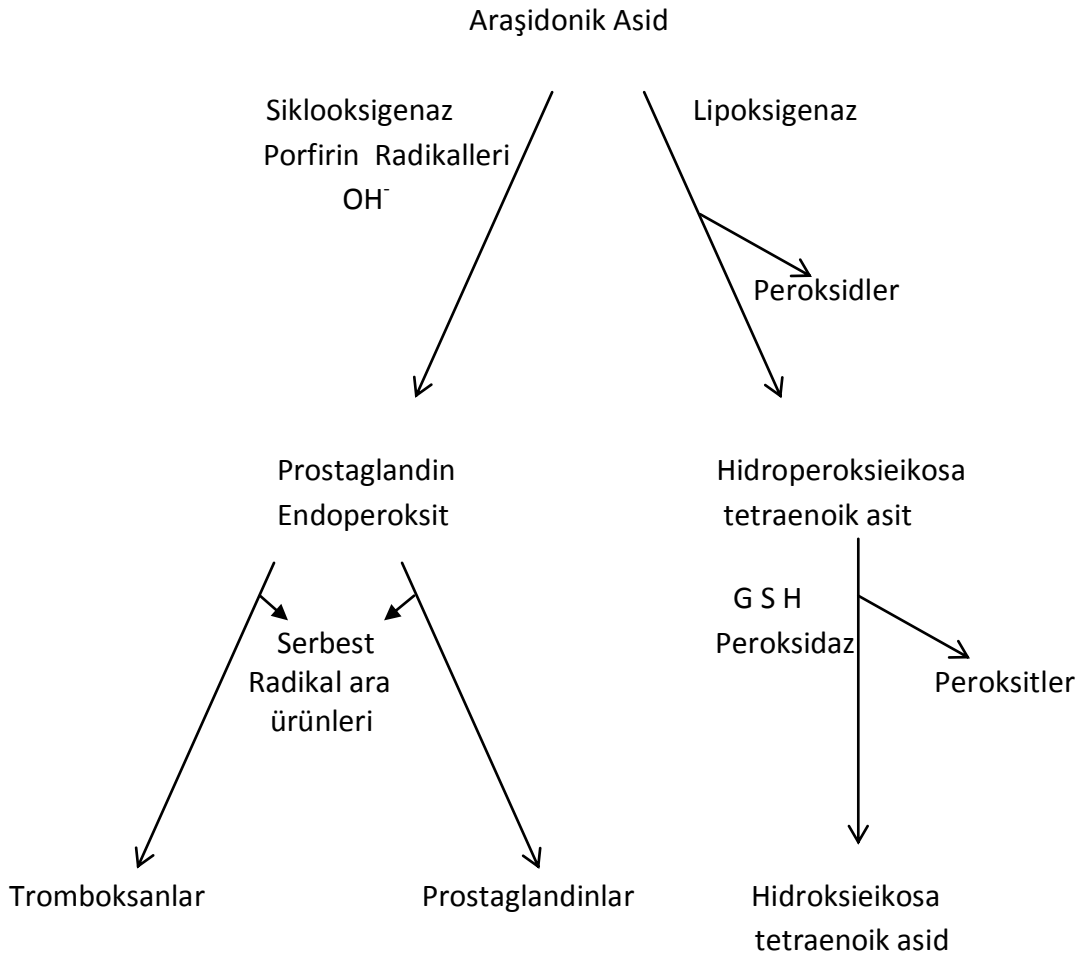
bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. Membrana bağlı sitokrom P-450 ve b<sub>5</sub>, doymamış yağ asitleri ve ksenbiyotikleri redükte ederken dioksijen ve diğer substratları okside eder [3].

**- Peroksizomlar, Oksidan Enzimler ve Proteinler;**

Peroksizomlar, gcl hücresel hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu yapıların içeriğinde çokca bulunan, D-amino asit oksidaz, rat oksidaz, L-alfa-hidroksi asit oksidaz ve yağ asidi açıl KoA oksidaz gibi oksidazlar hidrojen peroksit açığa çıkarıcı özelliğe sahiptirler. Çoğu enzimin katalitik siklusları esnasında serbest radikaller oluşur. Ksantin oksidaz da bu enzimlerden biri olup normalde dehidrogenaz olarak etki eder ve herhangi bir serbest radikalın oluşumuna sebep olmaz. Ancak in vivo olarak oluşturulan iskemi, bu enzimin dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüşmesine ve süperoksid radikali oluşmasına neden olur. Aldehid oksidaz, dihidrooratat dehidrogenaz, flavoprotein dehidrogenaz, amino asit oksidaz ve triptofan dioksijenaz gibi enzimlerde benzer şekilde radikal oluşmasına sebep olurlar [3].

**- Araşidonik Asit Döngüsünün Aktivasyonu;**

Araşidonik asit metabolizması reakif oksijen türlerinin önemli bir kaynağıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonuna ve plazma membranında araşidonik asidin salınımına yol açar. Araşidonik asidin enzimatik oksidasyonuylada çeşitli serbest radikal ara ürünleri meydana gelir, bu Şekil 2.1'de gösterilmiştir [3].



Şekil 2.1 Araşidonik Asit Metabolizması Sırasında Serbest Radikallerin Sentezi [3]

**- Oksidatif Stress Yapıcı Durumlar; İskemi, Travma**

İskemi, bir organa gelen kan akımının, özellikle cerrahi işlemler ve organ transplantasyonu gibi çeşitli nedenlerle yetersiz hale gelmesi veya durmasıdır. İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskeminin uzun sürmesi sonucunda hücrelerin bütünlüğü kaybolur, hatta hücre ölümüne meydana gelir. İskemili bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda (reperfüzyon), özellikle dokuya gelip yerleşen PMNL (polimorfonükleo lökosit) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri, dokudaki yıkımı arttırıcı etki yaparlar [11].

**- Fagositik Hücreler;**

Fagositik hücreler, enfeksiyona karşı vücudun hücresel cevabını başlatan hücrelerdir. Bu hücreler: nötrofiller, monositler ve makrofajlar, eozinofiller, lenfositler, endotenyal hücrelerdir. Fagosit hücreler, fagositoz sırasında bakterileri öldürmek için hidrojen

peroksid veya hipokloröz asid meydana getirirler. Bu islemleri önemli iki tür mekanizma ile gerçekleştirirler [12]:

- MPO (miyeloperoksidaz) sistemi
- NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oksidaz sistemi

#### **- Plazma Membranı;**

Plazma membranında bulunan lipoksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde bulunan NADPH oksidaz, lipid peroksidasyonuna sebep olan serbest radikallerin kaynaklarıdır. Fagositoz esnasında, oksijen kullanımı arttığından oksijenden süperoksid dolayısıyla hidrojen peroksid açığa çıkışı da artar. Bu nedenle fagositik hücrelerin plazma membranları NADPH oksidazın aracılık ettiği serbest radikal üretiminde önemli bir kaynaktır [12].

#### **- Transizyon Metalleri;**

Demir, bakır metalleri, DNA (deoksiribonükleik asid), protein ve lipidlere elektron taşıyarak oksidatif hasarı hızlandırır. Hücre lizisi sonucu hücre içinde ferritin ve hemosiderin şeklinde depolanan demir ile yapısında bakır bulunan seruloplazmin proteinlerinin yıkımıyla demir ve bakır serbest hale geçer. Bunun sonucunda çevre dokulara salınan Fe ve Cu oksidatif hasarı hızlandırır [12].

### **2.2.2 Eksojen Kaynaklar**

Serbest radikallerin meydana gelmesinde zararlı güneş ışınlarının (UV), X ışınlarının, sigarada bulunan zararlı maddelerin, alkollerin, yağların oluşumu ve yıkımı olaylarının, sanayi atıklarının, yükseltgeme eğilimi büyük olan metallerin, araçların egzozundan çıkan dumanların, ozonun (O<sub>3</sub>), kirli havanın ve pis suyun etkili olabileceği bilinmektedir [13].

## 2.3 Serbest Radikal Türleri

Çizelge 2.2 Serbest Radikal Türleri

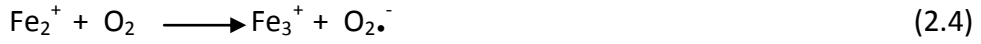
Oksijen Merkezli Serbest Radikaller	Karbon Merkezli Serbest Radikaller
Süperoksit radikali ( $O_2^{\bullet}$ ) Hidroksi radikali ( $HO^{\bullet}$ ) Singlet oksijen ( $O_2$ ) Peroksinitrit radikali ( $ONOO^{\bullet}$ ) Alkoksil radikali Peroksil radikali	Lipid radikali ( $L^{\bullet}$ ) Lipidperoksit radikali ( $LOO^{\bullet}$ ) Karboksil radikali ( $LCOO^{\bullet}$ ) Trikloro metil radikali ( $^{\bullet}CCl_3$ )
Azot Merkezli Serbest Radikaller	Demir Merkezli Serbest Radikal
Nitrik oksit (NO) Azot dioksit ( $NO_2$ )	Perferril radikali
Hidrojen Merkezli Serbest Radikal	Kükürt Merkezli Serbest Radikal
Hidrojen atomu (H)	Tiyil Radikali ( $RS^{\bullet}$ )
	Radikal olmayan Toksik Metabolitler
	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) Ozon ( $O_3$ ) Lipid Hidroperoksit (LOOH)

### 2.3.1 Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali canlılarda olduğu ilk gösterilen radikal olup genel olarak 4 mekanizma ile üretilir [10].

1. İndirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirken süperoksit radikali oluşur. Hidrokinonlar, flavinler, tiyoller,

katekolaminler, ferrodoksinler, indirgenmiş nükleotidler gibi yüzlerce biyolojik molekül aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olurlar.



2. Başda çeşitli dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere, yüzlerce enzimin katalitik etkisi sırasında süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir.
3. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağının olmasıdır.
4. Aktive edilen fagositik lökositler bol miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve buldukları ortama verirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatır.

Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali ( $\text{HO}\cdot_2$ ) oluşturmak üzere protonlanır [9].



Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir [9].



Aerobik canlılarda süperoksitlerin  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'ye çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir [10].

Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ( $\text{NO}\cdot$ ) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) ve nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot

dioksit ( $\text{NO}_2^\bullet$ ), hidroksil radikali ( $\text{OH}^\bullet$ ), nitronyum iyonu ( $\text{NO}_2^+$ ) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin ( $\text{NO}^\bullet$ ) zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur [9].

### 2.3.2 Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

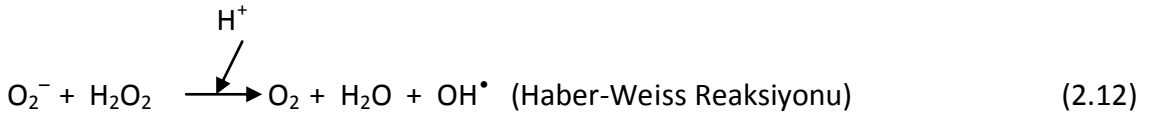
Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksidin iki proton ( $\text{H}^+$ ) ile birleşmesi sonucu meydana gelir [9].



Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) dismutasyonu ile olur [2].



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü  $\text{Fe}_2^+$  veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalinin ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ( $\text{OH}^\bullet$ ) oluşturur [9].



### 2.3.3 Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali ( $\text{OH}^\bullet$ ), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksidin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesi sonucu oluşmaktadır. Bir de suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur.



Hidroksil radikali oldukça reaktif bir oksidan radikaldir ve yarılanma ömrü çok kısadır. Tioller ve yağ asitleri gibi moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri ( $\text{RS}^\bullet$ ) ve farklı yeni radikallerin oluşumunu sağlarlar [3].

Hidroksil radikali, şekerler, aminoasitler, fosfolipitler, DNA bazı ve organik asitlerde yaşayan neredeyse tüm molekül türleriyle yüksek oranda tepkimeye girerler. Örneğin metil alkol ile [1];



tepkimesini gerçekleştirirler.

### 2.3.4 Singlet Oksijen

Singlet Oksijen ( $\text{O}_2$ ), ortaklanmamış elektrona sahip olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Bu molekül serbest radikal reaksiyonları sonucu oluşabildiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da neden olabilir. Singlet oksijen, oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitalle yer değiştirmesi sonucu meydana gelir [3].

### 2.3.5 Nitrik Oksit Radikali

NO, endotel hücreler, vasküler düz kas hücreleri, nöronlar, trombosit, makrofaj ve nötrofil gibi çok farklı memeli hücre tiplerinde sentezlenir. NO veya bazı ilgili reaktif nitrojen türleri, trombosit agregasyonunu önlemek için bir nörotransmitter gibi hareket eder. Ayrıca bunlar, tümör hücreleri, parazit ve bakterilere karşı bağışıklık sisteminin savunma molekülleridir. Ancak fazla miktarda NO, peroksinitrit ve diğer reaktif nitrojen türlerinin, potansiyel sitotoksik ve hücreyi çevreleyen hasarlara yol açma kabiliyetlerinin olduğu kabul edilmektedir [14].

Nitrik oksitin süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) oluşur. Böylece nitrik oksitin fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar.



Peroksinitrit, nitrik oksit toksisitesinin başlıca sorumlusudur. Peroksinitritin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır ve azot dioksit ( $\text{NO}_2\cdot$ ), hidroksil radikali ( $\text{OH}\cdot$ ), nitronyum iyonu ( $\text{NO}_2^+$ ) gibi toksik ürünlere dönüşür [9].

## 2.4 Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Radikallerin bu etkilerini aşağıdaki başlıklarda incelenebilir.

### 2.4.1 Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri (Lipid Peroksidasyonu)

Biyomoleküllerin hepsi serbest radikaller tarafından etkilenir ama lipidler en hassas olanıdır. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan serbest oksijen radikalini etkisiyle membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıyla başlar. Böylece yağ asidi zinciri lipid radikali özelliği kazanmış olur. Oluşan lipid radikali dayanıksızdır ve bir dizi değişikliğe uğrar.

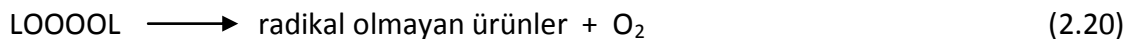


Moleküldeki çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle dien konjugatları oluşur ve sonra lipid radikalinin oksijen ile birleşmesiyle de lipid peroksid radikali ( $LOO\bullet$ ) oluşur.

Lipid peroksil radikalleri membran yapısında bulunan diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerin oluşumuna sebep olurlar. Kendileride açığa çıkan hidrojen atomlarını alıp lipid hidroperoksitlerine dönüştürler [15].



Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonları iki lipid peroksid radikali etkileşinceye kadar devam eder ve siklik peroksid ( $LOOL$ ) oluşumu ile sonlanır [16].



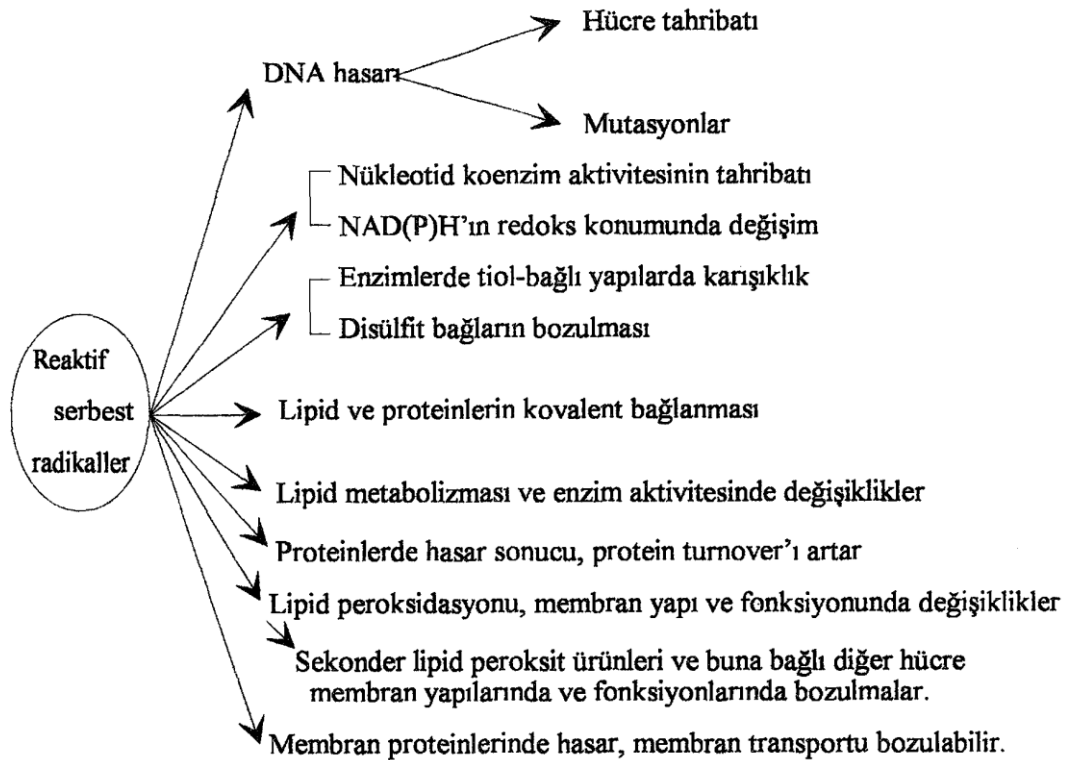
### 2.4.2 Proteinlere Etkileri

Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Özellikle

sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Bu reaksiyonlar sonucu immünglobülin G ve albümin gibi fazla sayıda disülfüd bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. “Hem” proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler [3].

## 2.5 Serbest Radikallerin Metabolizmadaki Olumsuz Etkileri

Reaktif oksijen türlerinin artması sonucu sağlıklı hücrelerde apoptoz, hücresel işlevlerde bozukluklar ve inflamasyon meydana gelebilir. Bu olumsuz durumlar ateroskleroz, Alzheimer, Parkinson gibi dejeneratif hastalıklara sebebiyet verir [17]. Canlı organizmada serbest radikal aracılı hasar oluşabilecek durumlar Şekil 2.2’de gösterilmiştir.



Şekil 2.2 Canlı Organizmada Serbest Radikal Aracılı Hasar Oluşabilecek Durumlar [18]

DNA (deoksiribonükleik asit)' nın tüm yapısal elemanları oksidatif hasara karşı hassastırlar [19]. DNA'nın reaktif oksijen radikalleri tarafından oksidasyona uğratılması

DNA zincirinde kırılmalara ve DNA tamirinde bozulmalara yol açıp mutagenezi arttırabilir, kanser gelişimine ve hücre yaşlanmasına neden olabilir [20],[21].

### ANTIOKSİDANLAR

Oksijen, insan vücudunda solunum zinciri içinde süperoksit, singlet oksijen, hidroksil vb. reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturmaktadır. Reaktif oksijen birikimi organizmada bulunan veya gıdayla alınan antioksidanlarla dengelenmediği takdirde oksidatif stres oluşmaktadır. Oksidatif stres ile DNA ve hücre membranları gibi biyolojik yapıların oksidatif hasarına neden olabilen radikalik zincir reaksiyonları meydana gelmektedir. Bu hasarlar kanser, koroner kalp rahatsızlığı, hücresel yıpranma ve yaşlanma, mutajenizm, bağışıklık sistemi hastalıkları ve lipoprotein (LDL) oksidasyonu gibi hastalıklara sebep olur. Antioksidanlar serbest radikallerin bu gibi olumsuz etkilerini önemli ölçüde önleyen bileşiklerdir [4].

#### 3.1 Antioksidan Etki Tipleri

Antioksidanlar 4 ayrı şekilde etki ederler [3]:

1. Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemidir.
2. Bastırıcı etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaydır.
3. Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması işlemidir.
4. Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir.

### 3.2 Antioksidanların Sınıflandırılması

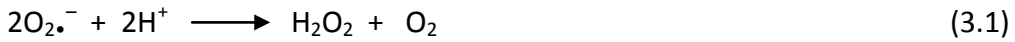
Antioksidanları doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen antioksidanlar olarak sınıflandırmak mümkündür. Doğal antioksidanlar da kendi içinde enzimatik ve enzimatik olmayan şekilde ayırabiliriz. Enzimatik antioksidanlara Katalaz (CAT), Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz (GSH-P<sub>x</sub>) ve Hidroperoksidaz örnek verilebilirken, enzim olmayan gruba melatonin, seruloplazmin, melatonin, transferrin ve miyogloblin dahil edilebilir.

Eksojen antioksidanlara ise ilaçlar, vitaminler ve gıda antioksidanları örnek verilebilir. Vitamin olan eksojen antioksidanlar β-karoten, α-tokoferol (vitamin E), askorbik asit (vitamin C)'dir. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar sınıfına NADPH oksidaz inhibitörleri, ksantin oksidaz inhibitörleri dahil edilebilir. Gıdalarda kullanılan yapay antioksidanlar bütillenmiş ise hidroksi tolüen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHT), sodyum benzoat ve propilgallattır.

### 3.3 Enzimatik Antioksidanlar

#### 3.3.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)

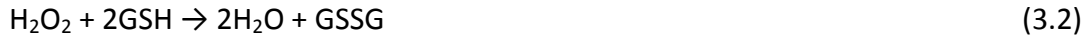
Süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir.



Beyinde yaygın bir şekilde bulunur ve aktivitesi yaş artışıyla orantılı olarak artar. İnsanlarda 2 tipi olan bu enzim, sitozolde bulunan dimerik Cu ve Zn ihtiva eden Cu,Zn-SOD ile mitokondride bulunan ve tetramerik Mn ihtiva eden Mn-SOD şeklinde 2 izomerdir [22]. Her iki SOD'un katalizlediği reaksiyon aynıdır. Bu enzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korur. Ayrıca SOD fagosite edilmiş bakterilerin intraselüler öldürülmesinde de rol oynar [3].

### 3.3.2 Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve lipid peroksitlerin indirgenmesinde görev alır. İndirgenmiş glutatyona ihtiyaç duyar. Peroksitten su oluşumunu sağlayan tepkimeyi katalize eder:



H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' in düşük konsantrasyonlarında katalaz, yüksek konsantrasyonlarında glutasyon peroksidaz daha aktiftir [23].

Glutasyon redüktaz esas olarak glutasyon peroksidaz katalizasyonu sonucu oluşan okside glutasyonun indirgenmesi reaksiyonunu katalizler:



Glutasyon transferaz araşidonik ve linoleik asit hidroperoksitleri başta olmak üzere lipid peroksitlerin detoksifikasyonunda görev alır [23].

### 3.3.3 Katalaz (CAT)

Hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene dönüştüren reaksiyonu katalizler:



Katalaz organizmada tüm hücrelerde özellikle peroksizomlarda bulunur [3], [23].

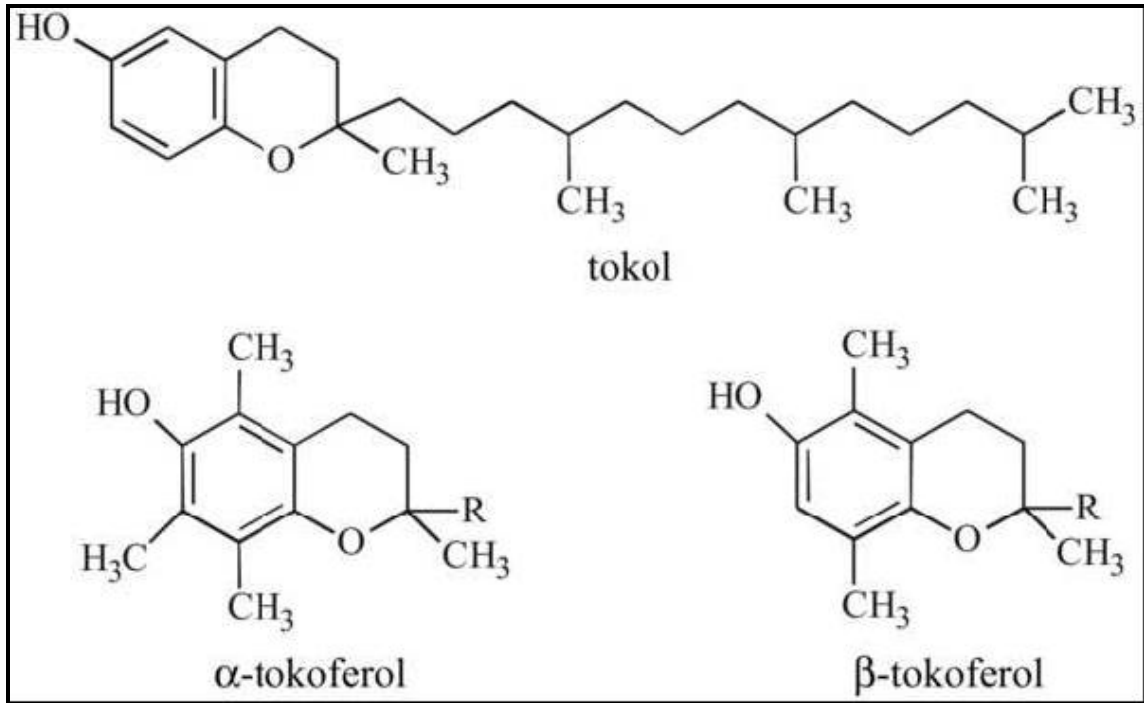
Katalaz (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oksido-redüktaz) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Granülatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevi de görür. Hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ortadan kaldırarak hidroksil serbest radikali (OH•) oluşumunu önler [24].

## 3.4 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

### 3.4.1 E Vitamini (α-tokoferol)

Doğada 7 farklı izomer yapısında bulunan tokoferoller, başlıca bitkisel ürünlerde mevcuttur. Hayvan organizması pek az miktarda içerir. Özellikle bitkisel yağlarda, yeşil yapraklı sebzelerde, baklagillerde, ceviz, fındık, süt, yumurtada bulunurlar.

Tokoferollerin kimyasal yapıları birbirine benzese de, bunların biyolojik etkileri oldukça farklıdır. 3 metil grubu taşıyan  $\alpha$ -tokoferol vitamin olarak en etkili olanıdır ve sadece 'E-vitamini' dendiğinde  $\alpha$ -tokoferol anlaşılır.  $\alpha$ -tokoferolün kimyasal yapısı Şekil 3.1'de gösterilmiştir.  $\beta$  ve  $\gamma$  tokoferoller,  $\alpha$  izomerinin yarısı kadar,  $\delta$  izomeri ise ancak yüzde biri kadar etkilidir. Tokoferoller, monofenolik yapıdaki doğal antioksidanlardır. Antioksidan etkileri vitamin etkilerinin tersine olarak  $\alpha$ 'dan  $\gamma$ 'ya doğru artar [25].



Şekil 3.1  $\alpha$ -tokoferolün kimyasal yapısı

### 3.4.2 C Vitamini (Askorbik Asit)

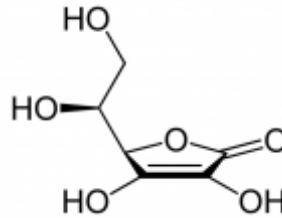
Kapalı formülü  $C_6H_8O_6$  olan bir ketolaktondur. Yapısı karbohidratlardan heksozlara benzer. Asorbik asitin kimyasal yapısı Şekil 3.2'de gösterilmiştir. Hayvanların çoğu C vitamini sentezini kendisi yapabilirken insanlar yapamaz. C vitamini vücutta hidroksilasyon reaksiyonları ve demir emiliminde görev alır. Ayrıca sulu peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek antioksidan görevini de yerine getirir [12].

C vitamini kollajen yapısında yer alan hidroksprolin sentezini sağlayan prolin hidrokspiazdaki demirin indirgenmesinde görev alır. Hidroksilasyon bozukluğunda; kıkırdak, dentin, kemiklerdeki intrasekiler bağ doku proteinlerinin sentezi bozulur. C

vitamini eksikliğinde; kemik büyümesi geriler, kan damarları kolay zedelenir, skorbüt hastalığı oluşur, yaralar geç iyileşir, diş gelişimi bozulur, diş eti kanamaları olur.

Kapiler damarların zedelenmesine bağlı petesi ve ekimozlar görülür. Çocuklarda C vitamini eksikliği sonucu Barlow hastalığı ile kurbağa ayağı pozisyonu görülür, diş etleri şişer ve kanar.

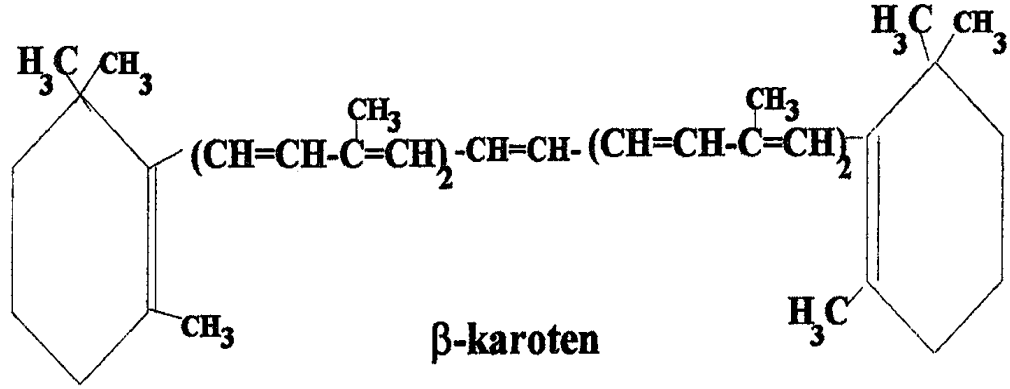
C vitamini en çok yabani gül tohumu, limongiller, kuş üzümü, taze sebze ve meyvelerde, özellikle portakal, greyfurt gibi turuncgillerde, çiğ lahana, domates ve şalgamda bulunur. Vücutta depolanmadığından, her gün düzenli olarak alınması gerekir [12].



Şekil 3.2 Askorbik asitin kimyasal yapısı

### 3.4.3 B-Karoten

Karoten fotosentez için önemli fotosentetik bir pigmenttir. Soğurduğu ışığı klorofile aktararak fotosenteze katkıda bulunur. Karotenler terpen yapıda olup, sekiz izopren birimden biyokimyasal olarak sentezlenirler.  $\beta$ -karoten iki retinil grupdan oluşur ve ince bağırsak mukozasında  $\beta$ -karoten dioksijenaz tarafından yıkıma uğrayıp yağda çözünen A vitaminine (retinol) dönüşür.  $\beta$ -karoten karaciğerde depolanıp gerekli olduğu zaman A vitaminine dönüşebildiğinden dolayı bir provitamin olarak sayılmaktadır.  $\beta$ -karoten'in kimyasal yapısı Şekil 3.3'de gösterilmiştir.



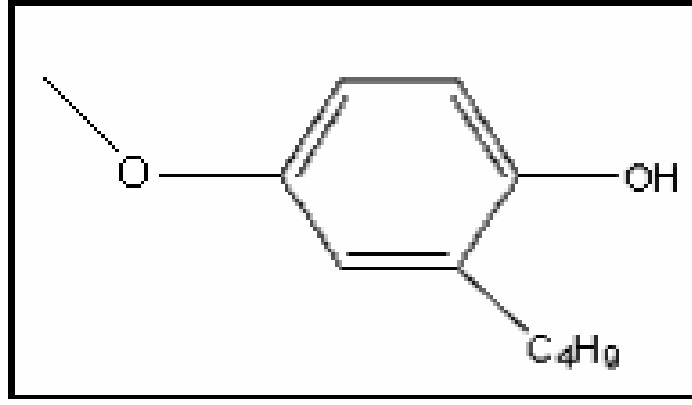
Şekil 3.3 β-karotenin kimyasal yapısı

β-Karoten biyolojik sistemlerde yağlarda çözüdüğünden dolayı özellikle lipid peroksidasyonunu önleyen ve serbest radikallerin temizlenmesiyle hücre zarını koruyan önemli bir antioksidandır [26].

### 3.5 Yapay Antioksidanlar

#### 3.5.1 BHA (Bütillendirilmiş Hidroksianisol)

Butillenmiş hidroksi anizol (BHA), bitkisel ve hayvansal yağlarda kolay çözünebilir etkili bir sentetik antioksidandır. Piyasada bulunan BHA başlıca iki izomer olan 3- tersiyer butil-4-hidroksi anizol ve 2-terciyer butil 4-hidroksi anizol karışımıdır. Butillenmiş hidroksi anizol'ün kimyasal yapısı Şekil 3.4'de gösterilmiştir. Zehirli değildir ve katıldığı maddeye hiçbir koku aşamaz. Hidroksi grubunu 5. veya 6. karbon atomunda taşıyan bileşikler antioksidan değilken 4. karbon üzerinde taşıyanlar antioksidan özellik gösterir. Bunun haricinde diğer yerdeğişenlerin yer ve yapısı da rol oynar. Örneğin; 3-terciyer butil 4-hidroksi anizol, 3-metil veya 3 n-butil türevlerinden daha etkilidir. Yerdeğişenin 3 no'lu karbon atomuna bağlı olması da etkiyi arttırır. BHA, gıdalarda % 0,02 oranında kullanılır. Özellikle hayvansal yağlar, bu yağlarla yapılan bisküvi, pasta ve patates cipsinde etkili antioksidan olarak kullanılırlar [25].

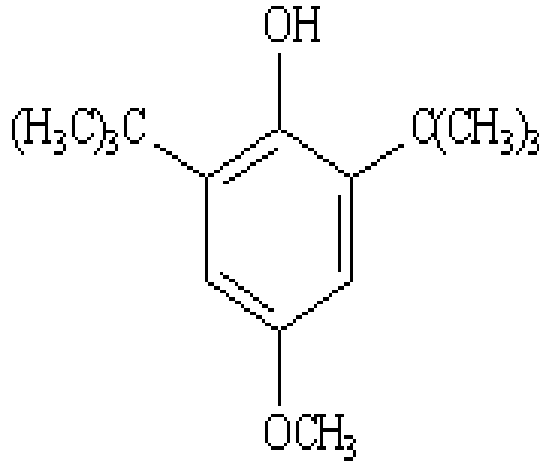


Şekil 3.4 Bütillendirilmiş Hidroksianisol (BHA)'un Yapısı

### 3.5.2 BHT (Bütillendirilmiş Hidroksi Toluen)

Beyaz renkli kristal yapıda bir maddedir. Bitkisel ve hayvansal yağlarda çözünen, suda çözünmeyen bir yapıya sahiptir. Butillenmiş hidroksi toluen'in kimyasal yapısı Şekil 3.5'de gösterilmiştir. BHT, BHA ile benzer özelliklere sahiptir.

Butillenmiş hidroksi toluen hayvansal yağlarda ve etlerde çok, bitkisel yağlarda az etkilidir. Gıdalara ilave edilme işlemleri sırasında uygulanan çok yüksek sıcaklıklara dayanıklı değildir [25].



Şekil 3.5 Bütillendirilmiş Hidroksi Toluenin (BHT) Yapısı

### 3.6 Antioksidanların İnsan Sağlığına Etkileri

Antioksidan aktivite yaşamımız için önemli olan temel bir özelliktir ve birçok biyolojik fonksiyon kaynağını bu özellikten almaktadır. Doğal antioksidanların pek çoğu

antibakteriyel, antiviral, antialerjik, antitrombotik ve iltihap sökücü gibi çeşitli biyolojik yararlar sergilemektedirler [27].

Yapılan bir çalışmada soya sütü kefir, önemli antimutajenik ve antioksidan aktivite özellikleri sergilemesinden dolayı mutajenik ve oksidatif hasarları önleyici rolleri olan bir gıda ürünü olarak önerilmiştir [28].

Tüm kanserlerin %80-90'ının potansiyel olarak kontrol edilebilir nedenlerden oluştuğu ve %30-35'inin doğrudan diyetle ilgili olduğu düşünülmektedir. Bulduğumuz ortam ve diyet ile vücuda karsinojenik maddeler alınmaktadır. Kanser oluşturucu diyetetik ve çevresel faktörler, aktif oksijen ve süperoksit olarak adlandırılan radikalleri üretme kapasitesindedir. Bunların etkilerini ortadan kaldırmak için antioksidanlar üzerinde çok durulmaktadır. İnsan ölüm nedenlerinden biri de kardiyovasküler hastalıklardır. Koroner kalp hastalıklarının yüksek kolesterol, yüksek tansiyon ve sigara gibi klasik risk faktörleri vardır. Krizlerde en önemli rol arterosklerozdan kaynaklanmaktadır. Eğer serbest radikaller arteroskerozu başlatıyorsa veya bunun patolojisine etki ediyorsa, antioksidan alımı, özellikle de yağda çözünen ve zincir kırıcı antioksidanların alımı yararlı olabilir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sırasında oluşan radikallerin zararına karşı doğal antioksidanlar koroner kalp hastalıklarında koruyucu etki göstermektedirler [29].

Bilim adamları  $\beta$ -karoten ve E vitamini gibi antioksidanların hastalarda bağışıklık sistemi bozukluklarının ilk aşamalarını, enfeksiyon ve klinik semptomların görülmesi arasındaki süreyi uzatarak geciktirdiklerini belirtmişlerdir. HIV bulaşmasında antioksidanlar ilaçların toksisitesini azaltmakta ve HIV virüsünün ilaca karşı direncinin azalmasına yardımcı olmaktadır [2].

## BÖLÜM 4

### KEFİR ve BOZA

#### 4.1 Kefir

Kefir, esas bileşimini mayaların oluşturduğu yegâne doğal mikrofloraya sahip kefir tanesi kullanılarak yapılan fermente bir süt ürünüdür [30]. Orjinini Rusya'nın Kafkas dağlarından alan kefirin Türkçede iyi hissettiren, keyif veren anlamlarına gelen "kef" kelimesinden türediği söylenmektedir. Kefir yapımında inek, koyun, keçi, Hindistan cevizi, pirinç veya soya sütünden herhangi biri kullanılabilir [31].

Resmi gazetenin 16.02.2009 tarili, 27143 sayılı ve 2009/25 tebliğ nolu yayınında Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde kefir; Fermentasyonda spesifik olarak *Lactobacillus kefiri*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen mayaları (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus*) içeren starter kültürler ya da kefir tanelerinin kullanıldığı fermente süt ürününü olarak tanımlanmaktadır.

##### 4.1.1 Kefir Tanesi

Kefir tanesi beyaz veya sarımsı renkte, jelatinimsi, düzensiz şekilli, patlamış mısır veya küçük karnabahar görünümünde, çapı 3 ile 20 mm arasında değişen düzensiz partiküllerdir [32]. Kefir tanesi Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Sütün fermentasyonunu gerçekleştiren bu kefir taneleri, kefiran adı verilen polisakkarit matriksinin bir arada

tuttuğu küçük mikroorganizma kümeleridir. Kefiran, *Lactobacillus kefiranofaciens* tarafından üretilen suda çözünebilir bir glukogalaktan'dır [33].



Şekil 4.1 Kefir tanesi [31]

#### 4.1.2 Kefirin Mikroflorası

Kefir tanesi, bünyesinde mayaları, laktik asit bakterileri (*lactobacilli*, *lactococci* ve *leuconostoc*) ve asetik asit bakterilerini (*acetobacter*) karışım halinde bulundurur. Bu mikrobiyel karışım içinde en çok laktobasiller yer alır (%65–80). Kefirin içerdiği lactobasil ve diğer bakteri türleri Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Bu türler arasında *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus parakefiri*, *Lactococcus lactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* bulunur [30].

Çizelge 4.1 Kefir tanesinde bulunan bazı bakteriler [34]

<b>Lactobacilli Türleri</b>	
<i>Lactobacillus kefir</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus kefirgranum</i>	<i>Lactobacillus casei</i>

Çizelge 4.1 Kefir tanesinde bulunan bazı bakteriler [34] (Devamı)

<i>Lactobacillus parakefir</i>	<i>Lactobacillus paracase</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus fructivorans</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus hilgardii</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus viridescens</i>
<b>Lactococci Türleri</b>	
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>
<b>Streptococci Türleri</b>	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<b>Entorococci Türleri</b>	
<i>Entorococcus durans</i>	<i>Streptococcus durans</i>
<b>Leuconostoes Türleri</b>	
<i>Leuconostoc spp.</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<b>Acetic Acid Bacteria Türleri</b>	
<i>Acetobacter spp.</i>	<i>Enterococcus durans</i>
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	
<b>Diğer Bakteriler</b>	
<i>Bacillus spp.</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Micrococcus spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>

Kefir taneleri, laktozu fermente eden mayalar (*Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Torula kefir*) ve laktozu fermente etmeyen mayaları da (*Saccharomyces cerevisiae*) bünyesinde bulundurur [34]. Kefir tanesinde bulunan bazı mayalar Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 Kefir tanesinde bulunan bazı mayalar [34]

<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Candida friedrichii</i>
<i>Saccharomyces spp.</i>	<i>Candida pseudotropicalis</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida tenuis</i>
<i>Saccharomyces unisporus</i>	<i>Candida inconspicua</i>
<i>Saccharomyces exiguus</i>	<i>Candida maris</i>
<i>Saccharomyces turicensis</i>	<i>Candida lambica</i>
<i>Saccharomyces delbrueckii</i>	<i>Candida tannotelerans</i>
<i>Saccharomyces dairensis</i>	<i>Candida valida</i>
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	<i>Candida kefir</i>
<i>Brettanomyces anomalus</i>	<i>Candida holmii</i>
<i>Issatchenkia occidentalis</i>	<i>Pichia fermentans</i>

Sütün laktik asit bakterileri ve maya ile mayalanması, laktik asit, CO<sub>2</sub>, az miktar alkol ve çeşitli aromatik moleküllerin ortaya çıkması ile sonuçlanır. Ortaya çıkan bu maddelerin tümü kendine özgü organoleptik karakteristikleri olan kefirin (köpüklü olması, hafif asidik ve alkol tadı ve patojenik mikroorganizmaların sütden oluşumunu engelleyen antibiyotik ve bakterilerin içerdikleri maddeler gibi maddeler içermesi) oluşumunda yer alır [35].

İrigoyen vd. [36] kefirin soğukta muhafaza edilmesi süresince mikrobiyal bileşiminde

meydana gelen sonuçları araştırmak için yaptıkları bir çalışmada, çalışma materyallerini, %1 ve %5 oranındaki kefir danelerini kefire inoküle ederek oluşturmuşlardır. Bu örnekler inokülasyon işleminden sonra 25°C'de 24. saatde ve 5±1°C'de 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde mikroflora yönünden analiz edilmiştir. İlk gün 10<sup>8</sup>kob/mL olan laktobasil ve laktokok seviyelerinde 14. güne kadar önemli bir azalma olmuştur. 14. günden itibaren ise değerler sabit kalmıştır. Kefir danesinin %5 inoküle edildiği kefir örneklerinde ilk gün 10<sup>5</sup>kob/mL olan maya miktarında 28. güne kadar önemli bir fark olmamıştır. %1 kefir danesi inoküle edilen kefir örneklerinde ise maya miktarı 14.-21. günler arasında 10<sup>3</sup>kob/mL seviyesine düşmüştür. Başlangııda 10<sup>6</sup>kob/mL olan asetik asit bakteri miktarı ise tüm depolama süresi boyunca neredeyse sabit kalmıştır.

Fontan vd. tarafından [37] yapılan bir çalışmada, starter kültür ile ürettikleri kefirde, fermantasyon sürecinin 0., 2., 8., 24., 48., 96. ve 168. saatlerinde örnekler alıp mikrobiyolojik ve kimyasal açıdan incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre, sütteki laktoz miktarı 0. saatde hacimce %4,92 iken 168. saatin sonunda %3,78 olarak saptanmıştır. Etanolün başlangıçtaki 0,002'lik hacimce yüzde değeri yavaş bir artış göstermiş, ancak 48. ile 168. saatler arasında önemli bir artışla nihai değeri olan 0,018'e ulaşmıştır. Ayrıca üretilen kefirin başlangıçta 6,68 olan ortalama pH değeri ilk 24 saat içinde belirgin azalmayla 4,24'e düşmüştür. 24. saatden sonra daha az belirgin bir düşüşle 168. saat sonunda 3,88 olarak saptanmıştır.

Yüksekdağ vd.'nin [38] yaptıkları bir çalışmada, Türk kefir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin 21 laktokok formunun; 11'inin *Lactococcus cremoris*, 4'ünün *Lactococcus lactis*, 3'ünün *Streptococcus thermophilus* ve 3'ünün de *Streptococcus durans* olduğunu tespit etmişlerdir.

#### **4.1.3 Kefirin Bileşimi ve Kimyasal Özellikleri**

Kefir, vücut için gerekli olan besin maddelerince zengin protein, vitamin ve mineralleri ve canlı probiyotik mikroorganizmaları içerir. Kefirin kimyasal bileşimi ve besinsel değeri izelge 4.3'de gösterilmiştir. Kalsiyum, amino asitler, B vitaminleri, K vitamini ve folik asit bakımından da oldukça zengin bir kaynaktır. Ayrıca çok iyi bir biotin kaynağıdır [39].

Çizelge 4.3 Kefirin kimyasal bileşimi ve besinsel değeri [31]

İçerik	100g	İçerik	100g
Enerji	65kcal	<b>Mineral (g)</b>	
Yağ (%)	3,5	Kalsiyum	0,12
Protein (%)	3,3	Fosfor	0,10
Laktoz (%)	4	Mağnezyum	12
Su (%)	87,5	Potasyum	0,15
Süt asidi (g)	0,8	Sodyum	0,05
Etil alkol (g)	0,9	Klorit	0,10
Laktik asit (g)	1	<b>İz Elementler</b>	
Kolesterol (mg)	13	Demir (mg)	0,05
Fosfatidler (mg)	40	Bakır (µg)	12
<b>Esansiyel amino asitler(g)</b>		Molibden (µg)	5,5
Triptofan	0,05	Manganez (µg)	5
Fenilalanin+Tirozin	0,35	Çinko (mg)	0,36
Lösin	0,34	<b>Aromatik bileşenler</b>	
İsolösin	0,21	Asetaldehit	
Treonin	0,17	Diasetil	
Metionin+sistin	0,12	Asetoin	
Lisin	0,27		
Valin	0,22		
<b>Vitaminler (mg)</b>			
A	0,06	B <sub>12</sub>	0,5
Karoten	0,02	Niasin	0,09
B <sub>1</sub>	0,04	C	1
B <sub>2</sub>	0,17	D	0,08
B <sub>6</sub>	0,05	E	0,11

Kefirin bileşiminde, kefir kültürünü oluşturan mikroorganizmaların çeşitliliği, kullanılan sütün kalitesi, kefirin üretim teknolojileri, üretim aşamasında sütün mayalanma sıcaklığı, bekleme süresi ve üretimden itibaren içilinceye kadar geçen süre etkili olmaktadır [39].

İçime hazır olan kefir laktik asid, %0,6-0,9 oranında formik, süksinik ve propiyonik, hacim olarak %50 CO<sub>2</sub>, %0,6-0,8 etil alkol, farklı aldehitler ve aseton içerir. Mayalanmadan sonra süt içerisindeki laktoz %75 oranında azaldığı için, laktoza duyarlı kişiler kefir güvenli bir şekilde tüketebilirler [35].

Kefir tüketiminin laktoz intoleransı olan yetişkinlerdeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada bireyler eşit miktarda laktoz içeren süt, yoğurt, kefir, aromalı yoğurt, aromalı kefir tüketmişlerdir. Araştırma sonunda bireylerde süt, yoğurt, kefir, aromalı yoğurt ve aromalı kefirin  $\beta$ -galaktosidaz aktiviteleri sırasıyla 0; 3,4; 5,4; 3,2 ve 5,2 olarak saptanmıştır. Çalışma sonuçları, kefirin laktoz sindirimini yoğurt kadar iyileştirdiğini göstermiştir. Bu kısmen kefirde yüksek düzeyde seyreden ve sade yoğurtdan yaklaşık %60 daha fazla olan  $\beta$ -galaktosidaz aktivitesi ile açıklanabilir. Kefirdeki tüm mikroorganizmaların  $\beta$ -galaktosidaz aktiviteye sahip olmamalarına rağmen (örn., *Saccharomyces florentinus* gibi bir maya), hücre sayısı,  $\beta$ -galaktosidaz aktivitesi ve/veya diğer kültürlerin safra duyarlılığı, laktozun yüksek derecede sindirimine izin verecek şekilde yüksek kalmaktadır [40].

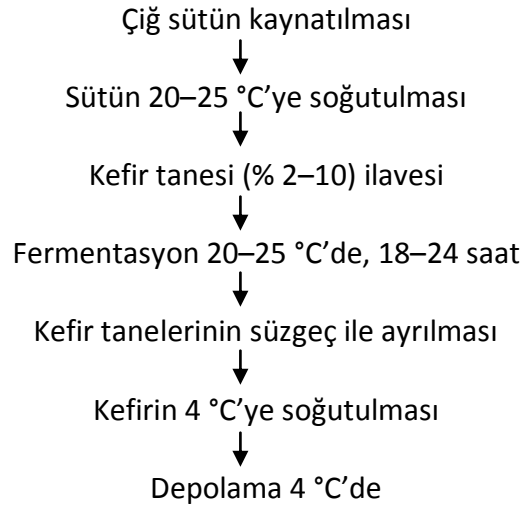
#### **4.1.4 Kefir Üretimi**

Kefir üretiminde kullanılan birkaç metod vardır. Yaygın olarak geleneksel ve endüstriyel prosesler kullanılır. Gıda bilimi insanları geleneksel kefirin özellikleriyle aynı özelliklere sahip kefir üretmek için modern tekniklerle çalışmaktadırlar. Kefir inek, keçi, koyun, pirinç veya soya sütlerinden herhangi biri ile yapılabilir. Kullanılacak süt için ise pastörize, pastörize olmayan, tam yağlı, yağsız, az yağlı gibi pek çok seçenek vardır [31].

##### **4.1.4.1 Geleneksel Yöntemle Kefir Üretimi**

Geleneksel kefir üretimi süte direkt olarak kefir tanesi ilave edilerek yapılmaktadır. Çiğ süt 85–90 °C'de 20 dakika ısıtılıp 20–25 °C'ye soğutulur ve % 2–10 oranında kefir tanesi

ilave edilerek, 20–25 °C’de 18–24 saat fermente edilir. Sonra süzgeç yardımıyla kefir taneleri süttten ayrılır. Elde edilen kefir 4 °C’de depolanır ve tüketime sunulur. Süttten ayrılan kefir taneleri ise bir sonraki inokülasyona kadar +4 °C’de muhafaza edilir [41]. Geleneksel yöntemle kefir üretim aşamaları Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 Geleneksel kefir üretim aşamaları [41].

Kefir tanelerinin mikrobiyolojik yapılarının kökenlerine bağlı olarak karmaşık olmaları ve saklama ile işleme koşullarının farklılaşması nedeniyle, tanelerin başlangıç kültürü olarak kullanılıp, kefirin endüstriyel olarak üretilmesi oldukça zordur. Aynı zamanda, kefir tanelerinin mikrobiyolojik yapılarını zaman içerisinde aynı haliyle korumak da zordur. Tutarlı özellikleri olan kaliteli bir ürün elde etmenin en iyi yolu kefir tanelerinin kullanımı yerine istenilen özellikleri verecek iyi belirlenmiş başlangıç kültürlerinin kullanılmasıdır [37].

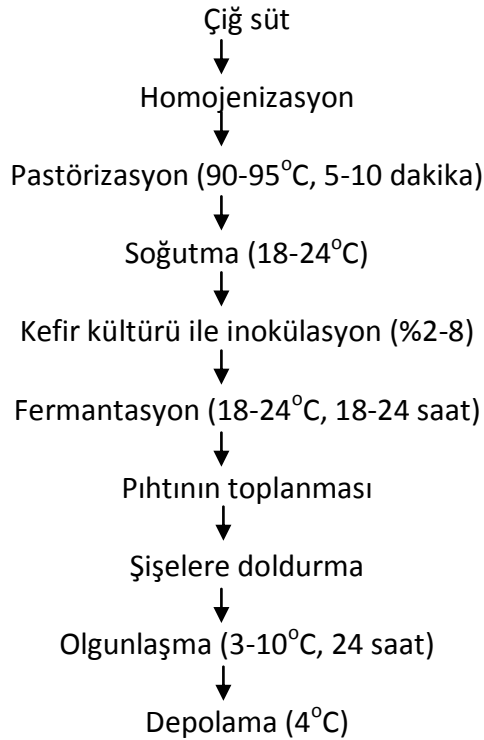
Ancak bir başka çalışmada, kefir üretmek için kefir kültürlerinin değişik oranlardaki başlangıç kültürleri (laktik asit bakterisi, maya, asetik asit bakterisi) kullanılmış ve ortaya çıkan ürünlerin niteliği (renk, koku, aroma, asitlik, köpürme, viskozite) incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda, önceki çalışmaların sonucunda olduğu gibi kefir tanelerinden üretilen kefirin başlangıç kültürlerinden üretilen kefire göre daha çok beğenildiği saptanmıştır [42].

Kefir tanesi veya kefir kültürünün fermantasyon sırasında meydana getirdiği kimyasal değişimler aşağıdaki gibi belirtilmiştir [30].

- Laktozdan laktik asit oluşumu (Laktik asit fermantasyonu)
- Laktozdan etil alkol ve karbondioksit oluşumu (alkol fermantasyonu)
- Kefire özgü tipik mayayı andırır kefir aroması oluşumu
- Sınırlı ölçüde proteinin pepton ve amino asitlere parçalanması (proteoliz)

#### 4.1.4.2 Endüstriyel Yöntemle Kefir Üretimi

Endüstriyel kefir üretiminde farklı yöntemler kullanılmasına rağmen temelde aynı prensibe dayanmaktadır. İlk adımda süt homojenize edilir ve kuru madde miktarı %8'e getirilir. Daha sonra 90-95°C'de 5-10 dakika ısıl işleme tabi tutulup ardından 18-24°C'ye soğutulur. %2-8 oranında kefir kültürü ile inoküle edilip 18-24 saat süreyle fermente edilir. Elde edilen pıhtı toplanıp şişelere doldurulur ve 3-10°C'de 24 saat olgunlaşmaya bırakılır. Bu süre sonunda oluşan kefir 4°C'de depolanır [7]. Endüstriyel yöntemle kefir üretim aşamaları Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3 Endüstriyel kefir üretim aşamaları [7].

#### **4.1.5 Kefirin Sağlık Açısından Önemi**

Kefir hakkında ilk bilimsel çalışma 19.yy'ın sonunda Rusya'da, barsak ve mide rahatsızlıklarında tedavi amaçlı kullanılmak üzere yapılmıştır ve Nobel ödülü almıştır. Bu çalışmada modern immünolojinin babası ve mikrobiyolog Rus bilim adamı Methcnihoff, fermente süt ürünleri (kefir) tüketimine bağlı, etnik gruplar arasında uzun yaşam farklılığına dikkat çekmiştir [43].

##### **4.1.5.1 Kefirin Kolesterol Düşürücü Etkisi**

Liu vd.'nin [44] süt-kefir ve soyasütü-kefir karışımlarının hipokolesterolemik özelliklerini değerlendirdikleri bir çalışmada erkek fareleri %10 yağsız süt, süt-kefir, soya sütü, soya sütü-kefir içeren kolesterolce zengin ve kolesterol içermeyen diet ile 8 hafta süresince beslenmişlerdir. Tüm dietlerin serum triaçilgliserol ve toplam kolesterol konsantrasyonlarında ve karaciğerdeki kolesterol birikiminde azaltıcı etki gösterdiklerini saptamışlardır. Ayrıca soya sütü-kefir diyeti, diğer iki diet ile karşılaştırıldığında doğal sterol ve safra asitlerinin fekal atılımında önemli bir artış sağlamıştır. Aynı zamanda soya sütü-kefir diyeti kontrol ile karşılaştırıldığında diğer dietlere göre non-HDL-kolesterol ve HDL-kolesterol'ün serum oranlarında daha fazla azalma ortaya koymuştur.

##### **4.1.5.2 Kefirin Antimikrobiyal ve Gastrointestinal Etkisi**

Rodriges vd. tarafından [45] kefir ve kefiranın, birkaç bakteri çeşidine karşı antimikrobiyal ve skatrisyel etkilerini test ettikleri bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu çalışmada, Wistar fareleriyle skatrisyel deneyler yapılmış ve deneylerde derilerinde lezyonlar oluşturulmuş ve Staphylococcus aureus'un aşılması yapılmış farelere %70'lik kefir jel lokal olarak uygulanmıştır. Sonuç olarak bu deneyler kefir jelinin cildin bağ dokularında koruyucu etkisi olduğunu göstermiş ve 7 gün kullanıldığında 5mg/g neomycin-colestebol emülsiyonuna göre yaraları daha kolay iyileştirebildiği görülmüştür.

Helicobacter pylori enfeksiyonunda, taze kefirin, mide kaslarının ve midenin boşaltım fonksiyonun çalışmasında uyarıcı etkisi olduğu belirtilmektedir. Oysa süt, peynir altı

suyu, peynir ve tereyağının bu fonksiyonlar üzerine inhibitör etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Yani mide operasyonları geçiren ya da helicobacter pylori kolonizasyonu olan hastaların bireysel durumlarına göre diyet uygulaması yapılmalıdır [46].

Golowczyc vd. [47] yaptıkları bir çalışmada kefir tanelerinden izole ettikleri homofermentatif laktobasillerin Salmonelle typhimurium ve Esciherichia coli.'ye karşı güçlü inhibitör etkiye sahip olduklarını saptamışlardır. Ancak kefirin fermantasyonu boyunca Salmonelle typhimurium, Staphylococcus aureus ve E. Coli'nin canlılığını koruyabilmesini inceleyen Karagözlü vd.'i [48] bu mikroorganizmalarının fermantasyon boyunca hayatta kaldığını ve çoğaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca bu mikroorganizmaların asidik ortama dayanıklı oldukları için, kefir için kullanılacak sütün konatamine olması durumunda yaşamaya devam edebildikleri ve gıda kaynaklı hastalıklara neden olabildiklerini saptamışlardır.

#### **4.1.5.3 Kefirin Antikanserojen Etkisi**

Liu vd.'i [49] süt ve soya sütü kefirlerinin ağız yoluyla uygulanarak farelerde tümör büyümesi ve immunoglobulin A tepkimesi üzerindeki etkilerini incelenmiştir. Farelere oral yolla uygulanan ve sarcoma tümör hücreleri ile aşılanan süt ve soya sütü kefirleri tümör büyümesini sırasıyla %64,8 (süt kefiri) ve %70,9 (soya sütü kefiri) oranlarında azaltmıştır. Ayrıca bu iki kefir türünün ağız yoluyla uygulanması apoptotik tümör hücre yıkımını tetiklemiştir. Küçük bağırsak duvarından alınan doku örneklerindeki total immunoglobulin A düzeyleri ise yine 30 gün boyunca süt kefiri ve soya sütü kefiri ile beslenmiş farelerde anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur.

Çevikbaş vd. tarafından [50] kefirin anti-tümör etkisi üzerine yapılan bir çalışmada farelere fusiform kanser hücreleri nakledilmiş farelere 20 gün boyunca intraperitoneal yoldan günlük 0.5mL kefir verilmiş ve sonuçta tümör boyutunda önemli küçülme gözlenmiştir. Ayrıca tümörel nekrozun (kangren) ortadan kalkmasında da kefirin etkili olduğu saptanmıştır.

Lee vd. tarafından [51] kefirin farmakolojik etkilerini araştırmak amacıyla yaptıkları bir çalışmada, ovalbumin duyarlılığı ile üretilen solunum iltihabına sahip astımlı fareler kefir diyeti ile beslenmişlerdir. Çalışma sonucunda kefirin, farelerin akciğer dokusunda

indüklenen ovalbumini inhibe ettiği saptanmıştır. Yani kefirin, astımlı farelerde anti-inflamatuar ve anti-allerjik etkilerinin olduğu ortaya konmuştur.

Huseini vd. [52] yaptıkları bir çalışmada kefirin yara iyileşmesindeki aktivitesi değerlendirilmiştir. Çalışmada sıçanlar üzerinde oluşturulan yanıklar üzerine 2 hafta boyunca günde 2 kere kefir jeli, kefir tanesi, %1'lik gümüş sülfadiazin merhem ve baz jel uygulanmıştır. 2 hafta sonra öldürülen sıçanların yara yüzeyleri incelendiğinde yara boyutu yapılan uygulamalara göre kefir jeli < kefir tanesi < gümüş sülfadiazin < baz jel olarak görülmüştür. Sonuç olarak kefir jeli tedavisinin ağır yanık sonrası sonuçları geliştirmek için etkili bir tedavi yaklaşımı olduğu öne sürülmüştür.

## **4.2 Boza**

Fermente ürünler dünyanın birçok ülkesinde insanların beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu tip gıdalar değişik hammaddelerin bazı ön işlemlerden geçirilmesinden sonra belirli sıcaklık seviyelerinde belirli mikroorganizmaların yardımıyla daha dayanıklı yeni ürünlere dönüşmesi sonucu meydana gelirler. Bu ürünlerden birisi de eski bir türk içeceği olan bozadır [8].

Tarihi çok eskilere dayanan boza; Türk Standartları Enstitüsü'nce; yabancı maddelerden temizlenmiş darı, pirinç, buğday, mısır vb. hububatın kırma veya unlarından biri veya birkaçına içme suyu katılarak, pişirilmesi ve beyaz şeker ilave edilerek, tekniğine uygun olarak alkol ve laktik asit fermentasyonlarına tabi tutulması ile hazırlanan bir mamül olarak tanımlanmıştır [53].

Boza, likit kıvamı, soluk sarı rengi ve karakteristik asidik-alkollü kokusu ile soğuk kış gecelerinin favori içeceğidir. İçerdiği laktik asitin serinletici etkisiyle yaz aylarında da tüketilebilir, ancak yüksek sıcaklıkta maya ve asetik asit bakterilerinin çoğalması, ürünün organoleptik özelliklerinin hızla değişmesine dolayısıyla depolama süresinin oldukça düşmesine sebep olmaktadır [54].

Boza ile bugünkü tüketilen bira arasında çok büyük farklılıklar olmasına rağmen boza, en eski ya da en basit bira çeşidi olarak kabul görmektedir. Boza ve benzeri içeceklerin üretimi ve tüketimi 8000-9000 yıl öncesine dayanmaktadır. Türklerin Orta Asya'da yaşadıkları zamanlarda bozayı üretip içtikleri, daha sonra Selçuklu ve Osmanlı

devletinin genişleme dönemlerinde göç ettikleri yerlerde de halka boza yapmayı öğrettikleri için bozanın bugünkü coğrafi yayılımı sağlanmıştır [55].

#### 4.2.1 Bozanın Mikroflorası

Hancıoğlu ve Karapınar'ın [56] bozanın mikroflorası üzerine yaptıkları çalışmada, 77 tane laktik asit bakteri türü ve 7 tane maya türü izole edilmiştir. Bu çalışmada Türkiye'de üretilen bozanın fermantasyonu boyunca, ilk 24 saat sonunda laktik asit bakteri popülasyonu  $7,6 \times 10^6$ 'dan  $4,6 \times 10^8$ 'e, maya popülasyonu ise  $2,25 \times 10^5$ 'den  $8,1 \times 10^6$ 'ya yükselmiştir. pH ise 6,1'den 3,5'e düşmüştür. Fermantasyon boyunca izole edilen laktik asit bakterileri *Leuconostoc paramesenteroides* (%25,6), *Lactobacillus sanfrancisco* (%21,9), *Leuconostoc mesenteroides subsp. Mesenteroides* (%18,6), *Lactobacillus coryniformis* (%9,1), *L. conjiisus* (%7,8), *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum* (%7,3), *Lactobacillus fermentum* (%6,5), *Leuconostoc oenos* (%3,7)'dir. İzole mayaların ise *Saccharomyces uc'arum* (%83) and *S. cerevisiae* (%17) oldukları saptanmıştır.

Tuncer vd.'nin [57] bozadan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibakteriyel özelliklerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, Türkiye'nin 4 farklı ilinden topladıkları boza örneklerini analiz etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre boza örneklerinde laktik asit bakteri sayısı ortalama  $9,3 \times 10^7$  kob/mL, maya-küf sayısı ise ortalama  $1,9 \times 10^6$  kob/mL olarak belirlenmiştir. İzole edilen 30 adet LAB'dan 6 tanesinin antibakteriyel madde üretme özelliğine sahip olduklarını, bu 6 izolatdan birtanesinde bakteriyosin üretici olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca boza örneklerinden yalnızca birtanesinde  $1,1 \times 10^2$  civarında koliform grup bakteri tespit etmişlerdir.

Türkiye Boza Standardı (T.S. 9778 )'na göre bozada bulunabilecek en fazla koliform bakteri sayısı 10 kob/g, en fazla küf sayısı da 20 kob/g'ı geçmemelidir. Ayrıca *Fekal koliform*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella* bulunmamalıdır [53].

Botes vd. tarafından [58] bozadaki laktik asit bakterileri ve mayaları tanımlamak için yapılan bir çalışmada, 3 boza örneğinden izole ettikleri laktik asit bakteri sayısını  $9 \times 10^6$  ile  $5 \times 10^7$  kob/mL arasında belirlemişlerdir. Bu izolatlar *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*,

*Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus fermentum*'dir. 3 boza örneğinden ikisinden elde ettikleri mayaların hücre sayısı ise  $1,3 \times 10^2$  ile  $1,8 \times 10^3$  arasında değişmekte olup bu mayaları *Candida diversa*, *Candida inconspicua*, *Candida pararugosa*, *Issatchenkia orientalis*, *Pichia fermentans*, *Pichia guilliermondii* olarak tanımlamışlardır. Bu mayalardan *C.inconspicua* insan balgamı ve dilinden de izole edilmiş olup fırsatçı bir patojendir. *P. Norvegensis* ise insanlarda septisemi ile bağlantılı bir izolatdır.

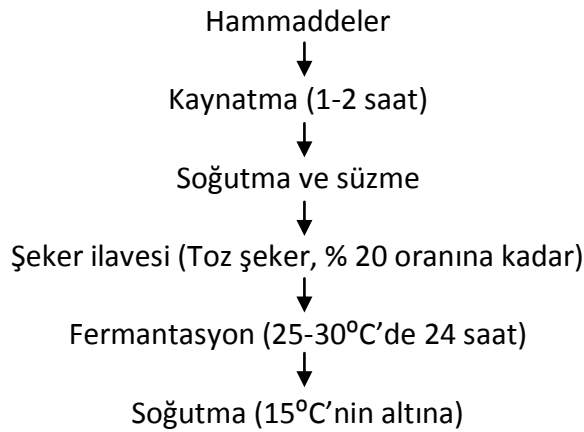
Kıvanç vd.'i [59] Türkiye'deki boza örneklerinden izole ettikleri 45 adet laktik asit bakterisini gıda kaynaklı bakteriyel patojenlere karşı inhibitor aktivitesi bakımından test etmişlerdir. Çalışmaları sonucunda antimikrobiyal aktiviteye sahip izolatları *Lactococcus lactis subsp. Lactis* (2 izolat), *Leuconostoc citreum* (5 izolat), *Lactobacillus brevis* (4 izolat), *Lactobacillus plantarum* (24 izolat), *Lactobacillus paraplantarum* (1 izolat), *Enterococcus faecium* (1 izolat), *Lactobacillus graminis* (4 izolat), *Pediococcus species* (1 izolat) ve *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* (3 izolat) olarak tanımlanmışlardır. Ayrıca laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asit miktarı minimum 0.16 mg/mL ve maksimum 7.79 mg/mL'dir.

#### 4.2.2 Boza Üretimi

Boza üretimi hammaddenin hazırlanması, kaynatma, soğutma ve süzme, şeker ilavesi ve fermantasyon adımları şeklinde özetlenebilir. Hammadde olarak darı, buğday, bulgur, mısır veya pirinç kullanılabilir. Seçilen tahıl veya tahıllar ilk olarak yabancı maddelerinden temizlenir ve irmik boyutunda parçalanıp elenerek gövde ve kepek kısmından ayrılır. Toz şeker, içme suyu ve maya (daha önce üretilen boza veya ekmek hamuru) boza üretiminde kullanılacak diğer maddelerdir. Elenmiş tahıl karışımı hacimce 4-6 katı suyla birlikte devamlı karıştırılarak kaynatılır. Homojen bir karışım elde edildiğinde kaynama işlemi durdurulur. Kaynama süresi hammaddeye ve kaynama sıcaklığına bağlı olarak 1-2 saat sürer. Elde edilen hamur kaynama işleminden sonra gece boyunca soğumaya bırakılır. Soğutulmuş hamur sürekli karıştırılarak 2-2,5 katı suyla seyreltilir tahta fiçiler içine süzülür ve şekersiz ham boza elde edilmiş olur. Katı kısım ise hayvan yemi için kullanılır. Türk Gıda Kodeksine göre boza en az %15 oranında şeker (sakkaroz) içermelidir. Verimli bir fermantasyon için ham bozaya %20 şeker ilave

edilir. Diğer boza tariflerinin çoğunluğunun aksine geleneksel Türk üretiminde malt kullanılmaz.

Bir önceki üretimden ayrılan boza, starter kültür olarak kullanılmak üzere %2-3 oranında şeker ilaveli ham bozaya eklenir ve karışım tahta fiçiler içinde fermantasyona bırakılır. Starter kültür oranı, üretimin yapıldığı mevsime ve sıcaklığa bağlıdır. Karışım, kullanıma hazır hale gelebilmesi için 24 saat boyunca 15-25°C'de inkübe edilir [54]. Boza üretim aşamaları Şekil 4.4'de gösterilmiştir.



Şekil 4.4 Boza Üretim Şeması [54].

Boza fermantasyonunda eş zamanlı olarak iki farklı fermantasyon gerçekleşir. İlk fermantasyon olan alkol fermantasyonunda karbondioksit gazı açığa çıkar ve hacim artar [54]. Alkol fermantasyonunu gerçekleştiren mayalar *Saccharomyces carlsbergensis hansen* ve *Saccharomyces cerevisiae hansen*'dir [55].

İkinci fermantasyon ise bozaya asidik karakterini kazandıran laktik asit bakterilerinin olduğu laktik asit fermantasyonudur [54]. Bozada laktik asit fermantasyonunu gerçekleştiren bakteriler *Streptococcus sp*, *Micrococcus varians migula* ve *Lactobasillus sp*'dir [55].

#### 4.2.3 Bozanın Kimyasal Bieşimi

Türk Boza Standartı (TS 9778)'na göre toplam kuru madde ve toplam şeker (sakkaroz gibi) içeriği sırasıyla minimum %20 ve %10 olmalıdır. Etil alkol içeriği hem tatlı hem ekşi bozada hacmen %2'yi geçmemelidir. Laktik asit olarak toplam titre edilebilir asit oranı

tatlı boza içinde %0,2-0,5, ekşi boza içinde %0,5-1 arasında olmalıdır. Diğer yandan asetik asit cinsinden uçucu asit oranı tatlı bozada %0,1 ekşi bozada ise %0,2'ye kadar izin verilir [53].

Uylaşer vd. [60] Bursa'da 17 ayrı pastaneden aldıkları boza örneklerinin bileşimini analiz etmişlerdir. Analiz sonuçlarına göre, boza örnekleri içindeki kuru madde oranları %18,99-25 (ortalama %22,62), invert şeker %0,1-1,92 (ortalama %0,5), sakaroz %9,35-15,76 (ortalama %15,78), toplam şeker %10,64-16,05 (ortalama %13,29), şekersiz kuru madde %4,12-11,76 (ortalama %8,84), ham kül %0,07-0,17 (ortalama %0,12), protein %0,27-0,56 (ortalama %0,45), laktik asit cinsinden asitlik %0,18-0,34 (ortalama %26) olarak tespit etmişlerdir.

Yücel ve Köse [8] İzmir'de farklı satış yerlerinden aldıkları boza örneklerinin kimyasal bileşimini analiz ettiklerinde, örneklerdeki kuru madde miktarlarını %17,77-22,32 arasında, toplam şeker miktarını ise (sakaroz cinsinden) %16,11-22,59 arasında belirlemişlerdir. Örneklerdeki kül miktarını %0,02-0,17 arasında, toplam asitliği de (laktik asit cinsinden) tatlı boza için %0,2-0,5, ekşi boza için %0,5-1 olarak saptamışlardır. Ayrıca bozların pH değerlerini 3,22-3,82, alkol oranını ise %0,13 bulmuşlardır.

#### **4.2.4 Bozanın Sağlığa Faydaları**

- Bozanın fermantasyonu sırasında oluşan laktik asit, hazmı kolaylaştırmaya yardımcı olur.
- İçerdiği aktif mayalar ve laktik asit bakterileri sayesinde probiyotik etkisi vardır.
- İçerdiği laktik asit bakterileri nedeniyle bağırsak florasını düzenleyici etkiye sahiptir.
- Mide bezlerinin faaliyetlerini olumlu yönde etkiler.
- B kompleksi vitaminleri içerdiğinden beslenmede önemli role sahiptir.
- İçerdiği mayalar sayesinde emziren annelerde süt yapımını artırır.
- İçerdiği laktik asit bakterilerinin sindirim sistemine yerleşmesi sonucu karsinojen etki gösteren enzimlerin aktivitesini azaltır.

- İçerdiği laktik asit bakterileri bağışıklık sistemini güçlendirir ve insan vücudunun patojenlere karşı direnç kazanmasını sağlar.

## BÖLÜM 5

### MATERYAL ve METOD

#### 5.1 Kullanılan Materyaller

##### 5.1.1 Kullanılan Kimyasallar

Antioksidan aktivite tayini için yapılan çalışmalarda kullanılan tüm kimyasal maddeler çizelge 5.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler ve kodları

Kimyasal Madde	Firma / Ürün Kodu
ABTS	Sigma / A-1888
Askorbik asit	Sigma-Aldrich / 33034
Asetik asit	Riedel-de Haën / 27225
Amonyum tiyosiyanat	Merck / 101213
BHA	Fluka / 20021
BHT	Fluka / 34750
B-Karoten	Fluka / 22040
DPPH	Sigma-Aldrich / D-9132

Çizelge 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler ve kodları (Devamı)

DMPD	Merck / 103067
Etanol	Merck / 100983
Epikateşin	Fluka / 45300
FeCl <sub>3</sub>	Fluka / 44943
FeCl <sub>2</sub>	Fluka / 44939
Fosforik asit	Merck / 100573
HCl	Merck / 100314
K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	Sigma / P-8131
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Merck / 104871
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Fluka / 60356
KCl	Merck / 104936
Kloroform	Merck / 102445
K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	Sigma / P-9392
Linoleik asit	Sigma / L-1268
Metanol	Riedel-de Haën / 24229
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	Riedel-de Haën / 31413
NaCl	Fluka / 71376
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	Riedel-de Haën / 04272
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	Riedel-de Haën / 04269

Çizelge 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler ve kodları (Devamı)

NaNO <sub>2</sub>	Merck / 106544
Naftiletillen diamin dihidroklorür	Fluka / 70720
Nitroblue tetrazolium	Sigma-Aldrich / N-6876
NADH	Sigma / 43420
PMS	Sigma / P-9625
Sodyum hidroksit	Merck / 106462
Sodyum nitroprussiyat	Merck / 10654
Sülfanil amid	Sigma-Aldrich / S-9251
Sodyum asetat	Sigma / S-7545
TCA	Sigma-Aldrich / 33731
Tris-HCl	Sigma / T-1503
Tween-40	Sigma / P-1504
α-tokoferol	Fluka / 95240
Troloks	Fluka / 56510

### 5.1.2 Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı: Bosch

Destile su cihazı: GFL 2001/4

Manyetik karıştırıcı: Chiltern Hotplate HS31

pH Metre: Sartorius Basic Meter PB-11

Santrifüj cihazı: Hettich Zentrifugen EBA-20, SİGMA 3K 30

Spektrofotometre: PERKİN ELMER LAMBDA 25 UV/VIS

Su banyosu: GFL 1086

### **5.1.3 Kullanılan Materyalin Temin Edilmesi**

Antioksidan aktivite tayininde araştırma materyali olarak kullanılan kefir ve boza örnekleri İstanbul'da muhtelif marketlerden temin edilmiş olup, belirli firmalara ait ürünlerdir. Kullanılan kefir ve boza örnekleri kendi ambalajları içerisinde, laboratuvardaki soğutucuda +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

### **5.1.4 Kefir ve Boza Ekstrelerinin Hazırlanması**

Kefir ve boza örneklerinden 15'er gram tartılıp bir beher içerisinde 15mL distile su içinde çözdürüldü. Eşit miktarlarda santrifüj tüplerine konarak bir müddet daha vorteks yardımıyla karıştırılıp santrifüj edildi. Boza örneği 14000rpm'de 30 dakika, kefir örneği ise 6000rpm'de 30 dakika santrifüj edilip, üst kısımdaki berrak çözelti pastör pipeti yardımıyla alınarak çalışmalarda kullanılmak üzere muhafaza edildi.

## **5.2 Antioksidan Aktivite Tayini Metodları**

### **5.2.1 İndirgeme Gücü**

İndirgeme gücü Oyaizu'un geliştirdiği yöntemle göre [61] yapıldı. Bu yöntem antioksidan bileşikler ile  $K_3F(CN)_6$ , TCA ve  $FeCl_3$ 'ün oluşturduğu renkli komplekslerin 700 nm'de absorbans ölçümü ile gerçekleşir. Bu metod antioksidan bileşiklerin ortamdaki  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme kapasitesi esasına dayanır.

Bu çalışmada öncelikle kefir ve boza örnekleri ile standart antioksidanların (mg/mL) değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış çözeltilerinden 1'er mL alındı. Tüplere konan bu numunelere sırasıyla 2,5 mL fosfat tamponu (0,2M pH6,6) ve 2,5 mL potasyum ferrisiyanür (%1) eklendi. İyice karıştırıldıktan sonra 50 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Bu işlemin ardından her bir tüpe 2,5 mL % 10'luk TCA çözeltisi eklendi ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Berrak çözelti kısmından 2,5 mL alınarak tüplere konuldu ve

üzerlerine 2,5 mL distile su ve 0,5 mL FeCl<sub>3</sub> (% 0,1) eklenerek oluşan rengin absorbanı spektrofotometrede 700nm dalga boyunda ölçüldü.

### 5.2.2 $\beta$ -Karoten Renk Giderme Aktivitesi

Kefir ve bozada  $\beta$ -karoten renk giderme aktivitesi Bruni vd. [62] tarafından geliştirilen metod ile tayin edildi. İlk olarak 10mg trans- $\beta$ -karoten tartılıp 10 mL kloroform içinde çözündürüldü. Bu solüsyondan 0,2 mL alınarak 20mg linoleik asit ve 200mg tween-40 ihtiva eden bir beherin içine eklendi. Çeker ocak içinde kloroformun uzaklaştırılmasından sonra üzerine 50mL distile su eklendi ve oluşan emülsiyon çözelti kuvvetli bir şekilde çalkalandı. Emülsiyondan 5'er mL alınıp 0,2mL kefir, boza, BHA örnekleri ve emülsiyonun kendisinden içeren tüplerin üzerine ilave edildi. Daha sonra tüpler 50 °C'deki su banyosunda 60 dakika bekletilip 470nm'de absorban değerleri belirlendi. Hemen ardından bir 60 dakika daha bekletilip tekrar absorban değerleri okundu. BHA içeren tüplerin absorban değerleri, pozitif kontrol değerleridir. Linoleik asit içeren emülsiyon tüplerinin absorban değerleri ise negatif kontrol değerleridir. Relatif antioksidan aktiviteler aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$RAA = \frac{\text{Örneğin Absorbansı}}{\text{BHA Absorbansı}} \quad (5.1)$$

RAA: Relatif Antioksidan Aktivite

### 5.2.3 Metal Şelatlama Aktivitesi

Metal Şelatlama Aktivitesi tayini Decker ve Welch [63] tarafından geliştirilen yöntemle yapıldı. Bu yöntemin prensibi, ferrozin-Fe<sup>+2</sup> kompleks oluşumunun inhibisyonuna dayanmaktadır. İlk olarak değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış kefir ve boza örnekleri ile standart çözeltilerden 1'er mL alınarak deney tüplerine konuldu. Üzerlerine 3,7mL distile su ve 0,1 mL FeCl<sub>2</sub> (2mM/L) eklendi ve iyice karıştırılıp 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bu karışımın üzerine 0,2mL ferrozin ilave edilip karıştırılarak tekrar 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Spektrofotometrede 562nm'de karışımın absorban değerleri belirlendi. Bu çalışmada EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) standart olarak kullanıldı. Aşağıdaki formül ile metal şelatlama aktivitesi hesaplandı.

$$\% \text{ Metal şelatlama aktivitesi} = ((A_0 - A_1) / A_0 \times 100) \quad (5.2)$$

$A_0$ : Kontrol reaksiyonun absorbanı

$A_1$ : Numune veya standartın absorbanı

#### 5.2.4 Toplam Antioksidan Aktivite Tayini Metodu

Toplam antioksidan aktivite tayini Osawa ve Namiki [64] tarafından geliştirilen tiyosiyanat metoduna göre yapıldı. Öncelikle farklı konsantrasyonlarda kefir ve boza örnekleri ile standart çözeltiler (mg/mL) hazırlandı. Bu çözeltilerin üzerine toplam hacim 2,5 mL olacak şekilde potasyum fosfat tampon çözeltisi eklendi. Bu karışımların üzerinde 2,5 mL linoleik asit emülsiyonu ilave edilip 37 °C'de karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Herhangi bir standart veya örnek çözelti eklenmeden 2,5mL potasyum fosfat tamponu (0,04M, pH 7,0) ve 2,5mL linoleik asit emülsiyonundan oluşan kontrol numuneleride inkübasyona bırakıldı. Linoleik asit emülsiyonu, linoleik asit (155µL) ve Tween-20'nin (175µL) potasyum fosfat tamponu (0,04M, pH 7,0) ile 50mL'ye seyreltilmesinden oluşmaktadır. 24 saat aralıklarla, inkübe edilmiş örneklerden 0,1mL alınıp üzerine 4,7mL %75'lik etanol, 0,1mL %30'luk amonyum tiyosiyanat çözeltisi ve %3,5'luk HCl ile hazırlanmış 0,1mL 0,02M FeCl<sub>2</sub> çözeltisi eklendi. İyice karıştırılıp 3dk bekletildikten sonra spektrofotometrede 500nm'de absorban değerleri belirlendi. Lipid peroksidasyonunun % inhibisyonu aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = ((A_0 - A_1) / A_0 \times 100) \quad (5.3)$$

$A_0$ : kontrol reaksiyonunun absorbanı

$A_1$ : numune veya standardın absorbanı

#### 5.2.5 DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi

DPPH metodu bir ürünün hangi düzeyde serbest radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil'i indirgeyebileceğini ölçen bir methoddur [65]. Bu yöntem ürünlerin saklama süreleriyle ilişkili olarak antioksidatif kapasitesini ölçmek için de sıkça kullanılır [66].

DPPH, bileşiklerin serbest radikal süpürme aktivitelerini ölçmede kullanışlı bir reaktiftir. DPPH radikalinin kimyasal yapısı Şekil 5.12de gösterilmiştir. DPPH testinde

ekstraktlar stabil bir radikal olan DPPH•'ı sarı renkli diphenyl picryl hydrazine dönüştürebilirler [67].

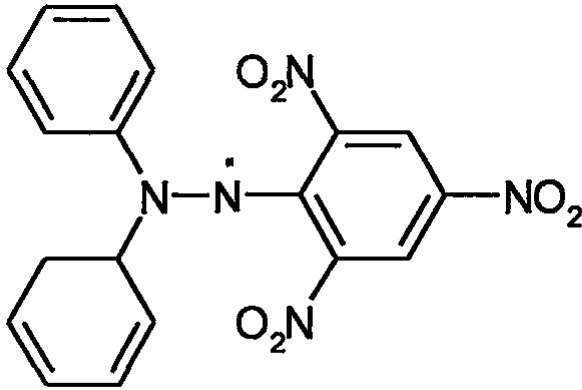
Sistein, glutatyon, askorbik asit, tokoferol, polihidroksi aromatik bileşikler (hidrokinon, pirogallol vs.) ve aromatik aminler (p-fenilen diamin, p-aminofenol) gibi antioksidanlar hidrojen verebilme kabiliyetlerinden dolayı DPPH radikalini indirgeyerek rengini soldururlar [68], [69].

Bu çalışmada Brand-Williams vd. [65] tarafından geliştirilen metod uygulandı. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan örnek ve standart çözeltilerden (mg/mL) 1'er mL alınıp deney tüplerine kondu. Üzerlerine 2mL DPPH• Çözeltisi eklenerek karıştırıldı ve oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. Süre sonunda karışımın absorbansı spektrofotometrede 517 nm'de ölçüldü. Aşağıdaki formülle %DPPH radikali süpürme aktivitesi (%inhibisyon) hesaplandı.

$$\%DPPH\bullet \text{ Süpürme aktivitesi} = ((A_0 - A_1) / A_0 \times 100) \quad (5.4)$$

A<sub>0</sub>: Kontrol reaksiyonun absorbansı

A<sub>1</sub>: Numune veya standartın absorbansı



Şekil 5.1 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalinin yapısı

### 5.2.6 ABTS Radikal Süpürme Aktivitesi

ABTS radikal süpürme aktivitesi Arnao vd. [70] tarafından geliştirilen metod ile tayin edildi. Bu metod ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotazolin-6-sulfonik asit)'in oksidasyonu sonucu oluşan ABTS•+ radikal katyonunun üzerine antioksidan içerikli bir numunenin ilave edilmesiyle bu radikalın indirgenerek yeşil rengini kaybetmesi esasına dayanır.

Bu çalışmada öncelikle ABTS•+ radikal çözeltisini oluşturmak için 7,4mM ABTS çözeltisi ve 2,6mM potasyum persülfat çözeltisi hazırlandı. Her iki çözeltiden eşit miktarlarda karıştırılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 12 saat bekletildi. Bu süre sonunda oluşan ABTS•+ radikal çözeltisinden 1ml alınarak üzerine yaklaşık 50ml metanol çözeltisi eklendi ve bu karışımın absorbanısı 734nm'de  $1,1 \pm 0,02$  olacak şekilde seyreltildi. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanan örnek çözelti ve standart çözeltilerden 150µL alınarak üzerine ABTS radikal çözeltisinden 2850µL eklendi ve 2saat karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon işleminin hemen ardından 734nm'de absorbanısı ölçüldü. ABTS radikali süpürme aktivitesi (%inhibisyon) aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\%ABTS \text{ radikali Süpürme etkisi} = ((A_0 - A_1) / A_0 \times 100) \quad (5.5)$$

$A_0$ : Kontrol reaksiyonun absorbanısı

$A_1$ : Numune veya standartın absorbanısı

### 5.2.7 DMPD Radikali Süpürme Aktivitesi

DMPD radikali süpürme aktivitesi tayini, Fogliano vd.'nin [71] geliştirdikleri yöntemle göre yapıldı. Öncelikle 1mL 100mM DMPD çözeltisi üzerine 100mL 0,1M asetat tamponu (pH 5,3) ve 0,2mL 0,05M FeCl<sub>3</sub> çözeltisi eklenerek DMPD•+ radikali oluşturuldu. Daha sonra değişik konsantrasyonlarda hazırlanan örnek çözelti ve standart çözeltiler üzerine bu radikalden 1mL ilave edildi. 10 dakikalık bekleme süresinden sonra spektrofotometrede 505nm'de absorban değerleri ölçüldü. DMPD radikali süpürme aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\%DMPD\bullet+ \text{ Süpürme aktivitesi} = ((A_0 - A_1) / A_0 \times 100) \quad (5.6)$$

$A_0$ : Kontrol reaksiyonun absorbanısı

A<sub>1</sub>: Numune veya standartın absorbanası

### 5.2.8 Süperoksit Radikali Süpürme Aktivitesi

Kefir ve boza için süperoksit radikali süpürme aktivitesi Liu vd. tarafından [72] geliştirilen yöntemle göre tayin edildi. Süperoksit anyonları, non-enzimatik fenazin metasülfat-nikotinamid adenin dinükleotid (PMS-NADH) sisteminde NADH'ın oksidasyonu ve nitroblue tetrazolium (NBT)'un indirgenmesiyle ölçülmektedir.

Öncelikle 3mL Tris-HCl tamponu (16mM, pH 8,0), 1mL NBT çözeltisi (50µM), 1mL NADH çözeltisi (78µM) ve farklı konsantrasyondaki kefir ve boza örnekleriyle süperoksit anyonu oluşturuldu. Bu karışıma 1 mL PMS çözeltisi (10µM) eklenmesiyle reaksiyon başlatıldı. Karışımın 25<sup>o</sup>C'de 5 dakika inkübe edilmesinden sonra 560 nm'de absorbanası ölçüldü. Bu denemede, farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış BHA, Troloks ve Epikateşin çözeltileri standart olarak kullanıldı. Süperoksit radikali süpürme aktivitesi aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\% \text{ Süperoksit radikali süpürme aktivitesi} = ((A_0 - A_1) / A_0) \times 100 \quad (5.7)$$

A<sub>0</sub>: Kontrol reaksiyonun absorbanası

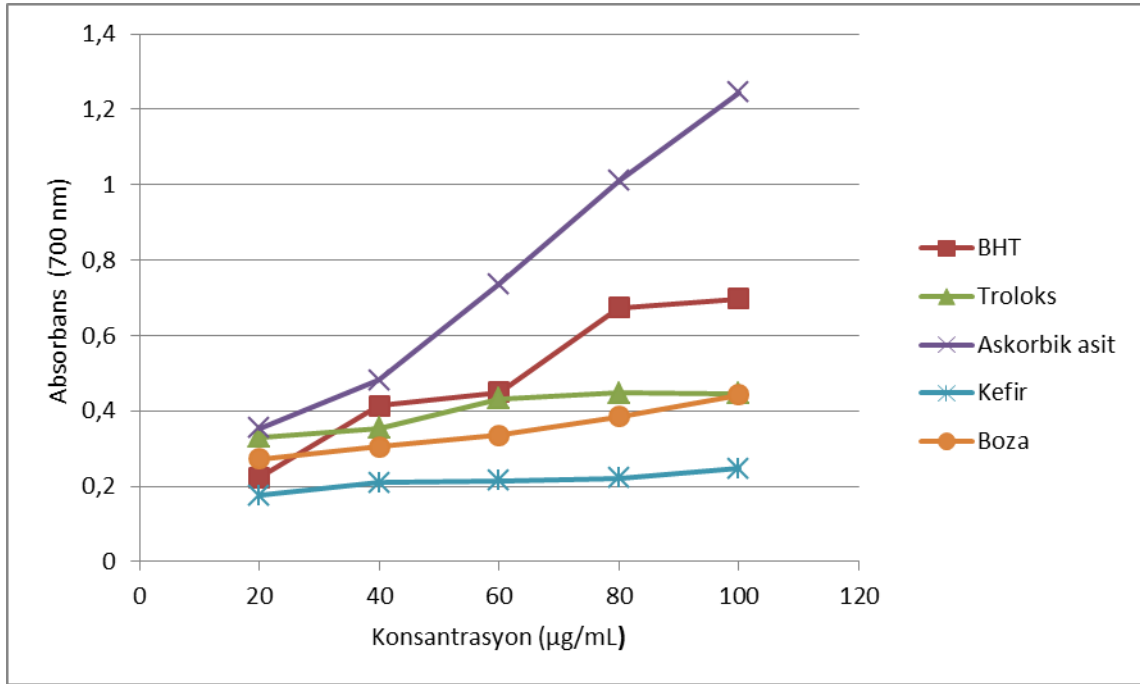
A<sub>1</sub>: Numune veya standartın absorbanası

### 5.2.9 Nitrik Oksit Radikali Süpürme Aktivitesi

Kefir ve bozanın nitrik oksit radikali süpürme aktivitesi Marcocci vd.'nin [73] geliştirdiği yöntemle dayanılarak ölçüldü. Öncelikle farklı konsantrasyonlarda hazırlanan kefir ve boza örnekleri ile standart çözeltilerden 4mL alınıp üzerine 1mL fosfat tuzu tamponunda (pH 7,4) hazırlanmış sodyum nitroprussiyat çözeltisi (10mM) eklendi. Bu karışım 3 saat süreyle 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon işlemi sonrasında çözeltilerden 0,5mL alınıp bir deney tüpüne konuldu ve üzerine 0,5mL Griess reaktifi ilave edildi (Griess reaktifi %1 sülfanilamid ve %0,1 naftiletlen diamin dihidroklorür içeren %5'lik fosforik asit'den oluşmaktadır). Elde edilen karışımın absorbanas değerleri spektrofotometrede 570nm'de ölçüldü. Standart olarak farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan sodyum nitrit (NaNO<sub>2</sub>) çözeltisi kullanıldı.

#### 6.1 İndirgeme Gücü

Oyaizu [61] metodu kullanılarak farklı konsantrasyondaki kefir ve boza örneklerinin ortamdaki  $Fe^{+3}$ 'ü  $Fe^{+2}$ 'ye indirgeme gücü kabiliyeti standart antioksidanlarla karşılaştırılarak tayin edildi. Sonuçlar Şekil 6.1'de gösterilmiştir. Absorbans değerlerindeki artış ortamdaki  $Fe^{+2}$  miktarı ile doğru orantılıdır. Bozanın indirgeme gücü kapasitesi kefire oranla daha fazla bulunmuştur. Aynı zamanda bozanın indirgeme gücü 20  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda BHT'den yüksek, 100  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonda ise Troloksa eşittir. Bu da kefir ve boza örneklerinin, elektron verici olarak, serbest radikallerle tepkimeye girdiğini ve onları daha stabil ürünlere dönüştürerek radikal zincir reaksiyonunu sonlandırdığını gösterir.



Şekil 6.1 Kefir ve Boza örneklerinin indirgeme gücü

## 6.2 $\beta$ -Karoten Renk Giderme Aktivitesi

Kefir ve boza için saptanan  $\beta$ -karoten renk giderme aktivite sonuçları Çizelge 6.1 'de gösterilmiştir.

Çizelge 6.1 Kefir ve bozanın  $\beta$ -karoten renk giderme aktiviteleri

Örnek	RAA <sup>a</sup> 60 dakika	RAA 120 dakika
Kefir	0,95	0,86
Boza	0,93	0,85
BHA	1	1
Negatif Kontrol <sup>b</sup>	0,75	0,65

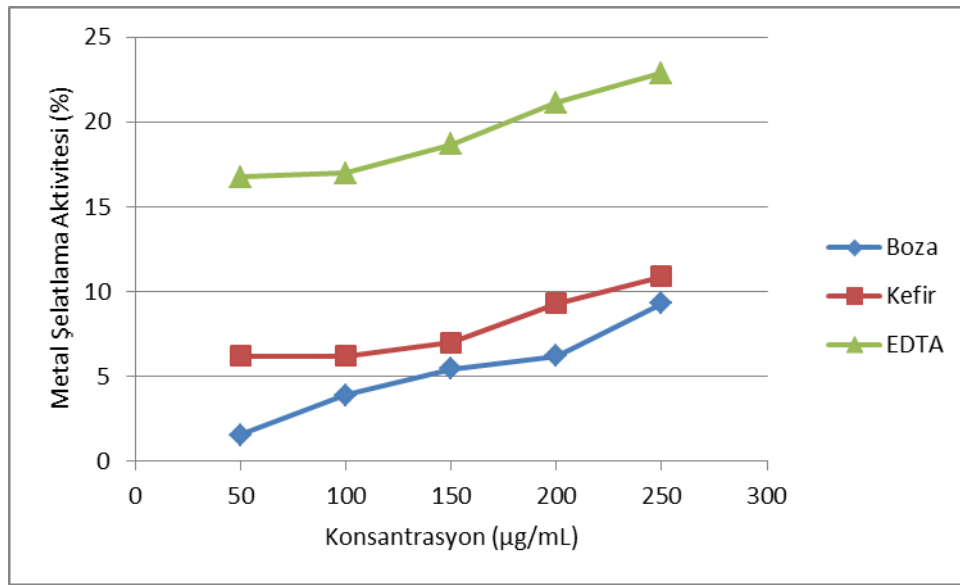
<sup>a</sup>Relatif antioksidan aktivite

<sup>b</sup>Negatif kontrol: Linoleik asit ve  $\beta$ -karoten emülsiyonu

Kefir ve bozanın  $\beta$ -karoten renk giderme aktiviteleri sırasıyla 0,95 ve 0,93 olup inkübasyon işleminin 60. dakikasında pozitif kontrol BHA'ya eşdeğer olarak bulunmuştur. Aktivitelerin 120. dakikada yapılan kontrollerde biraz düştüğü (sırasıyla, 0,86 ve 0,85) gözlemlenmiştir.

### 6.3 Metal Şelatlama Aktivitesi

Metal şelatlama aktivitesi tayini için şekil 6.2' deki grafik incelendiğinde boza ile kefir ekstralarının aktivite değerlerinin kuvvetli bir şelat oluşturucu olduğu bilinen EDTA'ya göre daha düşük olduğu gözlenmiştir.

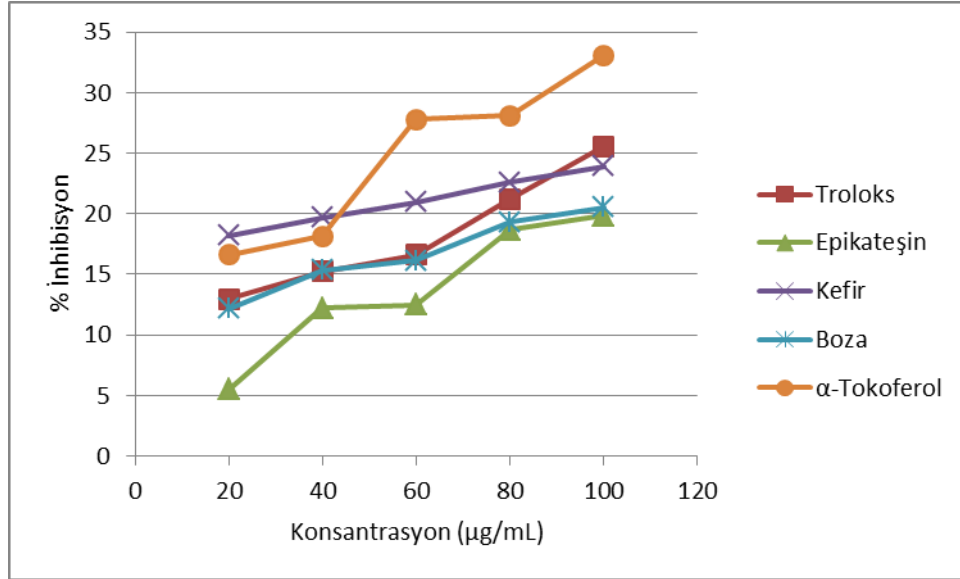


Şekil 6.2 Kefir, boza ve EDTA'nın metal şelatlama aktiviteleri

### 6.4 Toplam Antioksidan Aktivite Tayini

Antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için birçok farklı yöntem geliştirilmiştir. Bu çalışmada kefir ve boza örneklerinin toplam antioksidan aktiviteleri linoleik asit emülsiyonunda tiyosiyanat metodu ile tayin edildi. Lipid oksidasyonunun ilk aşamalarındaki peroksit miktarı, 3 günlük dönem boyunca her 24 saatde bir ölçüldü. Kefir ve boza ekstralarının linoleik asit peroksidasyonuna etkileri şekil 6.3'de gösterilmiştir. Kefir ve bozanın antioksidatif etkileri standart antioksidanlar ile karşılaştırıldığında kefir, düşük konsantrasyonda (20 µg/mL) en yüksek toplam antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Kefirin aktivitesi  $\alpha$ -tokoferol, Troloks ve epikateşinden daha yüksektir. Aynı konsantrasyonda bozanın aktivitesi ise Troloksa eşit

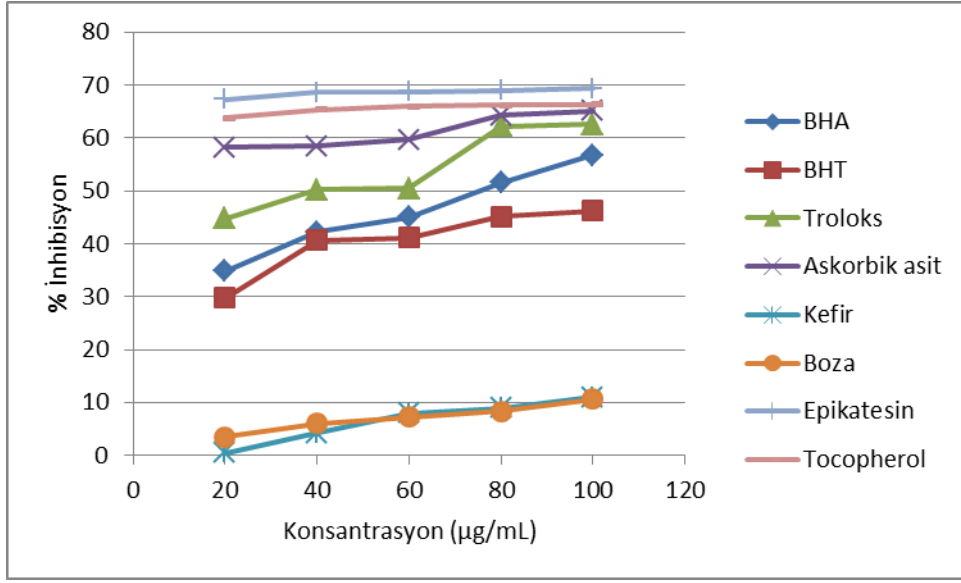
olup epikateşin aktivitesinden daha yüksek olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre kefir ve boza düşük konsantrasyonlarda yüksek antioksidan etkiye sahiptir. 20 µg/mL konsantrasyon için bulunan değerler kefir, α-tokoferol, Troloks, boza ve epikateşin için sırasıyla %18,17, %16,60, %12,97, %12,17 ve %5,48'dir.



Şekil 6.3 Kefir ve bozanın toplam antioksidan aktiviteleri

### 6.5 DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi

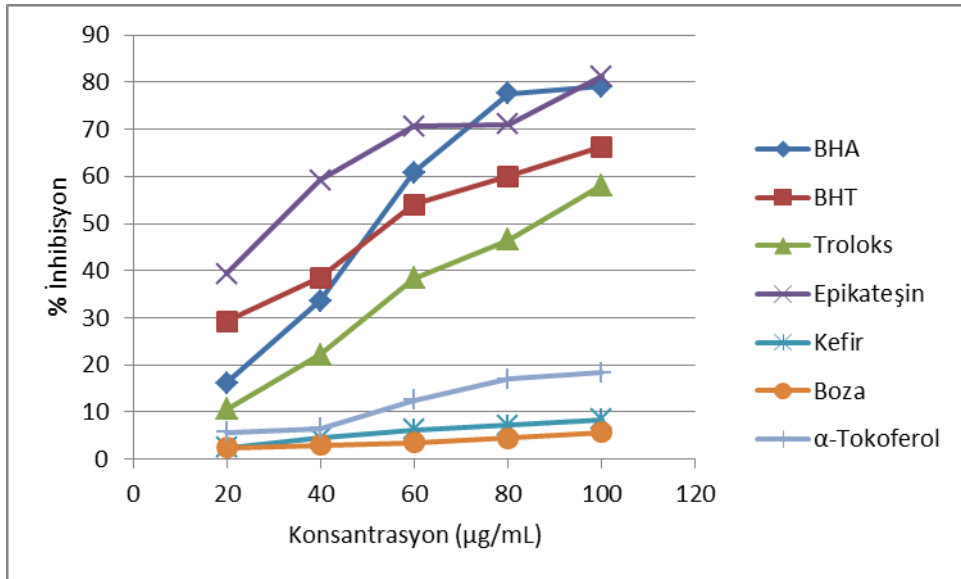
DPPH radikali süpürme aktivitesi tayininde kefir ve boza örnekleri ile standart antioksidanların %inhibisyon sonuçları şekil 6.4 'de gösterilmiştir. 30 dakika inkübasyon işlemi sonucunda kefir ve boza örneklerinin DPPH radikali süpürme aktiviteleri standart antioksidanlarla karşılaştırılmıştır. 100 µg/ml konsantrasyonda boza ve kefirin DPPH radikali tutucu etkisi sırasıyla %10,67 ve %10,95 olarak bulunmuştur. Aynı konsantrasyonda BHT'nin etkisi ise %46,24'dir. Elde edilen sonuçlara göre boza ve kefir yüksek konsantrasyonlarda ılımlı DPPH radikali tutucu etkiye sahiptir. Buna göre kefir ve boza örnekleri için, serbest radikalleri süpürücü yeteneğe sahip olduklarını ve BHT'ye göre daha zayıf serbest radical tutucu olduklarını ifade edebiliriz. Ayrıca kefir ve bozanın antioksidan diyetlerinin, hücresel DNA, lipid ve proteinlerin serbest radikallerin yol açtığı hasara karşı korunmasında önemli olabileceğini düşünebiliriz.



Şekil 6.4 Kefir ve Boza örneklerinin DPPH radikalini süpürme aktivitesi

## 6.6 ABTS Radikal Süpürme Aktivitesi

ABTS radikali süpürme aktivitesi tayininde kefir ve boza örnekleri ile standart antioksidanların %inhibisyon sonuçları şekil 6.5’de gösterilmiştir.

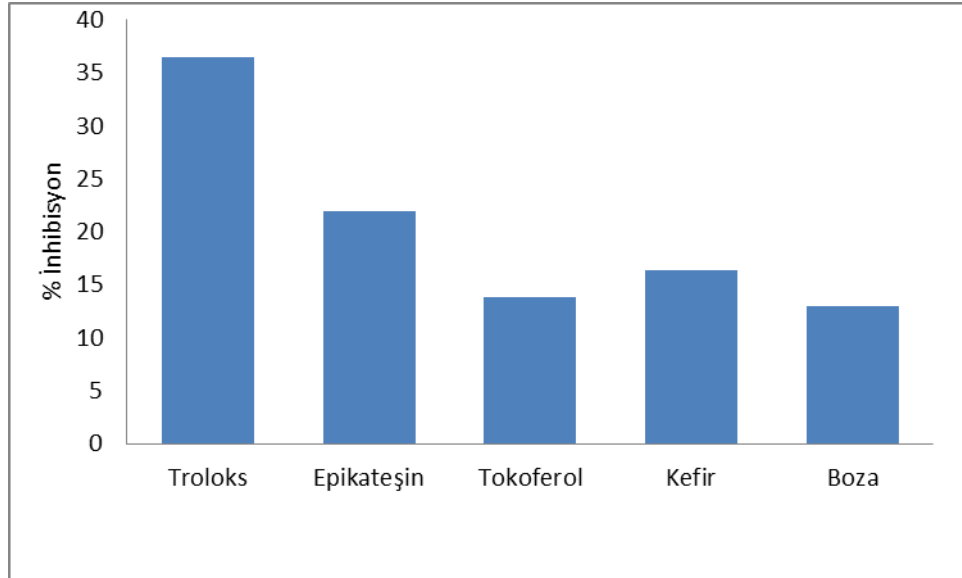


Şekil 6.5 Ekstrelerin ABTS radikali süpürme aktiviteleri

Hesaplanan % İnhibisyon sonuçlarına göre, kefir ve boza örneklerinin ABTS radikali süpürme aktiviteleri standart antioksidanlarla karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonda  $\alpha$ -tokoferole yakındır. 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  konsantrasyonda boza, kefir ve  $\alpha$ -tokoferol için bulunan sonuçlar sırasıyla %2,42, %2,4 ve %5,62'dir. Boza ve kefir düşük konsantrasyonlarda antioksidatif etki göstermiştir.

### 6.7 DMPD Radikali Süpürme Aktivitesi

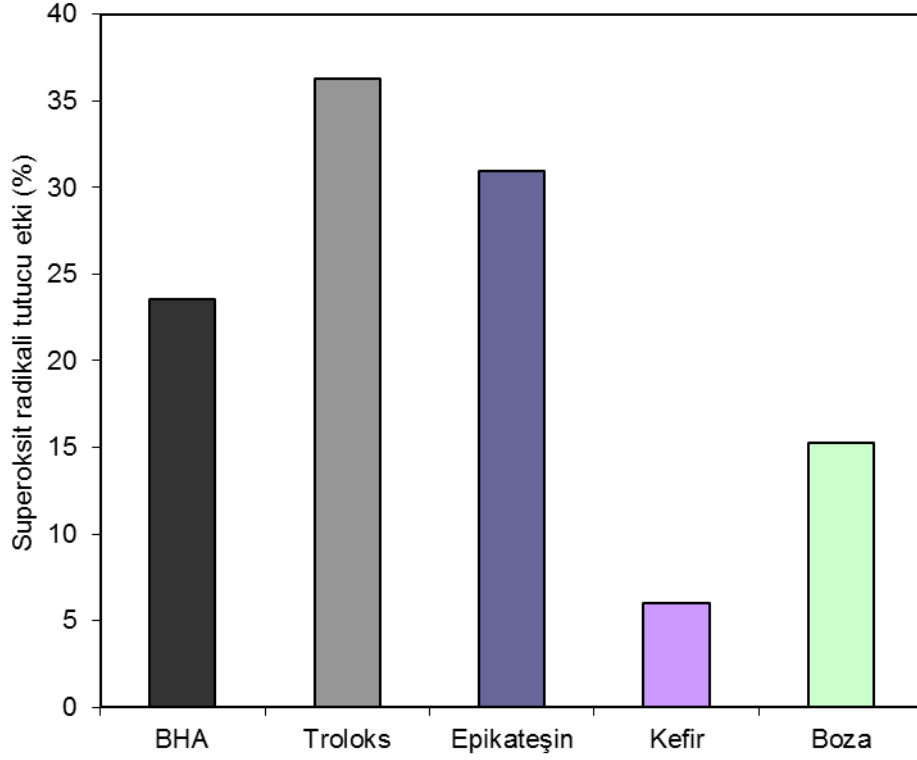
Kefir, boza ve standart antioksidanların 20 mg/mL konsantrasyonda incelenen DMPD radikali süpürme aktivitesi şekil 6.6'da gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bozanın DMPD radikali yakalama aktivitesi  $\alpha$ -tokoferol aktivitesine eşittir. Kefir örneği ise  $\alpha$ -tokoferol ve bozadan daha yüksek aktivite göstermiştir.



Şekil 6.6 Kefir, boza ve standartların 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  konsantrasyonda DMPD radikali süpürme aktiviteleri

### 6.8 Süperoksit Radikali Süpürme Aktivitesi

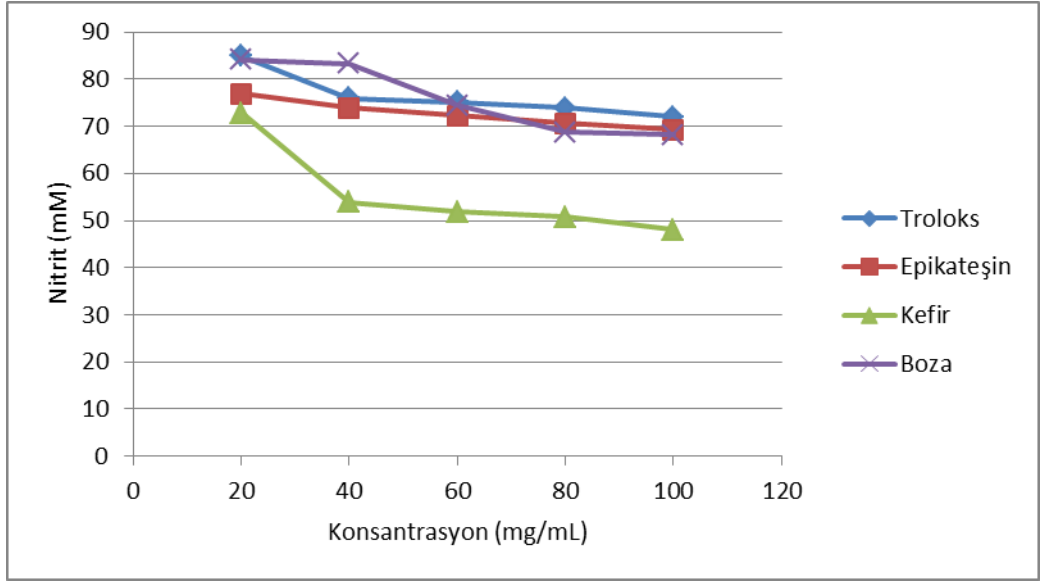
Kefir, boza, BHA, Trolox ve Epicateşin için süperoksit radikali süpürme aktiviteleri şekil 6.7'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bozanın aktivitesi kefirde daha yüksektir. Ancak, boza ve kefirin sahip olduğu aktivitenin, standart antioksidanların aktivitelerinden daha düşük seviyede olduğu görülmüştür.



Şekil 6.7 100 µg/mL konsantrasyonda boza, kefir, ve standartların süperoksit radikali süpürme aktiviteleri

### 6.9 Nitrik Oksit Radikali Süpürme Aktivitesi

Kefir, boza ve standart antioksidanların nitrik oksit radikali süpürme aktivitesi şekil 6.8'de gösterilmiştir. Sodyum prussiyatın PBS çözeltisi içinde ayrıştığı ve sonra NO (nitrik oksit) oluşturduğu bilinmektedir. NO, aerobik koşullar altında, Griess reaktifi ile tespit edilebilen, nitrat ve nitrit oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girer. Boza ve kefir için açığa çıkan nitrit seviyeleri 100 µg/mL konsantrasyonda sırasıyla 68,22mM ve 48mM'dır. Aynı konsantrasyonda trolox ve epikateşin için bulunan değerler ise sırasıyla 72mM ve 69,22mM'dır. Buna göre boza yüksek aktivite göstermiştir.



Şekil 6.8 Kefir ve boza ekstralarının inkübasyon sırasında oluşan NO'ı süpürme aktiviteleri

## BÖLÜM 7

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Probiyotikler, çoğunlukla bakterilerden oluşan canlı mikroorganizmalar olup, sağlıklı kişilerin günlük kullanabileceği ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanım olanağı olan besinlerdir.

Probiyotik gıdaların besleyici değeri yanında sindirebilirliğinin yüksek oluşu, içerdiği mikroorganizmalar, mineraller ve vitaminler ile sağlığa olumlu etkileri oldukça fazladır. Ayrıca doğal bağırsak florasının korunmasına yardımcı olan bu gıdalar pek çok kaynakta uzun yaşam ile ilişkilendirilmektedir.

Günümüzde kullanımı oldukça yaygınlaşan bu besin grubu tüketicinin günlük diyetinde yer almaya başlamıştır.

Probiyotik gıdaların mikrobiyal florasını ve sağlık üzerine olumlu etkilerini inceleyen birçok çalışma olmasına rağmen antioksidatif özelliklerini değerlendiren çalışmalar oldukça azdır. Antioksidan aktiviteye sahip olan maddelerin, metabolizmada oldukça zararlı olan ve DNA ve hücre gibi biyolojik yapılarda oksidatif hasarlar oluşturan serbest radikallerin olumsuz etkilerini minimuma indirdiği bilinmektedir.

Bu çalışmada probiyotik gıdalar grubuna giren kefir ve bozanın antioksidan aktiviteleri araştırılmış ve elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

Çalışmada kefir ve boza örneklerinin antioksidan aktiviteleri, indirgeme gücü,  $\beta$ -karoten renk giderme aktivitesi, metal şelatlama kapasitesi, toplam antioksidan aktivite tayini, DPPH<sup>•</sup> radikali, ABTS<sup>•+</sup> radikali, süperoksit radikali, DMPD<sup>•+</sup> radikali ve NO radikali süpürme aktiviteleri gibi yöntemlerle incelenmiştir ve sonuçlar bazı standart

antioksidanlarla (BHA, BHT, askorbik asit, troloks,  $\alpha$ -tokoferol ve epikateşin) karşılaştırılmıştır.

Kefir ve bozanın indirgeme gücü tayininde bozanın indirgeme gücü kapasitesi çalışılan tüm konsantrasyonlarda kefire oranla daha fazla bulunmuştur. Aynı zamanda bozanın 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyondaki indirgeme gücü kapasitesi (0,27) standart antioksidan olarak baz alınan BHT'den (0,22) yüksek, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonda (0,44) ise Troloksa (0,44) eşittir.

Taşkın'ın [74] bazı fermente süt ürünlerinin antioksidan aktivitelerinin incelediği çalışmada, farklı kefir örneklerinde saptadığı indirgeme gücü kapasiteleri (0,055-0,155) bu çalışmada 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonda bulunan değerlerden (0,24) daha düşüktür.

Liu vd. [75] yaptıkları çalışmada ise kefirin (2mL/mg) indirgeme gücü kapasitesi için saptadıkları değer (0,76) bizim çalışmamızda 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyon için bulunan değerden (0,24) daha yüksektir.

Kefir ve boza için yapılan  $\beta$ -Karoten renk giderme aktivite tayininde aktiviteleri değerleri sırasıyla 0,95 ve 0,93 olarak saptanmıştır. Bu değerler pozitif kontrol BHA'ya eşdeğer olarak bulunmuştur. Saptanan bu değerlerin standart antioksidan olarak baz alınan BHA'ya eşdeğer olması kefir ve bozanın oldukça iyi antioksidatif etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

Metal şelatlama aktivitesi tayininde boza ile kefir ekstralarının aktivite değerlerinin kuvvetli bir şelat oluşturucu olduğu bilinen EDTA'ya göre çalışılan tüm konsantrasyonlarda daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Taşkın'ın [74] bazı fermente süt ürünlerinin antioksidan aktivitelerini incelediği çalışmada, farklı kefir örneklerinde (1 mL ekstrakt) saptadığı metal şelatlama kapasiteleri (%17,64-66,89) bu çalışmada 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyonda bulunan değerlerden (%6,2) daha yüksektir.

Farvin vd.'nin [76] yoğurt ve peptidlerinin antioksidan aktiviteleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, yoğurdun metal şelatlama aktivitesi için buldukları değer (%7,77) bu çalışmada kefir için bulunan değerle (%6,2) oldukça yakın olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara dayanılarak kefir ve yoğurdun metal şelatlama aktivitesi açısından

birbirine yakın antioksidatif etkiler sergileyeceği düşünülmüştür. Bozanın ise metal şelatlama aktivitesi (%3,89) her iki gıdadan da daha düşük seviyededir.

Kefir ve bozanın toplam antioksidan aktiviteleri standart antioksidanlar ile karşılaştırıldığında kefir, düşük konsantrasyonda (20 µg/mL) en yüksek toplam antioksidan aktiviteyi (%18,17) göstermiştir. Kefirin aktivitesi α-tokoferol (%16,6), Troloks (%12,97) ve epikateşinden (%5,48) daha yüksektir. Aynı konsantrasyonda bozanın aktivitesi (%12,17) ise Troloksa (%12,97) eşit olup epikateşin aktivitesinden daha yüksek bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre kefir ve boza düşük konsantrasyonlarda yüksek antioksidan etkiye sahiptir.

Kefir ve boza örneklerinin DPPH radikali süpürme aktiviteleri standart antioksidanlarla karşılaştırılmıştır. Boza ve kefirin 100 µg/mL konsantrasyonda DPPH radikali süpürme etkisi sırasıyla %10,67 ve %10,95 olarak bulunmuştur. Aynı konsantrasyonda BHT'nin etkisi ise %46,24'dir. Bu sonuçlar doğrultusunda boza ve kefir yüksek konsantrasyonlarda ılımlı DPPH radikali tutucu etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Yani kefir ve boza örnekleri için, serbest radikalleri süpürücü yeteneğe sahip olduklarını ve BHT'ye göre daha zayıf serbest radical tutucu olduklarını ifade edebiliriz.

Taşkın'ın [74] çalışmasında kefirin DPPH radikali süpürme aktivitesi için saptadığı değer (%58,35) bizim çalışmamızda saptanan değerden daha yüksek olduğu (%10,95) görülmektedir. Farvin vd. [66] ise yoğurt için yaptıkları DPPH radikali süpürme aktivitesi tayininde saptadığı %94,47 değeriyle yoğurdun kefire göre oldukça yüksek aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Li vd. [77] ise anne sütünün antioksidan kapasitesi tayini için yaptıkları çalışmada, elde ettikleri anne sütü DPPH radikali süpürme aktivitesinin (%45,3) bizim çalışma materyellerimizden daha yüksek seviyede olduklarını ifade edebiliriz.

Kefir ve boza örneklerinin ABTS radikali süpürme aktiviteleri standart antioksidanlarla karşılaştırıldığında (sırasıyla %2,4, %2,42) düşük konsantrasyonda a-tokoferole (%5,62) yakındır. Boza ve kefir düşük konsantrasyonlarda antioksidatif etki göstermiştir.

Kefir ve bozanın 20 mg/mL konsantrasyonda incelenen DMPD radikali süpürme aktiviteleri sırasıyla %16,38 ve %12,94 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre

bozanın DMPD radikali yakalama aktivitesi (%12,94)  $\alpha$ -tokoferol aktivitesine (%13,81) eşittir. Kefir örneği ise (%16,38)  $\alpha$ -tokoferol (%13,81) ve bozadan (%12,94) daha yüksek aktivite göstermiştir.

Çalışmamızda kefir ve bozanın, 100 $\mu$ g/mL konsantrasyonda süperoksit radikali süpürme aktiviteleri sırasıyla %5,98 ve %15,24 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre bozanın aktivitesinin kefirde daha yüksek olduğunu ifade edebiliriz. Ancak, boza ve kefirin sahip olduğu aktivitenin, standart antioksidan olarak baz alınan BHA (%23,53), Troloks (%36,26) ve Epikateşinin (%30,93) aktivitelerinden daha düşük seviyede olduğu görülmüştür.

Zhao vd.'nin [78] 34 adet farklı bira için yaptıkları antioksidan aktivite araştırmasında bazı biraların süperoksit radikali süpürme aktiviteleri %15,71, %15,79, %19,74 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu değerlerle bizim çalışmamızda boza için saptanan değer (%15,24) birbirine oldukça yakındır. Bu sonuçlara bakılarak boza ile biranın eşdeğer antioksidan aktiviteye sahip olduğunu söyleyebiliriz.

Boza ve kefir için yapılan NO radikali süpürme aktivitesi tayininde, 100  $\mu$ g/mL konsantrasyonda açığa çıkan nitrit seviyeleri sırasıyla 68,22mM ve 48mM'dır. Aynı konsantrasyonda troloks ve epikateşin için bulunan değerler ise sırasıyla 72mM ve 69,22mM'dır. Bu sonuçlara göre bozanın hem kefirde hemde standart antioksidanlardan daha yüksek aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre kefir ve boza genel olarak oldukça iyi antioksidan aktiviteler sergilemiştir. İn vitro olarak elde edilen bu sonuçların in vivo çalışmalarla da desteklenerek, kefir ve bozanın sahip oldukları antioksidan aktiviteleriyle sağlık üzerine olumlu etkileri açığa kavuşturulmuş olacaktır.

## KAYNAKLAR

---

- [1] Halliwell B. ve Gutteridge, J. M. C., (1984). "Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease", *Biochemical Journal*, 219: 1-14.
- [2] Kaur, C. ve Kapoor, H.C., (2001), "Antioxidants In Fruits and Vegetables-The Millennium's Health", *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 703-725.
- [3] Akkuş, İ., (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 5. Sağlık Dizisi, Mimoza Yayınlar, Konya.
- [4] Halliwell, B. ve Aruoma, O. I., (1991). "DNA Damage by Oxygen-Derived Species: Its Mechanisms and Measurement In Mammalian Systems", *FEBS Letters*, 281: 9-19.
- [5] Coşkun, T., (2006). "Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler", *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 49: 128-148.
- [6] Altuntaş, İ.H., (2012), Kefirin İnsanlar Üzerindeki İmmunomodulator Bağışıklık Sistemine Etkilerinin Araştırılması, <http://ismailhakkialtuntas.com/2012/04/27/kefirin-insanlar-uzerindeki-immunomodulator-bagisiklik-sistemine-etkilerinin-arastirilmesi/>, 03/08/2012.
- [7] Koroleva, N.S., (1988). "Technology of kefir and kumys", *International Dairy Federation Bulletin*, 227: 96-100.
- [8] Yücel, U. ve Köse, E., (2002). "İzmir'de Üretilen Bozaların Kimyasal Bileşimi Üzerine Bir Araştırma", *Gıda*, 27(5): 395-398.
- [9] Altınışik M., (2000). Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.
- [10] Kılınç K., ve Kılınç A., (2002). "Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri", *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2): 110-118.
- [11] Ozan, E., Koyutürk, L. ve Sapmaz, T., (2004). "Börek İskemi-Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Kullanılan Prostaglandin E<sub>1</sub>(PGE<sub>1</sub>) Kullanımının İncelenmesi", *Fırat Tıp Dergisi*, 9(3): 67-71.

- [12] Heves, M.D., (2008). Akyıldız (*Ornithogalum sigmoideum* Freyn Et Sint.)'in Antioksidan Aktivitesi, Yüksek Lisans Tezi, İtambul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [13] Dursun, İ., (2011). *Butomus umbellatus*. L ve *Sparganium emersum* Rehmman Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitelerinin Tayini ve Fenolik Asit İçeriklerinin HPLC-UV İle Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- [14] Peksel, A., Altaş-Kıymaz, N. ve İmamoğlu, S., (2012). "Evaluation Antioxidant and Antifungal Potential of *Asphodelus Aestivus* Brot. Growing In Turkey", Journal of Medicinal Plants Research, 6(2): 253-265.
- [15] Gutteridge, J. M. C. ve Halliwell, B., (1990). "The Measurement and Mechanism of Lipid Peroxidation In Biological Systems", Trends in Biochemical Science, 15: 129-135
- [16] Islekel, S., Islekel, H., Güner, G. ve Özdamar, N., (1999). "Evaluation of Lipid Peroxidation, Cathepsin L and Acid Phosphatase Activities in Experimental Brain Ischemia-Reperfusion", Brain Research, 843 (1-2): 18-24.
- [17] Golden, T., Hinerfeld, D.A. ve Melov, S., (2002). "Oxidative Stress and Aging: Beyoncorrelation", Aging Cell, 1: 117-123.
- [18] Slater, T.F., Cheeseman, K.H., Davies, M.J., Proudfoot, K. ve Xin, W., (1987). "Free Radical Mechanisms in Relation to Tissue Injury", Proceedings of The Nutrition Society, 46:1-12.
- [19] Dizdaroğlu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M. ve Rodriguez, H., (2002). "Free Radical-Induced Damage to DNA: Mechanisms and Measurement", Free Radical Biology&Medicine, 32: 1102-1115.
- [20] Radak, Z. Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Ohno, H., Sasvari, M., Nyakas, C. ve Goto, S., (1999a). "The Effect of Exercise Training on Oxidative Damage of Lipids, Proteins, and DNA in Rat Skeletal Muscle: Evidence for Beneficial Outcomes", Free Radical Biology&Medicine, 27: 69-74.
- [21] Wallace, S., (2002). "Biological Consequences of Free Radical-Damaged DNA Bases", Free Radical Biology&Medicine, 33: 1-14
- [22] Halliwell, B., (1994). Free Radicals, Antioxidants and Human Disease, Curiosity, Cause or Consequense Lancet, 344: 721-724.
- [23] Mccord, J., (2000). "The evolution of free radicals and oxidative stress", American Journal of Medicine, 108: 652-659.
- [24] Altınışik, M., (2008), Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar, [<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01b.pdf>], 30/08/2012.
- [25] Keskin, H. ve Erkmen G., (1987). *Besin Kimyası*, Güryay Matbaacılık, Beşinci basım, İstanbul.
- [26] Singh, J., Upadhyay, A.K., Bahadur, A., Singh, B., Singh, K.B. ve Rai, M., (2006). "Antioxidant Phytochemicals in Cabbage (*Brassica oleracea* L. Var. Capitata), Scientia Horticulturae, 108: 233-237.

- [27] Cook, N. C. ve Samman, S., (1996). "Flavonoids-Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects, and Dietary Sources", *Nutritional. Biochemistry*, 7: 66-76.
- [28] Liu, J.-R., Chen, M.J. ve Lin, C.W., (2005). "Antimutagenic and Antioxidant Properties of Milk-Kefir and Soymilk-Kefir", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2467-2474.
- [29] Velioglu, S., (2000). "Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri", *Gıda*, 3: 167-176.
- [30] Terzi, G., (2007). "Kefirin Bileşimi ve Beslenme Açısından Önemi", *Veteriner Hekimler Derneği*, 78(1):23-30. Ana kaynak: Kurman, J. A., Rasic, J. L., and Kroger, M., (1992). "Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products", Van NostrandReinhold, New York.
- [31] Ötles, S. ve Çağındı, Ö., (2003). "Kefir: A Probiotic Dairy Composition, Nutritional And Therapeutic Aspects", *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(2): 54-59.
- [32] Libudzisz, Z. ve Piatkiewicz, A., (1990). "Kefir production in Poland", *Dairy Industry International*, 55: 31-33.
- [33] Otsoa, F.L., Rementeria, A., Elguezabal, N. ve Garaizar, J., (2006). "Kefir: A Symbiotic Yeasts-Bacteria Community with Alleged Healthy Capabilities", *RevIberoam, Micol*, 23: 67-74.
- [34] Farnworth, E.R., (2005). "Kefir- A Complex Probiotic", *Food Science and Technology*, *Functional Foods*, 2(1): 1-17.
- [35] Yılmaz, L., Özcan Yılsay, T. ve Akpınar Bayızıt, A., (2006). "The Sensory Characteristics of Berry-Flavoured Kefir", *Czech Journal Food Science*, 24:26-32.
- [36] İrigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P. ve Ibanez, F.C., (2005). "Microbiological, Physicochemical, and Sensory Characteristics of During Storage", *Food Chemistry*, 90: 613-620.
- [37] Fontan, M.C.G., Martinez, S., Franco I. ve Carballo J., (2006). "Microbiological and Chemical Changes During The Manufacture of Kefir Made From Cow's Milk, Using a Commercial Starter Culture", *International Dairy Journal*, 16: 762-767.
- [38] Yüksekdağ, Z.N., Beyatlı, Y. ve Aslım, B., (2004). "Determination of Some Characteristics Coccoid Forms of Lactic Acid Bacteria Isolated from Turkish Kefirs with Natural Probiotics", *Lebensmittel- Wissenschaft und Technologie*, 37: 663-667.
- [39] Saloff-Coste, C.J., (1996). Kefir, *Danone World Newsletter*, No: 548.
- [40] Hertzler, S.R. ve Clancy, S.M., (2003). "Kefir Improves Lactose Digestion and Tolerance in Adults with Lactose Maldigestion", *Journal of The American Diet. Association*, 103(5): 582-587.

- [41] Karagözlü, C. ve Kavas, G., (2000). "Alkollü Fermente Süt İçecekleri: Kefir ve Kimizın Özellikleri ve İnsan Beslenmesindeki Önemi", *Gıda*, 6 (7): 86-93.
- [42] Assadi, M.M., Pourahmad, R. ve Moazami, N., (2000). "Use of Isolated Kefir Starter Cultures in Kefir Production", *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 16: 541-543.
- [43] Delen, E., (2011). Spinal Kord Travması Oluşturulan Sıçanlarda Kefirin Lizozomal Proteazların Salınımı Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması, *Tıpta Uzmanlık Tezi*, Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Eskişehir.
- [44] Liu, J.R., Wang, S.Y., Chen, M.J., Chen, H.L., Yueh, P.Y. ve Lin, C.W., (2006). "Hypocholesterolaemic Effects of Milk-Kefir and Soymilk-Kefir in Cholesterol-Fed Hamsters", *British Journal of nutrition*, 95: 939-946.
- [45] Rodrigues, K.L., Caputo, L.R. ve Carvalho, J.C., (2005). "Antimicrobial and Healing Activity of Kefir and Kefiran Extract", *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25: 404-8.
- [46] Zubillaga, M., Weill, R., Postaire, E., Goldman, C., Caro, R. ve Boccio, J., (2001). "Effect of Probiotics and Functional Foods and Their use in Different Diseases", *Nutrition Research*, 21: 569-579.
- [47] Golowczyc, M.A., Gugliada, M. J., Hollmann, A., Delfederico, L., Garrote, G.L., Abraham, A.G., Semorile, L. ve Antoni, G.D., (2008). "Characterization of Homofermentative *Lactobacilli* Isolated from Kefir Grains: potential use as probiotic", *Journal of Dairy Research*, 75: 211-217.
- [48] Karagözlü, N., Karagözlü, C. ve Ergönül, B., (2007). "Survival Characteristic of *E. Coli* O157:H7, *S. typhimurium* and *Stap. aureus* During Kefir Fermentation", *Czech Journal of Food Science*, 25 (4): 202-207.
- [49] Liu, J.R., Wang, S.Y., Lin, Y.Y. ve Lin, C.W., (2002). "Antitumor Activity of Milk Kefir and Soy Milk Kefir in Tumor-Bearing Mice", *Nutrition and Cancer*, 44(2): 182-187.
- [50] Çevikbaş, A., Yemni, E., Ezzedenn, F.W. ve Yardimici, T., (1994). "Antitumoural Antibacterial and Antifungal Activities of Kefir and Kefir Grain", *Phytotherapy Research*, 8: 78-82.
- [51] Lee, M.Y., Ahn, K.S., Kwon, O.K., Kim, M.J., Kim, M.K., Lee, I.Y., Oh, S.R., ve Lee, H.K., (2007). "Anti-Inflammatory and Anti-Allergic Effects of Kefir in A Mouse Asthma Model", *Immunobiology*, 212: 647-654.
- [52] Huuseini, H.F., Rahimzadeh, G., Fazeli, M.R., Mehrazma, M., ve Salehi, M., (2012). "Evaluation of Wound Healing Activities of Kefir Products", *Burns*, 38: 719-723.
- [53] Anonim (1992). Boza Standardı. T.S. 9778. Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Cad. 112, Ankara. 6 s.
- [54] Arici, M. ve Dağlıoğlu, O., (2002). "Boza: A Lactic Acid Fermented Cereal Beverage as a Traditional Turkish Food", *Food Reviews International*, 18: 39-48.

- [55] Birer, S., (1987). "Boza Yapımı ve Özellikleri", Gıda, 341-343 .
- [56] Hancıoğlu, Ö. ve Karapınar, M., (1997). "Microflora of Boza, A Traditional Fermented Turkish Beverage", International Journal of Food Microbiology, 35: 271–274.
- [57] Tuncer, Y., Özden, B. ve Avşaroğlu, M.D., (2008). "Bozanın Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin ve Laktik Asit Bakterisi Zolatlarının Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi", Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 12: 19-25.
- [58] Botes, A., Todorov, S.D., Mollendorff J.W., Botha, A. ve Dicks, L.M.T., (2007). "Identification of Lactic Acid Bacteria and Yeast from Boza", Process Biochemistry, 42: 267-270.
- [59] Kıvanç, M., Yılmaz, M. ve Çakır, E., (2011). "Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Boza, and Their Microbial Activity Against Several Reporter Strains", Turkish Journal of Biology, 35: 313-324.
- [60] Uylaşer, V., Korukluoğlu, M. ve Göçmen, D., (1998). "I. Bursa'da Satışa Sunulan Bozaların Bileşimi ve Kalitelerinin Araştırılması", Gıda Mühendisliği Kongresi, 1998, Gaziantep, Turkey.
- [61] Oyaizu, M., (1986). "Studies on Product of Browning Reaction Prepared from Glucose Amine", Japanese Journal of Nutrition, 44: 307-315.
- [62] Bruni, R., Muzzoli, M., Ballero, M., Loi, M.C., Fantin, G., Poli, E. ve Sacchetti G., (2004). "Tocopherols, Fatty Acids and Sterols in Seeds of Four Sardinian Wild Euphorbia Species", Fitoterapia, 75: 50-61.
- [63] Decker, E.A., ve Welch, B., (1990). "Role of Ferritin as A Lipid Oxidation Catalyst in Muscle Food", Journal of Agricultural Food Chemistry, 38: 674-677.
- [64] Osawa, T., ve Namiki, N., (1981). "A Novel Type of Antioxidant Isolated from Leaf Wax of Eucalyptus Leaves", Agricultural Biology and Chemistry, 45: 735-739.
- [65] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. ve Berset, C., (1995). "Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity", Food Science and Technology, 28: 25-30.
- [66] Smet, K., Raes, K., Block, J.D., Herman, L., Dewettinck, K. ve Coudijzer, K., (2008). "A Change in Antioxidative Capacity as a Measure of Onset to Oxidation in Pasteurized Milk", International Dairy Journal, 28: 520-530.
- [67] Duan, X.J., Zhang, W.W., Li, X.M. ve Wang, B.G., (2006). "Evaluation of Antioxidant Property of Extract and Fractions Obtained from a Red Alga, *Polysiphonia urceolata*", Food Chemistry, 95: 37-43.
- [68] Jayaprakasha, G.K., Negi, P.S., Jena, B.S. ve Rao, L.J., (2007). "Antioxidant and Antimutagenic Activities of Cinnamomum Zeylanicum Fruit Extracts", Journal of Food Composition and Analysis, 20: 330–336.

- [69] Jayaprakasha, G.K., Rao, L.J. ve Sakariah, K.K., (2004). "Antioxidant Activities of Flavadin in Different in Vitro Model Systems", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12: 5141-5146.
- [70] Arnao, M.B., Cano, A. ve Acosta, M., (2001). "The Hydrophilic and Lipophilic Contribution to Total Antioxidant Activity", *Food Chemistry*, 73: 239-244.
- [71] Fogliano, V., Verde, V., ve Randazzo, G., (1999). "Method for Measuring Antioxidant Activity and Its Application to Monitoring The Antioxidant Capacity of Wines", *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47: 1035-1040.
- [72] Liu, F., Ooi, V.E.C. ve Chang, S.T., (1997). "Free Radical Scavenging Activity of Mushroom Polysaccharide Extract", *Life Sciences*, 60: 763-771.
- [73] Marcocci, L., Maguire, J.J., Droy-Lefaix, M.T. ve Packer, L., (1994). "The Nitric-Oxide Scavenging Properties of Ginkgo Biloba Extract EGb 761", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 201: 748-755.
- [74] Taşkın, B., (2011). Bazı Fermente Süt Ürünlerinin Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
- [75] Liu, J.R., Lin, Y.Y., Chen, M.J., Chen, L.J. ve Lin, C.W., (2005). "Antioxidative Activities of Kefir", *Australasian Journal of Animal Science*, 4: 567-573.
- [76] Farvin, K.H., Baron, C.P., Nielsen, N.S. ve Jacobsen, C., (2010). "Antioxidant Activity of Yogurt Peptides", *Food Chemistry*, 123: 1081-1089.
- [77] Li, W., Hosseinian, F.S., Tsopmo, A., Friel, J.K. ve Beta, T., (2009). "Evaluation of Antioxidant Capacity and Aroma Quality of Breast Milk", *Nutrition*, 25: 105-114.
- [78] Zhao, H., Chen, W., Lu, J. ve Zhao, M., (2010). "Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Commercial Beers", *Food Chemistry*, 119: 1150-1158.

## ÖZGEÇMİŞ

---

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Aysin ÖZPINAR  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 01/08/1980 Bursa  
**Yabancı Dili** : İngilizce  
**E-posta** : ozpınarayşın@hotmail.com

### ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans			
Lisans	Kimya	Dumlupınar Üniversitesi	2005
Lise	Kimya	Atatürk Teknik Lisesi	1998

### İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2010	-	-
2005	Denizler Otomotiv/Bursa	Laboratuvar Sorumlusu
2002	Otosan Ltd. Şti.	Kaplama Atöl. Sorumlusu

