



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ECZACILIKTA BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**BAZI FENOLİK ASİT VE FLAVONOİDLERİN
BİYOERİŞİLEBİLİRLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Hatice Nur TURAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Oktay YILDIZ

TRABZON-2025

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

25.08.2025

Hatice Nur TURAN

İthaf

Bu yüksek lisans tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmadan beni yetiştiren anneme ve ben doğmadan iki hafta önce vefat eden, ismini gururla taşıdığım anneanneme ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim sürecinde çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde her türlü desteğini esirgemeyen, gerek sağladığı imkanlarla gerekse ilham veren bakış açısıyla ve neşesiyle danışmanlığı süresince yol gösteren, öğrencisi olduğum için kendimi şanslı hissettiğim ve gurur duyduğum çok kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Oktay YILDIZ'a teşekkür ederim.

Jüri üyelerimden Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI'ya, laboratuvar olanaklarını kullanmama izin verdiği, çalışma sürecinde her zaman destek olduğu ve değerli katkılar sunduğu için ayrıca teşekkür ederim.

Diğer jüri üyem Prof. Dr. Fevzi TOPAL'a da yapıcı eleştirileri ve değerlendirmeleri için teşekkür ederim.

Laboratuvar uygulama ve tez yazım sürecinde desteğini esirgemeyen kıymetli hocalarım Dr. Öğr. Gör. Atiye DEĞİRMENCİ, Arş. Gör. Yakup KARA, Dr. Öğr. Gör. Gülsüm Merve BOYRACI'ya,

En ihtiyaç duyduğum anda maddi ve manevi desteğiyle sürecimi kolaylaştıran Dr. Öğr. Üyesi Fatma YAYLACI KARAHALİL hocama, Dr. Öğr. Gör. Hilal Ebru ÇAKIR hocama ve sevgili arkadaşım Arş. Gör. Zeynep Berin ÇELEBİ'ye,

Her koşulda beni destekleyen ve daima yanımda olan sevgili annem ve babam Huriye ve Olgun TURAN'a, kardeşlerim Mustafa Olgun TURAN ve Elif TURAN BAKIRTAŞ'a,

Tez çalışması sırasında TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2211-Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında destek alınmıştır.

Yüksek lisans tez çalışmam TYL-2024-11253 kodlu BAP06 Destek Programı kapsamında "Bazı Fenolik Asit ve Flavonoidlerin Biyoerişilebilirliklerinin Belirlenmesi" adlı proje ile Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Hatice Nur TURAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY	
BEYAN	
İTHAF	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Fenolik Bileşikler	3
2.1.1. Fenolik Asitler	5
2.1.1.1. Hidroksisinnamik Asitler	5
2.1.1.2. Hidroksibenzoik Asitler	6
2.1.2. Flavonoidler	7
2.1.2.1. Antosiyaninler	8
2.1.2.2. Flavonlar ve Flavonoller	10
2.1.2.3. Flavanonlar	11
2.1.2.4. Flavanoller (Kateşinler)	12
2.1.2.5. İzoflavonlar	
2.2. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitesi	13
2.3. Fenolik Bileşiklerin Biyoyararlanımı	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	28
3.1. Kullanılan Standart Maddeler	28
3.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar	29
3.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	29

3.4. Standartların Hazırlanması ve Kullanılan Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	31
3.4.1. DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Radikali Giderme Aktivitesi	31
3.4.2. Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)	32
3.5. <i>İn Vitro</i> Sindirim Metodu	33
3.6. RP-HPLC-PDA ile Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi	34
3.7. İstatistiksel Analizler	34
4. BULGULAR	35
4.1. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitesi	35
4.1.1. GI Sindirim Öncesi ve Sonrası DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Radikali Giderme Aktivitesi	35
4.1.2. GI Sindirim Öncesi ve Sonrası Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)	42
4.1.3. GI Sindiriminden Sonra Fenolik Bileşiklerin Biyoyararlanımının HPLC-PDA ile Değerlendirilmesi	46
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	52
6. KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	73

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 1.	Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler	4
Tablo 2.	İnsanlarda antioksidan biyoyararlanımı etkileyen faktörler	23
Tablo 3.	Kullanılan maddelerin satın alındığı firmalar	28
Tablo 4.	Kullanılan cihazlar ve marka/model bilgileri	29
Tablo 5.	Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı	30
Tablo 6.	DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali giderme aktivitesi analiz prosedürü	32
Tablo 7.	Demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP) analiz prosedürü	33
Tablo 8.	Bütün saf fenolik standartlar için sindirim öncesi ve sonrası DPPH sonuçları	36
Tablo 9.	Bütün saf fenolik standartlar için sindirim öncesi ve sonrası FRAP sonuçları	39
Tablo 10.	Fenolik bileşiklerin <i>in vitro</i> sindirim sonrası % biyoerişilebilirlik oranı	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Hidroksisinnamik asitlerin genel yapısı	6
Şekil 2.	Hidroksibenzoik asitlerin genel yapısı	7
Şekil 3.	Antosiyanidinlerin genel yapısı	10
Şekil 4.	Flavonollerin genel yapısı	11
Şekil 5.	Flavanonların genel yapısı	11
Şekil 6.	Flavonollerin genel yapısı	12
Şekil 7.	İzoflavonların genel yapısı	13
Şekil 8.	Besin biyoyararlanımını etkileyen faktörler	22
Şekil 9.	DPPH Standart Troloks Grafiği	35
Şekil 10.	FRAP Standart Troloks Grafiği	39
Şekil 11.	Sindirim sonrası fenolik bileşikler için HPLC ile elde edilen kromatogramlar	43

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

C	Kateşin
dk	Dakika
DMSO	Dimetil sülfoksit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EC	Epikateşin
EGC	Epigallokateşin
EGCG	Epigallokateşingallat
FRAP	Demir (III) indirgeme antioksidan gücü
g	Gram
mg	Miligram
mM	Milimolar
mL	Mililitre
RP-HPLC-PDA	Ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi fotodiyot dizisi dedektörü
rpm	Dakikada devir sayısı
SC₅₀	Radikali yarıya indiren numune konsantrasyonu
SGLT-1	Sodyum glikoz ko-transporter 1
TPTZ	2,4,6-tripiridil-s-triazin
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar

Simgeler

°C	Santigrat derece
----	------------------

ÖZET

Bazı Fenolik Asitlerin ve Flavonoidlerin Biyoerişilebilirliğinin Belirlenmesi

Son yıllarda fenolik bileşiklere yönelik araştırmalardan elde edilen bulgular dikkat çekici nitelikte olup, bu alandaki çalışma sayısı giderek artmaktadır. Fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliği üzerine yapılan çalışmalar, gıda matriksleri ile gastrointestinal ortamın karmaşık ve etkileşimli doğası nedeniyle net sonuçlar sunmakta yetersiz kalmaktadır. Bu belirsizlik, fenolik bileşiklerin fonksiyonel gıdalarda ya da nutrasötik formülasyonlarda tek başına kullanımına ilişkin etkilerin daha kapsamlı araştırılmasını gerekli kılmaktadır. Bu tez çalışmasında, gıda matrikslerinde yaygın olarak bulunan fenolik asitler (galik asit, protokatekuik asit, vanilik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, *trans*-sinnamik asit ve kafeik asit) ile flavonoidler (kuersetin ve mirisetin) ele alınmış; bu bileşiklerin *in vitro* sindirim süreci öncesi ve sonrasındaki antioksidan aktiviteleri ile biyoerişilebilirlik düzeyleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. *In vitro* sindirim simülasyonu ile gastrik ve intestinal faz koşulları laboratuvar ortamında modellenmiş, sindirim sonrası elde edilen süpernatantların antioksidan aktivitesi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP) yöntemleri ile analiz edilmiştir. Kuersetin, mirisetin ve kafeik asitte sindirim sonrası antioksidan kapasite artışı gözlemlenirken; vanilik asit, *p*-hidroksibenzoik asit ve *t*-sinnamik asitte belirgin azalma meydana gelmiştir. Standart fenolik bileşiklerin *in vitro* sindirimi sonrası elde edilen sindirim fraksiyonlarında ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi fotodiyot dizisi dedektörü (RP-HPLC-PDA) ile fenolik madde kompozisyonundaki değişimler tespit edilmiştir. Özellikle kafeik asit ciddi oranda degradasyona uğrayarak %3.73 oranla en düşük, *t*-sinnamik asit ise %98.56 oranla en yüksek sonucu verdiği saptanmıştır. Öte yandan kuersetin ve gallik asit sırasıyla %20.12 ve %13.98 biyoerişilebilirlik oranları ile biyoyararlanım potansiyeli düşük kalmıştır. Elde edilen bulgular, fenolik bileşiklerin biyolojik etkilerini değerlendirirken sadece toplam içeriklerinin değil, biyoerişilebilirliklerinin ve sindirime karşı stabilitelerinin de dikkate alınması gerektiğini göstermektedir. Bu yönüyle çalışma, fenolik bileşiklerin fonksiyonel gıdalarda ve nutrasötik formülasyonlarda kullanımı açısından değerli bir bilimsel altyapı sunmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan aktivite, Biyoerişilebilirlik, Fenolik bileşikler, *In vitro* sindirim

ABSTRACT

Determination of the Bioaccessibility of Certain Phenolic Acids and Flavonoids

In recent years, findings from studies on phenolic compounds have been particularly noteworthy, and the number of studies in this field has been steadily increasing. However, research on the bioaccessibility of phenolic compounds remains limited in providing definitive results due to the complex and interactive nature of food matrices and the gastrointestinal environment. This uncertainty necessitates a more comprehensive investigation into the effects of using phenolic compounds alone in functional foods or nutraceutical formulations. In this thesis, commonly found phenolic acids in food matrices (gallic acid, protocatechuic acid, vanillic acid, p-hydroxybenzoic acid, trans-cinnamic acid, and caffeic acid) and flavonoids (quercetin and myricetin) were examined. The antioxidant activities and bioaccessibility levels of these compounds before and after the *in vitro* digestion process were comparatively evaluated. *In vitro* digestion simulation was used to model gastric and intestinal phase conditions in a laboratory setting, and the antioxidant activity of the post-digestion supernatants was analyzed using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods. An increase in antioxidant capacity was observed after digestion for quercetin, myricetin, and caffeic acid, while a significant decrease was noted for vanillic acid, p-hydroxybenzoic acid, and trans-cinnamic acid. Changes in the phenolic composition of the digestion fractions obtained after the *in vitro* digestion of standard phenolic compounds were identified using reversed-phase high-performance liquid chromatography with photodiode array detection (RP-HPLC-PDA). Notably, caffeic acid underwent significant degradation, resulting in the lowest recovery rate (3.73%), whereas trans-cinnamic acid showed the highest recovery (98.56%). On the other hand, quercetin and gallic acid exhibited low bioaccessibility rates of 20.12% and 13.98%, respectively, indicating limited bioavailability potential. The findings suggest that in evaluating the biological effects of phenolic compounds, not only their total content but also their bioaccessibility and stability against digestion should be considered. In this respect, the study provides a valuable scientific foundation for the use of phenolic compounds in functional foods and nutraceutical formulations.

Keywords: Antioxidant activite, Bioaccessibility, *In vitro* digestion, Phenolic compound

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanların çok eski dönemlerden bu yana yiyecek, içecek, barınma, hastalıkların ve yaraların tedavisi ile endüstriyel gereksinimler için bitki kaynaklı doğal maddeler kullandığı bilinmektedir. 2500 yıllık Çin tıbbından Hintlilerin 5000 yıllık Ayurvedik tedavi sistemine kadar pek çok farklı kültürde, bitki kökenli maddelerin özellikle ilaç olarak kullanıldığına dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır (1,2).

Son yıllarda fenolik bileşikler üzerine yapılan çalışmalar önemli ölçüde artmış ve elde edilen sonuçlar bu alana olan bilimsel ilgiyi daha da artırmıştır. Fenolik bileşiklerin yüksek antioksidan kapasiteleri ve günlük beslenmede yaygın olarak bulunmaları bu ilginin başlıca nedenlerindendir. Özellikle oksidatif stresin rol oynadığı kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde antioksidan bileşiklerin önemli bir koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (3,4)

Bitkiler primer ve sekonder olmak üzere iki tip metabolit sentezler. Primer metabolitler tüm bitkilerde ortak olup temel yaşamsal faaliyetler için gereklidir. Sekonder metabolitler ise her bitkide farklı miktar ve yapıda sentezlenen, genellikle bitkinin çevresel streslere ve biyotik etkileşimlere yanıt olarak üretilen daha kompleks yapılardır (5,6). Hem doğal hem de bazı sentetik antioksidanların sağlık üzerinde hastalıklardan koruyucu ve tedavi edici etkileri çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır (7). Bu nedenle fitokimyasalların potansiyel sağlık etkileri günümüzde önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Bu bileşiklerin antihepatotoksik, antiinflamatuvar, antiaterojenik, antialerjik ve antikanser özellikler gösterdiği bilinmektedir (8).

Fenolik bileşiklerin biyolojik etkinliğini belirleyen en önemli faktörlerden biri biyoyararlanımlarıdır. Sindirim sürecinde bu bileşikler fiziksel ve kimyasal etkilere maruz kalarak yapısal değişimlere uğrayabilir, enzimlerle ve diğer bileşiklerle kompleksler oluşturarak biyolojik etkinliklerini doğrudan veya dolaylı olarak etkileyebilirler (254). Fenolik bileşiklerin biyokimyasal etkilerini incelemek amacıyla *in vivo* ve *in vitro* sindirim modelleri kullanılmaktadır. Sindirim süreci *in vitro* modellerde gerçek metabolik koşullar taklit edilerek sindirim enzimleri yardımıyla yürütülür. Gastrik fazda pepsin ve HCl, pankreatik fazda ise pankreatin ve safra tuzları kullanılarak fenolik bileşiklerin sindirime bağlı dönüşümleri ve stabiliteleri araştırılır (66, 183).

Gerçek sindirim sürecinde farklı olarak fenolikler çeşitli metabolitlerle kompleksler de oluşturur ve bu durum antioksidan aktiviteyi olumlu ya da olumsuz olarak etkiler. Aynı şekilde emilim işlevi en çok bağırsakta gerçekleşir ve bağırsak mikroflorasının iyi ve kötü durumda olması da fenoliklerin biyoyararlanımını etkiler. Yapılan çalışmaların amacı fenoliklerin dokulardaki antioksidan etkinliğini tespit etmek ve değerlendirmektir. Birçok çalışmada yalnızca bir ya da birkaç fenolik bileşenin bitki ve meyve özütündeki *in vitro* ya da *in vivo* incelemesi yapılmıştır.

Bu çalışmada, fenolik bileşiklerin toplam fenolik içeriklerinin sindirim sonrası biyoerişilebilir formlarındaki değişikliklerin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda, sekiz farklı saf standart fenolik bileşiğin (gallik asit, vanilik asit, protokatekuik asit, *p*-OH benzoik asit, kafeik asit, *t*-sinnamik asit, kuersetin ve mirisetin) sindirim öncesi ve sonrası antioksidan kapasiteleri, Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali Giderme Aktivitesi Tayini yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir. *In vitro* sindirim sonrası elde edilen süpernatantlarda RP-HPLC-PDA ile fenolik madde profili tespit edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fenolik Bileşikler

1930 yılında portakaldan izole edilen bir madde ilk zamanlarda yeni bir vitamin olarak düşünülerek P vitamini olarak adlandırılmıştır. Ancak daha sonraları yeni bir madde grubu olduğu anlaşılan bu maddelere vitamin tanımına uymadıkları için fenolik asit adı verilmiştir (9). Fenolik bileşikler en az bir aromatik halkaya bağlı bir veya daha fazla OH grubu içeren basit bir fenolik molekülden karmaşık moleküler polimerlere dönüşebilen, 8000 den fazla farklı bileşiği içeren çoğunlukla bitkilerde bulunan sekonder biyoaktif bileşiklerdir (10). Bitkilere dışardan gelen zararlı madde ve canlılara karşı koruyucu etki göstererek bu ürünlerin çeşitli duyuşsal özelliklerine ve kalitesine katkıda bulunan bileşiklerdir (11). Besinlerdeki fenolik bileşikler (Tablo 1) sağlık açısından faydaları, antioksidan ve antimikrobiyal özellik göstermeleri, tat ve koku oluşumu üzerindeki etkileri sebebiyle birçok açıdan önem arz etmektedir. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi -OH sayısı ile doğru orantılı olarak artarken aynı bileşiklerde antioksidan etki -meta, -orto, -para şeklindeki sıraya göre artış göstermektedir(12). Fenolik bileşikler bitkilerde ikincil metabolitlerdir ve molekülde bulunan fenol halkalarının sayısına ve bunları birbirine bağlayan yapısal bileşenlere göre fenolik asitler ve flavonoidler olarak ikiye ayrılırlar (4).

Tablo 1. Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler (Manach'tan, 3)

	Kaynak	Polifenol içeriği	
		Ağırlık veya hacim olarak	Porsiyon
		Mg/kg taze ağırlık(ya da mg/mL)	mg/porsiyon
Hidroksibenzoik asitler	Ahududu (100 gr)	80-270	8-27
Protokatekuik asit	Böğürtlen (100 gr)	60-100	6-10
Gallik asit	Siyah frenk üzümü (100 gr)	40-130	4-13
<i>p-Hidroksibenzoik asit</i>	Çilek (200 gr)	20-90	4-18
Hidroksisinnamik asit	Yaban mersini (100 gr)	2000-2200	200-220
Kafeik asit	Kivi (100 gr)	600-1000	60-100
Klorojenik asit	Kiraz (200 gr)	180-1150	36-230
Kumarik asit	Erik (200 gr)	140-1150	28-330
Ferulik asit	Patlıcan (200 gr)	600-660	120-132
Sinapik asit	Elma (200 gr)	50-600	10-120
	Armut (200 gr)	15-600	3-120
	Hindiba (200 gr)	200-500	40-100
	Enginar (200 gr)	450	45
	Patates (200 gr)	100-190	20-38
	Mısır unu (75 g)	310	23
	Un: buğday, pirinç,yulaf (75 g)	70-90	5-7
	Elma şarabı (200 mL)	10-500	2-100
	Kahve (200 mL)	350-1750	70-350
Antosiyaninler	Patlıcan (200 gr)	7500	1500
Siyanidin	Böğürtlen (100 gr)	1000-4000	100-400
Pelargonidin	Siyah frenk üzümü (100 gr)	250-5000	25-500
Peonidin	Yaban mersini (100 gr)	250-5000	25-500
Delfinidin	Siyah üzüm (200 gr)	300-7500	60-1500
Malvinidin	Kiraz (200 gr)	350-4500	70-900
	Ravent (100 gr)	2000	200
	Çilek (200 gr)	150-750	30-150
	Kırmızı şarap (100 gr)	200-350	20-35
	Erik (200 gr)	20-250	4-50
	Kırmızı lahana (200 gr)	250	50
Flavonoller	Sarı soğan (100 gr)	350-1200	35-120
Kuersetin	Kıvırcık lahana (200 gr)	300-600	60-120
Kaempferol	Pırasa (200 gr)	30-225	6-45
Mirisetin	Çeri domates (200 gr)	15-200	3-40
	Brokoli (200 gr)	40-100	8-20
	Yaban mersini (100 gr)	30-160	3-16
	Siyah frenk üzümü (100 gr)	30-70	3-7
	Kayısı (200 gr)	25-50	5-10
	Elma (200 gr)	20-40	4-8
	Yeşil veya beyaz fasulye (200 gr)	10-50	2-10
	Siyah üzüm (200 gr)	15-40	3-8
	Domates (200 gr)	2-15	0,4-3
	Siyah demleme çay (200 mL)	30-45	6-9

2.1.1. Fenolik Asitler

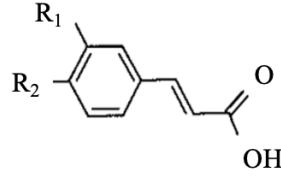
Bitki dokularını çeşitli tehlikelere karşı koruyan fenolik asitler canlı dokularda çoğunlukla serbest olarak bulunmazlar (13). Serbest halde bulunan fenolik asitler ise bağırsaklardan emilebilirler ancak organik maddelerle esterleştiklerinde emilememektedirler (14). Fenolik hidroksil grupları şekerlerle kompleks oluşturup glikozitlere dönüşürken, karboksil grupları da glikozitler, aminoasit ya da proteinlerle reaksiyona girebilirler, alkollerle fenol esterlere, amino bileşiklerle de amidlere dönüşürler (12). Antioksidan özelliğe sahip bu bileşikler sinnamik veya benzoik asitlere OH ya da

-OCH₃ grubu bağlanması sonucu 9 karbon atomu içeren (C₆-C₃) fenilpropan yapısındaki hidroksisinnamik asitler ve 7 karbon atomu içeren (C₆-C₁) fenilmetan yapısındaki hidroksibenzoik asitler olarak iki gruba ayrılırlar (13).

2.1.1.1. Hidroksisinnamik Asitler

Fenilpropan halkasında bağlı olan hidroksil grubun yeri ve sayısına göre değişik özellik gösteren hidroksisinnamik asitler bitkilerde genel olarak bulunur. En bilinen hidroksisinnamik asitler kafeik asit, ferulik asit, *p*-kumarik asittir (Şekil 1). Hidroksisinnamik asitlerin esterleri gıdalarda çoğunlukla bulunur. Örneğin meyvelerde *p*-kumarik asitin kuinik asitle olan esteri fazla bulunur(12) . Hidroksibenzoik asit olan *t*-sinnamik asit birçok bitkisel kaynakta doğal olarak bulunmaktadır. Çoğunlukla tarçın ve günlük ağacı reçinesinde bulunmuştur (15). Kafeik asit günlük insan beslenmesinde rahatlıkla bulunabilecek kekik, adaçayı, nane, zeytin, zeytinyağı, kuru erik, kahve, çay, patates, havuç gibi besinlerde çok sık görülür (16). Bu besinlerle alınan kafeik asidin %95'i ince bağırsaklardan emilir (17).

Hidroksisinnamik Asitler



R₁=OH: Kumarik Asit

R₁=R₂=OH: Kafeik Asit

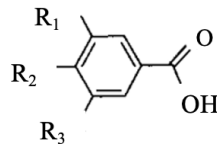
R₁=OCH₃, R₂=OH: Ferulik Asit

Şekil 1. Hidroksisinnamik asitlerin genel yapısı (Manach'tan, 13)

2.1.1.2. Hidroksibenzoik Asitler

Fenilmetan yapısında olan hidroksibenzoik asitler, 10 ppm konsantrasyona sahip olabilen bazı kırmızı meyveler, kara turp ve soğan haricinde genellikle gıdalarda iz miktarda veya hiç bulunmazlar. Hidroksibenzoik asitler, hidroksisinnamik asitlerden yağ asitlerinin beta oksidasyonu ile oluşur (18). Gallik asit, salisilik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, protokatekuik asit bu grupta bulunmaktadır (19). Akai üzümü ve soğan türlerinde bulunan hidroksibenzoik asit olan protokatekuik asitin kanser üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (20). Çay bitkisinde gallik asit miktarı yüksektir. Hidroksibenzoik asitler rutinde tükettiğimiz besinlerden yalnızca birkaçında ve çok az miktarda bulunduğu ve besinsel açıdan önemli olduğu düşünülmendiği için hakkında çok fazla kapsamlı çalışma yapılmamıştır (13). En bilinen hidroksibenzoik asitler Şekil 2'de verilmiştir.

Hidroksibenzoik Asitler



R₁=R₂=OH, R₃=OH: Protokatekuik Asit

R₁=R₂=R₃=OH: Gallik Asit

Şekil 2. Hidroksibenzoik asitlerin genel yapısı (Manach'tan, 13)

2.2.1. Flavonoidler

Difenilpropan (C3-C6-C3) yapısındadırlar ve fenil grupları arasında üçlü karbon köprüsü, oksijenle halka oluşturmaktadır. Flavonoid çeşitleri arasındaki fark hidroksil komplekslerinin kurduğu bağ sayısı, doymamışlık seviyelerine göre değişmektedir (12). Sarı renkli olmaları nedeniyle latince 'sarı' anlamında 'flavus' kelimesinden yola çıkılarak 'flavonoid' olarak isimlendirilmişlerdir (21).

Nar, vişne, yaban mersini, yeşil biber, brokoli gibi ürünlerde doğal olarak bulunurlar. Sağlık üzerinde antitumör, antiproliferatif, antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuvar, antikanser ve antialerjik aktivite gibi çeşitli biyolojik aktivite gösteren maddelerdir (22-24).

Flavonoidler besinlerde monomer ve polimer formlarda bulunabilmektedirler (3). Flavonoidler kimyasal olarak heterosiklik bir piran halkası aracılığıyla birbirine bağlanan iki benzen halkasından oluşan beş karbonlu düşük molekül ağırlığına sahip bir iskelet yapısıdır. Flavonoidlerin farklı alt sınıfları, oksidasyon dereceleri ve C halkasının çeşitli konfigürasyonları açısından farklılık gösterirken, aynı sınıf içerisindeki değişiklikler A ve B halkalarının farklı kombinasyonları ile oluşmaktadır (9).

Flavonoidler benzo- γ -piron yapısına sahip geniş bir grup polifenolik bileşikten oluşmaktadır. Önemli düzeyde antioksidan ve şelatlama özelliklerine sahip difenilpropanoidler olup fenil propanoid yoluyla sentezlenmektedirler (25). Tanımlanmış 4000'den fazla flavonoid olmakla birlikte flavonoidler; antosiyaninler, flavanlar, flavanonlar, flavonlar, flavonoller, izoflavonoidler, auronlar, kalkonlar ve kumarinler olmak üzere birçok alt sınıfa ayrılmaktadır. Flavonoidler aglikonlar (şeker kısımları olmayan), glikozitlerden (şeker kısımları olan) ve metillenmiş türevlerinden oluşur (26).

En temel flavonoid yapı ise aglikondur (27). Bununla birlikte gıdalarda çoğunlukla glikozid formunda bulunmaktadır. Glikozid formunun bağırsağa ulaşmadan hemen öncesinde şeker kısmından ayrışması gerekirken aglikon formu direkt hücre membranından geçer dolayısıyla glikozid formun bağırsaklardan emilimi daha zordur (28,29). Önceleri bağırsak epitelinde glikozid yapıyı parçalayacak enzim bulunmadığı için vücuttan emiliminin dikkate değer bir düzeyde olmadığı düşünülürken yapılan çalışmalarla bazı flavonoidlerin biyoyararlılıklarının bilinenden daha fazla olduğu tespit edilmiştir (30-32).

Günlük beslenmemizin önemli bir parçası olmasına rağmen genellikle besin dışı olarak kabul edilen flavonoidler; gıdalarda, içeceklerde, farklı bitkisel ilaçlarda

bulunmaktadır (33). Önemli bir diyet bileşeni olan flavonoidler hem *in vivo* hem de *in vitro* çalışmalarla desteklenen antioksidan özellikleri sayesinde insan sağlığı açısından tercih edilebilir bir noktadadır (34).

İnsan beslenmesinde değerlendirilen bileşik ve sınıf sayısı farklılık göstermekle beraber günlük alım tahminleri 23 mg/gün ila 1000 mg/gün arasında değişmektedir (35).

Flavonoidler içeren bitkiler aynı zamanda çevresel şartlardan ve mikroorganizmalardan kaynaklanan strese maruz kaldıklarında kendi kendilerine ikincil antioksidan savunma sistemi olarak da görev yaparlar. Ayrıca bitkilerin büyüme faktörlerini de düzenlerler (36). Flavonoidlerin biyolojik aktivitesi ve metabolizması, yapısının karakteristik şekline, toplam hidroksil grubu sayısına ve içerdikleri fonksiyonel grupların yer değiştirmesine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.

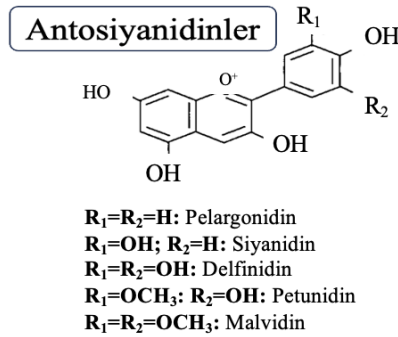
2.2.1.1. Antosiyaninler

Yunancada “antho” çiçek, “kyanos” da mavi anlamına gelmektedir. Bitkilerdeki kırmızıdan mora kadar değişen renklerinde sorumlu olan antosiyaninlerin temel yapısı 19. yüzyılda keşfedilmiştir (37,38). Bitki türlerinin birçoğunda bulunan polar ve kofullu renk maddeleridir. Böğürtlen, kırmızı ve siyah ahududu, kiraz, kan portakalı, üzüm, mürver, frenk üzümü, kırmızı soğan, yaban mersini, mor lahana, tatlı patates gibi sebze ve meyvelerde bulunur. Bitkilerin neredeyse her bölümünde bulunabilir. Çoğunlukla taç yaprak ve meyve kısımlarında olmakla beraber yaprak, gövde ve depo organlarında da bulunur (39,40). Farklı bitki türleri hatta aynı türler arasında dahi toplam antosiyanin içeriği ışık, sıcaklık, gen ve yetiştirme tekniklerinden etkilenecek farklılık gösterir (39).

Antosiyanidinler ise antosiyaninlerin temel yapılarıdır (Şekil 3). Glikozit formunda (bir şeker molekülüne bağlı) olurlarsa antosiyanin adını alırlar. Antosiyanidinlerin her biri farklı şeker ve asitlerle glikozilleştirilerek kombine edilebildiği için birçok farklı çeşidi vardır. Antosiyanidinler glukoz, galaktoz, ramnoz ve arabinoz gibi farklı sakkaritlerin bağlanması aracılığıyla çeşitli antosiyanin molekülleri oluşturur (41). Doğada 23 tane antosiyanidin bulunmakla beraber bu antosiyanidinler; moleküldeki hidroksil grubu sayıları ve bu grupların metilasyon derecesi, bu gruba bağlanan şeker sayısı ve şekerin çeşitli konfigürasyonları ile 630'den fazla antosiyanin molekülü ortaya çıkmaktadır (41,42). Antosiyanidinler biyoyararlanımı düşük olmakla beraber antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri yüksek bir flavonoid çeşididir (43).

Antosiyaninler suda çözünebilen kısmen polar moleküllerdir. Ekstraksiyon için belli bir yüzdeye kadar su, metanol, etanol veya aseton gibi polar çözücüler etkili olmaktadır (44,45). Bugüne kadar 630'dan fazla antosiyanin tespit edilmiştir (46). Antosiyanin molekülünde iyonik karakterli bir bölge bulunmaktadır ve bu bölge molekülün polarlığını artırır dolayısıyla suda çözünürlüğü artırır (47). Antosiyaninlerin aglikon kısmındaki moleküllerin OH grubunun miktarı arttıkça mavilik, OCH₃ grubunun miktarı arttıkça yoğun kırmızı ve turuncu renk artmaktadır (22).

Günlük antosiyanin alımı kişiden kişiye değişmekle birlikte yaz aylarında kış aylarına göre alımı daha fazla olduğu düşünülmektedir (48). Endüstriyel açıdan da doğal renk verici madde olarak kullanımının artmasının beklenen antosiyaninlerin hastalıklardan koruyucu ve tedavi edici özellikleri *in vitro*, *in vivo* ve klinik çalışmalarla da kanıtlanmıştır (49). Antosiyaninler, bağ dokusuna zarar veren enzimleri etkisiz hale getirme, antioksidan özellikleri sayesinde okside olmuş maddelerin bağ dokusunu tahrip etmesini önleme, damar duvarlarındaki zarar görmüş protein yapıları onarmak gibi çeşitli şekillerde vücudu korumaktadır (50).

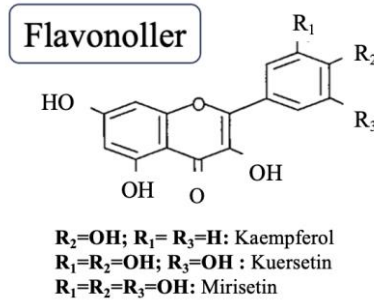


Şekil 3. Antosiyanidinlerin genel yapısı (Manach'tan, 13)

2.2.1.2.Flavonlar ve Flavonoller

Bitkilerde yaygın olarak bulunurlar ve genellikle O-glikozitleri şeklindedirler (Şekil 4). Yapılarındaki C halkasında -OH grubu varsa flavonoller, H⁺ var ise flavonlar adını alırlar. Yeşil ve kırmızı biber, marul, brokoli gibi sebzeler ve kekik, nane gibi baharatlar kuersetin, kemferol, apigenin ve luteolin çokça içerirken meyvelerde ise çoğunlukla kuersetin bulunur, mirisetin ve kemferol ise eser miktarda bulunmaktadır (51). Flavonoller arasında özellikle kuersetin en geniş dağılıma sahip olan bileşiktir. Kuersetinin *in vitro* ortamda birçok kanser

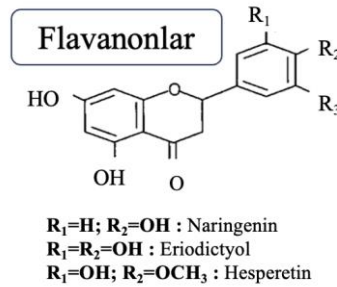
hücresinin kötü huylu tümör gelişimini engellediği, özellikle de hücre döngüsünü durdurarak ve büyümeyi inhibe ederek bu etkiyi gösterdiği gözlemlenmiştir. (52). Kuersetin aynı zamanda antiviral özelliğiyle de dikkat çekmektedir (53). Bitkileri yabancı böceklerle ve çeşitli hastalıklara karşı koruduğu için flavonlar bir anlamda biyopestisit görevi görür. Flavonlar diğer flavonoid çeşitlerine oranla daha az biyoyararlanıma sahiptir (54,55).



Şekil 4. Flavonollerin genel yapısı (Manach'tan, 13)

2.2.1.3. Flavanonlar

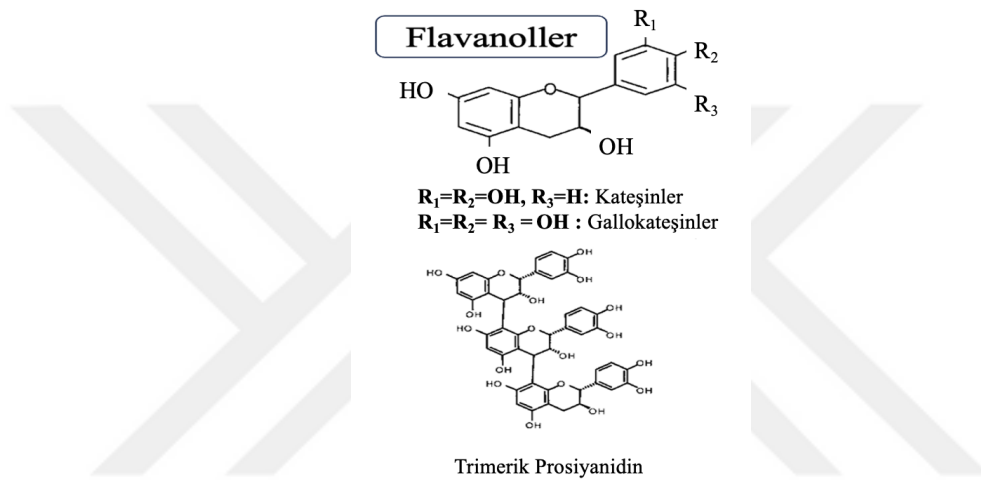
Dihidroflavonlar olarak da adlandırılan mono ve diglikozitleri şeklinde bulunurlar (Şekil 5) (52,53). Özellikle turunçgillerde acı tattan sorumlu olan ve meyvelerde içteki beyaz kısımda ve zar kısmında bulunan flavanonlar reaktif bileşikler olup kolaylıkla hidroksilasyon, glikosilasyon ve metilasyona uğrarlar (56, 57, 58). Naringenin ve hesperedin en bilinen flavanonlardandır. Greyfurt meyvesinde naringenin flavanonunun glikozitleri bulunurken portakal, mandalinalarda hesperedinin glikozit formları, limonda ise eriyositrin flavanonunun glikozit formları bulunmaktadır (56,59). Flavonoidler arasında biyoyararlanımı en yüksek grup flavanonlardır (57,58).



Şekil 5. Flavanonların genel yapısı (Manach'tan, 13)

2.2.1.4. Flavanoller (Kateşinler)

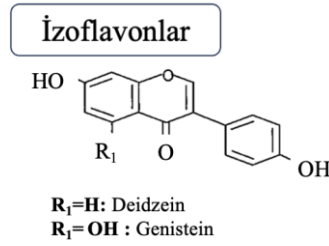
Kateşinler, C3 atomunda bir OH grubu bulundurduğu için flavan-3-ol olarak isimlendirilirler (Şekil 6). Düzlemsel değillerdir ve dört farklı izomeri bulunmaktadır (13). Yapısal olarak en karmaşık flavonoidlerdir. Hemen hemen her meyvede bulunan kateşinler renksiz moleküllerdir. Havadaki oksijenle kolaylıkla tepkimeye girerek yoğunlaşırlar ve polimer hali olan proantosiyanidinlere dönüşürler (60). Elma, böğürtlen, siyah kuş üzümü, kıvılcık, üzüm, şeftali ve çileklerde bulunurlar (61).



Şekil 6. Flavonollerin genel yapısı (Manach'tan, 13)

2.2.1.5. İzoflavonlar

Östrojen benzeri etki göstermesi sebebiyle flavonoid yapıda fitoöstrojen olarak adlandırılırlar (62-64). Özellikle bitkilerin kök ve tohum kısımlarında yoğun bulunan izoflavonlar en yaygın görülen bir izoflavonoid formudur (65). İzoflavonların ana kaynağı soya fasulyesi gibi baklagiller (özellikle soya fasulyesi) ve kırmızı yoncadır (64). İzoflavonlar yüksek miktarda soya ve türevi besinlerde glikozid ve aglikon formunda bulunmaktadır (66). Aynı zamanda flavonlarla aynı kimyasal formüle sahip olmakla beraber yapısal olarak (Şekil 7) farklı olduğu için birbirinin izomeridirler ve diğer flavonoid türlerine göre daha az bulunurlar (67). Flavonoid grupları arasında biyoyararlanımı en yüksek gruptur (68). İzoflavonlar aynı zamanda antimikrobiyal ve antifungal özellik gösteren fitoaleksinlerin öncüllü olarak görev yaparlar (69).



Şekil 7. İzoflavonların genel yapısı (Manach'tan, 13)

Fenolik Bileşiklerin *İn Vitro* Antioksidan Aktivitesi

In vitro kelimesi Latince camın içinde anlamına gelmektedir. Organizmadaki eylemleri organizma dışında taklit etmek amacıyla laboratuvar ortamında test tüpü ya da herhangi bir laboratuvar kabının içerisinde yapılan çalışma ve deneylerin yapıldığı ortamlara *in vitro* ortam denir (70). Uzun yıllardan beri doğal ya da izole edilmiş fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesini analiz edebilmek için çeşitli *in vitro* analizler geliştirilmiştir. Tek bir yöntem net yanıt vermemekle birlikte farklı yöntemler de aynı sonuçları vermemektedir. Bu farklı yöntemler çeşitli mekanizmalar üzerinden etkinlik göstermektedir. Bunun sebebi ise antioksidan aktivite mekanizmalarının farklı ve karmaşık olması, bileşiklerdeki antioksidan dağılımının farklı olması ve yapılan analizlerde kullanılan bileşiklerin farklı olmasıdır (71-73). Bununla birlikte, yalnızca *in vitro* analizlere dayanarak kesin sonuçlara ulaşmak doğru değildir; çünkü bu süreçte bileşiklerin biyoyararlanımı ve *in vivo* ortamdaki olası sinerjik etkileri göz ardı edilebilir. (74,75). Sonuç olarak, insan ve hayvan sindiriminde gerçekleşen çok faktörlü ve karmaşık reaksiyonların tümünü birebir taklit etmek mümkün değildir. Ayrıca, bazı maddelerin kullanımı etik açıdan sakıncalar yaratabilir. Bu nedenle, ortamın pH aralığı, sindirim enzimleri ve sindirim süresi gibi parametreler ayarlanarak canlılardaki sindirim süreçlerini taklit etmeye yönelik geliştirilen *in vitro* sindirim modelleri, doğrudan *in vivo* sonuçları birebir yansıtmasa da pek çok açıdan değerli ve pratik bir yaklaşımdır (76,77).

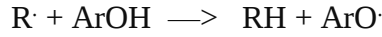
Fenolik bileşiklerin *in vivo* antioksidan aktivitesine yönelik çalışmalar sınırlı sayıdadır ve *in vitro* sonuçlara kıyasla daha karmaşık olup doğrudan benzer sonuçlar vermemektedir. Örneğin *in vitro* ortamda yeşil çay ve siyah çayın antioksidan aktivitesi birbirinden farklı sonuçlar verse de plazma değerleri benzer sonuçlar vermiştir (78). *In vitro* ortamda düşük antioksidan aktivite gösteren bazı karmaşık bileşikler, vücutta metabolize olarak daha küçük moleküllere ayrıldığında, bu metabolitler daha yüksek plazma

antioksidan aktivitesi gösterebilir (79). Aynı zamanda, tek bir bileşimin antioksidan aktivitesinin, birden fazla antioksidan bileşimin bir araya gelerek oluşturduğu sinerjik etkiye kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir (80,81). Benzer şekilde, fenolik bileşiklerin *in vivo* ortamda karbohidratlar, proteinler ve yağlarla oluşturduğu kompleksler de antioksidan aktiviteyi olumlu ya da olumsuz yönde etkileyebilmektedir (82). Örneğin, protein içeren gıdalarda bu etkinin derecesi besinden besine değişiklik gösterebilir; bazı durumlarda protein yapısı, fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesini azaltabilmektedir. Buna karşılık, karbohidrat içeren gıdalardaki makro yapılar, besinsel bileşenlerin ve enzimlerin yapısında azalmaya yol açarak fenolik bileşiklerin daha az bozulmasını sağlamakta ve böylece antioksidan kapasitenin korunmasına katkıda bulunmaktadır (83-85).

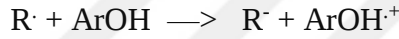
Vücutta oksidatif strese yol açan serbest radikalleri oluşturan mitokondriyal solunum zinciri veya herhangi bir inflamatuvar durum vücudun savunma sisteminin bir parçasıdır (86,87). Serbest radikaller, bir veya birden fazla eşleşmemiş elektrona sahip olmaları nedeniyle diğer moleküllerle kolayca etkileşime giren; hücrelerde endojen ya da ekzojen kaynaklardan oluşan, kararsız ve düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir (88,89). Oksijen kaynaklı olan serbest radikal türleri, reaktif oksijen türleri (ROS) olarak isimlendirilirken nitrojen kaynaklı olanlar reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak isimlendirilirler. ROS ve RNS, tamamı eşlenmiş reaktif türleri olan ve radikaller kadar rahat reaksiyona girmeyen nonreaktif radikallere dönüşebilirler (90,91). Oksijenin toksik etkisinin kısmen indirgenmiş oksijen türlerinden kaynaklandığını ilk kez Gershan 1954 yılında serbest radikal teorisi ile ortaya çıkardı. Reaktif oksijen türleri (ROS) ile reaktif azot türleri (RNS) vücutta üretildikleri miktarlara göre hem fayda sağlayabilen hem de zarar verebilen moleküllerdir. Düşük ve orta düzeyde salındıklarında vücutta enfeksiyona sebep olan birçok etkene karşı korunma, hücresel sinyal yollarında görev alma veya zararlı hücre bölünmelerinin baskılanması gibi faydalı etkileri vardır. Fakat bu moleküller yüksek miktarlarda olduğu zaman oksidatif stresi ortaya çıkararak DNA, lipitler, proteinler de dahil olmak üzere birçok noktada hasar oluşumuna sebep olmaktadır (91-93). Aterosklerozda damarlarda biriken plaklardaki makrofajlar oksitlenmiş LDL kolesteroldür. DNA oksidasyonundaki mutajenik hasar antikarsinojenik etki yaparken, biyomoleküllerdeki oksidasyon diyabet hastalığına sebebiyet verebilmektedir (94).

Antioksidan moleküller düşük yoğunlukta moleküllerin oksidasyonunu önemli ölçüde yavaşlatan veya tamamen engelleyebilen maddelerdir. *In vivo* oluşturulabildiği gibi

(indirgenmiş glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD vb.) çoğunlukla dışardan diyetle de alınabilmektedir (95,96). Antioksidan aktivite reaksiyonları ekzotermik reaksiyonlardır. Antioksidanların, koruyucu etkilerini iki farklı mekanizma ile gösterdiği düşünülmektedir. Bunlardan ilki, serbest radikallerin antioksidan moleküllerden bir hidrojen atomu alarak daha stabil hale gelmesi, yani radikal özelliklerini kaybederek inaktive olmalarıdır.



Bu reaksiyonda O-H bağları ne kadar güçsüzse H geçişi kolay olacağı için antioksidan özellik o kadar etkin olur ve serbest radikaller daha kolay inaktive olur. Diğer yol ise antioksidan molekül serbest radikale tek elektron vererek kendisinin radikal katyona dönüşmesiyle olur.



Bu modele göre, bir bileşiğin iyonizasyon potansiyeli ne kadar düşükse elektron geçişi o kadar kolay olur ve antioksidan etki o derece artar. Ancak oluşan fenolik radikal, başka bir serbest radikal reaksiyonuna neden olmamalı veya farklı yollarla hızla okside olmamalıdır (97-100). Antioksidanlar bu mekanizmalar aracılığıyla serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltır veya etkisiz hale getirir. Özellikle fenolik bileşikler, iyi bir hidrojen ve elektron donörü olmaları sayesinde güçlü antioksidan aktivite sergilerler (101-103). Antioksidan aktivite, belirli bir reaktif oksijen veya nitrojen türüne karşı antioksidanın hız sabitini ifade eder ve vücutta oluşan serbest radikallerin zararlı etkilerinin önlenmesini amaçlar. Bu etkiyi sağlamak için organizmada enzimatik veya enzimatik olmayan birçok mekanizma bulunmakta ve bunlara ek olarak doğal ya da sentetik kaynaklı antioksidan bileşiklerden de yararlanılmaktadır (104,105). Ayrıca fenolik bileşiklerin *in vitro* ortamda antioksidan aktivitelerinin karotenoidler ve A, C vitaminlerine kıyasla daha yüksek olması, onları güçlü doğal antioksidanlar olarak öne çıkarmaktadır (107,106).

Fenolik bileşiklerin vücut tarafından kullanılabilirliği büyük ölçüde sindirim sonrası stabilitelere ve bu aşamadaki antioksidan aktivitelerine bağlıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, özellikle meyve ve sebze özütlerindeki fenolik bileşiklerin *in vitro* antioksidan aktiviteleri ve sindirim sonrası biyoyararlanımları üzerine yoğunlaşmıştır (108,109). Örneğin, *in vitro* koşullarda incelenen portakal suyunda flavonoid miktarı, pH 2'ye ayarlanarak pepsinle uygulanan gastrik sindirimde değişmemiş; ancak alkali ortamda pankreatin ve safra tuzu ile gerçekleştirilen intestinal sindirimden sonra flavanon miktarının azaldığı bildirilmiştir (110). Benzer şekilde, nar suyu üzerine yapılan bir çalışmada *in vitro*

gastrik sindirim sırasında antosiyanin emiliminin %10 oranında arttığı, buna karşın intestinal sindirim aşamasında %80'e varan bir azalma olduğu gözlemlenmiştir (111). Brokoli çiçek salkımları üzerine uygulanan *in vitro* gastrik sindirimde flavonoid içeriğinde kayda değer bir azalma görülmezken, hidroksisinnamik asit içeriğinde %6 ila %25 arasında değişen düşüşler belirlenmiştir. Buna karşılık, intestinal sindirim aşamasında her iki fenolik grup için de yüksek oranda (%84 ve %80) azalma tespit edilmiştir (112). Bu tür çalışmalar, substratların içerdiği fenolik asitlerin matrikse yayılması ve diğer moleküllerle kompleks yapılar oluşturabilmesi nedeniyle antioksidan aktivitenin etkinliğinin bu etkileşimlerden etkilendiğini ortaya koymaktadır. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri, büyük oranda fenolik bileşiklerin yapısına, miktarına ve aralarındaki etkileşimlere bağlıdır (113). Caco-2 hücreleri kullanılarak yapılan bir *in vitro* modelde, arpacık soğanında sindirim sonrası kuersetin miktarı %50 oranında azalmasına rağmen, Caco-2 hücreleri tarafından emilen toplam kuersetin miktarının sindirilmiş ve sindirilmemiş örneklerde benzer olduğu ($2,8 \pm 0,4$ nmol ve $2,7 \pm 0,2$ nmol) gösterilmiştir. Ayrıca, arpacık soğanı özütündeki kuersetinin aglikon formunda, sindirilmemiş kuersetin-4'-glukozit formuna kıyasla daha düşük bir emilim gözlemlenmiştir (114). Soya fasulyesi ekmeğindeki izoflavonlar ve arpacık soğanındaki kuersetin üzerine yapılan çalışmalar, gastrik sindirim aşamasında antioksidan aktivitenin görece stabil kaldığını, ancak pankreatik sindirimde belirgin azalmalar yaşandığını göstermektedir. Bu durum, fenolik bileşiklerin ince bağırsakta daha fazla parçalandığını ve safra tuzlarının konsantrasyonu ile ilişkili olarak sindirimin bu aşamada arttığını düşündürmektedir (114,115). Ayrıca, Walsh ve arkadaşlarının çalışmaları, diyetle alınan yağ ve protein içeriğinin safra salgısını artırarak izoflavonoid biyoyararlanımını, saf izoflavonoid takviyesine kıyasla daha fazla yükseltebildiğini ortaya koymuştur (116).

Genel olarak, fenolik bileşiklerin 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ve ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP) test sonuçlarının *in vitro* gastrik sindirim aşamasında artış gösterdiği, buna karşılık intestinal sindirim aşamasında azalma eğiliminde olduğu gözlemlenmiştir. Fenolik asitlerde oksijene bağlı metil veya hidrojen grubu sayısı arttıkça, oksijen atomlarının benzen halkasıyla π bağları oluşturması daha stabil radikal yapıların oluşumuna olanak sağlar; bu da DPPH ve FRAP değerlerinin yükselmesine katkıda bulunur (117,118).

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivite düzeylerinde kimyasal yapıları belirleyici bir rol oynamaktadır. Özellikle hidroksil grubu sayısı ve bu grupların molekül üzerindeki

konumları, antioksidan kapasiteyi etkileyen başlıca faktörlerdendir (106,107,119). Serbest - OH grubu sayısındaki artışın DPPH radikal giderme değerlerinde paralel bir artışa neden olduğu belirlenmiştir (120,121). Flavon-3-ol yapılarında hidroksil grubu sayısının fazlalığı antioksidan kapasiteyi yükseltirken, flavanonlarda bu ilişkinin daha değişkenlik gösterdiği bildirilmektedir (107,122). Ayrıca flavonoidlerde 3-OH grubunun (örneğin rutin molekülünde) denatüre olması antioksidan kapasitenin azalmasına yol açmaktadır (122–124). B halkasında yer alan orto-dihidroksi yapıların molekülün kararlılığını artırarak antioksidan aktiviteye önemli katkı sağladığı ifade edilmektedir (125,126). Bunun yanı sıra, antioksidan aktivitenin, kullanılan çözücünün türü ve polaritesi, çözünürlük özellikleri ve elektron transfer yeteneği gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebileceği de vurgulanmaktadır (127).

Genel olarak, toplam fenolik içeriğin artması antioksidan aktivitenin de yükselmesine katkıda bulunmaktadır. Her ne kadar bu ilişkiyi her zaman doğrulamayan çalışmalar bulunsada, literatürdeki genel eğilim fenolik içerik ile antioksidan aktivite arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermektedir (128–131).

2.3. Fenolik Bileşiklerin Biyoyararlanımı

Vücuda aldığımız gıdaların yalnızca miktarı değil, onları ne ölçüde kullanabildiğimiz de büyük önem taşımaktadır. Besinlerden aldığımız mikro ve makro öğelerin biyoyararlanımı uzun yıllardır oldukça ilgi gören bir araştırma alanı olmasına rağmen insan çalışmaları hala sınırlıdır.

Biyoaktif bileşiklerden zengin besinlerin öğünlerle doğrudan tüketilmesi fenoliklerin gastrointestinal sistemde yüksek miktarda bulunmasını sağlamaktadır. Sonuç olarak biyoyararlanımdan bağımsız yalnızca biyoerişilebilir olması bile gastrointestinal sistemde oksidatif hasarı önleyebilmekte ve antikanserojen etki gösterebilmektedir (132). Sindirim sürecine dahil olan polifenollerin çözünerek sindirilen kısımları biyoyararlanıma katkı sağlayabilmektedir. Çözünemeyen polifenoller sindirim sürecinde biyoyararlanıma katkı sağlayamazken, çözünebilir ancak sindirilemeyen grup bağırsak bariyerini geçememektedir. Bu bileşikler biyoyararlanıma dahil olmamasına rağmen bağırsakta antioksidan etki göstermektedir (133).

Biyoerişilebilirlik ve biyoyararlanım kavramları, bir bileşiğin vücutta gösterdiği etkinliğin değerlendirilmesinde birbirini tamamlayan iki önemli parametredir. Biyoerişilebilirlik, bir bileşiğin gıda matrisinden serbest kalıp gastrointestinal sindirim

sürecinde çözünerek intestinal epitel yüzeyine ulaşabilen kısmını tanımlarken; biyoyararlanım ise bu biyoerişilebilir fraksiyonun bağırsaklardan emilerek sistemik dolaşıma geçme, hedef dokulara ulaşma ve biyolojik etkilerini gösterebilme kapasitesini ifade eder (134,135). Bu bağlamda, bir bileşiğin yüksek biyoyararlanım gösterebilmesi için öncelikle yeterli düzeyde biyoerişilebilir olması gereklidir. Ancak bu biyoerişilebilir olan her bileşiğin biyoyararlanabilir olacağı anlamına gelmemektedir; çünkü emilim sonrası biyoyararlanımı etkileyen birçok faktör bulunmaktadır (66,136). Özellikle fenolik bileşikler için bu iki kavram arasındaki ayrım oldukça kritiktir; zira çoğu polifenol yüksek antioksidan kapasiteye sahip olmasına rağmen düşük biyoyararlanım göstererek sistemik etkilerini sınırlı düzeyde yansıtabilmektedir.

Biyoerişilebilirlik, bir bileşiğin sindirim sürecinde serbestleşerek absorpsiyonun gerçekleşeceği epitel yüzeyine ulaşabilen fraksiyonunu ifade eder. Başka bir deyişle, gıda matriksinden veya bileşiğin konjugat formlarından ayrılıp bağırsak lümeninde çözünebilir ve potansiyel olarak emilebilir hâle gelen kısımdır (109,134).

Polifenoller için biyoerişilebilirlik, yalnızca toplam içeriklerine değil, sindirim sistemindeki pH değişimleri, enzimatik hidroliz, mikrobiyota etkisi ve matriks bileşenleriyle etkileşim gibi faktörlere bağlı olarak önemli ölçüde değişebilir (137,138). Bu nedenle biyoerişilebilirlik kavramı, polifenollerin gıda formundan ayrılıp absorbe edilebilir forma dönüşme potansiyelini ölçmek açısından kritik bir değerlendirme aracı olarak kabul edilmektedir (76,138).

Fenoliklerin biyoyararlanımını doğrudan belirleyen üç aşama vardır. İlk aşama fenoliklerin besin matriksinden salınması ve bağırsak ortamına girebilmesi, yani biyoerişilebilirlik durumu ki bu kısım fenolik bileşiklerin salınması, çözünmesi ve ortamla etkileşime girmesini içerir. İkinci kısım bağırsak epiteli tarafından emilmesi ve son aşama da sistemik dolaşıma dahil olarak kimyasal dönüşüm geçirerek metabolizmaya katılmasıdır (139-144).

Fenolik bileşiklerin biyoyararlanımı molekül boyutu, diğer fenoliklerle ya da farklı besin bileşenleri ile etkileşimleri, aglikon ya da glikozidik formda olup olmaması gibi birçok içsel ve dışsal faktörden etkilenmektedir. Kuersetin, gallik asit gibi küçük moleküllü fenolik bileşikler sindirim sürecinde kolaylıkla emilirken, proantosiyanidinler gibi büyük moleküllü fenolikler sindirim sürecinde daha küçük parçalara ayrılması gerekmektedir (145,146). Biyoyararlanımı etkileyen en önemli faktörlerden birinin, fenolik bileşiklere bağlı şeker

grupları olduğu düşünülmektedir (147,148). Örneğin kuersetin flavonoidinde olduğu gibi, ramnoz bağlı bileşiklerin emilebilmesi için kalın bağırsağa kadar ulaşması ve burada mikrobiyota tarafından parçalanması gerekebilmektedir (149,150). Fenolik bileşikler metabolize olurken bazı polifenoller farklı alt formlara dönüşebildiği ve ilk halinden daha farklı biyolojik aktivite gösterebildiği tespit edilmiştir (151,152). Besinlerin biyoaktif ögelerinin kompleks yapısı, lipofilik ve hidrofilik bileşenlerin emilim mekanizmalarındaki farklılıklar besinlerdeki biyoyararlanımı tespit etmeyi güçleştirmektedir (153,154).

Vücut dokularına taşınan besin ögelerinin dokular tarafından absorbe edilebilen miktarının kullanılabilir ve depolanabilir hale gelen kısmına biyoyararlanım adı verilmektedir. Biyoyararlanım doğrudan emilim miktarına bakılarak ölçülebilir, zira emilim gerçekleşikten sonra besin kaynağından bağımsız olarak biyolojik ortamda serbestçe kullanılabilir (155,156). Genel olarak biyoyararlanım mikro ve makro ögelerin sindirilen, emilen, dokulara dağılan, vücut tarafından kullanılan, depolanan miktarını ve biyoaktivitesini kapsamaktadır. Fakat biyoaktivite ölçülürken ortaya çıkan zorluklar biyoyararlanım kavramını biyoaktiviteden bağımsız olarak sadece emilen, dolaşıma katılan ve depolamada kullanılan kısmı olarak değerlendirilmektedir (134). Biyoyararlanım değerleri büyük oranda kullanılan yöntemle göre değişebildiği için hangi yöntemlerin kullanılacağı belirlenmelidir. Biyoyararlanımı tespit etmek amacıyla kullanılan net bir analiz yöntemi bulunmamaktadır (157). Bununla birlikte çoğunlukla *in vitro*, *in vivo* ve Caco2 *in vitro* hücre modeli gibi farklı etki mekanizmaları olan yöntemler tercih edilmektedir. *In vivo* biyoyararlanım modeli insanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan uzun, uğraştırıcı ve maliyetli bir yöntemdir. Bu sebeple rutin kullanımı sınırlıdır. Bu yöntemler arasında en yaygın, kullanılabilir ve düşük maliyetli olan *in vitro* sindirim modelidir. Aynı zamanda *in vivo* biyoyararlanım sonuçlarını daha uygun şartlarda ve kolay karşılaştırılabilir yöntemler kullanılarak tahmin edebilmek için ideal modeldir. Canlı sindirim sisteminin simüle edildiği bu yöntem hem saf hem de farklı gıda bileşenleri kullanılarak ya da farklı işlemlere tabi tutulmuş fenolik bileşiklerin nicel değerlendirmesini kolaylaştırır. Yani sindirim sırasında saf fenolik bileşik ya da besinden salınan fenoliklerin doku mukozasına ulaşan kısmının biyolojik olarak kullanılabilir formu olarak tanımlanmaktadır. (158).

Canlı vücudunda besinlerin biyoyararlanımını etkileyen bireysel farklılıklar, mikrobiyota bileşimi, diyet içeriği, besin ögelerinin biyoaktif bileşiklerle yaptığı kompleksler, kişinin genetik faktörleri gibi birçok etken vardır. Bu faktörler besinlerdeki

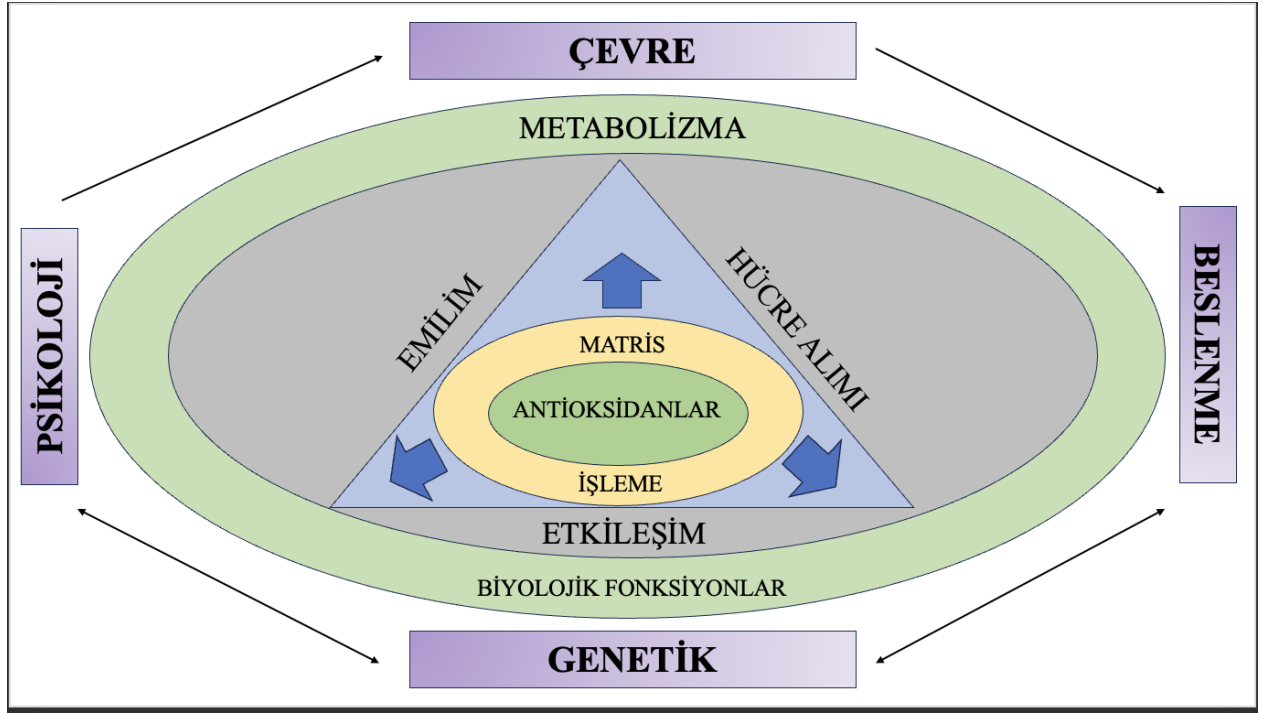
biyoaktif bileşiklerin emilimini etkileyerek kullanımını engellemektedir. Bazı polifenoller protein, lipid ya da karbonhidrat yapılarıyla tutunur ve biyoaktif maddenin sindirim sürecinde parçalanmasını önleyerek bağırsaklara daha fazla miktarda ulaşmasını sağlar. Bu ortamda salgılanan enzimlerin yapıyı parçalamasıyla polifenollerdeki biyoaktif meddeler kolona salınarak canlı yapıya zarar görmeden kazandırılır (159). Protein çeşidinin ve fiziksel yapısının polifenol içeriğinin biyoyararlanımı üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada, antosiyanin ve proantosiyaninlerin, gıda matrisi ve bitki hücre duvarı yapısı sayesinde korunarak bozunmadan bağırsak kanalına ulaşabildiği tespit edilmiştir. Katı protein kaynaklarının sıvılara kıyasla sindirim enzimleriyle daha zor çözünebilir olması polifenol bileşenin stabilitesini daha fazla koruyarak biyoyararlanımı artırdığı tespit edilmiştir (160). Protein yapısındaki aminoasitlerin de amino (-NH₂) grubu ile fenolik bileşiklerin hidroksil (-OH) grubu arasında kurulan çapraz hidrojen bağlarının biyoyararlanımı olumsuz etkilediği tespit edilmiştir (82,161). Biyoaktif bileşenleri içeren gıda matriksinin yapısı ve bunların kendi aralarında oluşturduğu kararlılık da biyoyararlanım üzerinde etkili olmaktadır. Kahve polifenollerinin biyoyararlanımı üzerinde süt proteini ve yağının etkisi olmazken, çay polifenollerinin protein ve yaban mersinindeki polifenollerin süt yağı eklenmesi yoluyla antioksidan kapasitesinde dolayısıyla biyoyararlanımında azalma meydana gelmiştir. Farklı bir çalışmada, kremayla beraber tüketildiğinde, midedeki gastrik boşalmayı yavaşlatarak bağırsağa geçişi geciktirmesi sonucu çilekteki fenolik asitlerde azalma gözlemlenirken, antosiyanin içeriğini olumlu yönde etkilediği ortaya konulmuştur (162–165). Literatürde yapılan çalışmalar genel olarak gastrik sindirimin biyoyararlanım üzerinde sınırlı etki gösterdiği, intestinal sindirimin ise fenoliklerin parçalanmasında büyük rol oynadığını göstermiştir. Bazı fenolik bileşiklerin farklı besin ögeleriyle yaptığı kompleksler midede daha uzun süre kalmasını sağlayarak biyoaktif bileşikler üzerinde koruyucu etki oluşturmakta ve bağırsak fazına gelene kadar mukoza tarafından emilebilen formun stabil kalmasını sağlamaktadır (166,167). Literatürde antosiyaninlerin *in vitro* sistemde bağırsak fazında emildiği gözlemlense de *in vivo* modelde gastrik sindirim fazında doğrudan sisteme dahil olabilmektedir. Antosiyaninlerin yalnızca %1’lik kısmının emilebilir olması diğer fenolik bileşiklere kıyasla daha düşük biyoyararlanıma sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Mide ve bağırsak sisteminde farklı enzim mekanizmaları aracılığıyla emilen antosiyaninler karaciğerde metabolize olmakta, 15-60 dk içerisinde farklı dokulara nüfuz ederek biyoyararlanıma katkı sağlamaktadırlar (13,168-170). Bazı fenolik bileşikler de kendilerinden ziyade alt bileşiklerinin içerdiği metabolitlerin biyoyararlanımının daha

yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Örneğin soya fasulyesinde bulunan izoflavonlardan genistein, deidzein ve glisitein yüksek biyoyararlanıma sahip bileşiklerdir. Bu bileşiklerden daidzeinin metaboliti olan equol, öncül izoflavondan daha yüksek biyoyararlanım göstermektedir (171).

Diyetle sebze, meyve gibi katı bitkisel polifenollerin ortalama %48'inin, sıvı polifenol kaynaklarının ise tamamının bağırsağa ulaşarak biyoerişilebilir halde olduğu bilinmektedir. Buna rağmen yalnızca %5-10'luk kısmının bağırsak epitelinden emilerek dokularda biyoyararlanım gösterdiği tahmin edilmektedir (172). Düşük moleküler ağırlıklı polifenoller özellikle aglikon formunda mide ve bağırsakta kolaylıkla emilim göstermektedir. Buna karşın glikozillenmiş formları mide asidine dayanıklı oldukları için bağırsak mukozasına stabil bir şekilde ulaşmakta ve yalnızca bazıları emilmektedir. Örneğin ramnoz grubuna bağlı polifenoller kolona kadar ulaşmakta ve burada bulunan bağırsak mikrobiyotası tarafından hidrolize edilebilmektedir (173). Besin kaynaklı fenoliklerin biyoerişilebilirliği, flavonoller hariç flavonoidlerin glikozillenmiş formda olmasından dolayı özellikle gastrik fazda mide asidine direnç göstermeleri sayesinde yüksektir. Bu sebeple duodenuma zarar görmeden ulaşabilirler. Benzer şekilde glikozit formları duodenuma sağlam ulaşan kuersetin ve daedzein gibi bazı flavonoidler ise aglikon formunda gastrik fazda kısmen emilebildiği tespit edilmiştir (174,175). Fenolik bileşiklerde aglikon formun glikozit forma kıyasla daha kolay emildiği bilinmesine rağmen kuersetin glikozitlerinin ince bağırsakta emilimleri daha yüksektir. Buradaki temel mekanizma olarak sodyum bağımlı glikoz taşıyıcısı SGLT1 aracılığıyla glikozitlerin epitel hücrelerine taşındığı düşünülmektedir (176-178). İnsanlarla yapılan bir çalışmada, hafifçe kızartılmış soğanla birlikte diyetle alınan toplam 275 µmol flavonol glikozit (özellikle kuersetin türevleri) tüketildikten yalnızca 30 dakika sonra, bu bileşiklerin faz II metabolitleri (glukuronid, sülfat formları) şeklinde dolaşım sisteminde tespit edilmiştir. Bu bulgu, flavonol glikozitlerin üst gastrointestinal sistemde parçalanarak bağırsak hücrelerinde hızla metabolize edildiğini, ancak metabolitlerin büyük oranda idrarla atılması nedeniyle biyoyararlanımlarının sınırlı olabileceğini göstermektedir (179).

Literatürdeki çalışmaların büyük bir kısmının *in vivo* olması çalışmada kullanılan canlının mikrobiyotasının, kullanılan besinin formu, tüketilen miktar (maruz kalma sıklığı, çoklu ya da tekli doz), gıda matrisinin yapısı (katı, sıvı, bitkisel, hayvansal formda olması), moleküler bağlantıları (esterleşme, glikolizasyon), sindirim/emilimi etkileyen faktörler (lif,

lesitin, misel oluşumunu kolaylaştıran protein gibi), bağırsakta etkili maddeler (HCl ve çeşitli enzimler, bağırsaktaki peristaltik hız) ya da genetik yatkınlıkları gibi çeşitli faktörlerin canlı biyolojisi üzerindeki etkisini de göz önünde bulundurursak bize fenoliklerin biyoyararlanımının gerçek potansiyeli hakkında net bir bilgi vermemektedir (180). Özellikle antioksidan etkili madde olarak fenolik bileşiklerin biyoyararlanımını etkileyen çok sayıda ekzojen ve endojen faktörler göz önünde bulundurulduğunda biyoyararlanımlarını tam anlamıyla tespit edebilmek oldukça zor olmaktadır. Şekil 8’de besinlerin biyoyararlanımını etkileyen faktörler ve Tablo 2’de insanlarda antioksidanların biyoyararlanımını etkileyen faktörler gösterilmiştir.



Şekil 8. Besin biyoyararlanımını etkileyen faktörler (Porrini'den, 180)

Tablo 2. İnsanlarda antioksidanların biyoyararlanımını etkileyen faktörler (Porrini'den, 180)

Antioksidan Yapıyla İlgili	Kimyasal yapı
	Tür/Form
	Moleküler bağlantı
	Gıdalardaki konsantrasyon
	Kullanılan miktar
	Diğer bileşiklerle etkileşim
Besin /Hazırlık Süreci ile İlgili	Gıda matriksinin özellikleri
	Uygulanan teknolojik işlemler
	Emilimi olumlu etkileyen faktörler (yağ, protein, lesitin)
	Emilimi olumsuz etkileyen faktörler (lif, şelatlayıcı faktörler)
	Depolama Süreci
Konak ile İlgili	Bozukluklar veya patolojiler
	Enzim aktivitesi
	Cinsiyet ve yaş
	Genetik
	Hormonal durum
	Bağırsak geçiş süresi
	Mikroflora
	Beslenme ve Antioksidan Durumu
	Fizyolojik durum
	HCl salgılanması
Harici	Farklı ortamlara maruz kalma
	Gıda bulunabilirliği

Canlı organizmaların biyolojik ve fizyolojik farklılıkları, fenolik bileşiklerin biyoyararlanımının tam olarak belirlenmesini güçleştirebilir. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda, *in vitro* deneylerin antioksidan aktivite ve biyoyararlanımı belirleme

açısından daha kontrollü ve karşılaştırılabilir sonuçlar sağlayabileceği düşünülmektedir. İn vitro verilerden hareketle, *in vivo* biyoyararlanımın ve antioksidan aktivitenin nasıl artırılacağı veya daha yüksek verim elde edilebileceği konusunda fikir edinmek mümkündür. İn vitro çalışmalarda sindirim süreci genellikle mide ve bağırsak fazları olmak üzere iki aşamada simüle edilmektedir (181). Bu aşamalarda insan sindirim sistemi pepsin, pankreatin enzimi ve safra tuzları kullanılarak laboratuvar ortamında taklit edilmektedir. Genel bir *in vitro* sindirim protokolü ise aşağıdaki adımları içermektedir:

1. Analizde kullanılacak ekstrakt veya saf fenolik bileşiğin hazırlanması,
2. Gastrik sindirim fazının simülasyonu (pepsin enzimi ve düşük pH kullanılarak),
3. İnce bağırsak (intestinal) fazının simülasyonu (pankreatin enzimi ve safra tuzları ile)

Son yıllarda, *in vitro* sindirim modelleri, *in vivo* sistemlerin mikrobiyota etkisi, besin matriksi etkileşimleri ve genetik farklılıklar gibi sınırlılıklarını dışarıda bırakarak fenolik bileşiklerin potansiyel maksimum antioksidan aktivitesini ve biyoyararlanım düzeylerini değerlendirmede önemli bir araç haline gelmiştir. Ayrıca bu modeller, *in vivo* çalışmalara yönelik olarak fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliği, stabilitesi ve biyolojik etkilerinin ön değerlendirmesini yapmak açısından da oldukça yararlıdır. Özellikle kuersetin, kafeik asit ve gallik asit gibi fenolik bileşiklerin sindirim öncesi ve sonrası antioksidan aktivite değişimlerinin karşılaştırılabilir şekilde analiz edilmesi, bu yaklaşımın önemini ortaya koymaktadır (137,182,183). İn vitro sindirim sonrası bazı fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinin arttığı bildirilmektedir. Örneğin, kabuksuz arpadan elde edilen, çözünür ve çözünmez lif içeren özütlerde sindirim öncesi ve sonrası antioksidan aktivite değerlerinde artış gözlemlenmiş; bu durum, sindirim sürecindeki alkali ve asidik ortamların etkisiyle gerçekleşen enzimatik reaksiyonların fenolik bileşiklerin salınımını artırmasıyla ilişkilendirilmiştir (184). Benzer şekilde, beyaz şarap fenoliklerinin *in vitro* sindirim simülasyonu sonrasında protokatekuik asit, kateşin, epikateşin ve dimerik proantosiyanidinlerin stabilitesinin artarak biyoerişilebilirliğinin yükseldiği ve bu durumun biyoyararlanımı olumlu yönde etkileyebileceği belirtilmiştir (185). Kateşinler üzerine yapılan *in vitro* sindirim çalışmalarında ise basit kateşinlerin (C, EC) gallokateşinlere (EGC, EGCG) kıyasla sindirim koşullarında daha stabil olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kateşinlerin gastrik fazdaki kaybının, bağırsak fazına göre daha düşük olduğu ve bu sonucun *in vivo* bulgularla da paralellik gösterdiği ortaya konmuştur (186). Aynı çalışmada, sindirime tabi tutulmayan kontrol örneklerinde kateşin miktarındaki azalmanın daha sınırlı olduğu,

bununla birlikte pH değişimlerinin fenolik bileşiklerin stabilitesi üzerinde etkili olabileceği vurgulanmıştır (186). Diğer araştırmalar da kateşinlerin midedeki asidik koşullarda stabilitesinin korunduğunu veya arttığını, buna karşın nötr ya da alkali bağırsak ortamında stabilitenin azaldığını göstermektedir (186). Ayrıca, asiditenin kateşin stabilitesi üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalarda, sitrik asit ve C vitamininin hem gastrik hem de bağırsak fazlarında kateşinleri oksidasyona karşı koruyarak stabilitelerini artırdığı ve böylece biyoyararlanımı desteklediği bulunmuştur. Özellikle C vitamininin kateşinlerin hücre dışına taşınmasını sağlayan efflux taşıyıcılarını inhibe ederek biyoyararlanımını artırabildiği de rapor edilmiştir (187–191) .

Mahajan ve arkadaşlarının (2024) çalışmasında, *in vitro* sindirim sonrası bitki posasında mide fazında antosiyaninlerin, besin liflerine bağlanması, asidik ortam koşulları ve pepsin enziminin etkisiyle stabilitesini koruduğu ve bunun da antioksidan aktivitenin yüksek kalmasına katkı sağladığı belirtilmiştir. Buna karşılık bağırsak fazında, alkali ortamda antosiyaninlerin hidrolize uğrayarak flavilyum katyonu formuna dönüştüğü; flavonoid çeşitlerinin ise pankreatin ve safra tuzlarının etkisiyle çözünerek yapısal değişime uğradığı ve dolayısıyla gastrik faza kıyasla antioksidan aktivitenin daha fazla azaldığı gözlemlenmiştir (192–194). Flavonoidler *in vitro* ortamda yüksek antioksidan aktivite gösterirken, *in vivo* biyoyararlanımları farklılık göstermektedir. Bu fark, emilim, metabolizma ve dolaşıma katılma gibi biyolojik süreçlerin etkisiyle ortaya çıkmakta; dolayısıyla fenolik bileşiklerin gerçek biyoyararlanımının yalnızca *in vitro* veya yalnızca *in vivo* verilere dayanarak değerlendirilmesinin yetersiz kalabileceğini göstermektedir (195–197).

Uygulanan *in vitro* sindirim çalışmalarının büyük çoğunluğu meyve ve sebze suları veya ekstraları ile gerçekleştirilmiş olup, bu matrislerde bulunan karbonhidrat, protein ve diyet lifi gibi çeşitli bileşenlerin hem kendi aralarındaki hem de fenolik bileşiklerle olan etkileşimleri; ayrıca fenolik bileşiklerin moleküler yapı konfigürasyonları, antioksidan aktiviteyi ve dolayısıyla biyoyararlanımı olumlu ya da olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Bu durum, tekil bir fenolik bileşiğin biyoyararlanımı hakkında kesin ve bağımsız bir değerlendirme yapmayı güçleştirmektedir (135,198). Saf fenolik standartlarla yapılan çalışmalar sınırlı sayıda olmakla birlikte, bu tür çalışmalar fenolik bileşiklerin gerçek kararlılıklarının ve biyoerişilebilirlik düzeylerinin, dolayısıyla biyoyararlanım performanslarının daha doğru bir şekilde belirlenmesi ačíından büyük önem

taşımaktadır (199). Saf fenolik bileşiklerin *in vitro* sindirim sonrası stabilitesi ve antioksidan aktivitesini inceleyen bir çalışmada, intestinal sindirim aşamasında çoğu fenolik bileşiğin biyoyararlanım oranının azaldığı gözlemlenmiştir. Buna karşın flavonon ve flavanonların gastrik faz sonrasında biyoyararlanım yüzdelerinin oral ve intestinal fazlara kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiş; bu durum, gastrik fazda ortam pH'ı ve enzim etkileriyle fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitesi ve dolayısıyla biyoyararlanım düzeylerinin *in vivo* sonuçlarla daha iyi örtüştüğünü göstermektedir (186,200). Sonuçlar incelendiğinde, biyoyararlanım yüzdesindeki en büyük farkın intestinal fazda ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Özellikle bu farkın flavonol ve flavonoidlerde daha belirgin olduğu belirtilmiştir (200). Başka bir çalışmada, saf iki farklı flavonoidin hem glikozit hem de aglikon formlarına *in vitro* sindirim uygulandığında, glikozit formlarının antioksidan aktivitelerinin aglikon formlarına kıyasla daha stabil olduğu ve sindirim süreci boyunca daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği; bunun da biyoyararlanımı doğrudan etkilediği gözlemlenmiştir (201). Saf standart fenolikler üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise sindirim sonrasında fenolik aglikonların (rutin ve naringin), karşılık geldikleri diglikozit formlara (kuersetin ve naringenin) göre daha düşük konsantrasyonlarda ve biyoyararlanım yüzdelerinde bulunduğu belirlenmiştir. Her iki formda da sindirim süreci sonrasında hem antioksidan aktivitesinde hem de biyoyararlanımda azalma olduğu rapor edilmiştir (202). Glikozit ve aglikon formlar arasındaki bu farklılıkların, aglikonların sulu ortamda glikozlanmış formlarına kıyasla daha düşük çözünürlükte olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (201). Ayrıca, glikozit formlarının şeker kısımlarının sindirim ve mikrobiyal enzimler tarafından hidrolize edilebileceği de belirtilmiştir (203). Oral sindirimin de dahil edildiği bir çalışmada ise kafeik asit, rutin ve rosmarinik asitin *in vitro* sindirime tabi tutulduğunda, sindirim sürecinin oral fazında çok kısa süre kalmalarından dolayı bozunmalarının sınırlı olduğu ve polifenol bozunumunun süresine bağlı olarak arttığı, dolayısıyla bu aşamada çok az kayıp yaşandığı rapor edilmiştir (204).

Gastrik fazda ise önceki çalışmalarda da gösterildiği gibi, asidik pH ve enzim etkileri polifenollerini kısmen koruyarak bozunmayı azaltmakta, dolayısıyla antioksidan aktivite ve biyoyararlanım düzeylerinin daha yüksek kalmasına katkıda bulunmaktadır. Aynı çalışmada, önceki bulgularla uyumlu şekilde, rutin, kafeik asit ve rosmarinik asit için intestinal fazda belirgin bir düşüş gözlemlenmiş ve bu bileşikler sırasıyla yalnızca %37, %8 ve %27 oranında geri kazanım sağlamıştır (204–208). Fenolik bileşiklerin genel olarak alkali koşullara hassas olduğu bilinmekle birlikte, bazı çalışmalarda *in vitro* sindirim sonrası

rosmarinik asit (209) , kateşin ve saf kuersetin (136), ellajik asit (210) ve ferulik asit (211) gibi bileşiklerin stabilitesinin tahmin edilenden daha yüksek olduğu da rapor edilmiştir. Ayrıca, aynı saf bileşiğin farklı çalışmalar ve protokoller sonucunda farklı geri kazanım oranları sergilediği de belirlenmiştir. Örneğin, intestinal faz sonrasında rutin bazı sindirim koşullarında yalnızca %3'lük bir kayıp gösterirken, diğer koşullarda neredeyse tamamen kaybolabilmektedir (181,208). Benzer şekilde klorojenik asitte %44'ten %95.7'ye kadar, kuersetinde ise %5.8'den neredeyse tamamen kayba kadar değişen oranlar rapor edilmiştir (208,212,213). Bu tür farklılıklar, saf bileşikler kullanılarak yapılan *in vitro* sindirim protokollerinin değişken sonuçlar verebildiğini ve sonuçların doğrudan karşılaştırılabilirliğini sınırladığını göstermektedir (214).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Standart Maddeler

Deneylerde kullanılan saf standart maddelerin satın alındığı firmalar Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Tez çalışmasında kullanılan maddelerin satın alındığı firmalar

Maddeler ve Satın Alınan Firma
Kuersetin (BLD Pharma, Cat. No: BD30401, Shanghai, China; 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one)
<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit (BLD Pharma, Cat. No: BD97870, Shanghai, China; 4-Hydroxybenzoic acid, 98%)
Protokatekuik asit (BLD Pharma, Cat. No: BD4712, Shanghai, China; 3,4-Dihydroxybenzoic acid, 98%)
Vanilik asit (BLD Pharma, Cat. No: BD6409, Shanghai, China; 4-Hydroxy-3-methoxybenzoic acid, 98%)
<i>trans</i> -Sinnamik asit (BLD Pharma, Cat. No: BD154871, Shanghai, China; (2E)-2-Phenyl-2-propenoic acid, 98%)
Mirisetin (BLD Pharma, Cat. No: BD140581, Shanghai, China; 3,5,7-Trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one, 98%)
Kafeik asit (Macklin, Cat. No: C804975, Shanghai, China; Caffeic acid, 98%)
Pankreatin (Sigma-Aldrich, Cat. No: P1750, St. Louis, MO, USA)
Safra tuzzu (Sigma-Aldrich, Cat. No: B8631, St. Louis, MO, USA)
Pepsin (Sigma-Aldrich, Cat. No: P7000, St. Louis, MO, USA)

3.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Deneylerde kullanılan cihazların marka ve modelleri Tablo 4’ te özetlenmiştir.

Tablo 4. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar marka ve modelleri

Cihaz ve Marka/Model
UV-Visible spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)
pH metre (Hanna Instruments, HI2020-02 Edge®, Woonsocket, RI, USA)
Çalkalamalı inkübatör (Mikrotest, MCI-55, Türkiye)
Vorteks karıştırıcı (Weightlab Instruments, WN-2800, China)
Ultra saf su sistemi (Merck Millipore, Direct-Q 3 UV, Darmstadt, Germany)
Isıticılı manyetik karıştırıcı (Heidolph, MR 3001, Schwabach, Germany)
HPLC sistemi (Shimadzu, LC-20AT, Kyoto, Japan)

3.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Deneylerde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı Tablo 5’te özetlenmiştir (158, 219, 234).

Tablo 5. Antioksidan aktivite tayini ve *in vitro* sindirim modelinde kullanılan çözeltiler

Çözeltiler	Hazırlanışı
DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali Giderme Aktivitesi Tayini	
DPPH çözeltisi (60 µM)	4 mg DPPH 100 ml %80'lik metanolde çözündürülmüştür. Daha sonra DPPH çözeltisinin absorbansı kontrol edilerek (yaklaşık 2,5 nm dalga boyu) %80'lik metanol ile absorbansı 0,7 nm'ye ayarlanmıştır.
Demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP)	
FRAP Reaktifi	Asetat tamponu (300 mM, pH 3,6), 10 mM TPTZ, 20 mM FeCl ₃ sırasıyla 10:1:1 oranında olacak şekilde karıştırılmış ve taze olarak hazırlanmıştır. Çözelti karanlıkta muhafaza edilmiştir.
Asetat tamponu (pH 3,6, 300 mM)	0,775 g CH ₃ COONa.3H ₂ O ve 4 mL glasiyel asetik asit saf su ile 250 mL'ye tamamlanmıştır.
30 µM TPTZ Fe	7,8083 mg TPTZ 2,5 mL 40 mM HCl içerisinde çözündürülmüştür.
20 mM Fe Cl ₃ .6H ₂ O	540,66 mg FeCl ₃ 6H ₂ O distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.
40 mM HCl	Saf su üzerine 340 µL HCl (%37'lik) ilave edilmiş ve hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.
1000 µM Troloks	25,31 mg Troloks etanolle 100 mL'ye tamamlanmıştır.
<i>In Vitro</i> Sindirim Metodu	
1 M NaHCO ₃	8,4007 g NaHCO ₃ saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.4. Standartların Hazırlanması ve Kullanılan Antioksidan Tayin Yöntemleri

Bu çalışmada örneklerin (gallik asit, vanilik asit, protokatekuik asit, *p*-OH benzoik asit, kafeik asit, *t*-sinnamik asit, kuersetin ve mirisetin) sindirilebilirlik/biyoyerişilebilirlik özelliklerinin belirlenmesi için *in vitro* sindirim simülasyonu Ozkan vd. (2022a) ve Sessa vd. (2011) tarafından verilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. 10 mg örnek öncelikle 1 mL DMSO ile homojenize edilmiştir. Her bir saf standart çözeltinin gastrointestinal sindirim öncesi demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ile antioksidan tayini ve DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) radikali giderme aktivitesi tayini spektrofotometrik yöntemler kullanılarak belirlendi. Ardından standart çözeltilerine *in vitro* mide ve bağırsak sindirim simülasyonu uygulandı. Tüm standart polifenollerin biyoyerişilebilirliği *in vitro* gastrointestinal sindirimden sonra belirlendi. *In vitro* sindirim sonrası elde edilen süpernatantlara demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ile antioksidan tayini ve DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) radikali giderme aktivitesi tayini yapıldı. Sindirim sürecinin antioksidan aktiviteye etkisi sindirim öncesiyle kıyaslanarak antioksidan aktivitenin sindirimden ne derece etkilendiği incelendi. Bunlara ek olarak, sindirim sonrası elde edilen süpernatantların fenolik profili, fenolik dönüşümleri ve fenolik bileşik miktarındaki artış/azalış ya da farklı bir fenolik bileşene dönüşümünün olup olmadığı RP-HPLC-PDA kullanılarak incelendi.

3.4.1. DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali Giderme Aktivitesi

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali giderme aktivitesi tayininde sentetik olarak satın alınan DPPH'nın metanolik çözeltisi hazırlandı. Fenolikler DPPH radikali ile tepkimeye girerek koyu mor rengi sarı renge dönüştürür. Antioksidan aktivite ne kadar fazlaysa fenolikler DPPH radikalini o kadar süpürerek rengi sarıya dönüştürür. Antioksidan aktivite arttıkça renk o kadar açılır. 1 mM Troloks kullanılarak hazırlanan standart kalibrasyon ölçüsü oluşturuldu. DMSO ile seyreltilerek farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltileri elde edildi ve metanolik DPPH ile karıştırılarak 30 dakika süreyle karanlıkta inkübe edildi, ardından 517 nm'de absorbanslar okundu. Kontrol çözelti 50 µL örnek çözücüsü (DMSO) ve 2,4 mL DPPH karıştırılarak hazırlandı. Konsantrasyon-absorbans grafiği çizilerek bütün örneklerin SC₅₀ değeri yani DPPH radikalinin miktarını/absorbansını yarıya indirmek için gerekli numune konsantrasyonu hesaplandı (215). Bu işlem hem saf fenolik asit çözeltilerine *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası ayrı ayrı uygulandı. Böylece antioksidan aktivitede meydana gelen değişim incelendi.

Tablo 6. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali giderme aktivitesi analiz prosedürü

	Numune	Kör (DMSO)	Standart
Fenolik standart	50 µL	-	-
DMSO	-	50 µL	-
Troloks (%80 metanol)	-	-	50 µL
DPPH (60 µM)	2,4 mL	2,4 mL	2,4 mL

Tüpler vortekslenir ve 37 °C’de karanlıkta 30 dakika bekletildikten sonra 517 nm’de absorbans okunur.

3.4.2. Demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP)

Bu yöntem, Fe(III)-TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazin) kompleksinin sulu çözeltiye antioksidan özellikte bir maddenin eklenmesiyle mavi renkli Fe(II)-TPTZ formuna indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Hazırlanan bu kompleks koyu mavi renktedir ve maksimum absorbansı 593 nm’de ölçülmektedir. FRAP reaktifi, 300 mM pH 3,6 asetat tamponu, 10 mM TPTZ ve 20 mM FeCl₃·6H₂O çözeltilerinin 10:1:1 oranında karıştırılmasıyla taze olarak hazırlandı. Sonuçların karşılaştırılabilmesi için Troloks antioksidan standardı beş farklı konsantrasyonda (1000 µM, 500 µM, 250 µM, 125 µM, 62.5 µM) hazırlandı (216,217). Sindirim uygulanmış ve uygulanmamış saf fenolik bileşiklerden her biri üç paralel halinde hazırlanarak, 50 µl örnek ve 1,5 ml FRAP reaktifi olacak şekilde tüplere eklenip vorteksle homojenize edildi. Aynı şekilde, kör çözelti olarak 50 µL çözücü (DMSO) ve 1,5 ml FRAP reaktifi içeren tüpler de hazırlandı. Örnekler 37 °C’de karanlık ortamda 4 dakika inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda tüm örneklerin absorbansı 593 nm’de spektrofotometre ile ölçüldü. Analiz metodunda yer alan pipetlemeler Tablo 7’de detaylandırılmıştır.

Tablo 7. Demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP) analiz prosedürü

	Numune	Kör (DMSO)	Standart
Fenolik standart	50 µL	-	-
DMSO	-	50 µL	-
Troloks	-	-	50 µL
FRAP reaktifi	1,5 mL	1,5 mL	1,5 mL

Tüpler vortekslenir ve 37 °C’de karanlıkta 4 dakika bekletildikten sonra 593 nm’de absorbans okunur.

3.5. *In Vitro* Sindirim Metodu

Bu çalışmada örneklerin (gallik asit, vanilik asit, protokatekuik asit, *p*-OH benzoik asit, kafeik asit, *t*-sinnamik asit, kuersetin ve mirisetin) sindirilebilirlik/biyoyerişilebilirlik özelliklerinin belirlenmesi için *in vitro* sindirim simülasyonu Ozkan vd. (2022a) ve Sessa vd. (2011) tarafından verilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. 10 mg örnek 1 mL DMSO ile homojenize edilmiştir.

Hazırlanan saf fenolik çözeltileri başlangıç olarak 37 °C’de 15 dakika boyunca inkübatörde 100 rpm’de çalkalandı. Sindirim uygulanacak örnekler nişasta içermediğinden dolayı α -amilaz içeren oral faz aşaması kullanılmadı. Gastrik sindirime uygun ortamı ayarlamak için 1 M HCl kullanılarak pH 2 ye ayarlandı. Ardından pepsin enzimi son konsantrasyon 1,3 mg/ml olacak şekilde eklendi. Hazırlanan karışım midede geçirdiği süreyi simüle etmek için inkübatörde 37 °C’de 2 saat boyunca 100 rpm’de çalkalandı. Gastrik fazın ardından bağırsak fazını simüle etmek için inkübatörden alınan örnekler 1 M NaHCO₃ kullanılarak pH değerleri 5,8 olacak şekilde ayarlandı. Daha sonra son konsantrasyonları sırasıyla 0,175 mg/mL ve 1,1 mg/mL olacak şekilde 2,5 mL pankreatin enzimi ve safra tuzu karışımı pH 5,8 e ayarlanmış sindirim ortamına eklendi. Ardından pH 1 M NaHCO₃ ile 6,5’e ayarlandı ve hazırlanan karışım inkübatörde 37 °C’de 2 saat boyunca 100 rpm’de çalkalandı. Hemen ardından enzimatik reaksiyonların devam etmemesi için santrifüj edilinceye kadar buz üzerinde bekletildi. Çözünür veya biyoyerişilebilir fraksiyonu ve kalıntı fraksiyonunu ayırmak için +4 °C’de 30 dakika boyunca 10 000 rpm’de santrifüj edildi. Son olarak daha sonradan antioksidan analizleri yapılmak üzere -20 °C’de muhafaza edildi (218).

3.6. RP-HPLC-PDA ile Fenolik Madde Profiline Belirlenmesi

In vitro sindirim uygulanan fenolik standart çözeltilerin kantitatif analizi için RP-HPLC-PDA kullanılmıştır. *In vitro* sindirim prosesine tabi tutulan örnekler ait süpernatantların fenolik bileşen profilinin tespiti için pH 2'ye ayarlandı. Daha sonra dietil eter ve etil asetatla ekstrakte edildi ve organik faz darası alınmış balonda toplanarak evaporatörde çözücü uzaklaştırıldı. Kalıntı 2 mL metanolle çözündürülerek 0,45 µm çapındaki filtreden geçirildi. RP-HPLC-PDA analizi Shimadzu LC 20AT HPLC cihazı ile C18 kolon (250 mm × 4.6 mm, 5 µm) kullanılarak yapılmıştır. Mobil faz asetronitril, ultra saf su ve asetik asitle gradient program uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 20 µL'ye, akış hızı 1 mL/dk'ya ve kolon sıcaklığı 30 °C'ye ayarlanmıştır (219).

Tespit işlemi, PDA (Photodiode Array Detector) kullanılarak 8 fenolik standart için (gallik asit, protokatekuik asit, vanilik asit, kuersetin, kafeik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, *t*-sinnamik asit, mirisetin) 4 farklı dalga boyunda (250, 280, 320, 360) gerçekleştirilmiştir.

Fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirlikleri, fenolik bileşiklerin sindirim öncesi ve sonrası karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Böylece sindirim sürecinin fenolik bileşiklerin stabilitesi ve biyoerişilebilirliği üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.

Örneklerin biyoerişilebilirlik indekslerinin hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{Biyoerişilebilirlik (\%)} = (\text{BC}_{\text{sindirim sonrası}} / \text{BC}_{\text{başlangıç}}) \times 100$$

$\text{BC}_{\text{sindirim sonrası}}$: *In vitro* sindirim sonucunda elde edilen supernatantta tespit edilen miktar/aktivite

$\text{BC}_{\text{başlangıç}}$: Sindirim öncesinde tespit edilen miktar/aktivite

3.7. İstatistiksel Analizler

Tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçların istatistiksel analizi, SPSS 22.0 sürümü kullanılarak Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak %5 anlamlılık düzeyinde ($p < 0.05$) analiz edildi. Örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Ayrıca, yöntemler arasındaki ilişkileri incelemek amacıyla temel regresyon analizi yapılmış ve istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler belirlenmiştir ($p < 0.05$).

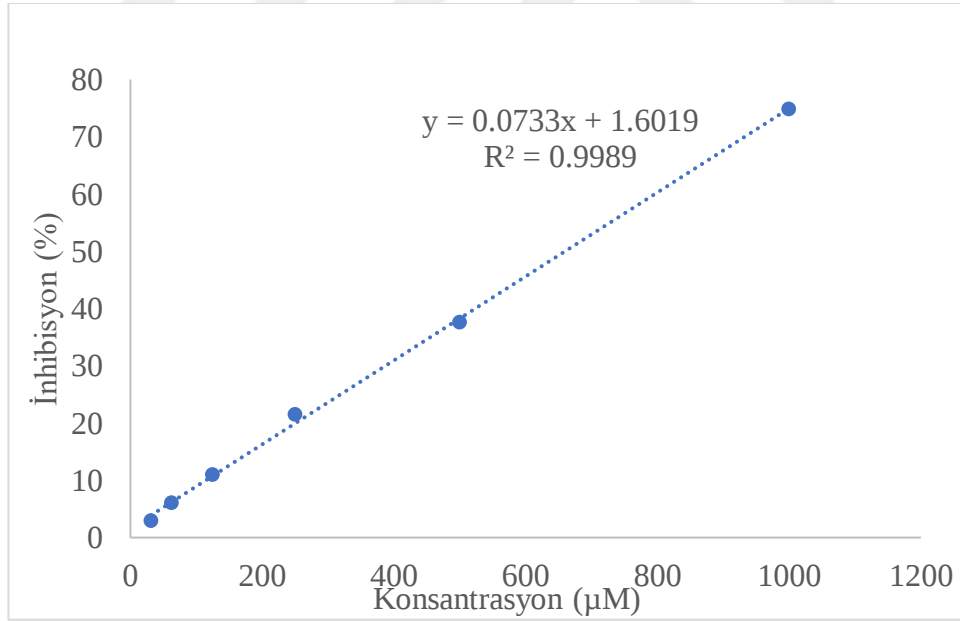
4. BULGULAR

Tez çalışması kapsamında öncelikle 8 farklı saf fenolik bileşiğin; gallik asit, protokatekuik asit, vanilik asit ve *p*-OH benzoik asit benzoik asit türevi; kafeik asit ve *t*-sinnamik asit sinamik asit türevi; kuersetin ve mirisetin ise flavonol yapısındaki bileşiklerin başlangıç antioksidan aktiviteleri belirlendi. Bu aşamayı takiben bütün saf fenolik bileşiklere in vitro sindirim yöntemi uygulanarak antioksidan aktivitelerine bakılmak için yeniden analiz edildi.

4.1. Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitesi

4.1.1. GI Sindirim Öncesi ve Sonrası DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) Radikali Giderme Aktivitesi

Antioksidan aktivite, başlangıç saf standart fenoliklerinde DPPH yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. DPPH için standart kalibrasyon eğrisi 1000 mM Troloks kullanılarak hazırlandı. Sonuçlar, mmol Troloks/g standart cinsinden ifade edildi. Standart kalibrasyon eğrisi Şekil 9’ da verilmiştir.



Şekil 9. DPPH Standart Troloks Grafiği

Başlangıç saf fenolik standart örneklerinin DPPH giderme aktivitesi ölçüldü. DPPH yöntemiyle belirlenen radikal giderme aktiviteleri mmol Troloks eşdeğeri/g cinsinden

hesaplanmış ve örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0.05$) (220).

Tablo 8. Sindirim öncesi ve sonrası DPPH sonuçları

Örnek	Başlangıç (mmol Troloks/g)	Sindirim Sonrası (mmol Troloks/g)
<i>t</i> -sinnamik asit	0,41±0,01 ^{aB}	0,34±0,02 ^{aA}
Vanilik asit	2,51±0,14 ^{bcB}	1,13±0,06 ^{aA}
Protokatekuik asit	3,49±0,32 ^{dA}	8,79±0,44 ^{bB}
<i>p</i> -OH benzoik asit	0,42±0,02 ^{aB}	0,05±0,00 ^{aA}
Kafeik asit	2,12±0,08 ^{bA}	6,90±0,33 ^{bB}
Kuersetin	14,38±1,12 ^{fA}	44,68±2,64 ^{dB}
Mirisetin	5,48±0,60 ^{eA}	14,10±1,51 ^{cB}
Gallik asit	3,14±0,06 ^{cdA}	8,49±0,25 ^{bB}

a-f: Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı simgelemektedir ($p<0,05$)

A-B: Aynı satırda yer alan farklı büyük harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı simgelemektedir ($p<0,05$)

Çalışmada yer alan sekiz farklı fenolik bileşiğin sindirim öncesi ve sonrası DPPH serbest radikal giderme kapasiteleri belirlenmiş ve sonuçlar Troloks eşdeğeri (mmol Troloks/g) cinsinden ifade edilmiştir (Tablo 8). Flavonoid grubu bileşikler arasında yer alan kuersetin (14,38±1,12 mmol Troloks/g), mirisetine (5,48±0,60 mmol Troloks/g) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek DPPH radikal giderme kapasitesi sergilemiştir. Kafeik asit (2,12±0,08 mmol Troloks/g) ve protokatekuik asit (3,49±0,32 mmol Troloks/g), benzer şekilde DPPH yöntemiyle ölçülen antioksidan kapasiteleri açısından vanilik asit (2,51±0,14 mmol Troloks/g), gallik asit (3,14±0,06 mmol Troloks/g)

ve mirisetin gibi bazı bileşiklerden anlamlı şekilde ayrılmıştır. Öte yandan, *p*-OH benzoik asit ($0,42 \pm 0,02$ mmol Troloks/g) ve *t*-sinnamik asit ($0,41 \pm 0,01$ mmol Troloks/g), en düşük antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşikler olarak belirlenmiştir ve istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir fark bulunmamaktadır.

p-OH benzoik asit fenolik asitler içerisinde en düşük antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Aynı zamanda *t*-sinnamik asitte *p*-OH benzoik asit ile yaklaşık olarak benzer bir antioksidan aktivite göstermiştir.

DPPH radikal giderme testine göre antioksidan kapasitesi bakımından örnekler en yüksekten en düşüğe şu şekilde sıralanmaktadır: Kuersetin > mirisetin > protokatekuik asit > gallik asit > vanilik asit > *t*-sinnamik asit $\approx$ *p*-OH benzoik asit.

Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları, incelenen sekiz farklı fenolik bileşiğin sindirim öncesi antioksidan kapasiteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermiştir ($p < 0,05$). Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, kuersetin, çalışmadaki en yüksek antioksidan kapasiteye sahip fenolik bileşik olarak belirlenmiş ve diğer tüm bileşiklerden anlamlı düzeyde farklılık göstermiştir.

Sindirim sonrası fenolik bileşiklerin DPPH radikal giderme kapasiteleri arasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu ortaya koyulmuştur ($p < 0,05$). Duncan çoklu karşılaştırma testi ile yapılan analizde, kuersetin sindirim sonrası en yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşik olarak belirlenmiş ve diğer tüm bileşiklerden anlamlı düzeyde farklılık göstermiştir ($44,68 \pm 2,64$ mmol Troloks/g). Kuersetini takiben, mirisetin ($14,10 \pm 1,51$ mmol Troloks/g), protokatekuik asit ($8,79 \pm 0,44$ mmol Troloks/g), gallik asit ($8,49 \pm 0,25$ mmol Troloks/g) ve kafeik asit ($6,90 \pm 0,33$ mmol Troloks/g) sırasıyla sindirim sonrası antioksidan aktivitesi anlamlı düzeyde yükselirken diğer bileşiklere kıyasla en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Özellikle, protokatekuik asit ve gallik asit gibi hidroksibenzoik asit türevleri, sindirim sonrası antioksidan kapasitelerinde anlamlı artışlar göstermiştir. Buna karşılık, *p*-OH benzoik asit ($0,05 \pm 0,00$ mmol Troloks/g), *t*-sinnamik asit ($0,34 \pm 0,02$ mmol Troloks/g) ve vanilik asit ($1,13 \pm 0,06$ mmol Troloks/g), sindirim sonrası antioksidan aktivitesi düşerken, sindirim sonrası DPPH aktivitesi diğer bileşiklere kıyasla daha düşük bulunmuştur; özellikle *p*-OH benzoik asit ve *t*-sinnamik asit grubu, aralarında anlamlı farklılık göstermeksizin en zayıf antioksidan kapasiteyi sergilemiştir.

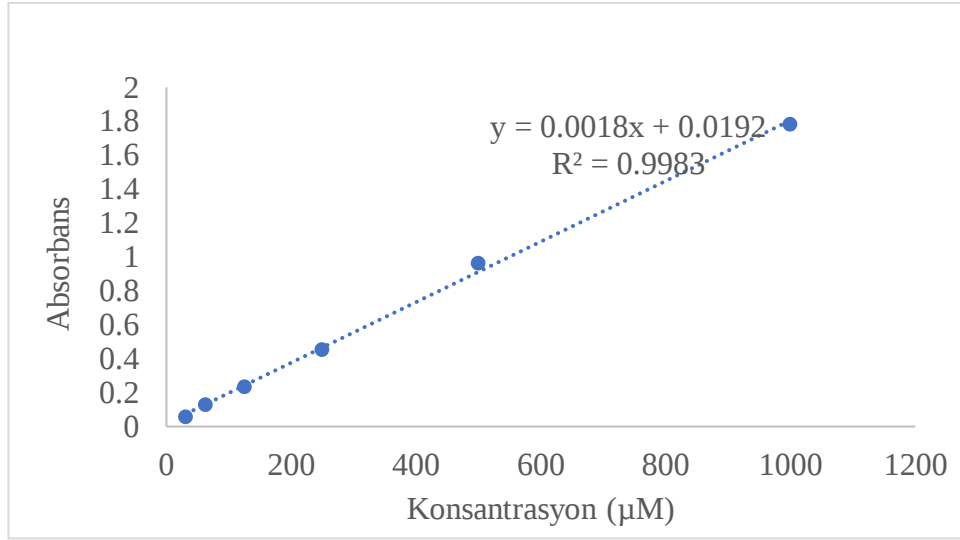
Sindirim sonrası FRAP yöntemi ile elde edilen antioksidan kapasite değerleri, incelenen fenolik bileşikler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermiştir ($p<0,05$). Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçlarına göre, fenolik örnekler arasında antioksidan kapasite yönünden anlamlı farklılık gözlemlenmiş ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ile bu farklılıklar detaylandırılmıştır.

Duncan testi sonucuna göre, sindirim sonrası kuersetin, tüm fenolik bileşikler arasında en yüksek antioksidan kapasiteye sahip örnek olarak belirlenmiştir ($32,87\pm0,42$ mmol Trolox/g). Kuersetini takiben kafeik asit ($23,58\pm0,21$ mmol Trolox/g) ve protokatekuik asitte ($17,24\pm0,88$ mmol Trolox/g) yüksek antioksidan kapasite göstermiştir. Bu bileşiklerin her biri, istatistiksel olarak birbirinden anlamlı şekilde farklı sonuçlar vermiştir. Gallik asit, sindirim sonrası $12,72\pm0,95$ mmol Trolox/g ve mirisetin $10,59\pm0,36$ mmol Trolox/g ile birlikte istatistiksel olarak orta düzeyde antioksidan kapasite göstermiştir. Vanilik asit, sindirim sonrası $3,64\pm0,08$ mmol Trolox/g değeri ile daha düşük antioksidan kapasite göstermiştir. Sonuç olarak sindirim öncesi ölçüme göre anlamlı bir azalma göstermiştir ($p<0,05$). *t-sinamik asit* ($1,19\pm0,22$ mmol Trolox/g) ve *p-OH benzoik asit* ($0,77\pm0,02$ mmol Trolox/g), diğer fenolik bileşiklere kıyasla en düşük antioksidan kapasiteye sahip örnekler olmuş ve her iki bileşiğin de aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ortaya konmuştur ($p>0,05$).

Sonuç olarak, sindirim sonrası fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri karşılaştırıldığında, flavonoid yapısındaki kuersetin ve mirisetin ile birlikte gallik, kafeik ve protokatekuik asitlerin, diğer bileşiklere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Bu durum, sindirim sonrası antioksidan kapasitede bileşik yapısına bağlı değişimlerin önemli olduğunu göstermektedir.

4.1.2. GI Sindirim Öncesi ve Sonrası Demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP)

Antioksidan aktivite, başlangıç saf standart fenolik örneklerinde FRAP Demir (III) indirgeme antioksidan gücü yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.



Şekil 10. FRAP Standart Troloks Grafiği

Analizlerde Troloks/g standart cinsinden hazırlanarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve sonuçlar mmol Troloks eşdeğeri/g standart cinsinden ifade edilmiştir (221). Standart kalibrasyon eğrisi Şekil 10 'da verilmiştir.

Bütün saf fenolik standartlar için sindirim öncesi ve sonrası FRAP sonuçları Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Sindirim öncesi ve sonrası FRAP sonuçları

Örnek	Başlangıç (mmol Troloks/g)	Sindirim sonrası (mmol Troloks/g)
Kafeik asit	11,97±0,87 ^{fA}	23,58±0,21 ^{fB}
Kuersetin	10,60±0,19 ^{eA}	32,87±0,42 ^{gB}
<i>p</i> -OH benzoik asit	1,10±0,02 ^{aB}	0,77±0,02 ^{aA}
<i>t</i> -sinnamik asit	1,20±0,12 ^{aA}	1,19±0,22 ^{aA}
Vanilik asit	6,00±0,01 ^{bB}	3,64±0,08 ^{bA}
Protokatekuik asit	11,97±0,14 ^{fA}	17,24±0,88 ^{eB}
Mirisetin	7,76±0,16 ^{cA}	10,59±0,36 ^{cB}
Gallik asit	8,93±0,48 ^{dA}	12,72±0,95 ^{dB}

a-f: Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı simgelemektedir ($p < 0,05$)

A-B: Aynı satırda yer alan farklı büyük harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı simgelemektedir ($p < 0,05$)

Tablodaki verilere göre saf standart fenolik bileşiklerin sindirim öncesi indirgeme kapasiteleri anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0.05$). Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçlarına göre, fenolik bileşikler arasında antioksidan kapasiteleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur. ($p<0.05$). Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları, kafeik asit ve protokatekuik asidin başlangıçta en yüksek FRAP değerine sahip grupta yer aldığını göstermiştir.

Duncan post hoc testi sonuçlarına göre, kafeik asit ($11,97\pm0,87$ mmol Troloks/g) ve protokatekuik asit ($11,97\pm0,14$ mmol Troloks/g), ferrik iyonu indirgeme kapasitesi bakımından istatistiksel olarak benzer düzeyde en yüksek değerlere sahip bileşikler olarak belirlenmiştir. Bu iki bileşiği sırasıyla gallik asit ($8,93\pm0,48$ mmol Troloks/g), mirisetin ($7,76\pm0,16$ mmol Troloks/g) ve kuersetin ($10,60\pm0,19$ mmol Troloks/g) takip etmiştir. En yüksek FRAP değerleri fenolik asit grubundan kafeik asit ($11,97$ mmol Troloks/g) ve protokatekuik asitte ($11,97$ mmol Troloks/g) flavonol grubundan ise kuersetinde ($10,60$ mmol Troloks/g) ölçülmüş ve bu bileşiklerin antioksidan kapasitesinin mirisetin ($7,76$ mmol Troloks/g) ve gallik asitten ($8,93$ mmol Troloks/g) istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Mirisetin ($7,76$ mmol Troloks/g) ise orta seviyede bir aktivite göstermiştir. Basit fenolik asitler arasında *p*-OH benzoik asit ($1,10$ mmol Troloks/g) ve *t*-sinnamik asit ($1,20$ mmol Troloks/g) en düşük antioksidan aktiviteye sahip bileşikler olarak bulunmuştur. Vanilik asit ($6,00$ mmol Troloks/g) ise orta düzeyde bir kapasite sergilemiştir.

Sonuç olarak, çalışmada kullanılan saf standart fenolikler arasında antioksidan kapasitesi bakımından genel sıralamanın kafeik asit $\approx$ protokatekuik asit $>$ kuersetin $>$ gallik asit $>$ mirisetin $>$ vanilik asit $>$ *t*-sinnamik asit $\approx$ *p*-OH benzoik asit şeklinde olduğu belirlenmiştir.

Sindirim sonrası FRAP yöntemi ile elde edilen antioksidan kapasite değerleri, incelenen fenolik bileşikler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu göstermiştir ($p<0,05$). Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçlarına göre, fenolik örnekler arasında antioksidan kapasite yönünden anlamlı farklılık gözlemlenmiş ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ile bu farklılıklar detaylandırılmıştır

Duncan testi sonucuna göre, sindirim sonrası kuersetin, tüm fenolik bileşikler arasında en yüksek antioksidan kapasiteye sahip örnek olarak belirlenmiştir ($32,87\pm0,42$ mmol Troloks/g). Kuersetini takiben kafeik asit ($23,58\pm0,21$ mmol Troloks/g) ve protokatekuik asit ($17,24\pm0,88$ mmol Troloks/g) de yüksek antioksidan kapasite göstermiştir. Bu

bileşiklerin her biri, istatistiksel olarak birbirinden anlamlı şekilde farklı gruplarda yer almıştır. Gallik asit, sindirim sonrası 12.72 ± 0.95 mmol Troloks/g değeriyle orta düzeyde antioksidan kapasite göstermiştir. Bu değeriyle mirisetin (10.59 ± 0.36 mmol Troloks/g) ile benzer bir antioksidan etki ortaya koymuştur. Vanilik asit, sindirim sonrası 3.64 ± 0.08 mmol Troloks/g değeriyle daha düşük bir antioksidan kapasite göstermiştir. Bu değer, sindirim öncesi ölçümle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermektedir ($p < 0.05$). *t*-sinnamik asit (1.19 ± 0.22 mmol Troloks/g) ve *p*-OH benzoik asit (0.77 ± 0.02 mmol Troloks/g), çalışmada değerlendirilen fenolik bileşikler arasında en düşük antioksidan kapasiteye sahip örnekler olmuştur. Bu iki bileşik arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Sonuç olarak sindirim sonrası fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri karşılaştırıldığında, flavonoid yapısındaki kuersetin ve mirisetin ile birlikte gallik, kafeik ve protokatekuik asitlerin, diğer bileşiklere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir.

Fenolik bileşiklerin *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası antioksidan kapasiteleri FRAP yöntemiyle değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, sindirimin fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri üzerinde önemli etkiler yarattığını göstermektedir. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, sindirim öncesi ve sonrası ölçülen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p < 0.05$).

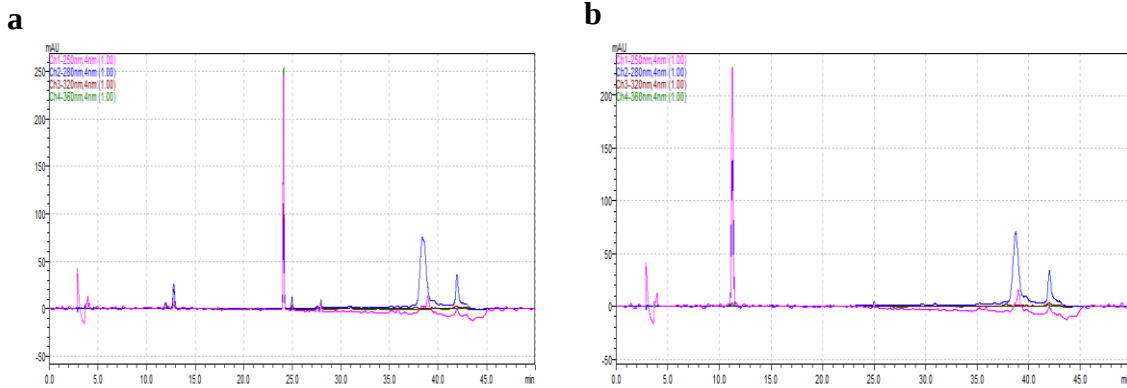
Sindirim sonrası ölçülen FRAP değerlerinde genel bir artış eğilimi gözlenmiştir. En dikkat çekici artış, kuersetin örneğinde gözlenmiş olup başlangıçta 10.60 ± 0.19 mmol Troloks/g olan değer, sindirim sonrası 32.87 ± 0.42 mmol Troloks/g seviyesine ulaşmıştır. Bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ve kuersetinin sindirim sonrası biyoyararlanımının oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, kafeik asit ve protokatekuik asit de sindirim sonrası anlamlı düzeyde daha yüksek FRAP değerlerine ulaşmıştır. Kafeik asidin başlangıçta 11.97 ± 0.87 mmol Troloks/g olan değeri, sindirim sonrası 23.58 ± 0.21 mmol Troloks/g'ye yükselmiştir. Aynı şekilde, protokatekuik asidin değeri 11.97 ± 0.14 mmol Troloks/g'den 17.24 ± 0.88 mmol Troloks/g'ye çıkmıştır. Gallik asit ve mirisetin örneklerinde de sindirim sonrası değerlerde artış gözlenmiştir. Gallik asit 8.93 ± 0.48 mmol Troloks/g'den 12.72 ± 0.95 mmol Troloks/g'ye, mirisetin ise 7.76 ± 0.16 mmol Troloks/g'den 10.59 ± 0.36 mmol Troloks/g'ye yükselmiştir. Bu artışlar da istatistiksel olarak anlamlıdır (p

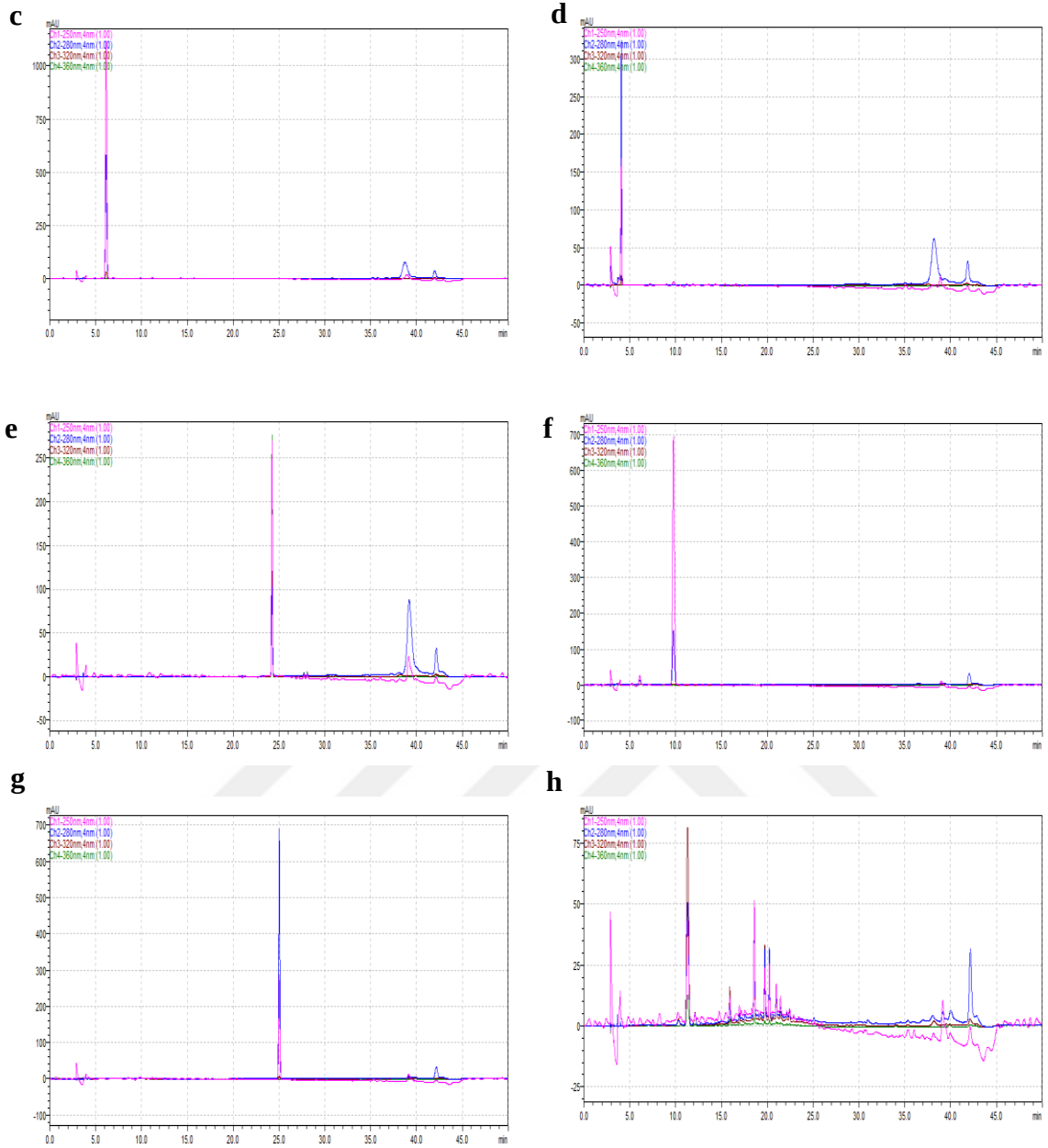
< 0.05). Vanilik asit örneğinde ise sindirim sonrası FRAP değerinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Başlangıçta 6.00 ± 0.01 mmol Troloks/g olan değer, sindirim sonrasında 3.64 ± 0.08 mmol Troloks/g seviyesine düşmüştür. Bu durum, vanilik asidin sindirim sırasında yapısal olarak parçalanabileceğini veya antioksidan formunu kaybedebileceğini düşündürmektedir. Daha düşük başlangıç değerlerine sahip olan *p*-OH benzoik asit ve *t*-sinnamik asitte ise belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. *t*-sinnamik asidin değeri 1.20 ± 0.12 mmol Troloks/g'den 1.19 ± 0.22 mmol Troloks/g'ye düşerken, *p*-OH benzoik asitte bu düşüş 1.10 ± 0.02 mmol Troloks/g'den 0.77 ± 0.02 mmol Troloks/g'ye olmuştur. Bu bileşiklerdeki fark istatistiksel olarak anlamlı olsa da değişim miktarı sınırlı kalmış ve genel antioksidan etkide düşük bir seviyede kalmıştır.

Sonuç olarak, sindirim süreci birçok fenolik bileşiğin indirgeme gücünü artırırken, bazı bileşiklerde ise kayıplara neden olduğu görülmüştür. Kuersetin, kafeik asit, protokatekuik asit ve gallik asit, sindirim sonrası antioksidan kapasitelerinde gözlenen anlamlı artış ile yüksek biyoerişilebilirlik göstermiştir. Bu bulgu, söz konusu bileşiklerin sindirim süreci sonunda daha aktif formda bulunabileceğini ve potansiyel biyoyararlanımlarının yüksek olabileceğini göstermektedir. Bu yönüyle, sindirim sonrası bu fenolik bileşiklerin vücutta daha etkili antioksidan etki gösterebileceği düşünülmektedir.

4.1.3. GI Sindiriminden Sonra Fenolik Bileşiklerin Biyoyararlanımının HPLC-PDA ile Değerlendirilmesi

Sindirim sonrası yapılan HPLC analizleri sonucunda, her bir fenolik bileşiğin % biyoerişilebilirlik değerleri hesaplanmıştır (Şekil 11).





Şekil 11. Sindirim sonrası fenolik bileşikler için HPLC ile elde edilen kromotogramlar (**a.** Kuersetin, **b.** Vanilik asit, **c.** Protokatekuik asit, **d.** Gallik asit, **e.** Mirisetin, **f.** p-OH benzoik asit, **g.** T-sinamik asit, **h.** Kafeik asit)

Fenolik bileşiklerin sindirim sonrası tespit edilen konsantrasyonlarının ve hesaplanan % biyoerişilebilirlik değerlerinin önemli farklılıklar gösterdiği gözlenmiştir. Örneğin *t*-sinamik asit, %98.56 gibi en yüksek % biyoerişilebilirlik oranıyla dikkat çekmekte olup ve sindirim protokolü sonunda başlangıca yakın miktarlarda tespit edilebilmiştir. Buna karşın

kafeik asit sindirim sonrası yalnızca %3.73'lük bir biyoerişilebilirlik oranı sergilemiştir. Kuersetin ise sindirim sonrası %20.12 biyoerişilebilirliğe ulaşmıştır.

Sindirim sonrası HPLC sonuçlarına göre, *p-OH benzoik asit* miktarı büyük oranda korunurken (0.5051 g/g), aynı zamanda numunede düşük miktarda protokatekuik asite de (0.0363 g/g) rastlanmıştır. Vanilik asit %24.03'lük biyoerişilebilirlik oranı ile sindirim sonrası miktarında belirgin bir düşüş sergilemiştir. Gallik asit %13.98'lik biyoerişilebilirlik oranıyla sindirim sonrası en fazla kayba uğrayan bileşiklerden biri olmuştur.

İn vitro sindirim sonrası HPLC kromatogramında mirisetinin standart retansiyon süresinde net bir pik gözlemlenmemiş, ancak yaklaşık 3–4 dakika sonra mirisetine benzer bir primer pik tespit edilmiştir. Mirisetinin sindirim sonrası analizde <LOQ sınırının altında kaldığı için teorik biyoerişilebilirliği % 0 olarak kabul edilmiştir.

Tablo 10. Fenolik bileşiklerin in vitro sindirim sonrası % biyoerişilebilirlik oranları

Fenolik Bileşikler	% Biyoerişilebilirlik
Protokatekuik asit	44.06
Kuersetin	20.12
Vanilik asit	24.03
Kafeik asit	3.73
<i>p-OH benzoik asit</i>	50.51
Gallik asit	13.98
<i>t-sinnamik asit</i>	98.56
Mirisetin	*
*Mirisetin sindirim sonrası tespit edilememiştir (<LOQ).	

Çalışmada incelenen fenolik bileşiklerin in vitro sindirim sonrası %biyoerişilebilirlik oranları farklılık göstermiştir. En yüksek biyoerişilebilirlik, *t-sinnamik asitte* gözlenmiş

olup %98,56 oranı ile sindirim sonrasında büyük oranda stabil kaldığı anlaşılmaktadır. Biyoyerişilebilirliği en yüksek ikinci bileşik *p-hidroksibenzoik asit* (%50.51) olmuş, onu sırasıyla protokatekuik asit (%44.06) ve vanilik asit (%24.03) takip etmiştir. Buna karşın, kuersetin (%20.12), gallik asit (%13.98) ve özellikle kafeik asit (%3.73) gibi bazı bileşiklerde biyoyerişilebilirliğin oldukça düşük olduğu belirlenmiştir.



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, sekiz farklı saf fenolik bileşiğin (gallik asit, kafeik asit, vanilik asit, mirisetin, kuersetin, *p*-OH benzoik asit, *t*-sinnamik asit, protokatekuik asit) sindirim öncesi ve sonrası antioksidan aktiviteleri ile biyoerişilebilirlikleri, *in vitro* sindirim modeli kullanılarak karşılaştırılmıştır. Her bir fenolik bileşik için başlangıçta antioksidan aktivite belirlenmiş, ardından söz konusu fenolik bileşikler *in vitro* gastrointestinal sindirime tabi tutulmuştur. Sindirim süreci sonrasında antioksidan aktiviteleri yeniden ölçülerek, biyoerişilebilirlik düzeyleri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, saf fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin sindirim koşullarına (pH değişimleri, enzimatik etkiler) bağlı olarak önemli ölçüde değiştiğini ortaya koymuştur. Literatürde, fenolik bileşiklerin asidik ortamda (mide fazı) göreceli olarak daha stabil kaldığı, buna karşın intestinal fazda oksidatif bozunma ve yapısal dönüşümler nedeniyle antioksidan aktivitelerinde belirgin azalmalar meydana gelebildiği bildirilmektedir (14,114,116,117,210). Fenolik bileşiklerin biyoyararlanımı, yapılarındaki hidroksil grup sayısı, konjuge çift bağların varlığı, A ve/veya B halkalarında metoksi grubu bulunması, ayrıca C halkasında gerçekleşen glikozilasyon veya hidrojenasyon gibi yapısal modifikasyonlardan etkilenmektedir. Bu yapısal özellikler, bileşiğin çözünürlüğünü, stabilitesini ve hücresel taşınımını değiştirerek biyoyararlanım üzerinde belirleyici rol oynamaktadır (60,66).

Çalışmada fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerini değerlendirmek amacıyla, DPPH ve FRAP analizleri tercih edilmiştir; çünkü bu yöntemler sırasıyla bileşiklerin radikal giderme aktivitelerini (DPPH) ve toplam indirgeme kapasitelerini (FRAP) ölçerek, antioksidan etkiyi farklı mekanizmalar üzerinden değerlendirme imkânı sunmaktadır (100,222).

DPPH analiz sonuçları, fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin kimyasal yapılarıyla doğrudan ilişkili olduğunu ve özellikle yapıdaki hidroksil grubunun konumu ile metoksilasyon veya glikozilasyon gibi modifikasyonların bu aktivite üzerinde önemli rol oynadığını göstermektedir (223). Basit hidroksibenzoik asit türevi olan *p*-OH benzoik asit ve *t*-sinnamik asit, fenolik asitler içerisinde en düşük antioksidan aktiviteyi gösterirken, dihidroksi ve trihidroksi yapısındaki benzoik asit türevi fenolik asitlerden protokatekuik asit ve gallik asite kıyasla daha yüksek DPPH antioksidan aktivite göstermiştir. Aynı zamanda *t*-sinnamik asit de *p*-OH benzoik asit ile yaklaşık olarak benzer bir antioksidan aktivite göstermiştir. Flavonoid grubu bileşiklerde, özellikle kuersetin ve mirisetin gibi yapılarında

B halkasında bulunan hidroksil grubunun sayısı ile glikozilasyon durumu, antioksidan aktivite düzeyini doğrudan etkilemektedir. Orto-dihidroksil yapıya sahip olan kuersetin, DPPH radikalini etkili bir şekilde nötralize ederek, mirisetine kıyasla daha yüksek antioksidan kapasite sergilemiştir. Bu bulgular, fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitesinin kimyasal yapılarına bağlı olarak değiştiğini ve yapı-aktivite ilişkisini desteklemektedir (224,225). Özellikle saf standartlar arasında, B halkasında orto-dihidroksi grubu bulunan kuersetin ile aromatik halkalarında orto-dihidroksi yapı içeren protokatekuik asit ve kafeik asidin antioksidan aktiviteleri, bu yapısal özellikleri sayesinde daha yüksek değerler göstermiştir (224,225). Çalışmada kuersetin, kafeik asit ve protokatekuik asit gibi daha fazla hidroksil grubu içeren fenolik bileşikler daha yüksek serbest radikal giderme aktivitesi göstermiştir. Sonuç olarak bu durum fenoliklerin hidroksil gruplarından hidrojen vererek radikal giderme kapasitesini artırarak elektronları daha stabil hale getirmesi olarak açıklanabilir (226). Özellikle hidrofilik yapıya sahip olan gallik asit, protokatekuik asit ve kafeik asit gibi fenolikler yapılarındaki çoklu hidroksil grupları sayesinde DPPH radikali etkin bir şekilde (H^+) ve elektron (e^-) transfer ederek güçlü antioksidan özellik göstermiştir (227). Çalışmada kullanılan fenolik bileşiklerin hidrofilik veya lipofilik özellikleri kimyasal yapılarına bağlı olarak DPPH sonuçları da farklılık göstermektedir. Özellikle gallik asit, protokatekuik asit, kafeik asit, *p-hidroksibenzoik asit* ve vanilik asit gibi fenolik asitler karboksil ve hidroksil grupları sayesinde yüksek polariteye sahip olup sulu ortamlarda iyi çözünürlük gösterirler. Bu özellikleri, sindirim sırasında çözünürlükleri ve emilim potansiyelleri açısından önem taşımaktadır. Buna karşılık, flavonoid grubu bileşiklerden kuersetin ve mirisetin daha karmaşık aromatik iskelet yapıları ve konjuge sistemleri nedeniyle hem polar hidroksil grupları hem de lipofilik bölgeler içeren amfipatik bir karakter sergilerler. Sınırlı sayıda hidroksil grup içeren trans-sinamik asit ise diğer bileşiklere kıyasla daha lipofilik bir yapıda olduğundan daha düşük antioksidan aktivite sergilemiştir. Bu yapı-fonksiyon farklılıkları, sindirim sürecinde çözünürlük, stabilite ve biyoyararlanım üzerinde belirleyici bir rol oynamaktadır (228–230). Sonuçlar, fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinin yapısal özelliklerinden önemli ölçüde etkilendiğini ortaya koymuştur. Orto-dihidroksi dizilimine sahip kafeik asit ve protokatekuik asit gibi örnekler yüksek antioksidan kapasite gösterirken, protokatekuik asidin metoksi substitüe ($-OCH_3$) türevi olan vanilik asit gibi bileşiklerin radikal giderme etkinliği nispeten daha düşük bulunmuştur. Bu farklılık, $-OH$ grubu sayısı antioksidan aktivitede kritik belirleyici

olduğundan, metoksi substitüsyonunun elektron transfer kapasitesini sınırlayarak antioksidan etkiyi azaltabileceğini düşündürmektedir (231,232).

Sindirim sonrası en yüksek DPPH radikal giderme kapasitesine sahip fenolik bileşik olan kuersetinin sindirim sonrasında antioksidan aktivitesinin üç kat artması, kuersetinin sindirim sürecinde aktif formunu koruduğunu veya metabolitlerinin de antioksidan özellik taşıdığını düşündürmektedir. Mirisetin örneği de benzer anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.05$). Kuersetin ve mirisetin gibi flavonoid yapısında olan bileşiklerde gözlenen bu artış, yapılarındaki çok sayıda hidroksil grubunun, sindirim sonrası daha aktif radikal giderici formlara dönüşebileceğini işaret etmektedir. Kafeik asit, protokatekuik asit ve gallik asit gibi fenolik asitlerin de sindirim sonrası antioksidan aktivitelerinde anlamlı artışlar gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Bu artışlar, özellikle hidroksil grubu sayısı fazla olan fenolik asitlerin de flavonoidlerle benzer şekilde sindirim sonrası biyolojik olarak daha aktif hale geldiğini ortaya koymaktadır. Buna karşılık, vanilik asit, sindirim süreci sonunda başlangıç değerine kıyasla anlamlı düzeyde azalma göstermiştir ($p<0.05$). Bu düşüş, fenolik bileşiğin sindirim ortamındaki pH değişimleri, enzimatik etkiler ya da oksidatif koşullara karşı yeterince stabil olmamasından kaynaklanmış olabilir. Benzer şekilde, p-OH benzoik asit ve *t-sinamik asit* de, sindirim sonrası en düşük antioksidan kapasiteye sahip bileşikler arasında yer almış ve bu bileşiklerin her ikisinde de antioksidan kapasitede istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0.05$). Bu bulgular, söz konusu bileşiklerin sindirim süreci boyunca parçalanarak yapısal bütünlüklerini kaybedebileceğini ya da daha az antioksidan özelliğe sahip metabolitlere dönüşebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, bu bileşiklerin düşük biyoerişilebilirlik göstermesi, potansiyel biyoyararlanımlarının da sınırlı olabileceğine işaret etmektedir. Sonuç olarak, sindirim sonrası kuersetin, mirisetin, kafeik asit, protokatekuik asit ve gallik asit gibi bileşiklerde antioksidan kapasitenin anlamlı şekilde arttığı; p-OH benzoik asit, vanilik asit ve *t-sinamik asit* gibi bileşiklerde ise bu kapasitenin azaldığı belirlenmiştir. Bu durum, fenolik bileşiklerin sindirim süreci boyunca yapısal dönüşümlere uğrayarak antioksidan aktivitelerinde farklılıklar ortaya çıkabileceğini göstermektedir. Ayrıca, bileşiklerin yapısal özelliklerinin (örneğin hidroksil grubu sayısı, aromatik yapı stabilitesi) bu süreçte etkili bir rol oynadığı anlaşılmaktadır.

FRAP analiz sonuçlarına göre, fenolik bileşiklerin indirgeme kapasiteleri kimyasal yapılarıyla doğrudan ilişkilidir; özellikle hidroksil grubu sayısı ve konumu yanı sıra metoksilasyon ya da glikozilasyon gibi modifikasyonların bu kapasiteleri belirgin şekilde

etkilediği gözlemlenmiştir (233,234). Fenolik bileşiklerin indirgeyici gücü onların antioksidan aktiviteleri ile ilişkilidir. FRAP değeri ne kadar yüksekse fenolik bileşenlerin Fe^{3+} indirgeyici kapasiteleri de o kadar yüksektir (235,236). Yüksek FRAP değerlerine sahip saf fenolik bileşiklerin, güçlü elektron verme yetenekleri sayesinde reaktif serbest radikalleri daha stabil ve zararsız formlara dönüştürebilecek potansiyele sahip oldukları bildirilmektedir. Bu çalışma kapsamında elde edilen FRAP sonuçlarına göre, en yüksek indirgeme kapasitesi sırasıyla kafeik asit, kuersetin ve protokatekuik asitte belirlenmiş; mirisetin ise bu bileşiklerle karşılaştırıldığında orta düzeyde bir antioksidan kapasite sergilemiştir (237).

Basit fenolik asitler arasında yer alan *p*-OH benzoik asit ve *t*-sinnamik asit, düşük indirgeme güçleriyle en zayıf antioksidan aktiviteye sahip bileşikler olarak belirlenmiştir. Buna karşın, vanilik asidin orta düzey bir indirgeme kapasitesi sergilediği gözlemlenmiştir. Bu görece yüksek değer, yapısındaki metoksi grubunun elektron yoğunluğunu artırarak molekülün indirgeme kapasitesini desteklemesiyle açıklanabilir. Bu sonuçlar, fenolik bileşiklerin FRAP reaktivitesinin yapısal özelliklerine, özellikle hidroksil ve metoksi gruplarının varlığına bağlı olarak önemli ölçüde değiştiğini göstermektedir (234,237). Fenolik yapı-aktivite ilişkisi açısından, orto-dihidroksi substitüentlere sahip kafeik asit, protokatekuik asit ve kuersetin gibi bileşiklerin daha yüksek antioksidan aktivite göstermesi dikkat çekicidir. Bu sonuç, hidroksil grubu sayısının ve pozisyonunun indirgeme kapasitesi üzerinde belirleyici rol oynadığını desteklemektedir. FRAP testi indirgeme gücünü ölçtüğünden, molekül yapısındaki konjuge sistemler ve elektron bağışlayabilen grupların varlığı daha yüksek ölçüm sonuçlarına yansımaktadır (238-241). Sindirim sonrası FRAP değerlerini incelediğimizde, kuersetinin sindirim sonrası FRAP değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme göstermiştir ($p < 0.05$). Kuersetinin flavonol iskeleti, beş adet serbest hidroksil grubu ve geniş konjuge π -sistemi sayesinde ferrik iyonunu indirgeme kapasitesinin sindirim süreciyle birlikte belirgin biçimde arttığı düşünülmektedir (242,243).

Kafeik asidin sindirim sonrası FRAP değerinde gözlemlenen istatistiksel açıdan anlamlı yükselme orto-dihidroksi yapısı ve konjuge yan zinciri, ferrik iyonlarını indirgeme yeteneğini artırmakta ve sindirim ortamındaki pH değişimleri ile enzimatik reaksiyonların etkisiyle daha reaktif formlara dönüşmesine katkı sağladığı düşünülmektedir (244,245). Protokatekuik asit, mirisetin ve gallik asit de sindirim sonrası önemli artışlar göstermiş olup, bu bileşiklerin fenolik hidroksil grubu sayısının fazla oluşu ve aromatik halkadaki molekül

yapısı ferrik iyon indirgeme yeteneklerini desteklemektedir (237). Gallik asit üç hidroksil grubuna sahip olmasına rağmen aromatik halkadaki çift bağ delokalizasyonu sınırlı olması nedeniyle kafeik asit ve kuersetin kadar yüksek aktivite göstermemiştir (237). Vanilik asit ve *p*-OH benzoik asit ise sindirim sonrası anlamlı bir azalma göstermiştir. Vanilik asidin metoksi grubu nedeniyle serbest hidroksil sayısının azalması ve *p*-OH benzoik asidin tek hidroksil grubuna sahip olması, alkali bağırsak ortamında olası oksidatif bozunmalara bağlı olarak indirgeme kapasitelerinin düşmesine yol açmıştır (246). *t*-sinnamik asit ise aromatik yapısında hidroksil grubu içermemesi nedeniyle hem sindirim öncesi hem de sindirim sonrası FRAP aktivite değerleri düşük bulunmuştur. Aynı zamanda istatistiksel olarak sindirim öncesinde ve sonrasında anlamlı bir değişim göstermemiştir. Bu durum, sindirim sürecinin antioksidan kapasite üzerindeki etkisinin bileşiğe özgü olduğunu ve fenolik bileşiklerin yalnızca kimyasal yapılarına değil, sindirim ortamındaki pH değişimleri, enzimatik hidroliz ve salınım mekanizmalarına bağlı olarak önemli ölçüde değişebileceğini göstermektedir (76,218,247).

HPLC sonuçları incelendiğinde fenolik bileşiklerin *in vitro* sindirim sonrası biyoerişilebilirlikleri farklılık göstermiştir. En yüksek biyoerişilebilirlik, antioksidan aktivite sonuçlarından tamamen farklı olarak en yüksek *trans*-sinnamik asitte (%98,56) gözlemlenmiş olup sindirim sonrasında büyük oranda stabil kaldığı anlaşılmaktadır. Bu durum, *t*-sinnamik asidin gastrointestinal koşullara daha dayanıklı olduğu ve biyoyararlanım açısından daha avantajlı olduğunu göstermektedir. Biyoerişilebilirliği en yüksek ikinci bileşik % 50.51 oranı ile *p*-OH benzoik asit olmuş, ardından protokatekik asit (%44.06) ve vanilik asit (%24.03) onu takip etmiştir. Bu sonuçlar fenolik asit grubu bileşiklerin orta düzeyde stabilite gösterdiğini ve sindirim sonrası belirli bir oranda emilime hazır formda kalabildiklerini düşünülmektedir. Buna karşın FRAP ve DPPH sonuçlarında yüksek antioksidan aktivite gösteren kuersetin (%20.12), gallik asit (%13.98) ve özellikle kafeik asidin (%3.73) biyoerişilebilirliği oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. Bunun sebebinin kuersetin, yapısındaki flavonol iskeleti nedeniyle oksidasyona ve pH değişimlerine duyarlılık gösterebildiği; gallik asit ise üç serbest hidroksil grubu taşımaya rağmen aromatik halkadaki konjuge çift bağ sayısının az olması ve alkali koşullarda meydana gelen bozunmalar nedeniyle sindirim sonrası stabilitesini koruyamamasından kaynaklanmaktadır (98,248,249). Bu çalışmada en düşük biyoerişilebilirlik oranına sahip fenolik bileşik olan kafeik asidin ise sindirim sırasında ciddi bir degradasyona uğradığı düşünülmektedir (250-252).

HPLC sonuçlarında mirisetine rastlanmamış olması, bu bileşiğin sindirim sürecinde ya tamamen parçalandığını ya da kararsız yapısı nedeniyle tespit edilemeyecek düzeylere kadar azaldığını göstermektedir. Flavonoid yapıda olan mirisetin, özellikle oksidatif ve alkali ortam koşullarına karşı oldukça hassas bir bileşiktir (253). Bu nedenle, sindirim sistemi boyunca biyolojik olarak erişilebilir forma dönüşmeden bozunmuş ya da diğer bileşiklerle kompleks oluşturarak serbest formda kalamamış olabileceği düşünülmektedir.

Fenolik bileşiklerin yapısal özellikleri, sindirim sistemi koşullarına karşı gösterdikleri stabilite ve metabolik dönüşüm potansiyelleri biyoerişilebilirlikleri üzerinde belirleyici olmaktadır. Her bir fenolik için gözlemlenen farklılık, besinlerde bulunan fenoliklerin sağlık üzerindeki etkilerini değerlendirirken sadece toplam miktarın değil, aynı zamanda biyoerişilebilirlik oranlarının da dikkate alınması gerektiğini göstermektedir.

Hem DPPH hem de FRAP yöntemlerine göre vanilik asit, *t*-sinnamik asit, *p*-OH benzoik asitte antioksidan aktivitede anlamlı düzeyde azalma, kafeik asit, kuersetin, mirisetin, protokatekuik asit, gallik asitte ise anlamlı düzeyde artış gözlemlenmiştir. Fenolik bileşiklerin sindirim sürecindeki farklı davranışları, yapısal özelliklerine ve sindirim ortamındaki koşullara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Biyoerişilebilirliği yüksek olan bileşiklerin potansiyel biyoyararlanımlarının da yüksek olabileceği göz önünde bulundurulduğunda, bu fenolikler fonksiyonel gıdalar veya nutrasötik formülasyonlar için umut vadeden bileşikler olarak değerlendirilmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Ekor M (2014). The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Front Pharmacol.* 4: 177
2. Alves RR, Rosa IM (2007). Biodiversity, traditional medicine and public health: where do they meet? *J Ethnobiol Ethnomed* 3(1):14.
3. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* May;79(5):727–47.
4. Middleton E, Jr Kandaswami C, & Theoharides TC (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4), 673–751.
5. Bartwal A, Mall, R, Lohani P, Guru, SK and Arora S (2012). Role of Secondary Metabolites and Brassinosteroids in Plant Defense against Environmental Stresses. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32, 216-232.
6. Topçu Ş, Çölgeçen H (2019). Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoreaktörlerde Üretilmesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* , 8 (2), 09–29.
7. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* (London, England), 342(8878), 1007–1011.
8. Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 65(4), 337–353.
9. Middleton E., Jr (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Advances in experimental medicine and biology*, 439, 175–182.
10. Crozier A, Clifford MN, Ashihara H, editors (2006). *Plant Secondary Metabolites*. Wiley; 2006.
11. Ignat I, Volf I, Popa VI (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(4), 1821–1835.
12. Saldamlı İ(2007). *Gıda Kimyası*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları; 1998. 435–438 p.
13. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L(2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 2004 May;79(5):727–47.

14. Vallejo F, Gil-Izquierdo A, Pérez-Vicente A, García-Viguera C (2004). In Vitro Gastrointestinal Digestion Study of Broccoli Inflorescence Phenolic Compounds, Glucosinolates, and Vitamin C. *J Agric Food Chem.* 14;52(1):135–8.
15. Guzman J(2014). Natural Cinnamic Acids, Synthetic Derivatives and Hybrids with Antimicrobial Activity. *Molecules.* 19(12):19292–349.
16. Pokorný J (1991). Natural antioxidants for food use. *Trends Food Sci Technol.* 2(C):223–7.
17. Olthof MR, Katan MB, Hollman PCH (2001). Chlorogenic Acid and Caffeic Acid Are Absorbed in Humans. *J Nutr.* 131(1):66–71.
18. Kolaç T, Gürbüz P, Yetiş G (2017). Phenolic Content And Antioxidant Characteristics Of Natural Products. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 5(1), 26-42.
19. Yusuf Çağlar M, Demirci M, Sabahattin İ, Üniversitesi Z, ve Doğa M, Fakültesi B (2017). Üzümsü Meyvelerde Bulunan Fenolik Bileşikler ve Beslenmedeki Önemi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(11), 18-26.
20. Tanaka T, Tanaka T, Tanaka M (2011). Potential Cancer Chemopreventive Activity of Protocatechuic Acid. *J Exp Clin Med.* 2011 Feb 1;3(1):27–33.
21. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M (1990). Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods Enzymol.* 186(C):343–55.
22. Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F (1999). Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.* 65(4):337–53.
23. García A, Ae L, Guillamón E, Ana AE, Ae V, Rostagno MA (2009). Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society* 58(9): 537–552.
24. Wang L, Lee IM, Zhang SM, Blumberg JB, Buring JE, Sesso HD(2009). Dietary intake of selected flavonols, flavones, and flavonoid-rich foods and risk of cancer in middle-aged and older women. *Am J Clin Nutr.* 89(3):905.
25. Mahomoodally MF, Gurib-Fakim A, Anwar &, Subratty H, Subratty AH (2005). Antimicrobial Activities and Phytochemical Profiles of Endemic Medicinal Plants of Mauritius. *Pharm Biol.* 43(3):237–42.
26. Çapanoğlu Güven E, Toydemir Otkun G, Boyacıoğlu D, Teknik Üniv İ, Fakültesi KM, Mühendisliği Bölümü G(2010). Flavonoidlerin Biyoyararlılığını Etkileyen

- Faktörler Factors Affecting Bioavailability Of Flavonoids. *Derleme / Review Gıda*. 5:387–94.
27. Krishna DR, Narayana KR, Reddy MS, Chaluvadi MR (2001). Educational Forum Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects And Therapeutic Potential. *Indian J Pharmacol*. 33:1
 28. De Pascual-Teresa S, Sánchez-Moreno C, Granado F, De Ancos B (2007). Short and Mid-term Bioavailability of Flavanones From Oranges in Humans. *Current Topics in Nutraceutical Research*. 129–34
 29. Viskupicova J, Ondrejovič M, Sturdik E (2008). Bioavailability and metabolism of flavonoids. *Journal of Food and Nutrition Research* 47(4):151-162
 30. Awad AB, Bradford PG (2006). Nutrition and cancer prevention. 617.
 31. McDougall GJ, Fyffe S, Dobson P, Stewart D (2005). Anthocyanins from red wine – Their stability under simulated gastrointestinal digestion. *Phytochemistry*. 66(21):2540–8.
 32. Ross JA, Kasum CM (2023). Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety 22:19–34.
 33. Aherne, S. A., & O'Brien, N. M. (2002). Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 18(1), 75–81.
 34. Cook N (1996). Flavonoids—Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J Nutr Biochem* 7(2):66–76.
 35. Peterson J, Dwyer J (1998). Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research* 18(12):1995–2018.
 36. Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science*. 196:67–76.
 37. Prabhu KH, Bhute AS (2012). Plant based natural dyes and mordants: A Review. *J Nat Prod Plant Resour* (6):649–64.
 38. Zhou Z, Ying Z, Wu Z, Yang Y, Fu S, Xu W, Yao L, Zeng A, Huang J, Lan S, Wang X, Liu Z (2021). Anthocyanin Genes Involved in the Flower Coloration Mechanisms of *Cymbidium kanran*. *Front Plant Sci* 12:737815.
 40. Vargas D, Paredes López O, Delgado-Vargas F, Paredes-Lopez O. Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses.
 41. Sadowska-Bartos z I, Bartosz G (2024). Antioxidant Activity of Anthocyanins and Anthocyanidins: A Critical Review. *Int J Mol Sci*. 25(22):12001.

42. Séquin M (2021). The chemistry of plants : perfumes, pigments, and poisons. 206.
43. Pojer E, Mattivi F, Johnson D, & Stockley CS (2013). The Case for Anthocyanin Consumption to Promote Human Health: A Review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12(5), 483–508.
44. Meskin MS (2004). *Phytochemicals : mechanisms of action*. CRC Press 203 p.
45. Tena N, Asuero AG (2022). Up-To-Date Analysis of the Extraction Methods for Anthocyanins: Principles of the Techniques, Optimization, Technical Progress, and Industrial Application. *Antioxidants (Basel)* 11(2).
46. Khoo HE, Azlan A, Tang ST, Lim SM (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr Res*. 61(1):1361779.
47. Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández Ma de L, Páez-Hernández MaE, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem*. 113(4):859–71.
48. Clifford MN (2000). Anthocyanins - Nature, occurrence and dietary burden. Vol. 80, *Journal of the Science of Food and Agriculture* p. 1063–72.
49. Lila MA (2004). Anthocyanins and Human Health: An In Vitro Investigative Approach. *J Biomed Biotechnol* (5):306–13.
50. Stintzing FC, Stintzing AS, Carle R, Frei B, Wrolstad RE (2002). Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. *J Agric Food Chem*. 50(21):6172–81.
51. Hoffmann D (2023). *Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine - David Hoffmann*. - Google Books. Library of congress cataloging 37.
52. Justesen U, Knuthsen P, Leth T (1998). Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *J Chromatogr A*. 799(1–2):101–10.
53. Terahara N (2015). Flavonoids in foods: a review. *Nat Prod Commun*. 2015 Mar;10(3):521–8.
54. Kuhnle GGC (2018). Nutrition epidemiology of flavan-3-ols: The known unknowns. *Molecular aspects of medicine*, 61, 2–11.

55. Lei, L., Yang, Y., He, H., Chen, E., Du, L., Dong, J., & Yang, J. (2016). Flavan-3-ols consumption and cancer risk: A meta-analysis of epidemiologic studies. *Oncotarget*, 7(45), 73573–73592.
56. Barreca D, Gattuso G, Bellocco E, Calderaro A, Trombetta D, Smeriglio A (2017). Flavanones: Citrus phytochemical with health-promoting properties. *BioFactors* 43(4):495–506.
57. Ayaz A, Suna G (2019). Turunçgil Flavonoidlerinin Kardiyovasküler Sağlık Üzerine Etkileri. *Beslenme ve Diyet Dergisi* 47(2):99–107.
58. Agrawal AD (2011). Pharmacological Activities of Flavonoids: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology(IJPSN)* 4(2):1394–8.
59. Cseke LJ, Kirakosyan A, Kaufman PB, Warber S, Duke JA, Brielmann HL (2008). Natural Products from Plants. *Natural Products from Plants. Journal of Ethnopharmacology* 110(1):185–186
60. Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat Prod Rep.* 26(8):1001.
61. Peterson J, Dwyer J, Peterson J, Dwyer J. Flavonoids: Dietary Occurrence And Biochemical Activity. *Nutrition Research* 18.
62. Karakaya S (2004). Bioavailability of phenolic compounds. Vol. 44, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.453–64.
63. Kolaç, T., Gürbüz, P., & Yetiş, G. (2017). Doğal Ürünlerin Fenolik İçeriği ve Antioksidan Özellikleri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 5(1), 26-42.
64. Křížová L, Dadáková K, Kašparovská J, Kašparovský T (2019). Isoflavones. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(6), 1076.
65. Ko KP (2014). Isoflavones: Chemistry, Analysis, Functions and Effects on Health and Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 15(17):7001–10.
66. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies 1-3.
67. Deveoğlu O, Karadağ R (2019). A Review on the Flavonoids – A Dye Source. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*. 31(3):188–200.

68. Kumar S, Pandey AK (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal* 2013:162750.
69. Dakora FD, Phillips DA (1996). Diverse functions of isoflavonoids in legumes transcend anti-microbial definitions of phytoalexins. *Physiol Mol Plant Pathol.* 49(1):1–20.
70. Piglionico SS, Pons C, Romieu O, Cuisinier F, Levallois B, Panayotov IV (2023). In vitro, ex vivo, and in vivo models for dental pulp regeneration. *J Mater Sci Mater Med.* 34(4):15.
71. Bibi Sadeer N, Montesano D, Albrizio S, Zengin G, Mahomoodally MF (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety—Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants* 9(8):709.
72. Kotha RR, Tareq FS, Yildiz E, Luthria DL (2022). Oxidative Stress and Antioxidants—A Critical Review on In Vitro Antioxidant Assays. *Antioxidants* 11(12):2388.
73. Lang Y, Gao N, Zang Z, Meng X, Lin Y, Yang S (2024). Classification and antioxidant assays of polyphenols: a review. *Journal of Future Foods* 4(3):193–204.
74. Akal C (2017). Benefits of Whey Proteins on Human Health. *Dairy in Human Health and Disease across the Lifespan* 363–72.
75. Cai Y, Qin W, Ketnawa S, Ogawa Y (2020). Impact of particle size of pulverized citrus peel tissue on changes in antioxidant properties of digested fluids during simulated in vitro digestion. *Food Science and Human Wellness* 9(1):58–63.
76. Minekus M, Alminger M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Funct* 5(6):1113–24.
77. Wickham M, Faulks R, Mills C (2009). In vitro digestion methods for assessing the effect of food structure on allergen breakdown. *Mol Nutr Food Res.* 53(8):952–8.
78. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med.* 29(11):1106–14.
79. Packer Je, Slater Tf, Willson RL (1979). Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature.* 278(5706):737–8.

80. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med.* 29(11):1106–14.
81. Packer Je, Slater Tf, Willson RL (1979). Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature.* 278(5706):737–8.
82. Karabulut G, Yemiş O (2019). Bound Forms of Phenolic Compounds and their Bioavailability. Vol. 17, Akademik Gıda. Sidas Medya A.S. p. 526–37.
83. Pineda-Vadillo C, Nau F, Dubiard CG, Cheynier V, Meudec E, Sanz-Buenhombre M (2016). In vitro digestion of dairy and egg products enriched with grape extracts: Effect of the food matrix on polyphenol bioaccessibility and antioxidant activity. *Food Research International* 88(Part B):284–92.
84. Çelik SE, Özyürek M, Güçlü K, Apak R (2015). Antioxidant capacity of quercetin and its glycosides in the presence of β -cyclodextrins: influence of glycosylation on inclusion complexation. *J Incl Phenom Macrocycl Chem.* 83(3–4):309–19.
85. Zhou M, Hu Q, Wang T, Xue J, Luo Y (2016). Effects of different polysaccharides on the formation of egg yolk LDL complex nanogels for nutrient delivery. *Carbohydr Polym.* 153:336–44.
86. Hensley K, Floyd RA (2002). Reactive Oxygen Species and Protein Oxidation in Aging: A Look Back, A Look Ahead. *Arch Biochem Biophys.* 397(2):377–83.
87. Halliwell, B, Gutteridge JMC (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. In: Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., Eds., *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd Edition, Oxford University Press, Oxford, 1-25.
88. Ali SS, Kasoju N, Luthra A, Singh A, Sharanabasava H, Sahu A(2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International.* 41(1):1–15.
89. Martemucci G, Costagliola C, Mariano M, D'andrea L, Napolitano P, D'Alessandro AG (2022). Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen.* 2(2):48–78.
90. Halliwell B (1999). Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic Res.* 31(4):261–72.
91. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 39(1):44–84.

92. Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO (1979). Oxygen Poisoning and X-irradiation: A Mechanism in Common. *Science* 119(3097):623–6.
93. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 160(1):1–40.
94. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 44(4):275–95.
95. Halliwell B (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans.* 35(5):1147–50.
96. Sies H (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.* 82(2):291-5.
97. Wright JS, Johnson ER, DiLabio GA (2001). Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants. *J Am Chem Soc.* 123(6):1173–83.
98. Zhang H, Tsao R (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Curr Opin Food Sci* 8:33–42.
99. Pisoschi AM, Pop A (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.* 97:55–74.
100. Prior RL, Wu X, Schaich K (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J Agric Food Chem.* 53(10):4290–302.
101. Nawar WW (1986). Volatiles from food irradiation. *Food Reviews International.* 2(1):45–78.
102. Sherwin ER (1978). Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. *J Am Oil Chem Soc.* 55(11):809–14.
103. Gülçin İ, Elias R, Gepdiremen A, Chea A, Topal F (2010). Antioxidant activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania rotunda*: cepharanthine and fangchinoline. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 25(1):44–53.
104. Blois MS (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature.* 181(4617):1199–200.
105. Huang H, Huang G (2020). Extraction, separation, modification, structural characterization, and antioxidant activity of plant polysaccharides. *Chem Biol Drug* 96(5):1209–22.
106. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med.* 20(7):933–56.

107. Cao G, Sofic E, Prior RL (1997). Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-Activity Relationships. *Free Radic Biol Med.* 22(5):749–60.
108. Ketnawa S, Reginio Jr. FC, Thuengtung S, Ogawa Y (2022). Changes in bioactive compounds and antioxidant activity of plant-based foods by gastrointestinal digestion: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 62(17):4684–705.
109. Parada J, Aguilera JM (2007). Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients. *J Food Sci.* 72(2).
110. Gil-Izquierdo A, Gil MI, Ferreres F, Tomás-Barberán FA (2001). In Vitro Availability of Flavonoids and Other Phenolics in Orange Juice. *J Agric Food Chem.* 49(2):1035–41.
111. Li CX, Wang FR, Zhang B, Deng ZY, Li HY (2023). Stability and antioxidant activity of phenolic compounds during in vitro digestion. *J Food Sci.* 88(2):696–716.
112. Vallejo F, Gil-Izquierdo A, Pérez-Vicente A, García-Viguera C (2004). In Vitro Gastrointestinal Digestion Study of Broccoli Inflorescence Phenolic Compounds, Glucosinolates, and Vitamin C. *J Agric Food Chem.* 52(1):135–8.
113. Lucas-Gonzalez R, Navarro-Coves S, Pérez-Álvarez JA, Fernández-López J, Muñoz LA, Viuda-Martos M (2016). Assessment of polyphenolic profile stability and changes in the antioxidant potential of maqui berry (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz) during in vitro gastrointestinal digestion. *Ind Crops Prod* 94:774–82.
114. Boyer J, Brown D, Liu RH (2005). In vitro digestion and lactase treatment influence uptake of quercetin and quercetin glucoside by the Caco-2 cell monolayer. *Nutr J.* 4.
115. Walsh KR, Zhang YC, Vodovotz Y, Schwartz SJ, Failla ML (2003). Stability and bioaccessibility of isoflavones from soy bread during in vitro digestion. *J Agric Food Chem.* 51(16):4603–9.
116. Walsh KR, Zhang YC, Vodovotz Y, Schwartz SJ, Failla ML (2003). Stability and Bioaccessibility of Isoflavones from Soy Bread during In Vitro Digestion. *J Agric Food Chem.* 51(16):4603–9.
117. Li CX, Wang FR, Zhang B, Deng ZY, Li HY (2023). Stability and antioxidant activity of phenolic compounds during in vitro digestion. *J Food Sci.* 88(2):696–716.
118. Amic D, Davidovic-Amic D, Beslo D, Rastija V, Lucic B, Trinajstić N (2007). SAR and QSAR of the Antioxidant Activity of Flavonoids. *Curr Med Chem.* 14(7):827–45.

119. Sang S, Lapsley K, Jeong WS, Lachance PA, Ho CT, Rosen RT (2002). Antioxidative phenolic compounds isolated from almond skins (*Prunus amygdalus* Batsch). *J Agric Food Chem.* 50(8):2459–63.
120. Villaño D, Fernández-Pachón MS, Troncoso AM, García-Parrilla MC (2005). Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites in vitro. *Anal Chim Acta.* 538(1–2):391–8.
121. Lien EJ, Ren S, Bui HH, Wang R (1999). Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radic Biol Med.* 26(3–4):285–94.
122. Salah N, Miller NJ, Paganga G, Tijburg L, Paul Bolwell G, Riceevans C (1995). Polyphenolic Flavanols as Scavengers of Aqueous Phase Radicals and as Chain-Breaking Antioxidants. *Arch Biochem Biophys.* 322(2):339–46.
123. Villaño D, Fernández-Pachón MS, Troncoso AM, García-Parrilla MC (2005). Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites in vitro. *Anal Chim Acta.* 538(1–2):391–8.
124. López M, Martínez F, Del Valle C, Ferrit M, Luque R (2003). Study of phenolic compounds as natural antioxidants by a fluorescence method. *Talanta.* 60(2–3):609–16.
125. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M (1990). Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods Enzymol.* 186(C):343–55.
126. Sichel G, Corsaro C, Scalia M, Di Bilio AJ, Bonomo RP (1991). In vitro scavenger activity of some flavonoids and melanins against O₂–dot. *Free Radic Biol Med.* 11(1):1–8.
127. Özyürek M, Güçlü K, Apak R (2011). The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 30(4):652–64.
128. Brighente IMC, Dias M, Verdi LG, Pizzolatti MG (2007). Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Some Brazilian Species. *Pharm Biol.* 45(2):156–61.
129. Salazar R, Pozos ME, Cordero P, Perez J, Salinas MC, Waksman N (2008). Determination of the Antioxidant Activity of Plants from Northeast Mexico. *Pharm Biol.* 46(3):166–70.
130. Agbor GA, Oben JE, Ngogang JY, Xinxing C, Vinson JA (2005). Antioxidant Capacity of Some Herbs/Spices from Cameroon: A Comparative Study of Two Methods. *J Agric Food Chem.* 53(17):6819–24.

131. Maisuthisakul P, Gordon MH (2009). Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. *Food Chem.* 117(2):332–41.
132. Halliwell B, Zhao K, Whiteman M (2000). The gastrointestinal tract: A major site of antioxidant action. *Free Radic Res.* 33(6):819–30.
133. Saura-Calixto F, Serrano J, Goñi I (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chem.* 101(2):492–501.
134. Carbonell-Capella JM, Buniowska M, Barba FJ, Esteve MJ (2014). Analytical Methods for Determining Bioavailability and Bioaccessibility of Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 13(2):155–71.
135. Rein MJ, Renouf M, Cruz-Hernandez C, Actis-Goretta L, Thakkar SK, da Silva Pinto M (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. *Br J Clin Pharmacol.* 75(3):588–602.
136. Tagliazucchi D, Verzelloni E, Bertolini D, Conte A (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem.* 120(2):599–606.
137. Tagliazucchi D, Verzelloni E, Bertolini D, Conte A (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem.* 120(2):599–606.
138. Kalita P, Chakrabarti S, Bhattacharjee B, Paul S, Dutta PP, Pachua L (2025). Recent progress in improving delivery, bioavailability and bioactivity of polyphenolic compounds through encapsulation: A comprehensive review. *Food Chem.* 490:145087.
139. Valdés L, Cuervo A, Salazar N, Ruas-Madiedo P, Gueimonde M, González S (2015). The relationship between phenolic compounds from diet and microbiota: impact on human health. *Food Funct.* 6(8):2424–39.
140. Ozdal T, Sela DA, Xiao J, Boyacioglu D, Chen F, Capanoglu E (2016). The Reciprocal Interactions between Polyphenols and Gut Microbiota and Effects on Bioaccessibility. *Nutrients.* 8(2):78.
141. McClements DJ, Li F, Xiao H (2015). The Nutraceutical Bioavailability Classification Scheme: Classifying Nutraceuticals According to Factors Limiting their Oral Bioavailability. *Annu Rev Food Sci Technol.* 6(1):299–327.
142. D'Archivio M, Filesi C, Vari R, Scazzocchio B, Masella R (2010). Bioavailability of the Polyphenols: Status and Controversies. *Int J Mol Sci.* 11(4):1321–42.

143. Dima C, Assadpour E, Dima S, Jafari SM (2020). Bioavailability of nutraceuticals: Role of the food matrix, processing conditions, the gastrointestinal tract, and nanodelivery systems. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 19(3):954–94.
144. Ribas-Agustí A, Martín-Belloso O, Soliva-Fortuny R, Elez-Martínez P (2018). Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 58(15):2531–48.
145. Hackman RM, Polagruto JA, Zhu QY, Sun B, Fujii H, Keen CL (2008). Flavanols: Digestion, absorption and bioactivity. *Phytochemistry Reviews* 7: 195–208.
146. Martin KR (2009). Polyphenols as dietary supplements: A double-edged sword. *Nutr Diet Suppl.* 1.
147. Hollman PCH, van Trijp JMP, Buysman MNCP, v.d. Gaag MS, Mengelers MJB, de Vries JHM (1997). Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Lett.* 418(1–2):152–6.
148. Hollman PCH, Bijsman MNCP, van Gameren Y, Cnossen EPJ, de Vries JHM, Katan MB (1999). The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radic Res.* 31(6):569–73.
149. Hollman PCH, Katan MB (1999). Dietary Flavonoids: Intake, Health Effects and Bioavailability. *Food and Chemical Toxicology.* 37(9–10):937–42.
150. Erlund I, Kosonen T, Alfthan G, Mäenpää J, Perttunen K, Kenraali J (2000). Pharmacokinetics of quercetin from quercetin aglycone and rutin in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol.* 56(8):545–53.
151. Denev PN, Kratchanov CG, Ciz M, Lojek A, Kratchanova MG (2012). Bioavailability and Antioxidant Activity of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Polyphenols: *in vitro* and *in vivo* Evidences and Possible Mechanisms of Action: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 11(5):471–89.
152. Cermak R, Durazzo A, Maiani G, Böhm V, Kammerer DR, Carle R (2009). The influence of postharvest processing and storage of foodstuffs on the bioavailability of flavonoids and phenolic acids. *Mol Nutr Food Res.* 53(S2).
153. Bilal Hussain M, Hassan S, Waheed M, Javed A, Adil Farooq M, Tahir A (2019). Bioavailability and Metabolic Pathway of Phenolic Compounds. In: *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds.*

154. Rein MJ, Renouf M, Cruz-Hernandez C, Actis-Goretta L, Thakkar SK, da Silva Pinto M (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. *Br J Clin Pharmacol*. 75(3):588–602.
155. Wood RJ (2005). Bioavailability. *Encyclopedia of Human Nutrition* 195–201.
156. Melse-Boonstra A (2020). Bioavailability of Micronutrients From Nutrient-Dense Whole Foods: Zooming in on Dairy, Vegetables, and Fruits. *Front Nutr*. 7:101.
157. Heaney RP (2001). Factors Influencing the Measurement of Bioavailability, Taking Calcium as a Model. *J Nutr*. 131(4):1344S-1348S.
158. Hedrén E, Diaz V, Svanberg U (2002). Original Communication Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an in vitro digestion method. *Eur J Clin Nutr* 56:425–30
159. Shahidi F, Yeo J (2016). Insoluble-Bound Phenolics in Food. *Molecules* 21(9):1216.
160. Pineda-Vadillo C, Nau F, Dubiard CG, Cheynier V, Meudec E, Sanz-Buenhombre M (2016). In vitro digestion of dairy and egg products enriched with grape extracts: Effect of the food matrix on polyphenol bioaccessibility and antioxidant activity. *Food Research International*. 88:284–92.
161. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 79(5):727–47.
162. Serafini M, Bugianesi R, Maiani G, Valtuena S, De Santis S, Crozier A (2003). Plasma antioxidants from chocolate. *Nature*. 424(6952):1013–1013.
163. Langley-Evans SC (2000). Consumption of black tea elicits an increase in plasma antioxidant potential in humans. *Int J Food Sci Nutr*. 51(5):309–15.
164. Mullen W, Edwards CA, Serafini M, Crozier A (2008). Bioavailability of pelargonidin-3-O-glucoside and its metabolites in humans following the ingestion of strawberries with and without cream. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 713–9.
165. Dupas CJ, Marsset-Baglieri AC, Ordonaud CS, Ducept FMG, Maillard MN (2006). Coffee Antioxidant Properties: Effects of Milk Addition and Processing Conditions. *J Food Sci*. 71(3):S253–8.
166. Sengul H, Surek E, Nilufer-Erdil D (2014). Investigating the effects of food matrix and food components on bioaccessibility of pomegranate (*Punica granatum*) phenolics and anthocyanins using an in-vitro gastrointestinal digestion model. *Food Research International* 62:1069–79.

167. Carbonell-Capella JM, Buniowska M, Barba FJ, Esteve MJ (2014). Analytical Methods for Determining Bioavailability and Bioaccessibility of Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 13(2):155–71.
168. Hidalgo M, Oruna-Concha MJ, Kolida S, Walton GE, Kallithraka S, Spencer JPE (2012). Metabolism of Anthocyanins by Human Gut Microflora and Their Influence on Gut Bacterial Growth. *J Agric Food Chem.* 60(15):3882–90.
169. Yang M, I. Koo S, O. Song W, K. Chun O (2011). Food Matrix Affecting Anthocyanin Bioavailability: Review. *Curr Med Chem.* 18(2):291–300.
170. Passamonti S, Vrhovsek U, Mattivi F (2002). The interaction of anthocyanins with bilitranslocase. *Biochem Biophys Res Commun.* 296(3):631–6.
171. Wiseman H (1999). The bioavailability of non-nutrient plant factors: dietary flavonoids and phyto-oestrogens. *Proceedings of the Nutrition Society* 58(1):139–46.
172. Clifford MN (2004). Diet-Derived Phenols in Plasma and Tissues and their Implications for Health. *Planta Med.* 70(12):1103–14.
173. Gee JM, DuPont MS, Rhodes MJC, Johnson IT (1998). Quercetin Glucosides Interact With the Intestinal Glucose Transport Pathway 11This work was supported by a UK Biotechnology and Biological Sciences Research Council Competitive Strategic Grant. *Free Radic Biol Med.* 25(1):19–25.
174. Piskula MK, Yamakoshi J, Iwai Y (1999). Daidzein and genistein but not their glucosides are absorbed from the rat stomach. *FEBS Lett.* 447(2–3):287–91.
175. Crespy V, Morand C, Besson C, Manach C, Demigne C, Remesy C (2002). Quercetin, but not Its Glycosides, Is Absorbed from the Rat Stomach. *J Agric Food Chem.* 50(3):618–21.
176. Day AJ, Dupont MS, Ridley S, Rhodes M, Rhodes MJ, Morgan MR (1998). Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver β -glucosidase activity. *FEBS Lett* 436(1):71–5.
177. Morand C, Manach C, Crespy V, Remesy C (2000). Quercetin 3-O- β -glucoside is better absorbed than other quercetin forms and is not present in rat plasma. *Free Radic Res.* 33(5):667–76.
178. Hollman P, de Vries J, van Leeuwen S, Mengelers M, Katan M (1995). Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am J Clin Nutr.* 62(6):1276–82.

179. Mullen W, Edwards CA, Crozier A (2006). Absorption, excretion and metabolite profiling of methyl-, glucuronyl-, glucosyl- and sulpho-conjugates of quercetin in human plasma and urine after ingestion of onions. *British Journal of Nutrition* 96(1):107–16.
180. Porrini M, Riso P (2008). Factors influencing the bioavailability of antioxidants in foods: A critical appraisal. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 18(10):647–50.
181. Bermudezsoto M, Tomasbarberan F, Garciaconesa M (2007). Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* gastric and pancreatic digestion. *Food Chem*. 102(3):865–74.
182. Hur SJ, Lim BO, Decker EA, McClements DJ (2011). *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chem*. 125(1):1–12.
183. Minekus M, Alminger M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Funct*. 5(6):1113–24.
184. Zhu Y, Yang S, Huang Y, Huang J, Li Y (2021). Effect of *in vitro* gastrointestinal digestion on phenolic compounds and antioxidant properties of soluble and insoluble dietary fibers derived from hullless barley. *J Food Sci*. 86(2):628–34.
185. José Jara-Palacios M, Gonçalves S, Hernanz D, Heredia FJ, Romano A (2018). Effects of *in vitro* gastrointestinal digestion on phenolic compounds and antioxidant activity of different white winemaking byproducts extracts. *Food Research International* 109:433–9.
186. Neilson AP, Hopf AS, Cooper BR, Pereira MA, Bomser JA, Ferruzzi MG (2007). Catechin Degradation with Concurrent Formation of Homo- and Heterocatechin Dimers during *in Vitro* Digestion. *J Agric Food Chem*. 55(22):8941–9.
187. Hong J, Lu H, Meng X, Ryu JH, Hara Y, Yang CS (2002). Stability, cellular uptake, biotransformation, and efflux of tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate in HT-29 human colon adenocarcinoma cells. *Cancer Res*. 62(24):7241–6.
188. Mochizuki M, Yamazaki S ichi, Kano K, Ikeda T (2002). Kinetic analysis and mechanistic aspects of autoxidation of catechins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 1569(1–3):35–44.
189. Lun Su Y, Leung LK, Huang Y, Chen ZY (2003). Stability of tea theaflavins and catechins. *Food Chem*. 83(2):189–95.

190. Tenore GC, Campiglia P, Giannetti D, Novellino E (2015). Simulated gastrointestinal digestion, intestinal permeation and plasma protein interaction of white, green, and black tea polyphenols. *Food Chem.* 169:320–6.
191. Friedman M, Levin CE, Lee S -U., Kozukue N (2009). Stability of Green Tea Catechins in Commercial Tea Leaves during Storage for 6 Months. *J Food Sci.* 74(2).
192. Viuda-Martos M, Lucas-Gonzalez R, Ballester-Costa C, Pérez-Álvarez JA, Muñoz LA, Fernández-López J (2018). Evaluation of protective effect of different dietary fibers on polyphenolic profile stability of maqui berry (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz) during *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Funct.* 9(1):573–84.
193. Li G, Yan N, Li G (2022). The Effect of In Vitro Gastrointestinal Digestion on the Antioxidants, Antioxidant Activity, and Hypolipidemic Activity of Green Jujube Vinegar. *Foods* 11(11):1647.
194. Mahajan A, Sharma P, Goudar G, Gogoi P, Ananthan R, Kalpuri S (2024). Evaluating the bioaccessibility and antioxidant activity of polyphenols extracted from vegetables by-product. *Food Bioengineering* 3(2):250–65.
195. Liang S, Xu Z, Ruan Y, Niu T, Guo W, Jiang W (2020). Isoquercitrin Attenuates Renal Ischemia/Reperfusion Injury Through Antioxidation, Anti-inflammation, and Antiapoptosis in Mice. *Transplant Proc.* 52(3):1014–9.
196. An F, Yang G, Tian J, Wang S (2012). Antioxidant effects of the orientin and vitexin in *Trollius chinensis* Bunge in D-galactose-aged mice. *Neural Regen Res.* 7(33):2565–75.
197. Plaza M, Pozzo T, Liu J, Gulshan Ara KZ, Turner C, Nordberg Karlsson E (2014). Substituent Effects on in Vitro Antioxidizing Properties, Stability, and Solubility in Flavonoids. *J Agric Food Chem.* 62(15):3321–33.
198. Jakobek L (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chem.* 175:556–67.
199. Pais ACS, Coscueta ER, Pintado MM, Silvestre AJD, Santos SAO (2024). Exploring the bioaccessibility and intestinal absorption of major classes of pure phenolic compounds using in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Heliyon* 10(7):e28894.
200. Li CX, Wang FR, Zhang B, Deng ZY, Li HY (2023). Stability and antioxidant activity of phenolic compounds during in vitro digestion. *J Food Sci.* 88(2):696–716.

201. Xie L, Deng Z, Zhang J, Dong H, Wang W, Xing B (2022). Comparison of Flavonoid O-Glycoside, C-Glycoside and Their Aglycones on Antioxidant Capacity and Metabolism during In Vitro Digestion and In Vivo. *Foods* 11(6):882.
202. Pais ACS, Coscueta ER, Pintado MM, Silvestre AJD, Santos SAO (2024). Exploring the bioaccessibility and intestinal absorption of major classes of pure phenolic compounds using in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Heliyon* 10(7): e28894.
203. Gayoso L, Claerbout AS, Calvo MI, Caverio RY, Astiasarán I, Ansorena D (2016). Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: Influence of the in vitro gastrointestinal digestion models. *J Funct Foods* 26:428–38.
204. Gayoso L, Claerbout AS, Calvo MI, Caverio RY, Astiasarán I, Ansorena D (2016). Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: Influence of the in vitro gastrointestinal digestion models. *J Funct Foods* 26:428–38.
205. Celep E, Charehsaz M, Akyüz S, Acar ET, Yesilada E (2015). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the bioavailability of phenolic components and the antioxidant potentials of some Turkish fruit wines. *Food Research International* 78:209–15.
206. Bermudezsoto M, Tomasbarberan F, Garciaconesa M (2007). Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. *Food Chem.* 102(3):865–74.
207. Chiang YC, Chen CL, Jeng TL, Lin TC, Sung JM (2014). Bioavailability of cranberry bean hydroalcoholic extract and its inhibitory effect against starch hydrolysis following in vitro gastrointestinal digestion. *Food Research International* 64:939–45.
208. Siracusa L, Kulisic-Bilusic T, Politeo O, Krause I, Dejanovic B, Ruberto G (2011). Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Aqueous Infusions from *Capparis spinosa* L. and *Crithmum maritimum* L. before and after Submission to a Two-Step in Vitro Digestion Model. *J Agric Food Chem.* 59(23):12453–9.
209. Costa P, Grevenstuk T, Rosa da Costa AM, Gonçalves S, Romano A (2014). Antioxidant and anti-cholinesterase activities of *Lavandula viridis* L'Hér extracts after in vitro gastrointestinal digestion. *Ind Crops Prod.* 55:83–9.
210. Gil-Izquierdo A, Zafrilla P, Tomás-Barberán FA (2002). An in vitro method to simulate phenolic compound release from the food matrix in the gastrointestinal tract. *European Food Research and Technology* 214(2):155–9.

211. Kamiloglu S, Capanoglu E, Bilen FD, Gonzales GB, Grootaert C, Van de Wiele T (2016). Bioaccessibility of Polyphenols from Plant-Processing Byproducts of Black Carrot (*Daucus carota* L.). *J Agric Food Chem*. 64(12):2450–8.
212. Tagliazucchi D, Verzelloni E, Bertolini D, Conte A (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem*. 120(2):599–606.
213. D’Antuono I, Garbetta A, Linsalata V, Minervini F, Cardinali A (2015). Polyphenols from artichoke heads (*Cynara cardunculus* (L.) subsp. *scolymus* Hayek): in vitro bio-accessibility, intestinal uptake and bioavailability. *Food Funct*. 6(4):1268–77.
214. Minekus M, Alminger M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Funct*. 5(6):1113–24.
215. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology* 28(1):25–30.
216. Akkaya Ş, Korkmaz N, Sener SO, Badem M, Özgen U, Karaoğlu ŞA, Alıyazıcıoğlu R (2017). *Onobrychis Oxyodonta*'nın Topraküstü Kısımında Antioksidan, Antimikrobiyal ve Tirozinaz İnhibitör Aktivitesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi* 31(1): 25 - 31.
217. Büyüktuncel E (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan baslica spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutcal Journal*. 2(17):93–103.
218. Ozkan G, Franco P, De Marco I, Capanoglu E, Esatbeyoglu T (2022). Investigating the effects of supercritical antisolvent process and food models on antioxidant capacity, bioaccessibility and transepithelial transport of quercetin and rutin. *Food Funct*. 13(8):4469–77.
219. Kara Y, Birinci C (2024). Usability of the phenolic profile analysis method developed in RP-HPLC-PDA in natural products. *Journal of Apitherapy and Nature* 7(1):14–27.
220. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology* 28(1):25–30.
221. Benzie IFF, Strain JJ (2025). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Anal Biochem* 239(1):70–6.
222. Apak R, Özyürek M, Güçlü K, Çapanoğlu E(2016). Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *J Agric Food Chem*. 64(5):997–1027.

223. Pereira DM, Valentão P, Pereira JA, Andrade PB (2009). Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules* 14(6):2202–11.
224. Razzaghi-Asl N, Garrido J, Khazraei H, Borges F, Firuzi O (2013). Antioxidant Properties of Hydroxycinnamic Acids: A Review of Structure- Activity Relationships. *Curr Med Chem.* 20(36):4436–50.
225. Parcheta M, Świsłocka R, Orzechowska S, Akimowicz M, Choińska R, Lewandowski W (2021). Recent Developments in Effective Antioxidants: The Structure and Antioxidant Properties. *Materials* 14(8):1984.
226. Shahidi F, Ambigaipalan P (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *J Funct Foods* 18:820–97.
227. Villaño D, Fernández-Pachón MS, Moyá ML, Troncoso AM, García-Parrilla MC (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* 71(1):230–5.
228. Khoddami A, Wilkes M, Roberts T (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules* 18(2):2328–75.
229. Apak R, Özyürek M, Güçlü K, Çapanoğlu E (2016). Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer - Based Assays. *J Agric Food Chem.* 64(5):997–1027.
230. Shahidi F, Ambigaipalan P (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *J Funct Foods* 18:820–97.
231. Pietta PG (2000). Flavonoids as Antioxidants. *J Nat Prod.* 63(7):1035–42.
232. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med.* 20(7):933–56.
233. Spiegel M, Kapusta K, Kołodziejczyk W, Saloni J, Żbikowska B, Hill GA (2020). Antioxidant Activity of Selected Phenolic Acids–Ferric Reducing Antioxidant Power Assay and QSAR Analysis of the Structural Features. *Molecules* 25(13):3088.
234. Dudonné S, Vitrac X, Coutière P, Woillez M, Mérillon JM (2009). Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *J Agric Food Chem.* 57(5):1768–74.

235. Benzie IFF, Strain JJ (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Anal Biochem.* 239(1):70–6.
236. Apak R, Özyürek M, Güçlü K, Çapanoğlu E (2016). Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *J Agric Food Chem.* 64(5):997–1027.
237. Chen J, Yang J, Ma L, Li J, Shahzad N, Kim CK (2020). Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Sci Rep.* 10(1):2611.
238. Shahidi F, Ambigaipalan P (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *J Funct Foods* 18:820–97.
239. Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouységu L (2011). Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition.* 50(3):586–621.
240. Khoddami A, Wilkes M, Roberts T (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules* 18(2):2328–75.
241. Apak R, Özyürek M, Güçlü K, Çapanoğlu E (2016). Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *J Agric Food Chem.* 64(5):997–1027.
242. Li CX, Wang FR, Zhang B, Deng ZY, Li HY (2023). Stability and antioxidant activity of phenolic compounds during in vitro digestion. *J Food Sci.* 88(2):696–716.
243. Chen J, Yang J, Ma L, Li J, Shahzad N, Kim CK (2020). Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Sci Rep.* 10(1):2611.
244. Li CX, Wang FR, Zhang B, Deng ZY, Li HY (2023). Stability and antioxidant activity of phenolic compounds during in vitro digestion. *J Food Sci.*;88(2):696–716.
245. Hur SJ, Lim BO, Decker EA, McClements DJ (2011). In vitro human digestion models for food applications. *Food Chem.* 125(1):1–12.
246. Jakobek L (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chem.* 175:556–67.
247. Sessa M, Tsao R, Liu R, Ferrari G, Donsì F (2011). Evaluation of the Stability and Antioxidant Activity of Nanoencapsulated Resveratrol during in Vitro Digestion. *J Agric Food Chem.* 59(23):12352–60.

248. Pais ACS, Coscueta ER, Pintado MM, Silvestre AJD, Santos SAO (2024). Exploring the bioaccessibility and intestinal absorption of major classes of pure phenolic compounds using in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Heliyon*. 10(7):e28894.
249. Wanyo P, Chamsai T, Toontom N, Nghiep LK, Tudpor K (2024). Differential Effects of In Vitro Simulated Digestion on Antioxidant Activity and Bioaccessibility of Phenolic Compounds in Purple Rice Bran Extracts. *Molecules* 29(13):2994.
250. Pinto D, Ferreira A, Lozano-Castellón J, Laveriano-Santos E, Lamuela-Raventós R, Vallverdú-Queralt A (2023). Exploring the Impact of In Vitro Gastrointestinal Digestion in the Bioaccessibility of Phenolic-Rich Chestnut Shells: A Preliminary Study. *Separations* 10(9):471.
251. Gayoso L, Claerbout AS, Calvo MI, Caverio RY, Astiasarán I, Ansorena D (2016). Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: Influence of the in vitro gastrointestinal digestion models. *J Funct Foods* 26:428–38.
252. Sánchez-Velázquez OA, Mulero M, Cuevas-Rodríguez EO, Mondor M, Arcand Y, Hernández-Álvarez AJ (2021). *In vitro* gastrointestinal digestion impact on stability, bioaccessibility and antioxidant activity of polyphenols from wild and commercial blackberries (*Rubus* spp.). *Food Funct*. 12(16):7358–78.
253. Nichenametla SN, Taruscio TG, Barney DL, Exon JH (2006). A Review of the Effects and Mechanisms of Polyphenolics in Cancer. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 46(2):161–83.
254. Palafox-Carlos H, Ayala-Zavala JF, & González-Aguilar GA (2011). The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science* 76(1), R6–R15.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Hatice Nur TURAN

Uyruğu : T.C.

Doğum Tarihi :

E-Posta :

Telefon

Yazışma Adresi (İş)

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Selçuk Üniversitesi	2018
Lise	Anadolu Öğretmen Lisesi	2013

YABANCI DİL

İngilizce