

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NARDA BULUNAN ANTOSİYANİNLERİN BİYİYARARLILIĞINA GIDA
MATRİSİ VE BİLEŞENLERİNİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Hafizenur ŞENGÜL
(506101508)**

Gıda Mühendisliği Bölümü

Gıda Mühendisliği Programı

OCAK 2013

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NARDA BULUNAN ANTOSİYANİNLERİN BİYİYARARLILIĞINA GIDA
MATRİSİ VE BİLEŞENLERİNİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Hafizenur ŞENGÜL
(506101508)**

Gıda Mühendisliği Bölümü

Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Yard. Doç. Dr. Dilara NİLÜFER ERDİL

OCAK 2013

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506101508 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Hafizenur ŞENGÜL** ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**Narda Bulunan Antosiyaninlerin Biyoyararlılığına Gıda Matrisi Ve Bileşenlerinin Etkisi**”başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Yard. Doç. Dr. Dilara NİLÜFER ERDİL**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Yard. Doç. Dr. Neşe Şahin YEŞİLÇUBUK
İstanbul Teknik Üniversitesi

Teslim Tarihi : **17 Aralık 2012**
Savunma Tarihi : **23 Ocak 2013**

Aileme,

ÖNSÖZ

İlk olarak, sadece danışmanım olarak değil, her konuda desteğini ve güvenini hissettirdiği için değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Dilara NİLÜFER ERDİL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bütün destekleri için Sayın hocam Prof. Dr. Dilek BOYACIOĞLU'na, bizi çalışmalarımızın her anında sabırla dinleyen hocam Yrd. Doç. Dr. Esra ÇAPANOĞLU GÜVEN'e teşekkür ederim. Finansal destekleri için de AB kapsamındaki 7. Proje çalışması, ATHENA (Anthocyanin and Polyphenol Bioactives for Health Enhancement through Nutritional Advancement) projesine teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında beni sabırla dinleyen canım arkadaşım Ece SÜREK'e, çalışmalarımı daha zevkli hale gelmesini sağlayan Betül YEŞİLTAŞ, Özlem ÖZMEN, Fatma CEBECİ, Tayfun YAMAN, Ümit ALTUNTAŞ, Merve AKSU ve daha adını busatırlarda yazamadığım bütün arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen kardeşim Mehmet ŞENGÜL'e teşekkür ederim.

Son olarak, tez çalışmamın her anında beni hoşgörü ile karşılayan, sadece yüksek lisans değil bütün öğrenim hayatımca maddi ve manevi destekleri ile her şeyin üstesinden gelmemi sağlayan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2012

Hafizenur ŞENGÜL
Gıda Mühendisi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
SUMMARY	xx
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	5
2.1 Nar	5
2.1.1 Narın kısımları ve kompozisyonu.....	6
2.1.2 Narda yapılan ürünler	6
2.2 Nar Tüketimi Ve Üretimi	7
2.2.1 Dünyadaki nar tüketimi	7
2.2.2 Türkiye'deki nar üretimi ve tüketimi	8
2.3 Narın Sağlık Üzerine Etkileri.....	11
2.4 Narın Fenolik Bileşenleri Ve Antioksidan Potansiyeli.....	13
2.4.1 Fenolik bileşenleri.....	13
2.4.2 Antosiyaninleri.....	14
2.4.3 Antioksidan aktivite.....	15
2.5 Biyoyararlılık.....	16
2.5.1 Tanım ve metotlar.....	16
2.5.2 Narın biyoyararlılığı.....	20
2.5.3 Antosiyaninlerin ve fenolik asitlerin biyoyararlılığı.....	21
2.5.4 Biyoyararlılığa matris etkisi.....	24
2.6 Gıdaların Sindirimi.....	26
2.6.1 Karbonhidratların sindirimi.....	27
2.6.2 Yağların sindirimi.....	28
2.6.3 Proteinlerin sindirimi.....	29
2.6.4 Diğer Bileşenlerin sindirimi.....	30
3. MALZEMELER VE YÖNTEMLER.....	33
3.1 Malzemeler.....	33
3.2 Kimyasallar	33
3.3 Yöntemler.....	34
3.3.1 Diğer gıdaların ve gıda bileşenlerinin hazırlanması	35
3.3.2 Nar meyvesinin hazırlanması.....	35
3.3.3 Ekstraksiyon.....	35
3.3.4 Standartların hazırlanması.....	36
3.3.5 Potansiyel biyoyararlılığı belirlemek için in vitro sindirim metodu.....	36
3.3.6 Spektrofotometrik analizler.....	39
3.3.6.1 Toplam fenolik madde tayini	39

3.3.6.2 Toplam antosiyanin miktarı tayini	40
3.3.7 Fenolik madde ve antosiyanin profilinin HPLC-PDA ile belirlenmesi	41
3.4 İstatiksel Analizler.....	42
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	43
4.1 Nar Meyvesinde Analizler.....	43
4.1.1 Toplam fenolik madde miktarı	43
4.1.2 Toplam antosiyanin miktarı	45
4.1.3 Fenolik madde profili	47
4.1.4 Antosiyanin profili sonuçları.....	48
4.2 Narın Biyoyararlılığı Üzerine Çeşitli Gıdalarla Birlikte Tüketim Durumunda Biyoyararlılığa Matris Etkisinin İncelenmesi.....	51
4.2.1 Toplam fenolik madde miktarı	51
4.2.2 Toplam antosiyanin miktarı	54
4.2.3 Fenolik madde profili	56
4.2.4 Antosiyanin profili sonuçları.....	60
4.3 Narın Biyoyararlılığına Çeşitli Bileşenleri ile Tüketim Durumunda Matris Etkilerinin İncelenmesi.....	63
4.3.1 Toplam fenolik madde miktarı	63
4.3.2 Toplam antosiyanin miktarı	66
4.3.3 Fenolik madde profili	69
4.3.4 Antosiyanin profili sonuçları.....	74
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	79
KAYNAKLAR.....	83
EKLER.....	93
ÖZGEÇMİŞ.....	97

KISALTMALAR

TUIK	: Türkiye İstatistik Kurumu
HPLC	:Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
ANOVA	: Varyans Analizi
Cyn-3-gly	: Cyandin-3-glukozit
KA	: Kafeik asit
GA	: Gallik asit
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GAE	:Gallik asit eşdeğerliği
GI	:Gastrointestinal (Mide-bağırsak sistemi)
MW	: Molekül Ağırlığı
Kumarik Asit	:P-Kumarik asit
TPA	:Toplam Fenolik Asit
SPSS	:Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi
α	:alfa
β	:beta

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Dünyada nar yetiştiriciliği	8
Çizelge 2.2 : 2004-2008 yılları arasında Türkiye’de nar toplam alanı, üretim, verim ve ağaç sayılarındaki değişimler.....	9
Çizelge 2.3 : 2005-2009 yılları Türkiye Nar ihracatı ve değeri.....	10
Çizelge 2.4 : Meyve suyuna işlenen başlıca nar meyvesinin üretimi (bin ton)	10
Çizelge 2.5 : Meyvelerde bulunan antosiyaninler	15
Çizelge 4.1 : Nar ekstraktları ve <i>in vitro</i> sindirim metodu uygulananan nar örneklerinin toplam fenolik madde miktarları ve bağıl dağılımları	44
Çizelge 4.2 : Nar ekstraktları ve <i>in vitro</i> sindirim metodu uygulananan nar örneklerinin toplam antosiyanin miktarları ve bağıl dağılımları	46
Çizelge 4.3 : Nar ekstraktları ve <i>in vitro</i> sindirim metodu uygulananan nar örneklerinin fenolik madde miktarları ve dağılımları	48
Çizelge 4.4 : Nar ekstraktları ve <i>in vitro</i> sindirim metodu uygulananan nar örneklerinin antosiyanin miktarları ve dağılımları	49
Çizelge 4.5 : Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi sonrası toplam fenolik madde miktarındaki değişimler	53
Çizelge 4.6 : Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi sonrası fenolik madde profilindeki değişimler	57
Çizelge 4.7 : Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi sonrası antosiyanin profilindeki değişimler.....	61
Çizelge 4.8 : Nar meyvesinin gıda bileşenleri ile birlikte tüketilmesi sonrası toplam fenolik madde miktarındaki değişimler	64
Çizelge 4.9 : Nar meyvesinin gıda bileşenleri ile birlikte tüketilmesi sonrası toplam antosiyanin miktarının kıyaslanması	70
Çizelge 4.10 : Nar meyvesinin gıda bileşenleri ile birlikte tüketilmesi sonrası antosiyanin profilinin belirlenmesi	75

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Biyoyararlılığı etkileyen faktörler.....	19
Şekil 3.1 : Potansiyel biyoyararlılık in vitro sindirim metodu.....	37
Şekil 4.1 : Su ile hazırlanan gallik asit standart kalibrasyon grafiği	43
Şekil 4.2 : Su ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon grafiği	52
Şekil 4.3 : Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi sonrası PG, OUT ve IN fraksiyonlarında toplam antosiyanin miktarının kıyaslanması	55
Şekil 4.4 : Su ile hazırlanan gallik asit kalibrasyon grafiği	63
Şekil 4.5 : Nar meyvesinin gıda bileşenleri ile birlikte tüketilmesi sonrası PG, OUT ve IN fraksiyonlarında toplam antosiyanin miktarının kıyaslanması	67
Şekil A.1 : Su gallik asit kalibrasyon grafiği.....	94
Şekil A.2 : Su gallik asit kalibrasyon grafiği.....	94
Şekil A.3 : Su gallik asit kalibrasyon grafiği.....	94
Şekil B.1 : HPLC için gallik asit kalibrasyon grafiği.....	945
Şekil B.2 : HPLC için ferulik asit kalibrasyon grafiği.....	945
Şekil B.3 : HPLC için kateşin kalibrasyon grafiği.....	945
Şekil B.4 : HPLC için siyandin-3-O-glukozit kalibrasyon grafiği.....	945
Şekil B.5 : HPLC için delfinidin 3,5 di-O-glukozit kalibrasyon grafiği.....	946
Şekil B.6 : HPLC için pelargonidin 3,5 di-O-glukozit kalibrasyon grafiği.....	946

NARDA BULUNAN ANTOSİYANİNLERİN BİYİYARARLILIĞINA GIDA MATRİSİ VE BİLEŞENLERİNİN ETKİSİ

ÖZET

Son yıllarda yaşam koşullarına, teknolojiye ve beslenme şekillerine bağlı olarak oluşan stres faktörleri; serbest radikallerin artmasına, özellikle kanser olmak üzere birçok hastalığın hızlı bir şekilde ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu nedenle doku ve hücrelerde serbest radikaller ve antioksidan maddeler arasındaki dengenin sağlanabilmesi amacıyla gıdalara dışarıdan selenyum, E vitamini, alfa tokoferol, karnitin, arı sütü, elajik asit, nar çekirdeği ve nar suyunun da içinde olduğu birçok antioksidan özellikte maddelerin katılması yoluna gidilmektedir. Nar (*Punica granatum*), zengin antioksidan potansiyeli ve fenolik içeriği nedeniyle sağlık açısından önemli bir meyvedir. Narın içerdiği önemli fenolik bileşenler; antosiyaninler, flavonol glikozitleri, prosiyanidinler, ellajik asit ve türevleridir. Yüksek antioksidan kapasitesi tanenler, flavonoidler ve antosiyaninler gibi değerli fenolik bileşenleri içermesi nedeniyledir. Fenolik bileşenler ve polifenoller antioksidan aktiviteleri nedeniyle önemli antitumöjenik ve antikanserojenik özelliklere sahip olup kalp ve damar hastalıklarına karşı da koruyucu etkilere sahiptir. Fenolik madde miktarı yüksek gıdaların hangi formülasyonlarla ve nasıl tüketilmesi gerektiği konusunda çalışmalar giderek artmaktadır.

Besinlerin biyolojik etkileri, biyoyararlılıklarıyla yakından ilişkilidir. Biyoyararlılık; alınan besinin normal fizyolojik fonksiyonlarda kullanmak ve depolamak için erişebilir durumdaki kısmıdır. Sonuç olarak, bir gıda veya besin desteğinin içerisinde incelenen besin ögesinin ne kadar bulunduğundan çok ne kadar biyoyararlılığı olduğu daha önemlidir. Fenolik bileşenler yapılarındaki farklılıklara, etkileşimlere ve çözünürlüklerine bağlı olarak farklı biyoyararlılık davranışları gösterirler. Gıda kaynaklı flavonoidlerin emilimi ile ilgili olarak üzerinde durulması gereken önemli bir konu bu maddelerin birlikte tüketildikleri gıda matrisinden nasıl etkilendiğidir.

Literatürde narın yüksek fenolik madde içeriğiyle ilgili bir çok çalışmaya rastlanmaktadır, bunun yanı sıra diğer fenolik gıdalarla yapılan *in vitro* çalışmalar da yer almaktadır. *In vivo* çalışmaların daha karışık, yüksek maliyetli, ahlaki ve etik sorunları gündeme getirmeleri, insan veya hayvan vücudundaki değişimlerden etkilenmeleri sebebiyle *in vitro* çalışmalar tercih edilmektedir. *In vitro* çalışmalar araştırmacıya basitlik, kolay uygulanabilirlik ve düşük maliyet gibi avantajlar sunmaktadır. Bu çalışmanın temel amacı, narda bulunan fenolik bileşenlerin ve antosiyaninlerin gıda bileşenleri ve diğer gıda maddeleriyle birlikte sindirimi sonrasında biyoyararlılıklarındaki değişimleri *in vitro* sindirim metodu yardımıyla belirlemek amaçlanmıştır.

Narda bulunan fenolik maddelerin ve antosiyaninlerin potansiyel biyoyararlılığı üzerine günlük tüketilen gıdaların etkisini araştırmak amacıyla gıda bileşenleri ve gıda matrislerinden oluşan bir model sistem geliştirilmiştir. Gıda matrisinde, bitkisel yağ, (%0.1) yağsız süt, yağsız pişmiş et, ekmek, yağsız yoğurt (%0.15), probiyotik

yoğurt, elma, limon suyu, bal, soya sütü, krema ve soya fasulyesi ile nar taneleri model sistem olarak kullanılmıştır. Gıda bileşenleri olarak da; buğday proteini, süt proteini, et proteini, laktoz, fruktoz, galaktoz, glukoz, tuz, C vitamini, nişasta, pişmiş nişasta, E vitamini, linoleik asit, selüloz, sitrik asit ve pektin kullanılmıştır. Nar ile gıda maddeleri ve bileşenlerine *in vitro* sindirim metodu uygulanarak, toplam fenolik madde analizi, toplam antosiyanin madde analizi yapılmış, fenolik madde profili ve antosiyanin madde profili HPLC-PDA ile belirlenmiştir.

Toplam fenolik madde miktarı Folin Ciocalteu yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Toplam antosiyanin miktarı ise pH diferansiyel metodu olarak bilinen toplam antosiyanin metodu ile ölçülmüştür ve mg syn-3-glu/100 g yenilebilir meyve cinsinden verilmiştir.

Narlar tanelerine ayrılarak öğütülmüştür. Diğer gıdalarla ve bileşenlerle belirli oranlarda karıştırılarak model sistemler oluşturulmuş ve biyoyararlılığın tespiti için *in vitro* sindirim metodu uygulanmıştır. Bu kapsamda; enzimler kullanılarak sindirim benzetimi yapılmış, absorplama ise diyaliz poşeti kullanılarak taklit edilmiştir. Mide ve pankreatik sindirim sırasında oluşan antosiyanin ve fenolik madde dönüşümleri araştırılmıştır. Böylelikle antosiyanin içeren gıdaların tüketimleri sırasında ve diğer gıdalarla birlikte tüketimleri durumunda antosiyanin miktarlarındaki değişimler belirlenmiştir. Narın tek başına *in vitro* sindirim metodu uygulanmış hali ise kontrol olarak analizlenmiştir.

Bu yöntem McDougall ve diğ. (2005) kullandığı metottan uyarlanmıştır. Bu yöntem, iki basamaktan oluşmaktadır. Mide sindirimini taklit etmek amacıyla pepsin/HCl sindirimi 37 °C'de 2 saat, bunu takiben ince bağırsaktaki sindirimi taklit etmek amacıyla, 37 °C'de 2 saat, safra tuzu/pankreatin ilavesi ile taklit edilmiştir. Örnekler, IN ve OUT fraksiyonlarını içeren *in vitro* sindirim metodundan alınmıştır. IN örnekleri, kana geçen kısımdakini temsil etmektedir. OUT örnekleri ise, mide-bağırsak sindirimi sonrasında, kalan maddeyi temsil etmektedir. Her iki fraksiyon, antosiyanin ve fenolik madde profillerinin, yanısıra, toplam fenolik ve toplam antosiyanin belirlemek için analizlenmiştir.

Analiz sonuçlarının tümü istatistiksel olarak Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi (SPSS) 16.0 versiyonu yazılımı yardımı ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA), uygulanması sonrasında Duncan Yeni Çoklu Aralık Testi ile 0.05 önem derecesinde değerlendirilmiştir. Sonuçlar, mg eş değerleri/100 g yenilebilir meyve olarak belirtilmiştir. Her bir analiz her örnek için üç kez tekrarlanmış ve sonuçlar ortalama değer $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Bu çalışma sonucunda, nar tanelerinde bulunan fenolik bileşiklerin mide sindirimi sırasında stabil bir yapıda olduğu görülmüştür. Ekstraksiyon sonuçlarıyla kıyaslandığında, gastrik durumda biyoyararlılığın arttığı görülmektedir. Fenolik bileşiklerin çoğunluğu (%75) kolonda (OUT) ve daha az miktarı (%14) kana geçen kısımda (IN) bulunmaktadır. Antosiyaninlerin fenolik bileşikliklerle kıyaslandığında daha düşük biyoyararlılıklarının olduğu bulunmuştur.

Nardaki fenolik bileşenler (gallik asit, kateşin, kuersetin-3- β -D-glukozit, kuersetin-3-galaktozit, ferulik asit, neoklorojenik asit, kafeik asit ve p-koumarik asit) ve antosiyaninler (siyanidin 3-O-glukozit, siyanidin 3,5-di-O-glukozit, delfinidin 3-O-glukozit, delfinidin 3,5-di-O-glukozit, pelargonidin 3-O-glukozit ve pelargonidin 3,5-di-O-glukozit) olarak bulunmuştur. Bu fenolik bileşenlerden gallik asit, kateşin, ferulik asit, kafeik asit yüksek miktarda bulunmaktadır ve kıyaslamalar bu fenolik bileşenler arasında yapılmıştır. Önemli antosiyaninler ise, delfinidin 3-5-O diglikozit,

siyanidin 3,5-di-O-glukozit, pelargonidin 3,5-di-O-glukozit, pelargonidin 3,5-di-O-glukozit olarak belirlenmiştir.

Diğer gıdalarda tüketildiği durumlarda; nardaki fenolik bileşenleri biyoyararlılığının proteinli gıdaların (et, süt, ekmek, yoğurt, probiyotik yoğurt, soya sütü) ve kremanın varlığı ile azaldığı görülmektedir. Soya fasulyesi kana geçen (IN) fraksiyonda artışa neden olurken ve elma kolona geçen (OUT) kısmında artışa neden olmuştur. Bitkisel yağ ve limon varlığı ise fenolik madde biyoyararlılığını değiştirmemiştir.

Diğer gıdalarla birlikte sindirimleri sırasında nardaki antosiyanin biyoyararlılığı incelendiğinde; diğer gıdalarla tüketimde mide sindirimi sırasında (PG) ve OUT fraksiyonunda (kolona geçen kısım) kontrole göre önemli bir farklılık görülmemiştir. Ancak kana geçen fraksiyonda (IN); et, soya sütü ve kremanın antosiyanin biyoyararlılığına azaltıcı etkileri olduğu görülmüştür.

Gıda bileşenleri ile etkileşimler incelendiğinde; tuz, sitrik asit, selüloz, C vitamini, laktoz, nişasta ve pişmiş nişastanın tüm fraksiyonlarda fenolik bileşenleri azaltıcı etkileri olmuştur. Galaktozun biyoyararlılığa belirgin bir etkisi yoktur. Kana geçen kısımda (IN) soya proteini ve süt proteininin olumlu etkisi olmuştur. Buğday protein ise kolona geçen kısımda (OUT) olumlu etki sağlamıştır. Soya, et ve süt proteinleri PG ve OUT fraksiyonlarında olumsuz etki yapmışlardır. Stearik asit, linoleik asit, glukoz ve pektin PG ve OUT fraksiyonlarında etkisiz olurken IN fraksiyonunda azalmaya neden olmuşlardır. Fruktoz ve E vitamini OUT fraksiyonunda etkisiz olurken PG ve IN fraksiyonlarında azalmaya sebep olmuştur.

Antosiyaninlerinin gıda bileşenleri ile etkileşimleri incelendiğinde; fenolik bileşenlere kıyasla farklılaşmaların daha belirgin olduğu görülmüştür. Soya, süt, buğday ve et proteinlerinin antosiyanin biyoyararlılığını tüm fraksiyonlarda önemli miktarlarda azaltıcı etkileri görülmüştür. Galaktoz, fruktoz, glukoz, pektin, E vitamini, sitrik asit ve tuzun PG fraksiyonunda etkileri olumlu olmuştur. IN fraksiyonunda ise stearik asit, galaktoz, laktoz ve fruktoz kontrole göre önemli bir etki yaratmazken, diğer tüm bileşenler azalmaya neden olmuştur. OUT fraksiyonunda tuz en yüksek değeri verirken, glukoz, pektin, C vitamini ve sitrik asit kontrol ile aynı etkiyi sağlamış ancak diğer bileşenler azaltıcı etki sağlamışlardır.

Antosiyanince zengin nar içeren bir ürün geliştirilirken veya tüketilirken protein içeriğinin ve C vitamininin yüksek olmamasına dikkat edilmeli, biyoyararlılık üzerine şeker ve yağ içeriklerinin olumsuz bir etkisi olmadığı bilinmelidir.

EFFECTS OF FOOD MATRIX AND FOOD COMPONENTS ON BIOAVAILABILITY OF ANTHOCYANINS IN POMEGRANATE

SUMMARY

In recent years, stress factors, that are caused by technology, living conditions and nutritional habits, tend to increase free radicals which rapidly result in various diseases, especially cancer. For that reason, selenium, vitamin E, alpha tocopherol, carnitine, royal jelly, ellagic acid, and many others including pomegranate seed and pomegranate juice are added to foods in order to balance free radicals and antioxidants in tissues. Pomegranate (*Punica granatum*) is an important fruit due to its high antioxidant potential and phenolic content. The important phenolic compounds in pomegranate are anthocyanins, flavonol glycosides, procyanidins, phenolic acids such as ellagic acid and its derivatives. The reason for its high antioxidant capacity is existence of significant phenolic compounds such as tannins, flavonoids and anthocyanins. Phenolic compounds and polyphenols have important antimutagenic and anticarcinogenic properties due to their antioxidant activity. Moreover, they have protective effects against cardiovascular diseases. Studies about formulating and the way of consuming high in phenolics food products gradually increase.

Biologic effect of food are closely related with its bioavailability. Bioavailability is reachable fraction of food taken, for storing or using in physiological functions. Therefore, bioavailability of compound in food is more important rather than the quantity of that compound. Phenolic compounds show different bioavailabilities depending on their difference in structure, interactions and solubility. For the absorption of food based flavonoids the way they are affected from the consumed matrix is an important fact.

In the literature there are a lot of studies regarding high phenolic compounds found in pomegranate. Also there are *in vitro* bioavailability studies which are applied to other foods rich in phenolics. *In vivo* studies are much more complicated. They are affected by shifts in human or animal body. They cost higher and bring up the moral and ethical issues. That's why *in vitro* studies are preferred to *in vivo* studies. *In vitro* studies offer advantages as simplicity, ease of application and low cost to the investigator. The main purpose of this study is to determine the changes after the digestion of phenolic compounds and anthocyanins found in pomegranate along with other food components.

Model systems consisting of other food matrices and food components were developed to investigate the matrix effect of the daily consumed food on pomegranate phenolic and anthocyanin bioavailability. Sunflower oil, UHT milk (skim milk), cooked lean meat, bread, skim yoghurt, probiotic yoghurt, apple, lemon, honey, soymilk, cream, soybean and pomegranate arils (control) were the materials used for model systems. As food components, wheat protein, milk protein, meat

protein, lactose, fructose, galactose, glucose, salt, vitamin C, starch, cooked starch, vitamin E, linoleic acid, cellulose, citric acid and pectin were used. Total phenolic content, total anthocyanin content, phenolic profile and anthocyanin profiles by HPLC-PAD were analyzed to evaluate the bioavailability in pomegranate, pomegranate plus foods and pomegranate plus their components after the application of *in vitro* digestion method.

The amount of total phenolic content was measured spectrophotometrically by Folin Ciocalteu method. Results are expressed as gallic acid equivalents. The amount of total anthocyanins was measured by the pH differential method and it is expressed in mg cyn-3-gly/100 g edible fruit.

Every pomegranate aril is milled. For investigating bioavailability *in vitro* digestion method was applied by mixing pomegranate with other foods and ingredients at specific proportions. In this context, digestion simulation was performed by enzymes and absorption was simulated using dialysis tubing. The conversion of anthocyanins and phenolic compounds were investigated during the stomach and pancreatic digestion. Bioavailability for consumption of foods containing anthocyanins and changes in the amount during the consumption of them with other foods were measured. Single pomegranate was used as the control for *in vitro* digestion method.

The procedure was adapted from the method of McDougall et al. (2005). The method consists of two sequential steps: an initial pepsin/HCl digestion for 2 h at 37 °C to simulate gastric conditions, followed by a bile salt/pancreatin for 2h at 37°C to stimulate small intestine conditions. Samples taken from codigestion consist of IN and OUT fractions. IN sample representing the material that enters into serum. OUT sample representing material that remains in the gastrointestinal tract. Both fraction is analyzed for anthocyanin and phenolic profiles, besides total phenolics, total anthocyanins, and antioxidant activities.

All of the data were evaluated statistically using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) program version 16.0. To determine the significant differences between samples one way Analysis of Variance (ANOVA) was applied at 0.05 significant level followed by Duncan's New Multiple Range Test as post hoc tests. The results were reported as mg equivalents/100 g edible fruit. Each analysis was repeated in triplicate for each sample and the results were reported as mean value $\pm$ standard deviation.

As the result of this study; phenolic compounds of pomegranate arils are found to be stable during gastric conditions. Gastric conditions even improved bioavailability when compared with the extract. Phenolic compounds are also available in colon (75%) and to a lesser extent in serum (%14). Anthocyanins are found to have lower bioavailability during digestion when compared to phenolic compounds.

Phenolic compounds in pomegranate were identified as gallic acid, catechin, quercetin-3- β -D-glucoside, quercetin-3-galactoside, ferulic acid, neochlorogenic acid, kafeic acid and p-coumaric acid and major anthocyanins as cyanidin 3-O-glucoside, cyanidin 3,5-di-O-glucoside, delphinidin 3-O-glucoside, delphinidin 3,5-di-O-glucoside, pelargonidin 3-O-glucoside and pelargonidin 3,5-di-O-glucoside. Major phenolic compounds were found to be gallic acid, catechin, ferulic acid and kafeic acid. Major anthocyanins were selected as delphinidin 3-5-O diglucoside, cyanidin 3,5-di-O-glucoside, pelargonidin 3,5-di-O-glucoside, pelargonidin 3,5-di-O-glucoside.

When pomegranate is consumed with other foods; bioavailability of phenolic compounds is reduced by the presence of protein containing foods (meat, milk, bread, yoghurt, probiotic yoghurt, soy milk) and cream. Positive effects in IN fraction for soy bean and in OUT fraction for apple is observed. Availability of vegetable oil and lemon made no effect on bioavailability.

When bioavailability of anthocyanins in pomegranate during consumption with other foods is investigated, there is no difference with respect to control during gastric digestion (PG) and in OUT fraction. However, in IN fraction, meat, soy milk and cream have reduced effect on bioavailability of anthocyanin.

When interactions with food ingredients are investigated, salt, citric acid, cellulose, vitamin C, lactose, starch and cooked starch are found to have reduced effect on phenolic compounds in all fractions. Galactose has no important effect on bioavailability. While soy protein and milk protein has positive effect on IN fraction, wheat protein has positive effect on OUT fraction. Soy, meat and milk proteins have negative effects on PG and OUT fractions. While stearic acid, linoleic acid, glucose and pectin were found to have no effect on PG and OUT fractions, they have reducing effect on IN fraction. Fructose and vitamin E have no effect on OUT fraction, but they have reduced effect on PG and IN fractions.

When interactions of anthocyanins with food ingredients is evaluated; it was seen that change in anthocyanins are more obvious when compared to phenolic compounds. Soy, milk, wheat and meat proteins have significant reducing effects on bioavailability of anthocyanin in all fractions. Galactose, fructose, glucose, pectin vitamin E, citric acid and salt have positive effect on PG fraction. While, stearic acid, galactose, lactose and fructose have no important effect on IN fraction, whereas all other compounds have negative effect when compared to control. Salt has given the maximum level in OUT fraction, glucose, pectin, vitamin C and citric acid have similar effect with control, whereas the rest of the compounds have reduced effect on anthocyanins.

In conclusion, protein and vitamin C content should not be high while consuming or developing a product with pomegranate, which is rich in anthocyanins. Furthermore, one should be aware that sugar and fat content have no negative effect on anthocyanin bioavailability.

1. GİRİŞ

Son yıllarda yaşam koşullarına, teknolojiye ve beslenme şekillerine bağlı olarak oluşan stres faktörleri serbest radikallerin artmasına, özellikle kanser olmak üzere birçok hastalığın hızlı bir şekilde ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu nedenle doku ve hücrelerde serbest radikaller ve antioksidan maddeler arasındaki dengenin sağlanabilmesi amacıyla beslenmeye selenyum, E vitamini, alfa tokoferol, karnitin, arı sütü, elajik asit, nar çekirdeği ve nar suyu gibi antioksidan maddelerin alınması yoluna gidilmektedir (Şimşek ve diğ., 2009). Fenolik bileşenlerce zengin olan nara ve bu değerli üründen elde edilen meyve sularına ilgi son yıllarda oldukça artmıştır. Nitekim ülkemizde nar yetiştiriciliğinin hızla yayılması da bunu doğrular niteliktedir. Nar taneleri birçok farklı ürüne de işlenmektedir. Farklı bir tada ve renge sahip olmasından dolayı birçok farklı gıda ürünlerinin üretilmesi sırasında kullanılmakta ve antioksidan özelliğinden yararlanmaktadır.

Nar, önemli düzeyde fenolik madde içermektedir. Narda bulunan temel fenolik bileşikler; antosiyaninler, hidrolize olabilen taninler ve ellagik asit ve bunun türevleridir. Nar suyunun antioksidan aktivitesi çok büyük oranda yapısında bulunan taninlerden kaynaklanmaktadır. Antosiyaninler ve ellagik asit türevleri de antioksidan aktiviteye önemli katkıda bulunmaktadır (Gil ve diğ., 2000).

Nar çekirdeği pektin, şeker ve ham liflerin zengin bir kaynağıdır. Kurutulmuş nar çekirdekleri steroid, östrojen, östron, izoflavon, fitoöstrojen, genistein, daidzein ve fitoöstrojen koumestrol içermektedir (Aviram ve diğ., 2000). Tohum yağı östron, 17- α -estradiol, kampesterol, etriol, testosterone, stigmasterol ve sitosterol içeren steroidler ve sterollerce zengindir. Buna ek olarak, bu yağ yaklaşık %80 punikik asit içermektedir. (Kim ve diğ., 2002).

Bioyararlılık; alınan besinin normal fizyolojik fonksiyonlarda kullanımı ve depolanması için erişebilir durumdaki kısımdır (Parada ve diğ., 2007). Bir başka deyişle; gıda ve ilaç gibi maddelerin vücutta emilim miktarı ve hızını ifade eder. Emilim ve biyoyararlılığı, alınan doz ve alım şekli, beslenme, cinsiyet farklılıkları,

genetik özellikler, kolondaki mikrobiyal populasyon ve tüketilen gıdada mevcut diğer bileşenler gibi bazı faktörlerin etkilediği tespit edilmiştir. Herhangi bir fitokimyasalın biyoyararlılığının değerlendirilmesi için absorpsiyonu, metabolizması, doku ve organlarda dağılımı gibi verilere ihtiyaç duyulmaktadır (McGhie ve diğ., 2007; Heaney ve diğ., 2001). Biyoyararlılığın ölçülmesinde *in vitro* sindirim modeli yaygın olarak kullanılmakta olup, aktif maddeler gıda bileşenleri ile birlikte alınarak *in vivo* sindirim prosesine benzetilmiş uygulamalardan geçirilir.

Metabolizmanın biyokimyasal ve fizyolojik etkilerinin araştırılması amacıyla gerçekleştirilen *in vitro* çalışmalarda insan vücudundaki metabolik olaylar enzimler kullanılarak sıcaklık, süre gibi parametreler ayarlanarak gerçeğe uygun şekilde modellenmektedir. Mide bağırsak sindirim çalışmalarında ilk basamak olarak gastrik (mide) sindirimi simüle etmek amacıyla pepsin-HCl sindirim uygulanmaktadır. Bu aşamayı takiben safra tuzlarıyla pankreatik sindirim gerçekleştirilmektedir. Burada ince bağırsaktaki koşulların sağlanmasına dikkat edilmektedir (Walle ve diğ., 2003). Antosiyaninler üzerine gastrointestinal sistemin üst kısmı ve tükürük kısmının etkisi konusunda bilgi bulunamamıştır. Gastrointestinal bölgenin farklı mikrobiyal yapıda olması ve farklı pH da bulunması antosiyanin bileşenlerinin yapılarının değişmesini sağlayabilmektedir. Mide pH seviyesinin 1-2 aralığında olması; antosiyaninlerde en stabil form olarak bilinen flavilyum katyonlarının korunmasını sağlar. *In vitro* sindirim çalışmalarında mide kısmında antosiyaninlerin stabilitesini koruduğu görülmüştür. Bu durumun aksine, ince ve kalın bağırsak sindiriminde nötral pH olduğu bilinmektedir.

Gıda kaynaklı flavonoidlerin emilimi ile ilgili olarak üzerinde durulması gereken bir diğer konu da bu maddelerin birlikte tüketildikleri matriksten nasıl etkilendiğidir (Yang ve diğ., 2011).

Larkin ve diğ. (2006) yaptıkları çalışmada; yüksek miktarda soya içeren diyetle probiyotik yoğurt ve dirençli nişastanın diyetle ilavesi ile izoflavon biyoyararlılığında değişim olmadığı belirlenmiştir. Dirençli nişasta sindirilmeden kolona kadar ulaşması ve kolondaki bakteriler tarafından sindirilmesi sebebiyle prebiyotik olarak değerlendirilmiştir.

In vitro sindirim sistemi modeli kullanılarak ahududu ekstraktlarının biyoyararlılığının incelendiği çalışmada (Mcdougall ve diğ., 2005) enzimler

kullanılarak gastrointestinal sistemdeki değişiklikler simüle edilmiş ve antosiyanin ve diğer fenolik bileşiklerin metabolik faktörlerden nasıl etkilendiği ortaya konulmuştur. Çalışma sonuçlarına göre; ahududu ekstraktlarındaki fenolik bileşikler iki farklı kısımda incelenmiştir: 1) Gastrik sindirim sonrası kalan madde ve seruma geçen kısım (IN), 2) gastrointestinal kanalda kalan ve kolona geçen kısım ise OUT olarak tanımlanmıştır. Buna göre antosiyanin miktarının %5'i seruma geçerken, %70'lik kısım ise çıkan kısımda yer almıştır. Ahududu ekstraktlarının ekmek, kahvaltılık hububat, dondurma ve pişmiş biftek gibi bazı yaygın gıdalarla birlikte *in vitro* sindiriminin incelendiği çalışmada önemli verilere ulaşılmıştır. Seçilen gıda örnekleri öğütölerek ekstraktlarla karıştırılmış ve bu şekilde *in vitro* işlemlere maruz bırakılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, gastrointestinal kanaldan çıkan fenolik bileşik miktarları kontrol ekstraktlarına göre azalırken, antosiyanin miktarlarının etkilendiği ve bazı durumlarda arttığı görölmüştür (Mcdougall ve diğ., 2005). Bu çalışmalar antosiyanin biyoyararlılığının diğer gıdalardan ve gıda matrislerinden etkilendiği göstermektedir.

Bu çalışma ile antioksidan özellikleri ile sağlığa olumlu etkileri olduğu bilinen nar meyvesindeki fenolik maddeler ve antosiyaninlerin her birinin insan vücudunda gerçek anlamda faydalanma düzeyinin (biyoyararlılığın) belirlenmesi ve narın birlikte tüketildiği gıdalardaki mevcut diğer bileşenler ile bu biyoaktif maddelerin etkileşimlerinin nasıl olduğunun ve biyoyararlılığın nasıl etkilendiğinin model sistemler kullanarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Antosiyaninleri ve fenolik bileşenleri hangi formülasyonlarla tüketiciye sunmanın ve hangi gıdalarla birlikte tüketmenin biyoyararlılık açısından daha yararlı olacağının belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. NAR

Nar (*Punica granatum*) Punicaceae familyası sınıfından çok yıllık bir bitki olup genellikle tropik ve subtropik bölgelerde yetiştirilmektedir. Narın orijini İran olup, İran, Hindistan, Amerika, Yakın ve Uzakdoğu ülkelerinde yaygın olarak üretilmektedir (Schubert ve ark., 1999).

Narın hasadı, meyve tam olgunluğa ulaştıktan sonra yapılır. Tam olgun narların kabuklarının rengi parlak kırmızı-sarıdır (Kulkarni ve diğ., 2005). Meyvenin olgunlaşması için uzun ve sıcak bir yaz mevsimi gereklidir. Nar, düşük sıcaklıklara dayanabilmesinin yanında, kuraklığa ve yetiştigi topraktaki yüksek tuzada tolerans gösterir. Yetişkin bir nar ağacından yılda ortalama 150 kg ürün alınmaktadır. Kısa sürede yetişen nar ağacından , fidan dikiminden 3 yıl sonra ürün alınmaya başlanır.

Dünyada; A.B.D.’nin Kaliforniya bölgesinde ve İsrail’de “wonderful”, İspanya’da “mollar” ve “tendral”, İran’da “schahvar” ve “robab”, Türkiye’de “hicaznar” ve “beynar” ve Tunus’ta ise, “zehri” ve “gabsi” nar çeşitleri ticari olarak üretilmektedir. Ülkemizde en fazla yetiştirilen ve ihraç edilen nar çeşidi hicaznar’dır. Bu nar çeşidinin kabukları kırmızı,taneleri kırmızı-viole ve tadı ise tatlı-mayhoştur. Bu özellikleri nedeniyle, gerek sofralık tüketimde ve gerekse meyve suyu endüstrisinde tercih edilen bir çeşittir.

Ülkemiz en fazla nar yetiştirilen ülkelerin arasında bulunmakta ve üretim miktarı hızla artmaktadır. Nar üretimi 1990 yılında 10.000 ton iken 2000 yılında 60.000, 2003 yılı verilerine göre 73.000 tona ulaşmıştır ve buna rağmen fiyatında her geçen yıla göre artış görülmüştür (TUIK, 2010). Nar Türkiye’de hemen hemen her bölgede yetiştirilmesine karşın özellikle Ege ve Akdeniz sahil şeridinde ve Güney Doğu Anadolu’da yaygın olarak yetiştirilmektedir (Ünal ve ark., 1995). Ülkemizin nar üretim miktarı son yıllarda önemli oranda artmış ve 1998 yılında 55 bin ton olan üretim miktarı 2007 yılında 106 bin tona ulaşmıştır. Türkiye’de nar üretimi, narın

iklim koşullarına uygun olarak Akdeniz (%61,8), Ege (%23,3) ve Güneydoğu Anadolu (%9,1) bölgelerinde yapılmaktadır (Kelebek, 2010). Narın, Devediş, Çekirdeksiz, Zivzik Çekirdeksiz, Kadı, Lefon, Keban, Hicaz ve Misk olmak üzere değişik türleri vardır. (TS 4953, 1986).

2.1.1. Narın kısımları ve kompozisyonu

Nar temel olarak 4 ana kısımdan oluşur. Bu kısımlar; kabuk, çekirdek, taneler, ve beyaz zardan oluşmaktadır. Nar %60-67 tanelerden ve %33-40 kabuktan oluşmaktadır. Nar meyvesinin suyu da %76-85 meyve tanelerinden ve %45-61 bütün meyve den yapılmaktadır. Nar meyvesi %75 nem, %1,6 protein, askorbik asit 16 mg/1000 g, kül %0,7 , %0,58 asitlik ve yüksek miktarda minerallerden oluşmaktadır. Bu mineraller kalsiyum, fosfor, magnezyum, potasyum, sodyum, demir, çinko, magnez ve bakırdan oluşmaktadır (Sing ve diğ., 2004). Nar meyvesinin kimyasal kompozisyonu çeşidine, yetiştirilme bölgesine, iklim, olgunlaşma, dikim uygulaması ve depolama koşullarındaki farklılıklara göre değişkenlik gösterir. Nardaki organik asitlerde, fenolik bileşenlerde, şekerlerde, suda çözünen vitamin ve minerallerde ki önemli değişimler birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Nar taneleri yüksek miktarda toplam yağ içermektedir. Yağ miktarı tanede %12 ile %20 arasında olmakta ve içeriğinde doymamış yağ asitlerinden (linoleik asit, oleik asit, stearik asit, palmitik asit) bulunmaktadır. Nar taneleri protein, ham lif, vitaminler, mineraller, pektin, şekerler, polifenoller, izoflavonlar ve cinsellik hormonları içermektedir (Martos ve diğ., 2010).

2.1.2 Nardan yapılan ürünler

Nar; meyve suyu, şarap vb farklı ürünlere işlenebilmesine rağmen taneleri genellikle taze olarak tüketilir (Benli, 2001). Taze veya meyve suyu olarak değerlendirilmesinin yanı sıra, çeşitli kısımlarından tanen, pektin, sirke, nar ekşisi, boya ve mürekkep hammaddeleri, yağ, hayvan yemi ve çeşitli ilaç hammaddeleri elde edilmekte olup, bütün dünyada son yıllarda nara karşı talep artmaktadır (Tümer, 2006). Nar meyve suyu ve nar çekirdeği yağının ömrü uzattığı, kalp hastalıkları ile kanseri önlediği bildirilmektedir. Ayrıca son yıllarda AIDS hastalığının tedavisinde kullanılan yiyecekler sınıfına alındığı ve Japonya patentli ilaçlarda yer alan dokuz bitkiden biri olduğu da rapor edilmektedir (Lansky ve diğ. 1988), (Cerde ve diğ.,

2003). Nar suyunun yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmekte ve bu aktiviteyi narın flavonoid ve polifenol içeriği ile ilişkilendirmektedir.

Nar suyu ve konsantresi bütün nar veya sadece nar taneleri kullanılarak üretilmektedir. Bütün meyveden %42 verim alınırken, nar tanelerinden %70'e yakın verim alınmaktadır. Geçmiş yıllarda nar suyu genellikle karışık meyve sularına işlenmekte iken son yıllarda artan ilgi ile birlikte 100% meyve suyu olarak da tüketilmektedir (Vardin ve Abbasoglu, 2004). Nar taneleri ve nar meyvesi olarak nar ekşisi soslarına işlenmektedir.

Konserve nar nar tanelerinden üretilen başka bir üründür. Şeker miktarı artırılarak yapılan bu ürün raf ömrünü artırmak için uygulanan bir yöntemdir. Kurutulmuş nar taneleri de raf ömrünü artırmak için yapılan başka bir uygulamadır. Modifiye atmosfer paketleme yöntemi kullanılarak nar taneleri paketlemesi yapılmaktadır. Kurutulan nar taneleri diğer gıdalara asitlik sağlamak amacıyla kullanılır (Vardin ve Abbasoglu, 2004).

Nar çekirdekleri yaklaşık olarak %20.8 yağ içermekte olup hayvanlarda süt verimliliğini artırmak amacıyla kullanılır. Aynı zamanda nar çekirdeklerinin ilaç ve kozmetik endüstrisinde de kullanımı yaygındır.

Yapılan diğer ürünler nar şarabı ve nar şurubudur. Nar şarabı 22-23° Briks şeker içererek hazırlanır. Nar meyvelerinin parçalanmadan doğal yollarla fermente olması ve olgunlaşması sağlanır (Vardin ve Abbasoglu, 2004).

2.2. Nar Tüketimi ve Üretimi

Nar, kurak iklim koşullarına dayanıklı, farklı toprak yapısına kısa zamanda uyum sağlayabilen ve her yıl düzenli ürün veren bir bitkidir. Nar yetiştiriciliği, yaygın olarak birçok ülkede yapılmasına rağmen dünyada büyük bir potansiyele sahip değildir. Türkiye, narın anavatanı olarak kabul edilen yetiştirici ülkeler arasında ilk sıralarda yer almaktadır (Öztürk ve diğ., 2005).

2.2.1. Dünyada nar tüketimi

Anavatanı olan Ortadoğu ve Kafkasya'da binlerce yıldır üretimi ve tüketimi yapılan nar kültür tarihi en eski olan meyve türlerinden birisidir. Tropik ve subtropik iklim meyvesi olarak bilinmekle birlikte sıcak ve ılıman iklim bölgelerinde de sınırlı bir

şekilde yetişebilen narın dünyada ve ülkemizdeki üretim ve tüketimi ise her geçen gün artmaktadır.

Nar üzerine son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda; içermiş olduğu antioksidantlar, polifenolik maddeler ve C vitamini içeriğinden dolayı fonksiyonel gıdalar grubuna alınmıştır. Narın içermiş olduğu bu maddelerin kanser ve kalp damar hastalıklarını önlemede rolü olduğu, ayrıca bu maddelerin yüksek tansiyonlu hastalarda kan basıncını düşürerek hastalığı önleyici yönde etki gösterdiği belirlenmiştir. Narın bu özelliklerinin ortaya çıkmasının üretim ve tüketiminin artmasında büyük payı bulunmaktadır.

Dünyada toplam nar üretiminin yaklaşık yarısı olan 1.140.000 ton üretimi Hindistan'da gerçekleşmekte, bu ülkeyi 705.000 ton ile İran, 127.760 ton ile Türkiye ve 110.000 ton ile ABD izlemektedir. Üretimdeki bu fazlalığa karşın, adı geçen ülkelerde ihracat miktarı oldukça düşüktür (Çizelge 2.1.). Ülkemiz dünyada en fazla nar üreten ülkeler arasındadır. Ülkemizdeki ekolojik koşullarının uygunluğu ve arazi miktarının çokluğu ve dış-iç talepler üretimimizi hızlı bir şekilde artırmaktadır.

Çizelge 2.1: Dünyadaki nar yetiştiriciliği (Yazıcı ve Sahin, 2007).

Ülke	Üretim (Ton)	İhracat (Ton)
Hindistan	1 140 000	35 000
İran	705 000	60 000
Türkiye	127.760	12 000
ABD	110 000	17 000
Irak	80 000	
İspanya	40 000	15 000
Tunus	25 000	2 000
Afganistan	24 000	
İsrail	17 000	4 000
Azerbaycan	65 000	
Mısır	43 000	
Özbekistan	35 000	
TOPLAM	2.411.76	

2.2.2. Türkiye'deki nar üretimi ve tüketimi

Nar yetiştiriciliği, tropik ve yarı tropik alanlarda gelişimi daha iyi sonuç vermektedir. Kurak alanlarda daha fazla verim alınmaktadır. En iyi iklim koşulları Ortadoğu Asya'da sağlanır. En iyi gelişme koşulları kışları ılık yazları sıcak iklimlerde

gerçekleşir. Soğuk koşullara dayanıklı bir meyve olmasına rağmen -10°C'nin altında gelişme kabiliyeti kötüdür. 38°C de ve kuru bir iklimde en kaliteli meyveler üretilmektedir. (Özgüven ve diğ.)

Türkiye'deki toplam nar alanı 2004 yılında 65.000 da iken, bu miktar 2008 yılında 60%'lık bir artışla 176.197 da'a ulaşmıştır. Üretim miktarı da toplam alana bağlı olarak artış göstermiş ve 2008 yılında 127.760 tona ulaşmaktadır. Toplam ağaç sayısı özellikle 2006 yılından sonra belirgin bir artış göstermiştir. Ağaç başına ortalama verim 23-31 kg arasında değişim göstermiştir (Çizelge 2.2.).

Çizelge 2.2. 2004-2008 yılları arasında Türkiye'deki nar toplam alan, üretim, verim ve ağaç sayılarındaki değişimler.

Yıllar	ToplamAl an(da)	ÜretimMikt arı (ton)	Ortalama Verim (kg/ağaç)	MeyveVeren Ağaç Sayısı (bin adet)	Meyve Vermeyen Ağaç Sayısı (bin adet)	Toplam Ağaç Sayısı (bin adet)
2004	65.000	73.000	23	3.200	1.220	4.420
2005	67.000	80.000	25	3.220	1.409	4.629
2006	75.675	90.737	29	3.136	1.502	4.638
2007	111.230	106.560	30	3.611	3.367	6.978
2008	176.197	127.760	31	4.017	5.929	9.946

2008 yılı verilerine göre Akdeniz Bölgesi 72.257 ton üretim miktarı ve % 54.56'lık üretim payı ile nar üretiminin yarısından fazlasını karşılamaktadır. Ege ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri ise sırasıyla %24.42 ve %12.88'lik üretim paylarına sahiptirler. Diğer bölgelerde üretim miktarları düşüktür.

Ülkemizde 2008 yılı verilerine göre illerin üretim miktarları bakımından Antalya 52.963 tonluk üretimle ilk sırada yer almakta, bu ili sırasıyla Muğla (10.412 ton), Denizli (9.465 ton), Gaziantep (8.509 ton), Mersin (8.197 ton), Aydın (7.247 ton) ve Hatay (4.812 ton) illeri takip etmektedir.

Türkiye'nin 2005 ile 2009 yılları arasındaki nar ihracat miktarı ve değeri Çizelge 3'te verilmiştir. Bu tablodan görüldüğü gibi, ülkemiz nar ihracatında 2005 ile 2007 yılları arasında çok belirgin bir artış olmamıştır. Buna karşın, özellikle 2008 yılında verime geçen nar ağaçlarındaki üretim artışına paralel olarak, ihracat miktarında da önemli artışlar meydana gelmiştir. Böylece, 2005 yılında 11.447.082 ton olan nar ihracat değerimiz, 2008 yılında yaklaşık %190 oranında artarak 33.193.295 ton'a ulaşmıştır. Türkiye nar ihracatımız 2009 yılında ise, yaklaşık %26 oranında bir artış göstererek 41.938.979 ton ulaşmıştır (Çizelge 2.3.).

Çizelge 2.3: 2005-2009 Yılları Türkiye Nar İhracatı ve Değeri (Yazıcı ve Şahin, 2009).

YILLAR	İhracat (ton)	Değer (milyon \$)
2005	11.447	9.436
2006	10.917	11.209
2007	13.732	16.861
2008	33.193	31.810
2009	41.939	40.025

Ülkemizde yaygın olarak yetiştiriciliği ve ihracatı yapılan nar çeşidi Hicaznar’dır. Bu çeşit kırmızı kabuklu, koyu kırmızı taneli ve mayhoş olup Avrupa Ülkelerinde oldukça beğeni kazanmış, çok iyi fiyatlarla alıcı bularak ihracatı yıldan yıla artmıştır. Ayrıca bol verimliliği, taşımaya ve muhafazaya uygunluğu ile de diğer nar çeşitlerinden üstün özelliklere sahiptir (Yazıcı ve Şahin, 2009).

Türkiye’de nar genel olarak taze tüketilmekte, bunun dışında “nar ekşisi” ya da “nardenk” denilen bir ürün elde edilmektedir. Bu ürün ekşi narların suyu çıkarılarak ve kaynatılarak elde edilmekte, çorba, salata ve bazı özel yemeklerde ekşilik olarak kullanılmaktadır. Bazı yörelerde tatlı nar sularından nar pekmezi yapılmaktadır. Daha az miktarda da nar daneleri bazı tatlıların üzerine süs ve çeşni olarak kullanılmaktadır. Türkiye’de nar tüketimi daha çok üretici bölgelerde yaygındır. Ayrıca büyük illerdeki pazarlarda giderek artmaktadır. Diğer illerde oldukça düşük düzeyde pazarlanmakta ve tüketilmektedir (TÜİK, 2008).

Çizelge 2.4: Meyve suyuna işlenen başlıca Nar meyvesinin üretimi (bin ton) (MEYED, 2011)

YIL	Üretim miktarı
2005	80
2006	91
2007	107
2008	128
2009	171
2010	208

Türkiye Nar üretiminde üçüncü sırada gelmektedir. Ülkemizde ise meyve suyu sanayisinde en çok işlenen meyveler elma, şeftali, vişne, kayısı, nar ve havuçtur. Yıllara göre nar suyu üretimi Çizelge 2.4. de verilmiştir.

Sektörde işlenen meyvelerin son 5 yıllık dönemde büyüme rakamlarına bakıldığında üzüm ve nardaki artış dikkat çekmektedir. Nara olan ilgi ve artan talep, nar

plantasyonlarının ve dolayısıyla Türkiye nar üretiminin hızla artmasına neden olmuştur. Nar üretimindeki artışa paralel olarak, meyve suyu sanayisinde işlenen nar miktarı da her geçen yıl artmaktadır. 1 ton nar suyu konsantresi için 12 ton meyveye ihtiyaç vardır.

2.3.Narın Sağlık Üzerine Etkileri

Son yıllarda yaşam koşullarına, teknolojiye ve beslenme şekillerine bağlı olarak oluşan stress faktörleri; serbest radikallerin artmasına, özellikle kanser olmak üzere birçok hastalığın hızlı bir şekilde ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu nedenle doku ve hücrelerde serbest radikaller ve antioksidan maddeler arasındaki dengenin sağlanabilmesi amacıyla gıdalara dışarıdan selenyum, vitamin E, alfa tokoferol, karnitin, arı sütü, elajik asit, nar çekirdeği ve nar suyugibi antioksidan maddelerin katılması yoluna gidilmektedir (Şimşek ve diğ., 2009). Nar, önemli düzeyde fenolik madde içermektedir. Bu fenoliklerin ve özellikle de yüksek molekül ağırlığı olan fenoliklerin önemli bir bölümü kabukta bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, nar kabuklarından elde edilen ekstraktın (249.4mg/L), pulptan elde edilen ekstrakta (24.4mg/L) göre yaklaşık 10 kat daha fazla toplam fenolik madde içerdiği saptanmıştır (Guo ve diğ. 2003).

Fenoliklerce zengin diğer ürünlerle kıyaslandığında; nar suları (2566mg/l) ile kırmızı şarap ile (2036mg/l) yaklaşık aynı miktarda fenolik madde içerdiği, buna karşın narsularının yeşilçaydan (1029mg/L) yaklaşık 2 kat daha fazla fenolik madde içerdiği bildirilmektedir (Gil ve diğ., 2000).

Ticari olarak tüketilen meyve suları yüksek miktarda fenolik bileşen içermesi sebebiyle antioksidan ve kalp damar hastalıklarını önleyici etkisi belirlenmiştir. Bu fenolik bileşenler; elagik asit, gallotanin, antosiyaninler, kuersetin, kamferol, lutein gibi diğer fenolik bileşenleri de içermektedir. En yüksek miktarda bulunan polifenolik bileşen punikalagin olarak belirlenmiştir. Nar meyvesinde bulunan elagik asitin antikarsinogenik özellikleri belirlenmiştir. Bu antikarsinogenik etkiler, hücre döngüsünü durdurma ve apoptozun yanı sıra hayvanlarda tümör oluşumunu durdurma şeklindedir (Seeram ve diğ., 2005).

Hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan bazı *in vivo* çalışmalarda LDL oksidasyonu ve damar tıkanıklığından korunmak için nar tüketiminin etkileri incelenmiştir.

Yapılan bu çalışmalarda nar tüketiminin toplam kolesterolü, LDL kolesterolünü, yağ asitlerini, trigliseritleri, yağ oksidasyon seviyesini azalttığı ve kanda bulunan antioksidan kapasitesini artırdığı görülmüştür (Martos ve diğ., 2010). Nar çekirdeği yağında bulunan punik asit, lipid peroksidasyonunu önleyerek, in vivo anti enflamatuar etki gösterdiği belirlenmiştir. Narın antitümoral ve antikarsinojenik özellikleri üzerine bir çok çalışma mevcuttur (Seeram ve diğ., 2005, Gil ve diğ., 2000). Antosiyaninler ve punikalagin en etkili bileşenlerdir. Antosiyaninlerin kolon kanserini azalttığı belirlenmiştir. Bunun yanı sıra rutin, epikateşin ve klorojenik asit antosiyaninler kadar etki göstermemektedir. Nar çekirdeği yağı ve şarap gibi nardan üretilen gıdaların oksidasyonu önlediği ve göğüs kanseri gelişimini azalttığı belirlenmiştir. Nar tüketiminin doza bağlı olarak prostat kanser gelişimini de azalttığı belirtilmektedir (Martos ve diğ., 2010).

Nar; damar üzerindeki hasarı engelleme, prostat kanseri ve kireçlenmeyi önleme, ishali durdurma, otoksidasyon zararlarına karşı hücreleri koruma, kan glikoz seviyesini normal düzeyde koruma, stokinlerin (hücrelerin birbirleriyle iletişimini sağlayan protein ve peptidlerin bir grubu) oluşumunu destekleme, doğal tümörleri inhibe eden hücre kapasitelerinin artırılması gibi beslenme ve terapötik etkileri sonucu oldukça popülerdir. Aynı zamanda AIDS ve iltihaplanmaya karşı önleyici olduğu bulunmuştur (Nizamlioğlu ve diğ., 2010).

Narın kronik kalp rahatsızlıklarının, cilt kanserinin, beyin rahatsızlıklarının, yaşlanmanın önlenmesinde, AIDS tedavisinde, prostat ve kolon kanserinin kısmi olarak önlenmesinde etkili olduğu belirlenmiştir. Nar suyunun göğüs kanseri hücrelerine karşı antikanser etkisi gösterdiği de belirlenmiştir (Perez-Vicente ve diğ., 2002).

Yapılan çalışmalarda obezite rahatsızlığı olan hayvanların diyetlerine nar ekstraktlarının ilavesiyle, hayvanların gıda tüketimlerinde azalma olduğu ve kilo vermeye yardımcı olduğu belirlenmiştir (Martos ve diğ., 2010). Aviram ve diğ. (2003) yaptığı çalışmada kan basıncında düzensiz bir değişim olan ve damar sertliği rahatsızlığı görülen hastalara düzenli olarak 3 yıl boyunca nar suyu içirilmiştir. Nar suyu içmeyen kontrol gruplarına göre; içeren hastalarda serumda bulunan antioksidan seviyesinin yükseldiği, kan basıncının azaldığı belirlenmiştir. Fakat; en yüksek etki ilk bir yıl içerisinde belirlenmiştir ve 3 yıl içerisinde ilk yıla göre belirgin

bir artış görülmemiştir. Bu etkilerin tamamının narda bulunan polifenollerden kaynaklandığı belirlenmiştir.

Nar çekirdeği yağının %80 konjüge yağ asitleri içerdiği ve bu yağ asitlerinin en önemlilerinin oktadekatrienoik asit ve punikik asit olduğu belirtilmiştir. Punikik asidin prostat kanserini önlediği aynı zamanda da yağ oksidasyonunu önleyici olduğu ve cilt kanserini önlediği yapılan çalışmada görülmüştür (Hora ve diğ., 2003).

Birçok çalışmada polifenol komponentlerin anti-enflammatuar etki gösterdiği görülmüştür (Mertens-Talcott, 2006.) Bub ve diğ., (2003) yaptığı çalışmada ise yüksek flavonoid ve antosiyanin içeren meyve sularının LDL oksidasyonunu değiştirmede ancak yağ oksidasyonunu azalttığı görülmüştür.

2.4. Narın Fenolik Bileşenleri ve Antioksidan Potansiyeli

Bitkisel ürünlerin antioksidan etkileri özellikle flavonoidler başta olmak üzere sinamik asit türevleri, kumarinler gibi fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Serbest radikaller, lipid, protein ve nükleik asitlere karşı oksidatif hasar yaparak, hücre içindeki yapıları bozarak ve DNA yapısındaki biyokimyasal bileşiklerde bozulmalara yol açarak kanser, kalp hastalıkları, akciğer hastalıkları, katarakt gibi pek çok hastalığa neden olmaktadır. Antioksidan maddeler, serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonu durdurarak, oksijeni ve metalleri bağlayarak oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararları engeller (Nizamlioğlu ve diğ., 2010).

Narda bulunan temel fenolik bileşikler; antosiyaninler, hidrolize olabilen taninler, ellagik asit ve bunun türevleridir. Nar suyunun antioksidan aktivitesi çok büyük oranda yapısında bulunan taninlerden kaynaklanmaktadır. Antosiyaninler ve ellagik asit türevleri de antioksidan aktiviteye önemli katkıda bulunmaktadır (Gil ve diğ., 2000). Nar suyunun fenolik madde kompozisyonu; 1978 mg/l tannin, 384 mg/l antosiyanin ve 121 mg/l ellagik asit ve türevleri şeklindedir. Ayrıca 100 ml meyve suyu 3 mg C vitamini içermektedir (Brown, 2005).

2.4.1 Fenolik bileşenler

Nar sularında bulunan fenolik bileşikler; basit fenoller, hidrolize olabilir tanenler ve antosiyaninler olarak gruplandırılmaktadır. Gallik asit, ellagik asit, protokateşik asit, klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit ve kumarik asit nar suyunda en fazla bulunan

fenolik asitlerdir. α -punikalagin ve β -punikalagin, nar suyunda bulunan hidrolize olabilir tanenlerdendir ve bu bileşikler, nardaki yüksek antioksidan kapasitesinden sorumludurlar (Kelebek ve diğ., 2010)

Kabuk ise; gallik asit, kuersetin ve luteolin gibi tanen flavonlarını içermektedir. Nar suyunun delfinidin, siyanidin, pelargonidin gibi antosiyaninlerden ve punikalın, ellagatinler ve ellagik asitten dolayı yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir (Nizamlioğlu ve diğ., 2010).

2.4.2 Antosiyaninler

Doğada serbest halde bulunmazlar, şekerlerle glikozit yapmış olarak bulunurlar ve antosiyanin adını alırlar. Bu bileşenlerin aglikon formu (şeker kısmını içermeyen form) antosiyanidin olarak adlandırılmakta ve farklı sayı ve konumlardaki metoksil ve hidroksil grupları nedeniyle çok sayıda değişik antosiyanidin oluşturmaktadır. Antosiyaninler meyve ve sebzelerin pembe, kırmızı ve mor tondaki çeşitli renklerini veren suda çözünebilir nitelikteki renk pigmentleridir. Antosiyaninler bağlanan şekerlere ve bağlanma pozisyonuna göre adlandırılırlar (Nizamlioğlu ve diğ., 2010).

Antosiyanin tüketiminin ABD’de 180-225 mg/gün, Finlandiya’da 82 mg/gün olduğu belirlenmiştir. Bu tüketim miktarlarının diğer fenolik bileşenlerle daha da arttığı belirlenmiştir (McGhie ve diğ., 2007).

Doğada bulunan 16 farklı antosiyanidine farklı şekerlerin bağlanması ile çok farklı renkte antosiyaninler oluşabilmektedir. Birçok meyve ve sebze ile bitki ve çiçeklerin çok zengin renklerde olmasının nedeni de budur. Doğadaki çok sayıda antosiyaninden gıdalar açısından pelargonidin, peonidin, petunidin, delfinidin, siyanidin ve malvinidin önem taşımaktadır. Pelargonidin turuncu, siyanidin turuncu-kırmızı, delfinidin mavi, peonidin kırmızı, petunidin mavimsi kırmızı ve malvinidin ise kırmızımsı mavi renkleri oluşturur (Nizamlioğlu ve diğ., 2010). Antosiyaninlerin verdikleri renkler çoğunlukla aglikonun B-halkasına bağlanan farklı yapılara, glikozilasyon şekline, şekerlerin alifatik ve aromatik asitlerle olan esterifikasyonun derecesine ve durumuna, pH, sıcaklık, çözügen tipi ve kopigment varlığına bağlı olarak değişmektedir. Bugüne kadar tanımlanmış yaklaşık 500 farklı antosiyanin bulunmaktadır ve doğada en fazla bulunan antosiyanin ise siyanidindir (Mazza ve diğ., 2004). Antosiyaninler, gıdaların parlak kırmızı rengini sağlayan bilinen en iyi doğal gıda renklendiricileridir ve birçok gıdanın renklendirilmesinde sentetik

boyalara karşı önemli bir alternatif olarak kabul edilmektedir. Antosiyanin renklendirici olarak gıda ürünlerinde (reçel, jöle, içecekler, dondurma, yoğurt, konserve meyve, yiyecek süsleri, şekerlemeler vb.) geniş bir aralıkta kullanılmıştır. Doğal endüstriyel renklendirici olarak antosiyaninlerin en yaygın kaynakları üzüm, mürver meyvesi, kuş üzümü, kırmızı lahana ve siyah havuçtur. (MacDougall, 2002).

Antosiyanidinler meyve ve sebzelerle, bunların ürünlerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Ahududularda ve böğürtlenlerdeki temel antosiyaninler, siyanidin türevleriyken; çileklerde pelargonin glikozitleri baskındır (Cemeroğlu ve diğ., 2004).

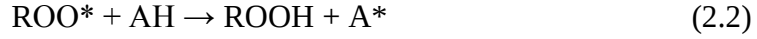
Çizelge 2.5 : Meyvelerde bulunan antosiyaninler (Cemeroğlu ve diğ., 2004).

Meyve ve Sebzeler	Antosiyanidinler
Elma	Siyanidin
Siyah Frenk Üzümü	Siyanidin ve Delfinidin
Yaban Mersini	Siyanidin, Delfinidin, Malvidin, Petunidin ve Peonidin
Kırmızı lahana	Siyanidin
Vişne	Siyanidin ve Peonidin
Üzüm	Malvidin, Peonidin, Delfinidin, Siyanidin, Petunidin ve Pelargonidin
Kan Portakalı	Siyanidin ve Delfinidin
Şeftali	Siyanidin
Erik	Siyanidin ve Peonidin
Turp	Pelargonidin
Ahududu	Siyanidin

Nar, antosiyanin açısından zengin bir kaynaktır. Nar meyvesindeki baskın antosiyanin, delfinidin 3-5 diglikozittir (Shahidi ve diğ., 2004). Nar meyvesinin tohum kabuğunda siyanidin, delfinidin ve pelargonidin 3,5-diglikozitleri ve 3-glukozitleri içerdiği bildirilmektedir (Gill ve diğ., 2000)

2.4.3 Antioksidan aktivite

Antioksidanlar oksidatif zincir reaksiyonlarının başlama (initiation) veya gelişmesini (propagation) inhibe ederek, lipidlerin veya diğer moleküllerin oksidasyonunu engelleyen veya geciktiren bileşiklerdir (Javanmardi ve diğ., 2003). Antioksidanlar, oksidatif zincir reaksiyonlarının “başlamasını önleyen primer antioksidanlar” ve “gelişimini önleyen ikincil veya koruyucu (preventive) antioksidanlar” olmak üzere 2 ana başlık altında incelenmektedir. Antioksidanların oksidatif zincir reaksiyonlarını önleme mekanizmaları 2.1, 2.2 ve 2.3 No’lu eşitliklerde gösterilmiştir.



Bu reaksiyonlar sonucunda, antioksidanlar, lipid radikali (R^*) ile reaksiyona girerek lipid oksidasyonunun başlamasını veya peroksi (ROO^*) veya alkoksi (RO^*) radikalleriyle reaksiyona girerek oksidasyonunun gelişimini önlerler. Diğer yandan, ikincil antioksidanlar ise, lipidlerin oksidasyonunu geciktirerek etkilerini gösterirler.

Oksijen tüketen organizmaların tümünde; lipid, protein ve DNA gibi biyolojik moleküllerin oksidasyonunu önleyen enzimatik veya enzimatik olmayan çeşitli antioksidan bileşikler bulunmaktadır. Süperoksitdismutaz (SOD, Superoxide dismutase), glutatyon peroksidaz (GSHPx, Glutathione peroxidase) ve katalaz en önemli antioksidan enzimlerdir.

Enzimatik olmayan antioksidan bileşikler ise; başta askorbik asit, E vitamini, karotenoidler, fenolik bileşikler olmak üzere, indirgenmiş glutatyon, albumin, seruloplazmin ve ferritinden oluşmaktadır. Askorbik asit, E vitamini ile provitamin A aktivitesi gösteren β -karoten, oksijenin reaktif formlarını inaktive etmek suretiyle antioksidan etki göstermektedir. Buna karşın fenolik maddeler ise, serbest radikalleri bağlayarak, metallerle şelat oluşturarak ve lipoksigenaz enzimini inaktive etmek suretiyle bu etkiyi göstermektedir.

Fenolik bileşikler arasında antioksidan aktivite gösterenler; fenolikasitler, flavonoidler ve fenolik diterpenlerdir. Fenolik asitlerden, kafeik asit esterlerinin (örneğin; klorojenik asit) yüksek düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmektedir (Apaydın, 2008).

2.5. Biyoyararlılık

2.5.1 Tanım ve metotlar

FDA'ya göre: bir ilaç içinde bulunan aktif bileşenlerin veya tedavi edici maddelerin emilim hızı ve aktivite göstereceği bölgedeki yararlılık derecesidir (Shi ve diğ., 2000).

Biyoyararlılık; alınan besinin normal fizyolojik fonksiyonlarda kullanmak ve depolamak için erişebilir durumdaki kısmıdır (Parada ve diğ., 2007). Bir başka

deyişle; gıda ve ilaç gibi maddelerin vücutta emilim miktarı ve hızını ifade eder. Emilim ve biyoyararlılığı, alınan doz ve alım şekli, beslenme, cinsiyet farklılıkları, genetik özellikler, kolondaki mikrobiyal populasyon ve tüketilen gıdada mevcut diğer bileşenler gibi bazı faktörlerin etkilediği tespit edilmiştir. Herhangi bir fitokimyasalın biyoyararlılığının değerlendirilmesi için absorpsiyonu, metabolizması, doku ve organlarda dağılımı gibi verilere ihtiyaç duyulmaktadır (McGhie ve diğ., 2007; Heaney ve diğ., 2001)

Gıda bileşenlerinin biyoyararlılığının belirlenmesinde kullanılan yaklaşımlar canlı (*in vivo*) ve cansız (*in vitro*) sistemlerde olmak üzere iki şekilde ele alınmaktadır. Hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalar, hem karmaşık ve pahalı olmaları, hem de ahlaki ve etik soruları gündeme getirmeleri nedeniyle tercih edilmemektedir. *In vitro* çalışmalarda koşulların kontrol edilmesi daha kolay olup, bu sistemler araştırmacıya basitlik, kolay uygulanabilirlik ve düşük maliyet gibi önemli avantajlar sağlamaktadır (Yi ve diğ., 2006)

Yapılan *in vitro* çalışmalar; CaCo-2 hücre modeli, *in vitro* sindirim yöntemi ve *in vitro* sindirimi ve CaCo-2 Hücre kombinasyonu modeli olarak uygulanmaktadır. *In vitro* sindirim modellerinin karşılaştırılması karmaşıktır. Bu modeller *in vivo* çalışmalar ile karşılaştırılmadığı sürece hangi modelin en doğru biyoyararlılık değeri sağlayacağını tespit edilmesi zordur. Ancak *in vitro* çalışmalar ile elde edilen sonuçların *in vivo* çalışmalarla tam olarak örtüştüğünü söylemek mümkün olmamaktadır. Bu durumun en önemli nedeni vücutta meydana gelen emilim, boşaltım vb. metabolik işlemlerin ve belirli reaksiyonlar sonucu oluşan metabolitlerin indirgenme özelliklerinin *in vivo* özellikleri etkilemesidir (Bermudez-Soto ve diğ., 2004). Bu nedenle, *in vitro* çalışmalar esnasında metabolik özelliklerin ve bileşenlerin biyoyararlılık durumunun göz önünde bulundurulması büyük önem taşımaktadır.

Gastrointestinal modeller (GIT), üretilen verilerle ilgili önemli sınırlamalar içermesine rağmen biyoyararlılığı belirlemek için *in vivo* analizlere alternatif bir yöntem olarak kullanılırlar. GIT, emilim, sindirim ve çiğneme sırasında ağızda, midede ve ince bağırsakta yeni fizyolojik koşullar oluşturmaya çalışırlar. Mide, ince bağırsak ve Caco-2 hücre kültürlerini (emilim aşaması) içeren dinamik bir gastrointestinal model Verwei ve diğ. (2005) tarafından kullanılmış ve süt

ürünlerinden folatın insanlardaki biyoyararlılığı tahmin edilmiştir (Parada ve diğ., 2007).

CaCo-2 hücre modeli; insanların bağırsak hücrelerinden izole edilen Caco-2 (Colon Adeno Carcinoma Cell) kanser hücresi, özellikle bağırsak hücrelerinin işlevleri ve organizasyonu gibi çalışmalarda kullanılmaktadır.

In vitro sindirim modelinde ise; antosiyaninler gibi gıda bileşenleri alınarak *in vivo* sindirim prosesine benzetilmiş uygulamalardan geçirilir.

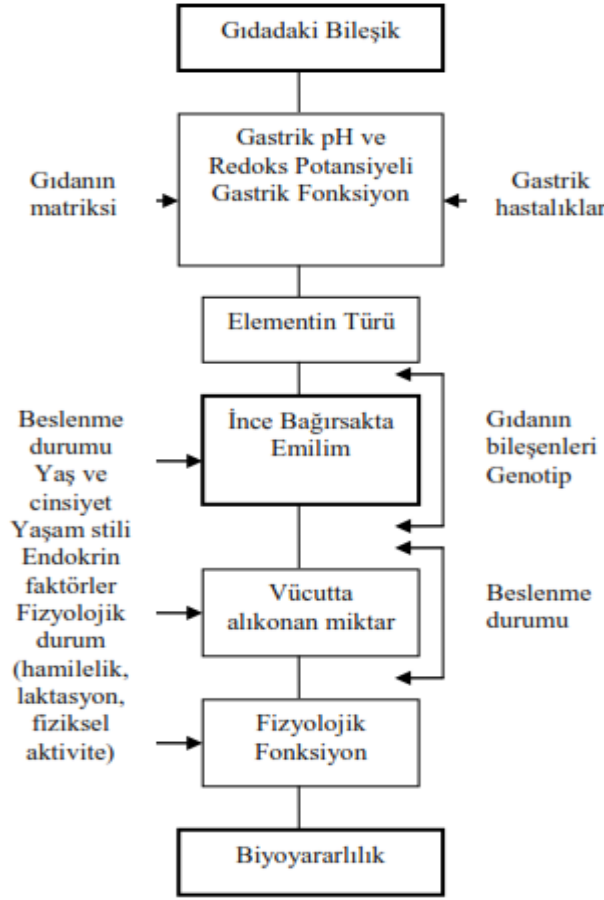
Metabolizmanın biyokimyasal ve fizyolojik etkilerinin araştırılması amacıyla gerçekleştirilen *in vitro* çalışmalarda insan vücudundaki metabolik olaylar enzimler kullanılarak sıcaklık, süre gibi parametreler ayarlanarak gerçeğe uygun şekilde modellenmektedir. Mide- bağırsak gibi parametreler ayarlanarak gerçeğe uygun biçimde modellenmektedir. Mide- bağırsak sindirim çalışmalarında ilk basamak olarak gastrik (mide) sindirimi simüle etmek amacıyla pepsin-HCl sindirim uygulanmaktadır. Bu aşamayı takiben safra tuzlarıyla pankreatik sindirim gerçekleştirilmektedir. Burada ince bağırsaktaki koşulların sağlanmasına dikkat edilmektedir (Walle ve diğ., 2003).

- Gıdanın hazırlanması
- Yapay mide sindirimi
- Yapay bağırsak sindirimi
- İzolasyon → santrifüj ve filtrasyon → HPLC

In vitro modeli ve CaCo-2 Hücre Modeli Kombinasyonu Modeli ise; *in vitro* sindirimden sonra elde edilen antosiyanin içeren sulu fraksiyonun izole edilerek filtre edilmesini ve seyreltilerek membranlar üzerindeki farklılaşmış Caco-2 hücrelerinin apikal tarafında eklenmesini kapsamaktadır.

Besinlerin biyolojik etkileri, biyoyararlılıklarıyla yakından ilişkilidir. Biyoyararlılığı etkileyen temel etkenler; mikrobelerin kimyasal yapısı, bağırsak lümeninde emilim için yarışan diğer kimyasal bileşikler, besinin yapısında bulunan diğer öğeler (Fitatlar gibi), diğer besinlerin bağlayıcılıkları, bağırsaktan geçiş süresi ve enzim aktivitesidir. Besin öğeleri de birbirlerini etkileyebilir, bu etki sinerjik antagonistik veya eşik düzeyde olabilmektedir (Tek ve diğ., 2008). Örneğin çiğ sebzelerle birlikte alınan karotenoidlerin, yağda çözünür olmaları, sulu sistemde çözünmemeleri

nedeniyle biyoyararlılıkları % 10'un altındadır (İlyasoğlu ve El, 2010). Biyoyararlılığı etkileyen faktörler Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1: Biyoyararlılığı etkileyen faktörler (Ercan ve El, 2010)

Flavonoidlerin biyoyararlılığını etkileyen faktörlerin incelendiği bir çalışmada (Güven ve diğ., 2010) antioksidanın insanlardaki biyoyararlılığını etkileyen faktörler, antioksidana, gıdaya/hazırlama şekline, kişinin özelliklerine bağlı ve dış faktörler olmak üzere dört başlıkta incelenmiştir.

Antioksidana bağlı etkenler,

- Kimyasal yapısı, bağlı bulunduğu sınıf
- Türü veya formu
- Gıdadaki konsantrasyonu
- Vücuda alınan miktar
- Diğer maddelerle etkileşimi

Gıdaya/Hazırlama Şekline Bağlı Faktörler,

- Gıda matrisinin özellikleri
- Gıda işleme yöntemi
- Yağ, protein, lesitin gibi emilimi olumlu yönde etkileyen maddelerin varlığı
- Lif, şelatlama ajanları gibi emilimi olumsuz yönde etkileyen maddelerin varlığı
- Depolama süresi

Kişinin Özelliklerine Bağlı Faktörler,

- Kişinin geçirmiş olduğu rahatsızlıklar
- Yaşı ve cinsiyeti
- Genetik ve hormonal özellikleri
- Beslenme ve antioksidan durumu
- Bağırsağın mikroflorası ve HCl ve enzim salgılanması
- Bağırsaktaki enzim aktivitesi

Dış Faktörler,

- Farklı ortamlara maruz kalma
- Gıdanın temin edilebilirliği

olarak bağlı etmenler alt başlıklarına ayrılabilir (Güven ve diğ., 2010).

2.5.2. Narın biyoyararlılığı

In vitro yöntemle nar suyunda yapılan biyoyararlılık çalışmasında, mide sindirimi sonrasında antosiyanin konsantrasyonunda %10'luk bir artış gözlemlenirken, ince bağırsak sindirimi sonrasında konsantrasyonda önemli derecede azalma belirlenmiştir. Antosiyanin konsantrasyonundaki bu artış midenin pH'sının 2 olmasından ileri gelmektedir. Pankreatin safra tuzu ile sindirim sonrasında toplam sindirilen antosiyanin fraksiyonu %2,4 sindirilmeyen fraksiyon ise %15,3 olarak bulunmuştur. Bu durumda pH 2'ye ayarlandığında hem sindirilen (%22) hem de sindirilmeyen kısım (%48) fraksiyonlardaki antosiyanin konsantrasyonunun arttığı gözlemlenmiştir (Perez-Vicente ve diğ., 2002). Antosiyaninlerin bazı renksiz bileşiklere metabolize olması, oksidasyonu ve diğer kimyasal bileşiklere dönüşmesi bu durumun neden olduğu belirtilmiştir (Lapidot ve diğ., 1998; Perez-Vicente ve diğ., 2002).

2.5.3. Antosiyaninlerin ve fenolik asitlerin biyoyararlılığı

Biyoyararlılık çeşitli yollarla tanımlanır. Biyoyararlılığın kabul edilen tanımı, normal yollardan metabolize edilen, absorbe edilen, sindirilebilen besinlerin emilim oranıdır. Sonuç olarak, bir gıda veya besin desteğinin içerisinde incelenen besin ögesinin ne kadar bulunduğundan çok ne kadar biyoyararlılığı olduğu daha önemlidir. Biyoyararlılık, mide-bağırsak sisteminden emilen biyoaktif komponentlerin oranıdır.

Fenolik bileşenler aglikon veya glikozitler şeklinde bulunmakta olup, fenolik glikozitler bağırsağa girmeden önce şeker kısmından ayrılmakta iken, aglikonlar hücre membranlarından serbestçe geçebilmektedir. Emilen fenolik bileşenler karaciğere taşınmakta ve çok çeşitli metabolik reaksiyonlara maruz kalarak glukuronitler, sülfatlar ve metilenmiş türevleri gibi çeşitli konjugasyon formlarına dönüşmektedir. Bazı çalışmalarda, fenolik bileşenlerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden bu konjugatların sorumlu olduğu ortaya konmaktadır (Viskupicova ve diğ., 2008). İnce bağırsakta bulunan ve fenolik glikozitleri parçalama görevi gören enzimler, laktaz ve beta-glikozidazdır. Önceleri, sadece flavonoid aglikonların bağırsak duvarından geçebildiği, buna karşın β -glikozidik bağları parçalayabilen enzimlerin mide-bağırsak ve bağırsak duvarında salgılanmadığı sanılmaktaydı. Daha sonra yapılan çalışmalar ise, aglikonların yanında glikozitlerinde ince bağırsaktan dolaşım sistemine katılabildiğini göstermiştir. Flavonoid glikozitler genellikle emilim öncesinde lümen ve bağırsak hücrelerinde parçalanmaktadır. Antosiyaninlerde ise durum biraz daha farklı olup, bu maddelerin glikozit yapılarını koruyarak glukurono, sulfo veya metil türevlere parçalanmaksızın, sindirim sisteminden doğrudan dolaşım sistemine geçebilmektedir (Milbury ve diğ., 2002; Miyazawa ve diğ., 1999; Shimo ve diğ., 1988).

Mide-bağırsak sistemindeki *Streptococcus faecium* ve *Escherichia coli* HGH21 gibi bakteriler tarafından üretilen beta-glukozidaz ve alfa-ramnozidaz enzimlerinin fenolik glikozitleri parçaladığının bilinmesine karşın tanımlanmamış diğer bakterilerin de önemli olabileceği vurgulanmaktadır (Erlund, 2004).

Hem insanlarda hem de hayvanlarda antosiyaninler glikozit formunda absorbe edilirler. Araştırma yapmak amacıyla insanlara günlük 2,69 g porsiyonlar halinde siyah ahududu örnekleri verilmiştir. Siyah ahududu örneklerine ait 4 çeşit antosiyaninin ağız yoluyla tüketiminden sonra maksimum pik plazma seviyesine 2

saat sonra ulaştığı görüşmüştür ve bunların plazmadan eliminasyonu ise birinci dereceden kinetik şeklinde gerçekleşmiştir. Ahududu alımından 4-8 saat sonrasında, sindirim sonunda bu antosiyaninlere idrarda bozulmamış glikozit formunda ve metillendirilmiş türevleri halinde rastlanmıştır. Genel olarak, alınan antosiyaninlerin %1'den daha azı absorbe edilir ve idrarla dışarı atılır (Wang ve diğ.,2008).

Açillenmiş antosiyaninler kopigmentasyon etkisine karşı daha stabil olmalarına karşın, sindirimde bu maddelerden az miktarda absorbe edilir. Açillenmiş glikozitlerin yapıları açillenmemişlere oranlara daha stabil olmasına karşın, *in vivo* sindirim sırasında açillenmemiş olanların absorpsiyonu açillenmişlere göre daha yüksek bulunmuştur. İdrardaki açillenmemiş antosiyaninlerin miktarı açillenmişlerden 8 kat fazla bulunmuştur (Netzel ve diğ.,2007).

Eşit toplam antosiyanin miktarına sahip olan yaban mersini ve mürver meyvelerikadınlara verilmiş ve idrar örnekleri incelenmiş. Yaban mersini tüketen kişilerin idrarındaki antosiyanin miktarı mürveri tüketenlere kıyasla daha düşük bulunmuştur. Bu da farklı meyvelerin vücuttaki absorpsiyonunun farklı olduğunu ve yaban mersinin daha az biyoyararlı olduğunu göstermiştir (Milbury ve diğ., 2002)

Miyazawa ve diğ., (1999), sıçan karaciğerinde metilli açillenmiş antosiyanin miktarının normal formundan daha fazla olduğunu tespit etmiş fakat bu metille açillendirilmiş forma plazmada ve idrarda rastlanmamıştır. Diğer yandan, Wu ve diğ., (2002), metille açillendirilmiş antosiyaninleri insan idrarında tespit etmiştir. Bunun yanında, mürver tüketiminden sonra insan idrarında antosiyaninlerin glukuronit konjugatı tespit edilmiştir. Milbury ve diğ., (2002) yaptığı çalışmada antosiyaninlerin insan idrarı ve plazmasında glikozit formda olduğunu tespit etmiştir. Bu da antosiyaninlerin değişmemiş glikozit formunda da absorbe edilebildiğini göstermektedir.

Birçok hayvansal çalışmada bozulmamış glikozit formda absorbe edilen antosiyaninler bulunmuştur ve dolaşım sistemine hızlı bir şekilde 0.25-2 saat içerisinde ulaştığı belirlenmiştir. Çıkan idrarın analizleri yapılmış ve bu sonuçlar biyoyararlılığın belirlenmesinde kullanılmıştır. Fareler üzerinde yapılan çalışmada frenk üzümü antosiyaninlerinin doğrudan kanda emildiği belirlenmiş ve idrarda antosiyaninlerin glikozit formda bulunduğu belirlenmiştir (Matsumoto ve diğ, 2001).

Böğürtlen antosiyaninlerinin idrarda metilli açillenmiş formda belirlenmiş, ancak; aglikon ve konjuge formda belirlenememiştir. Bunun yanı sıra, kalın bağırsakta antosiyaninleri parçalamaya adapte olan mikroorganizmalar sayesinde antosiyaninler kalın bağırsakta düşük düzeylerde aglikon yapısında belirlenmiştir (Felgines ve diğ., 2002).

Antosiyaninler üzerine gastrointestinal sistemin üst kısmı ve tükürük kısmının etkisi konusunda bilgi bulunamamıştır. Gastrointestinal bölgenin farklı mikrobiyal yapıda olması ve farklı pH da bulunması antosiyanin bileşenlerinin yapılarının değişmesini sağlayabilmektedir. Mide pH seviyesinin 1-2 aralığında olması; antosiyaninlerde en stabil form olarak bilinen flavilyum katyonlarının korunmasını sağlar. *In vitro* sindirim çalışmalarında mide kısmında antosiyaninlerin stabilitesini koruduğu görülmüştür. Bu durumun aksine, ince ve kalın bağırsak sindiriminde nötral pH olduğu bilinmektedir. Bu nötr pH' antosiyaninlerin çoklu moleküler formda bulunmasına ve daha az stabil olmasına neden olmuştur. Ayrıca, kolondaki mikrobiyal populasyon, antosiyaninlerin moleküler yapısının değişmesine neden olmuştur. Yapılan çok az sayıda çalışma bulunmasına rağmen, Keppler ve Humpf (2005) yaptığı çalışmada; domuz bağırsağından izole edilen mikrofloranın *in vitro* sindirim modelinde kullanılarak, antosiyaninlerin modifiye olabildiği gösterilmiştir.

İzoflavonlarda aglikon formunun glikozit forma göre daha yararlı ve daha stabil olduğu tespit edilmiş fakat antosiyaninlerde bu durumun tersine glikozit formun daha yararlı ve daha stabil olduğu belirlenmiştir (Sepehr ve diğ., 2007).

İdrarda antosiyaninler glikozit (veya glukuronit) formda tespit edilmişlerdir. Antosiyanin aglikonlarının bağırsaklardaki pH derecelerine dayanıksız olmaları ve emilim gerçekleşmeden önce bozulmaları bu durumun nedeni olarak gösterilmektedir (Çapanoğlu ve diğ., 2008). Miyazawa ve diğ., (1999) yaptığı çalışmaya göre diğer fenoliklerden farklı olarak antosiyaninlerin yapısında bulunan flavilyum katyonunun, antosiyaninleri bakteriyel hidrolize karşı stabilize ettiğini tespit etmiştir.

Beş farklı antosiyanin incelenmiş ve bu antosiyaninlerin bağırsak mikroflorasına uygulanması sonucu hızlı bir şekilde deglikolizasyon ve demetilasyon reaksiyonlarıyla kendilerine karşılık gelen aglikonlara karşılık geldiği gözlenmiştir. Aglikonlar nötral pH da stabil değildirler ve hızlıca C-halkasına parçalanması sonucu

kendilerine karşılık gelen fenolik asitlere ve aldehitlere parçalanırlar (McDoughall ve diğ., 2005).

Antosiyaninlerin, suda çözünürlükleri yüksek, büyük moleküller oldukları için hücreler tarafından emilimleri ya da hayvan ve insan dolaşım sistemine geçme olasılıklarının düşük olduğu düşünülmektedir. Buna rağmen yukarıda tartışılan biyoyararlılık verileri antosiyaninlerin belirgin bir biçimde sindirim sisteminde emildiğini, dolaşım sistemine geçtiğini ve üreyle beraber atıldığını göstermektedir. Antosiyaninlerin absorpsiyonunu ve biyoyararlılığını inceleyen pek çok çalışma olmasına rağmen, diğer flavonoidlerle kıyaslandığında antosiyaninlerin emilim ve taşınması mekanizmaları hakkında bilinenler yeterli değildir (McGhie ve diğ., 2007).

Fenolik bileşenler sodyum bulunan ortamda hücre ortamına alınırken aglikonlar ve fenolik asitler etkilenmezken flavonoid glikozitler ve glikozit olmayan polifenoller parçalanma gösterirler (Johson ve diğ., 2005).

Hollman ve diğ., (1995) tarafından dokuz ileostomi hastası üzerinde yapılan bir çalışmada kuersetin flavonoidinin emilim derecesi incelenmiştir. On iki günlük kuersetin içermeyen diyetin ardından kişiler 12 gün boyunca kızartılmış soğan (kuersetin glikozit), saf kuersetin rutinozit (çayda bulunan temel kuersetin glikozit) veya 100 mg saf kuersetin aglikonu içeren diyetler ile beslenmek üzere rastgele gruplandırılmıştır. Çalışmanın sonucunda, kuersetin aglikonun emiliminin %24, soğandaki kuersetin glikozitlerinin emiliminin ise %52 olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, şeker kısmının emilimi arttırdığını ortaya koymaktadır.

2.5.4. Biyoyararlılığa matris etkisi

Gıda kaynaklı flavonoidlerin emilimi ile ilgili olarak üzerinde durulması gereken bir diğer konu da bu maddelerin birlikte tüketildikleri matristen nasıl etkilendiğidir (Yang ve diğ., 2011).

Larkin ve diğ., (2006) yaptıkları çalışmada; yüksek miktarda soya içeren diyetle probiyotik yoğurt ve dirençli nişastanın diyetle ilavesi ile izoflavon biyoyararlılığında değişim olmadığı belirlenmiştir. Dirençli nişasta sindirilmeden kolona kadar ulaşması ve kolondaki bakteriler tarafından sindirilmesi sebebiyle prebiyotik olarak değerlendirilmiştir.

Hasni ve diğ., (2011) α -kazein, β -kazein ve çay polifenolleri arasında zayıf bir bağ olduğunu rapor etmiştir. Bu çalışmada; kateşin, epikateşin, epigallokateşin ve epigallokateşin gallat arasında α -kazein, β -kazein ile oluşan bağ özellikleri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda yüksek düzeyde hidroksil (OH) içeren grupların bağlanmaya daha yatkın olduğu görülmüştür (Kateşin > Epikateşin>Epigallokateşin> Epigallokateşin gallat). Buna ilave olarak, β -kazein fraksiyonunun α -kazein fraksiyonuna göre daha güçlü bağ oluşturduğu görülmüştür.

Dupas ve diğ., (2006) kahve örneklerinde süt ilavesinin antioksidan aktivite üzerine yaptığı çalışmada, kahve örneklerinin antioksidan aktivitesi üzerine süt ilavesinin etkili olmadığını görmüştür. Bunun yanı sıra sütteki yağ miktarında antioksidan aktivite üzerine etkisinin olmadığı görülmüştür. Sharma ve diğ. (2007) yaptıkları çalışmada, çaya süt ve şeker ilavesinin antioksidan aktivite üzerine etkileri incelenmiştir. Çay+süt, Çay+süt+şeker, çay+şeker karışımları karşılaştırıldığında en yüksek antioksidan aktivite siyah çayda görülmüştür. Langley-Evans (2000) çaya süt ilavesinin antioksidan kapasitesi üzerine önemli bir etkisi olduğunu belirlemiştir. *In vitro* çalışmada, yağlı süt, yarım yağlı süt ve yağsız süt ilave edilen yaban mersini ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri incelenmiştir. Yağlı süt ilavesi ile antioksidan kapasitesinin azaldığı ve en yüksek inhibisyonu gösterdiği görülmüştür (Serafini ve diğ., 2009).

Yüksek yağlı diyetle alınan antosiyaninler (püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş mürver suyu antosiyaninleri) alımından 2 saat sonra gözlenebilmiş ve yüksek yağlı diyet antosiyaninlerin mideden geçiş hızını yavaşlatmıştır. 1 saat içinde plazmada maksimum seviyesine ulaşmıştır.

Saura-Calixto vve diğ., (2007) yaptığı çalışmada İspanya'ya özgü yemek çeşitleri bir araya getirilerek karışım hazırlanmıştır. Bu karışıma *in vitro* digestion metodu uygulanmış ve polifenol miktarlarına bakılmıştır. Polifenol miktarlarının %48'inin kolona geçtiği belirlenmiş, %42'sinin ise ince bağırsağa geçen kısım olduğu belirlenmiştir.

Siyah çay (49 mg kuersetin) veya kızartılmış soğan (13 mg kuersetin) kullanılarak yapılan bir çalışmada ise 15 sağlıklı birey kullanılmış ve çalışmanın sonunda kuersetinin emildiği, ancak çayda gerçekleşen emilimin soğana göre yarı yarıya düşük olduğu görülmüştür (De Vries ve diğ., 1988).

In vitro sindirim sistemi modeli kullanılarak ahududu ekstraktlarının biyoyararlılığının incelendiği çalışmada (Mcdougall ve diğ., 2005) enzimler kullanılarak gastrointestinal sistemdeki değişiklikler simüle edilmiş ve antosiyanin ve diğer fenolik bileşiklerin metabolik faktörlerden nasıl etkilendiği ortaya konulmuştur. Çalışma sonuçlarına göre; ahududu ekstraktlarındaki fenolik bileşikler iki farklı kısımda incelenmiştir: 1) Gastrik sindirim sonrası kalan madde ve seruma geçen kısım (IN), 2) gastrointestinal kanalda kalan ve kolona geçen kısım ise OUT olarak tanımlanmıştır. Buna göre antosiyanin miktarının %5'i seruma geçerken, %70'lik kısım ise çıkan kısımda yer almıştır. Ahududu ekstraktlarının ekmek, kahvaltılık hububat, dondurma ve pişmiş biftek gibi bazı yaygın gıdalarla birlikte *in vitro* sindiriminin incelendiği çalışmada önemli verilere ulaşılmıştır. Seçilen gıdalar örnekleri öğütülerek ekstraktlarla karıştırılmış ve bu şekilde *in vitro* işlemlere maruz bırakılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, gastrointestinal kanaldan çıkan fenolik bileşik miktarları kontrol ekstraktlarına göre azalırken, antosiyanin miktarlarının etkilenmediği ve bazı durumlarda arttığı görülmüştür (Mcdougall ve diğ., 2005).

Çileğin kremalı ve kremasız tüketilmesi durumunda pelargonin-3-o-glukozit biyoyararlılığının incelendiği bir çalışmada çileğin krema ile tüketilmesinde biyoyararlılığı daha yüksek bulunmuş, bunun nedeni olarak da kremadaki yağın çileğin metabolizmada daha uzun süre tutulmasını sağlamasına dayandırılmıştır (Mullen ve diğ., 2008).

Lee ve diğ., (2000) çalışmalarında domates ürünlerindeki likopenin sağlık faydalarının antioksidan aktivite ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür. Diyetle alınan ağların likopenin emilimini etkileyerek onun plazma düzeyini ve antioksidan aktivitesini etkilediği raporlanmıştır. Domates ürünlerinin zeytinyağı ile birlikte tüketimi plazma antioksidan aktivitesini önemli ölçüde arttırırken, ayçiçeği yağı kullanıldığında hiçbir etki gözlenmemiştir.

2.6. Gıdaların Sindirimi

Emilim süreci, besin ögesinin epitel hücreleri tarafından ince bağırsak lümeninden çekilmesi, besin ögesinin transferi ve diğer doku ve organlara taşınmasını içerir. Son çalışmalar ile gıdalarla alınan besin öğelerinin tamamının biyolojik olarak kullanılmadığı ortaya konmuştur. Biyoyararlılık hem beslenme modelinden hem de onunla ilişkili faktörlerden etkilenir. Biyoyararlılık, gıdanın fiziksel özelliği,

kimyasal bileşimi ve bireysel sindirim kapasitesi gibi birçok nedene bağlı olarak değişir (Ercan ve El, 2010).

2.6.1 Karbonhidratların sindirimi

Gelişmiş ülkelerde yetişkin bir insan, günlük kalori gereksiniminin yaklaşık %40-50 gibi büyük bir kısmını karbonhidratlardan sağlamaktadır. Günde yaklaşık 300 g karbonhidrat alınır ki bunun büyük bir bölümünü nişasta (~160 g) ve sakkaroz (~120 g) oluşturmaktadır. Ayrıca bir miktar laktoz (~30 g) ve glukoz ile fruktoz (~10 g) da alınır. Bitkisel besinlerle bol miktarda selüloz, nişasta ve sakkaroz alınır; hayvansal besinlerle ise glikojen ve laktoz alınır (Akyüz ve diğ., 2009).

Karbonhidratların sindirimi ağızda başlar. Nişasta ve glikojen tükürükteki α -amilaz etkisiyle ağızda enzimatik olarak parçalanmaya başlar. Parotis bezinden salınan amilaz vasıflı pityalin enzimi, nişastayı maltoz ve küçük glukoz polimerlerine hidroliz eder. Besin içeriği ağızda çok kısa süre kaldığı için az miktarda hidroliz gerçekleşebilir. Midenin korpus ve fundus bölgelerinde karbonhidrat sindirimi, gastrik sekresyona bağlı düşük pH'nın tükürük kaynaklı amilaz aktivitesini baskılamasına dek devam eder. Bu zamana kadar nişasta içeriğinin yaklaşık 1/3 ü hidrolize uğrayarak maltoza dönüşmüş olur. Duodenuma ulaşan pankreatik sekresyondaki yüksek amilaz içeriği nedeniyle duodenum nişasta sindiriminin en çok yapıldığı yerdir. Amilaz, neredeyse tüm nişasta moleküllerini maltoz ve küçük glukoz polimerlerine hidrolize eder. İnce bağırsak enterositlerindeki mikrovillusların fırçamsı kenarları laktaz, sükras, maltaz ve α -dekstrinaz enzimlerini ihtiva eder. Bu enzimler disakkaritleri monosakkaritlere dönüştürür. Monosakkaritler ve disakkaritler emilen karbonhidratların başlıca yıkım ürünleridir. Nişastanın yıkım ürünü olan glukoz, en fazla miktarda elde edilen karbonhidrattır. Süt kaynaklı galaktoz ve fruktoz diğer iki önemli monosakkarit kaynaklarıdır. Glukoz Emilimi, Na aktif taşınmasına bağımlı kotransport mekanizmasıyla gerçekleşir. Glukoz enterosit içine girdikten sonra kolaylaştırılmış difüzyon ile interstisyuma geçer. Galaktoz da benzer mekanizmayla emilir. Fruktozun enterosit içine ve dışına transportu sadece kolaylaştırılmış difüzyonla olur. Kolaylaştırılmış difüzyon aktif bir olay olmadığından fruktoz taşınması, glukoz ve galaktoz taşınmasının yaklaşık yarısı kadardır (Akyüz ve diğ., 2009).

2.6.2 Yağların sindirimi

Besin maddelerinin büyük bir kısmı önemli oranda lipid içerir. Lipidler yağlı yiyecek ve içeceklerde, ette bulunurlar ki günlük diyet 15-40 g kadar lipid içerir. Diyetteki lipidlerin büyük çoğunluğu trigliserid, az bir kısmı da fosfolipid, kolesterol ve kolesterol esteridir (Altınışık, 2012).

Trigliseritler, diyet kaynaklı yağın temel formudur. Lingual bezler tarafından salgılanan lingual lipaz enzimi, midede az miktarda da olsa yağ sindirimi yapar. Neredeyse tüm yağ emilimi ince bağırsaklarda gerçekleşir. Mide kontraksiyonlarının yardımıyla emulsifikasyon gerçekleşir. Böylece yağ globüllerinin küçük moleküllere parçalanarak suda çözünebilen sindirim enzimleriyle olan teması artırılması hedeflenir. Safra salgısı, emulsifikasyonun gerçekleşmesinde önemli katkıya sahiptir. Safra içeriğindeki yağ asitleri ve lesitin, yağ globüllerini daha küçük parçalara ayırarak geniş yüzey alanı oluşturur. Pankreatik lipaz, trigliserit sindiriminden sorumludur. Trigliseritleri, yağ asitleri ve 2-monogliseridlere hidrolize eder. Safra tuzları, emulsifikasyonu sağlamalarının yanı sıra misel formasyonu oluşumuna yardımcı olur. Böylece yağ asitleri ve monogliseritler polarize kürecikler içinde taşınabilirler. Misel oluşumları, enterositlerin fırçamsı kenarına ulaştıklarında monogliserit ve serbest yağ asitleri difüzyon yoluyla derhal enterosit içine girerler. Enterosit içinde endoplazmik retikulumda tekrar birleşerek trigliseritleri oluştururlar. Trigliseritler, Golgi cisimciğinde kolesterol ve fosfolipidlerle birleşerek şilomikron adı verilen polarize globülleri oluştururlar. Şilomikronlar, golgi cisimciğinden eksositoz ile salgılanır ve lenf akımına karışırlar. Lenf sistemindeki şilomikronlar, duktus torasikus vasıtasıyla boyun venlerine dökülerek sistemik dolaşıma katılırlar. Yine fizyopatolojiden de anlaşılacağı gibi yağların emilim ve sindirimi karaciğerin parankimal hastalıkları, obstrüktif biliyer hastalıklar, pankreas hastalıklarında, hipertiroide (hızlı pasaj) ve lenfatik obstrüksiyonda sıklıkla görülür. Özellikle lenfatik blokaj vakalarında unutulmaması gereken bir bilgi vardır. Orta zincirli yağ asitleri (C₆-C₁₀ karbonlu yağ asitleri) şilomikron yapısına girmeden, direkt enterositlerden portal vene geçerek karaciğere ulaşırlar. Bu özellikle lenfatik blokajda (intestinal lenfanjiektazi gibi) yağ metabolizmasını düzeltmede yararlı bir diyet faktörü olarak değerlendirilir (Akyüz ve diğ., 2009).

Lipidlerin ince bağırsakta sindirilmelerinin sonunda ince bağırsaktaki misellerde az miktarda trigliserid, bol miktarda 2-monogliserid, yağ asidi, gliserol, fosfolipid,

serbest kolesterol ve safra tuzları bulunur. Bunların %95'i ileumdan pinositoz veya pasif diffüzyonla emilerek ince bağırsak mukoza hücresi içine geçerler.

İnce bağırsak mukoza hücresinde yağ asitleri, koenzim A ile aktifledikten sonra 2-monogliseridlerle esterleşirler ve tekrar trigliserid oluştururlar. Az miktarda emilen 1-monogliseridler de, pankreatik lipazdan farklı bir lipaz etkisiyle gliserole parçalandıktan sonra trigliserid sentezi için kullanılırlar.

İnce bağırsak mukoza hücresinde 2-monogliseridlerden oluşan ekzojen trigliseridler, az miktarda serbest kolesterol, kolesterol esteri ve fosfolipid ile biraraya gelirler; bir protein tabakasıyla da kaplanarak suda çözünabilir ve transport edilebilir şilomikronları oluştururlar. Şilomikronlar da lenf sistemi yoluyla dolaşıma katılırlar.

Diyetle alınan fosfolipidler, doğrudan doğruya emilebilirler. Ayrıca lipid emilimi sırasında bağırsak duvarında fosfolipid sentezi de artmaktadır.

Kolesterolün %85-90'ı da bağırsak mukoza hücresinde tekrar esterleştirilir. Yağ asitlerinin 12 karbondan daha fazla uzunlukta olanları esterleşmiş olarak lenf sistemine geçtikleri halde 12 karbondan daha az uzunlukta olanları vena portaya geçerler. Doğrudan doğruya emilen gliserol ve fosfolipidler de vena portaya geçerler (Altınışık, 2012).

2.6.3 Proteinlerin sindirimi

70 kg ağırlığında bir erişkin insan için günde yaklaşık 75 g kadar protein gerekmektedir. Hayvansal gıdalar ve baklagiller gibi bitkisel gıdalarla alınan proteinler, midede ısı ve HCl etkisiyle denatüre olurlar (Altınışık, 2012).

Proteinler, peptid bağlarıyla bağlanmış aminoasit topluluklarıdır. Protein sindirimi midede esas hücreler tarafından sekrete edilen pepsin tarafından başlatılır. Pepsin, asidik mide ortamında en aktif durumdadır. Pepsin et kaynaklı gıdaların ana bileşeni olan kollageni sindirir. Pepsin aktivitesi tüm protein sindiriminin %20'nden sorumludur. Protein sindiriminin önemli bir kısmı, pankreatik proteolitik enzimlerce ince bağırsak proksimalinde gerçekleşir. Tripsin, kimotripsin, proelastaz ve karboksipolipeptidaz başlıca pankreas kaynaklı proteolitik enzimlerdir. Bu enzimler, proteinleri dipeptid, tripeptid ve farklı daha büyük moleküllere parçalarlar. Duodenum ve jejunum mikrovillus fırçası kenarlarında bulunan peptidazlar polipeptidleri dipeptid, tripeptid ve aminoasitlere sindirir. Enterosit içine emilim Na

kotransportuyla beraber gerçekleşirken bazı aminoasitler Na kotransportundan bağımsız şekilde kolaylaştırılmış difüzyonla emilirler. Enterosit içine alındıktan sonra kalan dipeptid ve tripeptidler aminoasitlere hidrolize edildikten sonra kana karışırlar. Sonuç olarak proteinlerin emilimi ve sindirimi klinik olarak kronik pankreatitte, edinsel laktaz eksikliği, yaygın mukozal hasarda (çölyak, Crohn hastalığı), venöz staz ve obstrüksiyonda (solid tümör, lenfoma) ve otonomik nöropatide bozulur (Akyüz ve diğ., 2009).

İnce bağırsak lümenindeki amino asitlerin hemen hemen hepsi intestinal villuslerin hücreleri tarafından emilirler ve çoğu portal kana geçerek karaciğere taşınırlar. Karaciğere gelen amino asitlerin bir kısmı, diğer organların ve dokuların gereksinimini karşılamak için sistemik kan dolaşımına geçer. Amino asitler çoğunlukla ince bağırsağın orta kısmından emilirler. Günlük amino asit emilim kapasitesi 200 gram kadardır (Altınışık, 2012).

2.6.4 Diğer bileşenlerin sindirimi

Elementlerden Na, K, Cl, Ca, P ve Mg, diğerlerine göre daha büyük miktarlarda, kanda % mg düzeyinde bulunurlar ve makro elementler (majör elementler) diye bilinirler. Cu, Fe, Co, I, Se, Mn, Mo, Cd, Cr, Zn, F ve S, diğerlerine göre daha az miktarlarda, kanda % µg düzeyinde bulunurlar ve iz elementler (minör elementler) olarak bilinirler; daha çok enzim, hormon ve vitaminlere bağlı olarak görev yaparlar (El, 2006).

Su, enterositlere difüzyon yoluyla girmektedir; kimusun konsantrasyonuna göre iki yönlü transportu mümkündür. Kimus dilüe ise, su hücre içine girerken; kimus konsantre içerikteyse su, kimus konsantrasyonunu plazma ile izoosmolar hale getirecek şekilde hücreden dışarı çıkar. Sodyum hücre içine difüzyon yoluyla girer; bazolateral membrandan aktif transport yoluyla interstisyuma geçer. Su, sodyum gradyentini takip edecek şekilde hücreler içinde ve paraselüler alanda hareket eder. Sodyum emilimi aldosteron tarafından düzenlenir. Aldosteron düzeyi, dehidratasyon varlığında artar. Aldosteron; sodyum, klor ve su emilimini artırır; böylece feçes ile sodyum kaybı engellenir, su kaybı minimal düzeylere iner. Pankreas ve safra salgıları ile sekrete olan bikarbonat CO₂ olarak kana geri emilir (Akyüz ve diğ., 2009).

Vitamin B₁₂ dışındaki suda çözünen vitaminler ince bağırsağın üst kısmından emilirler. Yağda çözünen vitaminler lipidlerle birlikte emilirler (El, 2006).

Kalsiyum, paratiroid hormon ve D Vitamini kontrolünde duodenumdan emilir. Demir, ince bağırsaktan aktif olarak emilir. A, D, E ve K vitaminleri yağ çözünür vitaminler olup terminal ileumdan emilirler. Kalın bağırsak günde 7 litreye varan sıvı emilim kapasitesine sahiptir. Henüz emilmemiş olup kolona ulaşan sodyum ve klor iyonları, proksimal kolonda emilirler. Kolon, klor emilimi yaparken lümene bikarbonat sekrete eder. Devam eden sodyum ve klor absorpsiyonu, su emilimi için gerekli olan osmotik gradienti sağlar (Akyüz ve diğ., 2009).

3.MALZEMELER VE YÖNTEMLER

3.1 Malzemeler

Nar meyveleri İstanbul'dan iki farklı süpermarketten temin edilmiştir. Modellerdeki gıda matrisini oluşturmak amacıyla seçilen gıda maddeleri; bitkisel yağ, yağsız (%0.1) süt, yağsız kıymadan hazırlanmış pişmiş et, ekmek, yağsız yoğurt (%0.15), Activia probiyotik yoğurt, elma, limon suyu, bal, soya sütü, krema ve haşlanmış soya fasulyesi süpermarketten temin edilmiştir. Gıda matrisini oluşturmak için belirlenen gıda bileşenleri; buğday proteini (Doruk Marmara Un Sanayi A.Ş.), soya proteini (Royal Gıda Dağıtım Paz. San. İç ve Dış Tic. Ltd. Şti), süt proteini (Milkon Süt Ve Gıda Mamülleri A.Ş. Sakarya), et proteini laboratuvar koşullarında et proteini izolasyonu yapılarak, laktoz, fruktoz, galaktoz ve glukoz (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya), NaCl tuzu (Merck), C vitamini (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya), nişasta (buğday nişastası), pişmiş nişasta laboratuvar koşullarında hazırlanarak, E vitamini, linoleik asit (Fluka, Buchs, İsviçre), selüloz (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya), sitrik asit (Merck) ve pektin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya) kimyasal ve gıda ingrediyenleri satan tedarikçilerden temin edilmiştir. Süpermarketlerden temin edilen nar meyveleri analizlere dek -80 °C depolanmıştır. Alınan gıda maddeleri ve bileşenlerinin her biri uygun depolama koşullarında depolanmıştır. *In vitro* sindirim metodu için gerekli diyaliz poşeti (Sigma-Aldrich Steinheim, Germany) temin edilmiştir. Bütün spektrofotometrik analizler ve HPLC analizleri için Vorteks-IKA karıştırıcı ve manyetik karıştırıcı kullanılmıştır. *In vitro* sindirim metodunda karıştırma işlemi, 37 °C'de çalkalamalı su banyosunda (Memmert) yapılmıştır.

3.2 Kimyasallar

Ekstraksiyon, HPLC analizleri ve potansiyel biyoyararlılığı belirlemek amacıyla; metanol ($\geq 99.9\%$), formik asit ($\geq 98\%$), sodyum karbonat (Na_2CO_3), sodyum

hidroksit (NaOH), hidroklorik asit (%37), sodyum asetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ve trifloroasetik asit (99%) Merck, Darmstadt, Almanya'dan temin edilmiştir.

Gallik asit ($\geq 98\%$), Folin-Ciocalteu fenol reaktifi, etanol ($\geq 99.8\%$), pepsin enzimi, pankreatin enzimi, safra tuzları, asetonitril (99.8%) ise Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Almanya) dan satın alınmıştır. Sodyum bikarbonat BDH Chemicals Ltd (Poole, UK) 'dan, potasyum klorür (KCl) Riedel-de Haen Laborchemikalien GmbH (Hanover, Almanya)'dan satın alınmıştır. HPLC standartları ise; gallik asit ($\geq 99\%$), (+), kateşin ($\geq 99\%$), kuromanin klorid (siyanidin 3-O-glukozit, $\geq 96\%$), pelargonin klorid (pelargonidin 3,5-di-O glukozit), siyanidin klorid (siyanidin 3,5-di-O-glukozit), delfinidin klorid (delfinidin 3-O-glukozit), delfin klorid (delfinidin 3,5-di-O-glukozit) Extrasynthese (Genay, Fransa) firmasından temin edilmiştir. P-kumarik asit ($\geq 98\%$), klorojenik asit ($\geq 98\%$), kuersetin-3-O-galaktoz ($\geq 98\%$), ferulik asit ($\geq 98\%$) Fluka Chemie (Buchs, İsviçre) firmasından alınmıştır. Kuersetin-3- β -D-glukozit ($\geq 98\%$) ve callistephin klorid (pelargonidin 3-O-glukozit) Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.3 Yöntemler

Antioksidan kapasitesi yüksek olan nar meyvesi diğer gıda maddeleriyle ve gıda bileşenleriyle, günlük tüketim dikkate alınarak, belirli oranlarda karıştırılarak *in vitro* sindirim metodu uygulanmıştır. *In vitro* sindirim metodu uygulanan biyoyararlılık örneklerine spektrofotometrik analizler ve HPLC analizleri yapılmıştır. Spektrofotometrik analizlerden toplam fenolik madde analizi ve toplam antosiyanin analizi örneklere uygulanmıştır. Numunelerin *in vitro* sindirim modelinde fraksiyonları: mide sonrası (PG), diyaliz tübüne girmeyen çözelti (OUT) ve diyaliz tübüne giren çözelti (IN) kısımlarına ve ekstraksiyon örneklerine hem spektrofotometrik analizler yapılmış hem de Ters Faz Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/Fotodiyot Dizisi Detektör (RP-HPLC/PDA) ile antosiyanin ve fenolik madde profili belirlenmiştir.

3.3.1 Diğer gıdaların ve gıda bileşenlerinin hazırlanması

Nar ile birlikte sindirim yöntemi uygulanacak olan gıda maddeleri; bitkisel yağ, yağsız (%0.1) süt, yağsız et, ekmek, yağsız yoğurt (%0.15), probiotik yoğurt, elma, limon suyu, bal, soya sütü, krema ve soya fasulyesi olarak belirlenmiştir. Bu gıda maddelerinden, bitkisel yağ, yağsız süt, yağsız yoğurt, probiotik yoğurt, limon suyu, bal, soy sütü ve krema herhangi bir ön işlem yapılmadan doğrudan ilave edilmiştir. Yağsız et; yağsız kıymadan 100 gr alınarak 20 dk orta ateşte kavrularak hazırlanmış, ekmeğin iç kısmı ayrılarak parçalanmış ve belirlenen miktarlarda karıştırılmıştır, elmanın ise kabuk kısmı ayrılmış iç kısmı rendelenerek işleme alınmıştır. Soya fasulyesi de 20 dk orta ateşte haşlanmış ve belirlenen miktarlarda nar meyvesi ile karıştırılarak *in vitro* sindirim yöntemi uygulanmıştır. Pişmiş nişasta ise yine buğday nişastasının 80 °C sıcaklığa ulaştıktan sonra 5 dk bekletilerek nişasta jelatizasyonu sağlanmış ve soğumaya bırakılmıştır. Et protein izolasyonu için Santiago et al.,(2005)'in kullandığı yöntem bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. 100 gr yağsız çiğ et alınıp üzerine 5 gr tuz (NaCl), 0.7 g tripolifosfat ve 30 gr buz ilave edilerek bir kapta homojen bir karışım elde edilene kadar karıştırılmıştır. Et protein izolasyonu 100 gr et kullanılarak çözünebilen et proteini içerisinde %2.2 w/w protein içerir (Santiago et diğ., 2005).

3.3.2 Nar meyvesinin hazırlanması

Nar meyvesi sıvı azot ile dondurularak öğütücü yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen örnekler -80 °C'de bekletilmiştir.

3.3.3 Ekstraksiyon

Ekstraksiyon yöntemi, hem nar meyvesinin ekstraksiyonu hem de *in vitro* sindirim metodu uygulandıktan sonra değişimleri belirlemek amacıyla uygulanmıştır. Sindirim sonrası fenolik madde ve antosiyanin miktarlarındaki değişimler ekstraksiyon sonuçları ile kıyaslanmıştır. Ekstraksiyon işlemi için Bino ve diğ. (2005) tarafından kullanılan metot modifiye edilip uygulanmıştır. Öğütülen nar meyveleriyle 2 paralel olacak şekilde çalışılmıştır. Her paralelden 1 g öğütülmüş nar, sıvı azot altında test tüplerinin içine tartılmıştır. Test tüplerinin içine 5 ml %0.1 formik asitli %75 metanol:su çözeltisi ilave edilmiş ve 1 dk karıştırılmıştır. Daha sonra 15 dk ultrasonik banyoda (Ultrasonik Temizleyici -VWR) ısınması engellenerek bekletilmiştir. Ultrasonik banyoda bekletildikten sonra 4000 rpm de 4

°C ‘de 10 dk santrifüj (Universal 32, Hettich Santrifugen Andreas Hettich GmbH Co, KG, Tuttlingen, Germany) edilmiştir. Bu işlem her bir paralel için 4 defa tekrarlanmıştır. Ekstraksiyon işlemine 20 ml ekstraksiyon çözeltisi elde edilene kadar devam edilmiştir. Ekstraktlar -20 °C’de analizleri yapılana kadar depolanmıştır.

3.3.4. Standartların hazırlanması

Nar meyvesinde yüksek miktarda bulunan antosiyanin bileşenleri belirlenmiş ve bu belirlenen antosiyanin bileşenlerinin standartlarına *in vitro* sindirim yöntemi uygulanmıştır. Bu standartlar; Delfin klorid (Delfinidin 3,5-diglukozit), kuromanin klorid (Siyanidin-3,5-diglukozit), siyanidin klorid (Siyanidin-3-glukozit), Pelargonin klorid (Pelargonidin-3,5-diglukozit) olarak belirlenmiştir. Bu standartlar 0.5 mg/ml oranında seyreltilmiş ve bu seyreltimden 2 ml alınarak *in vitro* sindirim yöntemi uygulanmıştır. Bu çalışmanın amacı ise; meyvede bulunan antosiyaninlerde *in vitro* sindirim metodu sonrası ne gibi değişiklikler olacağını görmek hangisinin kaybolup, hangisinin hangi forma dönüşeceğini belirlemektir

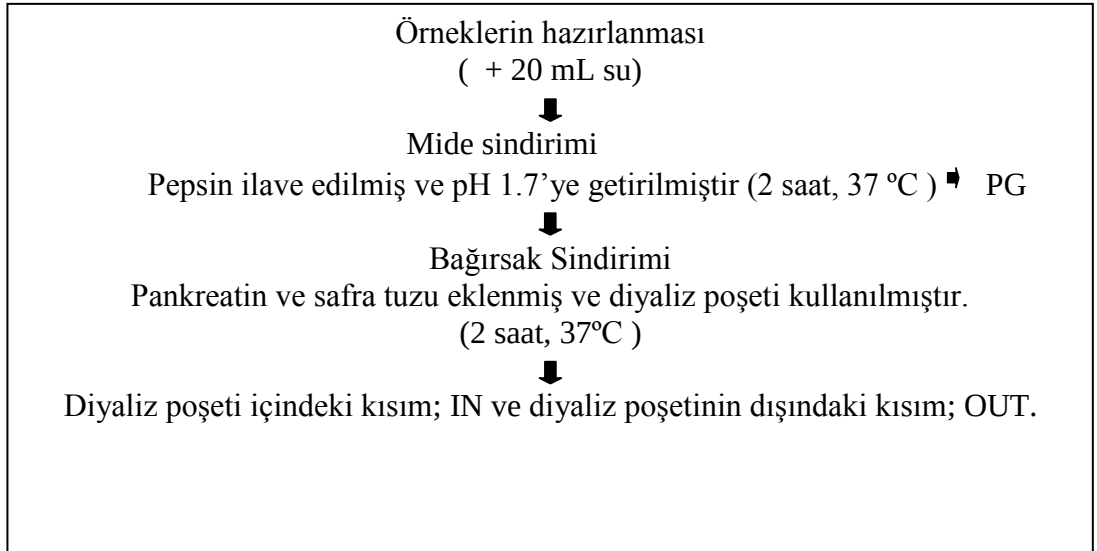
3.3.5 Potansiyel biyoyararlılığı belirlemek için *in vitro* sindirim metodu

Biyoyararlılık değerlendirilmesi için fitokimyasalın absorpsiyonu, metabolizması, doku ve organlarda dağılımı ve boşaltımı gibi verilere ihtiyaç duyulur. Hayvanlar veya insanlar üzerinde yapılan çalışmalar; pahalı ve karışık olmaları ve etik sorunları da gündeme getirmeleri nedeniyle diğer yandan bu tür hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda karşılaşılan emilim etkinliği ve alınan besinin metabolik kullanımı gibi konuların netlik kazanmamış olması nedeniyle tercih edilmemektedir (Güven ve diğ., 2010). *İn vitro* sindirim metodu ise proses edilmiş gıdalarda fitokimyasalların stabilitesini değerlendirmek amacıyla yapılan hızlı ve basit bir metottur (McDougall ve diğ., 2005).

In vitro sindirim metodu ilk önce Miller ve diğ. tarafından 1981 ‘de modifiye edilmiştir. Öncelikle IN kısmındaki demir miktarı ile *in vivo* yapılan çalışmalardaki kandaki demir miktarı karşılaştırılarak bir çalışma yapmıştır. Daha sonra bu metot meyvelerdeki fenolik maddeleri ve antosiyaninlerin biyoyararlılığını belirlemek amacıyla modifiye edilmiştir. Bu yöntemi kullanılarak Gil-Izquierdo ve diğ. (2001) portakal suyu için, Perez-Vicente ve diğ. (2002) nar suyu için, McDougall ve diğ. (2005a, 2005b) ahududu ve kırmızı şarap için, Vallejo ve diğ., (2004) brokoli için ve Fazzari ve diğ. (2008) dondurulmuş kirazlar için potansiyel biyoyararlılığı

belirlenmiştir. Diğer gıdalar ile birlikte sindirim yöntemi taklit edilen çalışmalar ise McDougall ve diğ. (2005)'nin ahududuya ekmek, dondurma, pişmiş et ile *in vitro* sindirim sistemi uyguladığı ve incelediği çalışmadır.

Biyoyararlılığı belirlemek için uygulanan *in vitro* sindirim metodu McDougall ve diğ., 'nin (2005) yaptığı çalışmadan örnek alınmıştır. Bu metot iki kısımdan oluşmaktadır. Bu iki yöntemden ilkinde mide sindirimi taklit edilmiş ikincisinde ise ince bağırsak sindirimi taklit edilmiştir. Mide kısmında uygulanan sindirim taklidi için pepsin-HCl iave edilerek 2 saat 37°C'de su banyosunda bekletilmiştir. Mide sindirimi için PG kısmından 2 ml lik örnek alınmıştır. İnce bağırsak kısmı için ise safra tuzu ve pankreatin ilave edilerek yine 2 saat 37°C'de su banyosunda bekletilmiştir. IN ve OUT olmak üzere yine 2 ml lik örnekler alınmıştır.



Şekil 3. 1: Potansiyel biyoyararlılık *in vitro* sindirim metodu (McDougall ve diğ, 2005).

In vitro sindirim yöntemi uygulanan çalışmada narın tek başına tüketimiyle diğer gıdalarla tüketimi arasındaki farklar kısmen belirlenmeye çalışılmıştır. Gıda maddeleriyle yapılan kombinasyonlarda her bir işlem için 5'er g öğütülmüş nar meyvesi sıvı azot eşliğinde 250 ml lik beherlerin içine tartılmıştır. Hazırlanan beherlerin içine 5'er g yağsız kıymadan hazırlanmış pişmiş et, ekmek, yağsız yoğurt (%0.15), probiyotik yoğurt, elma, bal, krema ve haşlanmış soya fasulyesi ayrı ayrı ilave edilmiştir. Bu karışımların üzerine 20 ml su ilave edilerek homojen bir karışım oluşturulmuştur. Bitkisel yağ, yağsız (%0.1) süt, limon suyu ve soya sütü sıvı olması sebebiyle 5 ml ilave edilmiş homojenliği sağlamak için içine ilave edilen su 15 ml olarak belirlenmiştir.

Gıda bileşenleriyle yapılan kombinasyonlarda 1 g öğütülmüş nar meyvesinin üzerine her bir 250 ml lik behere 5 g gıda bileşenleri (buğday proteini, soya proteini, süt proteini, et proteini, laktoz, fruktoz, galaktoz, glukoz, tuz, C vitamini, buğday nişastası, pişmiş nişasta, E vitamini, linoleik asit, selüloz, sitrik asit, pektin) ayrı ayrı ilave edilmiştir. Üstüne su ilave edilerek homojenliği sağladıktan sonra 315 ünite/ml pepsin enzimi ilavesi için 10 ml lik 0.1 N HCl içinde 0.01 g pepsin enzimi içeren bir çözelti hazırlanarak bu çözeltiden 1,5 ml ilave edilmiştir. Mide koşullarını taklit etmek amacıyla 5 N HCl çözeltisinden pH 1.7 olacak şekilde yavaş yavaş damlatılmıştır. 37°C’de 100 rpm de 2 saat su banyosunda karıştırılarak beklemeye bırakılmıştır. 2 saat süre sonrasında mide sindirimi tamamlandıktan sonra 2 ml çözelti diğer analizlerde kullanılmak üzere ependorf tüpleri içerisinde -20°C sıcaklıkta saklanmıştır. İnce bağırsak sindirimi için 4 mg/ml pankreatin çözeltisinden 4.5 ml ve 25 mg/ml safra tuzu çözeltisinden 4.5 ml ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu karışımın içinde bulunduğu beher içerisine 20 cm selüloz diyaliz poşeti (molekül kütle limiti, 12 kDa) önce açılması için distile suyla yıkanarak , daha sonra içerisine 20 ml 1 M NaHCO₃ ilave edilip uçları bağlanarak yerleştirilmiştir. Beherlerin ağzı parafilm ile kaplanmış ve 37°C sıcaklıktaki 100 rpm de karıştırılma işlemi sağlanan su banyosunda 2 saat bekletilmiştir. 2 saat sonrasında ince bağırsak sindirimi tamamlanan numunelerden OUT ve IN kısımları için 2 ml ependorf tüplerine numuneler alınmış, kalanlar falkon tüplerine konulup, ependorf ve falkon tüpleri -20 °C’de analizler için saklanmıştır. Kontrol örnekleri temsil etmek üzere in vitro sindirim metodu tek başına yalnızca gıda maddeleri ve tek başına yalnızca gıda bileşenlerine de uygulanmıştır. Böylelikle herhangi bir kombinasyon olmadan tek başına tüketimi ile de biyoyararlılığı belirlenmeye çalışılmıştır.

Standartlarla yapılan yöntemde ise 0.5 mg/ml lik çözeltiden 2 ml alınıp 20 ml su ilave edilerek ve yine aynı yöntem kullanılarak *in vitro* sindirim metodu uygulanmıştır.

IN kısmı, içerisinde NaHCO₃ çözeltisi bulunan diyaliz poşetlerinin içerisine geçen kısım olarak tanımlanmış ve bu kısım kan serumuna geçen maddeleri taklit etmiştir. OUT kısmı ise kana geçmeyen kolona geçen kısım taklit etmiş, beherin içerisinde kalan sıvı olarak tanımlanmıştır. Her bir numune için PG, IN ve OUT örnekleri 1600 rpm de 20 dk +4 °C ‘de santrifüj edilmiştir. Bu santrifüj edilen örnekler -20°C’de analizlere kadar saklanmıştır.

İki paralelli olarak hazırlanan her bir numunenin PG, OUT ve IN kısımlarına Folin-Ciocalteu metodu ile toplam fenolik madde analizi, pH diferansiyel metodu ile toplam antosiyanin analizi yapılmıştır. Kıyaslamalar tek başına nar meyvesinin *in vitro* sindirim metodu uygulanarak ve nar meyvesinin ekstraksiyonu yapılarak belirlenmiştir. Yine bütün örneklerle HPLC-PDA analizi uygulanarak fenolik madde ve antosiyanin miktarları ve profilleri belirlenmiştir.

3.3.6 Spektrofotometrik analizler

3.3.6.1 Toplam fenolik madde tayini

Gıdalarda toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi amacıyla en çok kullanılan yöntem “Folin-Ciocalteu” yöntemi’dir.

Folin-Ciocalteu metodu polimerizasyon derecesinden bağımsız duyarlı ve kantitatif bir metottur. 2003 yılında yayımlanan makalelerin pek çoğunda yapılan analizlerde geliştirilen Folin-Ciocalteu metodunun tüm basamaklarının eksiksiz bir biçimde uygulandığı gözlemlenmektedir. Reaktif konsantrasyonları, kimyasalların eklenme süreleri ve inkübasyon süresindeki farklılıklarla sıklıkla karşılaşılmaktadır. Yayınlarda referans standart olarak kullanılan gallik asitin yerine, sonuçların kateşin, klorojenikasit, kaffeik asit, prokateik asit, vanillik asit ve ferulik asit cinsinden verildiği de gözlemlenmektedir. Folin-Ciocalteu metodu, girişim yapabilen bileşenler (özellikle şekerler, aromatik aminler, sülfür dioksit, askorbik asit ve diğer enedioller, organik asitler ve Fe (II)) den dolayı sıkıntılıdır. Ayrıca bazı inorganik maddeler de (adenin, adenosin, alanin, anilin, aminobenzoik asit, benzaldehit, hidrazin, demir amonyum sülfat, magnezyum sülfat, potasyum nitrat, sodyum sülfat, EDTA, guanin, indol, ürik asit vb.) Folin-Ciocalteu reaktifi ile reaksiyon verebilmektedir. Bu bileşenlerle ilgili mutlaka bir düzeltme yapılmalıdır. (Prior ve diğ., 2005).

Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Velioğlu ve diğ., 1998). Yöntemde 100 µl biyoyararlılık numunelerine 750 µl Folin-Ciocalteu reaktifi (saf su ile 1:10 oranında seyreltilmiş) ilave edilmiş, sonrasında karışıma 750 µl sodyum karbonat (Na_2CO_3) (60 g/L) eklenmiş ve vorteks karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Karışımlar 1,5 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletildikten sonra 725 nm’de UV-visible spektrofotometre ile absorbansları ölçülmüştür. Standart eğrinin hazırlanması için gallik asit kullanılmıştır

ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g taze meyve de verilmiştir. Tüm deneyler 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Gallik asit kalibrasyon eğrisi EK A' da Şekil A.1 A.2 ve A.3 de verilmiştir. Biyoyarlılık numunelerinin sonuçları değer±SD şeklinde verilmiştir.

3.3.6.2 Toplam antosiyanin miktarı tayini

Bu çalışmada pH-diferansiyel metot olarak tanımlanan kolorimetrik bir yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde 2 farklı dalga boyunda (520 nm - 700 nm) ve iki farklı pH değerinde (1.0 - 4.5) toplam monomerik antosiyanin miktarı belirlenmiştir. Monomerik antosiyaninler pH 1.0 değerinde renkli bir form pH 4.5 değerinde ise renksiz bir form oluşturur. Öncelikle deneyde kullanılmak üzere 0,025 M potasyum klorür çözeltisi (KCl) (pH=1) ve 0,4 M sodyum asetat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi (pH=4,5) saf su ile hazırlanmıştır. Çözeltilerin pH 1.0 ve pH 4.5'a ayarlanması için %37 lik HCl asit kullanılmıştır. Numuneler bu çözeltilerle seyrelterek 2 ml seyreltim elde edilmiş ve 15 dakika karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletilmiştir. Analizler 2 farklı pH değerinde ve 2 farklı dalga boyunda 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda çıkan absorbans değerleri aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmış ve mg siyanidin 3-glikozit/100 g taze meyve cinsinden ifade edilmiştir (Yao ve diğ., 2010). Kar ve diğ. (2011) nar sularında yaptığı çalışmada toplam antosiyanin miktarını bu metotla belirlenmiştir.

Absorbanslar arasındaki farklar denklem 3.1 de gösterildiği şekilde belirlenmiştir.

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \quad (3.1.)$$

A = Absorbanslar arasındaki fark

A_{520} = 520 nm de okunan absorbans değeri

A_{700} = 700 nm de okunan absorbans değeri

Toplam antosiyanin miktarı ise deklemler 3.2 de gösterildiği şekilde belirlenmiştir.

$$\text{mg cyn-3-gly equivalents/100 g} = \frac{A \cdot \text{MW} \cdot \text{DF} \cdot 100 \cdot 10^3 \cdot 20}{\epsilon \cdot 1 \cdot 1000 \cdot \text{sample weight}} \quad (3.2)$$

MW: Molekül Ağırlığı = 449.2 g/ siyanidin 3-glikozit için

DF: Seyreltme Faktörü

1: Küvetin uzunluğu (cm)

ϵ : Molar Extinction Coefficient = 26900 in l mol⁻¹ * cm⁻¹ siyanidin 3-glikozit için

10³: gr dan mg a dönüşüm katsayısı.

100: 100 gr taze meyvede belirlemek için

Sample weight: Numunelerin başlangıç ağırlığı

20: numunelerin çözündüğü çözelti miktarı (ml)

1000: ml den l ye çevirmek için dönüşüm katsayısı

3.3.7 Fenolik madde ve antosiyanin profilinin HPLC-PDA ile belirlenmesi

Fenolik madde profilini belirlemek amacıyla Capanoglu ve diğ. (2008b) kullandığı metot uyarlanmıştır. Standart kalibrasyon grafikleri kateşin, gallik asit, kuersetin-3-D-glukozit (q-3-BDg), kuersetin-3-galaktozit (q-3-g), p-kumarik asit, neoklorojenik asit, ferulik asit, kuromanin klorid (syanidin 3-O-glukozit, cyn 3-O-glu), siyanin klorid (cyanidin 3,5-di-O-glukozit, cyn 3,5-dOg), delfinidin klorid (delphinidin 3-O-glukozit, del 3-O-glu), delfin klorid (delfinidin 3,5-di-O-glukozit, del 3,5-dOg), callistephin klorid (pelargonidin 3-O-glukozit, pel 3-O-glu) ve pelargonin klorid (pelargonidin 3,5-di-O-glukozit, pel 3,5-dOg) seyreltimleri yapılarak hazırlanmıştır. Biyoyararlılık numuneleri ve ekstraktlar öncelikle santrifuj edilmiştir. Tortusuz kısmından 1 ml alınıp üzerine 50 µl TFA çözeltisi ilave edilmiş ve böylelikle kolon koşullanması sağlanmıştır. Örnekler 0.45-µm lik membran filtrelerinden geçirilip viallere konulmuştur. Her bir numune PDA ile entegre Waters 2695 HPLC sistemi kullanılarak analiz edilmiştir. Luna C18 kolonu (Phenomenex) sabit faz olarak kullanılmıştır.

Mobil faz kısmında A Çözgeni %0.1 (v/v) TFA içeren Milli-Q su, B Çözgeni ise %0.1 (v/v) TFA içeren asetonitrildir. Gradyen olarak uygulanan çözgen sistemi; 0. dakikada %95 çözgen A ve %5 çözgen B, 45. dakikada %65 çözgen A ve %35 çözgen B; 47. dakikada, %25 çözgen A ve %75 çözgen B; ve 54. dakikada tekrar başlangıç koşullarına dönecek şekilde ayarlanmıştır. Akış hızı ise 1 ml/ dak olarak uygulanmıştır. Fenolikleri ve antosiyaninleri belirlemek amacıyla 280, 312, 360 ve 512 nm dalga boylarında ölçümler yapılmıştır. Bütün analizlerde 2 paralelli çalışılmıştır. Bütün gıda maddeleri ve gıda bileşenleriyle narın kombinasyonları ve tek başına gıda maddeleri ve bileşenleri analiz edilmiştir.

3.4 İstatistiksel Analizler

Analiz sonuçlarının tümü istatistiksel olarak Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi (SPSS) 16.0 versiyonu yazılımı yardımı ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan Yeni Çoklu Aralık Testi kullanarak 0.05 önem derecesinde değerlendirilmiştir. Bütün istatistiksel sonuçlarda, PG, IN ve OUT kısımlarının antosiyanin ve fenolik madde miktarlarında önemli bir farklılığın olup olmadığı kendi aralarında analiz edilmiştir ($p<0.05$). Her bir analiz her örnek için iki kez tekrarlanmış ve sonuçlar ortalama değer $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

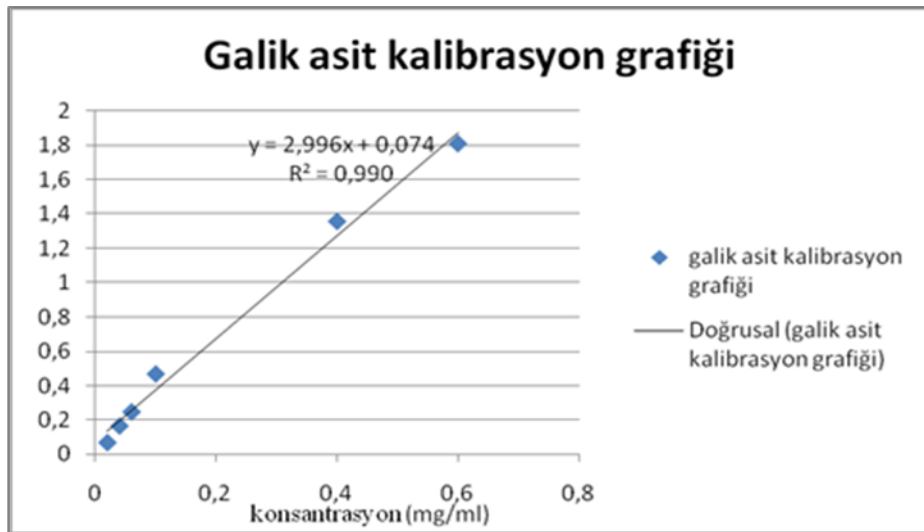
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Nar meyvesinden elde edilen ekstrakt, diğer gıdalarla ve gıda bileşenleriyle birlikte *in vitro* sindirime tabi tutulmuş ve hem kontrol nar numunesinde hem de diğer gıdalar ve bileşenlerle etkileştirilen numunelerde toplam fenolik bileşik miktarları ve kompozisyonu ve antosiyanin madde miktarları ve kompozisyonu tek yollu varyans analizi (ANOVA ve Duncan testleri) ile istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Biyoyararlılığın belirlenmesi üzere, *in vitro* sindirim sistemi metodunda PG, OUT ve IN kısımları arasında önemli bir farklılığın var olup olmadığını saptamak amacıyla her numune tüm fraksiyonlarda değerlendirilmiştir.

4.1. Nar Meyvesinde Yapılan Analizler

4.1.1. Toplam fenolik madde miktarı

Toplam fenolik madde analizi sonuçları her bir örnek için mg gallik asit (GAE)/ 100 g meyve olarak ifade edilmiştir. Gallik asitin sulu çözeltisi (%100) için kalibrasyon grafiği Şekil 4.1’de verilmiş olup 0.002-0.6 mg/ml konsantrasyon aralığında hazırlanmıştır. Metanol:su:formik asit (75:25:0,1) ekstraksiyonu için hazırlanan gallik asit kalibrasyon grafiği ise Ek A.3 de verilmiştir.



Şekil 4.1: Su ile hazırlanan gallik asit standart kalibrasyon grafiği.

Çalışma kapsamında kontrol nar numunelerindeki içerikleri belirlemek üzere nar meyvesine iki farklı ekstraksiyon çözgen sistemi ile (%0.1 formik asitli %75 metanol:su ve %100 su) ekstraksiyon uygulanarak elde edilen ekstraktlarda toplam fenolik madde içerikleri belirlenmiştir. Ayrıca nar meyvesine doğrudan *in vitro* sindirim metodu uygulanmış ve elde edilen fraksiyonlarda toplam fenolik madde içeriği tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Metanol ile ekstraksiyonda bütün fenolik maddelerin ekstrakte edildiği varsayılmış ve bu ekstraktların fenolik madde sonuçları 100 olarak kabul edilmiştir.

Çizelge 4.1: Nar ekstraktları ve *in vitro* sindirim metodu uygulanan nar örneklerinin toplam fenolik madde miktarları ve bağıl dağılımları

		Toplam Fenolik madde bağıl dağılımı	Toplam Fenolik madde miktarı (mg GAE/100g yenilebilir meyve)
Nar meyvesinin metanol ile ekstraksiyonu		100	180,73±0,57 b
Nar meyvesinin su ile ekstraksiyonu		59,8	108,10±4,31 c
In vitro sindirim metodu uygulanmış nar meyvesinin biyoyararlılığı	PG	114,8	207,40±5,45 a
	OUT	75,6	136,71±13,58 c
	IN	14,2	25,74±0,02 d
	kayıp	24,9	

(PG: Mide Çıkışı, OUT: Kalın bağırsağa geçen kısım, IN: Kana geçen kısım)

Narın metanolik ekstraktı için bulunan fenolik madde miktarı 180,73±0,57 mg GAE/100 gr yaş meyve olarak belirlenmiştir. Sulu ekstrakt da ise toplam fenolik madde içeriği 108,10±4,31 mg GAE/100 gr yaş meyvedir. Sindirim sisteminde biyoyararlılık açısından sulu ekstraktlar esas olduğundan ayrıca tespit edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi metanol ile yapılmış nar meyvesi 100 kabul edilerek bağıl olarak karşılaştırıldığında sulu ekstraktın metanolik ekstrakta göre oranı %59.8 olarak bulunmuştur. Tüm numuneler toplam fenolik madde açısından önemli ölçüde farklılık göstermiştir. İstatiksel olarak toplam fenolik madde miktarı en düşük IN fraksiyonunda belirlenmiştir ($p<0.05$). *In vitro* sindirim metodu uygulanmış nar meyvesinin biyoyararlılığına bakıldığında PG kısmının, metanolle ekstraksiyona göre bağıl oranı 114.8 ile en yüksek toplam fenolik madde sonucu bulunmuştur. Wolfe ve diğ., (2008) yaptıkları çalışmada narda fenolik madde miktarının 338±14 mg GAE/100 gr kuru meyve bulmuştur. Karadeniz ve diğ., (2005) narın toplam fenolik madde miktarını 240.8 mg/kg olarak saptamışlardır.

Sindirim sırasında nar meyvesinin fenolik madde miktarı fraksiyonlarda 25,74-207,40 mg GAE/100 g meyve aralığında değişkenlik göstermiştir. Mide sonrası (PG) kısmında mide asidi etkisiyle fenolik bileşenlerin arttığı görülmüştür. Benzer şekilde, Perez-Vicente ve diğ. (2002) yaptıkları çalışmada mide sindirimi sırasında narda bulunan fenolik bileşenlerin yüksek miktarda olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer fraksiyonlar (IN ve OUT) incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarının ancak %14.2'sinin kana geçtiği, %75.6'sının ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşıırken, kayıp miktarı %24.9 olarak tespit edilmiştir.

Seeram ve diğ. (2008) yaptıkları çalışmada ABD'de yaygın olarak tüketilen polifenolce zengin nar suyu, kırmızı şarap ve üzüm suyunun içinde bulunduğu bir grup içeceğin toplam fenolik madde ve antioksidan potansiyelini karşılaştırmıştır. Nar suyu diğer içeceklerden en az %20 daha fazla antioksidan potansiyeli ve en yüksek fenolik içeriği göstermiştir. Nar suyunun, kara havuç ve üzüm meyvelerine ve meyve suyu konsantrelerine göre literatürle uyumlu olarak daha yüksek oranda fenolik madde ve antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Seeram ve diğ., 2008).

Fazzari ve diğ., (2008) yaptıkları çalışmada *in vitro* sindirim metodu ile vişnelerdeki fenolik madde miktarı incelenmiş PG fraksiyonunda ekstraksiyon işlemine göre %123'lük bir artış gözlenirken antosiyanin miktarında önemli bir farklılık görülmemiştir. Yapılan çalışmanın sonuçları bu çalışmanın sonuçları ile uyumluluk göstermiştir.

4.1.2. Toplam antosiyanin miktarı

Toplam antosiyanin miktarı analizleri nar meyvesinde siyanidin-3-glukozit (cyn-3-gly)/100 g yenilebilir yaş meyve cinsinden belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ve istatistiksel analizler Çizelge 4.2 de gösterilmektedir.

Narda yapılan ekstraksiyon işlemlerinde ve *in vitro* sindirim metodunda mide sindirimi sırasında antosiyanin düzeyleri 1,55-13,24 cyn-3-gly/100g yenilebilir meyve aralığında değişim göstermiş ve ekstraksiyonlar arası istatistiksel olarak önemli bir değişim olmadığı görülürken ($p>0.05$), sindirim fraksiyonlarındaki değişim önemli çıkmıştır ($p<0.05$).

Çizelge 4.2: Nar ekstraktları ve *in vitro* sindirim metodu uygulanan nar örneklerinin toplam antosiyanin miktarları ve bağıl dağılımları

		Toplam antosiyanin miktarı bağıl dağılımı	Toplam antosiyanin miktarı (cyn-3-gly/100g yenilebilir meyve)
Nar meyvesinin metanol ile ekstraksiyonu		100	13,24±2,41 a
Nar meyvesinin su ile ekstraksiyonu		89,4	11,84±2,14 a
In vitro sindirim metodu uygulanmış nar meyvesinin biyoyararlılığı	PG	89,3	11,82±0,59 a
	OUT	39,8	5,27±0,52b
	IN	11,71	1,55±0,09c
	kayıp	38,4	

(PG: Mide Çıkışı, OUT: Kalın bağırsağa geçen kısım, IN: Kana geçen kısım)

Antosiyanin düzeyi en düşük IN fraksiyonunda olmuştur. Perez-Vicente ve diğ. (2002) nar suyunun fenolik bileşenlerinin pepsin sindirimi sonrasında oluşan kayıpların antosiyanin miktarına göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Bunun sebebini de antosiyaninlerin parçalanarak daha farklı fenolik bileşenlere dönüşmesi sebebiyle antosiyanin kayıplarının daha yüksek olması sonucuna varılmaktadır (Mcdoughall ve diğ., 2005). Yapılan çalışmada toplam fenolik miktarda oluşan kayıpların 24.9% olduğu, toplam antosiyanin miktarda oluşan kaybın ise 38.4% olduğu sonucuna varılmıştır.

Metanolla yapılan ekstraksiyon işleminde antosiyanin miktarının 13,24±2,41mg cyn-3-gly/100 g yaş meyve olarak ölçülmüştür. Tehranifor ve diğ., (2010) yaptığı çalışmada iran narlarında antosiyanin miktarlarını araştırmış ve 4.46 mg/ 100 g ile 30.11 mg/100 g arasında değiştiği görülmüştür. Bu çalışmanın sonucu elde edilen değer ile paralellik göstermektedir. Nardaki çeşitlilik ve yetiştirilme ve gelişme koşulları narda bulunan antosiyaninleri etkilemektedir (Fazzari ve diğ., 2008).

Pankreatik sindirim sırasında OUT ve IN kısımlarının sırasıyla %39.8-%11.7 olduğu görülmüştür. Gastrik fraksiyona göre bu azalmanın pankreatik sindirim sırasındaki pH artışından kaynaklandığı düşünülmektedir. Mcdoughall ve diğ. (2005) yaptıkları çalışmada toplam antosiyanin miktarının pankreatik sindirim sırasında %70 (IN ve OUT) 'inin geri kazanıldığı raporlamıştır. IN (kana geçen kısım) fraksiyonunda bağıl olarak yalnızca %5 olarak saptamışlardır.

Gil-Izquierdo ve diğ., (2003) yaptıkları araştırmada çileğe *in vitro* sindirim metodu uygulamıştır. Sonuçlarda IN kısmında sadece %2-3 antosiyanin saptandığını, %15'inin ise kolona geçen kısmı (OUT) oluşturduğu belirtilmiştir.

4.1.3. Fenolik madde profili sonuçları

Narda fenolik maddde profili HPLC ile analizlendiğinde; kateşin, gallik asit, ferulik asit, kafeik asit, klorojenik asit ve neoklorojenik asit bileşikleri tespit edilmiştir. Çalışmada ise; kateşinin en yüksek miktarda bulunduğu bunu, bunu klorojenik asit ile gallik asitin takip ettiği görülmüştür. Yapılan diğer bir çalışmada; gallik asitin narda en fazla miktarda bulunduğu bunu ise kateşin ve klorojenik asitin takip ettiği belirlenmiştir (Anlı ve diğ., 2010).

Metanollü ekstrakt, sulu ekstrakt ve nar meyvesine uygulanan *in vitro* sindirim metodu fraksiyonlarının analiz sonuçları ortalama değer±standart sapma şeklinde gösterilmiştir ve istatistiksel olarak analizlenmiştir. Çizelge 4.3 de gösterilmektedir.

Gallik asit miktarı açısından ekstraktlar ve PG fraksiyon sonuçları arasında önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Ancak IN ve OUT fraksiyonları ile PG arasındaki farklılık önemlidir ($p<0.05$).

Belirlenen fenolik bileşenlerin mide sindirimi sırasında miktarlarında önemli bir değişikliğin olmadığı bunun yanısıra, pankreatik sindirim sırasında; başlangıç miktarlarına göre önemli azalmalar olduğu görülmüştür.

Fernandez-Panchon ve diğ.'nin (2008) çalışmasında farklı dozlarda fenolik bileşen alımı sonrasında kandaki fenolik madde konsantrasyon değerleri sunulmuştur. Gallik asit ve izoflavonların kanda en iyi absorblanan polifenol olduğu tespit edilmiştir. Bunları kateşin> flavononlar> kuersetin glikozitleri absorplanma miktarları en fazladan en aza doğru takip etmiştir. En az absorplanan polifenollerin ise; proantosiyenin, çay kateşingallatları ve antosiyeninler oldukları tespit edilmiştir (Fernandez-Panchon ve diğ., 2008).

Goni ve diğ. (2005) yaptıkları çalışmada; üzüm posası ve üzüm çekirdeklerinin biyoyararlılıklarını *in vitro* sindirim metodu uygulayarak belirlemiştir. Kolon sindirimi sırasında fenolik bileşenlerin %95-97'ye yakınının bozunmaya uğradığı görülmüştür (Goni ve diğ., 2005).

Pankreatik sindirim sırasında pH değişimine bağlı olarak antioksidanlar degrade olmaktadır. Polifenollerin pH değişimlerinden en fazla miktarda etkilendiği görülmüştür. Sıcaklığın artışı ile antioksidanların hüce duvarlarının parçalanması artmış, antioksidan kapasitesinde artış görülmüştür.

Çizelge 4.3:Nar ekstraktları ve *in vitro* sindirim metodu uygulananan nar örneklerinin fenolik madde miktarları ve dağılımları

mg/100 g meyve		GA	Kateşin	Ferulik asit	Klorojenik asit	Kafeik asit
Nar meyvesinin metanol ile ekstraksiyonu		0,84±0,39a	11,56±1,5a	0,74±0,07a	3,6±1,3a	0,67±0,38a
Nar meyvesinin su ile ekstraksiyonu		1,08±0,44a	12,21±0,7a	0,69±0,22a	3,33±0,41a	0,41±0,42a
<i>In vitro</i> sindirim metodu uygulanmış nar meyvesinin biyoyararlılığı	PG	1,05±0,51a	9,00±0,87a	0,64±0,01a	2,58±0,72a	0,38±0,28a
	OUT	0,35±0,25b	3,9±0,35b	0,08±0,0b	0,80±0,33b	0,10
	IN	0,75±0,01a	1,56±0,18c	0,05±0,0b	0,46±0,05b	0,10±0,04a

Pankreatik sindirim sırasında pH değişimine bağlı olarak antioksidanlar degrade olmaktadır. Polifenollerin pH değişimlerinden en fazla miktarda etkilendiği görülmüştür. Sıcaklığın artışı ile antioksidanların hüce duvarlarının parçalanması artmış, antioksidan kapasitesinde artış görülmüştür. Böylelikle daha yüksek antioksidan kapasitesi oluşmaktadır. Gallik asit miktarının ısıtma ile arttığı görülmüştür. pH değişimleriyle antioksidanlar daha stabil yapı göstermekte, mide sindirimi sonrası antioksidan kapasitesinde artışa sebep olmaktadır (Ryan ve diğ., 2010).

Bermudez-Soto ve diğ., (2007) kuş üzümüne *in vitro* sindirim metodu uygulamış ve fenolik madde ve antosiyanin yapılarındaki değişimler incelenmiştir. Klorojenik asitin stabilitesinin yüksek olduğu, bunun yanısıra kafeik asit stabilitesinin ise çok az olduğu görülmüştür. Kafeik asit miktarlarının pankreatik sindirim sırasında benzer şekilde çok az miktarda olduğu belirlenmiştir.

4.1.4. Antosiyanin profili sonuçları

Numunelerde antosiyanin profili HPLC ile analizlenmiş olup nar meyvesinde bulunan antosiyaninlerin en yüksekten en aza doğru sırasıyla; pelargonidin 3-5-0 diglukozit, siyanidin 3-5-0 diglukozit, delfinidin 3-5-0 diglukozit, , siyanidin 3-0 glukozit ve pelargonidin 3-0 glikozit olduğu tespit edilmiştir.

Hernandez ve diğ. (1999) yaptıkları çalışmada narda bulunan antosiyaninleri, delfinidin 3-5 diglukozit, siyanidin 3- glukozit, siyanidin 3-5 diglukozit, pelargonidin

3-0 glukozit ve pelargonidin 3-5-0 diglukozit olarak belirlemişlerdir. Prakash ve diğ. (2011) narda siyandin 3-0-glukozit, siyandini 3-5-0 diglukozit, delfinidin 3-0 glikozit, delfinidin 3-5-0 diglukozit, delfinidin 3-0- glikozit, delfinidin 3-5-0 diglukozit, pelargonidin 3-0 glikozit ve pelargonidin 3-5 diglukozit olduğu belirtilmiştir. Antosiyanin miktarının, bitkinin yetiştiği yerin alçak ve yüksek oluşuna göre değiştiği, beklemekle azaldığı ve bozunduğu belirtilmektedir.

Narın ekstraksiyon işlemi sonrası ve biyoyararlılık sonrası antosiyanin profilindeki değişimler Çizelge 4.4’de gösterilmektedir. Ekstraksiyonda pelargonidin 3-0-glikozit bulunmamasına rağmen *in vitro* sindirim metodu sonrası az miktarda oluştuğu görülmektedir. Bu da enzimatik ve pH nın parçalama etkisi ile antosiyanin maddeleri arasında dönüşümler olduğunu düşündürmektedir.

Çizelge 4.4:Nar ekstraktları ve *in vitro* sindirim metodu uygulananan nar örneklerinin antosiyanin miktarları ve dağılımları

mg/100 g meyve		Delfinidin-3-5-0-diglukozit	Siyanidin-3-5-0-diglukozit	Pelargonidin-3-5-di-O-glukozit	Siyanidin-3-0-glikozit	Pelargonidin-3-0-glikozit
Nar meyvesinin metanol ile ekstraksiyonu		10,43±0,12a	14,33±4,06a	20,54±5,34a	5,57±0,32a	-
Nar meyvesinin su ile ekstraksiyonu		9,62±4,70a	14,67±0,21a	16,79±7,57a	5,34±0,25ab	-
<i>In vitro</i> sindirim metodu uygulanmış nar meyvesinin biyoyararlılığı	PG	7,86±1,87a	11,16±2,24a	17,85±7,86a	4,68±0,01b	0,45±0,07
	OUT	-	2,32±1,68ab	-	0,21±0,01c	-
	IN	-	0,94±0,60b	-	0,12	-

Çalışmada, delfinidin 3,5 diglikozit ve pelargonidin 3,5 diglikozitin pankreatik sindirim sırasında yapısının bozunduğu ve belirlenemediği görülmüştür. Bununla birlikte; siyanidin 3,5-o diglikozit ve siyanidin-3-glikozit daha stabil özellik göstermektedir.

Hernandez ve diğ., (1999) çalışmalarında antosiyaninlerin olgunlaşma ve bekleme sırasında diglukozit yapılarının azaldığını, siyanidin 3-glukozit ve delfinidin 3-glukozit miktarının arttığını ve pelargonidin 3-glikozitin azaldığını belirtmişlerdir. Delfinidin 3-5 diglikozit ve siyanidin 3-5 diglikozitin nar meyvesinde yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada nar çeşitlerinden birinde antosiyanin miktarının az olmasına rağmen düşük pH değerine sahip olması

sebebiyle antosiyanin yapılarının daha stabil özellik gösterdiği belirtilmiştir (Hernandez ve diğ., 1999).

Perez ve diğ. (2002) yaptığı çalışmada nar suyunda mide sindirimi sırasında (PG) siyanidin ve delfinidin glikozit yapılarının arttığı belirlenmiştir. Böylelikle antosiyanin miktarı da artış göstermiştir.

Bu etkinin nar suyunun pH değerinin 3.8 den 2.0 a düşmesi sebebiyle flavilyum katyonlarındaki artıştan kaynaklandığı görülmüştür (Shipp ve diğ., 2010; Perez ve diğ., 2002; Mcdoughall ve diğ., 2005). Nar suyunda en yüksek miktarda bulunan antosiyaninin siyanidin 3-5 diglikozit olduğu bunu takiben siyanidin-3-glikozit ve delfinidin 3-5 diglikozit olarak devam ettiği belirlenmiştir. Kana geçen ve sindirilemeyen kısım olarak ayrılan IN ve OUT kısımlarında delfinidin 3-0 glikozitte genel bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Kana geçen kısmın (IN) sadece %2.4 olduğu buna karşın sindirilemeyen kısmın (OUT) %15.3 olduğu görülmüştür (Perez ve diğ., 2002).

Marti ve diğ. (2001) yaptığı çalışmada siyanidin 3-0 glikozitin en fazla miktarda bulunduğu, sırasıyla; siyanidin 3,5 diglikoz, pelargonidin 3-0 glukozit, delfinidin 3-5 diglukozit, delfinidin 3-0 glukozit, pelargonidin 3-5 diglikozit olarak çoktan aza doğru sıralanmıştır. Bu sonuçlar 3-5 diglukozit yapının 3-0 glikozit yapıya göre daha stabil olduğunu göstermiştir (Marti ve diğ.,2001). Bu çalışmadaki nar meyvesinde 3-5 diglikozit yapının yüksek miktarda bulunduğu ve daha kararlı yapı sergilediği görülmüş olup diğer çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Bu durum C₅ karbonunda ki ikame glikozilin, C₆ ve C₈ pozisyonlarındaki nükleofilik karakterini azaltması ile ilişkilendirilir. Antosiyaninlerin 3,5 diglukozit yapısı 3-0 glikozite göre elektrofilik yakalamaya daha eğimli ve daha stabil bir yapı göstermektedir (Marti ve diğ.,2001; McDougall ve diğ., 2005).

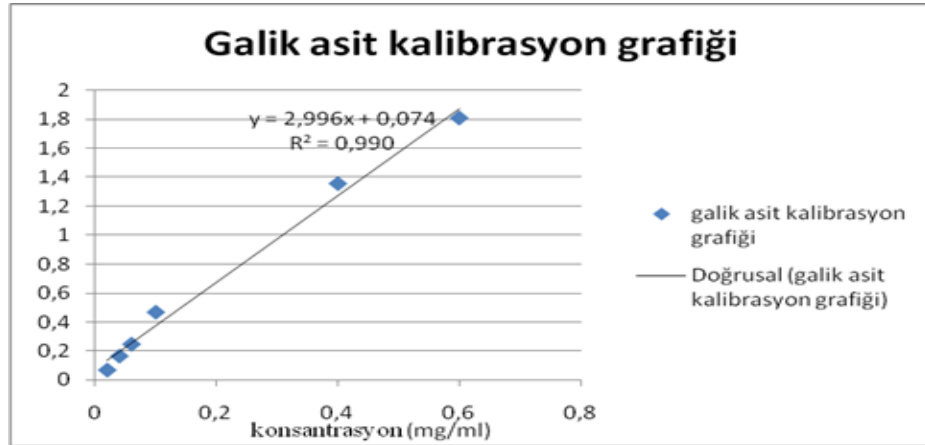
McDoughall ve diğ'nin (2007) çalışmalarında antosiyaninler asidik mide sindirimi sırasında daha stabil yapı göstermiştir. Pankreatik sindirim sırasında ise %27'sinin geri kazanıldığı görülmüştür. Kırmızı lahananın en önemli polifenoller olan antosiyaninler, pankreatik sindirim sırasında (IN ve OUT) geri kazanımlarının çok düşük olmasının, bunun yanı sıra toplam fenolik madde miktarında çok büyük bir değişim görülmemesinin sebebini ise antosiyaninlerin diğer fenolik bileşenlere dönüşümü olarak açıklamaktadır (McDoughall ve diğ., 2007).

4.2. Narın Biyoyararlılığı Üzerine Çeşitli Gıdalarla Birlikte Tüketim Durumunda Matris Etkisinin İncelenmesi

Narın diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi durumunda biyoyararlılığındaki değişiklikleri belirlemek amacıyla *in vitro* sindirim yöntemi uygulanmıştır. Diğer gıdalarla sindirim sonrası antosiyanin ve fenolik madde miktarlarındaki değişimleri; bitkisel yağ, süt, pişmiş et, ekmek, yoğurt, probiyotik yoğurt, elma, limon suyu, bal, soya sütü, krema ve soya fasulyesi ile belirli oranlarda karıştırılarak toplam fenolik madde, toplam antosiyanin miktarı, fenolik madde profili ve antosiyanin profili belirlenmiş, tek başına nar tüketimi ile diğer gıdalarla tüketim arasındaki farklar *in vitro* olarak belirlenmeye çalışılmıştır.

4.2.1. Toplam fenolik miktarı

Toplam fenolik madde analizi sonuçları her bir örnek için mg gallik asit (GAE)/ 100 g meyve cinsinden ifade edilmiştir. Gallik asit kalibrasyon grafiği 0.002-0.6 mg/ml konsantrasyon arasında hazırlanmış olup Şekil 4.2.de verilmiştir. Konsantrasyon miktarları belirlenirken %100 su içerisinde çözündürme gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.2: Gallik asit standart kalibrasyon grafiği.

Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte sindirimi sonrasında narda bulunan fenolik bileşenlerin potansiyel biyoyararlılığındaki değişimler toplam fenolik madde analizi ile belirlenmiş ve Çizelge 4.5’de sunulmuştur. Beklenen değerler her bir gıdanın tek tek tüketimi durumunda elde edilen değerlerin teorik olarak toplamıdır. Gözlenen değerler ise incelenen gıdanın nar ile tüketilmesi durumunda analizlenen gerçek değeridir. Numunelerdeki değişimler etkileri görmek adına bu beklenen ve gözlenen değerlerin istatistiksel olarak karşılaştırılması ile belirlenmiştir.

Yağ ile birlikte tüketimde IN, OUT ve PG kısımlarında istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı görülmüştür. Lesser ve diğ. (2004) yaptıkları çalışmada kuersetinin glikoz formunun aglikon formuna göre biyoyararlılığının daha yüksek olduğu sonucuna varmıştır. Diyetle %17 yağ ilavesinin %3 yağ ilavesine göre kuersetin biyoyararlılığını arttırdığı tespit edilmiştir. Yağlı gıdaların kuersetinin vücuttan atılımını geciktirdiği ve daha çok emilmesine sebep olduğu belirlenmiştir. Yağ ile yapılan çalışmalarda biyoyararlılık belirlemeleri sadece *in vivo* olarak yapılmıştır ve *in vitro* olarak fenolik bileşenler üzerine etkisi araştırılmamıştır. Bu çalışmadan da görüldüğü üzere, sindirim sırasında yağın koruyucu etkisi olduğu görülmektedir. Süt, et, ekmek, yoğurt, probiyotik yoğurt gibi protein miktarı yüksek gıdalarla birlikte narın IN kısmında önemli bir azalma olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.5: Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi sonrası toplam fenolik madde miktarındaki değişimler

		PG (mg GAE/100g meyve)		IN (mg GAE/100g meyve)		OUT (mg GAE/100g meyve)	
			Etki		Etki		Etki
N+Yağ	B	234,57±5,45	↔	26,18±0.02	↔	138,17±13,58	↔
	G	219,08±17,2		31,89±0,13		165,04±20,04	
N+Süt	B	412,28±5,45	↓	84,74±0.02	↓	276,72±13.58	↓
	G	261,31±9,48		41,48±1,61		192,17±1.6	
N+Et	B	746.04±5.45	↓	116.68±0.02	↔	557.24±13.58	↓
	G	690.99±48.2		116.36±6,67		430.35±27.12	
N+Ekmek	B	457.39±5.45	↓	77.97±0.02	↓	330.71±13.58	↓
	G	251.46±3.77		42.08±3.5		177.68±20.9	
N+Yoğurt	B	436.8±5.45	↓	93.44±0.02	↓	310.67±13.58	↓
	G	309.07±3.29		44.05±1.2		230.27±4.37	
N+Probiyotik	B	389.38±5.45	↔	92.06±0.02	↓	259.13±13.58	↓
	G	390.3±33.91		38.43±2.28		215.57±0.7	
N+Elma	B	251.16±5.45	↔	29.35±0.02	↓	145.78±13.58	↑
	G	218.96±22.0		15.99±1.31		179.69±9.81	
N+Limon	B	308.47±5.45	↓	33.5±0.02	↔	163.57±13.58	↔
	G	221.79±15.8		32.15±4.26		150.61±8.06	
N+Bal	B	357.9±5.45	↓	36.85±0.02	↔	205.69±13.58	↓
	G	247.44±6.41		39.01±2.43		148.41±3.43	
N+Soya sütü	B	366.9±5.45	↓	35.94±0.2	↔	244.21±13.58	↓
	G	231.91±15.4		29.34±12.00		190.44±3.95	
N+Krema	B	302.31±5.45	↔	28.0±0.02	↔	203.57±13.6	↔
	G	302.36±12.4		26.55±1.25		198.62±0.96	
N+Soya Fasulyesi	B	485.65±5.45	↓	77.55±0.02	↑	247.18±13.5	↑
	G	384.36±25.4		84.94±10.58		304.33±26.9	

B: Beklenen değer, G: Gözlenen değer

Serafini ve diğ. (2003) yaptıkları çalışmada, çikolata flavonoidleri ile süt proteinleri arasında çift bağlar oluşması sebebiyle, çikolatada bulunan flavonoidlerin emiliminin azaldığı sonucuna varmışlardır. Lamuela-Raventos ve diğ. (2005) yaptıkları çalışmada ise sütün çikolata üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir.

PG fraksiyonunda; süt, ekmek, et, yoğurt, limon, bal, soya sütü ve soya fasulyesi narda bulunan toplam fenolik bileşenlerinin potansiyel biyoyararlılığını azaltırken; yağ, probiyotik yoğurt, elma ve kremanın önemli bir farklılık oluşturmadığı görülmüştür.

OUT fraksiyonunda; süt, ekmek, et, yoğurt, probiyotik yoğurt, bal ve soya sütünün nar ile birlikte tüketimi sonrası; fenolik bileşen biyoyararlılığı azalırken, elma ve soya fasulyesi ile artmıştır. Yağ, limon ve krema ile birlikte ise önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür.

IN fraksiyonunda ise; süt, ekmek, yoğurt, probiyotik yoğurt ve elma ile fenolik bileşen biyoyararlılığının azaldığı, yalnızca soya fasulyesi ile arttığı, yağ, et, ekmek, yoğurt, probiyotik yoğurt ve elma ile fenolik bileşen biyoyararlılığının azaldığı görülmüştür.

Lanley-Evans ve diğ. (2000) yaptıkları çalışmada, çayın süt ile birlikte tüketilmesini araştırmış ve bu azaltıcı etki inek sütünde olduğu gibi, soya sütünde de görülmüştür. Yağsız ve yarım yağlı sütte de aynı azaltıcı etki görülmesi sebebiyle de, bu etkinin proteinden kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Elma ile narın birlikte tüketiminde IN kısmının tek başına nar tüketimine göre azaldığı, bununla beraber; OUT (kolona geçen kısım) kısmında ise artış görülmüştür. *In vitro* olarak yapılan çalışmalarda bir gıdanın tek başına olarak tüketiminin diğer gıdalarla birlikte karıştırılarak tüketimi arasında fark olduğu belirlenmiştir. β -karotenoid biyoyararlılığını pektinin azalttığı görülmüştür (Carlos ve diğ., 2011). Bunun yanısıra kolona geçen kısmın artmış olduğu belirlenmiş, bu kısımda da emilimin devam edeceği düşünülmektedir.

Et ve ekmek ile narın birlikte tüketiminde PG ve OUT kısımlarında azalma görülmüştür. Aynı sonuç; McDoughall ve diğ.'nin, (2005) yaptığı çalışmada da görülmüştür. Kremada ise OUT kısmında değişme olmadığı belirlenmiştir. Bu bulgu da literatürle paralellik göstermektedir.

İspanyol diyetinde 2590-3016 mg/gün arasında günlük polifenol alındığı belirlenmiştir. İnce bağırsağa ulaşım polifenollerin %48'ini oluştururken, kalın bağırsağa geçen kısmın ise %42 olduğu görülmüştür. Yani yüksek miktarda polifenol ince bağırsakta emilmeden kalın bağırsağa geçmektedir. Polifenollerin emiliminde kalın bağırsaktaki bakterilerin önemli rol oynadığı görülmüştür. Absorplanmayan polifenollerin kolondaki bakteriler tarafından büyük bir kısmı emilmektedir (Saura-Calixto ve diğ., 2007).

Birlikte sindirimin mide sindirimi ve pankreatik sindirimin fenolik bileşen ve antosiyanin emilimini etkilediği, matris etkisinin emilimde önemli olduğu düşünülmektedir .

4.2.2. Toplam antosiyanin miktarı

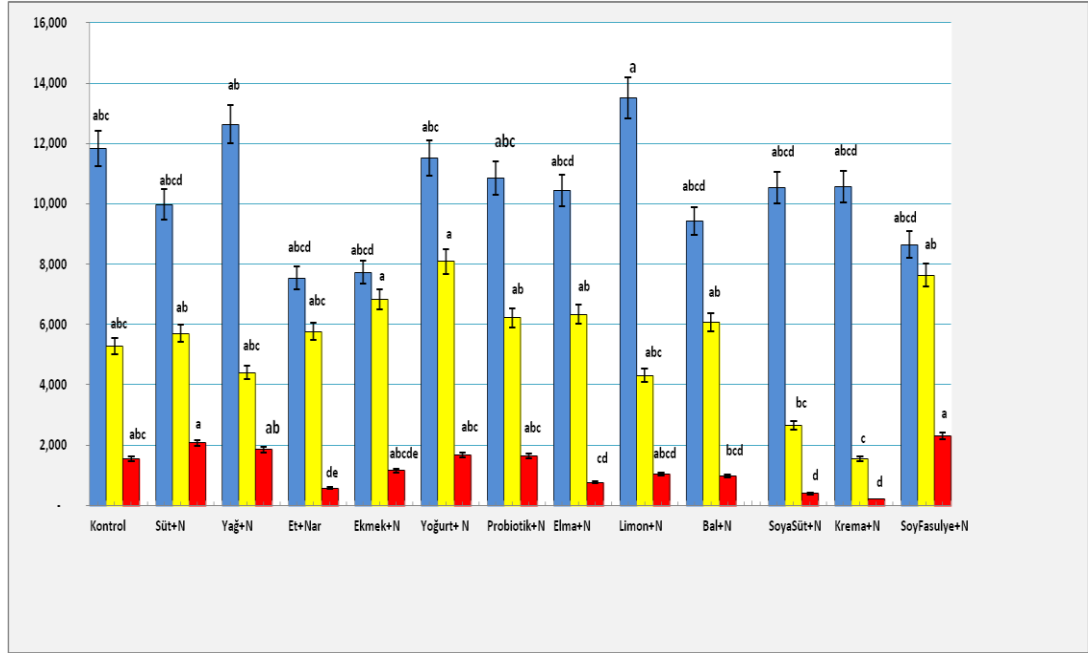
Narın diğer gıdalarla birlikte sindirimi sonrasında toplam antosiyanin miktarındaki değişimler Şekil 4.3 de gösterilmiştir. Toplam antosiyanin miktarındaki değişimler istatistiksel olarak analizlenmiştir. Toplam antosiyanin analizi pH diferansiyel metodu ile belirlenmiştir ve sonuçlar syn-3-glu / 100 gr yaş meyve cinsinden verilmiştir.

Kontrol numune olarak; nar meyvesine uygulanan *in vitro* sindirim metodu sonuçları kullanılmıştır. Tek başına narın mide sindiriminde antosiyanin miktarı (PG) 11.83 ± 0.60 syn-3-glu/ 100 g yaş meyve olarak belirlenmiştir. Pankreatik sindirim sırasında kolona geçen kısım (OUT) 5.27 ± 0.52 syn-3-glu/100 g yaş meyve; kana geçen kısım ise (IN) 1.55 ± 0.09 syn-3-glu/100 g yaş meyve olduğu tespit edilmiştir. Kıyaslamalar bu sonuçlara göre istatistiksel olarak belirlenmiştir.

Diğer gıdalarla birlikte sindirimleri arasında istatistiksel olarak farklı olanlar incelendiğinde; diğer gıdalarla tüketimde mide sindirimi sırasında (PG) kontrole göre önemli bir farklılık görülmemiştir. OUT fraksiyonunda (kolona geçen kısım) önemli bir farklılık görülmemiştir. Kana geçen fraksiyonda ise (IN); et, soya sütü ve krema da azaltıcı etki olduğu görülmüştür. Kremanın içerisinde yağ, protein ve karbonhidrat bulunmaktadır. Bu azaltıcı etkilerin proteinlerden kaynaklandığı belirtilebilir.

Çileklerin kremayla birlikte tüketilmesiyle çilekte bulunan pelargonidin-3 glukozit antosiyanininin kandaki miktarlarının 0-24 saat arasında kremayla tüketilmesine göre herhangi bir farklılık olmadığı, ancak 0-2 saat arasında azaldığı görülmüştür. Kremayla birlikte tüketimde 5-8 saat arasında kandaki değerinin arttığı görülmüştür.

Bu da midede ve kolonda çileğin kalış süresinin uzaması ile antosiyanin miktarının kanda artış gösterdiğini kanıtlamaktadır (Mullen ve diğ.,2008).



Şekil 4.3: Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi sonrası PG, OUT ve IN fraksiyonlarında toplam antosiyanin miktarlarının kıyaslanması (■: PG; ■:OUT; ■:IN)

4.2.3. Fenolik madde profili

Yağ, süt, et, ekmek, yoğurt, probiyotik yoğurt, elma, limon, bal, soya sütü, krema ve soya fasulyesi ile nar meyvesinin birlikte tüketiminde fenolik bileşenlerin her birinin potansiyel biyoyararlılığını belirlemek amacıyla uygulanan *in vitro* sindirim metodunda her bir fraksiyonunun analiz sonuçları ortalama değer±standart sapma şeklinde gösterilmiştir ve istatistiksel olarak analizlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.6'da gösterilmektedir.

Narda bulunan önemli fenolikler; gallik asit, kateşin, ferulik asit, kafeik asit olarak belirlenmiştir ve diğer gıdalarla birlikte sindirim sonrasında narda bulunan fenolik bileşiklerin kıyaslamaları bu 4 fenolik bileşen için yapılmıştır.

Narda bulunan gallik asit fenolik bileşiğinin potansiyel biyoyararlılığı, PG fraksiyonunda, yağ, süt, yoğurt, probiyotik yoğurt, limon, krema ile önemli bir değişim olmadığı görülmüştür. Et, ekmek, elma, soya sütü ile sindirimde narda bulunan fenolik bileşenlerden gallik asitin potansiyel biyoyararlılığı üzerine azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür. Bal ve soya fasulyesi ise,gallik asitin potansiyel biyoyararlılığı üzerine artırıcı etkisi olduğu belirlenmiştir. OUT fraksiyonunda ise,

Çizelge 4.6: Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi sonrası fenolik madde profilindeki değişimler

mg/100 g meyve			GA		Kateşin		Ferulik asit		Kafeik asit	
N+Yağ	PG	B	1.55±0.51		9.0±0.87		0.9±0.01		0.67±0.38	
		G	1.72±0.79		7.39±0.31		0.76±0.01		0.42±0.38	
	OUT	B	1.1±0.25	↑	3.9±0.35	↑	0.08±0.04	↑	0.10	
		G	1.97±0.28		7.28±1.17		0.26±0.01		0.09±0.03	
	IN	B	0.75±0.01	↓	1.56±0.18		0.05±0.02		0.10±0.04	↓
		G	0.22±0		1.84±0.67		0.07±0.04		-	↓
N+Süt	PG	B	1.25±0.51		9.0±0.87	↓	0.64±0.01		0.67±0.38	↓
		G	2.04±0.4		3.83±1.11		0.68±0.1		0.27±0.03	↓
	OUT	B	1.34±0.25	↑	3.9±0.35	↑	0.08±0.04	↑	0.10	
		G	2.01		7.46		0.29		0.09	
	IN	B	0.8±0.01	↓	1.56±0.18		0.05±0.02		0.10±0.04	
		G	0.36±0.19		1.16±0.2		0.04±0		0.04±0	
N+Et	PG	B	2.75±0.51	↓	9.0±0.87	↓	0.064±0.01	↓	0.67±0.38	↓
		G	1.63±0.07		5.29±0.07		0.32±0.03		0.11±0.02	↓
	OUT	B	0.92±0.25		3.9±0.35	↑	0.08±0.04	↑	0.10	
		G	1.16±0.7		5.15±2.44		0.16±0.04		0.05	
	IN	B	0.75±0.01	↓	1.56±0.18	↑	0.05±0.02	↑	0.10±0.04	↓
		G	0.47±0.13		2.31		0.12±0.1		-	↓
N+Ekmek	PG	B	1.8±0.51	↓	9.00±0.87	↓	0.64±0.01		0.67±0.38	↓
		G	0.94±0.25		4.89±0.88		0.61±0.01		0.12±0.03	↓
	OUT	B	1.1±0.25		7.83±0.35		0.34±0.04		0.1	
		G	1.68±0.42		9.89±1.29		0.55±0.17		0.13±0.09	
	IN	B	0.75±0.01		1.56±0.18	↓	0.05±0.02		0.1±0.04	↓
		G	0.09		0.63±0.17		0.05±0.01		-	↓
N+Yoğurt	PG	B	1.7±0.51		9.00±0.87	↓	0.64±0.01		0.67±0.38	↓
		G	1.9±0.09		5.96±1.86		0.5±0.15		0.12	↓
	OUT	B	1.5±0.25	↑	4.9±0.35		0.08±0.04		0.1	↓
		G	2.04±0.2		5.03±1.2		0.06±0.01		-	↓
	IN	B	0.75±0.01		1.56±0.18	↓	0.05±0.02		0.1±0.04	↓
		G	0.66±0.11		0.68		0.24±0		-	↓
N+Probiotik	PG	B	1.5±0.51		9.0±0.87	↓	0.64±0.01		0.67±0.38	↓
		G	1.47±0.4		4.17±1.11		0.64		0.13±0.03	
	OUT	B	0.9±0.25	↑	4.1±0.35	↑	0.08±0.04	↑	0.10	
		G	1.88±1.01		7.5±0.16		0.28±0.02		0.06	
	IN	B	0.75±0.01	↓	1.56±0.18		0.05±0.02		0.10±0.04	
		G	0.35±0.07	↓	1.57±0.08		0.06±0		0.04±0	

Çizelge 4.6: Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi sonrası fenolik madde profilindeki değişimler (devamı)

mg/100 g meyve			GA		Kateşin		Ferulik asit		Kafeik asit	
N+Elma	PG	B	1.7±0.51	↓	9.0±0.87	↔	0.64±0.01	↓	0.67±0.38	↓
		G	0.46±0.12		7.8±0.76	↔	0.43±0.05		0.11±0.09	↓
	OUT	B	0.35±0.25	↑	3.9±0.35	↓	0.08±0.04	↔	0.1	↔
		G	1.24±0.34		2.53±0.21		0.13±0.05		0.07±0.01	↔
	IN	B	0.75±0.01	↓	1.56±0.18	↔	1.3±0.02	↓	0.1±0.04	↔
		G	0.20±0.03		1.4		0.03		0.05±0.03	↔
N+Limon	PG	B	2.1±0.51	↔	9.0±0.87	↔	0.98±0.01	↑	0.67±0.38	↑
		G	2.08±0.06		9.34±0.11	↔	1.68±0.02		1.47±0.14	↑
	OUT	B	1.7±0.25	↔	3.9±0.3	↔	0.32±0.04	↑	0.10	↑
		G	1.92±0.05		4.67±0.78		0.84±0.04		0.32±0.03	↑
	IN	B	0.75±0.01	↔	1.56±0.18	↔	0.12±0.02	↔	0.10±0.04	↔
		G	1.05±0.66		1.32±0.21		0.15±0.02		0.13±0.02	↔
N+Bal	PG	B	1.05±0.51	↑	9.0±0.87	↓	0.64±0.01	↔	0.67±0.38	↔
		G	2.32±1.66		5.51±1.15		0.59±0.03		0.45±0.08	↔
	OUT	B	0.35±0.25	↑	3.9±0.35	↔	0.12±0.04	↔	0.1	↔
		G	1.87±0.65		2.25±1.02		0.16±0.02		0.12±0	↔
	IN	B	0.75±0.01	↔	1.56±0.18	↓	0.05±0.02	↔	0.10±0.04	↔
		G	0.84±0.01		0.4±0.2		0.1±0.06		0.06	↔
N+Soya sütü	PG	B	1.9±0.51	↓	9.00±0.87	↔	0.64±0.01	↔	0.67±0.38	↓
		G	1.21±0.08		7.43±2.27		0.38±0.3		0.08±0.01	↓
	OUT	B	0.35±0.25	↑	3.9±0.35	↔	0.08±0.04	↔	0.1	↔
		G	2.43±0.69		3.38±0.5		0.11±0.06		0.16±0.04	↔
	IN	B	1.2±0.01	↔	1.56±0.18	↔	0.05±0.02	↔	0.1±0.04	↓
		G	0.88±0.2		0.86±0.63		0.03±0.01		0.04	↓
N+Krema	PG	B	1.05±0.51	↔	9.0±0.87	↓	0.64±0.01	↔	0.67±0.38	↓
		G	1.05±0.08		3.68±1.32		0.56±0.07		0.08±0.05	↓
	OUT	B	0.35±0.25	↑	3.9±0.35	↓	0.13±0.04	↔	0.1	↔
		G	1.92±1.21		1.76±1.87		0.22±0.19		0.12±0.09	↔
	IN	B	0.75±0.01	↔	1.56±0.18	↓	0.05±0.02	↔	0.1±0.04	↓
		G	0.5		0.7±0.12		0.04±0.01		0.03±0.01	↓
N+Soya fasulyesi	PG	B	2.05±0.51	↑	11.23±0.8	↓	0.64±0.01	↓	0.67±0.38	↔
		G	4.5±0.28		5.23±1.68		0.4±0.05		0.43±0.3	↔
	OUT	B	2.3±0.25	↓	6.7±0.35	↓	0.08±0.04	↑	0.10	↔
		G	1.14±0.49		3.37±1.82		0.17±0.02		0.28±0.25	↔
	IN	B	0.75±0.01	↔	3.4±0.18	↓	0.05±0.02	↔	0.1±0.04	↔
		G	0.59±0.02		1.19±1.14		0.08±0		0.02±0.01	↔

(B: Beklenen değer, G: Gözlenen değer)

Yağ, süt, yoğurt, probiotik yoğurt, elma, bal, soya sütü, krema ile narın in vitro sindirim metodu ile sindiriminde gallik asit biyoyararlılığı üzerine önemli derecede artırıcı etkisi olduğu görülmüştür. Et, ekmek ve limonun ise gallik asit potansiyel biyoyararlılığı üzerine önemli bir etisi bulunamamıştır. Soya fasulyesinin mide sindirimi sırasındaki artışın aksine azaldığı görülmüştür. Pankratik sindirimin sırasında, IN fraksiyonunda, yağ, süt, et, probiotik yoğurt ve elma ile tüketiminde gallik asit potansiyel biyoyararlılığı üzerine azaltıcı etkisinin olduğu görülmüştür. Ekmek, yoğurt, limon, bal, soya sütü, krema ve soya fasulyesinin ise, önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Kateşin, potansiyel biyoyararlılığı üzerine, PG fraksiyonunda, yağ, elma, limon ve soya sütü ile narın sindirimi sırasında önemli bir etki görülmemiştir. Süt, et, ekmek, yoğurt, probiotik yoğurt, bal, krema ve soya fasulyesi ile sindirimde azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür. OUT fraksiyonunda, yağ, süt, et, probiotik yoğurtun narda bulunan fenolik bileşenlerden kateşin potansiyel biyoyararlılığına artırıcı bir etkisinin olduğu görülmüştür. Ekmek, yoğurt, limon, bal, soya sütünün ise potansiyel biyoyararlılık üzerine bir etkisi bulunamamıştır. Elma, krema ve soya fasulyesinin ise azaltıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir. IN fraksiyonunda, sadece pişmiş et ile sindirim sırasında narda bulunan kateşin fenolik bileşiğinin potansiyel biyoyararlılığı üzerine artırıcı etkisi olduğu görülmüştür. Bununla beraber, yağ, süt, probiotik yoğurt, elma, limon, soya sütünün birlikte sindirimi sonrasında anlamlı bir etki etmediği görülmüştür. Ekmek, yoğurt, bal, krema ve soya fasulyesinin ise kateşin biyoyararlılığını azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür.

Ferulik asit potansiyel biyoyararlılığı için, PG fraksiyonunuda, yağ, süt, ekmek, yoğurt, probiotik yoğurt, bal, soya sütü ve krema ile narın birlikte tüketiminde önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür. Pişmiş et, elma ve soya fasulyesi ile tüketimde ise, ferulik asit potansiyel biyoyararlılığına azaltıcı etki yapmıştır ve ferulik asit miktarında azalmaya sebep olmuştur. Tek artırıcı gıdanın ise limon ile birlikte narın in vitro sindirim metodu sonrası ölçülen miktarda görülmüştür. OUT fraksiyonunda ise, yağ, süt, et, probiotik yoğurt, limon, soya fasulyesi ile narın sindiriminde ferulik asit potansiyel biyoyararlılığı üzerine artırıcı bir etki görülmüştür. Ekmek, yoğurt, elma, bal, soya sütü ve krema ile tüketimde ferulik asit potansiyel biyoyararlılığı üzerine anlamlı bir etki görülmemiştir. IN fraksiyonunda ise, yağ, süt, ekmek, yoğurt, probiotik yoğurt, limon, bal,soya sütü, krema ve soya

fasulyesinin analımlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Elma ile birlikte tüketimde narda bulunan fenolik bileşenlerden ferulik asitin potansiyel biyoyararlılığının azaldığı, bunun yanı sıra et ile birlikte tüketimde arttığı sonucuna varılmıştır.

Kafeik asitin potansiyel biyoyararlılığına PG fraksiyonunda, yağ, probiotik yoğurt, bal ve soya fasulyesi ile narın tüketiminde önemli bir etki görülmemiştir. Sütün, pişmiş etin, ekmeğin, yoğurtun, elmanın, soya sütünün ve kremanın azaltıcı etkisi olduğu görülmektedir. Bunların aksine limon ile narın sindiriminde kafeik asit potansiyel biyoyararlılığına karşı artırıcı etkisi görülmektedir. OUT fraksiyonunda, yağ, süt, et, ekmek, probiotik yoğurt, elma, bal, soya sütü, krema ve soya fasulyesinin kolona geçen kısımda kafeik asit miktarı üzerine analımlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Yoğurt ile tüketimde potansiyeli biyoyararlılığın azaldığı ve limon ile tüketimde ise artırdığı sonucuna varılmıştır. IN fraksiyonunda ise, yağ, et, ekmek, yoğurt, soya sütü, ve krema ile tüketimde ferulik asit potansiyel biyoyararlılığında azalma görülmektedir. Süt, probiotik yoğurt, elma, limon, bal, soya fasulyesinin tüketiminde önemli bir değişim olmamıştır.

Limonun fenolik bileşenlerin potansiyel biyoyararlılığına etkisi olduğu görülmektedir. PG fraksiyonunda, limonun fenolik bileşenlerin açığa çıkmasını artırdığı görülmüştür.

Ekmek ve buğdaya *in vitro* sindirim metodu uygulanmıştır, ferulik asit biyoyararlılığının emiliminin çok düşük olduğu, undan emiliminin yüksek olduğu görülmüştür. Parçalanmanın ve toz haline getirmenin hücre duvarlarının parçalanmasıyla ferulik asit emiliminin artırdığını belirlemişlerdir (Anson ve diğ., 2009).

4.2.4. Antosiyanin profili

Yağ, süt, et, ekmek, yoğurt, probiyotik yoğurt, elma, limon, bal, soya sütü, krema ve soya fasulyesi ile nar meyvesinin birlikte tüketiminde başlıca antosiyaninlerin her birinin potansiyel biyoyararlılığını belirlemek amacıyla uygulanan *in vitro* sindirim metodunda her bir fraksiyonunun analiz sonuçları ortalama değer±standart sapma şeklinde gösterilmiştir ve istatistiksel olarak analizlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.7’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.7: Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi sonrası antosiyanin profilindeki değişimler

mg/100 g meyve		Delfinidin-3-5-O-diglukozit	Siyanidin-3-5-O-diglukozit	Pelargonidin-3-5-di-O-glukozit	Siyanidin-3-O-glikozit	Pelargonidin-3-O-glikozit
Kontrol	PG	7.86±1.8ab	11.16±2.24ab	17.85±7.86ab	4.68±0.01ab	0.45±0.07ab
	OUT	-	2.32±1.68cde	-	0.21±0.01b	-
	IN	-	0.94±0.60abc	-	0.12	-
N+Yağ	PG	5.62±1.4a	11.95±0.84a	19.70±8.31ab	5.13±0.60a	0.50±0.07a
	OUT	-	4.64	4.64	1.33±0.76a	-
	IN	-	0.67	-	0.14	-
N+Süt	PG	6.38±1.1ab	9.00±1.53abcd	15.02±4.74ab	4.14±0.00abc	0.17±0.02d
	OUT	-	8.87	-	0.78	-
	IN	-	1.51±0.37a	-	0.17±0.06a	-
N+Et	PG	5,01±1,1ab	6.42±0.34d	8.05±2.54b	1.82±0.20e	0.24
	OUT	-	4.40±1.27bcd	-	0.52±0.24ab	-
	IN	-	0.48±0.40bc	-	0.14±0.06a	-
N+Ekmekek	PG	5,62±1,4ab	7.65±0.62cd	8.71±3.52ab	2.57±0.21cde	0.22±0.03cd
	OUT	-	10.52±2.97a	-	1.33±0.76a	0.28
	IN	-	0.86±0.11abc	-	0.07	-
N+Yoğurt	PG	6.50	6.99±0.72d	17.99	1.99±2.60de	0.23
	OUT	-	5.08±1.14bc	-	0.94±0.11ab	-
	IN	-	1.51±0.41a	-	0.20±0.01a	-
N+Probiotik	PG	4.71±0.8b	8.68	12.22	3.74	0.31
	OUT	-	7.06±1.91b	1.07	0.98	-
	IN	-	1.29±0.52ab	-	0.13±0.02a	-
N+Elma	PG	5.93±1.6ab	8.69±1.45bcd	13.21±6.07ab	3.82±0.16abcd	0.30±0.00cd
	OUT	-	0.43±0.09e	-	0.30	-
	IN	-	0.18±0.09c	-	0.13±0.08a	-
N+Limon	PG	8.64±0.08a	9.39±0.42abcd	21.82±0.35a	4.74±0.13a	0.34
	OUT	-	1.37±0.85de	-	0.27	-
	IN	-	0.20	-	-	0.07
N+Bal	PG	5.93±1.7ab	8.78±1.47bcd	15.20±6.85ab	4.05±0.11abc	-
	OUT	-	3.36±1.02cde	-	0.23±0.05b	-
	IN	-	0.37±0.1 bc	-	-	-
N+Soya sütü	PG	6.26±1.4ab	10.29±1.95abc	14.69±4.89ab	4.26±0.02abc	0.25±0.00bcd
	OUT	-	0.43	-	-	-
	IN	-	-	-	-	-
N+Krema	PG	5.18±1.0ab	7.46±1.37cd	11.44±4.00ab	3.43±0.03abcde	0.27
	OUT	-	1.22	-	-	-
	IN	-	-	-	-	-
N+Soya Fasulyesi	PG	5.39±2.3ab	8.11±0.40bcd	8.54±4.99ab	2.79±0.22bcde	0.43±0.20abc
	OUT	-	3.48±0.58bcde	-	0.50±.19ab	-
	IN	-	1.05±0.49abc	-	0.19±0.03a	-

Diğer gıdalarla nar meyvesinin birlikte sindirimi sonrası antosiyanin profilinde delfinidin 3-5-diglukozit antosiyaninin; pankreatik sindirim sırasında (IN ve OUT) tamamen kaybolduğu, diğer gıdalarla tüketiminde kontrolle kıyaslandığında önemli bir farklılık görülmemiştir.

Narda bulunan siyanidin 3-5 diglukozit antosiyanininin diğer gıdalarla birlikte tüketiminde IN kısmında önemli bir farklılık görülmemiştir. Mide sindirimi sırasında ise; et, ekmek, yoğurt ve krema ile tüketim sırasında mide kısmında antosiyanin potansiyel biyoyararlılığının azaldığı görülmüştür. Kolona geçen kısımda ise (OUT) ekmek ve probiyotik yoğurt ile nar tüketiminde antosiyanin biyoyararlılığında sinerjistik etki görülmüştür.

Narda bulunan pelargonidin 3-5 diglikozit pankreatik sindirim sırasında belirlenememiştir. Bununla beraber diğer gıdalarla narın birlikte sindirimi sonrasında kontrole göre herhangi bir farklılık görülmemiştir.

Siyanidin 3-0-glikozit incelendiğinde; mide sindirimi sırasında narın et, ekmek, ve yoğurt ile sindirimi sırasında bu antosiyaninin potansiyel biyoyararlılığını inhibe ettiği görülmüştür. Bununla beraber pankreatik sindirim sırasında kolona geçen kısımda narın yağ ve ekmek ile tüketiminde antosiyaninlerin potansiyel biyoyararlılığında sinerjistik etki görülmüştür. Kana geçen kısımda ise önemli bir farklılık görülmemiştir. Siyanidin yapı olarak daha kararlı olduğu tespit edilmiştir.

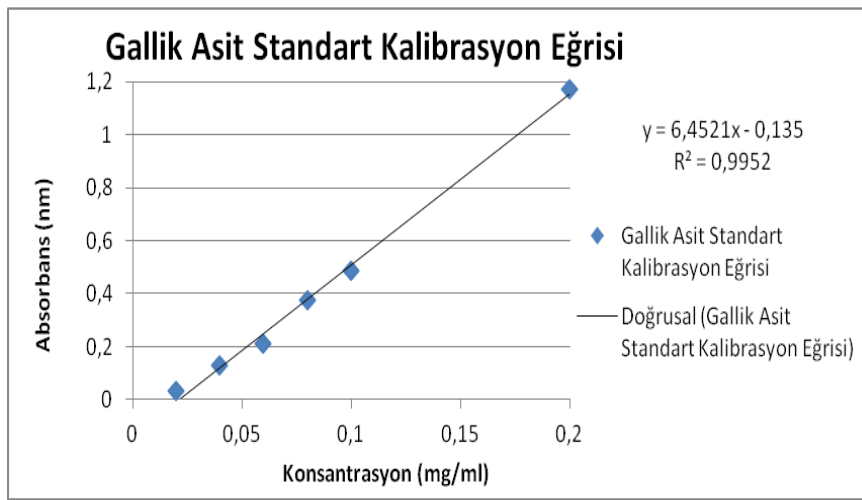
Pelargonidin 3-0 glikozitin pankreatik sindirim sırasında tamamen yok olduğu, mide sindirimi boyunca süt, ekmek ve elma ile birlikte tüketiminde potansiyel biyoyararlılığını inhibe ettiği görülmüştür.

Hollman ve diğ. (1995) tarafından dokuz ileostomi hastası üzerinde yapılan bir çalışmada kuersetin flavonoidinin emilim derecesi incelenmiştir. On iki günlük kuersetin içermeyen diyetin ardından kişiler 12 gün boyunca kızartılmış soğan (kuersetin glikozit), saf kuersetin rutinozit (çayda bulunan temel kuersetin glikozit) veya 100 mg saf kuersetin aglikonu içeren diyetler ile beslenmek üzere rastgele gruplandırılmıştır. Çalışmanın sonucunda, kuersetin aglikonun emiliminin %24, soğandaki kuersetin glikozitlerinin emiliminin ise %52 olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, şeker kısmının emilimini arttırdığını ortaya koymaktadır.

4.3. Narın Biyoyararlılığına Çeşitli Gıda Bileşenlerinin Matris Etkilerinin İncelenmesi

4.3.1. Toplam fenolik madde miktarı analizi

Gıda bileşenlerinin nar meyvesinin biyoyararlılığını etkisini belirlemek için model sistemlerde *in vitro* sindirim metodu uygulanmıştır. Toplam fenolik madde analizi sonuçları her bir örnek için mg gallik asit cinsinden (GAE)/ 100 g meyve olarak ifade edilmiştir. Gallik asit kalibrasyon grafiği 0.002-0.2 mg/ml konsantrasyon arasında hazırlanmış ve Şekil 4.4 de sunulmuştur. Konsantrasyon miktarları belirlenirken %100 su içerisinde çözündürme gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.4: Gallik asit standart kalibrasyon grafiği.

Nar meyvesinin gıda bileşenleriyle birlikte sindirimi sonrasında nardaki bulunan fenolik bileşenlerin potansiyel biyoyararlılığındaki değişimler Çizelge 4.8 de sonuçları verilen toplam fenolik madde analizi ile belirlenmiştir. Beklenen ve gözlenen değerler için bütün değerlendirmeler istatistiksel olarak gösterilmiştir.

Çalışmada mide sindirimi sonrasında (PG) soya proteini, süt proteini, et proteini, laktoz, nişasta, fruktoz, sitrik asit, pişmiş nişasta, selüloz, C vitamini, E vitamini ve tuz ile birlikte narın tüketiminde fenolik bileşenlerin potansiyel biyoyararlılığına azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür. Yine mide sindirimi sonrasında PG fraksiyonu için; buğday proteini, stearik asit, linoleik asit, galaktoz, glukoz ve pektin ile birlikte sindiriminde fenolik bileşen biyoyararlılığında önemli bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.8: Nar meyvesinin gıda bileşenleri ile birlikte tüketilmesi sonrası toplam fenolik madde miktarındaki değişimleri.

mg/100 g meyve		PG (mg GAE/100g meyve)		OUT (mg GAE/100g meyve)		IN (mg GAE/100g meyve)	
N+Soya Proteini	B	2520.63±0.67	↓	1924.09±17.89	↓	278.40±0.31	↑
	G	2083.65±27.5		1552.54±45.99		301.64±28.12	
N+Süt Proteini	B	2678.46±0.67	↓	1848.40±17.89	↓	330.17±0.31	↑
	G	2471.73±159.		1714.2±2.04		354.69±14.81	
N+Et Proteini	B	614.73±0.67	↓	466.66±17.89	↓	137.17±0.31	↔
	G	434.82±28.77		364.69±24.61		139.91±10.22	
N+Buğday Proteini	B	1994.16±0.67	↔	1351.68±17.89	↑	245.28±0.31	↔
	G	1981.47±84.5		1537.29±99.52		249.03±3.28	
N+Stearik asit	B	278.13±0.67	↔	198.84±17.89	↔	85.76±0.31	↓
	G	245.59±8.83		173.23±6.36		56.26±4.21	
N+Linoleik asit	B	276.48±0.67	↔	175.06±17.89	↔	82.51±0.31	↓
	G	219.27±0.42		172.28±8.86		57.14±3.47	
N+Laktoz	B	327.59±0.67	↓	229.94±17.89	↓	110.37±0.31	↓
	G	236.35±9.41		159.45±12.46		49.95±4.96	
N+Nışasta	B	308.17±6.01	↓	200.02±17.89	↓	108.88±0.31	↓
	G	217.56±11.49		124.5±12.71		36.15±2.54	
N+Pıymış Nışasta	B	287.43±0.67	↓	144.43±17.89	↓	76.65±0.31	↓
	G	155.67±9.74		77.07±10.20		36.90±0.62	
N+Galaktoz	B	275.89±0.67	↔	168.44±17.89	↔	69.20±0.31	↔
	G	237.59±16.66		153.89±6.44		51.49±353	
N+Fruktoz	B	321.59±0.67	↓	209.36±17.89	↔	100.13±0.31	↓
	G	266.3±3.91		175.24±8.03		44.22±3.78	
N+Glukoz	B	289.31±0.67	↔	179.09±17.89	↔	87.07±0.31	↓
	G	241.30±27.9		171.21±2.84		51.01±10.65	
N+Pektin	B	472.70±0.67	↔	297.94±17.89	↔	91.54±0.31	↓
	G	538.08±4.58		319.73±58.54		54.69±1.73	
N+Selüloz	B	287.08±0.67	↓	219.53±17.89	↓	90.75±0.31	↓
	G	192.99±10.93		159.39±2.68		66.34±5.82	
N+C vitamini	B	29375.52±0.6	↓	24112.28±17.89	↓	8663.03±0.31	↓
	G	29213.55±29.15		18592.27±2269		6961.81±800.65	
N+E vitamini	B	296.73±0.67	↓	187.25±17.89	↔	83.57±0.31	↓
	G	214.68±1.42		142.95±1.84		36.99±1.73	
N+Sitrik asit	B	283.66±0.67	↓	170.93±17.89	↓	81.64±0.31	↓
	B	231.87±15.57		116.81±0		50.83±0	
N+Tuz	G	283.66±0.67	↓	171.64±17.89	↓	80.42±0.31	↓
	B	152.73±6.41		90.08±15.39		48.73±5.58	

Çalışmada mide sindirimi sonrasında (PG) soya proteini, süt proteini, et proteini, laktoz, nişasta, fruktoz, sitrik asit, pişmiş nişasta, selüloz, C vitamini, E vitamini ve tuz ile birlikte nar tüketiminin fenolik bileşenlerin potansiyel biyoyararlılığını azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür. Yine mide sindirimi sonrasında PG fraksiyonu için; buğday proteini, stearik asit, linoleik asit, galaktoz, glukoz ve pektin ile birlikte sindiriminde fenolik bileşen biyoyararlılığında önemli bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Çalışmada pankreatik sindirim sırasında kolona geçen kısımda (OUT); buğday proteini ile narın birlikte tüketiminin nardaki toplam fenolik madde miktarını arttırdığı görülmüştür. Soya proteini, süt proteini, et proteini, laktoz, nişasta, pişmiş nişasta, selüloz, sitrik asit, C vitamini ve tuz ile narın birlikte tüketimi sonrasında, fenolik bileşenlerin biyoyararlılığına azaltıcı etki gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte; stearik asit, linoleik asit, galaktoz, fruktoz, glukoz, pektin ve E vitaminin ise önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

Yağ asitlerinin, PG ve OUT fraksiyonlarında, nardaki fenolik bileşenlerin üzerine koruyucu etkisi olduğu görülmüştür. Proteinlerin ise fenolik bileşen biyoyararlılığını azalttığı görülmüştür.

IN fraksiyonunda, kana geçen kısımda, soya proteini ve süt proteininin nardaki fenolik bileşenler için arttırıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir. Galaktozun önemli bir etkisinin olmadığı ($p>0.05$), stearik asitin, linoleik asitin, fruktozun, glukozun, pektinin, selülozun, C vitaminin, laktozun, nişastanın, pişmiş nişastanın, E vitaminin, sitrik asitin ve tuzun narda bulunan fenolik bileşenler üzerine azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür ($p<0.05$).

Tuzun fenolik bileşenlerin biyoyararlılığını azaltıcı etkisi *in vitro* sindirimin tüm fraksiyonlarında görülmektedir. Aynı etki C vitamini ile narın birlikte tüketimi sırasında da görülmüştür. C vitamininin bozunmayı hızlandırdığı ve fenolik bileşenlerin yapılarını koruyamadığı görülmektedir. IN fraksiyonunda, şekerlerden; galaktozun narda bulunan fenolik bileşenler üzerine etkisi olmamasına rağmen; glukoz ve fruktozun azaltıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir.

Sindirilemeyen oligosakkaritlerden difruktoz anhidrid ve fruktooligosakkaritler kolonda tutunmayı artırır ve bu sindirilmeyen oligosakkaritlerle alınan rutin biyoyararlılığının artmasına neden olmuştur (Matsukawa, 2009).

Soyalı gıdalarla 40 gr buğday liflerinin birarada tüketilmesi sırasında, izoflavonların emilimi açısından önemli bir değişim bulunamamıştır. Buna ek olarak diyet liflerin etkisi üzerine daha çok araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır. Diyet lifleri bitkisel gıdalarda bulunan polifenollerle ilişkilendirmektedir (Manach, 2011). Nişasta, buğday proteini ve selüloz ile narın birlikte tüketimi sonrasında narda bulunan fenolik bileşenlerin potansiyel biyoyararlılığı üzerine önemli bir farklılık görülmemiştir.

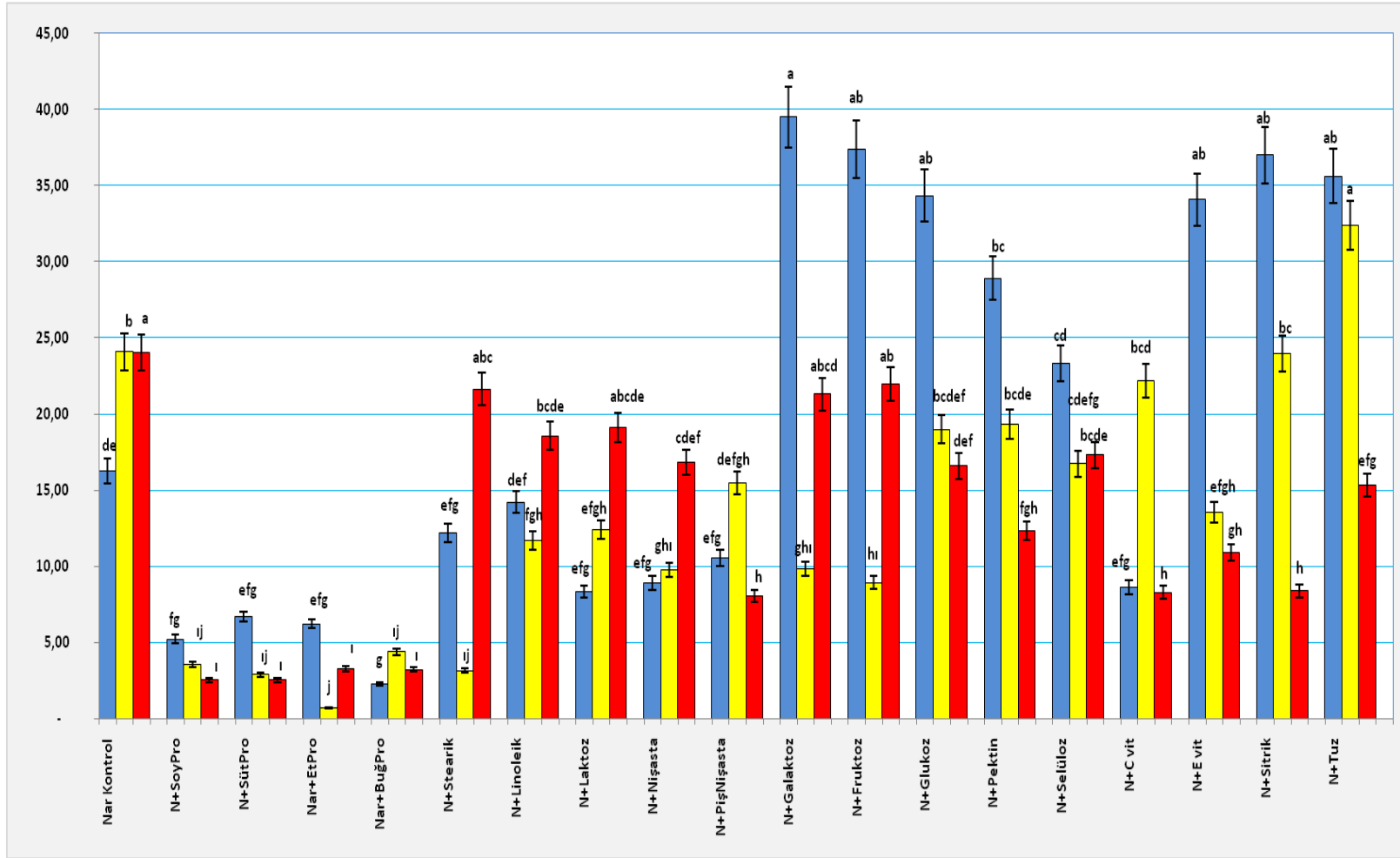
4.3.2. Toplam antosiyanin miktarı

Toplam antosiyanin analizi pH diferansiyel metodu ile belirlenmiştir ve sonuçlar syn-3-glu / 100 gr yaş meyve cinsinden verilmiştir. Nar meyvesinin diğer gıda bileşenleriyle tüketilmesi sonrası PG, OUT ve IN fraksiyonlarında toplam antosiyanin miktarları ve bağıl dağılımları Şekil 4.5 de gösterilmektedir.

Mide sindirimi sırasında (PG); nar ile birlikte gıda bileşenlerinden soya proteini ve buğday proteinin birlikte tüketimi antosiyanin biyoyararlılığını etkilediği görülmüştür. Süt proteini, et proteini, stearik, linoleik, laktoz, nişasta, pişmiş nişasta, selüloz ve C vitamini ile birlikte tüketimde antosiyaninin biyoyararlılığı açısından önemli bir farklılık bulunmamıştır. Galaktoz, fruktoz, glukoz, pektin, E vitamini, sitrik asit ve tuzun antosiyanin biyoyararlılığı üzerine arttırıcı etkisi olduğu görülmektedir.

Pankreatik sindirim (OUT); Glukoz, pektin, selüloz, C vitamini ve sitrik asitin antosiyanin biyoyararlılığı üzerine etkisi görülmemiştir. Tuzun nar ile birlikte tüketiminde ise toplam fenolik bileşenlerin potansiyel biyoyararlılığının aksine en yüksek antosiyanin artışı görülmüştür. Soya proteini, süt proteini, et proteini, buğday proteini, stearik asit, linoleik asit, laktoz, nişasta, pişmiş nişasta, galaktoz, fruktoz ve E vitamininin narda bulunan antosiyaninler üzerine azaltıcı etkileri olduğu görülmüştür.

Pankreatik sindirim sırasında; kana geçen kısımda (IN); narda bulunan antosiyaninlerin potansiyel biyoyararlılığına gıda bileşenlerinden stearik asitin, laktoz, galaktoz ve fruktozun etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Soya proteinin, süt proteininin, et proteininin, buğday proteininin, linoleik asit, nişasta, pişmiş nişastanın, glukozun, pektinin, selülozun, C vitaminin, E vitaminin, sitrik asitin ve tuzun ise narda bulunan antosiyaninler üzerine potansiyel biyoyararlılığı azaltıcı



Şekil 4.5: Nar meyvesinin gıda bileşenleri ile birlikte tüketilmesi sonrası PG, OUT ve IN fraksiyonlarında toplam antosiyanin miktarlarının kıyaslanması (■: PG; ■: OUT; ■: IN)

etkileri görülmüştür. PG, OUT ve IN fraksiyonlarında toplam antosiyanin miktarının potansiyel biyoyararlılığını sırasıyla galaktoz ile birlikte tüketimde (39.49 ± 1.29 mg syn-3-glu/100 g yenilebilir meyve), tuz ile birlikte tüketimde (32.37 ± 4.87 mg syn-3-glu/100 g yenilebilir meyve) ve narın tek başına tüketiminde (kontrol) (24.04 ± 2.19 mg syn-3-glu/100 g yenilebilir meyve) en yüksek sonuçlar belirlenmiştir. OUT fraksiyonunda, tuz ile birlikte narın tüketiminde en yüksek antosiyanin biyoyararlılığının görülmesi; kolona geçen madde miktarını arttırması ve tuzun bağlayıcı özelliği ile ilişkilendirilmektedir.. Saura-Calixto ve diğ., (2007) kolona sindirilmeden geçen fenolik bileşenlerin kolondaki bakteriler tarafından büyük çoğunluğunun kana geçtiğini belirlemişlerdir. Böylelikle tuz ile birlikte narın sindiriminde kolondan da emilim olabileceği düşünülmektedir.

PG fraksiyonunda; toplam antosiyanin miktarının potansiyel biyoyararlılığı üzerine en yüksek sonuçlar, şekerler ile narın birlikte tüketimi sırasında belirlenmiştir. Fakat IN ve OUT fraksiyonlarında aynı etki görülmemiştir. OUT fraksiyonunda, glukozun, fruktoz ve galaktoza göre narda bulunan fenolik bileşenler üzerine koruyucu etkisi olduğu görülmüştür. Cao ve diğ., (2009) yaptığı çalışmada kan portakalında bulunan antosiyaninlerin sıcaklıkla bozunması üzerine kan portakalında bulunan flavonoidlerin, şekerlerin ve askorbik asitin etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada antosiyaninlerin üzerine flavonoidlerin koruyucu etkisi olduğu şeker ve askorbik asitin antosiyaninin bozunmasını hızlandırdığı belirlenmiştir. Sıcaklıkla birlikte şeker ilavesinin antosiyanin bozunmasını hızlandırdığı, fakat antosiyaninlerin sıcaklıkla birlikte bozunmasını flavonoid ve askorbik asitin varlığının azalttığı belirtilmiştir. Şekerlerin içinde de antosiyanini en çok koruyan yapının glukoz> sukroz> fruktoz olarak sıralamışlardır. Bu durum literatür ile paralellik göstermektedir. Fakat; IN fraksiyonunda; fruktozun glukozu göre antosiyaninin potansiyel biyoyararlılığını koruduğu görülmüştür. Şekerler ile birlikte tüketimde antosiyaninin potansiyel biyoyararlılığı üzerine literatürde çalışma olmaması karşılaştırma açısından sorun oluşturmaktadır.

Fruktoz antosiyanin yıkımında glikozdan daha büyük etki göstermektedir. Ketoheksoz (Fruktoz) antosiyanin yıkımına sebep olan furfuraldan oluşması sebebiyle aldoheksoz (glikoz) a göre daha yıkıcı etki göstermektedir (Rubinskiene ve diğ.,2005).

4.3.3. Fenolik madde profili

Soya proteini, süt proteini, et proteini, buğday proteini, stearik asit, linoleik asit, laktoz, nişasta, pişmiş nişasta, galaktoz, fruktoz, glukoz, pektin, selüloz, C vitamini, E vitamini ile nar meyvesinin birlikte tüketiminde fenolik bileşenlerin her birinin potansiyel biyoyararlılığını belirlemek amacıyla uygulanan *in vitro* sindirim metodunda her bir fraksiyonunun analiz sonuçları ortalama değer±standart sapma şeklinde gösterilmiştir ve istatistiksel olarak analizlenmiştir. Sonuçlar izelge 4.9’da gösterilmektedir.

Narda bulunan başlıca fenolikler; gallik asit, kateşin, ferulik asit, kafeik asit olarak belirlenmiştir ve gıda bileşenleriyle birlikte sindirim sonrasında narda bulunan fenolik bileşiklerin kıyaslamaları bu 4 fenolik bileşen için yapılmıştır. Başlıca dört fenolik bileşenden gallik asitin potansiyel biyoyararlılığına, PG fraksiyonunda, gıda bileşenlerinden, soya proteini, stearik asit, linoleik asit, nişasta, glukoz, selüloz, E vitamini ve tuzun önemli bir etkisinin olmadığı grlmştır. Süt proteini, et proteini, pişmiş nişasta, fruktoz ve sitrik asitin azaltıcı etkileri olduğu grlmştır. Buğday proteini, laktoz, galaktoz ve C vitaminin gallik asitin potansiyel biyoyararlılığını mide sindirimi sırasında arttırdığı belirlenmiştir. OUT fraksiyonunda, soya proteini, et proteini, buğday proteini, stearik, linoleik, laktoz, nişasta, galaktoz, selüloz, C vitamini, E vitamini ve tuzun gallik asit potansiyel biyoyararlılığına önemli etkilerinin olmadığı tespit edilmiştir. Süt proteininin, fruktozun ve glukozun azaltıcı etkileri olduğu grlmştır. Bununla beraber, pişmiş nişastanın gallik asit potansiyel biyoyararlılığını arttırıcı etkisi olmuştur. IN fraksiyonunda, soya proteini, et proteini, linoleik asit, laktoz, galaktoz, glukoz, selüloz, E vitamini, sitrik asit ve tuzun gallik asit potansiyel biyoyararlılığı üzerine önemli etkileri bulunmamıştır. Süt proteini, buğday proteini, nişasta ve pişmiş nişastanın ise azaltıcı etkileri grlmştır. Stearik asit, fruktoz, pektin ve C vitaminin arttırıcı etkileri olduğu grlmştır.

Narda bulunan kateşin fenolik bileşiğinin, potansiyel biyoyararlılığına gıda bileşenlerinin sindirim sırasında etkileri incelendiğinde; PG fraksiyonunda, soya proteini, süt proteini, et proteini, buğday proteini, stearik asit, linoleik asit, laktoz, nişasta, pişmiş nişasta, galaktoz, glukoz, selüloz ve sitrik asitin önemli bir etkilerinin olmadığı grlmştır. Bununla beraber, fruktoz, E vitamini ve tuzun

Çizelge 4.9.: Nar meyvesinin gıda bileşenleri ile tüketilmesi sonrası fenolik madde profilindeki değişimler.

mg/100 g meyve			GA		Kateşin		Ferulik asit		Kafeik asit	
N+SoyPro	PG	B	2.67±0.1	↔	9.3±2.4	↔	1.1±0.08	↔	0.45±0.01	↔
		G	2.85±0.3		10.53±0.2		0.81±0.4		0.3±0.04	
	OUT	B	1.7±0.7	↔	5.9±0.47	↔	0.72±0.01	↔	0.53±0.01	↔
		G	1.49±0.4		5.7±2.0		0.91±0.78		0.34	
	IN	B	0.97±0.1	↔	3.1±0.1	↑	0.12±0.02	↔	-	
		G	1.1±0.09		6.65		0.23±0.08		-	
N+Süt Pro	PG	B	1.49±0.1	↓	8.9±2.4	↔	0.97±0.08	↓	0.55±0.01	↓
		G	0.91±0.1		10.6±4.3		0.69±0.13		0.24±0.14	
	OUT	B	1.7±0.7	↓	5.8±0.47	↔	0.27±0.01	↔	-	
		G	0.52±0.1		5.1±0.36		0.25±0.05		0.19	
	IN	B	0.97±0.1	↓	5.2±0.1	↔	-	-	-	
		G	0.63±0.1		4.7±2.1		-		0.19	
N+Et Pro	PG	B	1.6±0.13	↓	9.3±2.4	↔	0.7±0.08	↔	0.75±0.01	↓
		G	0.83±0.7		7.3±0.5		0.60±0.05		0.15±0.09	
	OUT	B	1.5±0.7	↔	6.1±0.4	↔	0.78±0.1	↑	-	
		G	1.17±0.3		6.85±3.1		1.08		-	
	IN	B	1.1±0.1	↔	-	↑	-	-	-	
		G	0.96±0.2		6.98		-		-	
N+Buğday Pro	PG	B	2.89±0.1	↑	14±2.4	↔	1.7±0.08	↔	0.85±0.01	↓
		G	3.64±0.7		13±0.8		1.22±0.03		-	
	OUT	B	2.7±0.7	↔	10.1±0.47	↔	1.2±0.08	↔	0.33±0.03	↓
		G	1.98±0.5		7.6±2.9		0.98±0.3		0.21	
	IN	B	1.7±0.1	↓	3.2±0.1	↓	0.6±0.1	↔	-	-
		G	0.7±0.06		1.02		0.42±0.18		-	
N+Stearik	PG	B	3.68±0.1	↔	7.9±2.4	↔	0.63±0.08	↑	0.55±0.01	↔
		G	3.70±0.5		7.6±0.9		0.94±0.04		0.61±0.33	
	OUT	B	1.6±0.7	↔	5.2±0.5	↔	0.16±0.1	↔	-	↑
		G	1.74±0.3		4.57±0		0.29±0.12		0.07±0	
	IN	B	0.97±0.1	↑	0.8±0.1	↑	-	↑	-	-
		G	3.31±1.8		1.6±0.4		0.08±0.12		-	
N+Linoleik	PG	B	2.01±0.1	↔	9.1±2.4	↔	0.63±0.08	↔	0.55±0.01	↔
		G	2.16±0.9		8.1±0.4		0.54±0.19		0.46±0.09	
	OUT	B	1.9±0.7	↔	5.22±0.4	↓	0.16±0.1	↔	0.32±0.01	↓
		G	1.22±0.1		2.8±0.25		0.12±0.07		0.08±0.02	
	IN	B	0.97±0.1	↔	-	↑	-	↑	-	↑
		G	1.1±0.06		1.26±0.5		0.11±0.03		0.07	

(B: Beklenen değer, G: Gözlenen değer)

Çizelge 4.9.: Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi sonrası fenolik madde profilindeki değişimler (devamı)

mg/100 g meyve			GA		Kateşin		Ferulik asit		Kafeik asit	
N+Laktoz	PG	B	1.5±0.1	↑	7.9±2.4	↔	1.2±0.08	↔	0.55±0.01	↓
		G	2.10±1.3		5.4±2.6		0.89±0.25		0.27±0.07	
	OUT	B	1.2±0.7	↔	5.22±0.47	↔	2.1±0.1	↓	-	↑
		G	1.05±0.3		4.4±1.2		0.14±0.03		0.06	
	IN	B	0.97±0.1	↔	-	↑	0.1±0.1	↔	-	-
		G	0.97±0.3		1.53		0.12		-	
N+Nişasta	PG	B	1.9±0.1	↔	7.9±2.4	↔	0.87±0.08	↔	0.55±0.01	↓
		G	2.3±0.70		5.03±0.1		0.93±0.05		0.37±0.04	
	OUT	B	0.91±0.7	↔	5.22±0.47	↑	0.16±0.1	↔	-	-
		G	1.0±0		8.16±0		0.31±0.19		-	
	IN	B	0.97±0.1	↓	-		-	↑	-	-
		G	0.44±0.3		-		0.15		-	
N+Pişmiş nişasta	PG	B	1.69±0.1	↓	7.9±2.4	↔	0.63±0.08	↓	0.55±0.01	↓
		G	0.86±0.54		4.8±1.4		0.39±0.16		0.13±0	
	OUT	B	0.91±0.1	↑	5.2±0.47	↔	0.16±0.01	↔	-	↑
		G	1.73±0.3		3.08±3.2		0.07±0.06		0.14	
	IN	B	0.97±0.1	↓	2.3±0.1	↓	-	-	-	-
		G	0.68±0.4		1.45±1.5		-		-	
N+Galaktoz	PG	B	1.79±0.1	↑	7.9±2.4	↔	0.8±0.08	↔	0.55±0.1	↓
		G	2.57±0.5		5.7±1.3		1.07±0.42		0.16±0.04	
	OUT	B	0.91±0.1	↔	5.22±0.47	↓	0.42±0.1	↔	-	-
		G	1.0±0.04		1.75±2.5		0.52±0.11		-	
	IN	B	0.97±0.1	↔	-	↑	-	↑	-	-
		G	0.8±0.03		4.6		0.14		-	
N+Fruktoz	PG	B	1.49±0.1	↓	7.9±2.4	↓	0.82±0.08	↔	0.55±0.01	↔
		G	-		3.75		0.89±0.26		0.46±0.44	
	OUT	B	0.91±0.7	↓	5.22±0.47	↔	0.16±0.1	↔	-	-
		G	0.5±0.01		7.1±1.7		0.3		-	
	IN	B	0.97±0.1	↑	-	-	-	-	-	-
		G	1.6±1.13		-		-		-	
N+Glukoz	PG	B	2.01±0.1	↔	7.9±2.4	↔	0.63±0.08	↔	0.55±0.01	↓
		G	1.92±0.2		5.5±1.5		0.78±0.03		0.11	
	OUT	B	1.3±0.7	↓	5.22±0.47	↓	0.16±0.1	↔	-	↑
		G	0.76±0.2		3.93		0.21±0.12		0.25	
	IN	B	0.97±0.1	↔	-	↑	-	↑	-	↑
		G	0.8±0.04		2.97±0.5		0.12±0.06		0.20±0.06	

(B: Beklenen değer, G: Gözlenen değer)

Çizelge 4.9.: Nar meyvesinin diğer gıdalarla birlikte tüketilmesi sonrası fenolik madde profilindeki değişimler (devamı)

mg/100 g meyve			GA		Kateşin		Ferulik asit		Kafeik asit	
N+pektin	PG	B	-		-	-	-	-	-	-
		G	-		--	-	-	-	-	-
	OUT	B	-		-	-	-	-	-	-
		G	-		-	-	-	-	-	-
	IN	B	0.97±0.1	↑	-	↑	-	↑	-	↑
		G	2.71±1.6		2.4±0.8		0.06		0.06±0.05	↑
N+Selüloz	PG	B	2.72±0.1	↔	10.3±2.4	↔	0.63±0.08	↓	0.55±0.01	↔
		G	2.13±1.0		11.6±3.9		0.42±0.01		0.31±0.26	↔
	OUT	B	1.4±0.7	↔	7.89±0.47	↓	0.16±0.1	↔	-	↑
		G	1.2±0.07		5.2±0.9		0.1		0.04	↑
	IN	B	0.97±0.1	↔	-	↑	-	↑	-	↑
		G	0.78±0.3		3.02±1.2		0.07		0.06±0.05	↑
N+C vitamini	PG	B	9.6±0.1	↑	-	-	0.63±0.08	↓	0.55±0.01	↑
		G	12.2±0.3		-		0.16		0.2	↑
	OUT	B	-	↔	-	-	0.16±0.1	↓	-	-
		G	-		-		-		-	-
	IN	B	4.5±0.1	↑	-	-	-	-	-	-
		G	8.48±7.4		-		-		-	-
N+E vitamini	PG	B	2.9±0.1	↔	7.9±2.4	↓	0.63±0.08	↔	0.55±0.01	↓
		G	2.45±0.4		3.9±0.7		0.82±0.09		0.35	↓
	OUT	B	0.91±0.7	↔	5.22±0.47	↔	0.16±0.1	↔	-	↑
		G	1.49±0		5.99±2.3		0.21±0.04		0.11	↑
	IN	B	0.97±0.1	↔	0.52±0.1	↑	-	↑	-	↑
		G	0.46±0.2		2.7±1.1		0.14		0.16	↑
N+Sitrik asit	PG	B	1.7±0.1	↓	7.9±2.4	↔	0.63±0.08	↔	0.55±0.01	↔
		G	1.01±0.2		7.9±2.3		0.84±0.01		0.32±0.32	↔
	OUT	B	3.4±0.7	↑	5.22±0.47	↑	0.62±0.1	↔	-	↑
		G	6.58±1.3		9.4±1.1		0.57±0		0.58±0.06	↑
	IN	B	0.97±0.1	↔	0.72±0.1	↑	-	↑	-	↑
		G	1.1±0.06		1.5±0.26		0.17±0.02		0.26	↑
N+Tuz	PG	B	3.06±0.1	↔	7.9±2.4	↓	0.82±0.01	↔	0.55±0.01	↓
		G	2.89±0.4		3.1±1.1		0.93±0.05		0.22±0.05	↓
	OUT	B	0.91±0.7	↔	5.22±0.47	↔	0.17±0.1	↔	-	↑
		G	1.17±0.4		4.04±0.9		0.32±0.18		0.10	↑
	IN	B	0.97±0.1	↔	0.45±0.1	↓	-	-	-	↑
		G	0.49±0.1		-		-		0.09	↑

(B: Beklenen değer, G: Gözlenen değer)

azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür. OUT fraksiyonunda, soya proteini, süt proteini, et proteini, stearik asit, laktoz, pişmiş nişasta, fruktoz, tuz ve E vitamini kateşinin potansiyel biyoyararlılığına önemli bir değişim göstermemiştir. Linoleik asit, galaktoz, glukoz ve selülozun kateşin potansiyel biyoyararlılığını azaltıcı etkilerigörülmüştür. Nişastanın ve sitrik asitin ise; kateşin potansiyel biyoyararlılığını arttırdığı belirlenmiştir. IN fraksiyonunda, soya proteini, et proteini, selüloz, E vitamini, sitrik asit, stearik asit, linoleik asit, laktoz, galaktoz glukoz ve pektinin artırıcı etkileri olduğu tespit edilmiştir. Süt proteinin ise, önemli bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Gıda bileşenlerinden buğday proteini, pişmiş nişasta ve tuzun kateşin biyoyararlılığına pankreatik sindirim sırasında azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür. Fruktoz ve C vitamininin tamamen kaybolduğu görülmüştür, bu nedenle kateşin potansiyel biyoyararlılığına etkileri tespit edilememiştir.

Ferulik asit potansiyel biyoyararlılığına, PG fraksiyonunda, gıda bileşenlerinden soya proteini, et proteini, buğday proteini, linoleik asit, laktoz, nişasta, galaktoz, fruktoz, glukoz, sitrik asit, E vitamini ve tuzun önemli etkilerinin olmadığı görülmüştür. Süt proteini, pişmiş nişasta, selüloz ve C vitamininin narda bulunan ferulik asit fenolik bileşiğine azaltıcı etkisi olduğu, stearik asitin ise, potansiyel biyoyararlılığını arttırdığı görülmüştür. OUT fraksiyonunda, soya proteini, süt proteini, buğday proteini, stearik asit, linoleik asit, nişasta, pişmiş nişasta, galaktoz, fruktoz, E vitamini, sitrik asit ve tuzun ferulik asitin potansiyel biyoyararlılığı üzerine önemli etkilerinin olmadığı belirlenmiştir. Et proteininin ise arttırıcı bir etkisi görülmüştür. Bunun aksine; laktoz, selüloz ve C vitaminin ferulik asit potansiyel biyoyararlılığını azalttığı belirlenmiştir. IN fraksiyonunda, soya proteini, buğday proteini ve laktozun önemli bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Stearik asit, linoleik asit, nişasta, galaktoz, glukoz, pektin, selüloz, E vitamini ve sitrik asitin ferulik asit potansiyel biyoyararlılığını arttırıcı etkileri olduğu belirlenmiştir. Süt proteni, et proteini, pişmiş nişasta, fruktoz, C vitamini ve tuz ile narın birlikte tüketiminde kana geçen kısımda narda bulunan ferulik asit fenolik bileşiğinin tamamen kaybolduğu ve belirlenemediği görülmüştür.

Kafeik asit potansiyel biyoyararlılığına, PG fraksiyonunda, soya proteini, stearik, linoleik, fruktoz, selüloz, ve sitrik asitin önemli etkilerinin olmadığı görülmüştür. Süt proteini, et proteini, buğday proteini, laktoz, nişasta, pişmiş nişasta, galaktoz, E vitamini, glukoz ve tuzun azaltıcı etkileri olduğu görülmüştür. C vitaminin ise,

kafeik asitin miktarını artırdığı görülmüştür. OUT fraksiyonunda, soya proteinin kafeik asit potansiyel biyoyararlılığına önemli etki etmedikleri görülmüştür. Buğday proteini ve linoleik asitin azalttığı bunun yanı sıra, stearik asit, laktoz, pişmiş nişasta, glukoz, selüloz, E vitamini, sitrik asit ve tuzun kafeik asit potansiyel biyoyararlılığını arttırdığı görülmüştür. IN fraksiyonunda, gıda bileşenlerinden linoleik asit, glukoz, pektin, selüloz, E vitamini, sitrik asit ve tuzun kafeik asit potansiyel biyoyararlılığını arttırdıkları görülmüştür. Bu gıda bileşenleri haricinde, diğer gıda bileşenlerinin kafeik asitin biyoyararlılığını tamamen ortadan kaldırdığı ve belirlenmediği tespit edilmiştir.

Diyetle alınan liflerin kuş üzümü ile birlikte *in vitro* sindirim metodu uygulanmış ve parçalanma sonucu yeni piklerin oluştuğu görülmüştür (Bermudez-Soto ve diğ., 2007).

4.3.4. Antosiyanin profili

Gıda bileşenleriyle narın birlikte sindirimi sonrasında narda bulunan antosiyaninlerden delfinidin 3-5-0 diglukozitin PG, OUT ve IN fraksiyonlarında potansiyel biyoyararlılığı incelenmiştir. PG fraksiyonunda; gıda bileşenlerinden sadece pişmiş nişastanın narın potansiyel biyoyararlılığını azalttığı görülmüştür. C vitaminiyle tüketiminde PG, OUT ve IN fraksiyonlarında antosiyaninlerin potansiyel biyoyararlılığı belirlenmemiştir. IN ve OUT fraksiyonları incelendiğinde; sitrik asit hariç diğer bütün gıda bileşenleri ile *in vitro* sindirim metodu sonrasında delfinidin 3-5-0 diglikozit belirlenmemiştir. Sitirik asitin pH'ı düşürdüğü böylelikle antosiyaninlerin stabilitesini sağladığı görülmektedir. pH'ın antosiyaninlerin stabilitesi üzerine önemli bir parametre olduğu bilinmektedir.

Gıda bileşenleriyle narın birlikte sindirimi sonrasında narda bulunan antosiyaninlerden delfinidin 3-5-0 diglukozitin PG, OUT ve IN fraksiyonlarında potansiyel biyoyararlılığı incelenmiştir. PG fraksiyonunda; gıda bileşenlerinden sadece pişmiş nişastanın narın potansiyel biyoyararlılığını önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. C vitaminiyle tüketiminde PG, OUT ve IN fraksiyonlarında antosiyaninlerin potansiyel biyoyararlılığı belirlenmemiştir. IN ve OUT fraksiyonları incelendiğinde; sitrik asit hariç diğer bütün gıda bileşenleri ile *in vitro* sindirim metodu sonrasında delfinidin 3-5-0 diglikozit belirlenmemiştir. Sitrik asitin pH'ı düşürdüğü böylelikle antosiyaninlerin stabilitesini sağladığı görülmektedir.

Çizelge 4.10: Nar meyvesinin gıda bileşenleriyle sindirimi sonrası antosiyanin profilinin belirlenmesi.

mg/100 g meyve		Delfinidin 3-5-0-diglukozit	Siyanidin-3-5-0-diglukozit	Pelargonidin-3-5-di-O-glukozit	Siyanidin-3-0-glikozit
Kontrol	PG	8.12±2.6a	12.93±2.16ab	19.87±7.9a	5.66±0.6abc
	OUT		2.7±1.7cd		0.47
	IN		-		
N+Soy Pro	PG	6.88±0.6ab	9.3±2.91b	7.13±2.5ab	4.00±1.8cde
	OUT		7.36±0.1abcd	9.49	1.69±0.6b
	IN		1.85		
N+Süt Pro	PG	9.23±1.9a	9.60±1.36b	20.64±0.25a	5.15±0.18abcde
	OUT		9.31±0.15ab		2.13±0.69b
	IN		1.61±0.13bc		
N+Et Pro	PG	9.38±4.5a	12.35±0.61ab	15.27±6.7ab	4.48±0.7bcde
	OUT		4.35±2.30bcd		0.49
	IN		2.60±0.84ab		0.49
N+Buğday Pro	PG	6.63±1.8ab	11.54±0.35ab	10.35±3.0ab	3.59±0.3e
	OUT		6.06±2.8abcd		0.60
	IN		1.52±0.71bc		
N+Stearik	PG	7.89±1.47a	13.49±1.39ab	17.93±6.5ab	5.59±0.5abcd
	OUT		3.53±1.05bcd		0.54±0.2b
	IN		1.41		
N+Linoleik	PG	8.54±0.54a	13.79±3.05ab	16.48±0.3ab	5.27±0.67abcd
	OUT		0.75±1.06cd		0.34
	IN		-		
N+Laktoz	PG	7.92±0.6a	11.67±2.59ab	17.74±8.3ab	5.49±0.26abcd
	OUT		3.90±0.51bcd		0.59
	IN		1.31		
N+Nışasta	PG	7.64±4.01a	12.52±0.01ab	15.08±6.6ab	5.18±0.2abcde
	OUT		6.72		-
	IN		-		
N+Piş. Nışasta	PG	1.27±0.8b	1.41±0.15c	1.85±0.65b	0.66±0.1f
	OUT		1.16±0.04d		-
	IN		0.69±0.38c		

Çizelge 4.10: Nar meyvesinin diğer gıda bileşenleriyle sindirimi sonrası antosiyaninlerin profilinin belirlenmesi. (devamı)

mg/100 g meyve		Delfinidin 3-5-0-diglukozit	Siyanidin-3-5-0-diglukozit	Pelargonidin-3-5-di-O-glukozit	Siyanidin-3-0-glikozit
N+Galaktoz	PG	9.28±2.00a	14.57±3.06ab	22.16±5.2a	6.34±0.43a
	OUT		9.98±7.61ab		0.91±0.2b
	IN		1.55		
N+Fruktoz	PG	11.39±2.34a	15.87±4.24a	23.34±6.5a	6.40±0.52a
	OUT		14.19		1.30
	IN		2.45±1.10b		
N+Glukoz	PG	10.14±5.51a	13.69±0.63ab	21.08±9.4a	6.05±1.25ab
	OUT		6.82±1.00abcd		-
	IN		2.25±0.14b		
N+Pektin	PG	-	-	-	
	OUT		-		-
	IN		0.26±0.12c		-
N+Selüloz	PG	7.77±1.79a	14.20±2.77ab	7.92±3.3ab	3.94±0.4de
	OUT		4.54±0.25bcd		-
	IN		0.95		
N+C vit	PG	-	-	-	0.10
	OUT	1.69	1.45±0.87d	0.68	0.16
	IN		0.13		0.15
N+E vit	PG	10.26±3.83a	12.49±0.39ab	18.36±10.8 ab	5.34±1.08abcd
	OUT		4.42±2.96bcd		-
	IN		-		
N+ Sitrik	PG	9.98±1.61a	13.76±4.63ab	21.89±11.1 a	6.70±0.23a
	OUT	12.40±2.64	12.04±2.67a	23.39±3.91	5.50±1.25a
	IN	2.73±0.70	3.74±0.36a	6.39±0.03	1.89±0.17
N+Tuz	PG	11.89±3.24a	11.92±1.10ab	20.02±10.3a	5.34±0.32abcd
	OUT		7.96±3.53abc		1.44±0.85b
	IN		2.94		0.75

pH'nın antosiyaninlerin stabilitesi üzerine önemli bir parametre olduğu bilinmektedir.

Siyanidin 3-5-0 diglukozit için; PG fraksiyonunda en yüksek değer fruktoz ile narın birlikte tüketiminde görülmüştür. Fruktoz ile narın *in vitro* sindirim metodu sonrası PG fraksiyonunda antosiyanin miktarı 15.87±4.24 mg siyanidin 3-5-0 diglukozit / 100 g yenilebilir meyve olarak bulunmuştur. En düşük potansiyel biyoyararlılığın ise pişmiş nişasta ile narın birlikte sindirimi sonrası görülmüştür. OUT fraksiyonunda; sitrik asitin, galaktozun ve süt proteinin nardaki siyanidin 3-5-0

diglukozit antosiyaninin üzerine arttırıcı etkileri olduğu belirlenmiştir. Gıda bileşenleriyle narın birlikte sindirimi sonrası OUT fraksiyonunda siyanidinin 3-5-0 diglikozitin 12.04-1.16 mg/100 g yenilebilir meyve aralığında değişim göstermiştir. IN fraksiyonunda; en yüksek siyanidinin 3-5-0 diglikozit biyoyararlılığının sitrik asit ile birlikte tüketiminde görülmüştür.

Marti ve diğ. (2001) yaptığı çalışmada nar suyunda bulunan antosiyaninlerden pelargonidin 3,5 diglikozitin askorbik asit ilavesi ile en stabil yapı olduğunu delfinidin 3-0 glikozitin ise en az stabil olduğu tespit edilmiştir. Delfinidin 3-0 glikozitin belirlenemediği görülmüştür.

Hornero-Mendez ve diğ. (2007) yaptıkları çalışmada; *in vitro* sindirim metodu uygulanarak taze havuçların yağ ilavesi ve ısıtma işlemiyle karotenoid alımında olan değişimler araştırılmıştır. Pişirilme ve yağ ilavesiyle karotenoid alımının arttığı tespit edilmiştir. Karotenoidler yağ ilavesiyle çözünmesi artmıştır (Ryan ve diğ., 2008; Huo ve diğ., 2007; Faulks ve diğ., 2005; Failla ve diğ., 2008).

Yağda çözünen vitaminlerin antosiyaninler üzerine koruyucu etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Fernández-García ve diğ., 2009). Çalışmada da E vitaminin etkisi ile antosiyaninlerin bozunmadan korunduğu görülmektedir.

Narın, gıda bileşenleriyle yapılan *in vitro* sindirim yöntemine göre, narda bulunan pelargonidin 3-5 diglikozitin OUT ve IN fraksiyonlarında görülmediği, sadece PG fraksiyonunda tespit edildiği görülmüştür. Bu durumun sadece, sitrik asit ile narın birlikte sindirimi sonrası OUT ve IN fraksiyonlarında pelargonidin 3-5 diglikozit antosiyanini tespit edilmiştir. PG fraksiyonunda, diğer gıda bileşenleriyle birlikte tüketim sonrası pelargonidin 3-5 diglikozit antosiyanininin potansiyel biyoyararlılığında gıda bileşenleri arasında pişmiş nişasta hariç önemli bir farklılık görülmemiştir. Pişmiş nişasta ile birlikte tüketimde pelargonidin 3-5 diglikozit potansiyel biyoyararlılığını azalttığı görülmüştür. Pelargonidin 3-5 diglikozit potansiyel biyoyararlılığının gıda bileşenleri ile (fruktoz- pişmiş nişasta) tüketimde 23.34- 1.85 mg/ 100 g yenilebilir madde aralığında bulunmuştur. C vitamini ile narın birlikte tüketiminde pelargonidin 3-5 diglikozitin belirlenemediği görülmüştür.

Narda bulunan siyanidin 3-0 glikozit potansiyel biyoyararlılığına diğer gıda bileşenleriyle etkileşimi incelendiğinde; PG fraksiyonunda, buğday proteininin, pişmiş nişastanın ve selülozun azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür. siyanidin 3-0

glikozitun potansiyel biyoyararlılığını, artıran ve azaltan gıda bileşenlerinin sırasıyla, sitrik asit ve pişmiş nişasta olduğu ve antosiyanin miktarının 6.70 - 0.66 mg/100 g yenilebilir meyve olarak değiştiği görülmüştür. OUT ve IN fraksiyonlarına bakıldığında, sitrik asitin antosiyaninlerin stabilitesi üzerine önemli etkisi olduğu görülmüştür. IN fraksiyonunda, sitrik asit hariç diğer gıda bileşenlerinin antosiyaninin yapısının belirlenmediği görülmüştür.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, bu çalışmada narda bulunan fenolik bileşenlerin diğer gıdalarla ve gıda bileşenleriyle birlikte tüketildikleri durumda miktarlarında ve yapılarında nasıl değişimler olduğu belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen bulgular, kişilerin daha fazla biyoyararlılık elde etmek adına, antosiyanin içeren gıdaları hangi gıda ve hangi bileşenlerle tüketmesi gerektiği hususunda bir yol göstericidir ve gıda sanayi için yararlı bir kaynak oluşturmaktadır. Sağlığa yararlı olduğu bilinen antosiyaninlerin ve fenolik maddelerin nardan elde edilen ekstraktlara yapılan kimyasal analizler sonucu değerlendirilmesine karşın metabolizmada biyoyararlılıklarının nasıl değiştiği *in vitro* olarak belirlenmiştir. Fenolik bileşenlerin ve antosiyaninlerin nasıl yapılara dönüştüğü ve kayıpları belirlenmiştir.

Fenolik bileşenler ve antosiyaninler mide sindirimi sırasında pH ve enzimlere bağlı olarak herhangi bir azalmaya uğramamıştır bunun aksine daha stabil yapı göstererek artışa sebep olmuştur. Antosiyaninlerin kana geçen kısmı olarak ifade edilen (IN) kısmının oldukça düşük olduğu görülmüştür. Fenolik bileşenlerin biyoyararlılığının antosiyaninlere göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Sindirim sırasında nar meyvesinin fenolik madde miktarı fraksiyonlarda 25,74-207,40 mg GAE/100 g meyve aralığında değişkenlik göstermiştir. Mide sonrası (PG) kısmında mide asidi etkisiyle fenolik bileşenlerin arttığı görülmüştür. Diğer fraksiyonlar (IN ve OUT) incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarının ancak %14.2'sinin kana geçtiği, %75.6'sının ise kalın bağırsağa geçtiği anlaşılrken, kayıp miktarı %24.9 olarak tespit edilmiştir.

Antosiyaninler için pankreatik sindirim sırasında OUT ve IN kısımlarının sırasıyla %39.8-%11.7 olduğu görülmüştür. Gastrik fraksiyona göre bu azalmanın pankreatik sindirim sırasındaki pH artışından kaynaklandığı düşünülmektedir. Toplam fenolik miktarında oluşan kayıpların 24.9% olduğu, toplam antosiyanin miktarında oluşan kaybın ise 38.4% olduğu sonucuna varılmıştır.

Narda bulunan fenolik bileşenlerin kateşin en yüksek miktarda bulunduğu bunu, klorojenik asit ile gallik asitin takip ettiği görülmüştür. Belirlenen fenolik bileşenlerin mide sindirimi sırasında miktarlarında önemli bir değişikliğin olmadığı bunun yanısıra, pankreatik sindirim sırasında; başlangıç miktarlarına göre önemli azalmalar görülmüştür.

Çalışmada, delfinidin 3,5 diglikozit ve pelargonidin 3,5 diglikozitin pankreatik sindirim sırasında yapısının bozunduğu ve belirlenemediği görülmüştür bununla birlikte; siyanidin 3,5-o diglikozit ve siyanidin-3-glikozit daha stabil özellik göstermektedir.

Diğer gıdalarda tüketildiği durumlarda; nar fenolik bileşenlerinin biyoyararlılığı proteinli gıdaların (et, süt, ekmek, yoğurt, probiyotik yoğurt, soya sütü) ve kremanın varlığı ile azalmaktadır. Soya fasulyesi kana geçen (IN) fraksiyonda artışa neden olurken ve elma kolona geçen (OUT) kısmında artışa neden olmuştur. Bitkisel yağ ve limon varlığı ise fenolik madde biyoyararlılığını değiştirmemiştir.

Diğer gıdalarla birlikte sindirimleri sırasında nardaki antosiyanin biyoyararlılığı incelendiğinde; diğer gıdalarla tüketimde mide sindirimi sırasında (PG) ve OUT fraksiyonunda (kolona geçen kısım) kontrole göre önemli bir farklılık görülmemiştir. Ancak kana geçen fraksiyonda (IN); et, soya sütü ve kremanın antosiyanin biyoyararlılığına azaltıcı etkileri olduğu görülmüştür.

Gıda bileşenleri ile etkileşimler incelendiğinde; tuz, sitrik asit, selüloz, C vitamini, laktoz, nişasta ve pişmiş nişastanın tüm fraksiyonlarda fenolik bileşenleri azaltıcı etkileri olmuştur. Galaktozun biyoyararlılığa belirgin bir etkisi yoktur. Kana geçen kısımda (IN) soya proteini ve süt proteininin olumlu etkisi olmuştur. Buğday protein ise kolona geçen kısımda (OUT) olumlu etki sağlamıştır. Soya, et ve süt proteinleri PG ve OUT fraksiyonlarında olumsuz etki yapmışlardır. Stearik asit, linoleik asit, glukoz ve pektin PG ve OUT fraksiyonlarında etkisiz olurken IN fraksiyonunda azalmaya neden olmuşlardır. Fruktoz ve E vitamin OUT fraksiyonunda etkisiz olurken PG ve IN fraksiyonlarında azalmaya sebep olmuştur.

Antosiyaninlerinin gıda bileşenleri ile etkileşimleri incelendiğinde; fenolik bileşenlere kıyasla farklılaşmaların daha belirgin olduğu görülmüştür. Soya, süt, buğday ve et proteinlerinin antosiyanin biyoyararlılığını tüm fraksiyonlarda önemli miktarlarda azaltıcı etkileri görülmüştür. Galaktoz, fruktoz, glukoz, pektin, E

vitamin, sitrik asit ve tuzun PG fraksiyonunda etkileri olumlu olmuştur. IN fraksiyonunda ise stearik asit, galaktoz, laktoz ve fruktoz kontrole göre önemli bir etki yaratmazken, diğer tüm bileşenler azalmaya neden olmuştur. OUT fraksiyonunda tuz en yüksek değeri verirken, glukoz, pektin, C vitamini ve sitrik asit kontrol ile aynı etkiyi sağlamış ancak diğer bileşenler azaltıcı etki sağlamışlardır.

Sonuç olarak; fonksiyonel bir ürün geliştirirken hedeflenen yararlı etkiyi sağlamak adına ürün içerisinde bulunan diğer bileşenlerin etkileşimlerinin de gözönüne alınması gerekliliği açıktır. Antosiyanince zengin nar içeren bir ürün geliştirilirken veya tüketilirken protein içeriğinin ve C vitamininin yüksek olmamasına dikkat edilmeli, şeker ve yağ içeriklerinin ise olumsuz bir etkisi olmadığı bilinmelidir. Soya fasulyesi ile birlikte fenolik bileşenlerin biyoyararlılığının arttığı antosiyaninlerin ise korunduğu gözlenmiştir. Bu sonucun daha iyi aydınlatılabilmesi için izoflavon ile etkileşimlerin de gelecek çalışmalarda incelenmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

- Açıkgöz, Z., Önenç, S., S. (2006).** Fonksiyonel Yumurta Üretimi. Hayvansal Üretim **47(1):** 36-46, 2006.
- Akyüz, F., Demir, K. (2009).** Gastrointestinal Fizyopatoloji. *Klinik Gelişim* **22(3):** 77-80.
- Anlı, R., E., Bayram, M., Vural, N., Konar, N. (2010).** Nar Şarabında Antioksidan Fenolik Bileşenlerin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu
- Anson, N., Berg, M., Havenaar, R., Bast, R., Guido, A., Haene, R., M., M. (2009).** Bioavailability of ferulic acid is determined by its bioaccessibility. *Journal of Cereal Science* **49 (2009)** 296–300
- Apaydın, E. (2008).** Nar Suyu Konsantresi Üretim Ve Depolama Sürecinde Antioksidan Aktivitedeki Değişimler, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Aviram, M., Rosenblat, M., Gaitini, D., Nitecki, S., Hoffman, A., Dornfeld, L., Volkova, N., Presser, D., Attias, J., Liker, H., Hayek, T., 2004.** Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clinical Nutrition* (2004) **23**, 423–433
- Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., 2000.** Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications of LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clinical Nutrition* 2000; **71**: 1062–76.
- Benli, H., 2001,** Narın Konserveye İşlenmesi üzerine bir araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana 94s
- Bermudez-Soto, M., J., Tomas-Barberan, F., A., 2004.** Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. *European Food Research and Technology*, **219**:133-141
- Bino, R. J., Vos, C. H. R. D., Lieberman, M., Hall, R. D., Bovy, A., Jonker, H. H., Tikunov, Y., Lommen, A., Moco, S., Levin, I. (2005).** The light hyperresponsive high pigment-2 mutation of tomato: alterations in the fruit metabolome. *New Phytologist*, **166**: 427–438.

- Brown, D. J.** (2005). Pomegranate juice improves carotid artery health and lowers blood pressure in patients with carotid artery stenosis. *Herbal Gram* 65: 28-30
- Bub, A.; Watzl, B.; Blockhaus, M.; Briviba, K.; Liegibel, U.; Muller, H.; Pool-Zobel, B. L.; Rechkemmer, G.** (2003). Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. *Journal of Nutritional Biochemical* 2003, 14 (2), 90-98.
- Camire, M., E., Dougherty, M., P., Teh, Y.** (2006). Frozen Wild Blueberry-Tofu-Soymilk Desserts. *Journal Of Food Science*, 2006, 71-2,
- Cao, S., Liu, L., Lu, Q., Xu, Y., Pan, S., Wang, K.** (2009). Integrated effects of ascorbic acid, flavonoids and sugars on thermal degradation of anthocyanins in blood orange juice *Eur Food Res Technol* (2009) 228:975-983
- Capanoglu, E., Beekwilder, J., Boyacioglu, D., Hall, R., Vos, R. D.** (2008b). Changes in antioxidant and metabolite profiles during production of tomato paste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 964-973.
- Carlos, H., P., Ayala, J., F., Ganzalex-Aguilar, A., G.** (2011). The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability. *Journal of Food Science* Vol:76 Nr, 1, 2011.
- Cemeroğlu, B., Artık, N., Yüncüler, O.** (1988). Nar suyu üzerinde araştırmalar. *Doğa,Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi*, 12 (3) ,322-334.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan M.** (2001). Meyve ve Sebzelerin Bileşimi Soğukta Depolanmaları. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, Ankara, 328s.
- Cerda, B., Espin, C., J., Para, S., Martinez, P., Tomas- Barberan, F., A.** (2004). The potent *in vitro* antioxidant ellagitannins from pomegranate juice are metabolized into bioavailable but poor antioxidant hydroxyl-6h-dibenzopyran-6-one derivatives by the colonic microflora of healthy humans, *European Journal of Nutrition*, 43, 205-220.
- De Vries, J., H., Hollman, P., C., Meyboom, S., Buysman, M., N., Zock, P., L., Van Staveren, W., A., Katan, M., B.** (1998). Plasma concentrations and urinary excretion of the antioxidant flavonols quercetin and kaempferol as biomarkers for dietary intake. *Am J Clin Nutr*, 68, 60-65.
- Dupas, C. J., Marsset-Bagheri, C. J., Ordonaud, C. S., Ducept, F. M. G., Maillard, M., N.** (2006a). Coffee Antioxidant Properties: Effects of Milk Addition and Processing Conditions.. *Journal of Food Science*, Vol. 71, Nr. 3, 253-258.
- Ercan, P. ve El, S. N.,** (2010). Koenzim Q10'un Beslenme Ve Sağlık Açısından Önemi Ve Biyoyararlılığı. *Tubav Bilim Dergisi* 3 (2): 48- 56.
- Erlund, I.,** (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutritional Research*, 24, 10, 851-874

- Failla, M., L., Huo, T., Thakkar, S., K.** (2008). *In vitro* screening of relative bioaccessibility of carotenoids from foods. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008; **17** (S1):200-203
- Faulks, R., M., Southon, S.** (2005). Challenges to understanding and measuring carotenoid bioavailability. *Biochimica et Biophysica Acta* 1740 (2005) 95– 100
- Fazzari, M., Fukumoto, L., Mazza, G., Livrea, M. A., Tesoriere, L., Marco, L. D.** (2008). *In vitro* bioavailability of phenolic compounds from five cultivars of frozen sweet cherries (*Prunus avium* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**: 3561-3568.
- Felgines, C., Texier, O., Besson, C., Fraisse, D.** (2002). Blackberry anthocyanins are slightly bioavailable in rats, *Journal Nutritional* **132**, 1249 –1253.
- Fernandez-Panchon, M., S., Villano, D., Troncoso, A., M., Garcia-Parrilla, M., C.** (2008). Antioxidant Activity of Phenolic Compounds: From *In Vitro* Results to *In Vivo* Evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **48**:649–671 (2008)
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Pérez-Gálvez, A.** (2009). *In vitro* bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research* **29** (2009) 751–760.
- Gil, M., I., Tomas-Barberan, F., A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D., M., Kader, A., A.** (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 4581-4589.
- Goni, I., Martin, N., Saura-Calixto, F.** (2005). *In vitro* digestibility and intestinal fermentation of grape seed and peel. *Elsevier Food Chemistry*, **90** (2005) 281–286
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J. Jiang, Y.** (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, **23**, 1719-1726.
- Güven, E. C., Otkun, G. T., Boyacıoglu, D.** (2010). The factors affecting bioavailability of flavonoids. *GIDA*, **35**(5): 387-394.
- Hasni, I., Bourassa, P., Hamdani, S., Samson, G., Carpentier, R., Tajmir-Riahi, H., A.** (2011). Interaction of milk a- and b-caseins with tea polyphenols. *Food Chemistry* **126**, 630–639.
- Heaney, R., P.** (2001). Factors influencing the measurement of bioavailability, taking calcium as a model. *Journal of Nutrition*, **131**, 1344S-1348S
- Hernandez, F., Melgarejo, P., Tomas-Barberan F., A., Artes, F.** (1999). Evolution of juice anthocyanins during ripening of new selected pomegranate (*Punica granatum*) clones. *Eur Food Res Technology*, 1999, **210** :39-42
- Hollman, P., C., H., De Vries, J., H., M., Van Leeuwen, S., D., Mengelers, M., J., B., Katan, M., B.** (1995). Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am J Clin Nutr*, **62**, 1276-1282.

- Hora, J., Maydew, J., Lansky, E., R., Dwivedi, P., C.** (2003). Chemopreventive Effects of Pomegranate Seed Oil on Skin Tumor Development in CD1 Mice. *Journal of Medicinal Food* **6** (3) 2003, 157–161
- Hornero-Méndez, D., Mínguez-Mosquera, M., I.** (2007). Bioaccessibility of carotenes from carrots: Effect of cooking and addition of oil. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **8** (2007) 407–412
- Huo, T., Ferruzzi, M., G., Schwartz, S., J., Failla, M., L.** (2007). Impact of Fatty Acyl Composition and Quantity of Triglycerides on Bioaccessibility of Dietary Carotenoids. *J. Agric. Food Chem.* 2007, **55**, 8950–8957.
- Işık, E., Yazıcı, K., Şahin, A., Kaya, N.** (2009). Dünyada ve Türkiye' de nar yetiştiriciliği. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü.
- Izquierdo, A., G., Gil, M., I., Ferreres, F.** (2002). Effect of processing techniques at industrial scale on orange juice antioxidant and beneficial health compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**: 5107-5114.
- İlyasoğlu, H. El, S., N.** (2010). Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, Yapıları Ve Kollodial Salınım Sistemleri Olarak Gıda Sektöründe Kullanım Alanları. *Gıda* **35** (2): 143- 150.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. Vivanco, J., M.** (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. *Food Chemistry*, **83**, 547-550.
- Johnson, K., Sharp, P., Clifford, M.N., Morgan, L.** (2005). Dietary polyphenols decrease glucose uptake by human intestinal Caco-2 cells. *FEBS Lett.* **579**, 1653-1657.
- Kar, C. E., Ferchichi, A., Attia, F., Bouajila, J.** (2011). Pomegranate (*Punica granatum*) juices: Chemical composition, micronutrient cations and antioxidant capacity. *Journal of Food Science*, **76** (6): 795-800.
- Karadeniz, F., Burdurlu, H., S., Koca, N., Soyer, Y.** (2005). Activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Tubitak Journal of Agricultural and Forestry*. **29**, 297-203.
- Keepler, K., Humpf, H., U.** (2005). Metabolism of anthocyanins and their phenolic degradation products by the intestinal microflora. *Bioorg. Med. Chem.* 2005, **13**, 5195 -5205.
- Kelebek, H., Canbaş A.** (2010). Hicaz narı şirasının organik asit şeker ve fenol bileşikleri içeriği ve antioksidan kapasitesi. *Gıda* **35** (6): 439-444
- Kulkarni, A., P., Aradhya, S., M.** (2005). Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, **93**, 319-324.
- Lamuela-Raventos, R., Roura, E., Andres-Lacueva, C., Jauregui, O., Vazquez-Agell, M., Estruch, R., and Izquierdo-Pulido, M.** (2005). Milk does not impair the bioavailability of flavonoids from cocoa powder. Abstracts 2nd International Conference on Polyphenols and Health

- Langley-Evans, S., C.** (2000). Consumption of black tea elicits an increase in plasma antioxidant potential in humans. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **51**: 309–315.
- Langley-Evans, S., C.** (2000). Antioxidant potential of green and black tea determined using the ferric reducing power (FRAP) assay. *Int. J. Food Science Nutritional* **51**,181–188.
- Lansky, E., Shubert, S., Neman, I.** (1988). Pharmacological and Therapeutic properties of pomegranate. 1. International Symposium of Pomegranate, Orihuela (Alicante) Spain, 231-235.
- Lapidot, T., Harel, S., Granit, R., and Kanner, J.** (1998). Bioavailability of red wine anthocyanins as detected in human. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **46**: 4297–4302.
- Larkin, T., A., Price, W., E., Astheimer, L., B.** (2007). Increased probiotic yogurt or resistant starch intake does not affect isoflavone bioavailability in subjects consuming a high soy diet. *Nutrition* **23** (2007) 709–718
- Lee, A., Thurnham, D., Chopra, M.** (2000). Consumption of tomato products with olive oil but not sunflower oil increases the antioxidant activity of plasma. *Free Radical Biology and Medicine* **29**(10): 1051-1055.
- Lesser, S., Cermak, R., Wolfram, S.** (2011). Bioavailability of quercetin in pigs is influenced by the dietary fat content. *The Journal of Nutrition*. 2011.
- MacDougall, D., B.** (2000). Colour In Food: Improving Quality. Woodhead Publishing In Food Science and Technology. Cambridge, England, 179-221.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jime'nez, L.** (2011). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*. Am J Clin Nutr 2004;**79**:727–47.
- Marti, N., Pe'rez-Vicente, A., Garcí'a-Viguera, C.** (2001). Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **82**:217-221 (online:2001)
- Matsukawa, N., Matsumoto, M., Chihi, H., Hara, H.** (2009). Oligosaccharide Promotes Bioavailability of a Water-Soluble Flavonoid Glycoside, G-Rutin, in Rats. *J. Agric. Food Chem.* 2009, **57**, 1498–1505.
- Matsumoto, H., Inaba, H., Kishi, M., Tominaga, S.** (2001). Orally administered delphinidin 3-rutinoside and cyanidin 3-rutinoside are directly absorbed in rats and humans and appear in the blood as the intact forms, *Journal Agricultural Food Chemistry* **49**, 1546 –1551
- Mazza G., Cacace J., E., Kay, C., D.** (2004). Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids. *Journal of AOAC International*, **87**;129-45
- McDougall, G. J., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., Stewart, D.** (2005). Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an in vitro digestion system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 5896-5904.

- McDougall, G., J., Fyffe, S., Dobson, P., Stewart, D.** (2007). Anthocyanins from red cabbage – stability to simulated gastrointestinal digestion. *Phytochemistry* **68** (2007) 1285–1294
- McDougall, G., J., Fyffe, S., Dobson, P., Stewart, D.** (2005). Anthocyanins from red wine – Their stability under simulated gastrointestinal digestion. *Phytochemistry*, **66**: 2540–2548.
- McGhie, K., T., Walton, M., C.,** (2007). The bioavailability and absorption of anthocyanins: Towards a better understanding. *Molecular Nutritional Food Research* 2007, **51**, 702 – 713
- Mertens-Talcott, S., U., Jilma-Stohlawetz, P., Rios J., Hingorani, L., Derendorf, H.** (2006). Absorption, Metabolism, and Antioxidant Effects of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Polyphenols after Ingestion of a Standardized Extract in Healthy Human Volunteers. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 2006, **54**, 8956–8961
- MEYED** (2011). Türkiye Meyve Suyu v.b. Ürünler Sanayi Raporu, syf: 8-11
- Milbury P.E., Cao, G., Prior, R.L., and Blumberg, J.** (2002). Bioavailability of elderberry anthocyanins. *Mech. Ageing & Development*, 123:997–1006.
- Miyazawa, T., Nakagawa, K., Kudo M., Muraishi, K., and Someya, K.** (1999). Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3-5-diglucoside, in rats and humans. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **47**:1083–1091
- Mullen, W., Edwards, C., A., 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 713-719.
- Netzel, M., Netzel, G., Kammerer, D., R.** (2007). Cancer cell antiproliferation activity and metabolism of black carrot anthocyanins. 2007;8:365-372
- Nielsen, I., L., Williamson G.** (2007). Review of the Factors Affecting Bioavailability of Soy Isoflavones in Humans. *Nutrition And Cancer*, **57** (1), 1–10
- Nizamlioğlu, N., M., Nas, S.** (2010). Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Cilt:5, No: 1, 2010 (20-35)
- Özgüven, A., I., Yılmaz C.** Pomegranate growing in Turkey. *CIHEAM, Options Méditerranéennes*.
- Öztürk, N., Ulusoy, M., R., Bayhan E.** (2005). Doğu Akdeniz Bölgesi nar alanlarında saptanan zararlılar ve doğal düşman türleri. *Türk. entomoloji dergisi*, **29** (3): 225-235
- Parada, J., Aguilera, J., M.** (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal Food Science* **72**:21–32.

- P'erez-Vicente A., Gil-Izquierdo A., Garcia-Viguera C.** (2002). *In vitro* gastrointestinal digestion study of pomegranate juice phenolic compounds, anthocyanins and vitamin C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**: 2308–2312.
- Prakash, C., V., S., Prakash, I.** (2011). Bioactive Chemical Constituents from Pomegranate (*Punica granatum*) Juice, Seed and Peel-A Review. *International Journal of Research in Chemistry and Environment Vol. 1 Issue 1 July 2011(1-18)*
- Prior, R., Wu, X., Schaich, K.** (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 4290–4302.
- Rubinskiene M., Viskelis P., Jasutiene I., Viskeliene, R., Bobinas C.** (2005). Impact of various factors on the composition and stability of black currant anthocyanins. *Food Research International*, **38**: (2005) 867–871.
- Ryan, L., Prescott, S., L.** (2010). Stability of the antioxidant capacity of twenty-five commercially available fruit juices subjected to an in vitro digestion. *International Journal of Food Science and Technology* 2010, **45**, 1191–1197
- Ryan, L., O'Connell, O., O'Sullivan, L., Aherne, S., A., O'Brien, N., M.** (2008). Micellarisation of Carotenoids from Raw and Cooked Vegetables. *Plant Foods Hum Nutr* (2008) **63**: 127–133
- Santiago, L., G., Carrara, C., González, R. J.** (2005). Interaction of Soy Protein Isolate and Meat Protein in a Model Emulsion System. Effect of Emulsification Order and Characteristics of Soy Isolate Used, 2005 *Food Science and Technology International*
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., Goni, I.** (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, **101** (2007) 492–501
- Schubert, S.Y., Lansky, E.P., Neeman, I.** (1999). Antioxidant and Eicosanoid Enzyme Inhibition Properties of Pomegranate Seed Oil and Fermented Juice Flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*, **66**: 11-17.
- Seeram, N., P., Adams, L., S., Henning, S., M., Niu, Y., Zhang, Y., Nair, M., G., Heber, D.** (2005). In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *Journal of Nutritional Biochemistry* **16** (2005) 360 – 367
- Seeram, N. P., Aviram, M., Zhang, Y., Henning, S. M., Feng, L., Dreher, M., Heber, D.** (2008). Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**: 1415-1422.

- Sepehr, E., Cooke, G., Robertson, P., Gilani, G., S.** (2007), Bioavailability of soy isoflavones in rats Part I: Application of accurate methodology for studying the effects of gender and source of isoflavones. *Molecular Nutritional Food Research* 2007, **51**, 799 – 812
- Serafini, M., Testa M. F., Villaño, D., Pecorari, M., Wieren K. v., Azzini, E., Brambilla, A., and Maiani, G.** (2009). Antioxidant activity of blueberry fruit is impaired by association with milk. *Free Radical Biology & Medicine* **46**, 769–774.
- Serafini, M., Bugianesi, R., Maiani, G., Valtuena, S., De Santis, S., and Crozier, A.** (2003). Plasma antioxidants from chocolate. *Nature*, 2003, 424:1013.
- Sharma, V., Kumar, H., V., Rao J., M.** (2008). Influence of milk and sugar on antioxidant potential of black tea. *Food Research International*, 41, 124–129.
- Shi, J., Maguer L.** (2000). Lycopene in Tomatoes: Chemical and Physical Properties Affected by Food Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **40**, 1, 2000
- Shimoi, K., Okada, H., Furugori, M., Goda, T., Takase, S., Susuki, M., Hara, Y., Yamamoto, H., Kinac, N.** (1998). Intestinal absorption of luteolin and luteolin 7-O- β -glucoside in rats and humans. *FEBS Letters*, **438**: 220-224
- Shipp, J., Abdel-Aal, M., E.** (2010). Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. *The Open Food Science Journal*, 2010, **4**, 7-22
- Singh D., Singh R.** (2004). Processed Products of pomegranate. *Natural Product Radiance Vol 3(2) March- April 2004*
- Şimşek, N., Karadeniz, A., Bayraktaroğlu A. G.** (2009). Ratlarda Periferik Kan Hücreleri Üzerine L-karnitin, Arı Sütü ve Nar Çekirdeğinin Etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **15** (1): 63-69, 2009.
- Tehranifor, A., Zarei, M., Nemati, Z., Esfandiyari, B., Vazifeshenas, M., R.** (2010). Investigation of physico-chemical properties and antioxidant activity of twenty Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, Volume 126, Issue 2, 13 September 2010, Pages 180–185
- Tümer, L., Ö.** (2006). Bazı nar çeşitlerinin olgunlaşma aşamalarında fenolik bileşik miktarlarındaki değişimler, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana 42s.
- Türk, G., Sönmez, M., Aydın, M., Yüce, A., Gür, S., Yüksel, M.** (2008). Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clinical Nutrition*, **27** (2), 289–296
- TÜİK**, (2008). Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara.

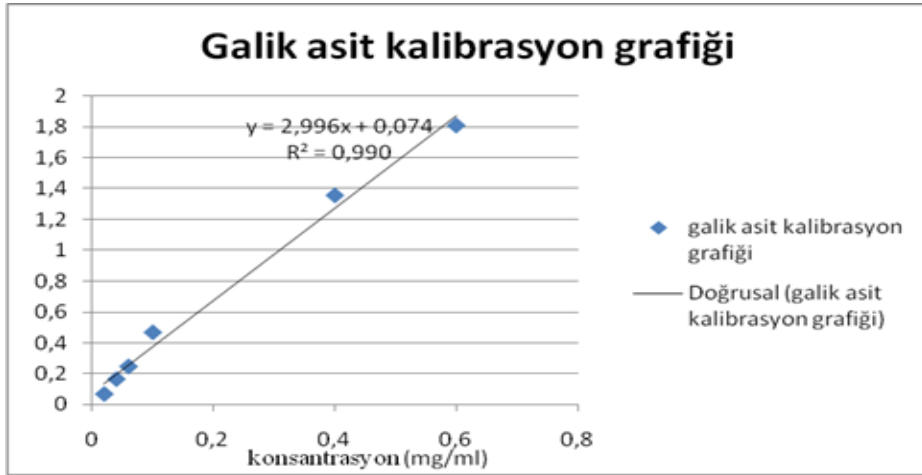
- TUİK**, (2010). Tarımsal Yapı (Üretim, Fiyat, Değer). T.C. Başbakanlık İstatistik Enstitüsü, Ankara.
- TS 4953** (1986). Nar. *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- Ünal, Ç., Velioğlu, S., Cemeroğlu, B.** (1995). Türk Nar Sularının Bileşim Öğeleri. *Gıda*, **20** (6): 339-345.
- Vallejo, F., Gil-Izquierdo, A., Perez-Vicente, A. and Garcia-Viguera, C.** (2004). In vitro gastrointestinal digestion study of broccoli inflorescence phenolic compounds, glucosinolates, and vitamin C.
- Vardin, H. and Abbasoglu, M.** (2004). Evaluation opportunities of pomegranate and pomegranate sauce. Symposium on Traditional Foods, Van, Turkey, 23-24 September 2004, pp. 165-169. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 135-138.
- Velioğlu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B. D.** (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 4113-4117.
- Viskupicova, J., Ondrejovic, M., Sturdik, E.** (2008). Bioavailability and metabolism of flavonoids. *Journal Food Nutritional Research*, **47** (4), 151-162.
- Yang, M., I., Koo, S., O., Song, W., K., Chun, O.** (2011). Food Matrix Affecting Antocyanin Bioavailability: Review. *Current Medicinal Chemistry*, **18**, 291-300.
- Yao, Y., Sang, W., Zhou, M., Ren, G.** (2010). Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of colored grains in China, *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 770-774.
- Walle, T., Walgren, R., Walle, U., K., Galijatovic, A., Vaidyanathan, J., B.** (2003). Understanding the Bioavailability of Flavonoids Through Studies in CaCo-2 Cells. In: *Flavonoids in Health and Disease*, New York.
- Wang, L., Stoner, G., D.** (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters*. 2008; 269: 281-290.
- Wolfe, K., L., Kang, X., He, X., Dong, M., Zhang, Q., Liu, R., H.** (2008). Cellular Antioxidant Activity of Common Fruits. *J. Agric. Food Chem.* 2008, **56**, 8418-8426
- Wu, X., Cao, G., Prior, R., L.** (2002). Absorption and metabolism of anthocyanins in elderly women after consumption of elderberry or blueberry. *Journal Nutrition*, **132**: 1865-1871.
- Anonim**, Bioavailability. <http://www.naturalantioxidants.org/bioavailability.html>, 26 Ekim 2012.
- El, S. N.** (2006). Gıda Bileşenlerinin Beslenme Açısından Önemi. Ege Üniversitesi

Gıda	Beslenme	Ders	Notları.
http://food.ege.edu.tr/files/gidabeslenmedersnotu.pdf .			27 Haziran
2012.			

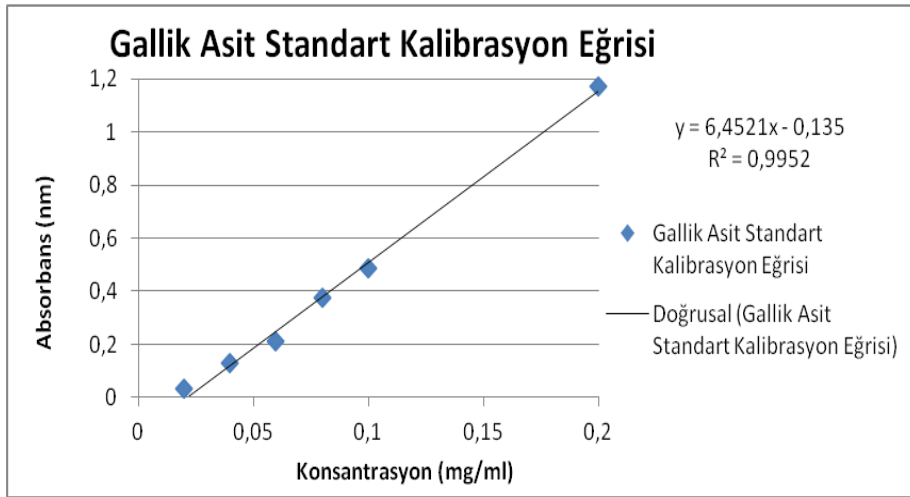
- Altınışık, M.** (2012). Genel Sindirim ve Emilim. Tıp Fakóltesi Biyokimya Ders Notları. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-2-09.pdf>. 13 Mayıs 2012
- Tek, N., A., Pekcan, G.** (2008). Besin Destekleri Kullanılmalı Mı. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. http://www.beslenme.gov.tr/content/files/yayinlar/kitaplar/beslenme_bilgi_serisi_2/b15.pdf. 13 Mayıs 2012.

EKLER**EK A:** Kalibrasyon grafikleri**EK B:** HPLC için standartların kalibrasyon grafikleri

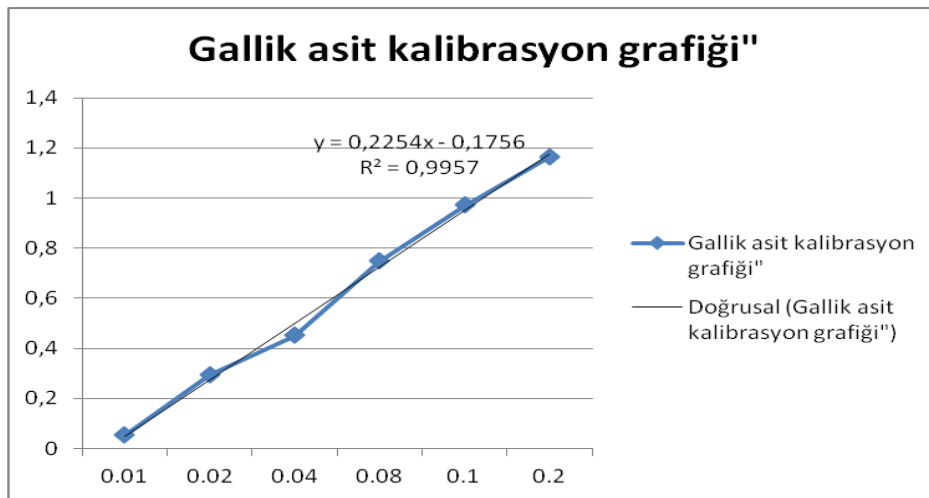
EK A



Şekil A.1 Gallik asit standar kalibrasyon grafiği (%100 Su)

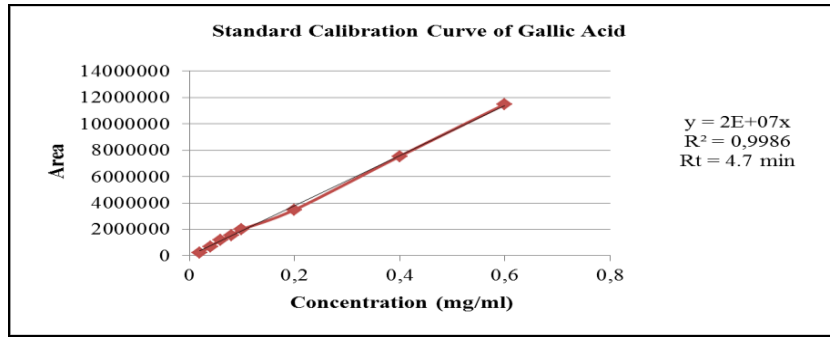


Şekil A.2 Gallik asit standart kalibrasyon grafiği (%100 Su)

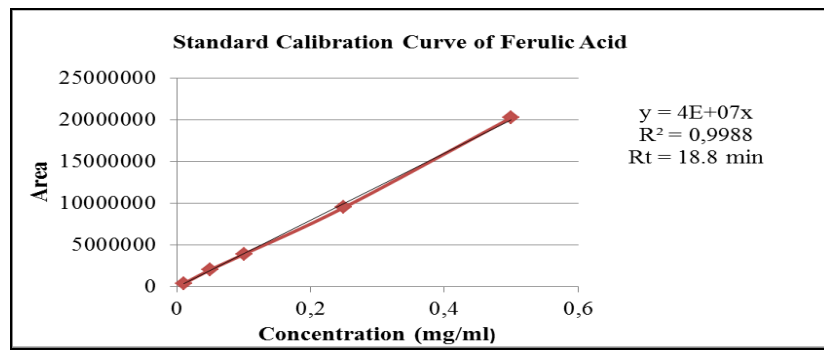


Şekil A.3 Gallik asit standart kalibrasyon grafiği (%0,1 formik asitli %75 metanol:su)

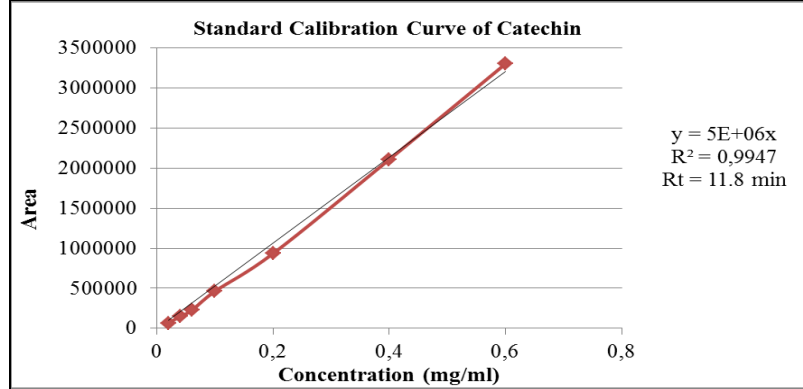
EK B



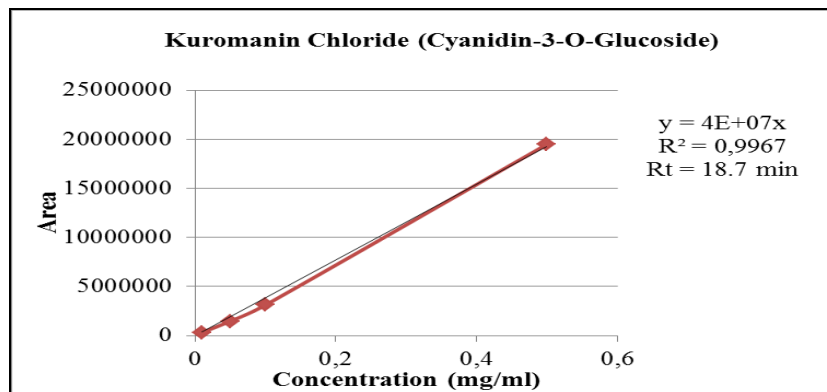
Şekil B.1 HPLC için gallik asit kalibrasyon grafiği



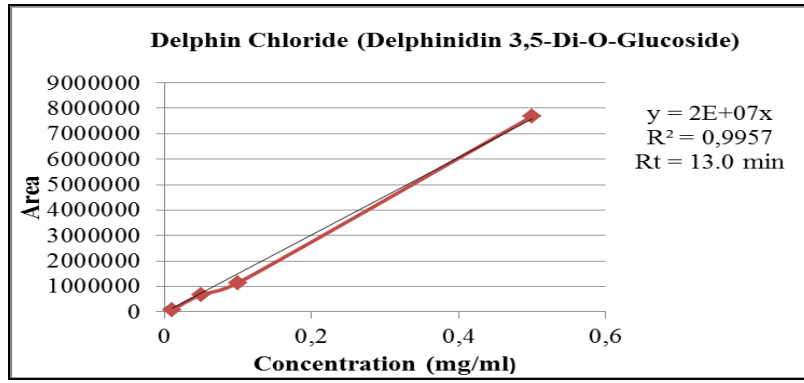
Şekil B.2 HPLC için ferulik asit kalibrasyon grafiği



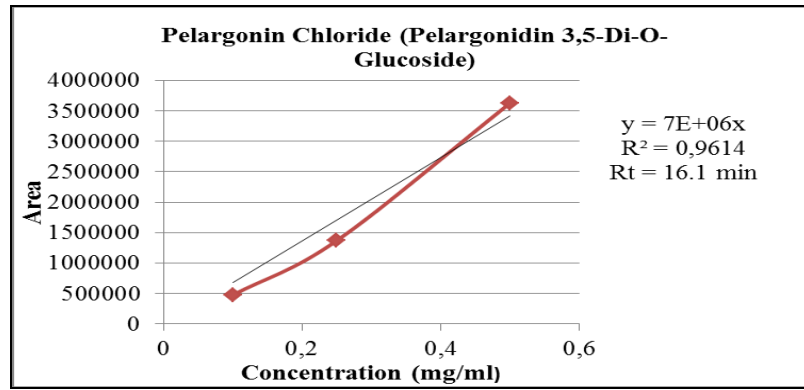
Şekil B.3 HPLC için kateşin kalibrasyon grafiği



Şekil B.4 HPLC için siyanidin-3-O glukozit



Şekil B.5 HPLC için delfinidin 3,5-di-O- glukozit



Şekil B.6 HPLC için pelargonidin 3,5-di-O-glukozit

6. ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad: Hafizenur ŞENGÜL

Doğum Yeri ve Tarihi: AYDIN, 29/07/1988

E-Posta: hafizenur.sengul@hotmail.com

Lisans: Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü 2006-2010

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

- **Sengul H.,** Erdil Nilüfer, D, 2012. Evaluating Bioavailability Of Phenolics And Anthocyanins During Pomegranate Consumption Together With Other Phenolic Sources In The Diet. *International Congress-1st North European Congress on Food*, April 22 – 24, 2012 Saint Petersburg, Russia. (Poster).
- **Sengul H.,** Erdil Nilüfer, D, 2012. Evaluating Matrix Effect On Bioavailability Of Phenolics And Anthocyanins In Pomegranate Using In-Vitro Digestion Process. *International Congress-Advanced Nonthermal Processing in Food Technology*, May 7-10, 2012, Kusadasi, Turkey. (Poster).