

## **BAZI FENOLİK ASİTLERİN, ANTOSİYANİN PİGMENTLERİNİN VE BUNLARIN OLUŞTURDUKLARI KOPİGMENTLERİN ANTIOKSİDAN ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ<sup>1</sup>**

### **DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME PHENOLIC ACIDS, ANTHOCYANIN PIGMENTS AND THEIR COPIGMENTS**

**Ender POYRAZOĞLU, Sedat VELİOĞLU, Nevzat ARTIK**

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü - Dışkapı - Ankara

**ÖZET:** Bu araştırmada 4 farklı fenolik asit (ferulik asit, klorojenik asit, gallik asit, kafeik asit) ile 3 farklı antosiyanin pigmentinin [kuromanin klorid (Cn-3-Gl), kerasiyanin klorid (Cn-3-Rut), ideain klorid (Cn-3-Ga)] ve bunların kendi aralarında oluşturdukları kopigmentlerin antioksidatif etkileri  $\beta$ -karoten ağartma yöntemi ile saptanmıştır. Araştırma sonuçları, ferulik asit ve ideainin çok güçlü antioksidatif etkiye sahip olduğunu, ayrıca ferulik asitin kuromanin ve kerasiyanin ile oluşturduğu kopigmentlerde sinerjik etki oluştuğunu ortaya koymuştur.

Kuromaninin ferulik, klorojenik, gallik ve kafeik asitle göstermiş olduğu AA değerleri sırasıyla 67.4-75.7; 47.2-65.2; 21.4-43.1 ve 34.1-46.0 sınırları arasında değişim göstermiştir. Kerasiyaninin aynı fenolik asitlerle gösterdiği AA değerleri sırasıyla 61.9-74.6; 39.8-63.5; 40.8-41.9 ve 44.5-47.5 olup, ideainde bu değerler sırasıyla 66.2-73.3; 47.9-57.2; 31.0-41.7 ve 36.2-50.3 bulunmuştur.

**ABSTRACT:** The antioxidative activities of four phenolic acids (ferulic acid, chlorogenic acid, gallic acid, caffeic acid), three anthocyanin pigments [kuromanin chloride (Cn-3-Gl), keracyanin chloride (Cn-3-Rut), ideain chloride (Cn-3-Ga)] and their copigments were determined by using  $\beta$ -carotene bleaching method. The results revealed that ferulic acid and ideain chloride had strong antioxidative effect. The copigments of ferulic acid showed synergistic effects with kuromanin chloride and keracyanin chloride.

The antioxidant activities of kuromanin were found with phenolic acids, such as ferulic, chlorogenic, gallic and caffeic acid varied between 67.4-75.7; 47.2-65.2; 21.4-43.1 and 34.1-46.0, respectively. The activities of keracyanin with same phenolic acids were found as between 61.9-74.6; 39.8-63.5; 40.8-41.9 and 44.5-47.5, respectively. Meanwhile, activities for ideain were found as 66.2-73.3; 47.9-57.2; 31.0-41.7 and 36.2-50.3, respectively.

### **GİRİŞ**

Son yıllarda gıdaların fizyolojik fonksiyonları bilim adamlarının daha fazla dikkatini çekmiş ve bunların insan sağlığına etkileri pek çok araştırmada *invivo* ve *invitro* yöntemlerle incelenmiştir. Bu fizyolojik etkilerin en önemlilerinden biri gıdaların antioksidatif etkileridir (HUANG et al., 1992). Gıdalar bu etkilerinin bir sonucu olarak canlı organizmaları oksidatif zararlanmaların neden olabileceği kanser, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklardan korumaktadır (COOK and SAMMAN, 1996). Meyve, sebze ve baharatlar insanlar için doğal antioksidanların en önemli kaynaklarıdır. Karotenoidler, askorbik asit ve  $\beta$ -tokoferol gibi doğal bileşiklerin antioksidatif aktivitesi ve antioksidan metabolizması üzerinde yapılmış pek çok araştırma vardır. Ayrıca pek çok bitkinin antioksidatif aktivitesi ve bu aktiviteyi sağlayan etken maddeler saptanmıştır. Gıdaların yapısında bulunan antioksidan etkili fenolik bileşiklerin (fenolik asitler ve flavonoidler) değerlendirilmesi HERRMANN (1976, 1988, 1989) tarafından değişik dönemlerde yapılmıştır. Son zamanlarda gıdalardan yeni antioksidan bileşikler izole edilmiştir (TADA et al., 1996; CHUDA et al., 1996). Bitki flavonoidleri *invitro* olarak çok güçlü antioksidatif etki göstermişlerdir (VINSON et al., 1995). Fenolik bileşiklerin antioksidatif aktivite ile yakın ilişkileri bazı kaynaklarda bildirilmektedir (NIETO et al., 1993; TSUSHIDA et al., 1994; VELIOGLU et al., 1998; VINSON et al., 1998;).

<sup>1</sup> Bu makale, Ankara Üniversitesi Araştırma Fon Müdürlüğü tarafından desteklenen 98.11.12.02 no'lu projenin sonuçlarından yararlanılarak hazırlanmıştır.

Butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), tertiarybutilhidrokinon (TBHQ) gibi yapay antioksidanlar 1900'lü yılların başından bu yana gıdalarda kullanılmaktadırlar. Bu bileşiklerin hakkında tüketicilerin duyduğu kuşku nedeniyle kullanımları giderek daha azalmaktadır (BRANEN, 1975; ITO et al., 1983) ve doğal antioksidanlara duyulan ilgi giderek artmaktadır (LÖLİGER, 1991).

Antosiyanın pigmentleri kırmızı-mor renkli sebze, meyve çiçeklerin hemen hemen tümünde bol miktarda bulunan ve flavonoidler grubunda yer alan fenolik maddelerdir (MAZZA and MINIATI, 1993). Fenolik asitler ise hemen tüm bitki organlarında bol olarak bulunan ve antioksidan etkileri bilinen bileşiklerdir (LARSON, 1988).

Bu araştırmada antioksidan etkileri daha önceden bilinen antosiyanın pigmentleri ve bazı fenolik asitlerin birlikte olduklarındaki etkileri detaylı olarak incelenmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. Materyal

İdeain klorid (Cyanidin 3-galaktozit), kerasiyanın klorid (Cyanidin 3- rutinozit) ve kuromanin klorid (Cyanidin 3-glukozit) adlı pigmentler EXTRASYNTHESSE firmasından (Genay Cedex-Fransa), gallik asit (3,4,5, trihidroksi benzoik asit), klorojenik asit (1,3,4,5 tetrahidroksiklo- hekzan karboksilik asit 3-(3-4 dihidroksi sinamat) ferulik asit (4-hidroksi-3 metoksisinamik asit), kafeik asit (3,4 dihidroksisinamik asit) adlı fenolik asitler SIGMA firmasından (St. Louis -USA) sağlanmıştır.

### 2.2. Metod

Araştırmada MARCO (1968) tarafından önerilen  $\beta$ -karoten ağartma yöntemi kısmi bir modifikasyon yapılarak uygulanmıştır. Buna göre pigment ve fenolik asitlerin molekül ağırlıklarına göre tümünden 0.2 mM'lık çözelti hazırlanmıştır. Gereken miktarda tartım yapıldıktan sonra maddeler %80'lik metanolde çözündürülmüştür. Pigment ve fenolik asit çözeltilerinden 1/10, 1/50 ve 1/100 'lük karışım hazırlanmıştır. Bu karışım buzdolabında 24 saat bekletildikten sonra analizde kullanılmıştır.

TROLOX-C Çözeltisi: Kontrol amacıyla kullanılan TROLOX-C'nin konsantrasyonu 50 mg/L olacak şekilde % 80'lik metanolde hazırlanmıştır.

$\beta$ -karoten Çözeltisi : SIGMA firmasından temin edilen trans  $\beta$ -karoten, kloroformda 20 mg/100 mL konsantrasyonda hazırlanmıştır.

Linoleik asit ve Tween 20 : SIGMA firmasından temin edilmiş ve olduğu şekilde kullanılmıştır. Linoleik asit, her kullanımdan sonra azot gazı ile muamele edilmiştir.

**İşlem :** Bu bölümde belirtilen işlem basamakları ön denemelerden sonra saptanmıştır. Yapılan ön denemeler ve ulaşılan bulgular, sonuçların değerlendirilmesi bölümünde belirtilmiştir.

800  $\mu$ L  $\beta$ -karoten çözeltisi, 12  $\mu$ L linoleik asit ve 120  $\mu$ L tween 20 karışımı bir tüp içerisinde karıştırılıp, azot gazı altında kloroform tamamen uzaklaşınca kadar kurutulmuştur. Bu karışımın tek kullanımlık spektrofotometre küvetlerine 15'er  $\mu$ L konulmuştur. Bu karışımın üzerine pigment çözeltisinden veya fenolik asit çözeltisinden veya pigment-fenolik asit karışımından 300'er  $\mu$ L, troloxtan ise 60  $\mu$ L konulmuştur. Ayrıca kontrol olarak başka bir küvete yalnızca yukarıda belirtilen karışımın konulmuştur. Bu küvetlere bir gazlama şişesinde hava ile doyurulmuş ve pH'sı 3,6'ya ayarlı olan 0,2 M asetat buffer çözeltisinden 3 mL eklenmiş ve ağızları parafilm ile kapatılıp karıştırıldıktan sonra 50°C'deki su banyosuna konulmuştur. Karışımın absorbansındaki değişim, 470 nm'de 90 dakika süresince, 10'ar dakika aralıklarla SHIMADZU UV-VIS 1601 model spektrofotometrede ölçüm yapılarak saptanmıştır. Oksidasyon olayı pek çok parametreye bağlı olarak değişkenlik gösterdiği için deneme 5 kez tekrarlanmıştır.

Örneklerde değerlendirme yapmak için antioksidan aktiviteye ilişkin bazı parametreler aşağıdaki formüllerden yararlanılarak hesaplanmıştır (MALLETT et al., 1994):

**AOX** = Absorbans değerinin zamana karşı değişiminin çizilen eğrisinin mutlak değer olarak eğimi, (x 1000, A/h)

**AAC**: Antioksidan aktivite katsayısı

$$AAC = \frac{A_{\delta(90)} - A_{k(90)}}{A_{k(0)} - A_{k(0)}} \times 1000$$

**AA**: Antioksidan aktivite

$$AA = \frac{\text{Kontrolün bozunma oranı} - \text{Örneğin bozunma oranı}}{\text{Kontrolün bozunma oranı}} \times 100$$

Bozunma oranı:  $\ln(a/b) \times 1/t$

**a** : 0 zamanında absorbans

**b** : 90. dakikada absorbans

**t** : zaman, dak

**ORR**: Oksidasyon oranı katsayısı

$$ORR = R_{\text{örnek}} / R_{\text{kontrol}}$$

**R-KARE**: Oksidasyon eğrisinin linearitesine bağımlı bir değer

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

#### 3.1. Ön Denemelerde Ulaşılan Bulgular

- Araştırma sonuçlarının iki ayrı yöntemle denetlenmesinin daha iyi olacağı düşüncesiyle projede önerilen MARCO metodunun yanı sıra farklı yöntemler de denenmiş, ancak bu yöntemlerle tekrarlanabilir sonuçlar alınamamıştır.
- Oksidasyonda kullanılacak olan hava ile doyurulmuş çözelti için ön denemeler yapılmıştır. Bu amaçla saf su, sitrat-fosfat buffer ve asetat buffer denenmiştir.
- Araştırmada asetat bufferin kullanımına karar verildikten sonra bu çözeltinin hangi pH'da olması gerektiği üzerinde durulmuştur. Bu amaçla pH 3.0, pH 3.6 ve pH 4.6 denenmiştir. Sonuçta pH 3.6'lık tampon çözeltinin kullanımının amaca en uygun olduğu saptanmıştır.
- Asetat bufferin pH'sının yanı sıra tamponlama kapasitesinin de saptanması için ön denemeler yapılmış ve bu amaçla 0.02 M, 0.1 M, 0.2 M, 0.5 M ve 1M çözeltilerin etkileri incelenmiştir. Reaksiyon hızının istenen düzeyde seyretmesini en iyi 0.2 M'lük tampon sağladığı için bu çözeltinin en uygun olduğu sonucuna varılmıştır.
- Araştırmada kullanılacak olan antioksidan madde miktarı ve  $\beta$ -karoten çözeltisi miktarı uzun denemeler sonucu saptanmıştır. Buna göre uygun kopigment miktarı (0.2 mM'lük konsantrasyondan 300  $\mu$ L) ve  $\beta$ -karoten çözeltisi miktarı belirlenmiştir. Trolox çözeltisinden (50mg/L'lik) her bir örnek için 60  $\mu$ L kullanılmasının uygun olduğu saptanmıştır. Daha yüksek dozlarda trolox kullanımı durumunda oksidasyon tamamen durmuştur.

Bu ön denemelerden sonra saptanan koşullarda esas denemeye geçilmiştir. Denemede çok sayıda paralel yapılmış, en alt ve en üst değerler çıkarıldıktan sonra kalan 3 değerlerin ortalaması alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Buna göre hesaplanan değerler Tablo 1'de verilmiştir.

#### 3.2. Sonuçların Değerlendirilmesi

Araştırma sonuçlarının değerlendirilmesinde pek çok parametreden yararlanılabilir. Bu parametrelere göre hesaplanan değerler Tablo 1'de sunulmuştur. Tarafımızdan yapılan değerlendirmede oksidasyon eğrisinin linearitesine en az bağımlı olanın AA (antioksidan aktivite) olması nedeniyle bu değerden

yararlanılmıştır. Zira hızlandırılmış oksidasyon denemelerinde oksidasyonun ilk aşamalarında oksidasyon çok hızlı seyretmekte, belli bir süre sonra hız yavaşlamaktadır. Değerlendirmede şüphesiz diğer parametrelerden de yararlanılabilir, ancak tarafımızdan, değerlendirilmede AA tercih edilmiştir.

**Çizelge 1. Oksidasyona İlişkin Olarak Örneklerde Hesaplanan Parametreler (Kısaltmaların Karşılıkları "2.2. Metod" Bölümünde Verildiği Gibidir)**

UYGULAMA (Pigment/Fenolik asit)	KUROMANIN				KERASİYANIN				İDEAİN				
	Ferulik asit	Klorojenik asit	Gallik asit	Kafeik asit	Ferulik asit	Klorojenik asit	Gallik asit	Kafeik asit	Ferulik asit	Klorojenik asit	Gallik asit	Kafeik asit	
1/10	AAC	392	124	59	86	442	261	102	102	395	188	68	91
	AOX	2.2	1.5	2.4	2.5	3.2	3.8	2.9	2.5	2.5	2.3	2.4	2.1
	R-KARE	0.9984	0.9783	0.9883	0.9882	0.9951	0.8771	0.9898	0.9911	0.9956	0.9986	0.9862	0.9979
	AA	69.1	65.2	41.6	46	61.9	39.8	41.0	47.5	66.2	57.2	41.7	50.3
	ORR	0.31	0.35	0.58	0.54	0.38	0.6	0.59	0.53	0.34	0.43	0.58	0.5
1/50	AAC	358	86	63	52	424	209	111	116	433	54	39	54
	AOX	1.5	2.1	2.6	2.4	1.8	2.0	2.9	2.8	2.1	1.9	2.6	2.7
	R-KARE	0.9987	0.9921	0.9840	0.9925	0.9963	0.9870	0.9888	0.9914	0.9988	0.9928	0.9763	0.9929
	AA	75.7	51.3	39.4	42.4	74.6	63.5	41.9	44.5	71.3	49.5	34.8	36.2
	OOR	0.24	0.49	0.61	0.58	0.25	0.36	0.58	0.56	0.29	0.50	0.65	0.64
1/100	AAC	455	63	43	25	455	238	102	68	404	109	11	48
	AOX	1.8	2.2	2.2	2.6	1.9	2.3	2.9	2.3	1.8	2.2	2.5	2.8
	R-KARE	0.9984	0.9824	0.9834	0.9935	0.9950	0.9933	0.9862	0.9865	0.9996	0.9803	0.9716	0.9933
	AA	75.4	47.2	43.1	34.1	74.5	61	40.8	45.8	73.3	47.9	31.0	37.4
	OOR	0.25	0.53	0.57	0.66	0.25	0.39	0.59	0.54	0.27	0.52	0.69	0.63
Fenolik asit	AAC	400	186	17	95								
	AOX	2.3	2.6	2.9	2.8								
	R-KARE	0.9977	0.9915	0.9528	0.9870								
	AA	67.4	51.3	21.4	39.4								
	OOR	0.33	0.49	0.79	0.61								
Pigment	AAC		102				95				541		
	AOX		2.3				2.9				0.8		
	R-KARE		0.9978				0.9911				0.9948		
	AA		49				39.6				88.7		
	ORR		0.51				0.6				0.11		
Trolox- 60µL	AAC						760						
	AOX						0.8						
	R-KARE						0.9995						
	AA						91.2						
	ORR						0.09						
Trolox- 300µL	AAC						804						
	AOX						0.3						
	R-KARE						0.9790						
	AA						96.8						
	ORR						0.03						
Kontrol	-						-						
	AOX						4.85						
	R-KARE						0.9705						
	AA						0						
	ORR						1						

### 3.2.1. Ferulik asit ve kopigmentlerinin oksidasyona etkileri

*Ferulik asit ve Kuromanin Kopigmentleri:* Denenen her üç kopigmentte de oldukça yüksek antioksidan aktivite görülmüştür. Kuromaninin AA değeri düşük olmasına karşın kopigmentlerin antioksidan aktiviteleri hem pigmentten, hem de fenolik asitten daha yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla sinerjetik bir etki söz konusudur. 1/50

düzeyindeki kopigmentasyonda troloxun yaklaşık % 83'ü kadar bir antioksidan aktivite değeri elde edilmiştir ki bu doğal bir bileşik için oldukça yüksek bir aktivite demektir.

*Ferulik asit ve Kerasiyanin Kopigmentleri:* Kuromaninde olduğu gibi iyi bir sinerjik etki söz konusudur. Burada da troloxun % 82'si düzeyinde bir aktivite vardır. Kopigmentasyon sonucu antioksidan aktivitede önemli artışlar olmuştur.

*Ferulik asit ve İdeain Kopigmentleri:* İdeain ile oluşturulan kopigmentlerin antioksidan aktivitesi yine çok iyidir. Burada farklı olarak ideainin antioksidan aktivitesi kendi başına da çok iyidir. Dolayısıyla aktivitenin kopigmentasyon sonucu değil, daha çok ideainin kendisinden kaynaklandığı söylenebilir.

Sonuç olarak ferulik asitin kendisinin ve kopigmentlerinin oldukça yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ortaya çıkmıştır. Troloxun % 83'üne kadar varan bir antioksidan aktivite söz konusudur ki bu aktivite doğal bir bileşik için son derece iyi bir değerdir.

### 3.2.2. Klorojenik asit ve kopigmentlerinin oksidasyona etkileri

*Klorojenik asit ve Kuromanin Kopigmentleri:* Fenolik asit oranının düşük olduğu 1/10'luk düzeyde sınırlı bir sinerji söz konusudur. Diğer konsantrasyonlarda antioksidan aktivite klorojenik asitin aktivitesine yakındır. Gerek klorojenik asitin kendisinin, gerekse de kopigmentlerinin antioksidan aktivitesi troloxun % 56-71'i kadardır ki bu değerler de doğal bir bileşik için oldukça iyi değerlerdir.

*Klorojenik asit ve Kerasiyanin Kopigmentleri:* Kuromanine benzer bir durum söz konusudur. Ancak 1/50 ve 1/100'lük konsantrasyonlarda antioksidan aktivite daha iyidir. Bu durum kerasiyaninin antioksidan aktivitesinin kuromaninden daha az olmasından kaynaklanmıştır. Burada troloxun % 43-70'i kadar antioksidan aktivite saptanmıştır.

*Klorojenik asit ve İdeain Kopigmentleri:* İdeainin antioksidan aktivitesinin çok iyi olması nedeniyle (troloxun % 97'si kadar) kopigmentlerin aktivitesi ideainin düzeyine ulaşamamıştır.

### 3.2.3. Gallik asit ve kopigmentlerinin oksidasyona etkileri

*Gallik asit ve Kuromanin Kopigmentleri:* Gallik asitin kendi başına antioksidan aktivitesi oldukça sınırlı olduğu için oluşan kopigmentin aktivitesi pigmentin aktivitesinin altında kalmıştır. Yani aktivite yalnızca pigmentin aktivitesi ile sınırlı kalmıştır. Herhangi bir sinerji yoktur.

*Gallik asit ve Kerasiyanin Kopigmentleri:* Kuromanine benzer bir durum söz konusudur. Aktivite pigmentten kaynaklanmaktadır. Önemsiz sayılabilecek bir düzeyde (% 5 kadar) bir sinerji söz konusudur.

*Gallik asit ve İdeain Kopigmentleri:* Gallik asitin antioksidan aktivitesinin düşüklüğü nedeniyle kopigmentlerin aktivitesi ideainin de altındadır.

İdeain ile yapılan tüm denemelerde kopigmentlerin antioksidan değerlerinin, ideainin kendisinden bile düşük çıkması, ideain-fenolik asit komplekslerinin prooksidan olduğunu ortaya koymaktadır.

### 3.2.4. Kafeik asit ve kopigmentlerinin oksidasyona etkileri

*Kafeik asit ve Kuromanin Kopigmentleri:* Kafeik asitin antioksidan aktivitesi pigmentten daha düşük olduğu için kopigmentlerin aktivite değerleri kuromanine ilişkin değerlerin altındadır.

*Kafeik asit ve Kerasiyanin Kopigmentleri:* Kopigmentlerin antioksidan değerleri hem pigmentten, hem de fenolik asitten daha yüksektir. Dolayısıyla sinerjizm söz konusudur. Troloxun % 49-52'si düzeyinde antioksidan aktivite oluşmuştur. Bu değer kerasiyanin ve kafeik asitin kendileri için ise % 43 kadardır. Dolayısıyla sınırlı bir sinerjiden söz edilebilir.

*Kafeik asit ve İdeain Kopigmentleri:* Diğer 3 fenolik asitte görülen durum burada da söz konusudur. Kopigmentlerin antioksidan aktivitesi ideainin aktivitesinin altındadır. Dolayısıyla ideain için elde olunan değer, yani, 88.7 değeri belki de bu tip bileşikler için ulaşılabilecek maksimum değeri göstermektedir.

Bu araştırmanın sonucunda yukarıda "yapılan ön denemelerde ulaşılan bulgular" başlığı altında açıklanan bulguların yanı sıra:

- (1) Ferulik asitin güçlü bir antioksidan bileşik olduğu ortaya konmuştur.
- (2) İdeainin güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur.

- (3) Ferulik asitin kuromanin ve kerasiyanin ile oluşturduğu kopigmentlerin aktivitesinin, bunların her birinin aktivitesinden daha yüksek olduğu ve oldukça yüksek değerlere ulaştığı ortaya konulmuştur. Bu araştırmada elde olunan en önemli bulgu bu etkidir. Doğal bir bileşik, sentetik bir antioksidanın % 83'ü düzeyinde etki göstermiştir.
- (4) Tüm hesaplamalarda kontrol olarak hazırlanan örneklerde elde olunan değerler dikkate alındığı için, incelenen tüm örneklerin az veya çok, ama mutlaka bir antioksidatif etkiye sahip olduğu görülmüştür.
- (5) Elde olunan bu bulgulardan sonra; bu konu üzerinde daha sonra yapılacak araştırmalarda ferulik asitin ve ideainin antioksidan kullanılabileceği gıdalar saptanmalıdır. Zira ideain, ferulik ve ferulik asit kopigmentleriyle alınan olumlu sonuç model sistemde alınmıştır. Gıdanın kendisinde nasıl bir sonuç alınabileceği şimdiden bilinmemektedir. Ancak pek çok gıdanın pH'sının 3.6 civarında olduğu düşünüldüğünde olumlu sonuç alınması yüksek bir olasılıktır.

Araştırmada kullanılan pigmentlerin her üçü de siyanidin 3-glukozitleridir ve bu pigmentler birbirlerine benzer kimyasal yapıya sahiptirler (aglukon yapıları tamamen aynıdır). Araştırmanın farklı aglukon yapısındaki pigmentlerle (örneğin malvidin, delphinidin, petunidin vb'nin glukozitleriyle) ve farklı moleküler şeker yapısındaki pigmentlerle (örneğin diglukozitlerle) yapılması durumunda çok daha ilginç sonuçlar alınabileceği muhtemeldir. Bu araştırmada yalnızca elde mevcut bulunan pigmentlerle yetinilmek zorunda kalındığı için tarafımızdan da bilinen bir eksiklik kalmıştır.

## TEŞEKKÜR

Bu proje Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 98.11.12.02 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- BRANNEN, A.L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and of butylated hydroxy toluene. J. Am. Oil Chem. Soc.: 52: 59-63.
- COOK, N.C. and SAMMAN, S. 1996. Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. Nutr. Biochem. 7:66-76.
- CHUDA, Y., ONO, H., OHNISHI-KAMAYEMA, M., NAGATA, T. and TSUSHIDA, T. 1996. Structural identification of two antioxidant quinic acid derivatives from garland (*Chrysanthemum coronarium* L.). J. Agric. Fd. Chem. 44: 2037-2039.
- HERRMANN, K. 1976. Flavonols and flavones in food plants. : a review. J Fd. Technol.11: 433-448.
- HERRMANN, K. 1988. On the occurrence of flavonol and flavone glycosides in vegetables. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 186: 1-5.
- HERRMANN, K. 1989. Occurrence and content of hydroxycinnamic acid and hydroxybenzoic acid compounds in foods. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 28: 315-347.
- HUANG, M.T., HO, C.T., and LEE, C.Y., 1992. Phenolic compounds in Food and their effects on health. II. Antioxidants and Cancer Prevention; ACS Symposium Series 507; American Chemical Society, Washington DC.
- ITO, N., FUKISHIMA, S. HASEGAWA, A., SHIBATA, M. and OGISO, T. 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxy anisole in F344 rats. J. Natnl. Cancer Inst. 70: 343-347.
- LARSON, R.A. 1988. The antioxidants of higher plants. Phytochem. 27(4): 969-978.
- LÖLIGER, J. 1991. The use of antioxidants in foods. In Free Radicals and Food Additives; Arouma, O.I., Haliwell, B., Eds.; Taylor and Francis: Londons.121-150.
- MARCO, G.J. 1968. A rapid method for evaluation of antioxidants. J. Am. Oil Chem. Soc.45: 594-598.
- NIETO, S., GARRIDO, A., SANHUEZA, J. LOYOLA, L., MORALES, G. , LEIGHTON, F. and VALENZUELA, A. 1993. Flavonoids as stabilizers of fish oil: an alternative to synthetic antioxidants. J. Am. Oil Chem. Soc. 70: 773-788.
- TADA, M., MATSUMOTO, R., YAMAGUCHI, H. and CHIBA, K. 1996. Novel antioxidants isolated from *Perilla frutescens* Britton var *crispa* (Thunb). Biosci., Biotechnol., Biochem. 60: 1093-1095.
- MALLET, J.F., CERRATI, C., UCCIANI, E., GAMISANA, J. GRUBER, M. 1994. Antioxidant activity of plant leaves in relation to their  $\alpha$ -tocopherol content. Food Chem. 49: 61-65.
- VELIOGLU, S., MAZZA, G., GAO, L. and OOMAH, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. J. Agric. Fd. Chem. 46: 4113-4117.
- VINSON, J.A., DABBAGH, Y.A. , SERRY, M.M. and JANG, J., 1995. Plant flavonoids especially tea flavonols are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. J. Agric. Fd. Chem. 43: 2800-2802.