

## Fenolik Bileşiklerin Bağlı Formları ve Biyoyararlılığı

Gülşah Karabulut , Oktay Yemiş  

Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 54187, Sakarya

Geliş Tarihi (Received): 23.07.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 02.12.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [oktayyemis@sakarya.edu.tr](mailto:oktayyemis@sakarya.edu.tr) (O. Yemiş)

☎ 0 264 295 31 92 📠 0 264 295 56 01

### ÖZ

Bu derleme kapsamında gıdaların yapısında bulunan bağlı (ekstrakte edilemeyen) fenolik bileşiklerin özellikleri, oluşturduğu komplekslerden protein-fenolik ve karbonhidrat-fenolik ilişkisi, sindirimdeki metabolizması ve biyoyararlılığı üzerinde durulmuştur. Gıdaların yapısındaki fenolik bileşikler organik solventlerin kullanıldığı klasik metotlar ile belirlenmektedir. Ancak ekstraksiyon kalıntısında kalan ve toplam fenolik bileşiklerin önemli bir kısmını oluşturan bağlı formları çoğunlukla göz ardı edilmektedir. Bu nedenle, özellikle bağlı fenolik madde içeriği yüksek olan gıdaların toplam fenolik madde içeriği, bağlı formları dikkate alınmadığından geçmişte doğru şekilde ortaya koyulamamıştır. Meyve, sebze, tahıl ve baklagil ürünlerindeki toplam fenolik içeriğinin %20-60'ına karşılık gelen bağlı fenolik bileşikler, fenolik kompozisyonun belirlenmesinde artık dikkate alınmaktadır. Bağlı fenolikler hücre duvarındaki selüloz, pektin, protein gibi yapılara ester, eter veya asetal bağlarıyla kovalent olarak bağlanabilmektedirler. Fenolik bileşikler sahip oldukları aromatik halkalar ve hidroksil gruplarından dolayı hidrofobik ve hidrofilik interaksyonlarla, hidrojen ve kovalent bağlarla hücre duvarına ve ortamdaki protein, karbonhidrat, lipid gibi yapılara bağlanabilme yeteneğine sahiptirler. Fenoliklerin makro moleküllerle etkileşiminde molekül ağırlığı, polimerizasyon derecesi, aromatik grupların sayısı gibi birçok etkili faktör bulunmaktadır. Oluşan bu kompleksin sağlık üzerine bir çok olumlu etkisi olduğu bilinmektedir. Gıdalardaki fenolik bileşiklerin biyoyararlılığı, sindirim veya bağırsak sisteminde gıda matriksinden salınımına, emilimine ve kan dolaşım sistemine geçişine bağlıdır. Özellikle bazı gıdalardaki polifenoller hücre duvarı yapısındaki protein, karbonhidrat, lipid gibi makromoleküllere bağlanarak mide-bağırsak sistemindeki biyoyararlılığı büyük ölçüde etkilemektedir. Hücre duvarı materyallerinin sindiriminin zor olması nedeniyle bağlı fenolik bileşikler mide-bağırsak sisteminde değişime uğramadan kolona ulaşabilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Bağlı fenolikler, Protein-fenolik kompleksi, Karbonhidrat-fenolik kompleksi, Biyoyararlılık

### Bound Forms of Phenolic Compounds and their Bioavailability

#### ABSTRACT

In this review, the properties of bound (unextractable) phenolic compound forms in food structure, protein-phenolic and carbohydrate-phenolic relationships, metabolism and bioavailability in digestion are discussed. Phenolic compounds in foods are determined by conventional methods using organic solvents. However, bound forms which remain in the extraction residue and constitute a significant portion of the total phenolic compounds are ignored. Therefore, the total phenolic content of foods, especially those with high phenolic content, has not been accurately determined in the past. Bound phenolic compounds which account for 20-60% of the total phenolic content of fruit, vegetables, cereals and legumes are now taken into account in determining the phenolic composition. Bound phenolics can be covalently attached to the cell wall by structures such as cellulose, pectin, protein by ester, ether or acetal bonds. Due to their aromatic rings and hydroxyl groups, phenolic compounds have the ability to bind to the cell wall and to structures such as protein, carbohydrate, lipid by hydrophobic and hydrophilic interactions, hydrogen and covalent bonds. There are many factors in the interaction of phenolics with macromolecules such as molecular weight, degree of polymerization, and number of aromatic groups. This complex is known to have many positive

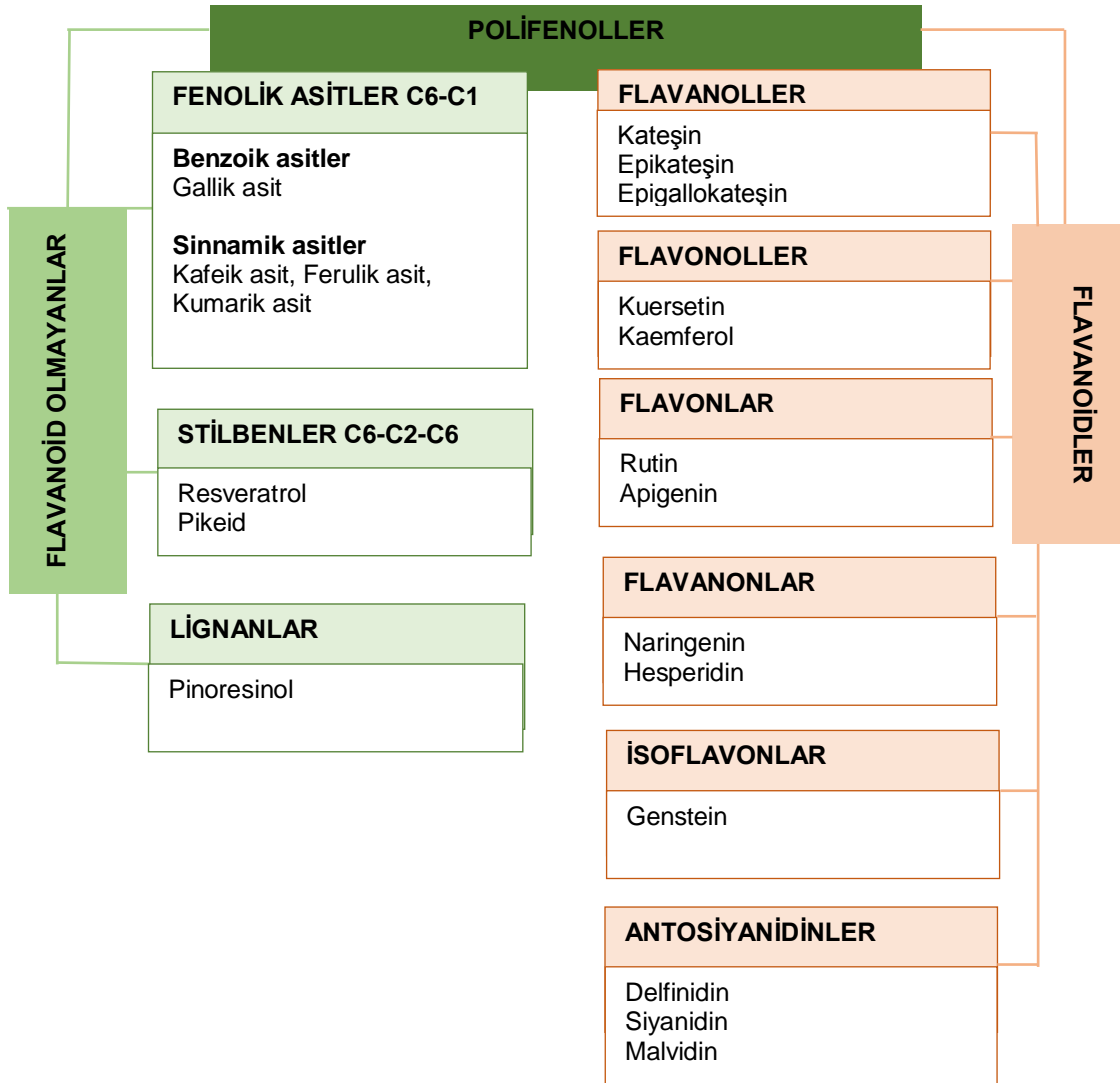
effects on human health. The bioavailability of phenolic compounds in foods depends on their release, absorption and passage into the bloodstream during digestive or intestinal fermentations. In particular, polyphenols in certain foods bind to macromolecules such as proteins, carbohydrates, lipids in the cell wall structure and greatly affect the bioavailability of the gastrointestinal tract. Due to the difficult digestion of cell wall materials, bound phenolic compounds can reach the colon without alteration in the gastrointestinal tract.

**Keywords:** Bound phenolics, Protein-phenolic complex, Carbohydrate-phenolic complex, Bioavailability

## GİRİŞ

Fenolik bileşikler meyve, sebze, tahıl ve çeşitli bitkisel ürünlerde doğal olarak bulunan ve bu gıdaların renk, tat, koku gibi çeşitli karakteristik özelliklerinden sorumlu olan fitokimyasallardır. Aynı zamanda fenolik bileşikler, bitkilerin savunma mekanizmasında rol oynayarak virüs, parazit gibi çeşitli zararlılara karşı etki göstermektedirler

[1]. Bu fitokimyasallar, şikimik asit izyolu ve fenilpropanoid metabolizmasından türetilen bir veya daha fazla hidroksil (-OH) grubu bağlanmış aromatik benzen halkası içeren kalabalık bir bileşen grubundan oluşmaktadırlar [2]. Fenolik bileşikler temelde flavanoidler ve flavanoid olmayanlar olmak üzere 2 sınıfa ayrılabilirler (Şekil 1).



Şekil 1. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması [2]

Flavanoid olmayanlar; fenolik asitler (C6-C1; kafeik asit, gallik asit vb.), stilbenler (C6-C2-C6; resveratrol, piceid vb.) ve lignanlar (C6-C3-C3-C6) olarak ayrılmaktadırlar. Fenolik asitler yapılarındaki fonksiyonel gruplara bağlı

olarak (hidrojen, hidroksil, metoksil vb.) temelde sinnamik ve benzoik asit olmak üzere farklı biyolojik aktiviteler gösteren alt gruplara ayrılmaktadır [2]. Flavanoidler grubunda ise flavanoller (kateşin,

proantosyanidinler vb.), flavonoller (kuersetin, mirisetin vb.) ve antosyanidinleri de (siyanidin, malvinidin vb.) içeren alt gruplar bulunmaktadır.

Gıda maddeleri 500-25000 arasında farklı sayıda fitokimyasal barındırmaktadır ve bunların yaklaşık 500 tanesini oluşturan "fenolik bileşikler" sağlıklı yakın ilişkilerinden dolayı en popüler bileşik grubudur [3]. Fenolik bileşiklerin sahip olduğu biyolojik aktivite; antioksidatif [4], antimikrobiyal [5], antiinflamatuvar [6] ve antiviral [7] özellikler göstermesinden kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşikler vücutta oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin korunmasında önemli rol oynamaktadırlar [4]. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi, vücutta dejeneratif etki gösteren oksijen konsantrasyonunu azaltmasına, oksidasyonun başlamasını önlemesine veya direkt olarak serbest radikalleri tutarak radikal oksijen türlerinin oluşmasını engellemesine dayanmaktadır [6]. Yapılan çalışmalarda, oksidatif stress ile ilişkilendirilen fenolik bileşiklerin diyetdeki alımıyla kanser [8], yüksek kolesterol [9], kronik kalp [10], katarakt, diyabet [11] gibi hastalıkların ve yaşlanmanın [12] önlenildiği görülmüştür. Fenolik bileşiklerin kalp-damar hastalıkları ve kansere karşı etkisine dair bir çok çalışma detaylı şekilde derlenmiştir [13, 14, 15].

Fenolik bileşikler hücre içerisinde i) serbest ii) ekstrakte edilebilir-konjuge ve iii) ekstrakte edilemeyen-bağlı olmak üzere 3 farklı formda bulunmaktadır [16]. Serbest formdaki fenolikler hücredeki vakuollerin içine hapsolmuş durumdadır. Konjuge formdaki fenolikler yapısındaki aromatik halkalar ve hidroksil grupları (-OH) sayesinde glikozitlere veya düşük molekül ağırlıklı bileşenlere esterleşebilmektedirler [17]. Bağlı fenolikler ise hücre duvarındaki selüloz, pektin, protein gibi yapılara ester, eter veya asetal bağlarıyla kovalent olarak bağlanabilmektedirler. Fenoliklerin aromatik halkasındaki hidroksil grupları (-OH) bitkisel hücre duvarlarındaki lignine eter bağıyla; karboksil grupları (-COOH) ise protein ve karbonhidratlara ester bağıyla bağlanabilmektedir [3]. Aynı zamanda bağlı fenolik bileşikler gıda matriksine veya çeşitli hücre yapılara bağlanmadan yalnızca fiziksel olarak makrobileşenlerin yapısına hapsolmuş durumda bulunabilmektedirler [18].

Meyve, sebze, tahıl ve baklagil ürünlerindeki toplam fenolik içeriğinin %20-60'ına karşılık gelen bağlı fenolik bileşikler üzerine yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır [2]. Yapılan çalışmalarda bağlı fenolikler için "ekstrakte edilemeyen fenolikler", "çözünemeyen fenolikler" (bound, nonextractable, unextractable, insoluble) gibi aynı anlama gelen farklı terimler kullanılabilmektedir.

## BAĞLI FENOLİKLER

Gıdalarda fenolik bileşiklerin serbest ve konjuge formları sulu organik solventlerin (yaygın olarak metanol, etanol veya aseton: su) kullanıldığı klasik metotlarla tanımlanabilmektedir. Ancak ekstraksiyon kalıntısında kalan ve toplam fenolik bileşiklerin önemli bir kısmı olan bağlı formlar göz ardı edilmektedir [19]. Makromoleküllere çeşitli interaksyonlarla bağlanan ve

ekstrakte edilemeyen formdaki fenolik yapılara ekstraksiyon solventleri tarafından ulaşılamamaktadır [20]. Bu nedenle özellikle bağlı fenolik madde içeriği yüksek olan gıdaların toplam fenolik madde içeriği geçmişte doğru şekilde ortaya koyulamamıştır.

Fenolik bileşiklerin gizli kalmış yapıları olan bağlı fenolikler ilk kez 1980'li yılların başında Bate ve Smith [21] tarafından baklagiller üzerine yapılan bir çalışmada bağlı taninlerin varlığıyla ortaya konulmuştur. Sonrasında 90'lı yıllarda sınırlı sayıda çalışma bulunmakla birlikte günümüzde MALDİ-TOFF MS (matriks destekli lazer dezorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanlı kütle spektroskopisi), FT-IR (fourier transform kızılötesi), NMR (nükleer manyetik rezonans), MS (kütle spektroskopisi) ve NIR (yakın kızılötesi spektroskopisi) gibi ileri tekniklerle bağlı fenolik bileşiklerin yapısı detaylı bir şekilde aydınlatılabilmektedir [22]. Meyve, sebze, tahıl ve baklagillere kadar çok çeşitli gıda ürünlerinde yaygın olarak bulunan bağlı ve konjuge fenolik bileşiklerin varlığı toplam fenolik madde içeriklerinin farklı ekstraksiyon yöntemleriyle yeniden değerlendirilmesini gerektirmiştir. Tablo 1'de çeşitli gıdalardaki bağlı fenoliklerin toplam fenolik madde içerisindeki oranları ve tespit edilen bağlı fenolik kompozisyonları verilmiştir.

## OLUŞTURDUĞU KOMPLEKSLER

İnsan vücudunda birçok biyolojik aktiviteye sahip olan fenolik bileşiklerden yüksek düzeyde faydalanabilmek için diğer moleküllerle etkileşimlerini bilmek büyük önem taşımaktadır. Fenolik bileşikler sahip oldukları aromatik halkalar ve hidroksil gruplarından dolayı hidrofobik ve hidrofilik interaksyonlarla, hidrojen ve kovalent bağlarla hücre duvarına ve ortamdaki protein, karbonhidrat, lipid gibi yapılara bağlanabilme yeteneğine sahiptirler [20, 41]. Fenolik bileşiklerle makromolekül kompleksleri arasındaki kovalent olmayan etkileşimler hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimlerden kaynaklanırken; kovalent etkileşimlerin temelinde enzimatik oksidasyon mekanizması yer almaktadır [20]. Fenoliklerin makro moleküllerle etkileşiminde birçok etkili faktör bulunmaktadır. Bu faktörler aşağıdaki şekilde açıklanabilir.

- i) *Molekül ağırlığı*: Fenolik bileşiklerin büyük molekül ağırlığına sahip olması daha fazla hidroksil grup içermesi dolayısıyla makromoleküllere karşı reaktivitesini artırmaktadır.
- ii) *Polimerizasyon derecesi ve gallik asitle esterleşme yüzdesindeki artış*: Polimerizasyon derecesindeki ve gallik asitle esterleşme yüzdesindeki artış ile hidrojen bağı oluşturabilecek hidroksil gruplarının ve hidrofobik interaksyon oluşturabilecek aril gruplarının sayısı artarak ilgili fenolün makromoleküllere bağlanma olasılığı artmaktadır.
- iii) *Hareket kabiliyeti/esneklik*: Hareket ve esneklik kabiliyeti yüksek olan fenolik bileşikler makromoleküllerle karşılaştıklarında kompleks oluşumuna uygun konumlamayı daha kolay elde edebilmektedirler.
- iv) *Orto fenolik ve aromatik grupların sayısındaki artış*: Fenoliklerin makromolekülleri bağlama kapasitesi

orto konumda ve aromatik yapılarda artmaktadır [20, 42].

Fenolik bileşiklerin gıdalardaki makromoleküllerle kovalent ve kovalent olmayan etkileşimleri fenolik açısından zengin gıda ürünlerinin kalitesini etkileyen en

önemli faktörlerdendir. Bu derleme kapsamında, 2 alt başlık altında fenolik bileşiklerin protein ve karbonhidrat komplekslerine, komplekslerin oluşumunda etkili olan mekanizmalara ve bileşenlerin foksiyonel özelliklerindeki değişimlere değinilmiştir.

Tablo 1. Bazı gıda maddelerinde bağlı fenolik madde miktarının toplam fenolik madde miktarına oranı (%)

Materyal	Bağlı Fenolik Oranı (%)	Kaynakça
<b>Meyveler</b>		
Elma ( <i>Malus domestica</i> )	27	[23]
Muz ( <i>Musa acuminata</i> )	92	[19]
Üzüm ( <i>Citrus paradisi</i> )	25	[19]
Şeftali ( <i>Prunus persica</i> )	43	[19]
Portakal ( <i>Citrus sinensis</i> )	59	[19]
Karpuz ( <i>Citrillus Lanatus</i> )	22	[19]
Olgun Muşmula ( <i>Mespilus germanica L.</i> )	21	[24]
Kızılcık ( <i>Cornus mas</i> )	76	[25]
<b>Sebzeler</b>		
Brokoli ( <i>Brassica oleracea</i> )	55	[19]
Ispanak ( <i>Spinacia oleracea</i> )	38	[23]
Tatlı kırmızı biber ( <i>Capsicum annuum</i> )	16	[26]
Patates ( <i>Solanum tuberosum</i> )	19	[27]
Marul ( <i>Lactuca sativa</i> )	58	[19]
Salatalık ( <i>Cucumis sativus</i> )	69	[19]
Havuç ( <i>Daucus carota</i> )	70	[19]
Acı biber ( <i>Capsicum annuum L.</i> )	40-58	[28]
Soğan ( <i>Allium cepa</i> )	23	[4]
Balkabağı (çekirdeksiz) ( <i>Cucurbita pepo</i> )	10	[29]
Yenilebilir yosunlar		[30]
- <i>Nelumbo nucifera</i>	71	[30]
- <i>Cosmos sulphureus</i>	51	[30]
- <i>Telosma minor</i>	27	[30]
Lahana yaprağı ( <i>Brassica oleraceae L. var. acephala DC.</i> )	5	[31]
<b>Tahıllar</b>		
Arpa ( <i>Hordeum vulgare L.</i> )	97	[32]
	70	[33]
Mısır ( <i>Zea mays L.</i> )	99	[32]
Buğday ( <i>Triticum aestivum</i> )	98	[32]
Yulaf ( <i>Avena Sativa</i> )	97	[32]
Çavdar ( <i>Secale cereal</i> )	88	[32]
Darı ( <i>Kodo; Paspalum scrobiculatum</i> )	71	[34]
Siyah Pirinç ( <i>Oryza sativa</i> )	42	[35]
Kahverengi pirinç ( <i>Oryza sativa</i> )	85	[36]
<b>Yağlı Tohumlar</b>		
Palm	35	[37]
Soya ( <i>Glycine max</i> )	44	[38]
<b>Baklagiller</b>		
Nohut ( <i>Cicer arietinum</i> )	50	[39]
Mercimek (6 türde, <i>Lens culinaris</i> )	1-17	[40]

### Protein-Fenolik Kompleksi

Proteinler sahip oldukları hidrofobik bölgeler sayesinde fenolik bileşiklerle kompleks oluşturabilmektedirler. Protein-fenolik ilişkisi fenoliklerin aromatik halkası (-OH grupları) ile proteinlerin hidrofobik bölgeleri (-COOH grupları) arasındaki temelde kovalent olmayan etkileşimlere dayanmaktadır [20].

Proteinlerle fenolikler arasındaki ilişkinin mekanizması üzerine yapılan çalışmalar bu etkileşimde çok çeşitli faktörlerin etkili olduğunu ortaya koymuştur [43,44]. Protein-fenolik ilişkisinin özellikle, üzüm çekirdek ve kabuklarının kullanıldığını çalışmalarda detaylı şekilde incelendiği görülmektedir. Yüksek fenolik madde içeriğine sahip üzümlerin şaraba işlenmesiyle ortaya çıkan burukluk hissinde, protein-fenolik kompleksi önemli rol oynamaktadır. Bu konuda Rinaldi ve ark. [45] yaptıkları çalışmada, üzümlerin tüketimi sonrasında

ağızda oluşan buruk tadın yapısındaki proantosiyanidinlerin yüksek prolin içeriğine sahip tükürük proteinlerine bağlanarak çökmesinden kaynaklı olduğunu ortaya koymuşlardır. Söz konusu çalışmada proantosiyanidinlerin polimerizasyon derecesi, gallik asitle esterleşme yüzdesi ve -OH grup sayısı gibi değişkenlerinin proteinlerle kompleks oluşturmadaki etkisi incelenmiştir. Bu değişkenlerin artışının proantosiyanidinlerin hidrofobikliğini ve çoklu bağ oluşturma yeteneğini tetiklediği ve dolayısıyla proantosiyanidin-protein kompleksinin oluşumunu artırdığı görülmüştür. Bir başka çalışmada, üzüm çekirdeklerindeki fenolik bileşiklerin sığır serum albumini ve  $\alpha$ -amilaz ile oluşturduğu kompleks yapısı incelenmiştir. Üzüm çekirdek fenoliklerinin protein yapılarına gösterdiği yüksek affinite içeriğindeki tanen miktarı (artan olgunluk dereceleriyle artış gösteren) ve hidrofobitesindeki artış ile yakından ilişkilendirilmiştir [46].

Protein-fenolik etkileşimini, rutin ve epikateşin eklenmiş soya proteini temelli film yapısında inceleyen Friesen ve ark. [47], protein-fenolik kompleks oluşumunda fenolik bileşiklerin hidroksil (-OH) ve amino asitlerin amino (-NH<sub>2</sub>) grupları arasındaki çapraz hidrojen bağların etkili olduğunu belirtmişlerdir. Proteinlerin rutin ile oluşturduğu kompleks yapısının epikateşin ile oluşturduğundan daha kuvvetli olması rutin molekül ağırlığının ve hidrojen bağ oluşumunu artıran şeker grup sayısının epikateşinin sahip olduğundan daha fazla olmasıyla ilişkilendirilmiştir.

Protein-fenolik kompleks yapısının oluşumunda proteinlerin yapısı ve yapıdaki amino asitlerin kompozisyonu da büyük önem taşımaktadır [43]. Özellikle esnek yapıdaki prolin amino asidince zengin proteinlerin fenolik bileşiklere karşı daha yüksek affinitesinin olduğu bilinmektedir. Protein yapısında bulunan prolin aminoasidi halka yapısı nedeniyle hidrojen bağlarının  $\alpha$ -heliks yapısına dönüşümünü önlenerek fenolik bileşikler için uygun bağlanma bölgeleri oluşturmaktadır [48]. Haratifar ve Corredig [49] çalışmalarında, kazein misellerinin özellikle çayın yapısındaki kateşine karşı gösterdiği affinite kazein misellerinin yüksek prolin içeriğinin etkisi olduğunu vurgulamışlardır. Hasni ve ark. [50] tarafından yapılan çalışmada ise çayın yapısındaki kateşinlerin süt proteinleriyle oluşturduğu komplekste hidrofobik bağların etkili olduğunu ve proteinlerle etkileşimde özellikle  $\beta$ -kazeinin  $\alpha$ -kazeinden daha güçlü bağlar oluşturabildiği belirtilmiştir.

Proteinlerin fenolik bileşikler ile kompleks oluşturmada buldukları ortamın koşulları da (pH, sıcaklık, iyonik kuvvet vb.) etkili olabilmektedir. Bu konuda Rawel ve ark. [51] yaptıkları detaylı araştırmada farklı fenolik bileşik (klorojenik asit, ferulik asit, gallik asit, kuersetin, rutin, izokuersetin) ve protein (insan serum albumini, sığır serum albumin, soya glisini ve lizozim) gruplarının etkileşime girmesine çevresel koşulların etkisini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda sıcaklık (25-90°C) ve iyonik kuvvetteki düşüşün yanı sıra pH'daki (pH 5-7) artışın protein-fenolik kompleks oluşumunu artırdığı ortaya konulmuştur. Budryn ve ark. [52] ise yeşil kahvedeki

bazı fenolik asitler (hidroksisinnamik asit ve klorojenik asit) ile protein yapıları (yumurta beyazı, peynir altı suyu ve soya proteinleri) arasındaki bağlanmanın derecesine sıcaklık (25°C, 90°C) ve pH (pH 3.20, 6.45)'nin etkisini modern analitik bir teknik olan LC-QTOF-MS/MS ile incelemişlerdir. Düşük sıcaklık ve asidik pH'nın, fenolik bileşiklerin hidrojen bağlarını etkileyerek proteinlere hidrofobik bağlarla bağlanmasını teşvik ettiğini saptamışlardır.

Protein-fenolik kompleksinde her iki bileşende de olumlu-olumsuz yapısal, fonksiyonel, organoleptik ve besinler değişimler meydana gelebilmektedir [49, 52, 53]. Özellikle çay, şarap gibi ürünlerdeki burukluk protein-fenolik etkileşiminin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Proteinlerin fenolik bileşiklerle kompleks oluşturması sonucu, proteinlerin  $\alpha$ -heliks ve  $\beta$ -konformasyonundaki artışla birlikte ikincil ve üçüncül yapıları değişime uğramaktadır. Bunun sonucunda proteinlerin izoelektrik noktası değişmekte ve çözünmeyen çökelti oluşumuyla sert, yavan bir duysal algı ortaya çıkmaktadır [43, 49]. Yapılan bir çalışmada çaydaki fenolik bileşiklerden kateşinlerin,  $\alpha$ -kazein ve  $\beta$ -kazein gibi süt proteinleri ile hidrofilik ve hidrofobik etkileşimlere girdiği ileri spektroskopik teknikleri ile ortaya konulmuştur. Oluşan kompleks yapısında, kazeinin ikincil yapısı değişerek düzensiz (unfolded) hale geçmekle birlikte kateşininin de antioksidan aktivitesi düşmüştür [50].

Gıda işleme endüstrisinde protein-fenolik kompleks oluşumundan faydalanılarak berraklaştırma uygulamalarıyla bulanıklık ve acılık unsurlarını giderici çalışmalar yapılabilmektedir [54, 55]. Jauregi ve ark. [55], şarapların durultulmasında, durultma ajanı olarak jelatin ve peynir altı suyu proteinlerinden  $\beta$ -laktoglobulini kullanarak istenmeyen acılığa ve bulanık görünüme yol açan bileşenleri protein-fenolik kompleksi sayesinde uzaklaştırmışlardır.

Proteinlerin-fenolik bileşiklerle etkileşimi sonucu oluşan çökelti proteinlerin besinsel, enzimatik ve çeşitli biyolojik aktivitelerinde kayıplara yol açabilmektedir [55]. Soya proteinleri-fenolik ilişkisi üzerine yapılan bir çalışmada oluşan komplekste lizin, sistein ve triptofan gibi bazı aminoasitlerin miktarında azalmalar saptanmıştır. Ayrıca kompleks yapısındaki proteinlerin biyoyararlılığının, bazı sindirim enzimlerinin inhibisyonuyla önlediği ortaya konulmuştur. Bu etkileşim sonucu proteinlerin ikincil ve üçüncül yapıları moleküllerin yüzey özelliklerini etkileyerek değişmektedir. Hidrofilik/hidrofobik özelliklerde meydana gelen bu değişim proteinlerin çözünürlük davranışının yanısıra emülsifikasyon, köpük oluşturma ve jelleşme gibi fonksiyonel özelliklerini de etkilemektedir [56]. Benzer şekilde fenolikçe zengin kahverengi deniz yosunu (*Ascophyllum nodosum*) ekstraktları üzerine yapılan çalışmada; fenoliklerin protein affinitesi nedeniyle sindirimde görevli enzimlerden  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz aktivitelerinin düştüğünü ortaya koymuşlardır [57].

Protein-fenolik kompleks yapısında fenolik bileşiklerin antioksidan aktivesi korunabilmekte veya tam tersine maskelenebilmektedir. Bu konunun araştırıldığı bir

çalışmada; siyah çaya %33 oranına kadar yağsız süt eklendiğinde çayın yapısındaki toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitenin değişiklik göstermediğini belirtmiştir [58]. Bunun aksine; Budryn ve ark. [52] tarafından yapılan çalışmada, yeşil kahvedeki fenolik asitler (hidroksisinnamik ve klorojenik asit) ile yumurta sarısı, peynir altı suyu ve soya proteinleri arasındaki bağlanmanın fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesini olumsuz yönde etkilediği ve biyoyararlılığı düşürdüğü görülmüştür.

### Karbonhidrat-Fenolik Kompleksleri

Polifenoller siklodekstrin, pektin, selüloz ve diyet lifi gibi çeşitli karbonhidratlarla kompleks oluşturabilmektedir. Oluşan bu kompleksin sağlık üzerine bir çok olumlu etkisi olduğu bilinmektedir [41]. Karbonhidratların fenolik bileşiklerle arasındaki ilişki hücre duvarındaki karbonhidratın hidroksil grupları ve glikozidik oksijen atomlarıyla proantosiyandinlerin hidroksil ve aromatik halkaları arasında oluşan hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimlere bağlıdır [59]. Fenolikler ile karbonhidratlar arasındaki ilişkide proteinlere benzer şekilde kovalent olmayan hidrojen, van der Waals ve hidrofobik bağlar etkilidir [60]. Araştırmalar sonucunda bu etkileşimlerin meydana gelmesinde önem taşıyan bir çok faktör tanımlanmıştır [59].

Fenolik bileşikler hücre duvarı materyallerinden olan pektin, selüloz ve diyet lifleri ile etkileşime girebilmektedirler [60]. Karbonhidratların fenolik bileşiklerle kompleks oluşturmasında, karbonhidratların sahip oldukları hidrofobik porlar oldukça etkilidir. Hücre duvarı yapısındaki porların küçük olması yüksek molekül ağırlıklı fenolik bileşiklerin hücre duvarına bağlanmasını önleyebilmektedir. Fenoliklerin sterik açıdan boyutunun bu porlara yerleşmeye uygun olması karbonhidrat-fenolik kompleks oluşumunu tetiklemektedir [20]. Brahem ve ark. [61] yaptıkları çalışmada armutların olgunlaşma süresince yapılarındaki fenolik bileşiklerin karbonhidratlar ile etkileşimi incelenmiştir. Armutların olgunlaşması prosiyanidinlerin hücre duvarı bileşenleri ile kovalent olmayan etkileşimlerini artırmıştır. Etkileşimdeki bu artış olgunlaşma sonucu meyvenin hücre duvarındaki karbonhidratların por boyutundaki artışla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca olgunlaşma sırasında pektin yan zincirlerinin azalması sonucu prosiyanidinlere daha yüksek affinite gösteren ramnogalakturnik yapısı ortaya çıkmıştır.

Karbonhidrat fenolik etkileşiminde ortamdaki bileşenlerin ve konsantrasyonlarının etkisi bulunmaktadır. Bautista-Ortin ve ark. [62] kırmızı ve beyaz şaraplarda tanen-hücre duvarı etkileşimine antosiyaninlerin etkisini inceledikleri çalışmalarında antosiyanin içeriği ve konsantrasyonuna bağlı olarak tanen ve antosiyaninlerin hücre duvarı adsorpsiyon bölgelerine bağlanmak için yarıştıklarını belirtmişlerdir.

Karbonhidrat-fenolik kompleks yapısı, bileşenlerin ayrı ayrı sahip oldukları özelliklerini değiştirebilmektedirler. Örneğin; yapılan çalışmalarda kuersetinin siklodekstrin ile oluşturduğu kompleks yapısında, düşük suda çözünebilirlik özelliğine sahip kuersetinin

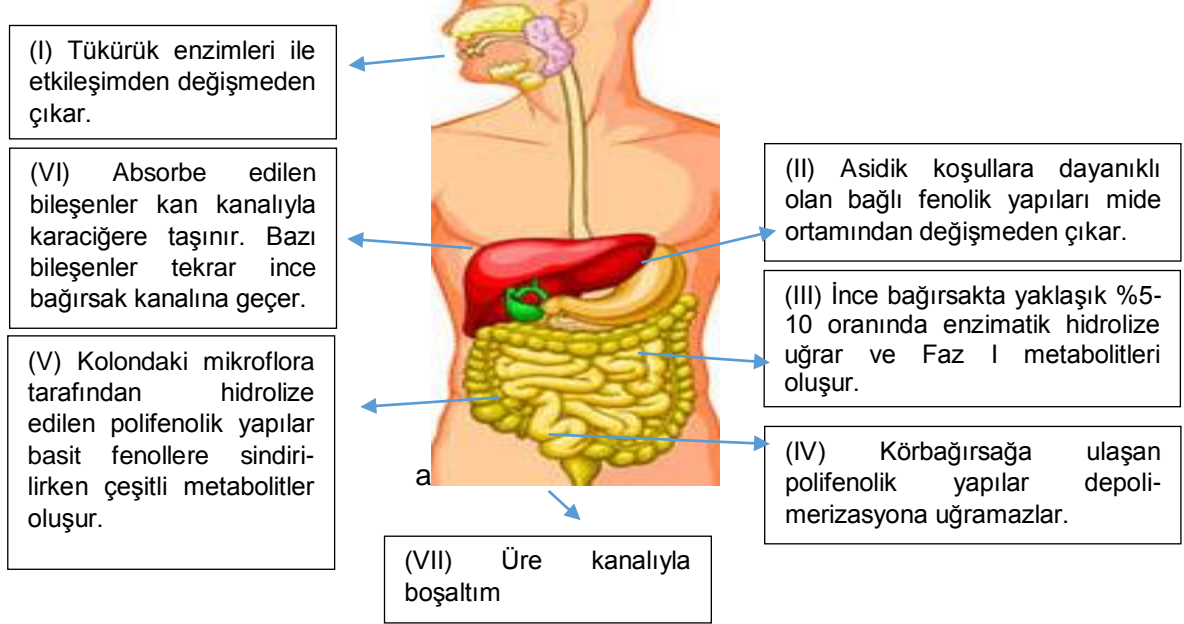
çözünürlüğünün arttığı ve ayrıca antioksidan aktivitesinin korunduğu belirtilmiştir [63]. Yapılan bir başka çalışmada karbonhidrat-kurkumin kompleks yapısının kurulumunda hidrojen bağlarının baskın olduğu belirtilmiştir. Bu etkileşimde alkali ortamlarda oldukça kararsız olan kurkumin, karbonhidrat yapılarıyla kompleks oluşturduğunda alkali ortamdaki stabilitesinin daha yüksek olduğu vurgulanmıştır [64].

### SİNDİRİMDEKİ METABOLİZMASI VE BİYOYARARLILIĞI

Bitkiler tarafından sentezlenen fenolik bileşikler doğal olarak birçok bitkisel gıdanın yapısında bol miktarda bulunmaktadır. Gıdalardaki fenolik bileşiklerin biyoyararlılığı; sindirim veya bağırsak fermentasyonları sırasında gıda matriksinden salınımına, emilimine ve kan dolaşım sistemine geçişine bağlıdır [65]. Özellikle bazı gıdalardaki polifenoller hücre duvarı yapısındaki protein, karbonhidrat, lipit gibi makromoleküllere bağlanarak mide-bağırsak sistemindeki biyoyararlılığı büyük ölçüde etkilemektedir. Hücre duvarı materyallerinin sindiriminin zor olması nedeniyle bağlı fenolik bileşikler mide-bağırsak sisteminde değişime uğramadan kolona ulaşabilmektedir [66]. *Bifidobacterium*, *Lactobacillus spp.* gibi yaklaşık 14 log KOB mikroorganizmayı içeren kolonda fermentasyon sırasında salgılanan ekstraselüler enzimler makromoleküllerin hücre duvarı matriksini parçalayarak veya yapısındaki kovalent bağlarını hidrolize ederek bağlı fenoliklerin salınmasını sağlamaktadırlar [2].

Bağlı fenoliklerin kolona ulaşabilmesinde, fenolik maddenin ve fenolik-makromolekül kompleksinin yapısı, mide-bağırsak sistemindeki enzimlerin fenolik-makromolekül kompleksi ile teması gibi çeşitli faktörler etkilidir [41]. Bu konuda Saura-Calixto ve ark. [68] tarafından yapılan çalışmada, *in vitro* mide-bağırsak ve kolonik fermentasyon ortamlarını kullanarak polifenollerin biyoyararlılığını değerlendirmişlerdir. Konjuge fenoliklerin yaklaşık %50'sinin ince bağırsağa ulaşabildiği gözlenirken; bağlı fenoliklerin büyük çoğunluğunun yapısal olarak değişime uğramadan kolona ulaşabildiği bildirilmiştir.

Gıdaların yapısındaki bağlı fenolik bileşiklerin insan vücudunda izlediği yol ve oluşan değişimler Şekil 2'de gösterilmiştir. İzlenen yolları şu şekilde tanımlayabiliriz: (I) Tükürük enzimleri ile etkileşimden değişmeden çıkar. (II) Asidik koşullara dayanıklı olan bağlı fenolik yapıları mide ortamından değişmeden çıkar. (III) İnce bağırsakta Faz I modifikasyonlarıyla (oksidasyon, redüksiyon) yaklaşık %5-10 oranında enzimatik hidrolize uğrar (IV) Körbağırsağa (apendiks) ulaşan polifenolik yapılar burada depolimerizasyona uğramazlar. (V) Kolonda Faz II enzimleri ile mikroflora tarafından hidrolize edilen polifenolik yapılar basit fenollere sindirilirken çeşitli metabolitler oluşur. (VI) Absorbe edilen bileşenler kan kanalıyla karaciğere taşınırken sülfatlanmış, metillenmiş ve glukuronidasyona uğramış konjugatlar oluşur. Bazı bileşenler tekrar safra kanalıyla ince bağırsağa geçer. (VII) Sonucunda üre kanalıyla boşaltılır [1].



Şekil 2. Bağli fenolik bileşiklerin insan vücudunda izlediği yol ve oluşan değişimler [1]

Polifenollerin biyoyararlılığı üzerine bir çok çalışma ve derleme bulunmaktadır [1, 68, 69]. Bu çalışmalar *in vivo* veya *in vitro* çalışmaları kapsamaktadır. Hayvan denekleri üzerindeki *in vivo* çalışmalar her grupta 10 denek ile (yaygın olarak Wistar türü fareler) 4 haftalık süreçte diyetle %5-13 oranında test edilen ürünün eklenmesiyle yapılmaktadır. Denek hayvanlarının dışkı ağırlıkları, kan ve üre örneklerinde yapılan kantitatif ve kalitatif analizler özellikle bağı fenolik bileşenlerin vücuttaki biyoyararlılığının değerlendirilmesinde önem taşımaktadır [70, 71]. Denekler arası değişkenliğin sınırlandırdığı *in vivo* çalışmalar, statik ve dinamik yapay mide-bağırsak ortamlarının kullanıldığı *in vitro* çalışmalarla aşımaya çalışılmaktadır. Statik ortamda ağız, mide ve ince bağırsak koşulları aynı anda sağlanırken dinamik ortamda kademeli geçişler uygulanmaktadır.

Sindirim sırasında salınmayan bağı fenolik bileşikler, mide-bağırsak sisteminden kolona ulaşana kadar ve özellikle de kolonda pozitif antioksidan ortam yaratabilmektedir. Dolayısıyla karşılaştıkları serbest radikalleri nötralize edebilmekte veya semi-kinon, kinon gibi oksidasyon yan ürünleri ile reaksiyona girebilmektedir [72]. Gobert ve ark. [73] tarafından yapılan bir çalışmada sığır eti, ayçiçek yağı ve nişastanın sindirimi sırasında mide-bağırsak ortamında ortaya çıkabilecek oksidasyonda fenolik bileşiklerin etkisini incelemişlerdir. Çalışmada fenoliklerin midedeki sindirim sırasında lipit türevi olan konjuge dienleri inhibe etmesinin yanı sıra Tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren madde (TBARS) miktarının düşüşünde de etkisi olduğu gözlenmiştir.

Bağı fenolikleri içeren gıdaların tüketimi bağırsaktaki faydalı bakterilerin gelişimini teşvik edebildiği gibi patojen bakterilerin gelişimini de inhibe edebilmektedirler. Chacar ve ark. [74] tarafından yapılan bir çalışmada 2 aylık fare deneklerine fenolik bileşiklerin bağırsak florasına etkisini göstermek amacıyla farklı konsantrasyonlarda (2.5, 5, 10 ve 20 mg/ kg (vücut

ağırlığı başına) /gün) fenolik asit içeren üzüm ezmesi diyeti uygulanmıştır. Denekler 14 aylık olana kadar bu diyetler ile beslenerek deneklerin 6 ve 14 aylık dönemlerinde fekal örnekleri toplanmıştır. Bu örneklerin kolon mikroflora kompozisyonunda neden olduğu değişim polimer zincir reaksiyonu (PCR) ile analiz edilmiştir. Kolon sistemine ulaşabilen bağı fenoliklerin sağlıklı bağırsak florasında bulunması istenen *Bifidobacterium* sayısını artırırken; patojenik etki gösteren *Clostridium* sayısını inhibe ettiği görülmüştür.

Bağı fenolikler sindirim sisteminde değişime uğramadan kolona ulaşabilmekte ve bu sayede kolonda oksidatif ortam sağlayabilmektedir. Kolonda ise mikrobiyal floraya substrat görevi görerek sağlık üzerinde olumlu etkileri kanıtlanmış daha küçük bileşenlere veya metabolitlere fermente edilmektedir. Verzelloni ve ark. [75] tarafından yapılan çalışmada polifenol metabolitlerinin diyabet öncülü olan protein glikasyonuna ve nörotoksititeye olan etkisini nöron hücre kültürü üstünde incelemişlerdir. Bu çalışmada fenolik bileşiklerin fermentasyonu sonucu kolonda oluşan metabolitlerden ellajitannin türevleri (ürolithinler ve pirogallol) ve klorojenik asit türevlerinin (dihidrokafeik asit, dihidroferulik asit ve feruloilglisin) diyabetik komplikasyonları önleyebileceği ortaya konulmuştur. Kolona ulaşan polifenoller fermente edilince hidroksifenilasetik, fenilpropionik, fenilvalerolaktonlar, fenilvalerik asitler, fenilpropionik asitler, fenilasetik asitler, hiperkürük, benzoik asit ve fenilbütirik asit gibi çeşitli sağlık üzerine olumlu etkileri olan metabolitler oluşmaktadır [76].

Yapılan çalışmalar bağı fenoliklerin oksidatif ve antifertilite etkisi sayesinde kolon kanserini büyük ölçüde önleyebildiğini göstermektedir. Sánchez-Tena ve ark. [78], proantosyanidin ve lifçe zengin diyetle (Kontrol, %1 proantosyanidin içeren diyet lif) beslenen kanserli fare deneklerinde kolon kanserinin gelişimini 6 hafta boyunca incelemişlerdir. Bağırsak poliplerinin %65'inin boyutu <1 mm'ye düşerken; toplam kanser hücresi miktarında %76 oranında azalma gözlenmiştir. Hajiaghaalipour ve ark. [79] yaptıkları çalışmada beyaz



çaydaki fenoliklerin hücre sel yapıdaki DNA'yı oksidatif stresten koruduğu ve IC50 87 µg/mL konsantrasyonda (IC50; inhibe edici konsantrasyonun yarısı) kolon kanseri hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Benzer şekilde kakao [80]; buğday unu [81]; iğde [82] gibi çok çeşitli gıda maddelerinin içeriğindeki biyoaktif fenolik bileşenlerin kolon kanserini önleyebildiği ortaya konulmuştur.

Bağlı fenoliklerin lipid, protein ve karbonhidrat molekülleri ile kompleks yapısında bu moleküllerin yarıyışlılığına olumlu ya da olumsuz bazı etkileri olmaktadır. Lipit-fenolik komplekslerinin sindirim üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada, kakaodaki fenolik bileşiklerin yağ içeriği yüksek olan çikolata ürünlerinde daha yüksek yararlanılabilirliği olduğu vurgulanmıştır [83]. Ayrıca fenolik bileşiklerin lipidlerle oluşturdukları kompleks yapının lipid oksidasyonunu önlediği ve lipidlerin absorpsiyonunu azaltarak olumlu sağlık etkileri sağladığı bilinmektedir [84]. Bu konuda yapılan bir çalışmada, et ürünleri ile kırmızı şarabı birlikte tüketen deneklerden alınan kan örneklerine göre fenoliklerle kompleks oluşturan lipidlerin mide bağırsak sisteminde daha düşük oranda absorbe edildiği ortaya konulmuştur [72].

Protein-fenolik komplekslerinde protein sindirilebilirliği yapıya bağlı olarak artmakta veya azalmaktadır. Özellikle hidrofobik ve aromatik aminoasitlerden fenil alanin, prolin, tirozin ve triptofanın üst mide bağırsak kanalındaki sindirilebilirliği düşerken pankreatik enzimlerle ince bağırsaktaki sindirilebilirliği artmaktadır [85]. Fenolikler proteinlerin yapısını, kalitesini, duyu sal özelliklerini (özellikle acı tat) ve fonksiyonelliğini değiştirmektedir. Kompleks yapıda proteinlerdeki besinsel kayıplar esansiyel aminoasitlerin yıkımı ve proteolitik, glikolitik enzimlerin inhibisyonuyla ilişkilendirilmektedir [20]. Bu durum özellikle proteince zengin olmayan diyetlerde büyük problemlere yol açabilmektedir. Petzke ve ark. [85] tarafından fare denekleri üzerinde yapılan çalışmada klorojenik asidin peynir altı suyu protein yapısındaki β laktoglobulinin sindirilebilirliğini düşürdüğü ortaya konulmuştur. Aksine soya proteinleri ile kompleks yapan *Artemisia dracunculus* bitkisinden ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin fare deneklerinin sindirim kanalında biyoyararlılığı artırdığı görülmüştür [86]. Felberg ve ark. [87], soya sütü-kahve karışımının insan sindirim sistemindeki etkisini göstermek amacıyla yaptıkları çalışmalarında özellikle klorojenik asidin üst sindirim kanalındaki absorpsiyonunun %42 oranında azaldığını ortaya koymuşlardır. Yapılan bir başka çalışmada proteince zengin gıda kompozisyonunun fenolik bileşiklerin biyoyararlılığı ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisi *in vitro* ortamda incelenmiştir. Bu amaçla süt ve yumurta ürünleri üzüm ekstraktı ile zenginleştirilmiştir. Endüstriyel koşullarda tatlı, milkshake, omlet ve pankeke işlenen ürünlerin ağız, mide ve bağırsak kanalındaki değişimi izlenmiştir. Gıda matriksi özellikle antosiyaninlerin bağırsak fazına bozulmadan ulaşmasını sağlarken antioksidan aktiviteyi özellikle bağırsak kanalında azaltmıştır. Gıda matriksleri arasında omlet sindirimi sonrasında diğer ürünlere kıyasla daha yüksek oranda toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivite değerleri elde edilmiştir [88].

Karbonhidrat-fenolik kompleks yapısı, fenolik bileşiklerin sindirim sisteminden kolon sistemine aktivitesini koruyarak taşınmasına yardımcı olmaktadır. Kompleks yapının, karbonhidratların vücuttaki sindirilebilirliğine dair herhangi bir olumsuz etkisi ortaya koyulmamıştır. Bu konuda yapılan bir çalışmada dimer ve trimer yapıdaki prosiyanidinlerin, karbonhidratça zengin diyetlerdeki biyoyararlılığı *in vitro* ve *in vivo* ortamda değerlendirilmiştir. *In vitro* çalışmada yapay ağız, mide ve ince-bağırsak olmak üzere 3 adımlı dinamik ortama 300 mg prosiyanidin ve 300 mg prosiyanidin+600 mg tahıl temelli gıda karışımı eklenerek sindirim sonrası elde edilen kalıntı ve supernatant LC/MS ile analiz edilmiştir. *In vivo* çalışmada ise benzer şekilde fare denekleri ise sadece 1 g prosiyanidin ve 1 g prosiyanidin+2 g karbonhidratça zengin gıda ürünü ile beslenerek kan plazma örneklerindeki fenolik miktarı analiz edilmiştir. Çalışmanın sonucunda *in vitro* çalışmada fare deneklerine kıyasla daha yüksek fenolik metabolit saptanmıştır. Ayrıca karbonhidratların prosiyanidinlerin emilimini baskıladığı ortaya konulmuştur [89]. Başka bir çalışmada diyet lifleri ile kompleks yapan bağlı ferulik asitin *in vitro* ortamda kolonik fermentasyonda görev alan ksilosidaz ve arabinofuranosidaz enzimlerinin aktivitesini önlediği rapor edilmiştir [90].

Fenoliklerin makromoleküllerle oluşturduğu kompleksler çoğunlukla olumlu değişikliklere neden olurken bazı çalışmalarda besinsel değerlerde ya da enzim aktivitelerinde düşüşe neden olduğu açıktır. Özellikle nano taşıyıcı görevi gören bu makro yapılar sayesinde fenoliklerin antioksidan aktivitesi değişmeden kolon sistemine kadar taşınabilmesi sağlık açısından en önemli faydasıdır. Benzer şekilde kolon ortamında antioksidan ve antimikrobiyal ortamın destelenmesiyle başta kolon kanseri olmak üzere bir çok mide-bağırsak hastalığı önenebilmektedir.

## SONUÇ

Uzun yıllardan beri gıdalardaki fenolik bileşikler üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Fakat, bağlı fenoliklerin dahil edildiği çalışmalar ancak son yıllarda artış göstermiştir. Bağlı fenolikler; tahıllar, yağlı tohumlar ve bakliyatlar başta olmak üzere birçok bitkisel temelli gıdada fazla miktarda bulunmaktadır. Detaylı analiz yöntemleriyle fenoliklerle protein ve karbonhidratlar arasındaki ilişki çözümlenmektedir. Bu kompleks yapılar; işleme prosesleri sırasında gıdaların duyu sal, tekstürel, kimyasal birçok özelliğini değiştirebilmektedir. Günümüzde birçok gıdanın fenolik profili bağlı fenolikleri kapsayacak şekilde güncellenmiştir. Buna karşın; gıdalardaki bağlı fenolik profilinin fermentasyon, haşlama, pişirme gibi proses koşullarındaki değişimini inceleyen yeterince çalışma bulunmamaktadır. Bağlı fenoliklerin ekstraksiyonunu kapsayan genel kabul görmüş bir prosedürün olmayışı farklı analiz sonuçlarının karşılaştırılabilirliğini zorlaştırmaktadır. Benzer şekilde *in vivo* ve *in vitro* deney tasarımlarında farklı gıda kombinasyonlarındaki eksikliklerin tamamlanmasıyla bağlı fenoliklerin sindirim kanalındaki yolculuğu daha net bir şekilde ortaya koyulabilecektir.



## KAYNAKLAR

- [1] Bohn, T. (2014). Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutrition Reviews*, 72(7), 429-452.
- [2] Shahidi, F., Yeo, J. (2016). Insoluble-bound phenolics in food. *Molecules*, 21(9), 1216.
- [3] Acosta-Estrada, B.A., Gutiérrez-Urbe, J.A., Serna-Saldívar, S.O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152, 46-55.
- [4] Albishi, T., John, J.A., Al-Khalifa, A.S., Shahidi, F. (2013). Antioxidant, anti-inflammatory and DNA scission inhibitory activities of phenolic compounds in selected onion and potato varieties. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 930-939.
- [5] Kaur, S., Mondal, P. (2014). Study of total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and antimicrobial properties of medicinal plants. *Journal of Microbiology & Experimentation*, 1(1), 00005.
- [6] Zhang, H., Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33-42.
- [7] Zhang, X.L., Guo, Y.S., Wang, C.H., Li, G. Q., Xu, J.J., Chung, H.Y., Ye, W.C., Li, Y.L., Wang, G.C. (2014). Phenolic compounds from *Origanum vulgare* and their antioxidant and antiviral activities. *Food Chemistry*, 152, 300-306.
- [8] Thangapazham, R.L., Sharma, A., Maheshwari, R.K. (2006). Multiple molecular targets in cancer chemoprevention by curcumin. *The AAPS Journal*, 8(3), E443.
- [9] Erlund, I., Koli, R., Alfthan, G., Marniemi, J., Puukka, P., Mustonen, P., Mattila, P., Jula, A. (2008). Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 87(2), 323-331.
- [10] Kris-Etherton, P.M., Lichtenstein, A.H., Howard, B.V., Steinberg, D., Witztum, J.L. (2004). Antioxidant vitamin supplements and cardiovascular disease. *Circulation*, 110(5), 637-641.
- [11] Demir, T., Akpınar, Ö., Kara, H., Güngör, H. (2019). Nar (*Punica granatum L.*) kabuğunun in vitro antidiyabetik, antiinflamatuvar, sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi. *Akademik Gıda*, 17(1), 61-71.
- [12] Fisher, L., Ianiro, T., Lau, F., Wang, H., Daggy, B. (2015). Synergistic effects of phenolic mixtures in human cell models of aging. *The FASEB Journal*, 29, 608-36.
- [13] Hollman, P.C. (2014). Unravelling of the health effects of polyphenols is a complex puzzle complicated by metabolism. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 559, 100-105.
- [14] Cirillo, G., Curcio, M., Vittorio, O., Iemma, F., Restuccia, D., Spizzirri, U.G., Puoci, F., Picci, N. (2016). Polyphenol conjugates and human health: a perspective review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(2), 326-337.
- [15] Kotecha, R., Takami, A., Espinoza, J.L. (2016). Dietary phytochemicals and cancer chemoprevention: a review of the clinical evidence. *Oncotarget*, 7(32), 52517.
- [16] Nayak, B., Liu, R.H., Tang, J. (2015). Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains-a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(7), 887-918.
- [17] Saura-Calixto, F. (2012). Concept and health-related properties of nonextractable polyphenols: the missing dietary polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(45), 11195-11200.
- [18] Gökmen, V., Serpen, A., Fogliano, V. (2009). Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the 'QUENCHER' approach. *Trends in Food Science & Technology*, 20(6-7), 278-288.
- [19] Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. (2015). Macromolecular antioxidants or non-extractable polyphenols in fruit and vegetables: Intake in four European countries. *Food Research International*, 74, 315-323.
- [20] Le Bourvellec, C., Renard, C.M.G.C. (2012). Interactions between polyphenols and macromolecules: quantification methods and mechanisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(3), 213-248.
- [21] Bate-Smith, E.C. (1973). Tannins of *herbaceous leguminosae*. *Phytochemistry*, 12(7), 1809-1812.
- [22] Ignat, I., Volf, I., Popa, V.I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821-1835.
- [23] Papillo, V.A., Vitaglione, P., Graziani, G., Gokmen, V., Fogliano, V. (2014). Release of antioxidant capacity from five plant foods during a multistep enzymatic digestion protocol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(18), 4119-4126.
- [24] Gruz, J., Ayaz, F.A., Torun, H., Strnad, M. (2011). Phenolic acid content and radical scavenging activity of extracts from medlar (*Mespilus germanica L.*) fruit at different stages of ripening. *Food Chemistry*, 124(1), 271-277.
- [25] White, B.L., Howard, L.R., Prior, R.L. (2010). Release of bound procyanidins from cranberry pomace by alkaline hydrolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(13), 7572-7579.
- [26] Oboh, G., Rocha, J.B.T. (2007). Polyphenols in red pepper (*Capsicum annuum var. aviculare (Tepin)*) and their protective effect on some pro-oxidants induced lipid peroxidation in brain and liver. *European Food Research and Technology*, 225(2), 239-247.
- [27] Nara, K., Miyoshi, T., Honma, T., Koga, H. (2006). Antioxidative activity of bound-form phenolics in potato peel. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70(6), 1489-1491.
- [28] Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S.G., Goni, I.S.A.B.E.L. (2010). Bioactive compounds of four hot pepper varieties (*Capsicum annuum L.*), antioxidant capacity, and intestinal bioaccessibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), 3399-3406.

- [29] Peričin, D., Krimer, V., Trivić, S., Radulvić, L. (2009). The distribution of phenolic acids in pumpkin's hull-less seed, skin, oil cake meal, dehulled kernel and hull. *Food Chemistry*, 113(2), 450-456.
- [30] Kaisoon, O., Siriamornpun, S., Weerapreeyakul, N., Meeso, N. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *Journal of Functional Foods*, 3(2), 88-99.
- [31] Ayaz, F.A., Hayırlıoğlu-Ayaz, S., Alpay-Karaoğlu, S., Grúz, J., Valentová, K., Ulrichová, J., Strnad, M. (2008). Phenolic acid contents of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.) extracts and their antioxidant and antibacterial activities. *Food Chemistry*, 107(1), 19-25.
- [32] Irakli, M.N., Samanidou, V.F., Biliaderis, C.G., Papadoyannis, I.N. (2012). Development and validation of an HPLC-method for determination of free and bound phenolic acids in cereals after solid-phase extraction. *Food Chemistry*, 134(3), 1624-1632.
- [33] Dvořáková, M., Guido, L.F., Dostálek, P., Skulilová, Z., Moreira, M.M., Barros, A.A. (2008). Antioxidant properties of free, soluble ester and insoluble-bound phenolic compounds in different barley varieties and corresponding malts. *Journal of the Institute of Brewing*, 114(1), 27-33.
- [34] Chandrasekara, A., Shahidi, F. (2010). Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(11), 6706-6714.
- [35] Ti, H., Li, Q., Zhang, R., Zhang, M., Deng, Y., Wei, Z., Chi, J., Zhang, Y. (2014). Free and bound phenolic profiles and antioxidant activity of milled fractions of different indica rice varieties cultivated in southern China. *Food Chemistry*, 159, 166-174.
- [36] Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., Blanchard, C. (2004). The distribution of phenolic acids in rice. *Food Chemistry*, 87(3), 401-406.
- [37] Neo, Y.P., Ariffin, A., Tan, C.P., Tan, Y.A. (2008). Determination of oil palm fruit phenolic compounds and their antioxidant activities using spectrophotometric methods. *International Journal of Food Science-Technology*, 43(10), 1832-1837.
- [38] Ademiluyi, A.O., Oboh, G. (2013). Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes ( $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) in vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65(3), 305-309.
- [39] Wang, Y.K., Zhang, X., Chen, G.L., Yu, J., Yang, L.Q., Gao, Y.Q. (2016). Antioxidant property and their free, soluble conjugate and insoluble-bound phenolic contents in selected beans. *Journal of Functional Foods*, 24, 359-372.
- [40] Alshikh, N., Camargo, A.C., Shahidi, F. (2015). Phenolics of selected lentil cultivars: Antioxidant activities and inhibition of low-density lipoprotein and DNA damage. *Journal of Functional Foods*, 18, 1022-1038.
- [41] Jakobek, L. (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, 175, 556-567.
- [42] de Freitas, V., Mateus, N. (2001). Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 940-945.
- [43] Ozdal, T., Capanoglu, E., Altay, F. (2013). A review on protein-phenolic interactions and associated changes. *Food Research International*, 51(2), 954-970.
- [44] Czubinski, J., Dwiecki, K. (2017). A review of methods used for investigation of protein-phenolic compound interactions. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(3), 573-585.
- [45] Rinaldi, A., Jourdes, M., Teissedre, P.L., Moio, L. (2014). A preliminary characterization of Aglianico (*Vitis vinifera* L. cv.) grape proanthocyanidins and evaluation of their reactivity towards salivary proteins. *Food Chemistry*, 164, 142-149.
- [46] Ferrer-Gallego, R., Gonçalves, R., Rivas-Gonzalo, J.C., Escribano-Bailón, M.T., De Freitas, V. (2012). Interaction of phenolic compounds with bovine serum albumin (BSA) and  $\alpha$ -amylase and their relationship to astringency perception. *Food Chemistry*, 135(2), 651-658.
- [47] Friesen, K., Chang, C., Nickerson, M. (2015). Incorporation of phenolic compounds, rutin and epicatechin, into soy protein isolate films: Mechanical, barrier and cross-linking properties. *Food Chemistry*, 172, 18-23.
- [48] Soares, S., Mateus, N., de Freitas, V. (2012). Carbohydrates inhibit salivary proteins precipitation by condensed tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(15), 3966-3972.
- [49] Haratifar, S., Corredig, M. (2014). Interactions between tea catechins and casein micelles and their impact on renneting functionality. *Food Chemistry*, 143, 27-32.
- [50] Hasni, I., Bourassa, P., Hamdani, S., Samson, G., Carpentier, R., Tajmir-Riahi, H.A. (2011). Interaction of milk  $\alpha$ - and  $\beta$ -caseins with tea polyphenols. *Food Chemistry*, 126(2), 630-639.
- [51] Rawel, H.M., Meidtner, K., Kroll, J. (2005). Binding of selected phenolic compounds to proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4228-4235.
- [52] Budryn, G., Patecz, B., Rachwał-Rosiak, D., Oracz, J., Zaczyńska, D., Belica, S., Navarro-González, I., Meseguer, J.M.V., Pérez-Sánchez, H. (2015). Effect of inclusion of hydroxycinnamic and chlorogenic acids from green coffee bean in  $\beta$ -cyclodextrin on their interactions with whey, egg white and soy protein isolates. *Food Chemistry*, 168, 276-287.
- [53] Rossetti, D., Yakubov, G.E., Stokes, J.R., Williamson, A.M., Fuller, G.G. (2008). Interaction of human whole saliva and astringent dietary compounds investigated by interfacial shear rheology. *Food Hydrocolloids*, 22(6), 1068-1078.
- [54] Erkan-Koç, B., Türkyılmaz, M., Yemiş, O., Özkan, M. (2015). Effects of various protein- and polysaccharide-based clarification agents on antioxidative compounds and colour of pomegranate juice. *Food Chemistry*, 184, 37-45.
- [55] Aguié-Béghin, V., Sausse, P., Meudec, E., Cheynier, V., Douillard, R. (2008). Polyphenol- $\beta$

- casein complexes at the air/water interface and in solution: effects of polyphenol structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(20), 9600-9611.
- [56] Rawel, H.M., Czajka, D., Rohn, S., Kroll, J. (2002). Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 30(3-4), 137-150.
- [57] Pantidos, N., Boath, A., Lund, V., Conner, S., McDougall, G.J. (2014). Phenolic-rich extracts from the edible seaweed, *ascophyllum nodosum*, inhibit  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase: potential anti-hyperglycemic effects. *Journal of Functional Foods*, 10, 201-209.
- [58] Kyle, J.A., Morrice, P.C., McNeill, G., Duthie, G.G. (2007). Effects of infusion time and addition of milk on content and absorption of polyphenols from black tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(12), 4889-4894.
- [59] Renard, C.M., Watrelot, A.A., Le Bourvellec, C. (2017). Interactions between polyphenols and polysaccharides: mechanisms and consequences in food processing and digestion. *Trends in Food Science & Technology*, 60, 43-51.
- [60] Watrelot, A.A., Le Bourvellec, C., Imbert, A., Renard, C.M. (2014). Neutral sugar side chains of pectins limit interactions with procyanidins. *Carbohydrate Polymers*, 99, 527-536.
- [61] Brahem, M., Eder, S., Renard, C.M., Loonis, M., Le Bourvellec, C. (2017). Effect of maturity on the phenolic compositions of pear juice and cell wall effects on procyanidins transfer. *LWT-Food Science and Technology*, 85, 380-384.
- [62] Bautista-Ortín, A.B., Martínez-Hernández, A., Ruiz-García, Y., Gil-Muñoz, R., Gómez-Plaza, E. (2016). Anthocyanins influence tannin-cell wall interactions. *Food Chemistry*, 206, 239-248.
- [63] Celik, S.E., Özyürek, M., Güçlü, K., Apak, R. (2015). Antioxidant capacity of quercetin and its glycosides in the presence of  $\beta$ -cyclodextrins: influence of glycosylation on inclusion complexation. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 83(3-4), 309-319.
- [64] Zhou, M., Hu, Q., Wang, T., Xue, J., Luo, Y. (2016). Effects of different polysaccharides on the formation of egg yolk LDL complex nanogels for nutrient delivery. *Carbohydrate Polymers*, 153, 336-344.
- [65] Pastoriza, S., Delgado-Andrade, C., Haro, A., Rufián-Henares, J.A. (2011). A physiologic approach to test the global antioxidant response of foods. The GAR method. *Food Chemistry*, 129(4), 1926-1932.
- [66] Arranz, S., Silván, J.M., Saura-Calixto, F. (2010). Nonextractable polyphenols, usually ignored, are the major part of dietary polyphenols: a study on the Spanish diet. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(11), 1646-1658.
- [67] Saura-Calixto, F., Serrano, J., Goni, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101(2), 492-501.
- [68] Angelino, D., Cossu, M., Marti, A., Zanoletti, M., Chiavaroli, L., Brighenti, F., Del Rio, D., Martini, D. (2017). Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in bread: a review. *Food & Function*, 8(7), 2368-2393.
- [69] Dufour, C., Loonis, M., Delosière, M., Buffière, C., Hafnaoui, N., Santé-Lhoutellier, V., Rémond, D. (2018). The matrix of fruit & vegetables modulates the gastrointestinal bioaccessibility of polyphenols and their impact on dietary protein digestibility. *Food Chemistry*, 240, 314-322.
- [70] López-Oliva, M.E., Pozuelo, M.J., Rotger, R., Muñoz-Martínez, E., Goni, I. (2013). Grape antioxidant dietary fibre prevents mitochondrial apoptotic pathways by enhancing Bcl-2 and Bcl-x L expression and minimising oxidative stress in rat distal colonic mucosa. *British Journal of Nutrition*, 109(1), 4-16.
- [71] Pérez-Jiménez, J., Díaz-Rubio, M.E., Saura-Calixto, F. (2013). Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: occurrence, metabolic fate and health effects. *Nutrition Research Reviews*, 26(2), 118-129.
- [72] Gorelik, S., Kanner, J., Schurr, D., Kohen, R. (2013). A rational approach to prevent postprandial modification of LDL by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 163-169.
- [73] Gobert, M., Rémond, D., Loonis, M., Buffière, C., Santé-Lhoutellier, V., Dufour, C. (2014). Fruits, vegetables and their polyphenols protect dietary lipids from oxidation during gastric digestion. *Food & Function*, 5(9), 2166-2174.
- [74] Chacar, S., Itani, T., Hajal, J., Saliba, Y., Louka, N., Faivre, J.F., Maroun, R., Fares, N. (2018). The impact of long-term intake of phenolic compounds-rich grape pomace on rat gut microbiota. *Journal of Food Science*, 83(1), 246-251.
- [75] Verzelloni, E., Pellacani, C., Tagliacucchi, D., Tagliaferri, S., Calani, L., Costa, L.G., Brighenti, F., Borges, G., Crozier, A., Conte, A., Del Rio, D. (2011). Antigliative and neuroprotective activity of colon-derived polyphenol catabolites. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(S1), S35-S43.
- [76] Saura-Calixto, F., Pérez-Jiménez, J., Touriño, S., Serrano, J., Fuguet, E., Torres, J.L., Goñi, I. (2010). Proanthocyanidin metabolites associated with dietary fibre from in vitro colonic fermentation and proanthocyanidin metabolites in human plasma. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(7), 939-946.
- [77] Núñez-Sánchez, M.A., González-Sarrías, A., Romo-Vaquero, M., García-Villalba, R., Selma, M.V., Tomás-Barberán, F.A., García-Conesa, M.T., Espín, J.C. (2015). Dietary phenolics against colorectal cancer-from promising preclinical results to poor translation into clinical trials: pitfalls and future needs. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(7), 1274-1291.
- [78] Sánchez-Tena, S., Lizárraga, D., Miranda, A., Vinardell, M.P., García-García, F., Dopazo, J., Torres, J.R., Saura-Calixto, F., Capellà, G., Cascante, M. (2013). Grape antioxidant dietary fiber inhibits intestinal polyposis in Apc Min/+ mice: relation to cell cycle and immune response. *Carcinogenesis*, 34(8), 1881-1888.

- [79] Hajiaghaalipour, F., Kanthimathi, M.S., Sanusi, J., Rajarajeswaran, J. (2015). White tea (*Camellia sinensis*) inhibits proliferation of the colon cancer cell line, HT-29, activates caspases and protects DNA of normal cells against oxidative damage. *Food Chemistry*, 169, 401-410.
- [80] Reagan-Shaw, S., Nihal, M., Ahmad, N. (2008). Dose translation from animal to human studies revisited. *The FASEB Journal*, 22(3), 659-661.
- [81] Lv, J., Yu, L., Lu, Y., Niu, Y., Liu, L., Costa, J., Yu, L.L. (2012). Phytochemical compositions, and antioxidant properties, and antiproliferative activities of wheat flour. *Food Chemistry*, 135(2), 325-331.
- [82] Zeriouh, W., Nani, A., Belarbi, M., Dumont, A., De Rosny, C., Aboura, I., Ghanemi, F.Z., Murtaza, B., Patoli, D., Thomas, C., Apetoh, L., Rébé, C., Delmas, D., Khan, N.A., Ghiringhelli, F., Rialland, M., Hicham, A. (2017). Phenolic extract from oleaster (*Olea europaea* var. *Sylvestris*) leaves reduces colon cancer growth and induces caspase-dependent apoptosis in colon cancer cells via the mitochondrial apoptotic pathway. *Plos One*, 12(2), 0170823.
- [83] Ortega, N., Reguant, J., Romero, M.P., Macia, A., Motilva, M.J. (2009). Effect of fat content on the digestibility and bioaccessibility of cocoa polyphenol by an in vitro digestion model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(13), 5743-5749.
- [84] Lorrain, B., Dangles, O., Loonis, M., Armand, M., Dufour, C. (2012). Dietary iron-initiated lipid oxidation and its inhibition by polyphenols in gastric conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(36), 9074-9081.
- [85] Petzke, K.J., Schuppe, S., Rohn, S., Rawel, H.M., Kroll, J. (2005). Chlorogenic acid moderately decreases the quality of whey proteins in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3714-3720.
- [86] Ribnicky, D.M., Roopchand, D.E., Poulev, A., Kuhn, P., Oren, A., Cefalu, W.T., Raskin, I. (2014). *Artemisia dracuncululus* L. polyphenols complexed to soy protein show enhanced bioavailability and hypoglycemic activity in C57BL/6 mice. *Nutrition*, 30, 4-10.
- [87] Felberg, I., Farah, A., Monteiro, M.C., Ronoel, L.D.O., Pacheco, S., Calado, V., Donangelo, C.M. (2015). Effect of simultaneous consumption of soymilk and coffee on the urinary excretion of isoflavones, chlorogenic acids and metabolites in healthy adults. *Journal of Functional Foods*, 19, 688-699.
- [88] Pineda-Vadillo, C., Nau, F., Dubiard, C.G., Cheynier, V., Meudec, E., Sanz-Buenhombre, M., Guadarrama, A., Tóth, T., Csavajda, E., Hingyi, H., Karakaya, S., Sibakov, J., Capozzi, F., Alessandra, B., Dupont, D. (2016). In vitro digestion of dairy and egg products enriched with grape extracts: effect of the food matrix on polyphenol bioaccessibility and antioxidant activity. *Food Research International*, 88, 284-292.
- [89] Serra, A., Macia, A., Romero, M.P., Valls, J., Bladé, C., Arola, L., Motilva, M.J. (2010). Bioavailability of procyanidin dimers and trimers and matrix food effects in in vitro and in vivo models. *British Journal of Nutrition*, 103(7), 944-952.
- [90] Snelders, J., Olaerts, H., Dornez, E., Van de Wiele, T., Aura, A.M., Vanhaecke, L., Delcour, J.A., Courtin, C.M. (2014). Structural features and feruloylation modulate the fermentability and evolution of antioxidant properties of arabinoxylanoligosaccharides during in vitro fermentation by human gut derived microbiota. *Journal of Functional Foods*, 10, 1-12.
- 
-