

DENİZLİ–ÇAL YÖRESİNDE YETİŞTİRİLEN ŞARAPLIK ÜZÜM ÇEŞİTLERİNİN FARKLI DOKULARINDA FENOLİK BİLEŞİK İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Hande TAHMAZ^{1*}, Gökhan SÖYLEMEZOĞLU²

¹Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara; ORCID: 0000-0003-4842-6441

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara; ORCID: 0000-0002-7959-0407

Geliş Tarihi / Received: 06.02.2019

Kabul Tarihi / Accepted: 20.03.2019

ÖZ

Fenolik bileşikler üzümlere organoleptik özellikler kazandırmasının yanı sıra asmaları stres faktörlerine karşı koruyan bileşiklerdir. Bu bileşikler aynı zamanda insan sağlığına yararlı antioksidatif özelliklere sahiptirler. Fenolik bileşiklerin miktarları üzüm çeşitlerine ve dokulara göre değişmektedir. Bu çalışmada Denizli ilinin Çal ilçesinde yetiştirilen şaraplık üzüm çeşitlerinin farklı dokularında fenolik bileşik içeriklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Boğazkere, Cabernet Sauvignon, Çal Karası, Merlot ve Öküzgözü (*Vitis vinifera* L.) çeşitlerine ait çekirdek, kabuk, salkım iskeleti ve yapraklar fenolik bileşik içerikleri ve antioksidan kapasiteleri yönüyle incelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre Öküzgözü çeşidi, dokularındaki fenolik bileşik içerikleri yönüyle ön plana çıkmıştır. En yüksek antioksidan kapasite (1.133,8 μmol trolox g^{-1} Kuru Ağırlık), (+)–kateşin (29.652 mg kg^{-1} Kuru Ağırlık), rutin (460,7 mg kg^{-1} Kuru Ağırlık) ve *trans*–resveratrol (45,5 mg kg^{-1} Kuru Ağırlık) miktarları Öküzgözü çeşidinin dokularından elde edilmiştir. Araştırmadan elde edilen bir diğer önemli sonuç ise, salkım iskeletinin de çekirdek gibi yüksek fenolik bileşik içeriğine sahip olduğunun tespit edilmesidir.

Anahtar Kelimeler: Üzüm, çekirdek, kabuk, salkım iskeleti, yaprak, *trans*–resveratrol, antioksidan kapasite

DETERMINATION OF PHENOLIC COMPOUND CONTENTS IN DIFFERENT GRAPE TISSUES OF WINE GRAPE VARIETIES GROWN IN ÇAL–DENİZLİ REGION

ABSTRACT

Phenolic compounds provide organoleptic properties to grapes as well as compounds that protect vines against stress factors. These compounds also have antioxidative properties for human health. The amounts of phenolic compounds vary according to grape varieties and tissues. This research was carried out to determine phenolic compound contents in different tissues of wine grape varieties grown in Denizli–Çal province. Seeds, skins, stems and leaves of the Boğazkere, Cabernet Sauvignon, Çal Karası, Merlot and Öküzgözü were investigated in terms of phenolic compound contents and antioxidant capacities. Results show that, Öküzgözü variety has come to the for front in terms of phenolic compounds contents in the tissues. The highest antioxidant capacity (1.133,8) μmol trolox g^{-1} Dry Weight, (+)–catechin (29.652 mg kg^{-1} Dry Weight) and rutin (460,7 mg kg^{-1} Dry Weight) were found in Öküzgözü variety tissues. Another important result obtained from the research is that the stem has a high phenolic compound content such as seed.

Keywords: Grape, seed, skin, stem, leaf, *trans*–resveratrol, antioxidant capacity

GİRİŞ

Son yıllarda özellikle hazır, işlenmiş ve paketlenmiş gıdalara yönelim şeklinde değişen beslenme alışkanlıkları sonucu hastalık oranlarının giderek arttığı görülmektedir [1].

Artan kalp hastalıkları ve tümör oluşumu sebebinin oksidatif stresin yol açtığı biyolojik makro moleküllerin hasar görmesi olduğu düşünülmektedir [2]. Oksidatif strese yol açan moleküller serbest radikallerdir. Antioksidanlar ise serbest radikallerin etkisini

*Sorumlu yazar / Corresponding author: tahmazhande@gmail.com

azaltan moleküllerdir. Bu yönde araştırmaların yoğunluk kazanmasıyla birlikte toplum antioksidan içeriği yüksek besinlere yönelmiştir. Fenolik bileşiklerin antioksidatif özellikleri ile hastalıkları önleme ve tedavi etme mekanizması ile ilgili çok sayıda araştırma mevcuttur [3]. Antioksidanların reaktif türleri nötralize ederek kalp hastalıkları, diyabet gibi dejeneratif süreçlerin oluşumunu önlediği kanıtlanmıştır [4].

Üzüm (*Vitis vinifera* L.) dünyada kültüre alınan meyveler arasında farklı değerlendirme şekillerine sahip olması nedeniyle en fazla yetiştirilen türlerin başında gelmektedir. Üzümün çekirdek, kabuk, salkım iskeleti ve yaprak dokularında yüksek antioksidan aktiviteleri ile ön plana çıkmış (+)-kateşinler (flavan-3-ols), (-)-epikateşinler (flavan-3-ols), *trans*-resveratrol (stilbenler) vb. fenolik bileşikler mevcuttur [5]. Bu bileşikler farmakolojik ve tıbbi özelliklere sahiptir.

Üzümün çekirdek, kabuk, salkım iskeleti ve asmanın yapraklarında bulunan fenolik bileşiklerin beyin fonksiyonları ve sinir sistemi [6], metabolik sendrom kaynaklı hastalıklar [7], karaciğer hastalıkları, kalp damar hastalıkları [8] ve kanser [9] gibi hastalıklarda da koruyucu etkisi olduğuna dair araştırmalar mevcuttur. Fenolik bileşiklerin insan sağlığına olan etkilerinin yanı sıra bu bileşikler üzüm, özellikle de şaraplık üzüm için de büyük öneme sahiptirler. Tane kalitesi fenolik bileşiklerin miktarına göre farklılık göstermektedir. Bitkilerin sekonder metabolizma ürünü olan fenolik bileşikler abiyotik ve biyotik stres faktörlerine karşı bitkilerin hücresel düzeyde savunma mekanizmalarıdır. Taze ve kuru üzümün renk, tat, aroma özelliklerinden sorumlu olmakla birlikte, şarap kalitesi, yıllandırma ve stabilizasyon proseslerinde de önemli role sahiptirler [10]. İnsan sağlığına yönelik olumlu etkilerinin ortaya konmasıyla birlikte üzüm çeşitlerinin farklı dokularında fenolik bileşik tayinine yönelik gerçekleştirilen araştırmaların sayısında da ciddi artışlar görülmektedir.

Üzümlerdeki fenolik bileşik içeriklerinin çeşitler arası farklılık gösterdiği bilinmektedir [11, 12]. Fenolik bileşiklerin bitkisel materyalden ekstrakte edilmesi analizden önceki en önemli adımdır [13]. Fenolik bileşiklerin eldesine yönelik olarak farklı

çözücüler ve yöntemlerin kullanıldığı görülmektedir. En yaygın kullanılan çözücü asitlendirilmiş metanol veya metanol/su karışımlarıdır [14]. Önceki araştırmalarda fenolik bileşiklerin bitkisel materyalden ekstraksiyon yönteminin de fenolik bileşik miktarları arasında farklılıklara sebep olduğu belirtilmiştir [15].

2018 yılı verilerine göre Denizli ili 407.222 da bağ alanı ve 472.474 ton üzüm üretimi ile ülkemiz bağcılığında ikinci sırada yer alan ilimizdir [16]. Araştırmada Denizli'nin Çal ilçesinde yetiştirilen 5 adet kırmızı şaraplık üzüm çeşidinin (Boğazkere, Cabernet Sauvignon, Çal Karası, Merlot, Öküzgözü) farklı dokularında (kabuk, çekirdek, salkım iskeleti, yaprak) fenolik bileşik düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu araştırma insan sağlığına pozitif etkileri olduğu bilinen (+)-kateşin, (-)-epikateşin, rutin ve *trans*-resveratrol düzeylerinin çeşitlerin farklı dokularında olup olmadığının ve varsa ne düzeyde olduğunun belirlenmesi yönüyle de önem taşımaktadır. Ayrıca araştırmada toplam fenolik bileşik, toplam antosiyanin ve antioksidan kapasite düzeyleri belirlenerek çeşitlerin antioksidatif potansiyelleri de ortaya konmuştur.

MATERYAL VE METOT

Bitkisel Materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak Türkiye'nin önemli bağ bölgelerinden Denizli ili Çal ilçesinde yetiştiriciliği yapılan kırmızı şaraplık üzüm çeşitlerinden Boğazkere, Cabernet Sauvignon, Çal Karası, Merlot ve Öküzgözü çeşitlerine ait kabuk, çekirdek, salkım iskeleti ve yapraklar kullanılmıştır. Her çeşitten 5 kg salkım ve 10 adet genç yaprak alınmıştır. Yaprak örnekleri hasatla birlikte alınmıştır. Üzüm çeşitleri 2012 yılına ait teknolojik olgunluk dönemlerinde 24° brikse ulaştıklarında hasat edilmiş ve aynı gün soğutucu kutular içerisinde Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne nakledilmişlerdir. Salkımlar bisturi yardımı ile kabuk, çekirdek ve salkım iskeletlerine ayrılarak analizleri gerçekleştirilene kadar yapraklar ile birlikte -80°C'de muhafaza edilmişlerdir.

Ekstraksiyon Yöntemi

Kabuk, çekirdek ve salkım iskeletlerine ayrılan dokular ile yaprak örnekleri -80°C'lik derin dondurucudan çıkarılarak 72 saat boyunca liyofilize edilmişlerdir (Labconco Freezone 2,5 Liter, USA). Liyofilize örnekler daha sonra havanlarda ezilerek toz haline getirilmiş ve her örnekten 0,5 g tartılmış ve fenolik bileşiklerin dokulardan ekstraksiyonu Waterhouse'a [17] göre gerçekleştirilmiştir. Toplam fenolik bileşik, toplam antosiyanin ve antioksidan kapasite analizleri Shimadzu marka 1700 model UV-Vis Spektrofotometre cihazı (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. HPLC-DAD okumaları için ekstraksiyona devam edilmiştir. Kabuk, çekirdek, salkım iskeleti ve yaprak örneklerine ait ekstraktlar önce 0,45 µm'lik PVDF (Sartorius, Goettingen, Germany) filtrelerden geçirilmiş, daha sonra "Agilent" marka "SampliQ 12 spe Manifold" model vakum manifoldu kullanılarak kartuş şartlandırma işlemi gerçekleştirilmiştir ve bu amaçla "Waters" marka 1 ml hacimli C₁₈ Seppak kartuşlar (Waters, Milford, MA, U.S.A.) kullanılmıştır. Sırasıyla 5 ml etil asetat, 5 ml metanol/hidroklorik asit (99,99/0,01; h/h), 1 ml ekstrakt, 5 ml etil asetat seppak kartuşlardan geçirilmiş, elde edilen ekstrakt azot gazı altında 40°C'de kurutulmuş (TurboVap LV, Caliper, Hopkinton, MA, USA), sonrasında ise 2 ml hidroklorik asit (saf su/hidroklorik asit; 99,99/0,01; h/h) ilavesi ile ultrasonik banyo yardımıyla fenolik bileşikler alınmıştır. Elde edilen ekstraktlar 0,45 µm'lik PVDF filtrelerden geçirilerek HPLC-DAD okumaları için amber viallere alınmıştır.

Toplam Fenolik Bileşik İçeriklerinin Belirlenmesi

5 adet üzüm çeşidine ait kabuk, çekirdek, salkım iskeleti ve yapraklarda toplam fenolik bileşik içerikleri Singletton ve Rossi'ye [18] göre yapılmıştır. Ölçüm sonuçlarının hesaplanması için 1200, 1100, 1000, 900, 800, 700 ve 600 mg l⁻¹ konsantrasyonlarında gallik asit kullanılarak kalibrasyon eğrileri elde edilmiş ve sonuçlar mg Gallik Asit Eşdeğeri (GAE) kg⁻¹ kuru ağırlık (KA) olarak verilmiştir.

Toplam Antosiyanin İçeriğinin Belirlenmesi

Üzüm çeşitlerine ait kabuklardaki toplam antosiyanin analizleri Giusti ve Wrolstad'a [19] göre gerçekleştirilmiştir. Okumalar 520 ve 700 nm'de mikro küvetlerde yapılmış ve sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanarak mg kg⁻¹ kuru ağırlık (KA) olarak verilmiştir. Toplam antosiyanin miktarı (mg kg⁻¹) = [(A) × (MA) × (SF) × 1000]/[(ε) × (l)]

A: Absorbans farkı (pH 1,0 ve 4,5 değerlerinde ölçülen absorbans farkı)

MA: Baz olarak alınacak antosiyaninin molekül ağırlığı (493,5)

SF: Seyreltme faktörü

ε: Molar absorpsiyon katsayısı (28.000)

L: Absorbans ölçüm küvetinin tabaka kalınlığı (cm) (1)

Antioksidan Kapasite İçeriklerinin Belirlenmesi

Çeşitlere ait kabuk ve çekirdeklerde antioksidan kapasite tayini TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) yöntemi ile [20] gerçekleştirilmiştir. İnhibisyon oranı aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{İnhibisyon oranı (\%)} = \frac{\text{Başlangıç absorbans değeri} - \text{Son absorbans değeri}}{\text{Başlangıç absorbans değeri}}$$

Elde edilen ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek hacimlerine (10, 20 ve 30 µl) karşı bir grafiğe aktarılmış ve bu verilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Sonuçlar µmol troloks g⁻¹ Kuru Ağırlık (KA) olarak ifade edilmiştir.

HPLC-DAD ile Fenolik Bileşik İçeriklerinin Belirlenmesi

Çekirdek, kabuk, salkım iskeleti ve yapraklarda fenolik bileşiklerden (+)-kateşin, (-)-epikateşin, rutin ve *trans*-resveratrol miktarlarının belirlenebilmesi için "Shimadzu" "LC 10 AT VP" model HPLC cihazı ve "DAD SPD M10 AVP" dedektör kullanılmıştır. Fenolik bileşiklerin tanısı kullanılan standart maddelerin alıkonma zamanları ve spektrumlarından yararlanılarak yapılmıştır. Miktar tayininde fenolik bileşik standartlarına ait farklı konsantrasyonda (50, 15, 12, 9, 6, 3,

1 ppm) çözelti hazırlanarak HPLC'ye enjekte edilmiş ve standart eğrileri oluşturularak bu eğrilerden fenolik bileşiklerin miktarları hesaplanmıştır. Fenolik bileşiklerin miktarları belirlendikten sonra geri kazanım oranları da saptanarak sonuçların hesaplanmasında kullanılmıştır. Ayrıca her fenolik bileşik için HPLC–DAD cihazının kuantifikasyon ve dedeksiyon limitleri de hesaplanarak sonuçların doğruluk oranlarının artırılması sağlanmıştır. Çizelge 1'de HPLC cihazının çalışma koşulları, Çizelge 2'de fenolik bileşik miktarlarının belirlenmesinde kullanılan kalibrasyon parametreleri verilmiştir. Sonuçlar mg kg^{-1} KA olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 1. HPLC–DAD cihazının çalışma koşulları

Table 1. HPLC–DAD conditions

HPLC kolonu HPLC column	Phenomenex Gemini 260×4,60 mm C18
Enjekte edilen miktar Injected volume	30 μl
Taşıyıcı faz Solvent	A: Su/Formik asit (99/1: h/h) B: Asetonitril (100/100: h/h) A: Water/Formic acid (99/1: v/v) B: Asetonitrile (100/100: v/v)
Akış hızı Flow rate	0,7 ml/dakika 0,7 ml/minute
Kolon sıcaklığı Column temperature	20°C

Çizelge 2. HPLC–DAD cihazı ile fenolik bileşiklerin belirlenmesinde kullanılan kalibrasyon parametreleri

Table 2. Calibration parameters used for the HPLC–DAD determination of phenolic compounds

Fenolik bileşikler Phenolic compounds	Alıkonma zamanı (dakika) Retention time (minute)	λ (nm)	Kalibrasyon denklemi Calibration curve	R^2	Dedeksiyon limiti LOD (mg kg^{-1})	Kuantifikasyon limiti LOQ (mg kg^{-1})
(+)-kateşin (+)-catechin	28,6	280	$y=15.323x-160,89$	0,9997	0,96	2,91
(-)-epikateşin (-)-epicatechin	33,7	280	$y=33.977x-7.173$	0,9999	0,69	2,09
Rutin Rutin	55,6	365	$y=20.153x-44.559$	0,9999	0,46	1,53
trans-resveratrol trans-resveratrol	54,9	306	$y=403.404x-78.716$	0,9998	0,28	0,86

λ , dalga boyu; R^2 , korelasyon katsayıları; LOD, dedeksiyon limiti; LOQ, kuantifikasyon limiti
 λ , wavelength; R^2 , correlation coefficients; LOD, limit of detection; LOQ, limit of quantification

İstatistiksel Analiz

Araştırmada tüm ekstraksiyon ve analizler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois) istatistik programı (11,5) kullanılarak belirlenmiş, farklılıkların önem düzeyini belirlemek için ve Duncan testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm ortalamanın standart hatası olarak ifade edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Toplam Fenolik Bileşik İçerikleri

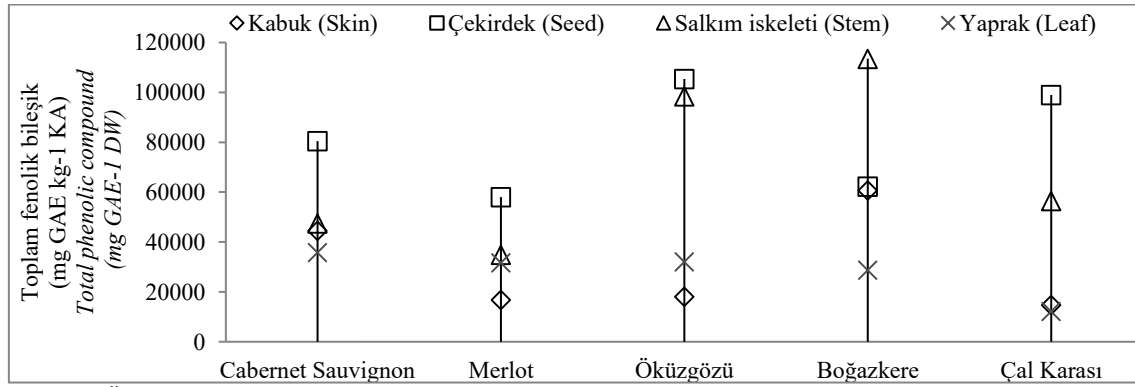
Araştırmada 5 farklı çeşide ait kabuk, çekirdek, salkım iskeleti ve yapraklarda toplam

fenolik bileşik içerikleri belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 1'de verilmiştir. Aynı çeşidin farklı dokuları arasında ve çeşitler arasında toplam fenolik bileşik içerikleri yönünden istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0,05$). Analizi gerçekleştirilen tüm dokular içerisinde en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı Boğazkere çeşidinin salkım iskeletinde ($113.500\pm 2.350 \text{ mg GAE kg}^{-1}$ KA), en düşük ise Çal Karası çeşidinin yaprağında ($12.180\pm 943 \text{ mg GAE kg}^{-1}$ KA) tespit edilmiştir. Toplam fenolik bileşik içerikleri çeşitlerin kabuklarında $60.675\pm 1.400 \text{ mg GAE kg}^{-1}$ KA (Boğazkere) ile $14.740\pm 225 \text{ mg GAE kg}^{-1}$ KA (Çal Karası) arasında; çekirdeklerinde $105.350\pm 1.600 \text{ mg GAE kg}^{-1}$ KA (Öküzgözü) ile $57.975\pm 150 \text{ mg GAE kg}^{-1}$ KA (Merlot) arasında; salkım iskeletlerinde $113.500\pm 2.350 \text{ mg GAE kg}^{-1}$ KA (Boğazkere) ile $34.950\pm 1.275 \text{ mg GAE kg}^{-1}$ KA (Merlot)

arasında ve yapraklarında 35.825 ± 1.200 mg GAE kg^{-1} KA (Cabernet Sauvignon) ile 12.180 ± 943 mg GAE kg^{-1} KA (Çal Karası) arasında değişen değerlerde tespit edilmiştir. Boğazkere çeşidine ait salkım iskeletinde toplam fenolik bileşik miktarının diğer dokularına göre istatistiksel olarak önemli ölçüde yüksek (113.500 ± 2.350 mg GAE kg^{-1} KA) olduğu tespit edilmiştir.

Lorrain ve ark. [21] Cabernet Sauvignon çeşidinin çekirdeğinde toplam fenolik bileşik içeriğini 39.100 mg GAE kg^{-1} KA olarak belirlerken, Merlot çeşidinde ise 45.300 mg GAE kg^{-1} KA olarak tespit etmiştir. Pantélic ve ark. [22] ise 13 farklı çeşidin toplam fenolik bileşik içeriklerini çekirdekte $102.980-38.020$ mg GAE kg^{-1} KA aralığında değiştiğini bildirmiştir. Bir başka çalışmada ise 10 adet çeşide ait salkım iskeleti ekstraktlarında toplam fenolik bileşik içeriği $345-584$ mg

GAE g^{-1} KA aralığında değişen değerlerde belirlemiştir [23]. Llobera ve Cañellas [24] Prens Blanc salkım iskeletlerinde toplam fenolik bileşik içeriğini $16-116$ mg GAE kg^{-1} KA aralığında, Apostolou ve ark. [25] ise 10 adet çeşide ait salkım iskeletlerinde $345.000-584.000$ mg GAE kg^{-1} KA aralığında tespit etmişlerdir. Kuru ağırlık olarak sonuç veren bir çalışmada yapraktaki toplam fenolik bileşik içeriği 61.000 mg GAE kg^{-1} KA olarak tespit edilmiştir [13]. Araştırma sonuçlarından da anlaşılmaktadır ki, çeşitlere ait toplam fenolik bileşik içerikleri aynı dokuda bile oldukça farklı düzeylerde bulunabilmektedir. Toplam fenolik bileşik içeriği özellikle şaraplık üzüm çeşitleri için önemli bir kalite kriteridir ve çeşit, hasat edildiği andaki koşullar, ekstraksiyon yöntemi vb. faktörlerin etkisi altında değişiklik gösterebildiği bilinmektedir [26].



Şekil 1. Üzüm çeşitlerinin kabuk, çekirdek, salkım iskeleti ve yapraklara ait toplam fenolik bileşik içerikleri (mg GAE kg^{-1} KA)

Figure 1. Total phenolic compound content of skin, seed, stem and leaves of grape varieties (mg GAE kg^{-1} DW)

Toplam Antosiyanin İçerikleri

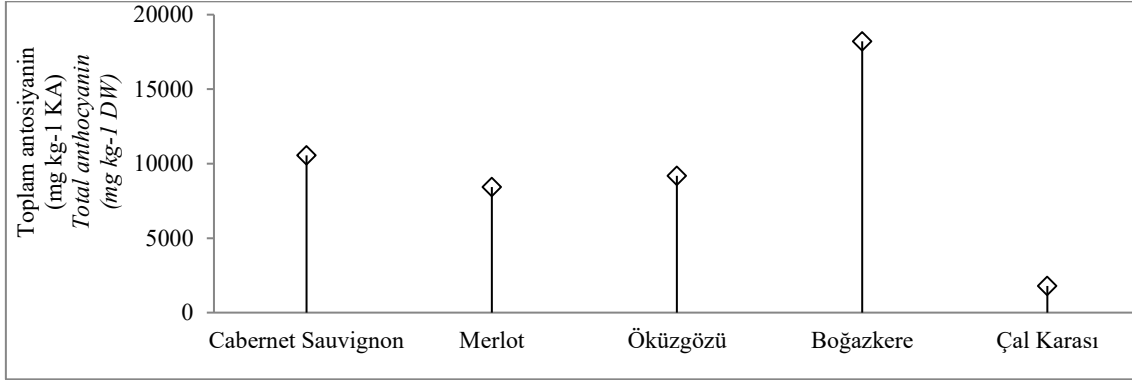
Çeşitlerin kabuklarına ait toplam antosiyanin içerikleri Şekil 2'de verilmiştir. En yüksek toplam antosiyanin Boğazkere çeşidinde $18.211 \pm 10,1$ mg kg^{-1} KA düzeyinde tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Bu değeri sırası ile Çal karası ($1.780 \pm 52,9$ mg/kg KA), Cabernet Sauvignon ($10.566 \pm 29,1$ mg/kg KA), Öküzgözü ($91,84 \pm 0$ mg kg^{-1} KA) ve Merlot (8.438 ± 127 mg kg^{-1} KA) çeşitleri takip etmiştir. Sonuçlarını kuru ağırlık olarak ifade eden önceki çalışmalarda kabuklardaki toplam antosiyanin düzeyleri 80 ile 9.346 mg kg^{-1} KA aralığında tespit edilmiştir [13, 24].

Antioksidan Kapasite İçerikleri

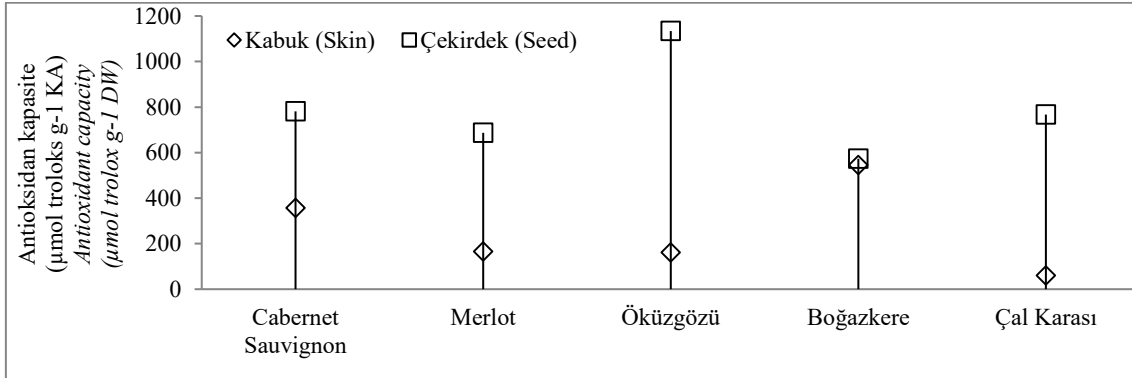
Çeşitlerin kabuk ve çekirdeklerine ilişkin antioksidan kapasite sonuçları Şekil 3'te verilmiştir. Sonuçlara göre tüm çeşitlere ait çekirdeklerin, kabuklara göre daha yüksek oranda antioksidan kapasite düzeyine sahip olduğu belirlenmiştir. En yüksek antioksidan kapasite $1.133 \pm 34,4$ μ mol troloks g^{-1} KA ile Öküzgözü çeşidinin çekirdeğinde tespit edilmiştir. Kabuk dokusundaki antioksidan kapasite en yüksek Boğazkere ($544,3 \pm 4,9$ μ mol troloks g^{-1} KA) çeşidinde belirlenmiş, bu çeşidi sırasıyla Cabernet Sauvignon ($355,9 \pm 4,7$ μ mol troloks g^{-1} KA), Merlot

(165,4±2,8 μmol troloks g^{-1} KA), Öküzgözü (161,2±7,3 μmol troloks g^{-1} KA) ve Çal Karası (60,1±2,2 μmol troloks g^{-1} KA) çeşitleri takip etmiştir. Çekirdekte en yüksek antioksidan kapasite Öküzgözü çeşidinde (1.133±34,4 μmol troloks g^{-1} KA), belirlenirken, bu çeşidi sırasıyla Cabernet Sauvignon (781±19,7 μmol troloks g^{-1} KA), Çal Karası (766,4±30 μmol troloks g^{-1} KA), Merlot (686,45±4,1 μmol

troloks g^{-1} KA) ve Boğazkere (573,1±5,1 μmol troloks g^{-1} KA) çeşitleri takip etmiştir. Boğazkere çeşidinin kabuk ve çekirdeğinin antioksidan kapasite düzeylerindeki yakınlık oldukça ilgi çekicidir. Xu ve ark. [26] 21 çeşitte antioksidan kapasiteyi çekirdekte 76,33–649,85 μM troloks g^{-1} KA aralığında, kabukta ise 71,76–507,75 μM troloks g^{-1} KA aralığında tespit etmişlerdir.



Şekil 2. Üzüm çeşitlerinin kabuklarına ait toplam antosiyanin içerikleri (mg kg^{-1} KA)
Figure 2. Total anthocyanin content of grape varieties skins (mg kg^{-1} DW)



Şekil 3. Üzüm çeşitlerinin kabuk ve çekirdeklere ait antioksidan kapasite düzeyleri (μmol troloks g^{-1} KA)
Figure 3. Antioxidant capacity levels of skin and seeds of grape varieties (μmol troloks g^{-1} DW)

(+)-Kateşin, (-)-Epikateşin, Rutin ve Trans-resveratrol İçerikleri

Çeşitlere ait kabuk, çekirdek, salkım iskeleti ve yaprakların (+)-kateşin, (-)-epikateşin, rutin ve trans-resveratrol miktarları Çizelge 3'te verilmiştir. Çekirdekte en yüksek miktarda belirlenen fenolik bileşikler (+)-kateşin ve (-)-epikateşin olmuştur. Rutinin ise en yüksek yaprakta olduğu tespit edilmiştir. Stilben grubunda yer alan trans-resveratrol miktarı istatistiksel olarak oldukça farklılık göstermiştir ($p < 0,05$). (+)-kateşin

miktarı kabukta en yüksek Cabernet Sauvignon çeşidinde (180,6±4,8 mg kg^{-1} KA), çekirdekte Öküzgözü çeşidinde (29.652±195 mg kg^{-1} KA), salkım iskeletinde Çal Karası çeşidinde (3.194±5,9 mg kg^{-1} KA), yaprakta Merlot çeşidinde (811±19,7 mg kg^{-1} KA) tespit edilmiştir. (-)-epikateşin miktarı kabukta en yüksek Cabernet Sauvignon çeşidinde (41,0±0,9 mg kg^{-1} KA), çekirdekte Çal Karası çeşidinde (3.813±186 mg kg^{-1} KA), salkım iskeletinde Çal Karası çeşidinde (199,7±99,4 mg kg^{-1} KA), yaprakta Merlot çeşidinde (131,7±1,9 mg kg^{-1} KA) tespit edilmiştir. Rutin

kabukta en yüksek Boğazkere çeşidinde ($48,9 \pm 0,0$ mg kg⁻¹ KA), çekirdekte Çal Karası çeşidinde ($43,8 \pm 0,5$ mg kg⁻¹ KA), salkım iskeletinde Öküzgözü çeşidinde ($106,1 \pm 0,8$ mg kg⁻¹ KA), yaprakta Öküzgözü çeşidinde ($460,7 \pm 1,4$ mg kg⁻¹ KA) belirlenmiştir. *trans*-resveratrol ise kabukta en yüksek Öküzgözü çeşidinde ($45,5 \pm 1,2$ mg kg⁻¹ KA), çekirdekte Boğazkere çeşidinde ($23,0 \pm 0,1$ mg kg⁻¹ KA), salkım iskeletinde Cabernet Sauvignon çeşidinde ($43,2 \pm 0,1$ mg kg⁻¹ KA) ve yaprakta Öküzgözü çeşidinde ($25,6 \pm 0,2$ mg kg⁻¹ KA) düzeyinde ölçülmüştür. Araştırmada liyofilize örneklerle çalışılması sebebiyle yine örnekleri liyofilize ederek yapılmış araştırmalara ait

farklı çeşitler üzerinde yapılan çalışmalarda (+)-kateşin miktarının çekirdekte 122 – 1.117 mg kg⁻¹ KA, kabukta 0 – 1.037 mg kg⁻¹ KA, salkım iskeletinde 0 – 98.290 mg kg⁻¹ KA, yaprakta 36 – 89 mg kg⁻¹ KA; (–)-epikateşin miktarının çekirdekte 0 – 2.185 mg kg⁻¹ KA, kabukta 0 – 482 mg kg⁻¹ KA, salkım iskeletinde 0 – 13.320 mg kg⁻¹ KA, yaprakta 22 – 94 mg kg⁻¹ KA; *trans*-resveratrol miktarının çekirdekte 0 – $37,5$ mg kg⁻¹ KA, kabukta 0 – 255 mg kg⁻¹ KA, salkım iskeletinde $87,6$ – 20.560 mg kg⁻¹ KA, yaprakta $1,2$ – $3,9$ mg kg⁻¹ KA olarak tespit edildiği görülmüştür [21, 22, 23, 26, 27, 29, 30, 31].

Çizelge 3. Üzüm çeşitlerinin kabuk, çekirdek, salkım iskeleti ve yapraklara ait (+)-kateşin, (–)-epikateşin, rutin ve *trans*-resveratrol içerikleri (mg kg⁻¹ KA)

Table 3. (+)-catechin, (–)-epicatechin, rutin and *trans*-resveratrol content of skin, seed, stem and leaves of grape varieties (mg kg⁻¹ DW)

(+)–Kateşin / (+)–Catechin				
Çeşitler / Varieties	Kabuk / Skin	Çekirdek / Seed	Salkım iskeleti / Stem	Yaprak / Leaf
Cabernet Sauvignon	180,6±4,8 a	7.704±342 c	3.062±41,6 b	298±4,9 b
Merlot	151,2±5,2 b	5.800±594 d	1.433±10,7 c	811±19,7 a
Öküzgözü	–	29.652±195 a	843±25,4 e	370±1,8 b
Boğazkere	31,7±0,9 d	2.900±59,4 e	1.113±20,8 d	321±72,6 b
Çal Karası	131,3±1,2 c	9.167±428 b	3.194±5,9 a	294±1,29 b
(–)-epikateşin / (–)-Epicatechin				
Çeşitler / Varieties	Kabuk / Skin	Çekirdek / Seed	Salkım iskeleti / Stem	Yaprak / Leaf
Cabernet Sauvignon	41,0±0,9 a	2.506±123 b	122,1±0,6 c	–
Merlot	34,4±0,5 b	2.434±264 b	77,2±1,7	131,7±1,9 a
Öküzgözü	–	2.699±15,8 b	–	–
Boğazkere	–	685±16,2 c	162,7±0,8 b	–
Çal Karası	35,4±0,3 b	3.813±186 a	199,7±99,4 a	99,4±7,1 b
Rutin				
Çeşitler / Varieties	Kabuk / Skin	Çekirdek / Seed	Salkım İskeleti / Stem	Yaprak / Leaf
Cabernet Sauvignon	40,3±0,0 d	42,7±0,0 ab	59,1±0,1 d	217,9±1,1 c
Merlot	–	40,8±1,2 b	45,2±0,1 e	70,2±0,01 e
Öküzgözü	48,1±0,1 b	42,1±0,2 ab	106,1±0,8 a	460,7±1,4 a
Boğazkere	48,9±0,0 a	–	72,7±1,6 c	328,6±4,4 b
Çal Karası	47,3±0,2 c	43,8±0,5 a	78,5±1,0 b	189,1±1,0 d
<i>Trans</i> -resveratrol				
Çeşitler / Varieties	Kabuk / Skin	Çekirdek / Seed	Salkım İskeleti / Stem	Yaprak / Leaf
Cabernet Sauvignon	24,6±0,2 b	–	43,2±0,1 a	24,6±0,2 b
Merlot	24,9±0,1 b	–	27,6±0,2 c	–
Öküzgözü	45,5±1,2 a	22,3±0,1 b	31,9±0,2 b	25,6±0,2 a
Boğazkere	–	23,0±0,1 a	27,3±0,1 c	22,6±0,1 c
Çal Karası	–	–	31,3±0,2 b	25,3±0,1 a

Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir. –: tespit edilemedi.

Different letters in the same column indicate statistical differences at the $p < 0,05$ level. –: not detected

SONUÇ

Araştırmada ülkemizin en önemli bağcılık bölgelerinden biri olan Denizli'nin Çal yöresinde yetiştirilen Boğazkere, Cabernet

Sauvignon, Çal Karası, Merlot ve Öküzgözü çeşitlerine ait çekirdek, kabuk, salkım iskeleti ve yapraklardaki insan sağlığı açısından yararlı olduğu bilinen fenolik bileşik miktarları belirlenmiştir. Bu araştırma aynı çeşidin farklı

dokularının ayrı ayrı fenolik bileşik ve antioksidan kapasite yönüyle incelenmesi açısından da önem taşımaktadır. Yerel çeşitlerimizden Öküzgözü çeşidine ait özellikle çekirdek yüksek fenolik bileşik içeriği ile ön plana çıkmıştır. Elde edilen sonuçlara göre salkım iskeletinin de kabuk ve çekirdek gibi iyi bir fenolik bileşik kaynağı olduğu anlaşılmıştır. Fenolik bileşiklerin asmaların abiyotik ve biyotik stres faktörleri ile mücadelesinde rol oynadığı ve de üzüm ve şaraba kattığı kalite ve stabilizasyon özellikleri dikkate alındığında araştırma sonucunda yüksek fenolik bileşik içeriğine sahip çeşitler araştırmanın önemli bulgularındandır. Son yıllarda toplumdaki sağlıklı beslenmeye yönelik giderek artan eğilim üzümlerden elde edilen kabuk ve çekirdeklerin yanı sıra, antioksidatif etkilere sahip fenolik bileşik içerikleri ile araştırmada ön plana çıkan salkım iskeleti ve yaprakların da fenolik bileşik kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

TEŞEKKÜR

"11B4347003" kod numaralı ve "Ülkemizde Yetiştirilen Asma Tür ve Çeşitlerinde Antioksidan, Resveratrol ve Diğer Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi Üzerinde Bir Araştırma" isimli projeye sağladığı destek için "Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü" ne teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

1. Lerner, A. and Matthias, T., 2015. Changes in intestinal tight junction permeability associated with industrial food additives explain the rising incidence of autoimmune disease. *Autoimmunity Reviews* 14:479-489.
2. Yang, J. and Xiao, Y.Y., 2013. Grape phytochemicals and associated health benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53:1202-1225.
3. Banc, R., Loghin, F., Miere, D., Fetea, F. and Socaciu, C., 2014. Romanian wines quality and authenticity using FT-MIR spectroscopy coupled with multivariate data analysis. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 42:556-564.
4. Gengaihi, S.E.L., Ella, F.M.A., Emad, M.H., Shalaby, E. and Doha, H., 2014. Antioxidant activity of phenolic compounds from different grape wastes. *J. of Food Processing Technology* 5:296-300.
5. Casazza, A.A., Aliakbarian, B., Mantegna, S., Cravotto, G. and Perego, P., 2010. Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. *Journal of Food Engineering* 100:50-55.
6. Tsuda, T., 2012. Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies. *Molecular Nutrition and Food Research* 56:159-170.
7. Chuang, C.C., Shen, W., Chen, H., Xie, G., Jia, W., Chung, S. and McIntosh, M.K., 2012. Differential effects of grape powder and its extract on glucose tolerance and chronic inflammation in high-fat-fed obese mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60:12458-12468.
8. Tomé-Carneiro, J., González, M., Larrosa, M., Yáñez-Gascón, M., García-Almagro, F., Ruiz-Ros, J., Tomás-Barberán, F., García-Conesa, M. and Espín, J., 2013. Grape resveratrol increases serum adiponectin and downregulates inflammatory genes in peripheral blood mononuclear cells: A triple-blind, placebo-controlled, one-year clinical trial in patients with stable coronary artery disease. *Cardiovascular Drugs Therapy* 27:37-48.
9. Zhou, K. and Raffoul, J.J., 2012. Potential anticancer properties of grape antioxidants. *Journal of Oncology* 2012:803294.
10. Cramer, G.R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M. and Shinozaki, K., 2011. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biology* 11:163.
11. Mazza, G., Fukumoto, L., Delaquis, P., Girard, B. and Ewert, B., 1999. Anthocyanins, phenolics and color of Cabernet Franc, Merlot and Pinot Noir wines from British Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47:4009-4017.
12. Georgiev, V., Ananga A. and Tsoleva, V., 2014. Recent Advances and Uses of Grape

- Flavonoids as Nutraceuticals. *Nutrients* 6:391–415.
13. Farhadi, K., Esmailzadeh, F., Hatami, M., Forough, M. and Molaie, R., 2016. Determination of phenolic compounds content and antioxidant activity in skin, pulp, seed, cane and leaf of five native grape cultivars in West Azerbaijan province, Iran. *Food Chemistry* 199:847–855.
 14. Koźmiński, P., Oliveira–Brett and A.M., 2008. Anthocyanin monitoring in four red grape skin extract varieties using RP–HPLC–ED. *Analytical Letters* 41:662–675.
 15. Downey, M.O., Mazza, M. and Krstic, M.P., 2007. Development of a stable extract for anthocyanins and flavonols from grape skin. *American Journal of Enology and Viticulture* 58:358–364.
 16. Anonim, 2018. Türkiye İstatistik Kurumu Tarım İstatistikleri (TUİK) (<http://tuik.gov.tr/preçizelgearama.do?metod=search&aratype=vt>) (Erişim Tarihi: 08.11.2018).
 17. Waterhouse, A.L., 2005. Determination of total fenolics, in handbook of food analytical chemistry, ed. by Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D.M., Sporns, P. John Wiley & Sons, 463–470, New Jersey.
 18. Singleton, V.L. and Rossi, J.J.A., 1965. Colorimetric of totalmphenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16(3):144–158.
 19. Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E., 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV–visible spectroscopy. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*; Wrolstad, R.E., Acree, T.E., An, H., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Sporns, P., Eds.; John Wiley & Sons: New York, USA, F1.2.1–F1.2.13.
 20. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice–Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Biology and Medicine* 26:1231–1237.
 21. Lorrain, B., Chira, K. and Teissedre, P., 2011. Phenolic composition of Merlot and Cabernet–Sauvignon grapes from Bordeaux vineyard for the 2009 vintage: Comparison to 2006, 2007 and 2008 vintages. *Food Chemistry* 126(4):1991–1999.
 22. Pantelić, M.M., Dabić Zagorac, D.C., Davidović, S.M., Todić, S.R., Bešlić, Z.S. and Gašić, U.M., 2016. Identification and quantification of phenolic compounds in berry skin, pulp and seeds in 13 grapevine varieties grown in Serbia. *Food Chemistry* 211:243–252.
 23. Apostolou, A., Stagos, D., Galitsiou, E., Spyrou, A., Haroutounian, S., Portesis, N., Trizoglou, I., Hayes, A.W., Tsatsakis, A.M. and Kouretas, D., 2013. Assessment of polyphenolic content, antioxidant activity, protection against ROS–induced DNA damage and anticancer activity of *Vitis vinifera* stem extracts. *Food and Chemical Toxicology* 61:60–68.
 24. Llobera, A. and Cañellas, J., 2007. Dietary fibre and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. *Food Chemistry* 101:659–666.
 25. Rockenbach, S.I., Rodrigues, E., Gonzaga, L.V., Caliani, V., Genovese, M.I., Gonçalves, S. and Fett, R., 2006. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry* 123:174–179.
 26. Xu, C., Zhang, Y., Cao, L. and Lu, J., 2010. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. *Food Chemistry* 119:1557–1565.
 27. Iacopini, P., Baldi, M., Storchi, P. and Sebastiani, L., 2008. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grapes: content, in vitro antioxidant activity and interactions. *Journal of Food Composition and Analysis* 21(8):589–598.
 28. Butkhupl, L., Chowtivannakul, S., Gaensakoo, R., Prathepha, P. and Samappito, S., 2010. Study of the phenolic composition of Shiraz red grape cultivar (*Vitis vinifera* L.) cultivated in north–eastern Thailand and its antioxidant and antimicrobial activity. *South African J. of Enology and Viticulture* 31:89–98.
 29. Katalinic, V., Mozina, S.S., Generalic I., Skroza, D., Ljubenkovic, I. and Klancnik, A., 2013. Phenolic profile, antioxidant capacity

- and antimicrobial activity of leaf extracts from six *Vitis vinifera* L. varieties. *International Journal of Food Properties* 16:45-60.
30. Rockenbach, S.I., Rodrigues, E., Gonzaga, L.V., Calari, V., Genovese, M.I., Gonçalves, S. and Fett, R., 2006. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry* 123:174-179.
31. Anastasiadi, M., Pratsinis, H., Kletsas, D., Skaltsounis, A.L. and Haroutounian, A., 2012. Grape stem extracts: Polyphenolic content and assessment of their in vitro antioxidant properties. *Food Science and Technology* 48:316-322.